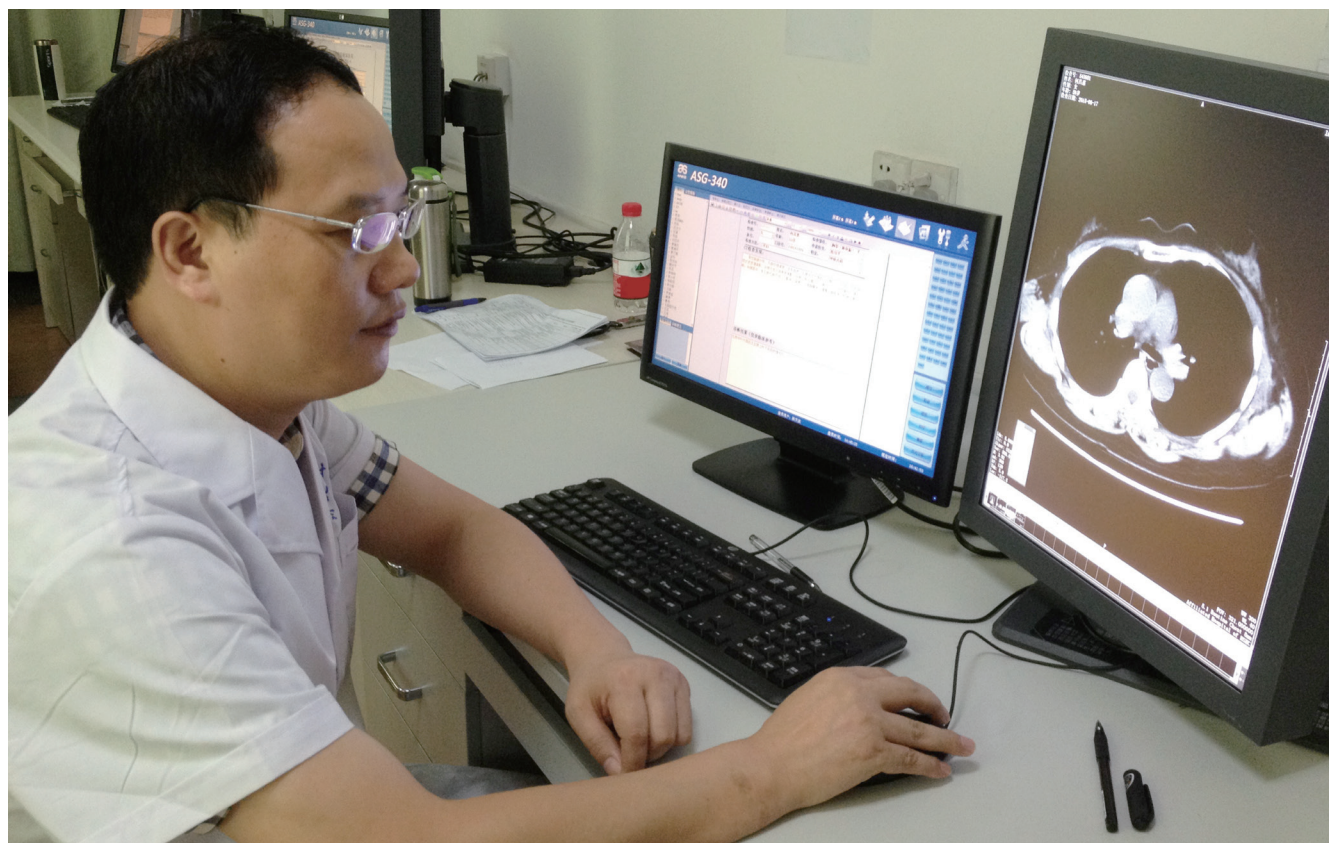


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2020 年 8 月 8 日 第 28 卷 第 15 期 (Volume 28 Number 15)



15/2020

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

述评

- 655 肝硬化患者肝外肿瘤的发病风险及治疗措施
王硕, 郭晓钟, 徐士雪, 祁兴顺
- 660 强化克罗恩病监测和优化患者管理
王静静, 范一宏, 黄蓉
- 669 CD8⁺ T细胞干细胞样亚群在肿瘤免疫治疗中的应用前景
刘红涛, 孙青

基础研究

- 673 长链非编码RNA ASB16-AS1调控miR-670-3p/ATXN7L3轴影响胃癌细胞增殖、迁移和侵袭
罗俊, 张晓革, 郑园园, 马阿火
- 683 紫外线照射对成人原代肝细胞免疫原性及蛋白合成性的影响
邓兰, 唐世刚

临床研究

- 691 新型冠状病毒肺炎患者肝功能损伤的危险因素分析
唐裕福, 姜鹏, 张怡冰, 王新伟, 王渊博, 张权宇, 滕玥, 于浩, 孟浩, 张巍, 马壮
- 699 内放射支架与普通覆膜支架治疗中晚期食管癌疗效及并发症比较的Meta分析: 943例
黄妹, 韩明, 文剑波
- 710 钛夹预防结直肠息肉切除术后不良事件疗效的Meta分析
高利英, 刘希樵, 黄宣

文献综述

- 719 中医药对肠道微生态的影响
唐圆, 谭周进
- 725 中医药对溃疡性结肠炎肠黏膜屏障调控作用的研究进展
陈继超

临床实践

- 730 不同程度高甘油三酯血症对于急性胰腺炎病情严重性的影响
姜景平, 盛锦义, 方聪

研究快报

- 735 心理弹性在老年胃食管反流病患者抑郁水平与睡眠障碍间的中介作用分析
丁妙慧, 叶雅玲, 严莉

病例报告

- 740 胃癌根治术后迟发性大出血3例临床分析及防治策略
李龙龙, 李俊

消 息

- 668 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
709 《世界华人消化杂志》书讯
724 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
739 《肠道微生物与消化系统疾病》栏目设置

封面故事

陈天武, 博士, 教授, 暨南大学博士生导师, 医学影像四川省重点实验室副主任、川北医学院附属医院放射科副主任, 食管癌发病机制与临床诊治四川省青年科技创新研究团队带头人,《欧洲放射学杂志》编委. 以负责人主持国家级、省部级课题8项, 其中国家自然科学基金2项. 获省部级科技进步奖4项, 其中以第1完成人获二等奖1项. 参编教材1部、学术专著3部. 以第1及通讯作者发表论文100余篇, 其中SCI论文55篇. 研究方向为消化系统放射学.

本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 张晗; 组版编辑 刘继红; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2020-08-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381892

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 28 Number 15 August 8, 2020

EDITORIAL

- 655 Risk and treatment of non-hepatic cancers in patients with cirrhosis
Wang S, Guo XZ, Xu SX, Qi XS
- 660 Strengthened monitoring and optimized management of Crohn's disease patients
Wang JJ, Fan YH, Hang R
- 669 Application prospect of stem cell-like subpopulations of CD8+ T cells in tumor immunotherapy
Liu HT, Sun Q

BASIC RESEARCH

- 673 Long non-coding RNA ASB16-AS1 inhibits proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by regulating miR-670-3p/ATXN7L3 axis
Luo J, Zhang XP, Zheng YY, Ma AH
- 683 Effect of ultraviolet irradiation on immunogenicity and biological activity of primary adult human hepatocytes
Deng L, Tang SG

CLINICAL RESEARCH

- 691 Risk factors for COVID-19-related liver injury
Tang YF, Jiang P, Zhang YB, Wang XW, Wang YB, Zhang QY, Teng Y, Yu H, Meng H, Zhang W, Ma Z
- 699 Meta-analysis of efficacy and complications of intraluminal radioactive stent and common covered stent in treatment of advanced esophageal cancer
Huang M, Han M, Wen JB
- 710 Effect of prophylactic clipping on adverse events after colorectal endoscopic resection: A meta-analysis
Gao LY, Liu XQ, Huang X

REVIEW

- 719 Influence of traditional Chinese medicine on intestinal microecology
Tang Y, Tan ZJ
- 725 Research progress on regulation of intestinal mucosal barrier of patients with ulcerative colitis with traditional Chinese medicine
Chen JC

CLINICAL PRACTICE

- 730 Effect of different degrees of hypertriglyceridemia on severity of acute pancreatitis
Jiang JP, Sheng JY, Fang C

RAPID COMMUNICATION

- 735 Mediating effect of mental resilience on depression level and sleep disturbance in elderly patients with gastroesophageal reflux disease

Ding MH, Ye YL, Yan L

CASE REPORT

- 740 Clinical characteristics of and preventive strategies for delayed hemorrhage following radical gastrectomy for gastric cancer

Li LL, Li J

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 28 Number 15 August 8, 2020

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Tian-Wu Chen, Professor, Doctoral Supervisor, Department of Radiology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, No. 63 Wenhua Road, Shunqing District, Nanchong 637000, Sichuan Province, China

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang*

Review Editor: *Han Zhang*

Production Editor: *Ji-Hong Liu*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xiang Li*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date August 8, 2020

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi,

Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

长链非编码RNA ASB16-AS1调控miR-670-3p/ATXN7L3轴影响胃癌细胞增殖、迁移和侵袭

罗俊, 张晓苹, 郑园园, 马阿火

罗俊, 张晓苹, 郑园园, 马阿火, 绍兴市人民医院消化内科 浙江省绍兴市 312000

罗俊, 主治医师, 研究方向为胃癌基础研究, 早期胃癌诊断相关研究.

作者贡献分布: 此课题由罗俊、张晓苹、郑园园及马阿火设计; 研究过程由罗俊、张晓苹、郑园园及马阿火操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由张晓苹与郑园园提供; 数据分析由罗俊与马阿火完成; 本论文写作由罗俊完成.

通讯作者: 马阿火, 主任医师, 312000, 浙江省绍兴市越城区中兴北路568号, 绍兴市人民医院消化内科. zhoulitan19630313@163.com

收稿日期: 2020-05-09

修回日期: 2020-06-24

接受日期: 2020-07-05

在线出版日期: 2020-08-08

Long non-coding RNA ASB16-AS1 inhibits proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by regulating miR-670-3p/ATXN7L3 axis

Jun Luo, Xiao-Ping Zhang, Yuan-Yuan Zheng, A-Huo Ma

Jun Luo, Xiao-Ping Zhang, Yuan-Yuan Zheng, A-Huo Ma, Department of Gastroenterology, Shaoxing People's Hospital, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: A-Huo Ma, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shaoxing People's Hospital, No. 568 Zhongxing North Road, Yuecheng District, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China. zhoulitan19630313@163.com

Received: 2020-05-09

Revised: 2020-06-24

Accepted: 2020-07-05

Published online: 2020-08-08

Abstract

BACKGROUND

Many long non-coding RNAs (lncRNAs) have been

shown to play a role in suppressing or promoting the progression of gastric cancer (GC). However, there are still a large number of lncRNAs whose roles in the progression of GC are still unclear. Therefore, it is still necessary to identify lncRNAs that affect the proliferation, migration, and invasion of GC cells to provide potential targets for the prevention and treatment of GC.

AIM

To investigate the effect of lncRNA ASB16-AS1 on the proliferation, migration, and invasion of GC cells and the underlying mechanism.

METHODS

The expression levels of ASB16-AS1, miR-670-3p, and ATXN7L3 in human gastric mucosal cell line GES-1 and GC cell lines HGC-27, AGS, and NUGC-4 were detected by real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR) and Western blot. HGC-27 cells were divided into si-NC, si-ASB16-AS1, miR-NC, miR-670-3p, si-ATXN7L3, si-ASB16-AS1 + anti-miR-NC, si-ASB16-AS1 + anti-miR-670-3p, si-ASB16-AS1 + pcDNA-NC, and si-ASB16-AS1 + pcDNA-ATXN7L3 groups. Cell counting kit-8 and transwell assay were used to detect cell viability and migration invasion, respectively. Dual luciferase reporter assay, RT-qPCR, and Western blot were used to determine the interaction between ASB16-AS1 and miR-670-3p and between miR-670-3p and ATXN7L3.

RESULTS

ASB16-AS1 and ATXN7L3 were highly expressed in GC cells, while miR-670-3p was lowly expressed ($P < 0.05$). After inhibiting the expression of ASB16-AS1, overexpressing miR-670-3p, or inhibiting the expression of ATXN7L3, the proliferation, migration, and invasion of HGC-27 cells were significantly reduced ($P < 0.05$). ASB16-AS1 targets and negatively regulates miR-670-3p

expression. MiR-670-3p targets and negatively regulates ATXN7L3 expression. Inhibiting miR-670-3p partially reversed the effects of inhibiting ASB16-AS1 on the proliferation, migration, and invasion of HGC-27 cells ($P < 0.05$). Overexpressing ATXN7L3 partially reversed the effect of inhibiting ASB16-AS1 on the proliferation, migration, and invasion of HGC-27 cells ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Inhibiting ASB16-AS1 inhibits the proliferation, migration, and invasion of GC cells by regulating the miR-670-3p/ATXN7L3 axis.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: ASB16-AS1; miR-670-3p; ATXN7L3; Gastric cancer; Cell proliferation; Migration and invasion

Citation: Luo J, Zhang XP, Zheng YY, Ma AH. Long non-coding RNA ASB16-AS1 inhibits proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by regulating miR-670-3p/ATXN7L3 axis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(15): 673-682

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i15/673.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i15.673>

摘要

背景

多种长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNAs)在胃癌(gastric cancer, GC)进展中被证实发挥抑癌或促癌作用。但lncRNAs数量众多,仍有多种lncRNAs在GC进展中的作用并不明确。因此,筛选具有影响GC细胞增殖、迁移和侵袭的lncRNAs对GC防治十分必要。

目的

探讨lncRNA ASB16-AS1调控miR-670-3p/ATXN7L3轴对GC细胞增殖、迁移和侵袭的影响。

方法

实时荧光定量PCR (real-time quantitative PCR, RT-qPCR)和western blot检测人胃黏膜细胞GES-1、GC细胞HGC-27、AGS、NUGC-4中ASB16-AS1、miR-670-3p和ATXN7L3的表达水平。将HGC-27细胞分为si-NC、si-ASB16-AS1、miR-NC、miR-670-3p、si-ATXN7L3、si-ASB16-AS1+anti-miR-NC、si-ASB16-AS1+anti-miR-670-3p、si-ASB16-AS1+pcDNA-NC、si-ASB16-AS1+pcDNA-ATXN7L3组。采用细胞计数试剂盒、transwell实验分别测定细胞活力、迁移侵袭能力;双荧光素酶报告实验、RT-qPCR、western blot确定ASB16-AS1与miR-670-3p、miR-670-3p与ATXN7L3之间的相互作用。

结果

GC细胞中ASB16-AS1、ATXN7L3呈高表达,miR-

670-3p呈低表达($P < 0.05$)。抑制ASB16-AS1表达,或过表达miR-670-3p,或抑制ATXN7L3表达后,HGC-27细胞增殖活力、迁移和侵袭能力均显著降低($P < 0.05$)。ASB16-AS1靶向负调控miR-670-3p表达。miR-670-3p靶向负调控ATXN7L3表达。抑制miR-670-3p表达部分逆转抑制ASB16-AS1对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响($P < 0.05$)。过表达ATXN7L3部分逆转抑制ASB16-AS1对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响($P < 0.05$)。

结论

抑制ASB16-AS1通过调控miR-670-3p/ATXN7L3轴抑制GC细胞增殖、迁移和侵袭。

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: ASB16-AS1; miR-670-3p; ATXN7L3; 胃癌; 细胞增殖; 迁移和侵袭

核心提要: ASB16-AS1在胃癌细胞中高表达。抑制ASB16-AS1通过调控miR-670-3p/ATXN7L3轴抑制HGC-27细胞的增殖、迁移和侵袭。

文献来源: 罗俊, 张晓苹, 郑园园, 马阿火. 长链非编码RNA ASB16-AS1调控miR-670-3p/ATXN7L3轴影响胃癌细胞增殖、迁移和侵袭. *世界华人消化杂志* 2020; 28(15): 673-682

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i15/673.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i15.673>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是最常见的消化系统恶性肿瘤之一,是全球癌症相关死亡的第三大原因,已给全球公共卫生带来巨大负担^[1]。近几十年来,虽然GC诊疗取得迅速进展,但由于癌细胞的局部扩散和临床转移,GC患者5年生存率仍然较低^[2]。因此,了解GC发展的调控机制,对寻找有效的治疗靶点、提高患者生存能力意义重大。长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)是一类新型的长度超过200个核苷酸但缺乏蛋白编码能力的RNA,其通过表观遗传修饰、转录或转录后调节和mRNA加工参与了多种癌症的发生发展^[3,4]。ASB16-AS1位于染色体17q21.31区域,由10745个核苷酸和4个外显子组成,大量研究证实ASB16-AS1在人类癌症中的具有致癌基因作用。例如ASB16-AS1高表达促进非小细胞肺癌细胞增殖,抑制细胞凋亡^[5]。ASB16-AS1高表达促进胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[6]。然而ASB16-AS1在GC中的作用和潜在机制仍有待阐明。本研究通过分析GC中ASB16-AS1表达水平,揭示ASB16-AS1在GC中生物学作用和潜在机制,以期临床GC防治开辟新的途径。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃黏膜细胞GES-1、人GC细胞HGC-27、AGS、NUGC-4购自中国科学院上海细胞库; 胎牛血清、青链霉素双抗溶液、DMEM培养基、F12K培养基、RPMI-1640培养基购自美国Gibco公司; TRIzol、Lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司; miScript SYBR green PCR试剂盒、miScript逆转录试剂盒购自北京天根生化科技公司; PrimeScript逆转录试剂盒、SYBR Premix Ex Taq购自大连Takara生物技术公司; ASB16-AS1小干扰RNA (si-ASB16-AS1)及其阴性对照(si-NC)、si-ATXN7L3、miR-670-3p模拟物(miR-670-3p mimics)及其阴性对照(miR-NC)、ATXN7L3过表达质粒(pcDNA-ATXN7L3)及其阴性对照(pcDNA-NC)由上海吉玛制药公司提供; 细胞计数试剂盒(cell counting kit, CCK-8)试剂盒、放射免疫沉淀测定(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解液、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒购于上海碧云天生物公司; transwell小室购自美国BD公司; 兔源ATXN7L3、CyclinD1、MMP2、MMP9、 β -actin抗体以及山羊抗兔二抗购自美国Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: GES-1、HGC-27、AGS、NUGC-4分别采用补充10%北美优质胎牛血清、1%青链霉素双抗溶液的DMEM培养基、DMEM高糖培养基、F12K培养基、RPMI-1640培养基于含95%空气、5%CO₂、70%湿度、37℃恒温培养箱中培养。当细胞密度达80%-90%时,按照1:2比例进行传代培养。

1.2.2 RT-qPCR检测ASB16-AS1、miR-670-3p和ATXN7L3 mRNA表达: 用TRIzol试剂分别提取GES-1、HGC-27、AGS和NUGC-4细胞的总RNA,用紫外分光光度计进行定量。为检测miR-670-3p表达,利用miScript逆转录试剂盒合成cDNA,以U6为内参,miScript SYBR green PCR试剂盒进行qPCR分析miR-670-3p表达。为检测ASB16-AS1、ATXN7L3 mRNA表达,利用PrimeScript逆转录试剂盒合成cDNA,以 β -actin为内参,使用SYBR Premix Ex Taq进行qPCR。2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法分析ASB16-AS1、miR-670-3p和ATXN7L3 mRNA的相对表达水平。GAPDH上游引物5'-GCCTGCTTCACCACTTCT-3',下游引物5'-GAACGGGAAGCTCACTGG-3'; ASB16-AS1上游引物5'-CGGCCCTGAGGCAAACATAC-3',下游引物5'-TGAAACACTGCGCCAACTTC-3'; ATXN7L3上游引物5'-CAGGCACTTCTCCAGATGGG-3',下游引物5'-CGGGCTTGACATCTTTGGA-3'; U6上游引物5'-GACAGATTCCGGTCTGTGGCAC-3',下游引物5'-GATTACCCGTCGGCCATCGATC-3'; miR-670-3p上游引物5'-CTGATCGTGAGGAGAGTGT-3',下游引物5'-GGTCTTCGACATCGGGGCGG-3'。

下游引物5'-CTGATCGTGAGGAGAGTGT-3',下游引物5'-GGTCTTCGACATCGGGGCGG-3'。

1.2.3 细胞转染和实验分组: 取2×10⁵个对数期HGC-27细胞接种到6孔板,当细胞密度达到60%时,按照Lipofectamine 2000使用说明书将si-NC、si-ASB16-AS1、miR-NC、miR-670-3p、si-ATXN7L3、si-ASB16-AS1+anti-miR-NC、si-ASB16-AS1+anti-miR-670-3p、si-ASB16-AS1+pcDNA-NC、si-ASB16-AS1+pcDNA-ATXN7L3分别转染HGC-27细胞,依次记为si-NC组、si-ASB16-AS1组、miR-NC组、miR-670-3p组、si-ATXN7L3组、si-ASB16-AS1+anti-miR-NC组、si-ASB16-AS1+anti-miR-670-3p组、si-ASB16-AS1+pcDNA-NC组、si-ASB16-AS1+pcDNA-ATXN7L3组,6 h后更换为新鲜细胞培养液,转染48 h时,收集细胞按照RT-qPCR、western blot步骤检测转染效果,合格后进行细胞活力、迁移侵袭能力检测。

1.2.4 CCK-8法检测细胞增殖活力: 按照每孔2×10³个HGC-27转染细胞接种96孔板,培养48 h后,取20 μ L的CCK-8溶液加入到平板各孔中,48 h后,以空白孔调零,酶标仪测定450 nm处各孔的光密度值。

1.2.5 Transwell实验检测细胞迁移和侵袭: 采用transwell小室测定细胞的侵袭和迁移能力。将包被(侵袭实验)或未包被(迁移实验)基质胶的transwell小室放到24孔板中。采用无血清培养基调整细胞浓度,取200 μ L细胞数约为2×10⁵的细胞悬液加入到transwell上室,取500 μ L含20%胎牛血清的培养基加入到24孔板下室。培养箱孵育24 h,用1%甲醛固定transwell小室底部侵袭和迁移的细胞,并进行结晶紫染色。倒置显微镜观察细胞侵袭、迁移情况,随机选取5个视野进行计数,拍照,以其均值表示细胞侵袭、迁移数量。

1.2.6 Western blot检测ATXN7L3、CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达水平: 使用RIPA裂解液从HGC-27细胞分离总蛋白,用BCA试剂盒测定其浓度。取适量细胞蛋白与上样缓冲液混合,按照每泳道30 μ g蛋白样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,并转移至PVDF膜。用含5%脱脂牛奶的封闭液4℃孵育膜过夜;用含稀释的ATXN7L3 (1:2000)、CyclinD1 (1:1000)、MMP2 (1:500)和MMP9 (1:1000)一抗溶液室温下孵育膜2 h; IgG二抗室温孵育膜2 h。增强型化学发光试剂盒暗室显色后,以 β -actin为内参,用凝胶成像系统分析目的条带灰度值。

1.2.7 双荧光素酶报告基因实验: 将含有miR-670-3p结合位点的野生型(wild type, WT)或突变型(mutant type, MUT) ASB16-AS1序列或ATXN7L3-3'-UTR序列插入pmirGLO质粒,构建成WT-ASB16-AS1、MUT-ASB16-AS1、WT-ATXN7L3、MUT-ATXN7L3报告基因,该步

骤由上海吉玛制药公司完成. 将报告基因分别与miR-NC、miR-670-3p mimics共转染到HGC-27细胞, 48 h后, 使用双荧光素酶报告基因测定系统测量HGC-27细胞荧光素酶活性. 为确定ASB16-AS1对miR-670-3p调控作用, 将pcDNA-NC、pcDNA-ASB16-AS1、si-NC、si-ASB16-AS1分别转染HGC-27细胞, 48 h后采用RT-qPCR检测miR-670-3p表达. 为确定miR-670-3p对ATXN7L3的调控作用, 将miR-NC、miR-670-3p、anti-miR-NC、anti-miR-670-3p分别转染HGC-27细胞, 8 h后采用western blot检测ATXN7L3蛋白表达.

统计学处理 统计分析采用SPSS 20.0软件进行. 每组设置3个平行实验, 重复3次, 计量资料以mean±SD表示. 采用学生t检验分析两组间差异; 采用单因素方差分析分析多组间差异, 进一步两两比较采用SNK-q检验. $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 GC细胞中lncRNA ASB16-AS1、miR-670-3p、ATXN7L3表达情况 与人胃黏膜细胞GES-1比较, GC细胞HGC-27、AGS、NUGC-4中ASB16-AS1、ATXN7L3 mRNA和ATXN7L3蛋白的表达水平显著升高, miR-670-3p的表达水平显著降低($P<0.05$), 见表1和图1. 选择ASB16-AS1和ATXN7L3表达最高、miR-670-3p表达最低的HGC-27细胞进行后续实验.

2.2 抑制lncRNA ASB16-AS1表达对GC细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响 与si-NC组比较, si-ASB16-AS1组HGC-27细胞ASB16-AS1的表达水平显著降低($P<0.05$), 提示HGC-27细胞中ASB16-AS1表达受到抑制. 抑制ASB16-AS1表达后HGC-27细胞CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达显著降低, 细胞活力、细胞迁移和侵袭数量显著降低($P<0.05$), 见表2和图2.

2.3 过表达miR-670-3p对GC细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响 与miR-NC组比较, miR-670-3p组HGC-27细胞miR-670-3p的表达水平显著升高($P<0.05$), 提示HGC-27细胞miR-670-3p的表达得到上调. 过表达miR-670-3p后HGC-27细胞CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达显著降低, 细胞活力、细胞迁移和侵袭数量显著降低($P<0.05$), 见表3和图3.

2.4 抑制ATXN7L3表达对GC细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响 与si-NC组比较, si-ATXN7L3组HGC-27细胞ATXN7L3的表达显著降低($P<0.05$), 提示HGC-27细胞ATXN7L3的表达受到抑制. 抑制ATXN7L3表达后HGC-27细胞CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达显著降低, 细胞活力、细胞迁移和侵袭数量显著降低($P<0.05$), 见表4和图4.

2.5 LncRNA ASB16-AS1靶向miR-670-3p, miR-670-3p靶向ATXN7L3 Starbase预测显示, miR-670-3p与ASB16-AS1、ATXN7L3 3'-UTR区域存在部分连续结合的核苷酸序列, 见图5A和B. 双荧光素酶报告基因实验显示, miR-670-3p mimics和WT-ASB16-AS1(或WT-ATXN7L3)共转染组HGC-27细胞的荧光素酶活性较miR-NC和WT-ASB16-AS1(或WT-ATXN7L3)共转染组显著降低($P<0.05$); 而miR-670-3p mimics和MUT-ASB16-AS1(或MUT-ATXN7L3)共转染组HGC-27细胞的荧光素酶活性与miR-NC和MUT-ASB16-AS1(或MUT-ATXN7L3)共转染组比较无显著变化, 见表5和表6. RT-qPCR检测显示, pcDNA-ASB16-AS1组HGC-27细胞miR-670-3p的表达较pcDNA-NC组显著降低; 而si-ASB16-AS1组HGC-27细胞miR-670-3p的表达较si-NC组显著升高($P<0.05$), 见表7. Western blot检测显示, miR-670-3p组HGC-27细胞ATXN7L3蛋白表达较miR-NC组显著降低; 而anti-miR-670-3p组HGC-27细胞ATXN7L3蛋白表达较anti-miR-NC组显著升高, 见表8和图5C.

2.6 抑制miR-670-3p表达能够逆转抑制ASB16-AS1对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响 与si-ASB16-AS1+anti-miR-NC组比较, si-ASB16-AS1+anti-miR-670-3p组HGC-27细胞miR-670-3p的表达显著降低, CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达显著升高, 细胞活力、细胞迁移和侵袭数量显著升高($P<0.05$), 见表9和图6.

2.7 过表达ATXN7L3能够逆转抑制ASB16-AS1对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响 与si-ASB16-AS1+pcDNA-NC组比较, si-ASB16-AS1+pcDNA-ATXN7L3组HGC-27细胞ATXN7L3、CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达显著升高, 细胞活力、细胞迁移和侵袭数量显著升高($P<0.05$), 见表10和图7.

3 讨论

GC是最常见的威胁生命的恶性肿瘤之一, 其局部或全身转移是导致GC患者预后不良的重要原因^[7]. 因此, 深入了解GC发生、转移的分子机制开辟新的GC治疗方法至关重要.

ASB16-AS1是近年发现的抑癌基因, 骨肉瘤组织和细胞系中ASB16-AS1表达上调, ASB16-AS1表达升高与患者肿瘤大小、肿瘤淋巴结转移分期、远处转移有关, ASB16-AS1通过与miR-760相互作用上调肝癌衍生生长因子表达促进骨肉瘤的恶性表型^[8]. 宫颈癌中ASB16-AS1亦呈高表达, 敲减ASB16-AS1能够降低宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力^[9]. 在肝癌中ASB16-AS1通过与miR-1827相互作用促进卷曲蛋白4基因表达最终激活Wnt/ β -catenin通路促进肝癌的生长和转移^[10]. 与上述恶

表 1 胃癌细胞系中lncRNA ASB16-AS1、ATXN7L3和miR-670-3p表达量(mean ± SD, n = 9)

组别	lncRNA ASB16-AS1	miR-670-3p	ATXN7L3 mRNA	ATXN7L3 protein
GES-1	1.00 ± 0.11	1.02 ± 0.12	1.03 ± 0.14	0.42 ± 0.04
HGC-27	3.59 ± 0.30 ^b	0.38 ± 0.03 ^b	2.79 ± 0.24 ^b	0.97 ± 0.09 ^b
AGS	3.05 ± 0.28 ^b	0.45 ± 0.04 ^b	2.37 ± 0.22 ^b	0.86 ± 0.07 ^b
NUGC-4	2.38 ± 0.21 ^b	0.52 ± 0.05 ^b	1.89 ± 0.16 ^b	0.76 ± 0.06 ^b
<i>F</i>	200.618	156.789	135.905	111.742
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000

^b*P* < 0.01, 与人胃黏膜细胞GES-1比较.

表 2 抑制lncRNA ASB16-AS1表达对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	lncRNA ASB16-AS1	CyclinD1	MMP2	MMP9	OD _{450 nm}	细胞迁移数量	细胞侵袭数量
si-NC	1.00 ± 0.12	1.02 ± 0.10	0.83 ± 0.08	0.76 ± 0.07	0.813 ± 0.10	181.27 ± 18.27	141.05 ± 14.11
si-ASB16-AS1	0.44 ± 0.04 ^b	0.42 ± 0.04 ^b	0.37 ± 0.03 ^b	0.32 ± 0.04 ^b	0.402 ± 0.08 ^b	86.39 ± 8.07 ^b	66.49 ± 6.52 ^b
<i>t</i>	13.282	16.713	16.152	16.373	9.628	14.251	14.391
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

^b*P* < 0.01, 与si-NC比较.

表 3 过表达miR-670-3p对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-670-3p	CyclinD1	MMP2	MMP9	OD _{450 nm}	细胞迁移数量	细胞侵袭数量
miR-NC	1.00 ± 0.11	1.02 ± 0.10	0.85 ± 0.08	0.74 ± 0.07	0.821 ± 0.09	178.11 ± 17.24	138.27 ± 13.42
miR-670-3p	2.67 ± 0.22 ^b	0.48 ± 0.05 ^b	0.40 ± 0.03 ^b	0.35 ± 0.04 ^b	0.457 ± 0.05 ^b	96.08 ± 9.13 ^b	72.13 ± 7.08 ^b
<i>t</i>	-20.369	14.490	15.801	14.512	10.606	12.615	13.077
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

^b*P* < 0.01, 与miR-NC比较.

表 4 抑制ATXN7L3表达对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	ATXN7L3	CyclinD1	MMP2	MMP9	OD _{450 nm}	细胞迁移数量	细胞侵袭数量
si-NC	0.95 ± 0.10	0.98 ± 0.09	0.85 ± 0.08	0.72 ± 0.07	0.815 ± 0.10	185.11 ± 15.22	146.78 ± 14.07
si-ATXN7L3	0.40 ± 0.03 ^b	0.43 ± 0.04 ^b	0.37 ± 0.03 ^b	0.42 ± 0.04 ^b	0.395 ± 0.08 ^b	86.26 ± 8.35 ^b	80.88 ± 7.02 ^b
<i>t</i>	15.804	16.753	16.854	11.163	9.839	17.082	12.573
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

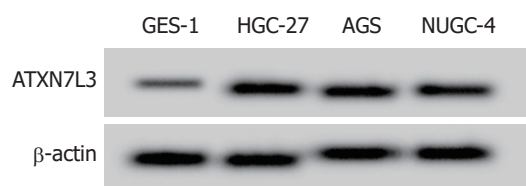
^b*P* < 0.01, 与si-NC比较.

图 1 Western Blot检测ATXN7L3蛋白的表达.

性肿瘤研究结果一致, 本研究发现3种GC细胞中ASB16-AS1的表达显著升高. 选择HGC-27细胞进行功能分析发现, 抑制ASB16-AS1表达可降低HGC-27细胞增殖活力、迁移和侵袭能力. 此外, 抑制ASB16-AS1表达还可降低促增殖蛋白CyclinD1、促迁移侵袭蛋白MMP2和MMP9的表达水平. 以上结果表明ASB16-AS1在GC中

表 5 miR-NC或miR-670-3p与ASB16-AS1野生型及突变型报告质粒共转染HGC-27细胞后双荧光素酶活性检测(mean ± SD, n = 9)

组别	荧光素酶活性	
	WT-ASB16-AS1	MUT-ASB16-AS1
miR-NC	1.00 ± 0.12	1.04 ± 0.13
miR-670-3p	0.45 ± 0.04 ^b	1.01 ± 0.11
<i>t</i>	13.044	0.528
<i>P</i> 值	0.000	0.604

^b*P*<0.01, 与miR-NC比较.

表 6 实时荧光定量PCR检测miR-670-3p 的表达(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-670-3p
pcDNA-NC	1.00 ± 0.14
pcDNA-ASB16-AS1	0.48 ± 0.05 ^b
si-NC	1.02 ± 0.10
si-ASB16-AS1	1.42 ± 0.15 ^d
<i>F</i>	97.934
<i>P</i> 值	0.000

^b*P*<0.01, 与pcDNA-NC比较; ^d*P*<0.01, 与si-NC比较.

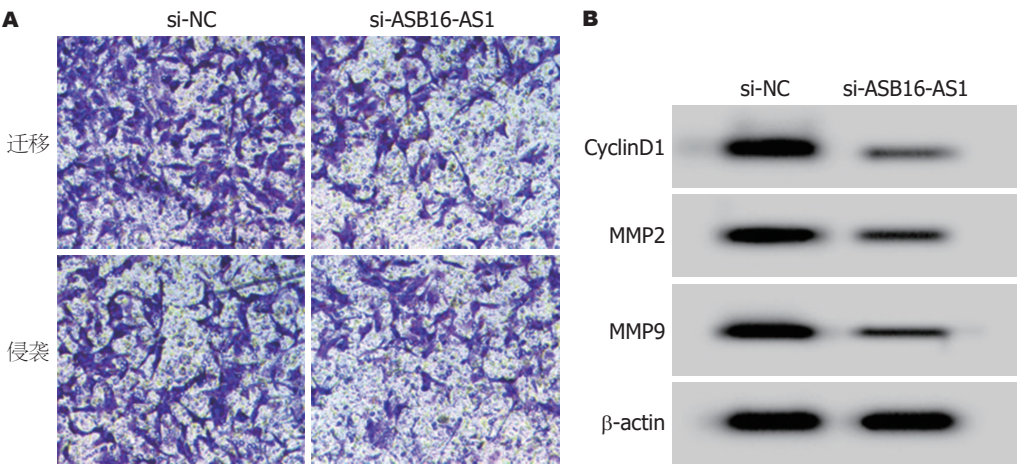


图 2 抑制lncRNA ASB16-AS1表达对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响. A: Transwell检测细胞的迁移和侵袭; B: Western Blot检测CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达.

发挥抑癌基因作用, 抑制ASB16-AS1表达可有效抑制GC细胞的增殖和侵袭转移.

大量研究证实, lncrna通过与微小RNA竞争性结合, 作为竞争性内源RNA调控肿瘤相关基因表达参与多种恶性肿瘤发生发展^[11,12]. 为探讨ASB16-AS1在GC中的调控机制, 采用生物信息学数据库Starbase在线预测发现ASB16-AS1与miR-670-3p之间存在相互作用. 既往研究显示, 肝癌中miR-670-3p表达下调可促进肝癌的细胞增殖和侵袭^[13]. 本研究发现3种GC细胞中miR-670-3p表达

显著降低, 过表达miR-670-3p可降低HGC-27细胞增殖活力、迁移和侵袭能力, 并影响增殖、迁移和侵袭蛋白表达水平. 此外, ASB16-AS1对miR-670-3p具有靶向负调控作用, 且抑制miR-670-3p表达能够部分逆转抑制ASB16-AS1对GC细胞增殖、迁移和侵袭的影响. 以上研究表明, ASB16-AS1通过调控miR-670-3p在GC中发挥致癌基因作用.

为探讨miR-670-3p在GC中的作用机制, 通过Starbase在线分析发现miR-670-3p与ATXN7L3直接作

表 7 miR-NC或miR-670-3p与ATXN7L3-3'UTR野生型及突变型报告质粒共转染HGC-27细胞后双荧光素酶活性检测(mean \pm SD, $n = 9$)

组别	荧光素酶活性	
	WT-ATXN7L3	MUT-ATXN7L3
miR-NC	1.00 \pm 0.13	1.02 \pm 0.10
miR-670-3p	0.44 \pm 0.04 ^b	0.97 \pm 0.08
<i>t</i>	12.352	1.171
<i>P</i> 值	0.000	0.259

^b $P < 0.01$, 与miR-NC比较.表 8 Western Blot检测ATXN7L3蛋白表达(mean \pm SD, $n = 9$)

组别	ATXN7L3
miR-NC	0.94 \pm 0.10
miR-670-3p	0.42 \pm 0.04 ^b
anti-miR-NC	0.96 \pm 0.07
anti-miR-670-3p	1.35 \pm 0.14 ^d
<i>F</i>	145.222
<i>P</i> 值	0.000

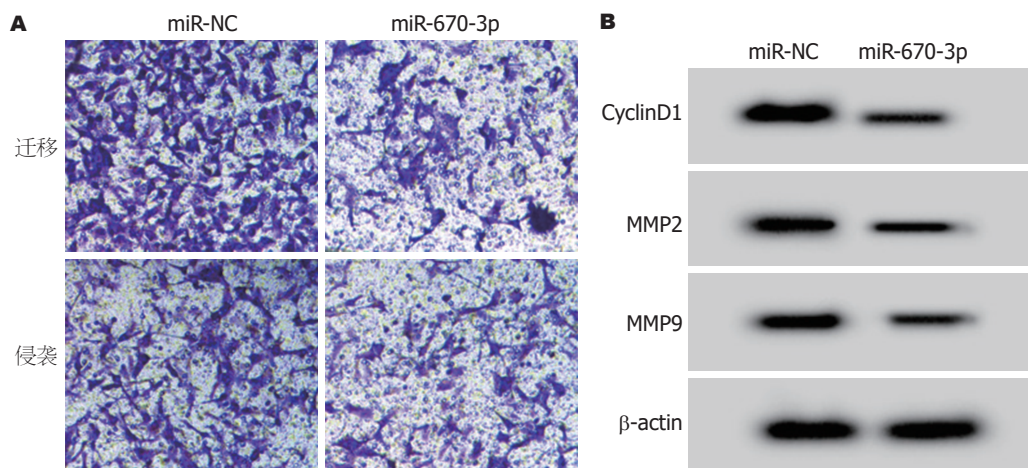
^b $P < 0.01$, 与miR-NC比较, ^d $P < 0.01$; 与anti-miR-NC比较.

图 3 过表达miR-670-3p对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响. A: Transwell检测细胞的迁移和侵袭; B: Western Blot检测CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达.

用. 已有研究表明ATXN7L3和ENY2介导多种去泛素化酶的活性在细胞增殖和肿瘤生长中起关键作用^[14]. let-7b和let-7c通过靶向ATXN7L3促进组蛋白2B泛素化可抑制癌细胞的迁移能力^[15]. 此外, DSCAM-AS1靶向miR-877-5p上调ATXN7L3表达参与宫颈癌的发生^[16]. 本研究发现3种GC细胞中ATXN7L3的表达显著升高, 抑制ATXN7L3表达可降低HGC-27细胞增殖活力、迁移和侵袭能力, 并影响增殖、迁移和侵袭蛋白表达水平. 同时, 双荧光素酶报告基因实验、western blot证实miR-

670-3p对ATXN7L3表达具有靶向负调控作用. 此外, 过表达ATXN7L3还能够逆转抑制miR-670-3p对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响. 基于以上结果, 本研究推测ASB16-AS1通过发挥miR-877-5p竞争性内源RNA作用上调ATXN7L3表达进而影响GC细胞的生物学行为.

综上, lncRNA ASB16-AS1在GC中具有致癌作用, 抑制ASB16-AS1可抑制GC细胞的增殖、迁移和侵袭, 其机制与调控miR-670-3p/ATXN7L3轴有关. 因此, ASB16-AS1有望成为GC的潜在治疗靶点.

表 9 下调miR-670-3p 能够逆转ASB16-AS1低表达对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-670-3p	CyclinD1	MMP2	MMP9	OD _{450 nm}	细胞迁移数量	细胞侵袭数量
si-ASB16-AS1+anti-miR-NC	1.00 ± 0.08	0.40 ± 0.04	0.35 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.397 ± 0.05	82.04 ± 8.22	62.11 ± 6.05
si-ASB16-AS1+anti-miR-670-3p	0.46 ± 0.04 ^b	0.90 ± 0.10 ^b	0.73 ± 0.06 ^b	0.65 ± 0.07 ^b	0.689 ± 0.07 ^b	162.43 ± 16.07 ^b	123.59 ± 12.08 ^b
<i>t</i>	18.112	13.927	16.994	13.024	10.079	13.361	-13.652
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

^b*P*<0.01, 与si-ASB16-AS1+anti-miR-NC比较.

表 10 过表达ATXN7L3能够逆转抑制ASB16-AS1对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	ATXN7L3	CyclinD1	MMP2	MMP9	OD _{450 nm}	细胞迁移数量	细胞侵袭数量
si-ASB16-AS1+pcDNA-NC	0.46 ± 0.04	0.39 ± 0.03	0.33 ± 0.04	0.31 ± 0.02	0.406 ± 0.08	80.77 ± 8.05	65.81 ± 6.08
si-ASB16-AS1+pcDNA-ATXN7L3	0.82 ± 0.08 ^b	0.80 ± 0.08 ^b	0.70 ± 0.07 ^b	0.62 ± 0.06 ^b	0.734 ± 0.09 ^b	151.36 ± 15.10 ^b	117.24 ± 11.22 ^b
<i>t</i>	12.075	14.396	13.768	14.705	8.172	12.376	12.090
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

^b*P*<0.01, 与si-ASB16-AS1+anti-miR-NC比较.

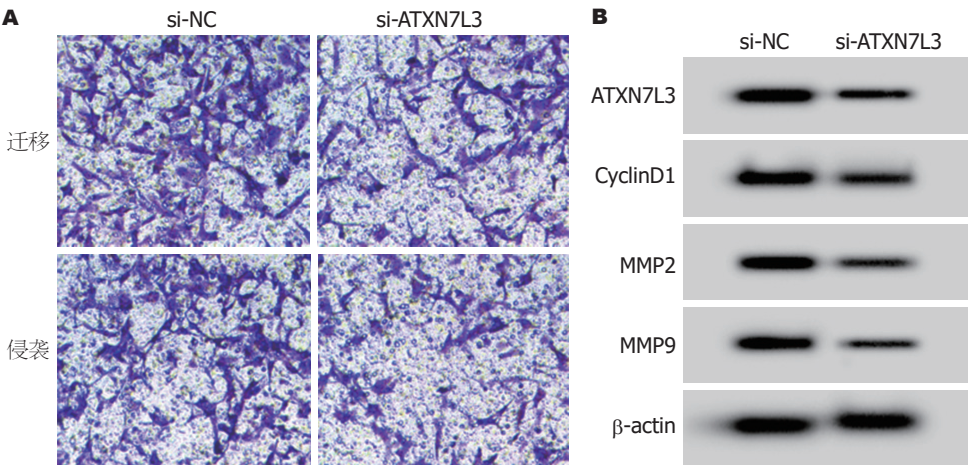


图 4 抑制ATXN7L3表达对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响. A: Transwell检测细胞的迁移和侵袭; B: Western Blot检测ATXN7L3、CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达.

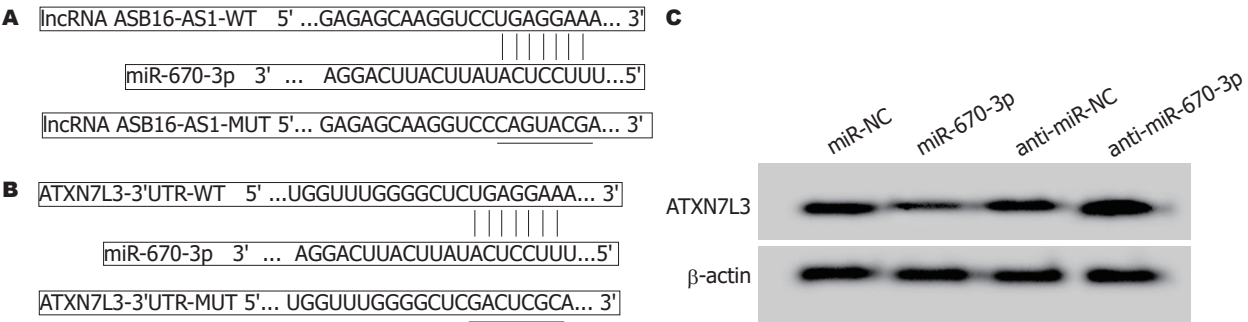


图 5 lncRNA ASB16-AS1靶向miR-670-3p, miR-670-3p 靶向ATXN7L3. A: Starbase对miR-670-3p 和lncRNA ASB16-AS1 结合进行预测示意图; B: Starbase对ATXN7L3和miR-670-3p 结合进行预测示意图; C: Western Blot检测ATXN7L3蛋白表达.

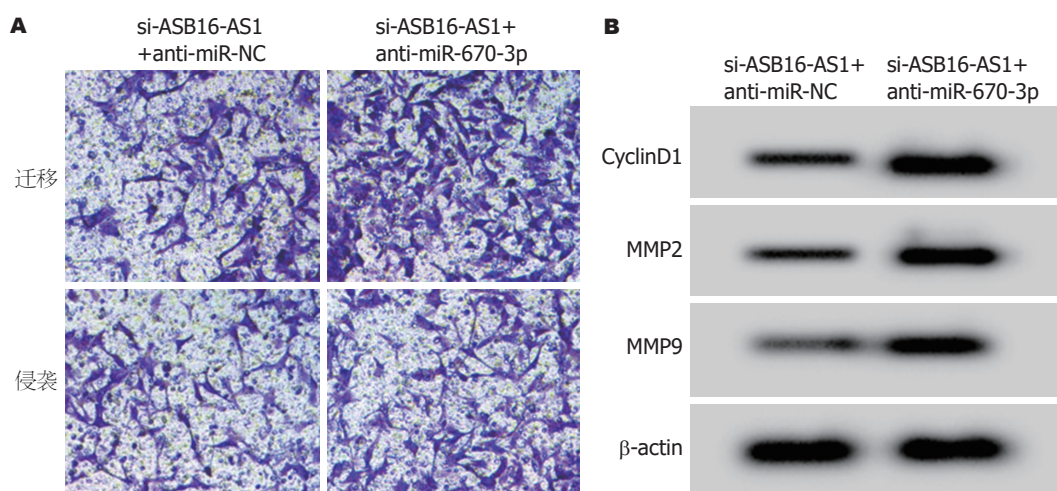


图 6 下调miR-670-3p能够逆转ASB16-AS1低表达对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响. A: Transwell检测细胞的迁移和侵袭; B: Western Blot检测CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达.

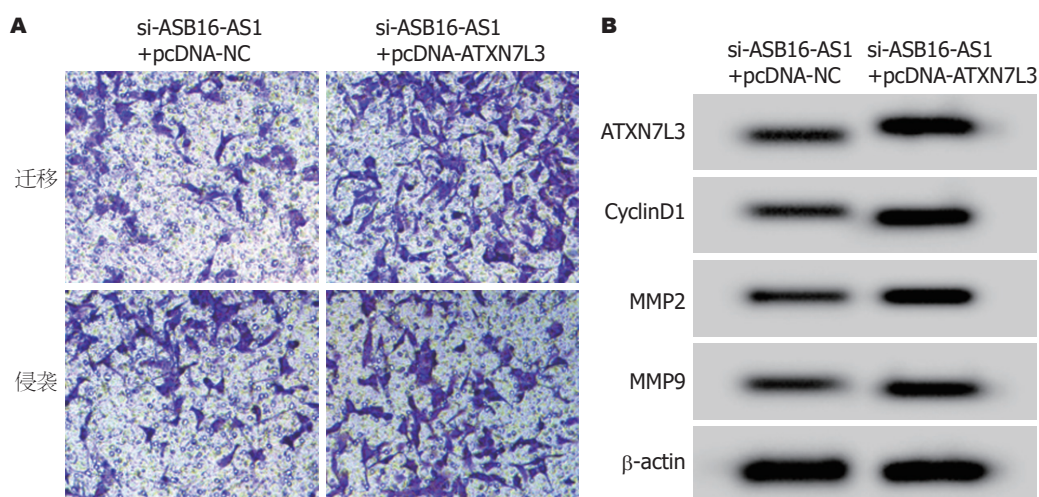


图 7 过表达ATXN7L3能够逆转抑制ASB16-AS1对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响. A: Transwell检测细胞的迁移和侵袭; B: Western Blot检测ATXN7L3、CyclinD1、MMP2和MMP9蛋白表达.

文章亮点

实验背景

我国胃癌(gastric cancer, GC)发病率呈逐年升高趋势. 长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNAs)在胃癌的发生发展中具有重要作用, 筛选影响GC进展的lncRNAs, 有助于为临床开发新的GC诊疗方法提供线索.

实验动机

ASB16-AS1在胶质瘤中高表达, 且ASB16-AS1高表达促进胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭, 但ASB16-AS1对GC细胞增殖、迁移和侵袭的影响尚不清楚.

实验目标

本研究旨在检测GC细胞中ASB16-AS1表达水平, 探讨

ASB16-AS1为GC细胞增殖、迁移和侵袭的影响, 并分析其潜在分子机制.

实验方法

采用实时荧光定量PCR检测ASB16-AS1在GC细胞中的表达. 用细胞计数试剂盒和transwell实验评估抑制ASB16-AS1表达对GC细胞增殖、迁移和侵袭的影响. 预测ASB16-AS1靶微小RNA (microRNA, miRNA)以及miRNA下游靶mRNA, 并验证. 最后, 检测ASB16-AS1是否通过调控miRNA/mRNA轴发挥作用.

实验结果

ASB16-AS1在GC细胞中高表达. 抑制ASB16-AS1表达通过靶向调控miR-670-3p/ATXN7L3轴对GC细胞的增殖、迁移和侵袭具有抑制作用.

实验结论

抑制ASB16-AS1表达通过靶向调控miR-670-3p/ATXN7L3轴可抑制GC细胞的增殖、迁移和侵袭。

展望前景

本研究为GC的治疗提供了参考靶点。

4 参考文献

- Nasrollahzadeh-Khakiani M, Emadi-Baygi M, Schulz WA, Nikpour P. Long noncoding RNAs in gastric cancer carcinogenesis and metastasis. *Brief Funct Genomics* 2017; 16: 129-145 [PMID: 27122631 DOI: 10.1093/bfpg/ew011]
- Youn GJ, Chung WC. [Micrometastasis in Gastric Cancer]. *Korean J Gastroenterol* 2017; 69: 270-277 [PMID: 28539031 DOI: 10.4166/kjg.2017.69.5.270]
- 屠欣怡, 宋瑾, 贺福初, 周钢桥. 长链非编码RNA功能的研究进展及其与癌症的关系. *生物物理学报* 2015; 31: 79-89 [DOI: 10.1002/cind.798_11.x]
- Wang G, Wang X, Jin Y. LINC01410/miR-3619-5p/FOXO1 Feedback Loop Regulates Papillary Thyroid Carcinoma Cell Proliferation and Apoptosis. *Cancer Biother Radiopharm* 2019; 34: 572-580 [PMID: 31644316 DOI: 10.1089/cbr.2019.2854]
- Tan LJ, Liu JT, Yang M, Ju T, Zhang YS. LncRNA ASB16-AS1 promotes proliferation and inhibits apoptosis of non small cell lung cancer cells by activating the Wnt/ β catenin signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24: 1870-1876 [PMID: 32141556 DOI: 10.26355/eurrev_202002_20365]
- Zhang D, Zhou H, Liu J, Mao J. Long Noncoding RNA ASB16-AS1 Promotes Proliferation, Migration, and Invasion in Glioma Cells. *Biomed Res Int* 2019; 2019: 5437531 [PMID: 30949502 DOI: 10.1155/2019/5437531]
- Lin MT, Song HJ, Ding XY. Long non-coding RNAs involved in metastasis of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 3724-3737 [PMID: 30197478 DOI: 10.3748/wjg.v24.i33.3724]
- Yin R, Liu J, Zhao D, Wang F. Long Non-Coding RNA ASB16-AS1 Functions as a miR-760 Sponge to Facilitate the Malignant Phenotype of Osteosarcoma by Increasing HDGF Expression. *Onco Targets Ther* 2020; 13: 2261-2274 [PMID: 32214826 DOI: 10.2147/OTT.S240022]
- Liu W, Zhuang R, Feng S, Bai X, Jia Z, Kapora E, Tan W. Long non-coding RNA ASB16-AS1 enhances cell proliferation, migration and invasion via functioning as a ceRNA through miR-1305/Wnt/ β -catenin axis in cervical cancer. *Biomed Pharmacother* 2020; 125: 109965 [PMID: 32058219 DOI: 10.1016/j.biopha.2020.109965]
- Yao X, You G, Zhou C, Zhang D. LncRNA ASB16-AS1 Promotes Growth And Invasion Of Hepatocellular Carcinoma Through Regulating miR-1827/FZD4 Axis And Activating Wnt/ β -Catenin Pathway. *Cancer Manag Res* 2019; 11: 9371-9378 [PMID: 31807066 DOI: 10.2147/CMAR.S220434]
- Dong D, Mu Z, Wei N, Sun M, Wang W, Xin N, Shao Y, Zhao C. Long non-coding RNA ZFAS1 promotes proliferation and metastasis of clear cell renal cell carcinoma via targeting miR-10a/SKA1 pathway. *Biomed Pharmacother* 2019; 111: 917-925 [PMID: 30841471 DOI: 10.1016/j.biopha.2018.12.143]
- Zhong Y, Li Y, Song T, Zhang D. MiR-718 mediates the indirect interaction between lncRNA SEMA3B-AS1 and PTEN to regulate the proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *Physiol Genomics* 2019; 51: 500-505 [PMID: 31251699 DOI: 10.1152/physiolgenomics.00019.2019]
- Fu Y, Cai L, Lei X, Wang D. Circular RNA ABCB10 promotes hepatocellular carcinoma progression by increasing HMG20A expression by sponging miR-670-3p. *Cancer Cell Int* 2019; 19: 338 [PMID: 31889891 DOI: 10.1186/s12935-019-1055-z]
- Atanassov BS, Mohan RD, Lan X, Kuang X, Lu Y, Lin K, McIvor E, Li W, Zhang Y, Florens L, Byrum SD, Mackintosh SG, Calhoun-Davis T, Koutelou E, Wang L, Tang DG, Tackett AJ, Washburn MP, Workman JL, Dent SY. ATXN7L3 and ENY2 Coordinate Activity of Multiple H2B Deubiquitinases Important for Cellular Proliferation and Tumor Growth. *Mol Cell* 2016; 62: 558-571 [PMID: 27132940 DOI: 10.1016/j.molcel.2016.03.030]
- Spolverini A, Fuchs G, Bublik DR, Oren M. let-7b and let-7c microRNAs promote histone H2B ubiquitylation and inhibit cell migration by targeting multiple components of the H2B deubiquitylation machinery. *Oncogene* 2017; 36: 5819-5828 [PMID: 28604753 DOI: 10.1038/onc.2017.187]
- Liang J, Zhang S, Wang W, Xu Y, Kawuli A, Lu J, Xiu X. Long non-coding RNA DSCAM-AS1 contributes to the tumorigenesis of cervical cancer by targeting miR-877-5p/ATXN7L3 axis. *Biosci Rep* 2020; 40: BSR20192061 [PMID: 31737900 DOI: 10.1042/BSR20192061]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

