

网络出版时间:2025-05-29 12:51:26 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20250528.1318.010

环状 RNA hsa_circ_0002938 在胃癌的表达及功能

李晓鹏^{1,2}, 刘思涵³, 赵一杰⁴, 李书梅², 殷小磊¹(河北医科大学第四医院¹ 消化内科、² 病案科、³ 放疗科、⁴ 胃肠外科, 石家庄 050035)

摘要 目的 探索环状 RNA(circRNA) hsa_circ_0002938 在胃癌中的表达及其生物学功能。方法 收集入院手术切除的 45 例胃癌患者的癌组织和相应癌旁组织,同时常规培养人胃癌细胞 SGC-7901、BGC-823、HGC-27 和 MGC-803 以及永生化的胃黏膜上皮细胞 GES-1。采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-qPCR)检测 hsa_circ_0002938 在胃癌组织和细胞中的表达水平,利用卡方检验分析其与患者临床病理特征之间的关系,Kaplan-Meier 生存分析评估其表达水平与患者预后的相关性。细胞计数试剂盒 8(CCK-8)、划痕愈合实验、Transwell 实验检测 hsa_circ_0002938 对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响。进一步利用生物信息学分析预测 hsa_circ_0002938 可能结合的微小 RNA(miRNA)及其下游的靶基因,构建竞争性内源 RNA(ceRNA)调控网络,并对靶基因进行功能富集。**结果** hsa_circ_0002938 在胃癌组织和胃癌细胞中的表达水平高于癌旁组织和 GES-1 细胞($P < 0.05$),hsa_circ_0002938 高表达组患者术后 2 年无进展生存期缩短($P < 0.01$)。敲低 hsa_circ_0002938 后,胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力均下降($P < 0.05$)。生物信息学预测分析显示 hsa_circ_0002938 可结合 hsa-miR-342-3p 和 hsa-miR-503-5p,功能富集结果显示 miRNA 下游靶基因富集于丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、Hippo 及 Wnt 等多个癌症相关信号通路。**结论** 在胃癌组织和细胞中呈高表达的 hsa_circ_0002938 与患者的不良预后密切相关,敲低 hsa_circ_0002938 可抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。研究揭示了 hsa_circ_0002938 在胃癌进展中的潜在作用,为胃癌的防治提供了新思路。

关键词 胃癌; hsa_circ_0002938; SGC-7901 细胞; BGC-823 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)06-1043-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.06.010

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,据 2022 年全球癌症统计,胃癌的新发病例达 96.8 万,死亡病例达 66 万,在全球癌症相关发病率和病死率中均排名第 5 位^[1]。中国是胃癌的高发地区,2022 年我国胃癌新发和死亡病例约为 50.9 万和 40 万,居消化道恶性肿瘤的首位^[2]。尽管目前胃癌的治疗手段不断丰富,但其总体 5 年生存率仍然不足 40%^[3]。提示探索胃癌进展中新的分子机制及潜在靶点仍具有重要临床意义。

环状 RNA(circular RNA, circRNA)是一类由 5' 端和 3' 端共价结合形成闭合环状结构的非编码 RNA 分子,具有丰富的表达量和较高的进化保守性^[4]。研究表明, circRNA 能够调控肿瘤细胞的增殖、凋亡、自噬、代谢及免疫逃逸等多种生物学表型,在恶性肿瘤的进展中发挥着重要作用。课题组前期研究^[5]提示 hsa_circ_0002938 在食管鳞状细胞癌中

高表达,并能够促进食管鳞癌细胞的增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化。然而,截至目前,尚未见关于 hsa_circ_0002938 在胃癌中作用的相关研究报道。本研究通过检测 hsa_circ_0002938 在胃癌中的表达情况及其对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响,探讨 hsa_circ_0002938 在胃癌进展中发挥的生物学功能及可能的分子机制,为临床实施有效干预提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 病例资料 组织样本来源于 2020 年 10 月—2021 年 10 月在河北医科大学第四医院行根治性手术的胃癌患者 45 例,收集癌及癌旁组织(距原发灶边缘 3~5 cm 以上)。所有患者术后均经病理学确诊,且术前均未接受放化疗、靶向治疗等抗肿瘤治疗。患者中男性 28 例,女性 17 例,中位年龄 64(37~74)岁。其中, TNM 分期为 I/II 期的患者 20 例, III 期患者 25 例。组织样本收集后立即置于含 RNA 保存液的无酶 EP 管中,提取总 RNA 后放置 -80 ℃ 冰箱以备后续使用。所有患者均签署了知情同意书,本研究已经通过河北医科大学第四医院医学伦理委员会审批(批号:2023KS229)。

2025-04-25 接收

基金项目:河北省医学科学研究重点课题(编号:20230820)

作者简介:李晓鹏,女,博士研究生,主治医师;

殷小磊,男,硕士,副主任医师,通信作者, E-mail: 48501609@hebmu.edu.cn

1.2 随访与预后评估 术后患者均接受规范化治疗,并进行定期随访,每3个月对患者进行1次复查(包括肿瘤标志物、胸腹部CT和头部MRI),每6个月对患者需进行1次消化道内镜检查及^{99m}锝-亚甲基二膦酸盐骨显像。当临床考虑出现局部复发或远处转移时,进行病理活检以明确诊断。每2个月进行电话随访,随访时间为术后至患者出现复发、转移或随访终点,共随访24个月。记录患者的生存时间(月),采用Kaplan-Meier法对患者生存期进行分析,用Cox比例风险回归模型进行多因素分析,以生存时间为结局指标,纳入临床病理特征和hsa_circ_0002938表达水平等变量,识别与预后显著相关的危险因素。

1.3 细胞及主要试剂 人胃癌细胞SGC-7901、BGC-823、MGC-803、HGC-27以及永生化人胃黏膜上皮细胞GES-1均购自河南北纳创联生物科技有限公司。RPMI-1640培养基、DMEM培养基均购自武汉赛维科技有限公司;胎牛血清购自美国Gibco公司;反转录试剂盒和SYBR Green购自美国Thermo Fisher公司;基因组DNA提取试剂盒购自北京艾德莱生物科技有限公司;环状RNA引物由北京擎科生物科技有限公司合成;Lipofectamine™2000转染试剂购自美国Invitrogen公司;苏州吉玛基因股份有限公司设计和合成小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)引物;细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒购自大连美仑技术有限公司;Transwell小室和Matrigel基质胶分别购自美国Corning和BD公司。

1.4 细胞培养 SGC-7901、BGC-823、MGC-803和HGC-27细胞培养于含10%胎牛血清及青链霉素双抗的RPMI-1640培养基,GES-1细胞培养于DMEM培养基,所有细胞均置于37℃、5%CO₂培养箱中培养,细胞生长至80%融合状态时进行传代。

1.5 实验方法

1.5.1 逆转录聚合酶链反应(reverse transcription

polymerase chain reaction, RT-PCR)法鉴定胃癌细胞中hsa_circ_0002938的存在 采用TRIzol试剂提取胃癌细胞总RNA,逆转录后进行PCR扩增,将扩增产物进行Sanger测序,确定hsa_circ_0002938的反向剪接位点。hsa_circ_0002938由亲本基因富含半胱氨酸的跨膜BMP调节因子1(cysteine rich transmembrane BMP regulator 1, *CRIMI*)的反义链转录产生。因此,本实验设计了两种引物:一种为发散引物,可扩增出环状转录本;另一种为聚合引物,可扩增*CRIMI*的线性转录本。采用基因组DNA(genomic DNA, gDNA)提取试剂盒提取胃癌细胞gDNA,分别以细胞的互补DNA(complementary DNA, cDNA)和gDNA为模板,进行PCR扩增,GAPDH为内参,所用引物序列及反应条件见表1。扩增产物经2%琼脂糖凝胶电泳分离后进行核酸显色。

1.5.2 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)检测 hsa_circ_0002938 在胃癌组织和细胞中的表达 使用TRIzol试剂提取胃癌组织和细胞总RNA,并逆转录合成cDNA,随后,采用RT-qPCR检测hsa_circ_0002938的表达水平,GAPDH为内参,目的基因的引物序列见表1。RT-qPCR扩增条件:95℃预变性5 min;95℃、10 s,60℃、20 s,72℃、20 s,共40个循环;95℃、30 s,60℃、60 s,绘制溶解曲线。以2^{-ΔΔC_T}值分析hsa_circ_0002938基因的相对表达量。

1.5.3 细胞转染 将对数生长期的SGC-7901和BGC-823细胞,以1×10⁶个/孔的密度接种于6孔板,待细胞密度达到60%~70%时,按照Lipofectamine™2000说明书进行转染,分别将siRNA-hsa_circ_0002938和小干扰RNA阴性对照(siRNA negative control, si-NC)转染至SGC-7901和BGC-823细胞中,置于培养箱中培养6 h,更换为含10%胎牛血清的完全培养基,继续培养至48 h后进行后续实验。siRNA的序列为:5'-CCUACUGCAUAGAACCA-

表1 PCR引物序列及反应条件

Tab.1 PCR primer sequences and reaction requirement

Genes	Primer sequences (5'-3')	Annealing temperature (℃)	Cycle (RT-PCR)
hsa_circ_0002938 (divergent)	F: TGTCCCGCAATAACAGCGTA	55	30
	R: GTGATGATGGTTGTTCTATGCAG		
hsa_circ_0002938 (convergent)	F: TGGAAACGCACCCACTTACA	55	30
	R: TAGCACTTTGGGCATCGGTT		
GAPDH	F: GGAAGCTTGTCAATGGAAATC	58	22
	R: TGATGACCCTTTGGCTCCC		

ACTT-3' (正向) 和 5'-GUUGGUUCUAUGCAGUAG-GTT-3' (反向); si-NC 序列为: 5'-UUCUCCGAACGU-GUCACGU-3' (正向); 5'-ACGUGACACGUUCG-GAGAA-3' (反向)。

1.5.4 CCK-8 法检测敲低 hsa_circ_0002938 对胃癌细胞活力的影响 取对数生长期的 BGC-823 和 SGC-7901 细胞, 分别转染 siRNA-hsa_circ_0002938 和 si-NC 后, 以 1×10^3 个/孔的密度制备细胞悬液, 并接种于 96 孔板中, 每组设 6 个复孔, 置于培养箱中培养, 于细胞贴壁后 24、48、72、96 h, 向每孔加入 10 μ l 的 CCK-8 试剂, 轻轻混匀后继续培养 2 h, 随后使用酶标仪 (450 nm 波长) 检测各时间点的吸光度值, 评估细胞活力。

1.5.5 划痕愈合实验检测 hsa_circ_0002938 对胃癌细胞迁移能力的影响 收集转染后的各组细胞, 以 1×10^6 个/孔的浓度接种于 6 孔板中, 待细胞生长至 90% 融合状态时, 用无菌 200 μ l 移液吸头在细胞中垂直划 3 条直线, 用无菌 PBS 洗涤 3 次, 去除游离细胞, 并更换为无血清培养基继续培养, 分别于划痕后 0、48 h 在荧光倒置显微镜下 ($\times 100$) 观察细胞移动情况并拍照。采用图像分析软件测量划痕宽度变化, 计算细胞迁移率。

1.5.6 Transwell 实验检测 hsa_circ_0002938 对胃癌细胞迁移侵袭能力的影响 取转染后生长状态良好的 SGC-7901 和 BGC-823 细胞, PBS 清洗, 使用无血清培养基重悬细胞, 调整细胞浓度为 1×10^6 个/ml, 将 200 μ l 吹打均匀的细胞悬液加至上室, 小室上铺有基质胶的检测侵袭能力, 未铺胶的检测迁移能力, 下室加入 600 μ l 含血清的完全培养液, 培养箱中培养 36~48 h 后, 取出小室, 吸去培养液, 将小室放入 PBS 中清洗, 使用 4% 多聚甲醛固定 20 min, 再放入 PBS 中清洗, 结晶紫溶液染色 20 min, 清水缓慢冲洗, 棉球擦去基底膜上面细胞。荧光倒置显微镜下 ($\times 200$) 随机观察 5 个视野, 并记录穿膜细胞数。

1.5.7 竞争性内源 RNA 网络的构建及功能富集分析 通过 circBank、miRanda 和 starBase 数据库预测可能与 hsa_circ_0002938 相结合的 miRNA, 利用 TargetScan 数据库预测与 miRNA 结合的下游靶基因, 构建 circRNA-miRNA-mRNA 竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 调控网络, 并利用 Cytoscape 软件对调控网络进行可视化。进一步使用 R4.3.0 版软件中的 “clusterProfiler” 包对 miRNA 靶基因进行 GO 和 KEGG 信号富集分析, 初

步预测靶基因的生物学功能, 并使用 “ggplot2” 包对结果进行可视化。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 9.0 进行数据统计分析及图表绘制。正态分布且方差齐性的计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示; χ^2 检验分析 hsa_circ_0002938 表达水平与患者临床病理特征的相关性; 两组间差异比较采用独立样本 t 检验; 生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 组间生存率比较采用 Log-rank 检验; 多因素分析采用 Cox 比例风险回归模型。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hsa_circ_0002938 在胃癌组织和细胞中的表达 hsa_circ_0002938 由亲本基因 CRIM1 的第 8~13 外显子反向剪接形成, Sanger 测序验证了其环化剪接位点 (图 1A、B)。使用发散引物扩增时, cDNA 样本中检测到环状转录本, 而 gDNA 样本中未见扩增产物; 使用线性转录本引物扩增时, cDNA 和 gDNA 样本均可检测到扩增产物 (图 1C), 说明本研究使用的环状 RNA 引物有效。RT-qPCR 检测了 45 例胃癌组织及癌旁组织中 hsa_circ_0002938 的表达水平, 结果显示, 胃癌组织中 hsa_circ_0002938 表达水平高于癌旁组织 ($t = 12.97$, $P < 0.01$, 图 1D)。在 4 株胃癌细胞系 (SGC-7901、BGC-823、MGC-803 和 HGC-27) 中, hsa_circ_0002938 的表达水平平均高于永生化人胃黏膜上皮细胞 GES-1 ($P < 0.05$, 图 1E)。综上, hsa_circ_0002938 在胃癌组织和细胞中的表达显著升高, 提示其可能在胃癌发生发展中发挥重要作用。

2.2 hsa_circ_0002938 表达水平与胃癌患者临床病理特征和预后的关系 以胃癌组织中 hsa_circ_0002938 的平均表达水平作为分界线, 将患者分为 hsa_circ_0002938 高表达组和低表达组。相关性分析结果显示, hsa_circ_0002938 高表达与 TNM 分期 ($P = 0.013$) 和淋巴结转移 ($P = 0.002$) 相关, 而与性别 ($P = 0.371$)、年龄 ($P = 0.736$)、肿瘤直径 ($P = 0.096$)、肿瘤部位 ($P = 0.689$)、组织学分级 ($P = 0.098$)、Lauren 分型 ($P = 0.384$) 及 HER2 ($P = 0.655$) 表达无显著相关性, 见表 2。生存分析结果显示, 与低表达组相比, hsa_circ_0002938 高表达组患者的 2 年无进展生存时间明显缩短, 两组间差异有统计学意义 (Log-rank test: $P = 0.009$; 图 2)。以上结果说明胃癌组织中 hsa_circ_0002938 高表达与患者预后不良相关。

2.3 Cox 风险回归模型多因素分析 多因素 Cox

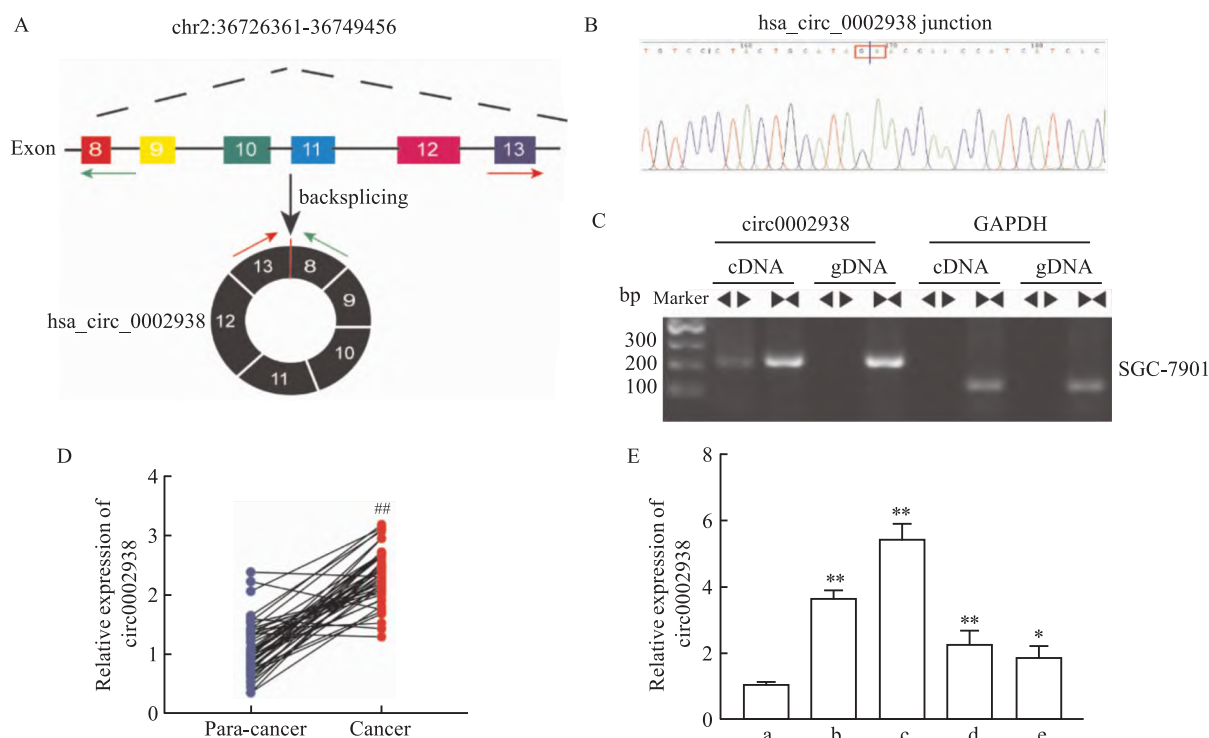


图1 环状RNA hsa_circ_0002938在胃癌中的表达

Fig. 1 The expression of circular RNA hsa_circ_0002938 in gastric cancer

A: Schematic illustration of the hsa_circ_0002938 formation from the *CRIM1* gene in the chromosome; B: Sanger sequencing was utilized to certify the back-splicing junction; C: Identification of hsa_circ_0002938 in SGC-7901 by RT-PCR; D: Relative expression of hsa_circ_0002938 in 45 cases of gastric cancer tissue and paired normal adjacent tissues; E: Relative expression of hsa_circ_0002938 in different gastric cancer cell lines and immortalized human gastric mucosal epithelial cell; a: GES-1 cell; b: BGC-823 cell; c: SGC-7901 cell; d: MGC-803 cell; e: HGC-27 cell; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs GES-1 cell; ## $P < 0.01$ vs para-cancer group.

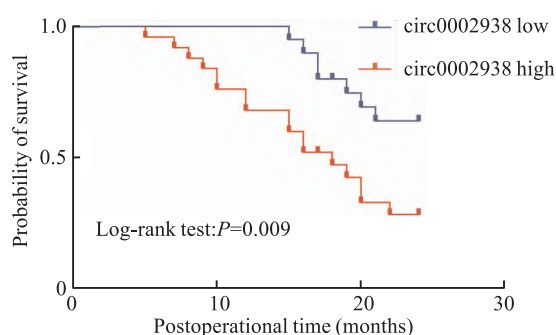


图2 hsa_circ_0002938表达与胃癌患者预后的关系

Fig. 2 Relation between hsa_circ_0002938 expression and the prognosis of gastric cancer patients

回归分析结果显示, hsa_circ_0002938 高表达是胃癌患者生存期较短的危险因素 ($HR = 3.032$, $P = 0.014$)。其森林图见图3。

2.4 敲低 hsa_circ_0002938 对胃癌细胞增殖能力的影响 在 hsa_circ_0002938 表达相对较高的 SGC-7901 和 BGC-823 细胞中, 分别转染 siRNA-hsa_circ_0002938 和 si-NC, RT-qPCR 结果显示, siRNA 组中

hsa_circ_0002938 表达低于 si-NC 组 ($t = 6.648$, 7.253 , $P < 0.01$, 图 4A), 表明 hsa_circ_0002938 在胃癌细胞中成功被敲低。CCK-8 实验结果显示, 与 si-NC 组相比, 敲低 hsa_circ_0002938 后, SGC-7901 和 BGC-823 细胞在 48、72、96 h 时的吸光度值均显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 图 4B、C), 表明敲低 hsa_circ_0002938 可抑制胃癌细胞的增殖活力。

2.5 敲低 hsa_circ_0002938 对胃癌细胞迁移侵袭能力的影响 划痕愈合实验结果显示, 与 si-NC 组

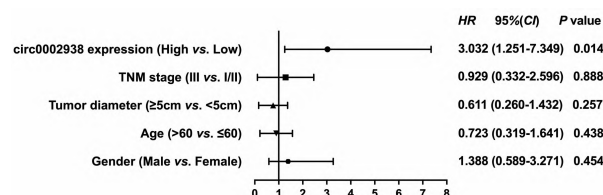


图3 胃癌患者多因素 Cox 风险回归分析森林图

Fig. 3 Forst plot of multivariate Cox risk regression analysis of gastric cancer patients

表 2 hsa_circ_0002938 表达与 45 例胃癌患者临床病理特征的相关性 [n(%)]

Tab. 2 Correlations between hsa_circ_0002938 expression and clinicopathological characteristics of 45 gastric cancer patients[n(%)]

Clinicopathological features	n	Expression of hsa_circ_0002938		χ^2 value	P value
		High	Low		
Gender				0.799	0.371
Male	28	17 (60.71)	11 (39.29)		
Female	17	8 (47.06)	9 (52.94)		
Age (years)				0.114	0.736
≤60	19	10 (52.63)	9 (47.37)		
>60	26	15 (57.69)	11 (42.31)		
Tumor diameter (cm)				2.779	0.096
<5	23	10 (43.48)	13 (56.52)		
≥5	22	15 (68.18)	7 (31.81)		
Tumor location				0.161	0.689
Gastric fundus/body	21	11 (52.38)	10 (47.62)		
Gastric antrum/pylorus	24	14 (58.33)	10 (41.67)		
TNM stage				6.161	0.013
I + II	20	7 (35.00)	13 (65.00)		
III	25	18 (72.00)	7 (28.00)		
Histological grade				2.732	0.098
Well/Moderately differentiated	16	7 (43.75)	9 (56.25)		
Poorly differentiated	29	20 (68.97)	9 (31.03)		
Lymph node metastasis				9.375	0.002
Negative	18	5 (27.78)	13 (72.22)		
Positive	27	20 (74.07)	7 (25.93)		
Lauren classification				1.914	0.384
Intestinal type	19	7 (36.84)	12 (63.16)		
Diffuse type	14	8 (57.14)	6 (42.86)		
Mixed type	12	7 (58.33)	5 (41.67)		
HER2				0.200	0.655
Negative	36	19 (52.78)	17 (47.22)		
Positive	9	4 (44.44)	5 (55.56)		

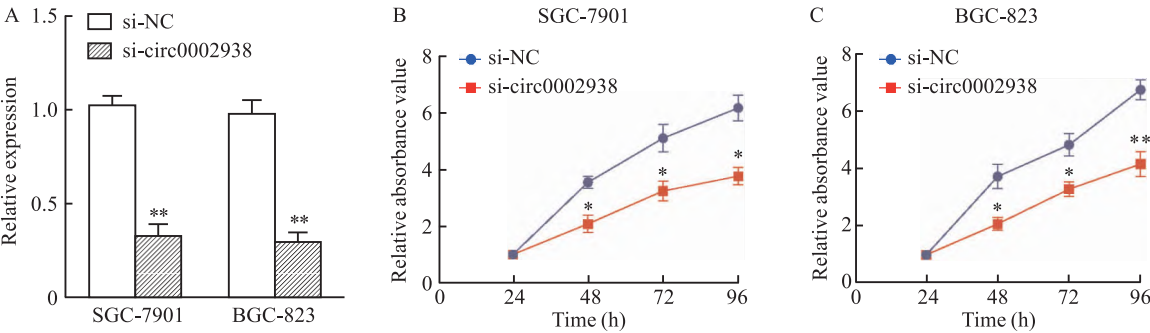


图 4 敲低 hsa_circ_0002938 对胃癌细胞增殖能力的影响

Fig. 4 Effect of knocking down hsa_circ_0002938 on cell proliferation of gastric cancer

A: The knockdown efficiency of siRNA was measured by RT-qPCR in SGC-7901 and BGC-823 cells; B, C: Effects of hsa_circ_0002938 knockdown on the proliferation viability of SGC-7901 and BGC-823 cells; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs si-NC group.

相比,敲低 hsa_circ_0002938 后 SGC-7901 和 BGC-823 细胞的迁移率降低($t = 14.02$, $P = 0.0002$; $t = 15.35$, $P = 0.0001$)。见图 5A。
Transwell 迁移和侵袭实验结果显示,与 si-NC 组相比,敲低 hsa_circ_0002938 后,SGC-7901 细胞

的迁移细胞数和侵袭细胞数均减少($t = 10.03$, 11.17 , 均 $P < 0.01$);同样,在 BGC-823 细胞中,敲低 hsa_circ_0002938 组的细胞穿膜数明显少于 si-NC 组($t = 9.47$, 6.91 , 均 $P < 0.01$, 图 5B)。以上结果说明,敲低 hsa_circ_0002938 可抑制胃癌细

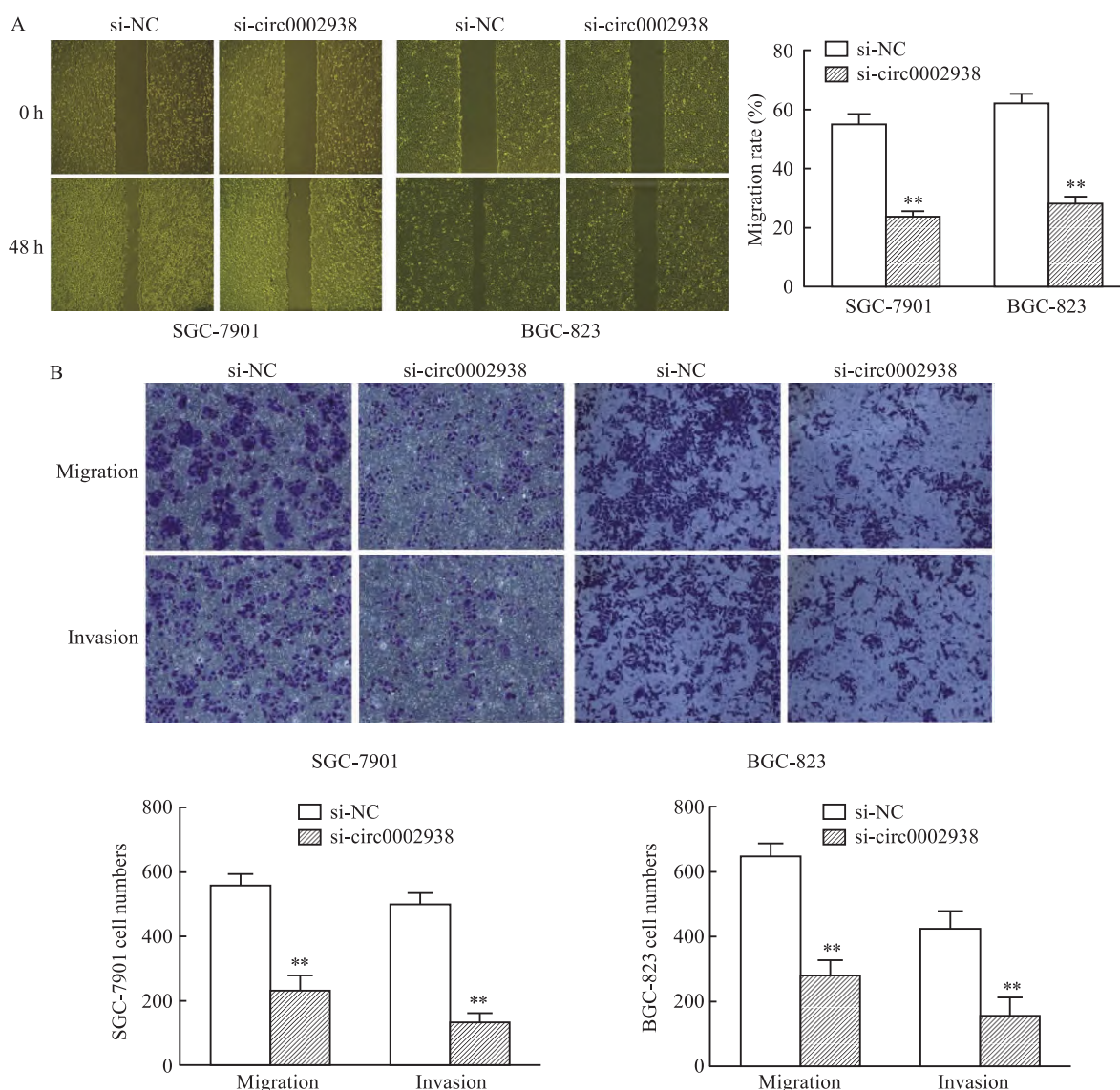


图5 敲低 hsa_circ_0002938 对胃癌细胞迁移侵袭能力的影响

Fig. 5 Effect of knocking down hsa_circ_0002938 on cell migration and invasion of gastric cancer

A: Effects of hsa_circ_0002938 knockdown on the migration activity of SGC-7901 and BGC-823 cells ×100; B: Effects of hsa_circ_0002938 knockdown on the migratory and invasive abilities of SGC-7901 and BGC-823 cells ×200; * * $P < 0.01$ vs si-NC group.

胞的迁移和侵袭能力。

2.6 hsa_circ_0002938 参与胃癌进展的潜在机制

利用 circBank、miRanda 和 starBase 数据库预测 hsa_circ_0002938 可能结合的 miRNA, 通过 Venny 软件取交集, 筛选出 hsa-miR-342-3p 和 hsa-miR-503-5p 作为候选 miRNA (图 6A、B)。通过 TargetScan 数据库获取 miRNA 调控的下游靶基因, 并利用 Cytoscape 软件构建 hsa_circ_0002938-miRNA-mRNA 互作网络 (图 6C)。KEGG 和 GO 富集分析结果显示, hsa_circ_0002938 预测靶基因与多种癌症相关途径如丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、Hippo 以及 Wnt 信号通路等相关 (图 6D), 且可能参与正性

调节细胞生长、神经元胞体、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性等多种生物学功能 (图 6E)。

3 讨论

胃癌是全球高发病率和高病死率的恶性肿瘤, 成为威胁人类健康的重大疾病。由于缺乏早期诊断的特异性标志物, 大部分患者确诊时已为中晚期, 且术后高复发和高转移率的特点, 其预后较差。因此, 深入挖掘胃癌发生和发展中关键的调控分子, 寻找更为特异和敏感的治疗靶点具有重要意义。

circRNA 作为一类由反向剪接产生的特殊内源性非编码 RNA, 其独特的环状结构使其在细胞中具

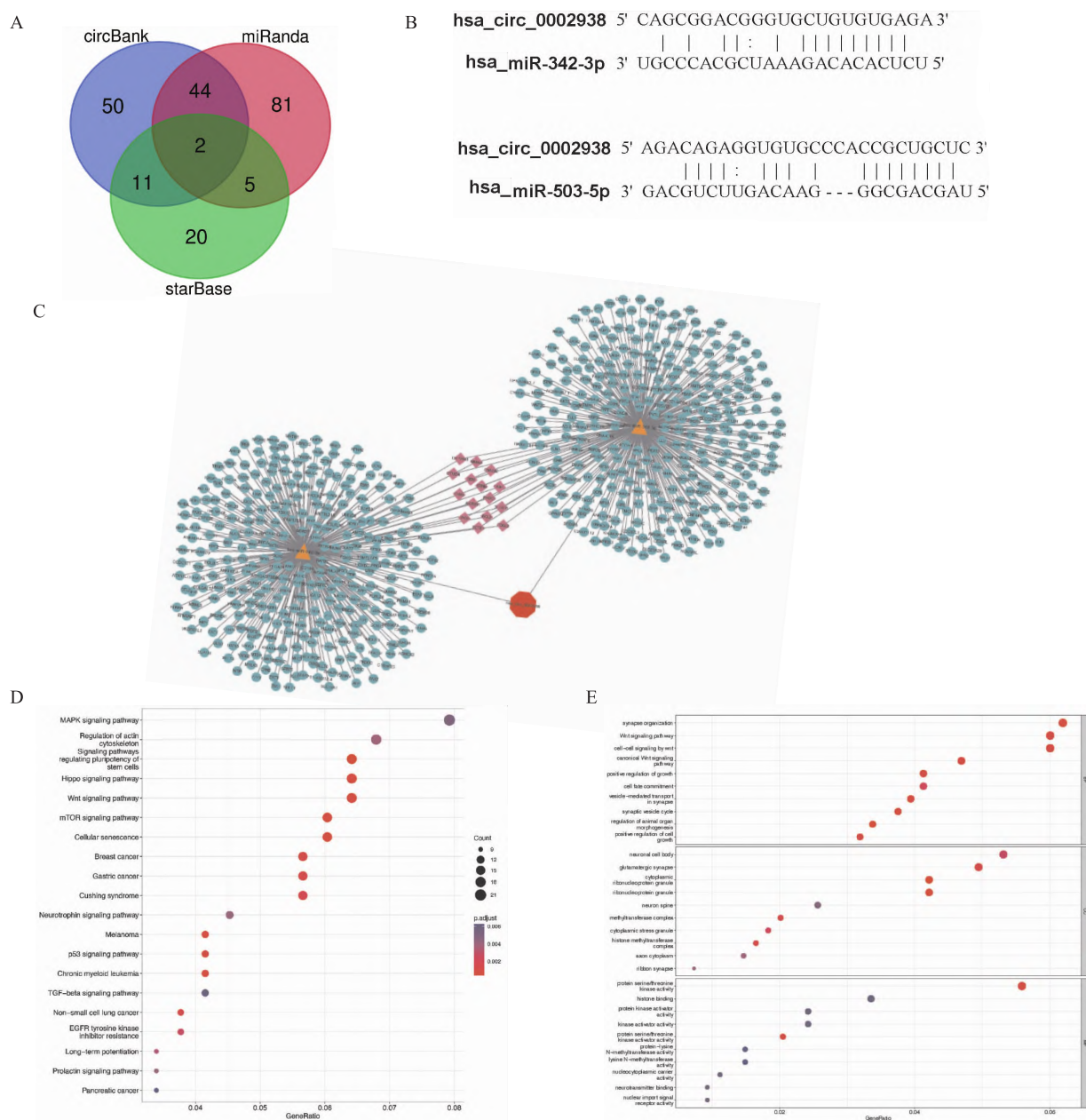


图6 hsa_circ_0002938 的互作网络及功能富集分析

Fig.6 The interaction network of hsa_circ_0002938 and its functional enrichment analysis

A: Intersection of the databases of circBank, miRanda, and starBase; B: The predicted binding site between hsa_circ_0002938 and miR-342-3p/miR-503-5p; C: The regulatory network of hsa_circ_0002938/miRNA/mRNA; D: KEGG enrichment analysis of the miRNA target genes; E: GO enrichment analysis of the miRNA target genes.

有高度的稳定性和进化保守性,因此可作为多种疾病的潜在生物标志物。近年来,越来越多的研究证实,circRNA 参与调控多种癌症的生物学行为,已成为肿瘤分子生物学研究领域的热点。例如,circRNA_PLEKHM3 在宫颈癌细胞中低表达,过表达 circRNA_PLEKHM3 可抑制宫颈癌细胞的迁移、侵袭和上皮间质转化进程,从而抑制肿瘤细胞转移^[6]。Zheng et al^[7]研究发现,circWWC3 可以上调 IL-4 在

乳腺癌细胞中的表达和分泌,促进肿瘤微环境中巨噬细胞 M2 样极化,并诱导 M2 型巨噬细胞中 PD-L1 的表达,最终促进乳腺癌细胞的迁移、转移和免疫逃逸。此外,circ3823 被证实可通过调控 miR-30c-5p/TCF7 轴在体内外促进结直肠癌的增殖、转移和新生血管形成,具有作为结直肠癌诊断标记物和治疗靶点的潜在价值^[8]。

Hsa_circ_0002938 是由亲本基因 *CRIM1* 的 8 -

13 外显子反向剪接衍生的环状 RNA,位于人类染色体 2p22.2 区域,长度为 1 056 bp。同样来源于亲本基因 *CRIM1* 的环状 RNA *hsa_circ_0002346* 已被证实鼻咽癌、肝细胞癌、卵巢癌及肺癌中发挥促癌或抑癌作用^[9-12]。课题组前期研究已证实 *hsa_circ_0002938* 的环状特征,并在食管鳞状细胞癌组织和细胞中高表达,能够促进食管鳞癌细胞的增殖、迁移、侵袭能力和上皮间质转化进程。然而,目前尚无关于 *hsa_circ_0002938* 在胃癌中的研究报道。本研究结果显示,*hsa_circ_0002938* 在胃癌组织中高表达,通过分析患者临床病理特征与 *hsa_circ_0002938* 表达的相关性,发现 *hsa_circ_0002938* 的高表达水平与胃癌患者的 TNM 分期和淋巴结转移呈正相关,且其高表达与患者的预后不良相关。本研究未发现 *hsa_circ_0002938* 与其他临床病理特征的显著相关性,这可能与临床样本量有限及随访时间较短有关,后续研究将扩大样本量,进一步探讨其与临床病理特征的相关性。体外细胞实验表明,敲低 *hsa_circ_0002938* 可显著抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭,提示 *hsa_circ_0002938* 可能通过调控胃癌细胞的转移和侵袭能力在胃癌进展中发挥促进作用,并具有作为潜在治疗靶点的研究价值。但本研究仍存在一定的局限性,如纳入的样本量较少、预后随访时间较短,有待扩大样本量做进一步论证。

circRNA 可通过多种机制发挥生物学功能,包括作为分子海绵吸附 miRNA 或 RNA 结合蛋白以调控下游靶基因的表达;调控宿主基因转录;一些具有核糖体进入位点和开放阅读框的 circRNA 还可以编码多肽^[13]。其中,作为 miRNA 分子海绵的机制最为常见,且是研究最广泛的调控方式。本研究通过 circBank、miRanda 和 starBase 数据库预测 *hsa_circ_0002938* 可能结合的 miRNA,筛选出 *hsa-miR-342-3p* 和 *hsa-miR-503-5p* 作为候选 miRNA,提示 *hsa_circ_0002938* 可能通过竞争性内源 RNA 机制调控下游靶基因的表达。进一步利用 TargetScan 数据库预测 miRNA 可能作用的下游靶基因,构建 circRNA-miRNA-mRNA 分子调控网络。通过对 miRNA 下游靶基因进行功能和信号通路富集,发现 *hsa_circ_0002938* 的预测靶基因与多种癌症相关通路如 MAPK、Hippo 以及 Wnt 密切相关,而这些信号通路也被证实在胃癌进展中发挥着重要作用^[14-15],通过生物信息学的挖掘为进一步探索 *hsa_circ_0002938* 在胃癌发生发展中的作用机制提供了研究思路。

综上所述,该研究表明 *hsa_circ_0002938* 在胃

癌组织中高表达,并与患者的不良预后相关。功能实验结果显示 *hsa_circ_0002938* 作为癌基因可促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭。然而,其具体作用机制仍需进一步实验验证。本研究为 *hsa_circ_0002938* 作为胃癌诊断和治疗的潜在生物标志物提供了研究依据,并为揭示其在胃癌发生发展中的分子机制奠定了基础。

参考文献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-63. doi:10.3322/caac.21834.
- [2] Xia C, Dong X, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-90. doi:10.1097/CM9.0000000000002108.
- [3] Smyth E C, Nilsson M, Grabsch H I, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2020, 396(10251): 635-48. doi:10.1016/S0140-6736(20)31288-5.
- [4] Vo J N, Cieslik M, Zhang Y, et al. The landscape of circular RNA in cancer[J]. Cell, 2019, 176(4): 869-81. e13. doi:10.1016/j.cell.2018.12.021.
- [5] Li X P, Jia Y L, Duan Y Q, et al. Circular RNA *hsa_circ_0002938* (circCRIM1) promotes the progression of esophageal squamous cell carcinoma by upregulating transcription factor 12[J]. Neoplasia, 2023, 70(1): 145-57. doi:10.4149/neo-2023_220823N857.
- [6] 张亚男, 崔莹, 王天娇, 等. 环状 RNA_PLEKHM3 通过 miR-320/KLF4 轴调控宫颈癌细胞上皮间质转化[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(3): 403-12. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.006.
- [6] Zhang Y N, Cui Y, Wang T J, et al. CircRNA_PLEKHM3 regulates epithelial mesenchymal transformation of cervical cancer cells through the miR-320/KLF4 axis[J]. Acta Univ Med Anhui, 2024, 59(3): 403-12. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.006.
- [7] Zheng Y, Ren S, Zhang Y, et al. Circular RNA circWWC3 augments breast cancer progression through promoting M2 macrophage polarization and tumor immune escape via regulating the expression and secretion of IL-4[J]. Cancer Cell Int, 2022, 22(1): 264. doi:10.1186/s12935-022-02686-9.
- [8] Guo Y, Guo Y, Chen C, et al. Circ3823 contributes to growth, metastasis and angiogenesis of colorectal cancer: involvement of miR-30c-5p/TCF7 axis[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 93. doi:10.1186/s12943-021-01372-0.
- [9] Hong X, Liu N, Liang Y, et al. Circular RNA CRIM1 functions as a CeRNA to promote nasopharyngeal carcinoma metastasis and docetaxel chemoresistance through upregulating FOXQ1[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 33. doi:10.1186/s12943-020-01149

- x.
- [10] Ji Y, Yang S, Yan X, et al. CircCRIM1 promotes hepatocellular carcinoma proliferation and angiogenesis by sponging miR-378a-3p and regulating SKP2 expression[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 796686. doi:10.3389/fcell.2021.796686.
- [11] Du Y, Liu X, Zhang S, et al. CircCRIM1 promotes ovarian cancer progression by working as ceRNAs of *CRIM1* and targeting miR-383-5p/ZEB2 axis[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19(1): 176. doi:10.1186/s12958-021-00857-3.
- [12] Zhang S J, Ma J, Wu J C, et al. Circular RNA circCRIM1 suppresses lung adenocarcinoma cell migration, invasion, EMT, and glycolysis through regulating miR-125b-5p/BTG2 axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(9): 3399. doi:10.26355/eurrev_202105_25807.
- [13] Chen L L. The expanding regulatory mechanisms and cellular functions of circular RNAs[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(8): 475-90. doi:10.1038/s41580-020-0243-y.
- [14] Messina B, Lo Sardo F, Scalera S, et al. Hippo pathway dysregulation in gastric cancer: from *Helicobacter pylori* infection to tumor promotion and progression[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14: 21. doi:10.1038/s41419-023-05568-8.
- [15] Liu C, Shen A, Song J, et al. LncRNA-CCAT5-mediated crosstalk between Wnt/ β -Catenin and STAT3 signaling suggests novel therapeutic approaches for metastatic gastric cancer with high Wnt activity[J]. *Cancer Commun*, 2024, 44(1): 76-100. doi:10.1002/cac2.12507.

The expression and function of circular RNA hsa_circ_0002938 in gastric cancer

Li Xiaopeng^{1,2}, Liu Sihan³, Zhao Yijie⁴, Li Shumei², Yin Xiaolei¹

(¹Dept of Gastroenterology, ²Dept of Medical Records, ³Dept of Radiation Therapy,

⁴Dept of Gastrointestinal Surgery, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035)

Abstract Objective To investigate the expression and biological function of circular RNA (circRNA) hsa_circ_0002938 in gastric cancer. **Methods** 45 pairs of tumor tissues and para-cancerous tissues from gastric cancer patients who underwent tumor reduction surgery at the hospital were collected. Human gastric cancer cells SGC-7901, BGC-823, HGC-27, MGC-803 and immortalized gastric mucosal epithelial cells GES-1 were routinely cultured. RT-qPCR was utilized to detect the expression of hsa_circ_0002938 in gastric cancer tissues and cells. Chi-square test was used to analyze its association with the clinicopathological characteristics of patients, and the Kaplan-Meier method was employed to assess the relationship between hsa_circ_0002938 expression levels and patient prognosis. The effects of hsa_circ_0002938 on the proliferation, migration and invasion abilities of gastric cancer cells were detected by CCK-8, scratch wound healing and Transwell assays. Bioinformatics was used to predict the miRNA and its downstream target genes that hsa_circ_0002938 might bind to. The competitive endogenous RNA regulatory network was constructed and the functions of the target genes were enriched. **Results** The expression of hsa_circ_0002938 in gastric cancer tissues and cells was much higher than that in para-cancerous tissues and GES-1 cells ($P < 0.05$). By contrast, patients in the high hsa_circ_0002938 expression group had significantly shorter 2-year progression-free survival than that in the low expression group after surgery ($P < 0.01$). Moreover, knocking down the expression of hsa_circ_0002938 reduced the proliferative, migratory, and invasive abilities of gastric cancer cells ($P < 0.05$). Bioinformatics predictive analysis showed that hsa_circ_0002938 could bind to hsa-miR-342-3p and hsa-miR-503-5p. The downstream target genes of miRNA were involved in several cancer-related pathways, like mitogen-activated protein kinase (MAPK), hippo and Wnt signaling pathway. **Conclusion** Hsa_circ_0002938, which is highly expressed in gastric cancer tissues and cells, is closely associated with poor patient prognosis. Knockdown of hsa_circ_0002938 inhibits the proliferation, migration, and invasion abilities of gastric cancer cells. The study reveals the potential role of hsa_circ_0002938 in the progression of gastric cancer, offering new insights into its prevention and treatment.

Key words gastric cancer; hsa_circ_0002938; SGC-7901 cell; BGC-823 cell; proliferation; migration; invasion

Fund program Key Project of Hebei Provincial Medical Science Research (No. 20230820)

Corresponding author Yin Xiaolei, E-mail: 48501609@hebmu.edu.cn