

环状 RNA-VANGL1 对胃癌细胞增殖和凋亡的作用及机制研究

谢津璧¹, 王善娟¹, 郭润生², 张丽航¹, 刘艳丽¹

(1. 上海健康医学院附属嘉定区中心医院消化内科, 上海 201800; 2. 上海健康医学院附属嘉定区中心医院普外科, 上海 201800)

【摘要】目的 探讨环状 RNA-VANGL1(circ_VANGL1)对胃癌细胞增殖和凋亡的影响,并初步探讨其中的分子机制。方法 采用 qRT-PCR 检测 circ_VANGL1 在胃癌组织和细胞中的表达水平,并分析 circ_VANGL1 与患者临床病理因素如年龄、性别、肿瘤体积、病理分型、分期、淋巴结转移之间的相关性。构建携带 circ_VANGL1 全长序列的慢病毒(Lenti-circ_VANGL1)和携带 circ_VANGL1 shRNA 的慢病毒(Lenti-circ_VANGL1-shRNA)分别转染胃癌细胞株(NCI-N87 和 HGC-27)。CCK-8 实验检测 circ_VANGL1 表达上调或下调后 NCI-N87 和 HGC-27 细胞的增殖变化。Annexin V/PI 实验检测 circ_VANGL1 表达上调或下调后 NCI-N87 和 HGC-27 细胞凋亡的变化。JC-1 法检测 circ_VANGL1 表达上调或下调后 NCI-N87 和 HGC-27 细胞线粒体势能变化。Western 印迹法检测 Fas、FADD、bax、bcl-2、细胞色素 C 以及 Caspase-3 活性片段的蛋白表达变化。**结果** circ_VANGL1 在胃癌组织中表达显著高于癌旁组织,且其表达水平与肿瘤体积、分期和淋巴结转移显著正相关。Lenti-circ_VANGL1 可以上调 NCI-N87 和 HGC-27 细胞内 circ_VANGL1 表达并促进细胞增殖;Lenti-circ_VANGL1-shRNA 可以下调 circ_VANGL1 表达并诱导细胞凋亡。Lenti-circ_VANGL1-shRNA 可以导致细胞线粒体膜势能降低。Lenti-circ_VANGL1-shRNA 可以促进 Fas 细胞表面死亡受体(Fas cell surface death receptor, Fas)、Fas 相关蛋白死亡结构域(Fas associated via death domain, FADD)、bax(BCL2 associated X)、胞质细胞色素 C(cytoplasmic cytochrome C)以及 Caspase-3 活性片段表达增高,降低 bcl-2 和线粒体细胞色素 C 蛋白表达。miRDB 软件显示 circ_VANGL1 存在 12 个潜在的靶 miRNAs,其中 miR-605-3p、miR-377-5p、miR-4468 以及 miR-5008-5p 等 4 个 miRNAs 的表达在 circ_VANGL1 表达下调后显著增高。**结论** circ_VANGL1 在胃癌中表达异常增高,参与调控胃癌细胞的增殖和凋亡,在胃癌发生发展过程中发挥重要作用。

【关键词】环状 RNA-VANGL1; 胃癌; 细胞增殖; 细胞凋亡

【中图分类号】R735.2 **【文献标志码】**A **【文章编号】**1008-0392(2019)03-0281-07

Effects of circular RNA VANGL1 on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells

XIE Jin-bi¹, WANG Shan-juan¹, GUO Run-sheng², ZHANG Li-hang¹, LIU Yan-li¹

(1. Dept. of Gastroenterology, Jiading District Central Hospital, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201800, China; 2. Dept. of General Surgery, Jiading District Central Hospital, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201800, China)

【Abstract】Objective To investigate the effects of circular RNA VANGL1 (circ-VANGL1) on the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells and its mechanisms. **Methods** Real-time polymerase

收稿日期: 2018-10-21

基金项目: 上海市嘉定区医学重点学科(2017ZD01); 上海市科委西医引导类课题(15411970500)

作者简介: 谢津璧(1980—)女,主治医师,硕士研究生.E-mail: 916630536@qq.com

通信作者: 郭润生.E-mail: grs982600@163.com

chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression of circ-VANGL1 in the gastric cancer tissues and gastric cancer cell lines. The correlation of circ-VANGL1 expression with clinicopathological features of gastric cancer was analyzed. The lentivirus containing circ-VANGL1 full length transcript (Lenti-circ-VANGL1) and containing circ-VANGL1shRNA (Lenti-circ-VANGL1-shRNA) were constructed to upregulate or downregulate the expression of circ-VANGL1 in gastric cancer NCI-N87 and HGC-27 cells. CCK-8 assay was used to examine the viability of NCI-N87 and HGC-27 cells after transfection. Annexin V/PI double staining assay was used to examine the apoptosis of NCI-N87 and HGC-27 cells after transfection. JC-1 assay was used to examine the mitochondrial membrane potential of NCI-N87 and HGC-27 cells after transfection. Western blotting was used to examine the expression of Fas, FADD, bax, bcl-2, cytochrome C and cleaved caspase-3 after transfection. **Results** The expression of circ-VANGL1 was upregulated in gastric cancer tissues, and it was positively correlated with tumor size, TNM stage and lymph node metastasis. Lenti-circ-VANGL1 promoted the proliferation of NCI-N87 and HGC-27 cells, while Lenti-circ-VANGL1-shRNA promoted apoptosis of NCI-N87 and HGC-27 cells. Lenti-circ-VANGL1-shRNA decreased the mitochondrial membrane potential of NCI-N87 and HGC-27 cells. Lenti-circ-VANGL1-shRNA increased the expression of Fas, FADD, bax, cytosolic cytochrome C and cleaved caspase-3, and decreased the expression of bcl-2 and mitochondrial cytochrome C. The prediction with miRDB software showed that circ-VANGL1 had 12 target miRNAs, and miR-605-3p, miR-377-5p, miR-4468, miR-5008-5p expression was significantly increased after circ-VANGL1 silencing. **Conclusion** The abnormal expression of circ-VANGL1 in gastric cancer may be involved in regulating the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells.

【Key words】 circ-VANGL1; gastric cancer; proliferation; apoptosis

胃癌是世界上第五大肿瘤,据统计,3/4新发病例位于亚洲,而中国新发病例占亚洲一半以上^[1-2]。由于早期胃癌发病隐匿,加之胃镜等早期筛查在国内开展不普遍,多数患者在出现症状时才前往医院就诊,而此时部分患者已经处于中晚期,丧失根治性手术的机会。研究胃癌发病机制对于提高其早期诊断率,改善治疗效果具有重要意义。近年来,非编码RNA与肿瘤之间的关系备受瞩目。环状RNA(circular RNA, circRNA)是一类双链闭合的非编码RNA,由外显子、内含子或二者反向剪接共同组成,无3'帽子结构及5'poly A尾,长度从几百到几千不等,不受RNA外切酶降解,稳定且广泛地存在于生物的细胞质、细胞核、外泌体中,具有进化保守性^[3-4]。现已发现多个与胃癌发生发展相关的circRNA,它们主要通过调控其靶基因表达进而发挥促进或抑制肿瘤发生发展的作用。如circRNA_0023642在胃癌组织中表达异常增高,可以调控癌细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)进而促进胃

癌细胞迁移和侵袭,提示其具有促癌作用^[5];而circRNA_PVRL3在胃癌中表达显著降低,并且沉默其表达可以促进胃癌细胞增殖和迁移,提示其具有抑癌作用^[6]。近期一项研究发现circ-VANGL1可以促进膀胱癌的发生发展^[7],但circ_VANGL1与胃癌之间的关系尚未见报道。本研究就circ_VANGL1与胃癌发生发展之间的关系进行探讨。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集2016年1月—2018年1月于上海健康医学院附属嘉定区中心医院普外科行胃癌根治术患者100例,切取至少1 cm³肿瘤组织及距肿瘤2 cm以上区域癌旁组织。术后将每例样本迅速置于液氮中保存,用于RNA提取和qRT-PCR检测。以癌旁组织作为阴性对照。所有患者均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂

DMEM高糖细胞培养基购自美国Gibco公司;

胎牛血清购自美国 Hyclone 公司; TRIzol 裂解液购自美国 Sigma 公司; PCR 引物由上海生物工程技术服务公司合成; 反转录试剂盒购自日本 TaKaRa 公司; Annexin V-FITC/PI 双染试剂盒购自美国 BD 公司; 蛋白提取试剂盒购自中国碧云天公司; PVDF 膜购自美国 Millipore 公司; 一抗和二抗购自美国 Santa Cruz 公司; ECL 化学发光试剂盒购自美国 Pierce 公司; X-OMAT-Blue film 购自美国 Kodak 公司; 荧光定量 PCR 仪 7500 购自美国 ABI 公司; 细胞培养箱 (ERAccl BB15) 购自德国 Heraeus 公司; 流式细胞仪 (FACSCanto II) 购自美国 BD 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 胃癌细胞株 NCI-N87 和 HGC-27 均购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。两株细胞采用高糖 DMEM 培养液培养, 添加 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素。细胞培养皿放置在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 的培养箱中。两种细胞均为贴壁生长细胞, 在生长至 80% 融合时进行传代。

1.3.2 慢病毒构建 本研究采用慢病毒转染胃癌细胞上调或下调 circ_VANGL1 的表达水平。携带 circ_VANGL1 全长序列的慢病毒 (Lenti-circ_VANGL1) 和携带 circ_VANGL1 shRNA 的慢病毒 (Lenti-circ_VANGL1-shRNA) 由吉凯基因公司构建, 设计 2 条 shRNA, 序列见表 1。

表 1 circ_VANGL1 引物和 shRNA 序列
Tab. 1 The sequence of circ-VANGL1 primer and shRNA

引物和 shRNA 名称	序列(5'→3')
circ_VANGL1	F: CTTCTACAGCCTGGGACAC R: CTGACCCTCTGCCGTCTTTA
circ_VANGL1 shRNA	F: AGAAUGAGGAGUUUGAAUGCC R: CAUUCAAACUCCUCAUUCUGC
GAPDH	F: GTCAACGGATTGGTCTGTATT R: AGTCTTCTGGGTGGCAGTGAT

1.3.3 qRT-PCR 采用 TRIzol 试剂提取组织和细胞总 RNA, Primer-Script 一步法 RT-PCR 试剂盒反转录成 cDNA。利用 SYBR Premix Dimmer Eraser 试剂盒通过 qRT-PCR 扩增 cDNA, 每个样本的基因表达用内参 GAPDH 均一化。试验重复 3 次, 计算方法为 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法。

1.3.4 CCK-8 实验 将细胞接种于 96 孔板, 分为

对照组、Lenti-circ_VANGL1 处理组和 Lenti-circ_VANGL1-shRNA 处理组。在慢病毒处理 72 h 后, 吸弃上清液, 向每孔加入 10 mL 的 CCK-8 溶液在培养箱内孵育 2 h。用酶标仪测定在 450 nm 处的光密度 (D_{450})。

1.3.5 Annexin V/PI 实验 细胞分组同 1.3.4, 在慢病毒处理 24、48、72 h 后, 用预冷 PBS 洗涤细胞, 4 $^{\circ}$ C 离心 5 min (300 \times g)。收集至少 1 \times 10⁵ 个细胞, 吸弃 PBS, 加入 100 μ L 结合缓冲液重悬细胞, 然后加入 5 μ L Annexin V-FITC 和 10 μ L PI 染色液在避光、室温下孵育 15 min。样品在 15 min 内上流式细胞仪进行荧光检测。

1.3.6 JC-1 实验 JC-1 实验检测 Lenti-circ_VANGL1 和 Lenti-circ_VANGL1-shRNA 对细胞线粒体势能的影响。将细胞接种于 6 孔板, 在慢病毒处理 24、48、72 h 后, 吸弃培养液, 用 PBS 洗涤细胞, 加入 1 mL JC-1 染色工作液, 充分混匀。细胞培养箱中 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min。孵育结束后, 吸除上清液, 用 JC-1 染色缓冲液洗涤 2 次后上流式细胞仪进行荧光检测。

1.3.7 Western 印迹法 收集细胞提取蛋白, 将 25 μ g 蛋白进行电泳后转膜至 PVDF 膜, 经过封闭、一抗孵育、二抗孵育后在暗室中发光、定影、显影。

1.3.8 circ_VANGL1 的 miRNA 靶基因预测 通过 PubMed 网站 (www.pubmed.com) 查询 circ_VANGL1 的全长序列后, 采用 miRDB 在线软件 (<http://mirdb.org/miRDB/index.html>) 对 circ_VANGL1 的 miRNA 靶基因进行预测。

1.4 统计学处理

所有数据采用 SPSS 20.0 进行统计学分析, 所有数据表示为 $\bar{x}\pm s$ 。所有实验均重复 3 次及以上。统计方法根据实验设计分别采用 *t* 检验、单因素为差分析、 χ^2 检验等。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 circ_VANGL1 表达水平与胃癌临床病理因素的相关性分析

qRT-PCR 结果显示, circ_VANGL1 在癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织 (2.329 \pm 0.315 vs 1.032 \pm 0.128), 差异有统计学意义 (P<0.05)。根据表达水平中位值将患者分为两组: 高表达组 (n=

50 例)和低表达组($n=50$ 例)。 χ^2 检验分析, circ_VANGL1 表达水平与性别、年龄、病理类型并无显著关系,但它与肿瘤体积、TNM 分期以及淋巴转移显著相关,见表 2。

表 2 circ_VANGL1 表达水平与临床病理因素的关系
Tab. 2 The relationship of circ-VANGL1 with clinicopathological features

项目	circ_VANGL1		$\chi^2(P)$
	低表达组 ($n=50$)	高表达组 ($n=50$)	
性别			
男($n=70$)	33	37	0.762(0.383)
女($n=30$)	17	13	
年龄			
≥ 60 岁($n=68$)	37	31	1.654(0.198)
< 60 岁($n=32$)	13	19	
肿瘤体积			
≥ 5 cm($n=60$)	22	38	10.667(0.001)
< 5 cm($n=40$)	28	12	
TNM 分期			
I ~ II ($n=48$)	30	18	5.769(0.016)
III ($n=52$)	20	32	
Lauren 分型			
肠型($n=65$)	30	35	1.099(0.295)
弥漫型($n=35$)	20	15	
淋巴转移			
阳性($n=62$)	26	36	4.244(0.039)
阴性($n=38$)	24	14	

2.2 circ_VANGL1 表达水平对胃癌细胞增殖的影响

Lenti-circ_VANGL1 可以上调 NCI-N87 和 HGC-27 细胞内 circ_VANGL1 表达水平;而 Lenti-circ_VANGL1-shRNA 可以下调 circ_VANGL1 表达水平,见表 3。CCK-8 结果显示,经过慢病毒处理 72 h 后, Lenti-circ_VANGL1 可以促进胃癌细胞株 NCI-N87 和 HGC-27 细胞增殖,而 Lenti-circ_VANGL1-shRNA 可以抑制细胞增殖,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 3 NCI-N87 和 HGC-27 细胞中 circ_VANGL1 表达水平
Tab. 3 Expressions of circ_VANGL1 in NCI-N87 and HGC-27 cells

细胞类型	对照组	Lenti-circ_VANGL1	Lenti-circ_VANGL1-shRNA
NCI-N87	0.996±0.104	3.855±0.577 *	0.405±0.038 *
HGC-27	1.034±0.035	4.424±0.738 *	0.341±0.066 *

与对照组相比, * $P < 0.05$

表 4 CCK-8 实验检测 circ_VANGL1 表达水平对胃癌细胞增殖的影响

Tab. 4 Effects of circ_VANGL1 expression on the proliferation of NCI-N87 and HGC-27 cells

细胞类型	对照组	Lenti-circ_VANGL1	Lenti-circ_VANGL1-shRNA
NCI-N87	0.535±0.005	0.746±0.009 *	0.221±0.004 *
HGC-27	0.56±0.004	0.846±0.014 *	0.248±0.013 *

与对照组相比, * $P < 0.05$

2.3 circ_VANGL1 表达水平对胃癌细胞凋亡的影响

经过慢病毒处理 72 h 后, circ_VANGL1 过表达组细胞凋亡比例与对照组相比(NCI-N87: 0.066 ± 0.004 vs 0.065 ± 0.012 ; HGC-27: 0.069 ± 0.010 vs 0.07 ± 0.012), 差异无统计学意义;而 circ_VANGL1 表达下调组细胞凋亡比例显著增高(NCI-N87: 0.171 ± 0.003 ; HGC-27: 0.213 ± 0.002), 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见图 1。

2.4 circ_VANGL1 表达水平对胃癌细胞线粒体势能的影响

线粒体膜电位流式细胞术检测结果显示,在对照组、Lenti-circ_VANGL1 处理组中, NCI-N87 (12.628 ± 1.342 vs 12.725 ± 1.393) 和 HGC-27 (9.275 ± 1.219 vs 9.392 ± 1.067) 细胞内线粒体维持较高的膜电位,红色荧光较强,绿色荧光非常弱;而 Lenti-circ_VANGL1-shRNA 处理组中红色荧光强度逐渐减弱,绿色荧光强度逐渐增强,说明线粒体膜电位下降(NCI-N87: 2.41 ± 0.246 ; HGC-27: 1.41 ± 0.246), 与前两组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$), 见图 2。

2.5 circ_VANGL1 对凋亡相关蛋白表达的影响

circ_VANGL1 表达下调后, NCI-N87 和 HGC-27 细胞内 bcl-2、线粒体细胞色素 C 蛋白表达水平下调, Fas、Fas 相关死亡结构域(FADD)、Bax、胞质细胞色素 C、Caspase-3 活性片段蛋白表达水平上调, 见图 3。

2.6 circ_VANGL1 与 miRNAs 表达水平相关性分析

通过 miRDB 软件对 circ_VANGL1 的靶 miRNAs 进行预测, 结果显示 miR-605-3p、miR-377-5p、miR-4468、miR-5008-5p、miR-6852-3p、miR-4749-3p、miR-6126、miR-4283、miR-6811-3p、miR-6850-5p、miR-4751、miR-4316 等 12 个 miRNAs 与 circ_VANGL1 具有潜在结合位点(表 3)。采用 qRT-

PCR 检测发现 circ_VANGL1 表达下调后其中 4 条 miRNAs 包括 miR-605-3p、miR-377-5p、miR-4468 以及 miR-5008-5p 表达出现显著上调, 见图 4。

3 讨论

非编码 RNA 与肿瘤之间的关系研究在过去的十年里主要聚焦于微小 RNA (microRNA, miRNA)

和长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)。近年来, 大量研究表明 circRNAs 在肿瘤发病中起重要作用, 并在一定程度上对肿瘤的生物行为以及发病机制研究提供了新的见解^[8]。然而, circRNAs 在胃癌的发生发展过程中的作用尚不清楚, 阐明 circRNAs 功能的分子机制将促进胃癌 circRNAs 定向诊断和精准治疗的发展^[9]。

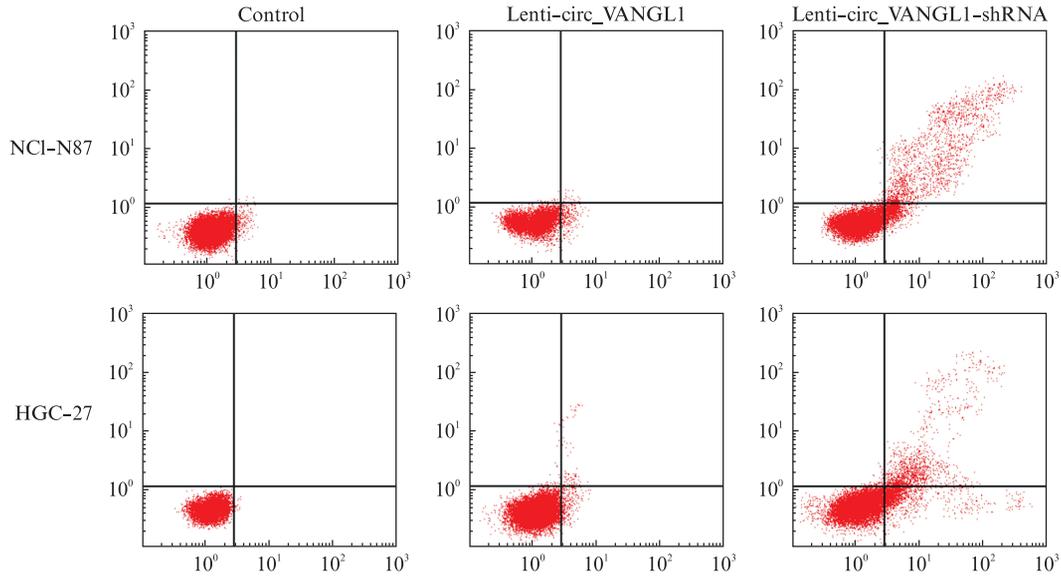


图 1 circ_VANGL1 表达水平对胃癌细胞凋亡的影响
Fig. 1 The effects of circ-VANGL1 on apoptosis of gastric cancer cells

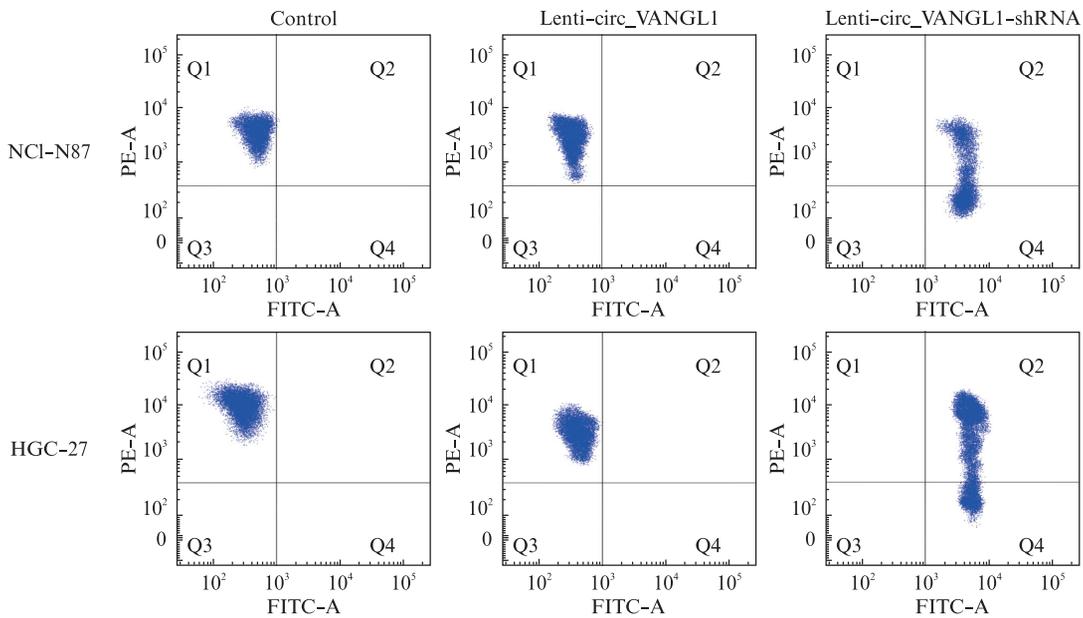


图 2 circ_VANGL1 表达对线粒体膜电位的影响
Fig. 2 The effects of circ-VANGL1 on mitochondrial membrane potential of gastric cancer cells

线粒体膜 JC-1 荧光流式细胞术检测图; 横坐标为 JC-1 单体 (monomer), 可产生绿色荧光, 纵坐标为 JC-1 聚合物 (J-aggregates), 可产生红色荧光

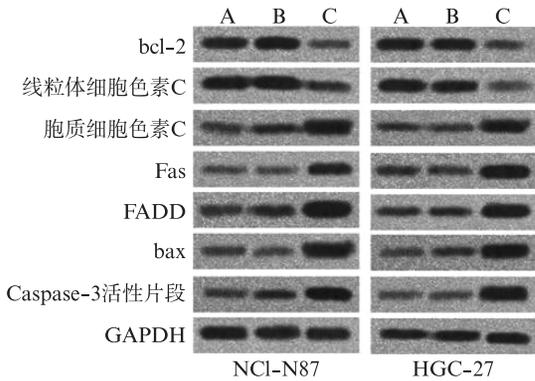


图 3 circ_VANGL1 表达对凋亡相关蛋白表达的影响
Fig. 3 The expression of circ-VANGL1 on apoptosis-related protein expression

A: 对照组; B: Lenti-circ_VANGL1; C: Lenti-circ_VANGL1-shRNA

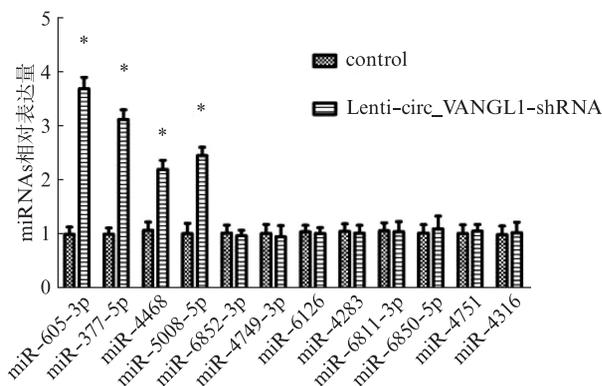


图 4 circ_VANGL1 对各 miRNA 表达的影响
Fig. 4 The effects of circ-VANGL1 expression on the expression of miRNAs in NCI-N87 cells

与对照组相比, * $P < 0.05$

本研究对胃癌临床标本中 circ_VANGL1 表达水平进行了检测,结果显示 circ_VANGL1 在癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织,并且其表达水平与肿瘤体积、TNM 分期以及淋巴转移显著相关,但与年龄、性别和分型并不相关,说明 circ_VANGL1 对于胃癌的临床诊断和分期评估具有一定的参考价值。因其表达与肿瘤体积显著相关,因此,在功能学实验中检测了 circ_VANGL1 对胃癌细胞增殖和凋亡的影响。结果显示 circ_VANGL1 表达上调可以促进胃癌细胞增殖,而敲减其表达则能抑制细胞增殖。VANGL1 在胃癌中发挥着促癌作用。凋亡是影响肿瘤生长的重要因素^[10]。按凋亡信号来源可以将凋亡信号途径分为三条:死亡受体途径、线粒体途径和内质网应激途径。这三条途径最后都需要 Caspase 参与,最终导致凋亡。死亡受体诱导的细胞凋亡是三条通路中研究较为成熟的信号转导途径,主要通过肿瘤

坏死因子受体 1 (tumor necrosis factor receptor 1, TNFR1)、Fas、死亡受体 3 (death receptor 3, DR3)、死亡受体 4 (death receptor 4, DR4) 以及死亡受体 5 (death receptor 5, DR5) 介导^[11]。其中 Fas 与其配体 FasL 结合后可以与细胞内的 FADD 相互作用,促进后者激活 Caspase 家族成员,诱导凋亡^[12]。本研究 Annexin V/PI 试验结果显示, circ_VANGL1 表达下调可以促进细胞凋亡,并且 Fas 和 FADD 表达增高,说明 Fas 介导的死亡受体凋亡途径(又称外源性凋亡途径)被激活,提示 circ_VANGL1 参与调控胃癌细胞凋亡发生。但 circ_VANGL1 如何调控 Fas/FADD 仍有待进一步研究。临床病理因素相关性分析显示 circ_VANGL1 与淋巴转移呈正相关,但本研究中并未深入探索 circ_VANGL1 对胃癌细胞迁移和侵袭的影响,有待进一步揭示。

越来越多的报道表明,在真核动物的基因调控网络中存在包括 ceRNAs 在内的广泛的相互作用网, circRNAs 可以通过与靶 miRNA 的潜在位点结合进而调控靶 miRNA 下游靶 mRNA 的表达^[13-15]。已有研究报道 circ_VANGL1 也具有 miRNA 海绵作用。在膀胱癌中, circ_VANGL1 可以作为 miR-605-3p 的海绵,促进 miR-605-3p 的靶基因 VANGL1 表达,从而发挥促进肿瘤细胞增殖的作用^[7]。miRDB 是常用的预测 RNA 与 RNA 相互结合、相互作用的重要软件^[16-17]。本研究通过 miRDB 软件对 circ_VANGL1 可能的靶 miRNAs 进行了预测。共有 12 个靶 miRNAs 被发现,其中包括已经被证实的 miR-605-3p。这在一定程度上说明了该预测结果的准确性。进一步通过 qRT-PCR 检测了 circ_VANGL1 表达下调后以上 12 个 miRNAs 在胃癌细胞中的表达水平,结果显示其中 miR-605-3p、miR-377-5p、miR-4468 以及 miR-5008-5p 表达出现显著上调,提示它们可能是 circ_VANGL1 的靶 miRNAs。以上 4 个 miRNAs 除了 miR-605-3p 被证明与肿瘤相关之外,其它 3 个 miRNAs 的生物学功能至今未见报道。本课题组今后将通过荧光素酶报告基因实验检测 circ_VANGL1 与以上 4 个 miRNAs 是否存在直接结合,并分析其结合位点,由此可以进一步确认胃癌细胞中 circ_VANGL1 的靶 miRNA。在明确 miRNA 之后可以进一步分析其靶 mRNA,进而探讨 circ_VANGL1 调控胃癌细胞增殖和凋亡的分子机制。

综上所述,本研究发现 circ_VANGL1 在胃癌中表达异常增高,且其表达水平与肿瘤体积、TNM 分期以及淋巴转移显著相关。提高其表达可以促进胃癌细胞增殖,下调其表达则能激活 Fas/FADD 死亡受体促进细胞凋亡。circ_VANGL1 的促癌作用可能与其作为海绵竞争性结合靶 miRNAs 有关。

【参考文献】

- [1] TORREL A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015,65(2): 87-108.
- [2] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016,66(2): 115-132.
- [3] CONNS J, PILLMAN K A, TOUBIA J, et al. The RNA binding protein quaking regulates formation of circRNAs[J]. Cell, 2015,160(6): 1125-1134.
- [4] LI Z Y, HUANG C, BAO C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus[J]. Nat Struct Mol Biol, 2015,22(3): 256-264.
- [5] ZHOUL H, YANG Y C, ZHANG R Y, et al. CircRNA₀₂₃₆₄₂ promotes migration and invasion of gastric cancer cells by regulating EMT[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018,22(8): 2297-2303.
- [6] SUNH D, XU Z P, SUN Z Q, et al. Down-regulation of circPVRL3 promotes the proliferation and migration of gastric cancer cells[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 10111.
- [7] ZENG Z H, ZHOU W M, DUAN L X, et al. Circular RNA circ-VANGL1 as a competing endogenous RNA contributes to bladder cancer progression by regulating miR-605-3p/VANGL1 pathway[J]. J Cell Physiol, 2019,234(4): 3887-3896.
- [8] HOUL D, ZHANG J. Circular RNAs: An emerging type of RNA in cancer[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2017,30(1): 1-6.
- [9] WANG D D, YANG S J, WANG H, et al. The progress of circular RNAs in various tumors[J]. Am J Transl Res, 2018,10(6): 1571-1582.
- [10] FLORESE R. Commentary on “apoptosis, p53, and tumor cell sensitivity to anticancer agents”[J]. Cancer Res, 2016,76(23): 6763-6764.
- [11] ELMORE S. Apoptosis: a review of programmed cell-death[J]. Toxicol Pathol, 2007,35(4): 495-516.
- [12] STONEMAN V E, BENNETT M R. Role of Fas/Fas-L in vascular cell apoptosis[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2009,53(2): 100-108.
- [13] MILITELLO G, WEIRICK T, JOHN D, et al. Screening and validation of lncRNAs and circRNAs as miRNA sponges[J]. Brief Bioinformatics, 2017,18(5): 780-788.
- [14] XIE H J, REN X L, XIN S N, et al. Emerging roles of CircRNA₀₁₅₆₉ targeting miR-145 in the proliferation and invasion of colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2016,7(18): 26680-26691.
- [15] LI F, ZHANG L Y, LI W, et al. Circular RNA ITCH has inhibitory effect on ESCC by suppressing the Wnt/ β -catenin pathway[J]. Oncotarget, 2015,6(8): 6001-6013.
- [16] WONG N, WANG X W. MiRDB: an online resource for microRNA target prediction and functional annotations[J]. Nucleic Acids Res, 2015,43(Database issue): D146-D152.
- [17] WANG X W. Improving microRNA target prediction by modeling with unambiguously identified microRNA-target pairs from CLIP-ligation studies[J]. Bioinformatics, 2016,32(9): 1316-1322.