

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.09.003

## LINC00894 调节 miR-205-5p/GPNMB 轴对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

李超, 王世卉, 林洁, 王凡珂, 张蕊(河北医科大学第一医院 胃肠病诊疗中心, 河北 石家庄 050000)

**[摘要]** **目的:** 探究长链非编码 RNA00894(LINC00894)调节微小 RNA-205-5p(miR-205-5p)/糖蛋白非转移性黑色素瘤蛋白 B(GPNMB)轴对胃癌细胞恶性生物学行为的影响。**方法:** 收集2022年11月至2023年9月在河北医科大学第一医院手术切除的25例胃癌组织及相应癌旁组织, 常规培养 BGC823 细胞, 随机将其分为对照组、sh-NC 组、sh-LINC00894 组、sh-LINC00894 + anti-NC 组、sh-LINC00894 + anti-miR-205-5p 组, 用转染试剂将相应质粒转染至各组细胞中。qPCR 法检测各组 BGC823 细胞和癌组织中 LINC00894、miR-205-5p 和 GPNMB mRNA 表达, 双萤光素酶报告基因实验和 AGO<sub>2</sub>-RNA 免疫共沉淀验证 LINC00894 与 miR-205-5p 和 miR-205-5p 与 GPNMB 间的靶向结合关系。克隆形成实验、EdU 染色、划痕愈合实验和 Transwell 实验分别检测各组细胞的增殖、迁移和侵袭能力。WB 法检测各组细胞中 CDK1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达。裸鼠移植瘤实验检测敲减 LINC00894 对移植瘤生长的影响, 免疫组化法检测移植瘤组织中 GPNMB 蛋白的表达。**结果:** 胃癌组织和细胞中 LINC00894、GPNMB 呈高表达, miR-205-5p 呈低表达(均  $P < 0.05$ )。LINC00894 与 miR-205-5p 和 miR-205-5p 与 GPNMB 之间存在靶向结合负向调控关系(均  $P < 0.05$ )。敲减 LINC00894 可促进 BGC823 细胞中 miR-205-5p 表达并抑制 GPNMB 表达(均  $P < 0.05$ )。敲减 LINC00894 可抑制 BGC823 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 以及抑制 CDK1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达(均  $P < 0.05$ )。抑制 miR-205-5p 则可逆转此作用(均  $P < 0.05$ )。敲减 LINC00894 可抑制 BGC823 细胞移植瘤的生长、促进 miR-205-5p 表达、抑制 GPNMB 蛋白表达(均  $P < 0.05$ )。**结论:** 在胃癌组织及细胞中 LINC00894 呈高表达, miR-205-5p 呈低表达, 敲减 LINC00894 表达可调控 BGC823 细胞中 miR-205-5p/GPNMB 通路蛋白表达并抑制其恶性生物学行为。

**[关键词]** 胃癌; 长链非编码 RNA00894 (LINC00894); 微小 RNA-205-5p (miR-205-5p); 糖蛋白非转移性黑色素瘤蛋白 B (GPNMB); 增殖; 迁移; 侵袭

**[中图分类号]** R735.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 09-0912-08

## Effects of LINC00894 regulating miR-205-5p/GPNMB axis on proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells

LI Chao, WANG Shihui, LIN Jie, WANG Fanke, ZHANG Rui (Gastroenterology Diagnosis and Treatment Center, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of long intergenic non-coding RNA00894 (LINC00894) on the malignant biological behaviors of gastric cancer (GC) cells *via* regulating the microRNA-205-5p (miR-205-5p)/glycoprotein non-metastatic melanoma protein B (GPNMB) axis. **Methods:** Twenty-five pairs of gastric cancer tissues and corresponding adjacent tissues were collected from patients undergoing surgical resection at the First Hospital of Hebei Medical University between November 2022 and September 2023. BGC823 cells were routinely cultured and into control, sh-NC, sh-LINC00894, sh-LINC00894 + anti-NC, and sh-LINC00894+anti-miR-205-5p groups, followed by corresponding plasmids transfection using transfection reagents. The mRNA expression of LINC00894, miR-205-5p, and GPNMB in BGC823 cells and cancer tissues of each group was detected using qPCR. Dual luciferase reporter gene assay and AGO<sub>2</sub>-RNA immunoprecipitation were used to verify the targeted binding relationships between LINC00894 and miR-205-5p, as well as between miR-205-5p and GPNMB. Colony formation assay, EdU staining, wound-healing assay, and Transwell assay were performed to detect cell proliferation, migration and invasion abilities. Western blotting was used to detect the protein expression of CDK1, MMP-2 and MMP-9 in each group of cells. A nude mouse xenograft model was established to determine the effect of LINC00894 knockdown on tumor growth, and immunohistochemistry was used to detect the protein expression of GPNMB in xenograft tissues. **Results:** LINC00894 and GPNMB were significantly upregulated in gastric cancer tissues and cells,

**[基金项目]** 河北省2022年政府资助临床医学优秀人才培养项目(No. LS202208)

**[作者简介]** 李超(1981—), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病及内镜诊疗的研究

**[通信作者]** 张蕊(扫码获取作者联系方式)



while miR-205-5p was downregulated (both  $P < 0.05$ ). LINC00894 negatively regulated miR-205-5p, while miR-205-5p negatively regulated GPNMB (all  $P < 0.05$ ). Knocking down LINC00894 promoted miR-205-5p expression and inhibited GPNMB expression in BGC823 cells (all  $P < 0.05$ ). Additionally, LINC00894 knockdown suppressed the proliferation, migration and invasion abilities of BGC823 cells, as well as the protein expression of CDK1, MMP-2, and MMP-9 (all  $P < 0.05$ ). Inhibition of miR-205-5p reversed these effects (all  $P < 0.05$ ). Knocking down LINC00894 inhibited the growth of BGC823 cell-transplanted tumors, promoted miR-205-5p expression, and inhibited GPNMB protein expression (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** LINC00894 is highly expressed in gastric cancer tissues and cells, while miR-205-5p is downregulated. Knockdown of LINC00894 can regulate the expression of miR-205-5p/GPNMB pathway-related proteins in BGC823 cells, thereby inhibiting their malignant biological behaviors.

**[Key words]** gastric cancer; long intergenic non-coding RNA00894 (LINC00894); microRNA-205-5p (miR-205-5p); glycoprotein non-metastatic melanoma protein B (GPNMB); proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(9): 912-919. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.09.003]

胃癌(gastric cancer, GC)是最常见的恶性肿瘤之一,也是癌症相关死亡的主要原因之一<sup>[1]</sup>。尽管诊断方法不断进步、靶向治疗已广泛应用,胃癌患者的5年生存率仍然不高。由于手术技术、辅助化疗、放疗和免疫治疗技术的进步,早期胃癌患者的长期生存率有所提高;然而,由于癌症侵袭和转移,晚期胃癌患者的预后仍然较差<sup>[2]</sup>。早期复发和转移的不良预后与胃癌的生物学特征密切相关<sup>[3]</sup>。因此,胃癌细胞的增殖、迁移、侵袭的潜在机制对于开发新的有效治疗方法至关重要。非编码RNA(ncRNA)被认为在调节参与多种恶性过程的细胞信号通路中发挥重要作用。不同长链非编码RNA(lncRNA)具有不同的作用机制,能够在稳态和病理条件下调节细胞内的基因表达<sup>[4]</sup>。据报道<sup>[5]</sup>,LINC00894的高表达与肾细胞癌的不良预后有关。但LINC00894在胃癌中的作用机制鲜有报道。miRNA是短链非编码单链RNA,对转录具有调节作用,主要调节靶mRNA的翻译、降解和表达。miRNA参与所有重要的生物过程<sup>[6]</sup>。生信预测显示,LINC00894的下游靶miRNA包括let-7e-5p、miR-4436a、miR-3173-5p、miR-495-3p、miR-205-5p等,由于miR-205-5p对胃癌细胞发生发展有抑制作用<sup>[7]</sup>,故选择miR-205-5p作为LINC00894的靶miRNA。糖蛋白非转移性黑色素蛋白B(glycoprotein non-metastatic melanoma protein B, GPNMB)是一种I型穿膜蛋白。它在许多肿瘤组织中均有表达,GPNMB上调表达通常与患者的预后和总生存期较差有关<sup>[8]</sup>。研究<sup>[9]</sup>表明,miR-30b-3p可能作为上游负调节因子,并与GPNMB的3'UTR结合,GPNMB是分层和治疗的潜在预后因素,通过靶向GPNMB能够抑制胃腺癌恶性进展。本实验室在前期的研究中发现,LINC00894、GPNMB、miR-205-5p三者间存在靶向关系,本研究主要探究LINC00894在胃癌中是否通过调控miR-205-5p/GPNMB通路从而影响癌细胞恶性生物学行为及其机制,为临床治疗胃癌提供潜在的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织标本、动物、细胞与主要试剂

收集2022年11月至2023年9月期间在河北医科大学第一医院手术切除的25例胃癌组织及相应癌旁组织。本研究方案获本医院伦理委员会批准(批准号:202210003),所有患者或家属均充分知情并签署了知情同意书,患者术前均未接受治疗。

BALB/c小鼠购自武汉贝赛模式生物科技有限公司,许可证号:SCXK(鄂)2022-0029。人胃癌细胞BGC823(货号:CS-X0242)购自上海莼试生物公司,正常胃上皮细胞GES-1(货号:ZB052)购自致备生物公司。pcDNA、pc-LINC00894、sh-NC、sh-LINC00894、anti-NC、anti-miR-205-5p、miR-NC和miR-205-5p mimic质粒均购自擎科生物公司,LINC00894、miR-205-5p、GPNMB、U6引物(表1)由生工生物公司合成,EZ-Magna RIP RNA结合蛋白免疫沉淀试剂盒(货号:17-700)购自美国Sigma公司,双荧光素酶报告基因检测试剂盒(货号:AC19L021)购自李记生物公司,兔抗GPNMB(货号:MA5-49360)、CDK1(货号:44-686G)、MMP-2(货号:PA5-117038)和MMP-9(货号:PA5-27191)抗体均购自赛默飞公司。

### 1.2 细胞培养、转染与分组

常规培养BGC823、GES-1细胞,将BGC823细胞随机分为7组,记作对照组、sh-NC组、sh-LINC00894组、sh-LINC00894 + anti-NC组、sh-LINC00894 + anti-miR-205-5p组、pcDNA组和pcDNA-LINC00894-oe组。对照组常规培养不处理,用转染试剂将质粒转染至相应组别,培养48 h后进行后续实验。

### 1.3 qPCR法检测各组BGC823细胞和移植瘤组织中LINC00894、miR-205-5p和GPNMB mRNA表达

用TRIzol试剂提取移植瘤组织和各组细胞中的总RNA,用逆转录试剂盒将其逆转录为cDNA,用qPCR试剂盒将cDNA进行扩增。PCR反应条件:95 °C 5 min;95 °C 30 s、60 °C 15 s,共40个循环。以

GAPDH 或 U6 为内参基因, 用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 LINC00894、miR-205-5p 和 GPNMB mRNA 相对表达水平。

表1 引物序列(5'~3')

基因名称	正向引物	反向引物
LINC00894	GCAGGGTCTCTGAGTTCCT	TTCCTCAAGCTTCTCCAGGG
miR-205-5p	TCCTTCATTCCACCGGAGTCTG	GCGAGCACAGAATTAATACGAC
U6	ATGGTCTTTTCTGATTAGCC	GATTCGCTCAAGACGTCGA
GPNMB	AGAAATGGAGCTTTGTCTACGTC	CTTCGAGATGGGAATGTATGCC
GAPDH	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

#### 1.4 双荧光素酶报告基因实验和 AGO<sub>2</sub>-RNA 免疫沉淀 (RIP) 验证 LINC00894 与 miR-205-5p 和 miR-205-5p 与 GPNMB 间的靶向结合关系

通过 Starbase 和 targetscan 数据库数据预测 LINC00894 与 miR-205-5p 和 miR-205-5p 与 GPNMB 之间的结合位点。构建 LINC00894 和 GPNMB 野生型/突变型 (WT/MUT) 载体, 克隆到萤光素酶载体上, 与 miR-NC、miR-205-5p mimics 共转染至 BGC823 细胞中, 培养 48 h 后, 用萤光素酶报告基因检测试剂盒检测各组细胞的萤光素酶活性。

按照制造商的说明用 EZ-Magna RIP RNA 结合蛋白免疫沉淀试剂盒进行 AGO<sub>2</sub>-RIP 测定。具体操作步骤为: 收集细胞并裂解以获得含 RNA-蛋白复合物的细胞裂解液; 随后将裂解液与磁珠偶联的 AGO<sub>2</sub> 特异性抗体 (或对照 IgG) 共同孵育, 使 AGO<sub>2</sub> 及其结合的 RNA-蛋白复合物特异性结合到磁珠上; 经过洗涤步骤去除非特异性结合的成分后, 洗脱得到与 AGO<sub>2</sub> 结合的 RNA; 最后对洗脱的 RNA 进行纯化, 并通过 qPCR 检测其中 LINC00894、miR-205-5p 的富集情况。

#### 1.5 克隆形成实验检测各组细胞的克隆形成能力

将各组 BGC823 细胞以 500 个/孔接种于 6 孔板中, 每 2~3 d 更换一次培养基, 培养 7~14 d 克隆出现, PBS 清洗, 甲醇固定, 结晶紫溶液染色 30 min, PBS 清洗, 显微镜下观察、拍照统计克隆数。

#### 1.6 EdU 实验检测各组细胞的增殖能力

将各组 BGC823 细胞以  $3 \times 10^4$ /孔的密度接种于 48 孔板中。将细胞置于 50  $\mu$ mol/L 的 EdU 溶液中, 37  $^{\circ}$ C 下处理 2 h。采用 4% 多聚甲醛室温固定 15 min, 随后用 0.5% Triton X-100 室温透化处理 10 min。接着加入 100  $\mu$ L Click 反应液, 室温避光孵育 30 min。用 DAPI 室温避光染核 5 min。用荧光倒置显微镜对细胞进行观察和拍照。

#### 1.7 划痕愈合实验检测各组细胞的迁移能力

将各组 BGC823 细胞以  $5 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板, 当细胞汇合度达 80% 时, 用移液器吸头划痕, PBS 洗涤漂浮细胞, 继续培养 24 h, 显微镜下观察拍照记录 0 和

24 h 的划痕宽度, 以“(24 h 划痕宽度 - 0 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度  $\times$  100”计算各组细胞的划痕愈合率。

#### 1.8 Transwell 实验检测各组细胞的侵袭能力

收集各组 BGC823 细胞, 用无血清培养基将密度为  $5 \times 10^4$  个/mL 的细胞悬液, 在预铺基质胶的上室加入 200  $\mu$ L 的细胞悬液, 下室中加入 600  $\mu$ L 的含 10% 胎牛血清的培养基, 培养 48 h 后, 用甲醇固定 15 min, 0.1% 结晶紫溶液染色 30 min, 倒置显微镜观察统计侵袭细胞数。

#### 1.9 WB 法检测各组细胞中 CDK1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达

用 RIPA 裂解液提取各组 BGC823 细胞的总蛋白, 检测其浓度和纯度后, SDS-PAGE 进行分离, 转移至硝酸纤维素膜上, 5% 脱脂奶粉室温下封闭 1 h, 加一抗 CDK1 (稀释比例 1:1 000)、MMP-2 (稀释比例 1:2 000) 和 MMP-9 (稀释比例 1:5 000) 4  $^{\circ}$ C 下处理过夜。辣根过氧化物酶标记羊抗兔/鼠二抗 (1:10 000) 室温下处理 1 h, ECL 显色液曝光, 用凝胶成像仪采集图像, 用 ImageJ 软件分析各蛋白相对表达水平。

#### 1.10 裸鼠移植瘤实验检测敲减 LINC00894 对移植瘤生长的影响

将小鼠随机分为两组 ( $n = 6$ /组), sh-NC 组和 sh-LINC00894 组。将 sh-NC 或 sh-LINC00894 组 BGC823 细胞制成单细胞悬液, 密度为  $5 \times 10^6$  个/mL, 在每只裸鼠右前肢腋下皮下注射 0.2 mL。饲养 35 d 后行安乐死, 剥离移植瘤, 记录肿瘤质量和体积后, 进行后续 qPCR 或免疫组化法检测。

#### 1.11 免疫组化法检测移植瘤组织中 GPNMB 蛋白的表达

将移植瘤组织进行常规固定、脱水、石蜡包埋、切片和脱蜡复水, 除内源性过氧化物酶后用 5% 牛血清白蛋白液体进行封闭, 加 GPNMB 抗体 (稀释比例 1:5 000) 4  $^{\circ}$ C 下处理过夜, 辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗 (稀释比例 1:1 000) 室温下处理 1 h, DAB 显示液显色 10 min, 苏木素复染, 脱水透明, 最后封片, 显微镜观察拍照。用 ImageJ 软件分析 GPNMB 阳性率。

### 1.12 统计学处理

用 SPSS 25.0 软件分析处理数据。符合正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间差异分析用独立样本 *t* 检验, 多组间差异分析用单因素方差分析, 组间差异分析用 SNK-*q* 检验。以  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

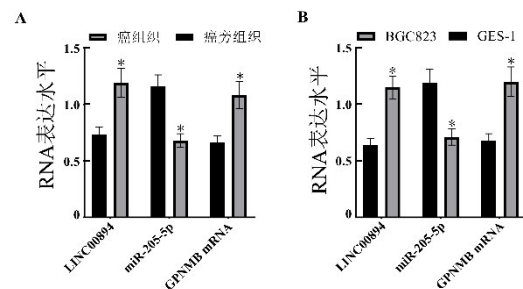
### 2.1 胃癌组织和细胞中 LINC00894、GPNMB 呈高表达, miR-205-5p 呈低表达

qPCR 法检测结果(图 1)显示, 与癌旁组织比较, 癌组织 LINC00894 和 GPNMB mRNA 呈高表达(均  $P < 0.05$ ), miR-205-5p 呈低表达( $P < 0.05$ ); 与 GES-1 细胞相比, BGC823 细胞中 LINC00894 和 GPNMB mRNA 呈高表达(均  $P < 0.05$ ), miR-205-5p 呈低表达( $P < 0.05$ )。

### 2.2 LINC00894 与 miR-205-5p 和 miR-205-5p 与 GPNMB 之间存在靶向结合负向调控关系

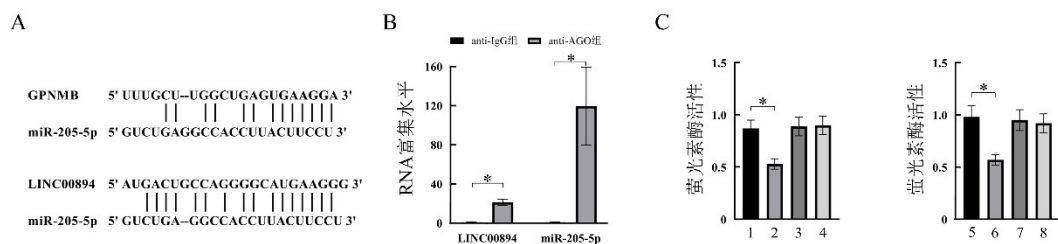
数据库数据分析结果(图 2A)显示, LINC00894 与 miR-205-5p 和 miR-205-5p 与 GPNMB 之间存在结合位点。AGO<sub>2</sub>-RIP 分析结果(图 2B)显示, 在 anti-AGO 抗体组中, LINC00894 和 miR-205-5p 的表达比在 anti-IgG 组中更丰富, 表明 LINC00894 通过 AGO<sub>2</sub> 与 miR-205-5p 结合。双荧光素酶报告基因检测结果(图 2C)显示, 与 LINC00894-WT + miR-NC 组相比, LINC00894-WT + miR-205-5p mimic 组荧光素酶活性降低( $P < 0.05$ ), 与

LINC00894-MUT + miR-NC 组相比, LINC00894-MUT + miR-205-5p mimic 组荧光素酶活性无明显变化; 与 GPNMB-WT + miR-NC 组相比, GPNMB-WT + miR-205-5p mimic 组荧光素酶活性下降( $P < 0.05$ ), 与 GPNMB-MUT + miR-NC 组相比, GPNMB-MUT + miR-205-5p mimic 组荧光素酶活性无明显变化。结果说明, LINC00894 与 miR-205-5p 和 miR-205-5p 与 GPNMB 间存在靶向结合调控关系。qPCR 法检测结果显示, 与 pcDNA 组比较, pc-LINC00894 组 BGC823 细胞中 miR-205-5p 表达水平明显下降[( $0.41 \pm 0.05$ ) vs ( $0.96 \pm 0.09$ )],  $P < 0.05$ ]。实验结果表明, LINC00894 可抑制 BGC823 细胞中 miR-205-5p 的表达; LINC00894 与 miR-205-5p 和 miR-205-5p 与 GPNMB 之间存在靶向结合负向调控关系。



与癌旁组织相比或 GES-1 相比, \* $P < 0.05$ 。

图 1 LINC00894、miR-205-5p、GPNMB 在胃癌组织(A)和细胞(B)中的表达



1: LINC00894-WT + miR-NC 组; 2: LINC00894-WT + miR-205-5p mimic; 3: LINC00894-MUT + miR-NC 组; 4: LINC00894-MUT + miR-205-5p mimic 组; 5: GPNMB-WT + miR-NC 组; 6: GPNMB-WT + miR-205-5p mimic 组; 7: GPNMB-MUT + miR-NC 组; 8: GPNMB-MUT + miR-205-5p mimic 组。

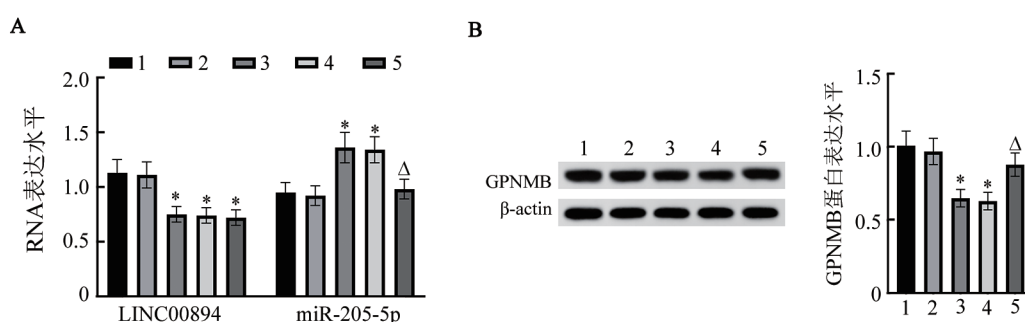
A: 数据库预测 GPNMB、LINC00894 与 miR-205-5p 结合位点; B: AGO<sub>2</sub>-RIP 分析证实 LINC00894 与 miR-205-5p 之间的相互作用; C: 双荧光素酶报告基因实验检测 LINC00894、GPNMB 与 miR-205-5p 靶向关系。\* $P < 0.05$ 。

图 2 LINC00894 与 miR-205-5p 和 miR-205-5p 与 GPNMB 之间存在靶向结合负向调控关系

### 2.3 敲减 LINC00894 可促进 BGC823 细胞中 miR-205-5p 表达抑制 GPNMB 表达

WB 法和 qPCR 法检测结果(图 3)显示, 对照组或 sh-NC 组比较, sh-LINC00894 组 BGC823 细胞中 LINC00894 和 GPNMB 蛋白表达水平明显降低(均  $P < 0.05$ ), miR-205-5p 表达水平明显升高( $P < 0.05$ );

与 sh-LINC00894 + anti-NC 组比较, sh-LINC00894 + anti-miR-205-5p 组细胞 miR-205-5p 表达水平明显降低( $P < 0.05$ ), GPNMB 表达水平明显升高( $P < 0.05$ )。实验结果说明, 敲减 LINC00894 可促进 miR-205-5p 表达, 抑制 GPNMB 蛋白表达, 抑制 miR-205-5p 表达则可促进 GPNMB 蛋白表达。



1:对照组;2:sh-NC组;3:sh-LINC00894组;4: sh-LINC00894 + anti-NC组;5: sh-LINC00894 + anti-miR-205-5p组。

与对照或sh-NC组比较,\* $P < 0.05$ ;与sh-LINC00894 + anti-NC组比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$ 。

图3 WB和qPCR法检测各组细胞中LINC00894、miR-205-5p和GPNMB蛋白表达

2.4 敲减LINC00894可抑制BGC823细胞的增殖、迁移和侵袭能力,抑制miR-205-5p则可逆转此作用

克隆形成实验、EdU法、划痕愈合实验和Transwell实验检测结果(图4)形式,与对照组或sh-NC组相比,sh-LINC00894组细胞克隆形成数、EdU阳性率、划痕愈合率和细胞侵袭数均明显降低(均 $P < 0.05$ );与sh-LINC00894 + anti-NC组相比,sh-LINC00894 + anti-miR-205-5p组细胞的克隆形成数、EdU阳性率、划痕愈合率和细胞侵袭数均明显升高(均 $P < 0.05$ )。实验结果说明,敲减LINC00894可抑制BGC823细胞的增殖、迁移和侵袭能力,抑制miR-205-5p则可逆转此作用。

2.5 敲减LINC00894可抑制BGC823细胞中CDK1、MMP-2和MMP-9蛋白的表达,抑制miR-205-5p则可逆转此作用

WB法检测结果(图5)显示,与对照组或sh-NC组相比,sh-LINC00894组BGC823细胞中CDK1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平均明显降低(均 $P < 0.05$ );与sh-LINC00894 + anti-NC组相比,sh-LINC00894 + anti-miR-205-5p组细胞中CDK1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平均明显升高(均 $P < 0.05$ )。实验结果说明,敲减LINC00894可抑制BGC823细胞中CDK1、MMP-2和MMP-9蛋白的表达,抑制miR-205-5p则可逆转此作用。

2.6 敲减LINC00894可明显抑制BGC823细胞移植瘤的生长、促进miR-205-5p表达、抑制GPNMB蛋白表达

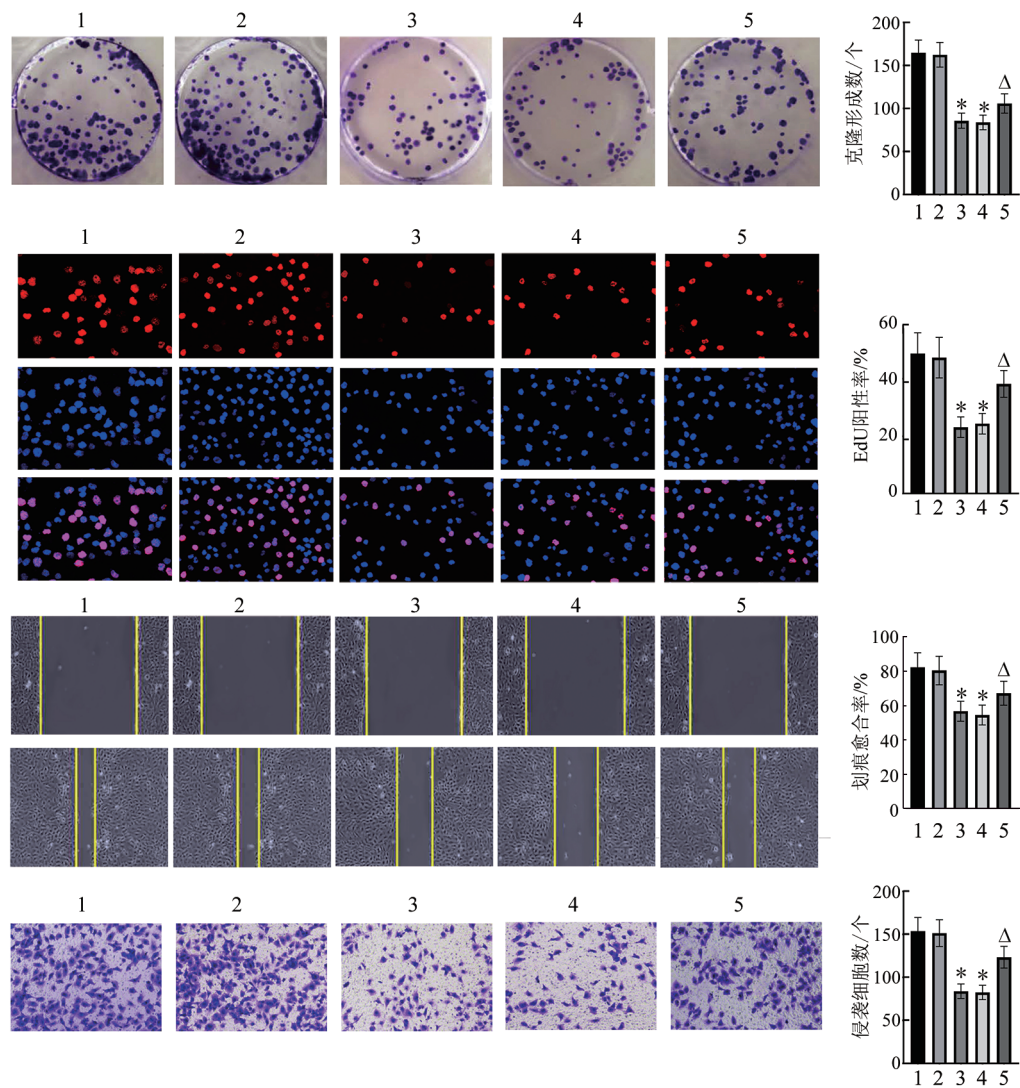
移植瘤实验检测结果(图6A、B)显示,与sh-NC组相比,sh-LINC00894组移植瘤体积和质量均明显降低。qPCR法和免疫组化法检测结果(图6C、D)显示,与sh-NC组比较,sh-LINC00894组移植瘤组织中LINC00894、GPNMB蛋白的表达均明显降低(均 $P < 0.05$ ),miR-205-5p表达明显升高( $P < 0.05$ )。实验结果说明,敲减LINC00894可明显抑制BGC823

细胞移植瘤的生长。

### 3 讨论

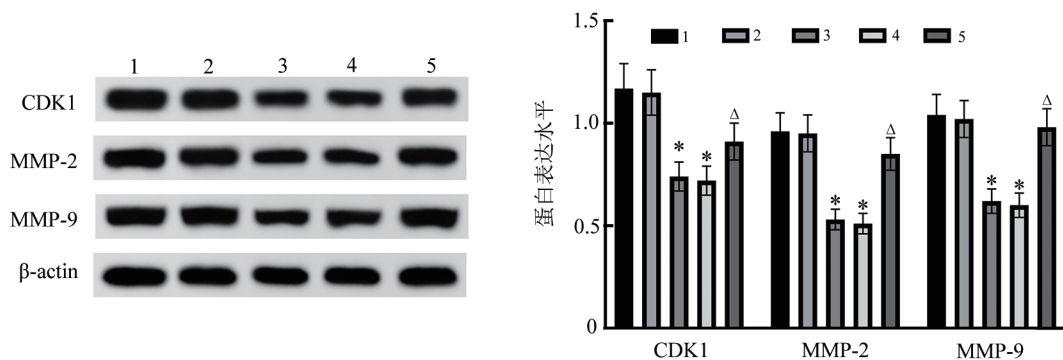
胃癌是胃黏膜上皮的常见恶性肿瘤,在中国,胃癌的发病率一直居高不下,病死率也逐渐上升,威胁着人类的生命健康<sup>[10]</sup>。尽管癌症筛查和治疗技术取得了巨大进步,然而,大多数胃癌病例通常晚期才被诊断出来,预后很差,5年生存率不超过30%。提高胃癌早期诊断率、5年生存率和生活质量是关键<sup>[11]</sup>。目前,胃癌的治疗主要包括手术、化疗、放疗和药物治疗。在化疗和放疗期间,患者必须承受一定程度的不适和疼痛,导致患者依从性降低,进而影响治疗效果<sup>[12]</sup>。因此,迫切需要寻找有效的治疗靶点是胃癌治疗关键。

近年来,发现lncRNA作为致癌基因和肿瘤抑制因子在肿瘤发生中发挥着复杂的作用。lncRNA定位于染色质,与蛋白质和靶RNA相互作用,并通过形成增殖回路、肿瘤抑制回路、活力回路、运动回路和不同机制之间的串扰来促进癌症表型<sup>[13]</sup>。据报道<sup>[14]</sup>,LINC00894与肿瘤发生发展有关。康伟彪等<sup>[15]</sup>研究证明,LINC00894在胃癌中发挥促癌作用,可能通过miR-205-5p/ZEB1信号通路增强胃癌细胞增殖、转移。本研究发现,在胃癌细胞和癌组织中LINC00894呈高表达,抑制LINC00894表达能够降低胃癌细胞克隆形成数、EdU阳性率、划痕愈合率、侵袭细胞数;此外,本研究还检测到CDK1、MMP-2、MMP-9的下调表达,说明敲减LINC00894表达可通过下调增殖、迁移标志蛋白表达来抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。近期报道<sup>[16]</sup>显示,LINC00894在甲状腺乳头状癌组织中呈低表达,且具有抑制癌细胞增殖的作用。与本研究结果相反,推测其原因可能是癌症类型不同导致的。说明同一种lncRNA在不同癌症中可能发挥相反的作用。



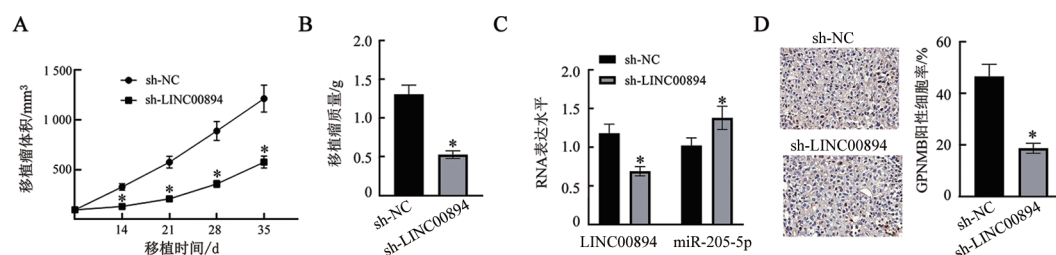
1: 对照组; 2: sh-NC 组; 3: sh-LINC00894 组; 4: sh-LINC00894 + anti-NC 组; 5: sh-LINC00894 + anti-miR-205-5p 组。  
 A: 克隆形实验检测细胞的增殖能力( $\times 40$ ); B: EdU 法检测细胞的增殖能力( $\times 400$ ); C: 划痕愈合实验检测细胞的迁移能力;  
 D: Transwell 实验检测细胞的侵袭能力( $\times 200$ )。与对照或 sh-NC 组比较,  $*P < 0.05$ ; 与 sh-LINC00894 + anti-NC 组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图4 敲减 LINC00894 对 BGC823 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响



1: 对照组; 2: sh-NC 组; 3: sh-LINC00894 组; 4: sh-LINC00894 + anti-NC 组; 5: sh-LINC00894 + anti-miR-205-5p 组。  
 与对照或 sh-NC 组比较,  $*P < 0.05$ ; 与 sh-LINC00894 + anti-NC 组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ 。与对照或 sh-NC 组相比,  $*P < 0.05$ ;  
 与 sh-LINC00894 + anti-NC 组相比,  $^{\Delta}P < 0.05$ 。

图5 敲减 LINC00894 对细胞中 CDK1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达的影响



A: 移植瘤体积; B: 移植瘤质量; C: 移植瘤组织中 LINC00894 和 miR-205-5p 的表达; D: 移植瘤组织中 GPNMB 阳性率( $\times 400$ )。与 sh-NC 组比较,  $P < 0.05$ 。

图6 敲减 LINC00894 对小鼠胃癌移植瘤生长的影响

miRNA 通过调节特定靶点参与多种疾病的形成, 包括胃癌。miRNA 在肿瘤中的表达谱明显异常, 并根据其靶基因的功能发挥促肿瘤或抗肿瘤作用。最近, 有研究<sup>[17-18]</sup>发现, miRNA 参与肿瘤细胞恶性表型的调控, 如增殖、分化、迁移和侵袭。miR-205-5p 在结直肠癌、肝癌等胃肠道肿瘤中发挥抑癌作用。据报道, miR-205-5p 在胃癌细胞中的表达水平降低, 上调 miR-205-5p 的表达抑制了细胞增殖、转移, 并诱导了胃癌细胞的凋亡和周期停滞<sup>[7]</sup>。ZHANG 等<sup>[19]</sup>研究发现, miR-205-5p 通过减弱 VEGFA 和 FGF1 的表达来抑制胃癌中的血管生成, 表明 miR-205-5p 的上调可能用于胃癌的抗血管生成疗法。DANG 等<sup>[20]</sup>研究发现, 高水平 miR-205-5p 抑制 AFAP1 表达, 以及细胞增殖和侵袭, lncRNA AFAP1-AS1 可能是 miR-205-5p 的靶基因, 通过该靶基因调控 AFAP1 mRNA 以及蛋白表达, 以及胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭。本研究中, miR-205-5p 在胃癌细胞和癌组织中表达水平降低, 与上述研究<sup>[20-21]</sup>结果一致, 说明 miR-205-5p 可能抑制胃癌进展; 与康伟彪等<sup>[15]</sup>研究不同的是, 本文通过回复实验证实敲减 LINC00894 表达能够上调 miR-205-5p 表达, 从而抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭。生信分析发现, LINC00894 与 miR-205-5p 之间有靶向结合位点, 通过双萤光素酶报告基因实验进行了初步验证, 推测 LINC00894 可能靶向 miR-205-5p 抑制了胃癌细胞的恶性生物学行为。

GPNMB 位于染色体 7q15 上, 编码一种长度为 572 个氨基酸的蛋白质。有研究<sup>[21]</sup>发现, GPNMB 在不同类型癌症中呈高表达, 促进肿瘤细胞的侵袭和转移, 例如 GPNMB 能促进黑色素瘤、胶质母细胞瘤和肝细胞癌的转移。GPNMB 呈高表达与患者预后不良有关联, 敲低 GPNMB 能够抑制胃癌细胞增殖和迁移。此外, GPNMB 可通过 PI3K/AKT/CCL4 信号转导轴募集免疫抑制细胞并促进免疫细胞耗竭来增强胃癌的免疫抑制能力<sup>[22]</sup>。TUO 等<sup>[23]</sup>研究发现, GPNMB 是 miR-532-3p 的靶标, 敲减 GPNMB 后抑制了卵巢癌细胞的增殖、迁移、侵袭、葡萄糖消耗、乳酸

生成和 HIF-1 $\alpha$  蛋白表达水平, 过表达 GPNMB 可逆转 miR-532-3p 的抗肿瘤作用。本研究中, GPNMB 在胃癌组织和细胞中呈高表达, 且 miR-205-5p 与 GPNMB 有靶向调控关系, 推测 LINC00894 通过抑制 miR-205-5p 表达促进 GPNMB 表达从而调控胃癌细胞恶性生物学进展。体内实验结果显示, 抑制 LINC00894 表达后, 胃癌移植瘤的生长过程减缓, 瘤体积、质量均显著下降, GPNMB 表达受到抑制, miR-205-5p 上调表达, 说明 LINC00894 可以靶向调控 miR-205-5p/GPNMB 通路调节胃癌细胞增殖、迁移与侵袭。

综上, 敲减 LINC00894 表达可抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭以及肿瘤生长, 可能是通过 miR-205-5p/GPNMB 通路调控。但具体作用机制及是否有其他通路的相互作用仍需进一步研究。

## [参考文献]

- ZHOU Y, SHA Z H, YANG Y, *et al.* lncRNA NEAT1 regulates gastric carcinoma cell proliferation, invasion and apoptosis via the miR-500a-3p/XBP-1 axis[J/OL]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(1): 503 [2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33982777/>. DOI: 10.3892/mmr.2021.12142.
- REN L, BAO D M, WANG L M, *et al.* Nucleobindin-2/nesfatin-1 enhances the cell proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinoma[J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(19): 4986-4994. DOI: 10.1111/jcmm.17522.
- LIU G Y, WANG H, RAN R, *et al.* Dimethyladenosine transferase 1 homolog promotes human gastric carcinoma cell proliferation and inhibits apoptosis via the AKT pathway[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2023, 34(8): 802-812. DOI: 10.5152/tjg.2023.22169.
- RIQUELME I, PÉREZ-MORENO P, MORA-LAGOS B, *et al.* Long non-coding RNAs (lncRNAs) as regulators of the PI3K/AKT/mTOR pathway in gastric carcinoma[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6294 [2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37047267/>. DOI: 10.3390/ijms24076294.
- ZHOU Q W, LI D G, ZHENG H Y, *et al.* A novel lncRNA-miRNA-mRNA competing endogenous RNA regulatory network in lung adenocarcinoma and kidney renal papillary cell carcinoma[J]. *Thorax Cancer*, 2021, 12(19): 2526-2536. DOI: 10.1111/1759-7714.14129.

- [6] KAN J, FU B Q, ZHOU R S, *et al.* He-Chan Pian inhibits the metastasis of non-small cell lung cancer *via* the miR-205-5p-mediated regulation of the GREM1/Rap1 signaling pathway[J/OL]. *Phytomedicine*, 2022, 94: 153821[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34752967/>. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153821.
- [7] CHEN X, ZHANG L, GENG J B, *et al.* miR-205-5p functions as a tumor suppressor in gastric cancer cells through downregulating FAM84B[J/OL]. *J Oncol*, 2022, 2022: 8267891[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35669244/>. DOI: 10.1155/2022/8267891.
- [8] CHU X J, LI W, HINES M G, *et al.* Human antibody V<sub>H</sub> domains targeting GPNMB and VCAM-1 as candidate therapeutics for cancers[J]. *Mol Pharm*, 2023, 20(5): 2754-2760. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.3c00173.
- [9] YAO K H, WEI L S, ZHANG J J, *et al.* Prognostic values of GPNMB identified by mining TCGA database and STAD microenvironment[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(16): 16238-16254. DOI: 10.18632/aging.103646.
- [10] YE D M, LI Y X, ZHANG H L, *et al.* Silencing PRSS1 suppresses the growth and proliferation of gastric carcinoma cells *via* the ERK pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(4): 957-971. DOI: 10.7150/ijbs.52591.
- [11] JIN F E, XIE B, XIAN H Z, *et al.* Knockdown of miR-125b-5p inhibits the proliferation and invasion of gastric carcinoma cells by targeting RYBP[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2021, 37(10): 863-871. DOI: 10.1002/kjm2.12425.
- [12] YUAN L, LI J X, YANG Y, *et al.* Depletion of MRPL35 inhibits gastric carcinoma cell proliferation by regulating downstream signaling proteins[J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27(16): 1785-1804. DOI: 10.3748/wjg.v27.i16.1785.
- [13] LI P, MA X, HUANG D. Role of the lncRNA/Wnt signaling pathway in digestive system cancer: a literature review[J]. *Eur J Med Res*, 2024, 29(1):447. DOI: 10.1186/s40001-024-02033-w.
- [14] JU L C, SHI Y X, LIU G. Identification and validation of a ferroptosis-related lncRNA signature to robustly predict the prognosis, immune microenvironment, and immunotherapy efficiency in patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. *PeerJ*, 2022, 10: e14506. DOI: 10.7717/peerj.14506.
- [15] 康伟彪, 周理好, 余昌俊, 等. LINC00894 通过 miR-205-5p/ZEB1 轴对胃癌细胞增殖和转移的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(2): 282-288. DOI: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.02.016.
- [16] ZHOU X, CHANG L S, LIANG Q Q, *et al.* The m<sup>6</sup>A methyltransferase METTL3 drives thyroid cancer progression and lymph node metastasis by targeting LINC00894[J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 47. DOI: 10.1186/s12935-024-03240-5.
- [17] PU Y Z, HAN Y C, OUYANG Y R, *et al.* Kaempferol inhibits colorectal cancer metastasis through circ\_0000345 mediated JMJD2C/β-catenin signalling pathway[J/OL]. *Phytomedicine*, 2024, 128: 155261[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38493716/>. DOI: 10.1016/j.phymed.2023.155261.
- [18] XU J, LIU C, QU K, *et al.* m<sup>6</sup>A methyltransferase METTL14-mediated RP1-228H13.5 promotes the occurrence of liver cancer by targeting hsa-miR-205/ZIK1[J/OL]. *Oncol Rep*, 2024, 51(4): 59 [2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38426536/>. DOI: 10.3892/or.2024.8718.
- [19] ZHANG J L, ZHANG J X, PANG X C, *et al.* miR-205-5p suppresses angiogenesis in gastric cancer by downregulating the expression of VEGFA and FGF1[J/OL]. *Exp Cell Res*, 2021, 404(2): 112579[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33957117/>. DOI: 10.1016/j.yexcr.2021.112579.
- [20] DANG Y, OUYANG X J, REN W J, *et al.* lncRNA AFAP1-AS1 modulates the proliferation and invasion of gastric cancer cells by regulating AFAP1 *via* miR-205-5p[J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 5163-5175. DOI: 10.2147/CMAR.S307424.
- [21] ZHAI J P, LIU Z H, WANG H D, *et al.* GPNMB overexpression is associated with extensive bone metastasis and poor prognosis in renal cell carcinoma[J/OL]. *Oncol Lett*, 2022, 23(1): 36[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34966452/>. DOI: 10.3892/ol.2021.13154.
- [22] REN F F, ZHAO Q T, LIU B, *et al.* Transcriptome analysis reveals GPNMB as a potential therapeutic target for gastric cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(3): 2738-2752. DOI: 10.1002/jcp.29177.
- [23] TUO X Q, ZHOU Y Y, YANG X L, *et al.* miR-532-3p suppresses proliferation and invasion of ovarian cancer cells *via* GPNMB/HIF-1α/HK2 axis[J/OL]. *Pathol Res Pract*, 2022, 237: 154032[2025-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35914373/>. DOI: 10.1016/j.prp.2022.154032.

[收稿日期] 2025-05-11

[修回日期] 2025-07-24

[本文编辑] 向正华