

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research*circCSPP1* 调控自噬影响胃癌细胞生长和转移能力的研究Research of *circCSPP1* affects the growth and metastasis ability of gastric cancer cells by regulating autophagy傅厚丰, 李 炳, 梁振雄,
王兴麟

(琼海市人民医院 普通外科, 海南 琼海 571400)

FU Hou - feng, LI Bing,
LIANG Zhen - xiong,
WANG Xing - lin(Department of General Surgery,
Qionghai People's Hospital, Qionghai
571400, Hainan Province, China)基金项目: 海南省卫生健康行业科研基金资助
项目(22A200336)作者简介: 傅厚丰(1978 -), 男, 副主任医师, 主要
从事非编码 RNA 和胃癌的相关研究

通信作者: 傅厚丰

MP: 13876163580

E - mail: feng990163@163.com

摘要:目的 探究 *circCSPP1* 介导的自噬对胃癌细胞增殖和转移能力的影响。
方法 将人胃癌细胞 NCI - N87 细胞分为 Vector 组(转染 Vector)、*circCSPP1* 组(转染 *circCSPP1*)和抑制药组(转染 *circCSPP1* 后与 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯喹孵育)。将 MKN - 45 细胞分为 sh - NC 组(转染 *circCSPP1* shRNA - NC)、sh - *circCSPP1* 组(转染 *circCSPP1* shRNA)和激动药组(转染 *circCSPP1* shRNA 后与 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 西罗莫司孵育)。用流式细胞术检测细胞的凋亡情况,用 Transwell 法检测细胞的迁移和侵袭情况,用蛋白质印迹法检测微管相关蛋白 1 轻链 3 - II (LC3 - II)和 p62 蛋白的表达水平。**结果** 在 NCI - N87 细胞中,Vector 组、*circCSPP1* 组和抑制药组的细胞凋亡率分别为 $(7.95 \pm 0.66)\%$ 、 $(3.93 \pm 0.62)\%$ 和 $(7.37 \pm 0.85)\%$,细胞迁移数分别为 (122.50 ± 12.25) 、 (169.40 ± 16.09) 和 (109.00 ± 8.22) 个,细胞侵袭数分别为 (73.38 ± 12.33) 、 (117.30 ± 12.78) 和 (55.25 ± 8.73) 个,LC3 - II 蛋白相对表达水平分别为 0.40 ± 0.06 、 1.13 ± 0.11 和 0.44 ± 0.08 ,p62 蛋白相对表达水平分别为 1.62 ± 0.15 、 0.21 ± 0.08 和 1.43 ± 0.16 ,抑制药组和 Vector 组的上述指标与 *circCSPP1* 组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。在 MKN - 45 细胞中,sh - NC 组、sh - *circCSPP1* 组和激动药组的细胞凋亡率分别为 $(6.81 \pm 0.68)\%$ 、 $(12.02 \pm 0.78)\%$ 和 $(5.76 \pm 1.21)\%$,细胞迁移数分别为 (191.60 ± 21.43) 、 (87.50 ± 10.76) 和 (155.60 ± 10.36) 个,细胞侵袭数分别为 (150.00 ± 11.55) 、 (61.63 ± 11.39) 和 (154.50 ± 17.99) 个,LC3 - II 蛋白相对表达水平分别为 1.08 ± 0.05 、 0.13 ± 0.03 和 1.18 ± 0.06 ,p62 蛋白相对表达水平分别为 0.15 ± 0.03 、 1.29 ± 0.08 和 0.19 ± 0.04 ,激动药组和 sh - NC 组的上述指标与 sh - *circCSPP1* 组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** *circCSPP1* 可以通过诱导自噬来提高胃癌细胞的增殖和转移能力。

关键词: 氯喹;西罗莫司;*circCSPP1*;胃癌;自噬;增殖;转移

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.05.013

中图分类号:R28 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)05-0665-06

Abstract: Objective To investigate the effects of *circCSPP1* mediated autophagy on the proliferation and metastasis ability of gastric cancer cells. **Methods** The human gastric cancer cells NCI - N87 were divided into Vector group (transfected with Vector), *circCSPP1* group (transfected with *circCSPP1*) and inhibitor group (transfected with *circCSPP1* and incubated with $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ chloroquine). The MKN - 45 cells were divided into sh - NC group (transfected with *circCSPP1* shRNA - NC), sh - *circCSPP1* group (transfected with *circCSPP1* shRNA) and agonist group (transfected with *circCSPP1* shRNA +

1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sirolimus). Flow cytometry was used to detect cell apoptosis. Transwell was used to detect cell migration and invasion. Western blot were used to detect the expression levels of microtubule associated protein light chain 3 - II (LC3 - II) and p62 protein. **Results** In NCI - N87 cells; the apoptosis rates of Vector, circCSPP1 and inhibitor groups were $(7.95 \pm 0.66)\%$, $(3.93 \pm 0.62)\%$ and $(7.37 \pm 0.85)\%$; the number of cell migrations were 122.50 ± 12.25 , 169.40 ± 16.09 and 109.00 ± 8.22 ; the number of cell invasions were 73.38 ± 12.33 , 117.30 ± 12.78 and 55.25 ± 8.73 ; the relative expression levels of LC3 - II protein were 0.40 ± 0.06 , 1.13 ± 0.11 and 0.44 ± 0.08 ; the relative expression levels of p62 protein were 1.62 ± 0.15 , 0.21 ± 0.08 and 1.43 ± 0.16 . The differences of above indexes were statistically significant between the circCSPP1 group and the inhibitor and Vector groups (all $P < 0.05$). In MKN - 45 cells; the cell apoptosis rates of sh - NC, sh - circCSPP1 and agonist groups were $(6.81 \pm 0.68)\%$, $(12.02 \pm 0.78)\%$ and $(5.76 \pm 1.21)\%$; the number of cell migrations were 191.60 ± 21.43 , 87.50 ± 10.76 and 155.60 ± 10.36 ; the number of cell invasions were 150.00 ± 11.55 , 61.63 ± 11.39 and 154.50 ± 17.99 ; the relative expression levels of LC3 - II protein were 1.08 ± 0.05 , 0.13 ± 0.03 and 1.18 ± 0.06 ; the relative expression levels of p62 protein were 0.15 ± 0.03 , 1.29 ± 0.08 and 0.19 ± 0.04 . Compared with the sh - circCSPP1 group, the differences of above indicators in the agonist and sh - NC groups were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** circCSPP1 can improve the proliferation and metastasis ability of gastric cancer cells by inducing autophagy.

Key words: chloroquine; sirolimus; circCSPP1; gastric cancer; autophagy; proliferation; metastasis

胃癌是起源于胃黏膜上皮细胞的消化系统恶性肿瘤,亦是世界第4大恶性肿瘤,其主要的治疗方式包括手术和放疗^[1]。随着诊断和治疗技术的发展,胃癌的发生率和死亡率均有所下降,但是多数患者在确诊时就已经处于中晚期,5年生存率较低^[2]。circRNA是一类分子呈封闭环状结构的非编码RNA,其不受RNA外切酶影响,可以稳定表达。研究显示, circRNA的异常表达对癌症的发生和发展起着重要的调控作用^[3],有望成为肿瘤诊断、治疗及预后评价的关键分子^[4]。SHI等^[5]研究发现, circCSPP1在胃癌组织中高表达,并可以作为胃癌诊断和预后评价的关键标志物。本研究旨在探索 circCSPP1对胃癌细胞增殖和转移的影响,为胃癌的临床诊断和治疗标志物的发现提供帮助。

材料与方法

1 材料

细胞 人胃黏膜细胞系 GSE1 和人胃癌细胞 NCI - N87、BGC823、MGC803、SGC7901、MKN - 45,均购自中国科学院上海细胞库。

药品与试剂 西罗莫司,规格:每瓶 50 mg,批号: 52404ES10,氯喹(chloroquine, CQ),规格:每瓶 100 mg,批号:53755ES60,均购自上海翊圣生物科技有限公司生产。HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit、AceQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒,均

购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit - 8, CCK - 8)、细胞凋亡检测试剂盒,均购自上海碧云天生物技术有限公司;微管相关蛋白轻链 3 - II(microtubule - associated protein 1 light chain 3 - II, LC3 - II)、动力蛋白激活蛋白 4(SQSTM1, p62)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase, GAPDH)一抗、山羊抗鼠二抗,均购自杭州华安生物科技有限公司。

仪器 SpectraMax iD3 酶标仪,上海美谷分子仪器有限公司产品;CytoFLEX 流式细胞仪,美国贝克曼库尔特公司产品;Quantstudio 3 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪,美国赛默飞世尔科技公司产品;BX50 荧光显微镜,日本奥林巴斯公司产品;EPS - 600 数显式稳压稳流电泳仪、VE - 586 蛋白转膜仪,均为上海天能生命科学有限公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养^[6-7]

将人胃黏膜细胞系 GSE1 和人胃癌细胞 NCI - N87、BGC823、MGC803、SGC7901、MKN - 45 均置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中,在 37℃、含 5% CO₂ 的恒温恒湿培养箱中进行培养,每天更换 1 次培养基,待细胞生长至 80% 时,按 1:2 的比例进行细胞传代,取对数生长期细胞进行后续实验。

2.2 细胞筛选^[8]

用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(real - time

quantitative reverse transcription PCR, qRT-PCR) 法检测人胃黏膜细胞系 GSE1 和人胃癌细胞 NCI-N87、BGC823、MGC803、SGC7901、MKN-45 中 *circCSPP1* 的表达水平,筛选出 *circCSPP1* 表达水平最低和最高的细胞。用 Trizol 试剂提取细胞中总 RNA,定量后,用 HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒进行逆转录反应,所得 cDNA 根据 AceQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒进行 PCR 反应。反应程序:95 ℃ 1 min,95 ℃ 10 s,95 ℃ 30 s,40 个循环。以 *GAPDH* 为内参,用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 *circCSPP1* 的相对表达水平。

2.3 细胞分组与处置方法^[9]

将 NCI-N87 细胞分为 Vector 组、*circCSPP1* 组和抑制药组。Vector 组和 *circCSPP1* 组分别用 Lipofectamine™ 3000 试剂转染空载质粒和 *circCSPP1* 过表达质粒;抑制药组用 Lipofectamine™ 3000 试剂转染 *circCSPP1* 过表达质粒后与 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CQ 孵育 24 h。

将 MKN-45 细胞分为 sh-NC 组、sh-*circCSPP1* 组和激动药组。sh-NC 组和 sh-*circCSPP1* 组分别用 Lipofectamine™ 3000 试剂转染 *circCSPP1* shRNA 阴性对照和 *circCSPP1* shRNA;激动药组用 Lipofectamine™ 3000 试剂转染 *circCSPP1* shRNA 后与 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 西罗莫司孵育 24 h。

2.4 蛋白质印迹法检测 LC3-II 和 p62 蛋白的表达水平

调整 NCI-N87 和 MKN-45 细胞密度为 $1 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$,接种至 6 孔板中,每孔 1 mL,按照“2.3”的方法进行分组和处置,每组设 8 个复孔,培养 24 h 后,用 RIPA 裂解液提取 NCI-N87 细胞和 MKN-45 细胞中各组的总蛋白。取蛋白 $10 \mu\text{g}$,按文献[10]的方法进行操作,以 *GAPDH* 为内参蛋白,用 Image J 软件计算目的蛋白的相对表达水平。

2.5 CCK-8 实验法检测细胞的增殖情况^[11]

调整 NCI-N87 和 MKN-45 细胞密度为 $1 \times 10^4 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$,接种至 96 孔板中,每孔 $100 \mu\text{L}$,每组设 8 个复孔。按照“2.3”的方法进行分组和处置,在干预 0、24、48、72 h 后,每孔加入 CCK-8 溶液 $10 \mu\text{L}$,37 ℃ 孵育 4 h,用酶标仪在 450 nm 处检测各孔光密度值(optical density, OD)值。

2.6 流式细胞仪检测细胞的凋亡情况^[12]

调整 NCI-N87 和 MKN-45 细胞密度为 $1 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$,接种至 6 孔板中,每孔 1 mL,按照“2.3”的方法进行分组和处置,每组设 8 个复孔,培养 24 h 后,收集 NCI-N87 细胞和 MKN-45 细胞中的各组细

胞于流式管中,各管分别加入 Annexin V-FITC $5 \mu\text{L}$ 和碘化丙啶(propidium iodid, PI) $5 \mu\text{L}$,并设置单染管和空白管,避光染色 15 min,清洗细胞后,用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.7 Transwell 小室法检测细胞迁移和侵袭能力^[13]

用不含血清的 DMEM 培养基稀释 NCI-N87 细胞和 MKN-45 细胞至 $5 \times 10^5 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$,取细胞悬液 $100 \mu\text{L}$ 接种至 Transwell 小室中,每组 8 个复孔,将 Transwell 小室放置于 24 孔板中,并且 24 孔板每孔加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基 $600 \mu\text{L}$,培养 24 h 后取出 Transwell 小室,进行固定、结晶紫染色、清洗、晾干,并于显微镜下观察拍照,比较各组细胞迁移和侵袭数。

3 统计学处理

用 Graphpad 8.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较用独立样本 *t* 检验,多组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 *circCSPP1* 在胃癌细胞中的表达情况

人胃癌细胞 NCI-N87、BGC823、MGC803、SGC7901、MKN-45 中 *circCSPP1* 相对表达水平分别为 1.42 ± 0.35 、 1.74 ± 0.62 、 1.87 ± 0.36 、 2.23 ± 0.44 和 2.94 ± 0.45 ,均显著高于其在人胃黏膜细胞系 GSE1 中的 1.00 ± 0.00 ,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。其中,*circCSPP1* 在人胃癌细胞 NCI-N87 中的相对表达水平最低,在人胃癌细胞 MKN-45 中的相对表达水平最高,故选择这 2 种细胞进行后续实验。

2 细胞转染效果验证

Vector 组和 *circCSPP1* 组分别转染空载质粒和 *circCSPP1* 过表达质粒;抑制药组转染 *circCSPP1* 过表达质粒后与 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CQ 孵育。sh-NC 组和 sh-*circCSPP1* 组分别转染 *circCSPP1* shRNA 阴性对照和 *circCSPP1* shRNA;激动药组转染 *circCSPP1* shRNA 后与 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 西罗莫司孵育。

在 NCI-N87 细胞中,Vector 组和 *circCSPP1* 组的 *circCSPP1* 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.00 和 3.56 ± 0.56 ,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 MKN-45 细胞中,sh-NC 组和 sh-*circCSPP1* 组的 *circCSPP1* 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.00 和 0.18 ± 0.11 ,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.05$)。这说明成功构建 2 种 *circCSPP1* 差

异表达的细胞株。

3 circCSPP1 对胃癌细胞自噬相关蛋白 LC3 - II 与 p62 表达的影响

在 NCI - N87 细胞中, Vector 组、circCSPP1 组和抑制药组的 LC3 - II 蛋白相对表达水平分别为 0.40 ± 0.06 、 1.13 ± 0.11 和 0.44 ± 0.08 , p62 蛋白相对表达水平分别为 1.62 ± 0.15 、 0.21 ± 0.08 和 1.43 ± 0.16 。抑制药组和 Vector 组的上述蛋白相对表达水平与 circCSPP1 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图 1。

在 MKN - 45 细胞中, sh - NC 组、sh - circCSPP1 组和激动药组的 LC3 - II 蛋白相对表达水平分别为 1.08 ± 0.05 、 0.13 ± 0.03 和 1.18 ± 0.06 , p62 蛋白相对表达水平分别为 0.15 ± 0.03 、 1.29 ± 0.08 和 0.19 ± 0.04 。激动药组和 sh - NC 组的上述蛋白相对表达水平与 sh - circCSPP1 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图 1。

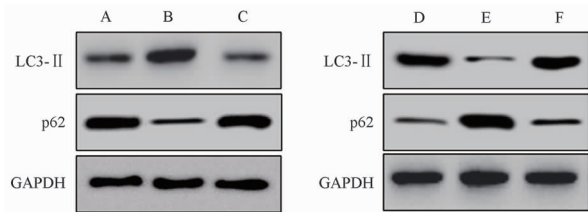


图 1 用蛋白质印迹法检测各组 NCI - N87 和 MKN - 45 细胞中微管相关蛋白轻链 3 - II (LC3 - II) 和动力蛋白激活蛋白 4 (p62) 的表达情况

Figure 1 Expression levels of microtubule - associated protein 1 light chain 3 - II (LC3 - II) and SQSTM1 (p62) in NCI - N87 and MKN - 45 cells were measured by Western blot

A - C; NCI - N87 cells; D - F; MKN - 45 cells; A: Vector group, transfected with Vector; B: circCSPP1 group, transfected with circCSPP1; C: Inhibitor group, transfected with circCSPP1 and incubated with $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ chloroquine; D: sh - NC group, transfected with circCSPP1 shRNA - NC; E: sh - circCSPP1 group, transfected with circCSPP1 shRNA; F: Agonist group, transfected with circCSPP1 shRNA + $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sirolimus.

4 circCSPP1 调控自噬影响胃癌细胞的增殖

在 NCI - N87 细胞中, circCSPP1 组干预 24、48、72 h 后的增殖能力 (OD 值) 均显著高于 Vector 组 (均 $P < 0.05$), 抑制药组干预 24、48、72 h 后的增殖能力 (OD 值) 均显著低于 circCSPP1 组 (均 $P < 0.05$)。结果见表 1。

在 MKN - 45 细胞中, sh - circCSPP1 组干预 24、48、72 h 后的增殖能力 (OD 值) 均显著低于 sh - NC 组 (均 $P < 0.05$), 激动药组干预 24、48、72 h 后的增殖能力 (OD 值) 均显著高于 sh - circCSPP1 组 (均 $P < 0.05$)。结果见表 1。

5 circCSPP1 调控自噬影响胃癌细胞凋亡的情况

在 NCI - N87 细胞中, Vector 组、circCSPP1 组和抑制药组的细胞凋亡率分别为 $(7.95 \pm 0.66)\%$ 、 $(3.93 \pm 0.62)\%$ 和 $(7.37 \pm 0.85)\%$, circCSPP1 组的细胞凋亡率和 Vector 组、抑制药组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

在 MKN - 45 细胞中, sh - NC 组、sh - circCSPP1 组和激动药组的细胞凋亡率分别为 $(6.81 \pm 0.68)\%$ 、 $(12.02 \pm 0.78)\%$ 和 $(5.76 \pm 1.21)\%$, sh - circCSPP1 组的细胞凋亡率和 sh - NC 组、激动药比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

6 circCSPP1 调控自噬影响胃癌细胞的迁移和侵袭能力

在 NCI - N87 细胞中, Vector 组、circCSPP1 组和抑制药组的细胞迁移数分别为 (122.50 ± 12.25) 、 (169.40 ± 16.09) 和 (109.00 ± 8.22) 个, 细胞侵袭数分别为 (73.38 ± 12.33) 、 (117.30 ± 12.78) 和 (55.25 ± 8.73) 个。circCSPP1 组的上述指标和 Vector 组、抑制药组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图 2。

在 MKN - 45 细胞中, sh - NC 组、sh - circCSPP1 组和激动药组的细胞迁移数分别为 (191.60 ± 21.43) 、 (87.50 ± 10.76) 和 (155.60 ± 10.36) 个, 细胞侵袭数

表 1 各组 NCI - N87 和 MKN - 45 细胞增殖能力 [光密度 (OD) 值] 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of proliferation ability [optical density (OD) values] of NCI - N87 and MKN - 45 cells in different groups ($\bar{x} \pm s$)

Time (h)	n	NCI - N87 cell			MKN - 45 cell		
		Vector	circCSPP1	Inhibitor	sh - NC	sh - circCSPP1	Agonist
0	8	0.58 ± 0.07	0.57 ± 0.06	0.59 ± 0.04	0.61 ± 0.04	0.60 ± 0.05	0.62 ± 0.03
24	8	0.71 ± 0.24	$1.07 \pm 0.05^*$	$0.80 \pm 0.09^\#$	1.04 ± 0.05	$0.71 \pm 0.08^\Delta$	$1.07 \pm 0.09^\blacktriangle$
48	8	1.24 ± 0.08	$1.72 \pm 0.10^*$	$1.27 \pm 0.12^\#$	1.60 ± 0.08	$0.95 \pm 0.10^\Delta$	$1.64 \pm 0.08^\blacktriangle$
72	8	1.67 ± 0.11	$2.10 \pm 0.16^*$	$1.68 \pm 0.10^\#$	2.28 ± 0.15	$1.59 \pm 0.09^\Delta$	$2.24 \pm 0.14^\blacktriangle$

Dose refer to figure 1; Compared with vector group, * $P < 0.05$; Compared with circCSPP1 group, $^\#P < 0.05$; Compared with sh - NC Group, $^\Delta P < 0.05$; Compared with sh - circCSPP1 group, $^\blacktriangle P < 0.05$.

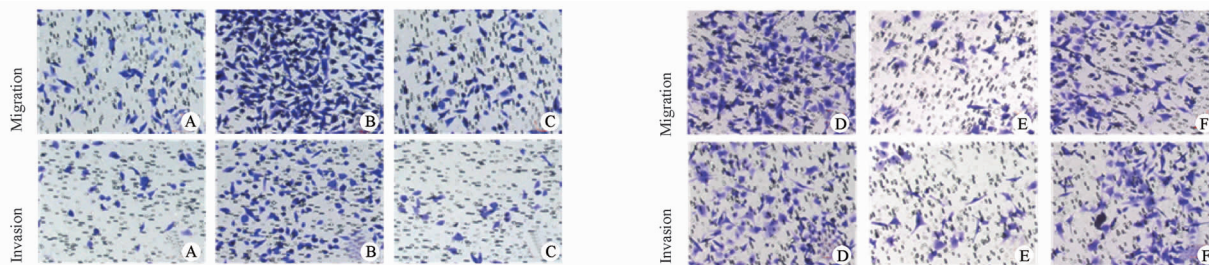


图2 各组 NCI-N87 和 MKN-45 细胞迁移数和侵袭数的比较 ($\times 200$)

Figure 2 Comparison of migration and invasion of NCI-N87 and MKN-45 cells in each group ($\times 200$)

A-C: NCI-N87 cells; D-F: MKN-45 cells; A-F refer to figure 1.

分别为 (150.00 ± 11.55)、(61.63 ± 11.39) 和 (154.50 ± 17.99) 个。sh-circCSPP1 组的上述指标和 sh-NC 组、激动药组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图 2。

讨 论

多种 circRNA 的异常表达会调控胃癌细胞的免疫逃逸、增殖、转移以及放化疗抗性等。YAO 等^[14]研究发现,肿瘤异常表达的 circRNA_102191 可以促进肿瘤相关巨噬细胞的极化,进而促进肿瘤的发展。LI 等^[15]研究发现, circRNA_CDR1 可以作为胃癌诊断和预后评价的关键分子,对胃癌的临床诊断和治疗具有重要意义。

circCSPP1 被发现在结肠癌、宫颈癌以及肾透明质细胞癌等多种肿瘤中异常表达。WANG 等^[16]研究发现, circCSPP1 可以调控 miR-431 促进结肠癌的发展。ZHANG 等^[17]研究发现, circCSPP1 可以通过调控 miR-493-5p/Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1, RAC1) 信号轴来影响肾透明质细胞癌的生长和转移。研究发现, circCSPP1 可以促进肝癌细胞的增殖,抑制细胞凋亡^[18],而抑制 circCSPP1 则可以抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力^[19]。本研究发现, circCSPP1 在胃癌细胞 NCI-N87、BGC823、MGC803、SGC7901、MKN-45 中的相对表达水平均显著高于其在人胃黏膜细胞系 GSE1 中的相对表达水平,并且在抑制 circCSPP1 表达后, MKN-45 细胞的增殖、迁移和侵袭能力均较 sh-NC 组显著降低,细胞凋亡率显著增加,而过表达 circCSPP1 后, NCI-N87 细胞的增殖、迁移和侵袭能力均较 Vector 组显著增加,细胞凋亡率显著降低,这说明 circCSPP1 可以促进胃癌细胞的增殖和转移能力。

自噬是实现细胞本身的代谢需要和某些细胞器

更新的过程^[20]。有研究指出,自噬可以作为胃癌治疗的新靶点^[21],诱导细胞自噬会促进胃癌细胞的增殖^[22-26]。DUAN 等^[27]研究发现, circ_0001658 可以通过调控自噬来影响胃癌的增殖。LUO 等^[28]研究发现, circPOFUT1 可以通过调控自噬来介导胃癌细胞的生长和转移。LU 等^[29]研究发现, circCSPP1 亦可以通过调控自噬来促进前列腺癌的病理进程。本研究发现:过表达 circCSPP1 后, NCI-N87 细胞自噬较 Vector 组显著增加,而抑制 circCSPP1 后, MKN-45 细胞增殖能力较 sh-NC 组显著降低,即 circCSPP1 可以上调胃癌细胞自噬;进一步研究发现,用自噬激动药西罗莫司处理抑制 circCSPP1 表达的 MKN-45 细胞后,细胞增殖、迁移和侵袭能力均较 sh-circCSPP1 组显著增加,用自噬抑制药 CQ 处理过表达 circCSPP1 的 NCI-N87 细胞后,细胞增殖、迁移和侵袭能力均较 circCSPP1 组显著降低,这说明 circCSPP1 介导的自噬对胃癌细胞的恶性生物学行为具有重要的调控作用。

本研究提示: circCSPP1 在胃癌细胞中高表达,其可以通过诱导细胞自噬来促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力,抑制细胞凋亡。

参考文献:

- [1] STROOBANT E E, STRONG V E. Advances in gastric cancer surgical management [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2024, 38(3): 547-557.
- [2] HOU W, ZHAO Y, ZHU H. Predictive biomarkers for immunotherapy in gastric cancer: Current status and emerging prospects [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(20): 15321-15346.
- [3] PISIGNANO G, MICHAEL D C, VISAL T H, et al. Going circular: History, present, and future of circRNAs in cancer [J]. *Oncogene*, 2023, 42(38): 2783-2800.
- [4] ZUO Y B, ZHANG Y F, ZHANG R, et al. Ferroptosis in cancer progression: Role of noncoding RNAs [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(5): 1829-1843.
- [5] SHI H, KONG S. A comprehensive evaluation of serum circCSPP1

- as a novel diagnostic and prognostic biomarker for gastric cancer [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2024, 48 (6): 102367—102373.
- [6] 刘平平,王琛禹,肖云华,等. PGRMC1 介导的肝癌细胞自噬降低¹²⁵I 粒子辐射敏感性[J]. 陆军军医大学学报,2024,46(9): 1015—1023.
- [7] ZHU Y, HUANG C, ZHANG C, et al. LncRNA MIR200CHG inhibits EMT in gastric cancer by stabilizing *miR - 200c* from target - directed miRNA degradation [J]. *Nat Commun*. 2023, 14 (1): 8141—8159.
- [8] 吕文瑶,李琳,许崇安. 长链非编码 RNA SOCS2 - AS1 通过 Hippo - YAP 信号通路调控胃癌细胞增殖和侵袭迁移的机制研究[J]. 中国临床药理学杂志,2023,39(24):3618—3622.
- [9] ZHANG Y, WEN Y. The role of lncRNA NEAT1 in gastric cancer: Tumor development and potential therapeutic target [J]. *Curr Pharm Des*, 2023, 29 (28): 2213—2222.
- [10] SHANG Z, LUO Z, WANG Y, et al. CircHIPK3 contributes to cisplatin resistance in gastric cancer by blocking autophagy - dependent ferroptosis [J]. *J Cell Physiol*, 2023, 238 (10): 2407—2424.
- [11] LIU Y, CAO J, YANG Q, et al. CircRNA_15430 reduced by *Helicobacter pylori* infection and suppressed gastric cancer progression via *miR - 382 - 5p/ZCCHC14* axis [J]. *Biol Direct*, 2023, 18 (1): 51—63.
- [12] 徐朝波,梅祎军. *circ_0045063* 对甘草查尔酮 A 抗胃癌细胞增殖的作用及机制研究[J]. 中国临床药理学杂志,2022,38(24):2989—2993.
- [13] 牛正宣,周丽,周大新. *miR - 760* 靶向调节黑色素瘤抗原家族 D1 抑制胃癌细胞增殖、迁移及侵袭的研究[J]. 中国临床药理学杂志,2023,39(4):493—497.
- [14] YAO M, MAO X, ZHANG Z, et al. Tumor - derived CircRNA_102191 promotes gastric cancer and facilitates M2 macrophage polarization [J]. *Cell Cycle*, 2023, 22 (18): 2003—2017.
- [15] LI R, TIAN X, JIANG J, et al. CircRNA *CDR1as*: A novel diagnostic and prognostic biomarker for gastric cancer [J]. *Biomarkers*, 2023, 28 (5): 448—457.
- [16] WANG J, ZHOU L, CHEN B, et al. Circular RNA *circCSPP1* promotes the occurrence and development of colon cancer by sponging *miR - 431* and regulating ROCK1 and ZEB1 [J]. *J Transl Med*, 2022, 20 (1): 58—66.
- [17] ZHANG D, YANG X, LUO Q, et al. Circular RNA CSPP1 motivates renal cell carcinoma carcinogenesis and the Warburg effect by targeting *RAC1* through microRNA - 493 - 5p [J]. *Acta Biochim Pol*, 2023, 70 (3): 693—701.
- [18] JIA N, SONG Z, CHEN B, et al. A novel circular RNA *circCSPP1* promotes liver cancer progression by sponging *miR - 1182* [J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14 (23): 2829—2838.
- [19] YANG G, XU Q, WAN Y, et al. *Circ - CSPP1* knockdown suppresses hepatocellular carcinoma progression through *miR - 493 - 5p* releasing - mediated HMGB1 downregulation [J]. *Cell Signal*, 2021, 10 (8): 110065—110077.
- [20] 李玉玲,杨建林,崔芝,等. 新型精胺氧化酶抑制药对人胃癌 SGC - 7901 细胞增殖、凋亡和自噬的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2023,39(16):2343—2347.
- [21] YANG P, YANG W, WEI Z, et al. Novel targets for gastric cancer: The tumor microenvironment (TME), *N6 - methyladenosine (m6A)*, pyroptosis, autophagy, ferroptosis and cuproptosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 16 (3): 114883—114892.
- [22] YU Q Y, HAN Y, LU J H, et al. NRPI regulates autophagy and proliferation of gastric cancer through Wnt/ β - catenin signaling pathway [J]. *Aging*, 2023, 15 (17): 8613—8629.
- [23] 刘欣,延威. 复方谷氨酰胺胶囊通过靶向自噬相关基因 5 介导自噬诱导胃癌细胞凋亡的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39 (3): 386—390.
- [24] 王霞,许瑶,许允琪. 猫人参通过自噬对恶性转化的人胃黏膜上皮细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38 (15): 1766—1769.
- [25] 龚小梅,李湛全,姚香草,等. 三氧化二砷对胃癌细胞凋亡与自噬的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37 (10): 1196—1200.
- [26] 谭业儒,伍小平,李跃华. *miR - 144* 通过靶向 TIGAR 调控胃癌细胞增殖与凋亡及自噬的分子机制[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36 (1): 57—60.
- [27] DUAN X, YU X, LI Z. Circular RNA *hsa_circ_0001658* regulates apoptosis and autophagy in gastric cancer through microRNA - 182/ *Ras - related protein Rab - 10* signaling axis [J]. *Bioengineered*, 2022, 13 (2): 2387—2397.
- [28] LUO M, DENG X, CHEN Z, et al. Circular RNA *circPOFUT1* enhances malignant phenotypes and autophagy - associated chemoresistance via sequestering *miR - 488 - 3p* to activate the *PLAG1 - ATG12* axis in gastric cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14 (1): 10—25.
- [29] LU J, ZHONG C, LUO J, et al. HnRNP - L - regulated *circCSPP1/ miR - 520h/EGFR* axis modulates autophagy and promotes progression in prostate cancer [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 19 (6): 927—944.

(收稿日期 2024 - 09 - 20)