

下调 lncRNA SNHG3 表达对人胃癌细胞增殖、侵袭、凋亡的影响及机制

谷建斌 张景承 薛菲 耿蕴峰 王冬冬

【摘要】目的 探讨下调长链非编码 RNA 核仁小分子 RNA 宿主基因 3(lncRNA SNHG3)的表达对人胃癌细胞增殖、侵袭和凋亡的影响及可能的机制。**方法** 采用 qRT-PCR 法检测不同胃癌细胞株(BGC-823、MGC-803 和 SGC-7901)和正常胃黏膜细胞株 GES-1 中 lncRNA SNHG3 的相对表达量。选取 lncRNA SNHG3 表达水平最高的胃癌 BGC-823 细胞系,建立 lncRNA SNHG3 下调模型,实验分为 SNHG3-siRNA 组(转染 lncRNA SNHG3-siRNA)、阴性对照组(转染阴性对照序列)、空白对照组(不予转染)。行 CCK-8 法、克隆形成实验、Transwell 迁移和侵袭实验、流式细胞术检测、观察下调 lncRNA SNHG3 对人胃癌细胞 BGC-823 增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响。Western blot 法检测下调 lncRNA SNHG3 表达后胃癌增殖和转移相关信号传导与活化转录因子 3(STAT3)、p-STAT3 蛋白和细胞基质金属蛋白酶-2(MMP-2)蛋白的表达水平。**结果** 与胃正常黏膜上皮细胞 GES1 相比,人胃癌细胞株 BGC-823、MGC803 的 lncRNA SNHG3 的相对表达量均明显增高(均 $P < 0.05$)。BGC-823 细胞中,SNHG3-siRNA 组 lncRNA SNHG3 相对表达量、光密度值、克隆形成率、细胞迁移数及细胞侵袭数均明显低于阴性对照组、空白对照组(均 $P < 0.05$);SNHG3-siRNA 组细胞 G1 期百分比均明显高于空白对照组、阴性对照组(均 $P < 0.05$),3 组 S 期细胞百分比比较差异则无统计学意义($P > 0.05$);SNHG3-siRNA 组细胞 G2 期百分比均明显低于空白对照组、阴性对照组(均 $P < 0.05$);SNHG3-siRNA 组细胞凋亡率均明显高于空白对照组、阴性对照组(均 $P < 0.05$)。与阴性对照组和空白对照组比较,SNHG3-siRNA 组的 STAT3、p-STAT3 和 MMP-2 蛋白的表达水平均明显下降,p-STAT3/STAT3 的比值明显降低(均 $P < 0.05$)。**结论** 下调 lncRNA SNHG3 的表达,可抑制胃癌细胞增殖、迁移及侵袭能力,阻滞细胞周期,并诱导细胞凋亡,可能与抑制 STAT3、MMP-2 的表达和 STAT3 的磷酸化水平有关。

【关键词】 长链非编码 RNA 核仁小分子 RNA 宿主基因 3 胃癌 增殖 侵袭 凋亡

Effect of down-regulating lncRNA SNHG3 expression on proliferation, invasion and apoptosis of human gastric cancer cells and related mechanisms GU Jianbin, ZHANG Jingcheng, XUE Fei, GENG Yunfeng, WANG Dongdong. The Second Department of General Surgery, Shijiazhuang People's Hospital, Shijiazhuang 050000, China
Corresponding author: GU Jianbin, E-mail: 2908270202@qq.com

【Abstract】Objective To investigate the effect of lncRNA SNHG3 expression on the proliferation, invasion and apoptosis of human gastric cancer cells and its possible mechanism. **Methods** Real time quantitative RT-PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression of lncRNA SNHG3 in gastric cancer cell lines BGC-823, MGC-803, SGC-7901 and normal gastric mucosa cell line GES-1. BGC-823 cell line with the highest lncRNA SNHG3 expression level was selected for further study. BGC-823 cells were transfected with lncRNA SNHG3-siRNA (SNHG3-siRNA group), NC-siRNA (negative control group) or not transfected (blank control group). The effects of lncRNA SNHG3 on proliferation, migration, invasion and apoptosis of BGC-823 cells were determined by CCK8, clone formation test, Transwell migration and invasion test, and flow cytometry. Western blot was used to observe the expression of STAT3, p-STAT3 and MMP2 in gastric cancer cells. **Results** Compared with GES1 cells, the relative expression of lncRNA SNHG3 in BGC-823 and MGC803 cells was significantly higher (all $P < 0.05$). Compared with the negative control group and blank control group, the relative expression of lncRNA SNHG3, optical density, clone formation rate, cell mi-

DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2021.43.1.2020-2745

基金项目:河北省科学技术研究与发展指导计划项目(172777218)

作者单位:050000 石家庄市人民医院普外科二病区

通信作者:谷建斌, E-mail: 2908270202@qq.com

gration number and cell invasion number in SNHG3-siRNA group were significantly lower (all $P < 0.05$). In SNHG3-siRNA group, the proportion of G1 phase cells was significantly increased (all $P < 0.05$). The proportion of S phase cells had no statistical significance ($P > 0.05$), the proportion of G2 was significantly decreased (all $P < 0.05$), the apoptosis rate was significantly increased (all $P < 0.05$), the expression levels of STAT3, p-STAT3 and MMP2 protein were significantly decreased, the ratio of p-STAT3/STAT3 decreased significantly (all $P < 0.05$). **Conclusion** Down-regulation of lncRNA SNHG3 expression can inhibit the proliferation, migration and invasion, block cell cycle and induce apoptosis of gastric cancer cells. The mechanism may be related to the inhibition of STAT3, MMP2 expression and phosphorylation of STAT3.

【Key words】 Long non-coding RNA SNHG3 Gastric cancer Proliferation Invasion Apoptosis

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤, 尽管诊断技术在不断提高, 以手术治疗为主的综合治疗(包括化疗、靶向治疗等)也越来越丰富, 但胃癌患者的病死率仍位居肿瘤相关死亡的第 3 位^[1]。为了提高胃癌患者的生存期, 探索胃癌发生、发展的分子机制, 寻找可靠的生物标志物作早期诊断依据和可靠的治疗靶点显得尤为迫切, 因此在基因组中大量转录的长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 成为胃癌研究的新热点。lncRNA 指长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA, 近年来研究发现, 在恶性肿瘤组织和正常组织中存在差异表达的 lncRNA^[2-3], 在多种肿瘤如胃癌、结肠癌、肝癌的发生、发展、转移以及复发过程中的重要作用也得到了证实^[4-6]。核仁小分子 RNA 宿主基因 3 (SNHG3) 是一种位于 1p353 的 lncRNA。研究发现 lncRNA SNHG3 在胃腺癌组织中异常高表达^[7], 但目前关于 lncRNA SNHG3 在胃癌中发挥的作用及机制研究较少。因此, 本研究主要探讨下调 lncRNA SNHG3 的表达对人胃癌细胞增殖、侵袭、凋亡的影响及可能的机制, 为胃癌的诊断和治疗提供新的方向。

1 材料和方法

1.1 细胞株 人胃癌细胞株 SGC-7901、正常胃黏膜上皮 GES1 均为河北医科大学第四医院科研中心惠赠; 人胃癌细胞 MGC-803 购自中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心; 人胃腺癌细胞 BGC-823 购自上海赛百慷生物技术股份有限公司。

1.2 主要试剂与仪器 SNHG3-siRNA 由上海吉玛制药技术有限公司设计合成。lncRNA SNHG3、 β -Actin 引物使用 primer 5 软件设计, 由上海生工公司合成。M-MLV 反转录试剂盒购自美国 promega 公司; SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒购自北京全式金公司; Lipofectamin2000 购自美国 Invitrogen 公司; goat anti rabbit IgG(H+L)、辣根过氧化物酶购自美国 Jackson 公司; Western blot 增强化学发光试剂(ECL)购自美国 Millipore 公司。Roter gene 3000 购自澳大利亚 Corbett 公司; NanoDrop ND-2000 分

光光度计购自美国 NanoDrop 公司; Transwell 小室购自美国 Corning 公司; BD Accuri C6 流式细胞仪购自美国 BD 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 将人胃癌细胞 BGC-823、SGC-7901、MGC-803 及正常胃黏膜上皮细胞 GES1 均接种于 RPMI 1640 培养基, 于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养, 48 h 后消化传代。

1.3.2 lncRNA SNHG3 相对表达量检测 采用 qRT-PCR 法。取对数生长期胃癌细胞 BGC-823、SGC-7901、MGC-803 及正常胃黏膜上皮细胞 GES1, 采用 qRT-PCR 试剂盒检测 lncRNA SNHG3 的相对表达量。lncRNA SNHG3 引物: 上游: 5'-AGACA GATTCGCACTG-GTCG3', 下游: 5'-GTCTCCATGGCCCACTTCTG3'; β -Actin 上游引物 5'-CACCCCAGCCATGTACGTTG-3', 下游引物 5'-AATGTCACGCACGATTTCCC-3'。采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 表示胃癌细胞 lncRNA SNHG3 相对表达量。

1.3.3 细胞分组及转染 将对数生长期的人胃癌细胞 BGC-823 随机分为 SNHG3-siRNA 组、阴性对照组和空白对照组, 每组设 3 个复孔。各组常规培养 24 h, SNHG3-siRNA 组加入 lncRNA SNHG3-siRNA (正义链: 5'-GCAUUUAGCUAGGAAUGCATT-3', 反义链: 5'-UGCAUCCUAGCUAAAUGCTT-3') 转染, 阴性对照组加入无关序列 NC-siRNA (正义链: 5'-ACUGCGACUG-CUUCACUUGTT-3', 反义链: 5'-CAAGUGAAGCAGUCG-CAGUTT-3') 转染, 空白对照组不予转染。所有操作严格按 Lipofectamine 2000 说明书进行。转染 24 h, 提取细胞总 RNA, NanoDrop 2000 分光光度计和琼脂糖凝胶电泳检测, 提取的总 RNA 纯度和完整性符合实验要求。按照 M-MLV 反转录试剂盒说明书方法逆转录为 cDNA, 以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。根据 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒说明配制反应体系 20 μ l。反应条件: 95℃预变性 30 s, 95℃变性 10 s, 60℃退火 10 s, 72℃延伸 20 s 共 40 个循环。

1.3.4 细胞增殖能力检测 采用 CCK-8 法。将转染 24 h 的 3 组细胞消化制成单细胞悬液,以 5×10^3 个/孔种植于 96 孔板(100 μ l/孔),在培养 24 h 时每孔加入 CCK-8 溶液 10 μ l,继续培养 1 h,在 450 nm 波长下,用酶标仪测定各孔光密度(OD)值。

1.3.5 细胞克隆形成能力检测 克隆形成实验:将细胞接种于 6 孔板(1.5×10^4 个/孔),置于培养箱中培养 1~2 周,观察克隆细胞形成至合适大小时用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次,4%多聚甲醛固定 15 min,加适量 0.1%结晶紫染色液染色 10 min,倒置显微镜下观察 5 个视野,计数细胞的克隆数。克隆形成率(%)=(克隆数目/接种细胞数) $\times 100\%$ 。

1.3.6 细胞迁移能力检测 采用 Transwell 小室试验。取各组细胞,均计数 5×10^4 个细胞加入 Transwell 小室上室中,用无血清培养液正常培养,小室下加入含 10% 血清的 DMEM 培养液。培养 48 h,将小室取出用 PBS 冲洗,4%多聚甲醛固定 20 min,0.1% 结晶紫染色液染色 20 min。显微镜下观察并拍照,随机选取 5 个视野计数穿膜细胞数,每组设 3 个复孔,取平均值。

1.3.7 细胞侵袭能力检测 采用 Transwell 小室试验。Transwell 小室上室用 50 μ l Matrigel 胶包被,在 37 $^{\circ}$ C 中放置 3~5 h。各组分别取 200 μ l(密度为 2.5×10^5 个/ml)细胞接种于 Transwell 小室上室,在下室加入 DMEM 培养基。培养 48 h 后擦去上室的 Matrigel 胶和多余细胞,4%多聚甲醛固定 20 min,0.1%结晶紫染色,随机选取 5 个视野计数穿膜细胞数,每组设 3 个复孔,取平均值。

1.3.8 细胞各周期百分比及凋亡率检测 采用流式细胞术(FCM)进行细胞周期分析,通过标准胰蛋白酶消化程序收获生长对数期的转染和对照细胞,用 PBS 洗涤,加入 500 μ l PI 染液和 5 μ l 破膜剂,室温避光孵育 30 min,收集培养物并使用 BD Accuri C6 流式细胞仪分析细胞周期。数据表示为在细胞周期的 G1、S 和 G2 期细胞的百分比分布。按照细胞凋亡检测试剂盒说明,将细胞每管加入 5 μ l Annexin V-FITC 和 10 μ l 20 μ g/ml 碘化丙啶溶液,室温避光孵育 15 min,使用流式细胞仪测定并获取凋亡比例数据。

1.3.9 信号传导与活化转录因子 3(STAT3)、p-STAT3 和基质金属蛋白酶-2(MMP-2)蛋白的表达水平检测 采用 Western blot 法。使用 RIPA 缓冲液提取总细胞裂解物,通过配置 12%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE,恒压 80 V,2 h)分离蛋白质,并转移到 PVDF 膜,用 5%脱脂奶粉封闭,并在 4 $^{\circ}$ C 下与一抗孵育过夜。缓冲液洗膜(15 min $\times$ 3 次),将膜与二抗孵育,最后

用 ECL 底物试剂盒检测,实验重复 3 次。采用 Bio-Rad Image Lab 5.2.1 软件进行灰度分析。

1.4 统计学处理 采用 SAS 9.1 统计软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA SNHG3 在人胃癌细胞与胃正常黏膜上皮细胞 GES1 中相对表达量的比较 qRT-PCR 结果显示,与胃正常黏膜上皮细胞 GES1 相比,BGC-823、MGC-803 细胞的 lncRNA SNHG3 相对表达量均明显增高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 1。选取 lncRNA SNHG3 相对表达量最高的胃癌 BGC-823 细胞系进行下一步的细胞功能试验。BGC-823 细胞中,SNHG3-siRNA 组 lncRNA SNHG3 相对表达量均明显低于阴性对照组、空白对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 2。

表 1 lncRNA SNHG3 在人胃癌细胞与胃正常黏膜上皮细胞 GES1 中相对表达量的比较

组别	lncRNA SNHG3
GES1	1
BGC-823	$2.354 \pm 0.502^*$
MGC-803	$1.992 \pm 0.099^*$
SGC-7901	1.394 ± 0.370

注:与 GES1 组比较,* $P < 0.05$;lncRNA 为长链非编码 RNA;SNHG3 为核仁小分子 RNA 宿主基因 3

表 2 3 组 BGC-823 细胞中 lncRNA SNHG3 相对表达量比较

组别	相对表达量
SNHG3-siRNA 组	0.10 ± 0.03
阴性对照组	$0.74 \pm 0.35^*$
空白对照组	$1.00 \pm 0.01^*$

注:与 SNHG3-siRNA 组比较,* $P < 0.05$;lncRNA 为长链非编码 RNA;SNHG3 为核仁小分子 RNA 宿主基因 3

2.2 3 组 BGC-823 细胞增殖能力比较 结果显示 SNHG3-siRNA 组的 OD 值均明显低于阴性对照组、空白对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 3。

2.3 3 组 BGC-823 细胞克隆形成率比较 SNHG3-siRNA 组、阴性对照组、空白对照组细胞的克隆形成实验结果见图 1(插页)。SNHG3-siRNA 组克隆形成率均明显低于阴性对照组、空白对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 4。

2.4 3 组 BGC-823 细胞迁移和侵袭能力比较 在 Tran-

表 3 3 组 BGC-823 细胞增殖能力比较

组别	OD 值
SNHG3-siRNA 组	0.360 ± 0.001
阴性对照组	0.445 ± 0.006*
空白对照组	0.459 ± 0.004*

注:与 SNHG3-siRNA 组比较,* $P < 0.05$;OD 为光密度值

表 4 3 组 BGC-823 细胞克隆形成率比较(%)

组别	克隆形成率
SNHG3-siRNA 组	5.80 ± 0.14
阴性对照组	7.37 ± 0.42*
空白对照组	6.96 ± 0.33*

注:与 SNHG3-siRNA 组比较,* $P < 0.05$

swell 迁移实验中,SNHG3-siRNA 组细胞迁移数均明显低于阴性对照组、空白对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);Transwell 侵袭实验中,SNHG3-siRNA 组细胞侵袭数均明显低于阴性对照组、空白对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见图 2(插页)、表 5。

2.5 3 组 BGC-823 细胞各周期细胞百分比和凋亡率比较 BGC-823 细胞转染 SNHG3 siRNA 24 h 后,SNHG3-

表 5 3 组 BGC-823 细胞迁移、侵袭数比较(个/视野)

组别	迁移数	侵袭数
SNHG3-siRNA 组	86.8 ± 2.9	24.0 ± 4.7
阴性对照组	194.0 ± 11.8*	74.6 ± 9.1*
空白对照组	193.8 ± 7.7*	76.4 ± 12.7*

注:与 SNHG3-siRNA 组比较,* $P < 0.05$

siRNA 组细胞 G1 期百分比均明显高于空白对照组、阴性对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),3 组细胞 S 期百分比比较差异则无统计学意义($P > 0.05$);SNHG3-siRNA 组细胞 G2 期百分比均明显低于空白对照组、阴性对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见图 3、表 6。下调 lncRNA SNHG3 的表达后,SNHG3-siRNA 组细胞凋亡率均明显高于空白对照组、阴性对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见图 4。

2.6 3 组 BGC-823 细胞 STAT3、p-STAT3 和 MMP-2 蛋白表达水平比较 Western blot 结果显示,与阴性对照组和空白对照组比较,SNHG3-siRNA 组的 STAT3、p-STAT3 和 MMP-2 蛋白的表达水平均明显下降,p-STAT3/STAT3 的比值明显降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见图 5、表 7。

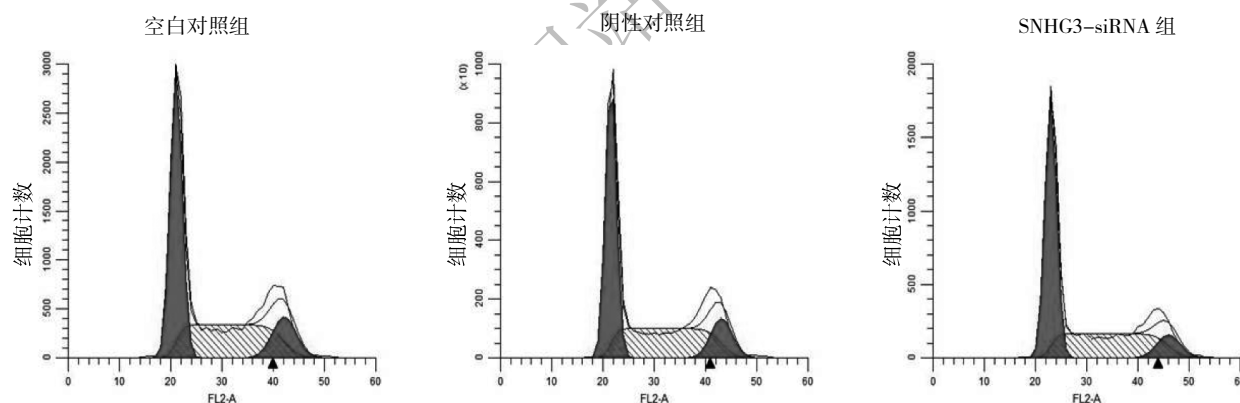


图 3 3 组 BGC-823 细胞各周期细胞百分比的比较

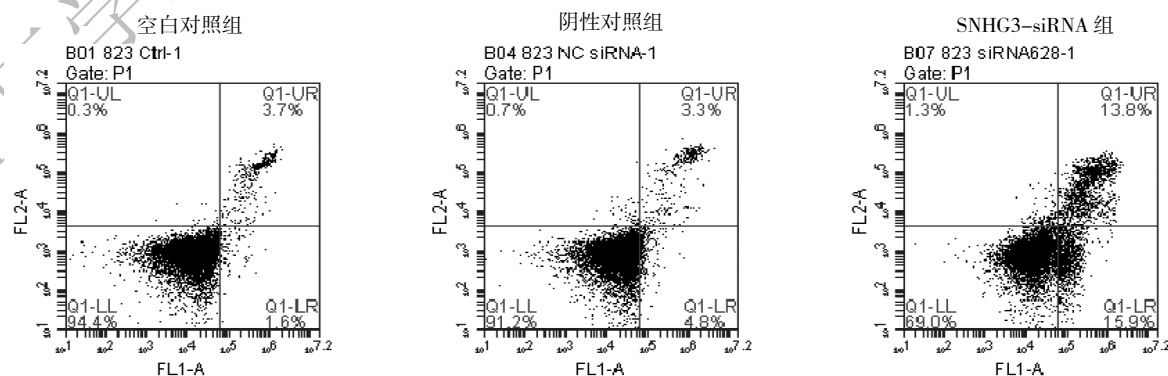


图 4 3 组 BGC-823 细胞凋亡情况的比较

表 6 3 组 BGC-823 细胞各周期细胞百分比的比较(%)

组别	G1	S	G2
SNHG3-siRNA 组	51.23 ± 0.95	41.44 ± 2.43	7.33 ± 1.63
阴性对照组	46.27 ± 1.83*	39.85 ± 1.18	13.87 ± 0.78*
空白对照组	46.74 ± 1.05*	37.10 ± 1.49	16.15 ± 2.35*

注:与 SNHG3-siRNA 组比较,* $P < 0.05$

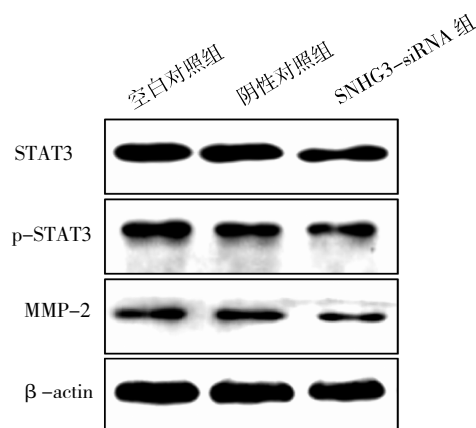


图 5 3 组 BGC-823 细胞 STAT3、p-STAT3、MMP-2 蛋白表达水平的比较(STAT3 为信号传导与活化转录因子 3;MMP-2 为基质金属蛋白酶-2)

表 7 3 组 BGC-823 细胞 STAT3、p-STAT3、MMP-2 蛋白表达水平的比较

组别	STAT3	p-STAT3	MMP-2	p-STAT3/STAT3
SNHG3-siRNA 组	0.62 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.41 ± 0.03
阴性对照组	0.79 ± 0.05*	0.52 ± 0.04*	0.19 ± 0.03*	0.66 ± 0.08*
空白对照组	0.80 ± 0.04*	0.63 ± 0.01*	0.19 ± 0.02*	0.78 ± 0.04*

注:与 SNHG3-siRNA 组比较,* $P < 0.05$;STAT3 为信号传导与活化转录因子 3;MMP-2 为基质金属蛋白酶-2

3 讨论

目前大量研究表明,IncRNA 在肿瘤的发生、发展中起到重要的调控作用^[8-9]。IncRNA SNHG3 作为一种 IncRNA,最初由 Pelczar 等^[9]发现。近期研究发现,IncRNA SNHG3 在肝癌、结直肠癌中均表达增高^[10-11],是肝癌、结直肠癌不良预后的重要指标。Huang 等^[11]发现,在结直肠癌中,SNHG3 作为内源性竞争性 RNA 与 miR-182-5p 相互竞争,导致 c-Myc 过表达并作用于 c-Myc 的目的基因,从而促进了结直肠癌进展。而在胃癌的研究中,IncRNA SNHG3 在胃癌组织中高表达^[7],并且高表达的胃癌患者的生存时间显著低于低表达的胃癌患者^[12]。为了进一步探讨 IncRNA SNHG3 在胃癌中发挥的作用及机制,本研究以胃癌细胞为研究对象,qRT-PCR 结果

显示,胃癌细胞 BGC-823、MGC-803 中 IncRNA SNHG3 的相对表达量均明显高于胃正常黏膜上皮细胞系 GES1,提示 IncRNA SNHG3 高表达与胃癌的发生相关。

应用 siRNA 技术转染 BGC-823 下调 IncRNA SNHG3 表达后,CCK-8 实验和克隆形成实验结果显示细胞增殖能力、克隆形成能力均受到显著抑制,提示 IncRNA SNHG3 在胃癌发展及克隆性增殖过程中发挥了一定作用。进一步研究发现,下调 IncRNA SNHG3 表达后,G1 期细胞百分比上升,G2 期细胞百分比下降,提示下调 IncRNA SNHG3 的表达,使细胞周期阻滞于 G1 期,抑制胃癌细胞 BGC-823 进入 G2 期,从而抑制胃癌细胞 BGC-823 的分裂增殖。下调 IncRNA SNHG3 的表达后,BGC-823 细胞凋亡率显著上升,这些结果表明 IncRNA SNHG3 下调所引起的分裂增殖抑制、凋亡增加可能是胃癌细胞增殖能力下降的部分原因。Transwell 迁移、侵袭实验表明,胃癌细胞 BGC-823 在 IncRNA SNHG3 下调后的迁移及侵袭能力均显著降低,说明在侵袭和转移的过程中 IncRNA SNHG3 可能也扮演了重要的角色。

信号传导与活化转录因子(signal transducer and activator of transcription,STATs)家族成员具有信号转导和转录调控双重功能^[13]。酪氨酸激酶相关受体、STATs、JAK 酪氨酸激酶(Janus kinase)构成了 JAK-STAT 信号通路。生理状态下,JAK-STAT 通路的激活快速而短暂,而在人类肿瘤细胞中该通路则持续激活^[14],JAK-STAT 信号的异常激活可促进肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭及上皮间质转化^[15]。STAT3 作为 IL-6R、表皮生长因子受体、JAK、Src 等多个致癌性酪氨酸激酶信号通路的会聚点,其持续性激活能上调 Bcl-xl、Mcl-1、CyclinsD1/D2、C-myc 和 survivin 基因的表达,下调 p53 基因的表达,缩短细胞在 G1 期的停滞时间,使其快速进入 S 期,干扰正常细胞的增殖、分化、凋亡^[16]。磷酸化后的 STAT3 是 STAT3 的活性形式,其形成二聚体后进入细胞核内调控相关基因的转录^[17],诱导多种参与细胞存活、增殖、迁移、侵袭、血管生成及免疫逃逸等基因的表达,促进致癌性转化。抑制 STAT3 磷酸化及 p-STAT3 介导的 DNA 转录和复制,可促进肿瘤细胞凋亡^[18]。近期研究发现,p-STAT3 蛋白与胃癌患者不良预后及胃癌分化程度、TNM 分期、淋巴结转移、远处转移及肿瘤浸润深度密切相关,提示其对胃癌的发展起调控作用,可能作为预测胃癌的一个分子标志物^[19]。本研究中,下调 IncRNA SNHG3 表达后,STAT3、p-STAT3 的表达水平显著下降。p-STAT3/STAT3 的比值显著降低,细胞周期阻滞于 G1 期,细胞凋亡比例显著上

升,提示 lncRNA SNHG3 表达下调,可能与抑制 STAT3 的表达和 STAT3 的磷酸化水平有关,进而抑制了 BGC-823 细胞增殖,诱导了凋亡。MMP-2 是 MMPs 家族中的重要一员,其能够降解细胞基底膜及细胞外基质成分 IV 型胶原,从而促进肿瘤侵袭和转移。研究发现,STAT3 可通过 MMP-2 启动子上的结合位点,上调 MMP-2 基因表达水平,进而显著提高胃癌细胞的转移能力^[20]。阻断 STAT3 能明显下调 MMP-2 蛋白的表达水平,抑制肿瘤细胞的生长和侵袭。本研究中,在下调 lncRNA SNHG3 表达后,STAT3、p-STAT3、MMP2 的表达水平均显著下降,BGC-823 细胞迁移及侵袭能力均显著降低,提示可能与抑制 MMP-2 的表达从而抑制了 BGC-823 细胞的侵袭有关。这在一定程度上解释了下调 lncRNA SNHG3 后细胞增殖、克隆、Transwell 侵袭实验和细胞凋亡实验的结果,抑制 lncRNA SNHG3 基因有望应用于胃癌的靶向治疗。

综上所述,本研究从细胞水平证实了 lncRNA SNHG3 在胃癌细胞中高表达,同时其是胃癌细胞增殖、抗凋亡、侵袭以及转移的必要因素,对其进行干扰可以有效破坏胃癌细胞的这些生物学行为,这可能与抑制 STAT3、MMP-2 的表达和 STAT3 的磷酸化水平有关。下调 lncRNA SNHG3 表达后,调控 STAT3、p-STAT3、MMP-2 表达水平的具体分子机制尚待进一步研究。

4 参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2018, 68(6):394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [2] Ma Q, Qi X, Lin X, et al. LncRNA SNHG3 promotes cell proliferation and invasion through the miR-384/hepatoma-derived growth factor axis in breast cancer[J]. Hum Cell, 2020, 33(1):232-242. DOI:10.1007/s13577-019-00287-9.
- [3] Prensner JR, Chinnaiyan AM. The emergence of lncRNAs in cancer biology[J]. Cancer Discov, 2011, 1(5):391-407. DOI:10.1158/2159-8290.CD-11-0209.
- [4] Yuan XH, Li J, Cao Y, et al. Long non-coding RNA AFAP1-AS1 promotes proliferation and migration of gastric cancer by down-regulating KLF2[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(2):673-680. DOI: 10.26355/eurrev.202001_20044.
- [5] Huang W, Huang F, Lei Z, et al. LncRNA SNHG11 Promotes Proliferation, Migration, Apoptosis, and Autophagy by Regulating hsa-miR-184/AGO2 in HCC[J]. Onco Targets Ther, 2020, 14(13):413-421. DOI:10.2147/OTT.S237161.
- [6] Wang W, Xie Y, Chen F, et al. LncRNA MEG3 acts a biomarker and regulates cell functions by targeting ADAR1 in colorectal cancer [J]. World journal of gastroenterology, 2019, 25(29):3972-3984. DOI:10.3748/wjg.v25.i29.3972.
- [7] Gu J, Li Y, Fan L, et al. Identification of aberrantly expressed long non-coding RNAs in stomach adenocarcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(30):49201-49216. DOI: 10.18632/oncotarget.17329.
- [8] Collina F, Aquino G, Brogna M, et al. LncRNA HOTAIR up-regulation is strongly related with lymph nodes metastasis and LAR subtype of triplenegative breast cancer[J]. J Cancer, 2019, 10(9):2018-2024. DOI:10.7150/jca.29670.
- [9] Pelczar P, Filipowicz W. The host gene for intronic U17 small nucleolar RNAs in mammals has no protein-coding potential and is a member of the 5'-terminal oligopyrimidine gene family[J]. Mol Cell Biol, 1998, 18(8):4509-4518. DOI:10.1128/mcb.18.8.4509.
- [10] Zhao Q, Wu C, Wang J, et al. LncRNA SNHG3 Promotes Hepatocellular Tumorigenesis by Targeting miR-326[J]. Tohoku J Exp Med, 2019, 249(1):43-56. DOI:10.1620/tjem.249.43.
- [11] Huang W, Tian Y, Dong S, et al. The long non-coding RNA SNHG3 functions as a competing endogenous RNA to promote malignant development of colorectal cancer[J]. Oncol Rep, 2017, 38(3):1402-1410. DOI:10.3892/or.2017.5837.
- [12] 张子龙, 熊斌, 庞典付, 等. 长链非编码 RNA 小核仁 RNA 宿主基因 3 在胃癌组织的表达及临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(3):525-528. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2018.03.039.
- [13] Aggarwal BB, Sethi G, Ahn KS, et al. Targeting signal transducer and activator of transcription 3 for prevention and therapy of cancer: modern target but ancient solution[J]. Ann NY Acad Sci, 2006, 9:151-169. DOI:10.1196/annals.1378.063.
- [14] Bahia AC, Kubota MS, Tempone AJ. The JAK-STAT pathway controls plasmodium vivax load in early stages of anopheles aquasalis infection[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2011, 5(11):e1317. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001317.
- [15] Pencik J, Pham HT, Schmoeller J, et al. JAK-STAT signaling in cancer: From cytokines to non-coding genome[J]. Cytokine, 2016, 87:26-36. DOI:10.1016/j.cyto.2016.06.017.
- [16] Reinemann C, Strehlitz B. Aptamer-modified nanoparticles and their use in cancer diagnostics and treatment[J]. Swiss Med Wkly, 2014, 144(1):w13908. DOI:10.4414/sm.w.2014.13908.
- [17] Yuan J, Zhang F, Niu R. Multiple regulation pathways and pivotal biological functions of STAT3 in cancer[J]. Scientific reports, 2015, 5:17663. DOI:10.1038/srep17663.
- [18] Huang W, Dong Z, Chen Y, et al. Small-molecule inhibitors targeting the DNA-binding domain of STAT3 suppress tumor growth, metastasis and STAT3 target gene expression in vivo[J]. Oncogene, 2016, 35(6):783-792. DOI:10.1038/ncr.2015.215.
- [19] 宋圆圆, 李晓丽. 磷酸化 STAT3 蛋白与胃癌患者预后及临床病理特征关系的 Meta 分析[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2020, 29(2):148-154. DOI:10.3969/j.issn.1006-5709.2020.02.006.
- [20] Hong FZ, Xiao WH, Ying HL, et al. The Relationship between Invasion and Metastasis of Gastric Cancer and MMP-2, Galectin-3 and Cx43[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2014, 14(33):6441-6445. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2014.33.010.

(收稿日期:2020-07-09)

(本文编辑:俞骏文)