网络出版时间:2024 - 02 - 01 15:29:40 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240201.1114.014

LINC00894 通过 *miR-205-5p/ZEB1* 轴对胃癌细胞增殖和转移的影响

康伟彪[1],周理好[2],余昌俊[1],江 露[2],陈昌裕[1]

摘要 目的 探究长链非编码 RNA 00894(*LINC00894*)基因对人胃癌细胞增殖、转移的影响,验证 *LINC00894*、*miR-205-5p*、*ZEB1* 在胃癌中的调控关系。**方法** 采用 RT-qPCR 检测 *LINC00894* 在胃癌细胞系、正常胃细胞系、临床胃癌及正常胃组织样本中的表达水平;通过随访,探究 *LINC00894* 的表达水平与胃癌患者预后的关系;构建 *LINC00894* 敲减细胞系和过表达细胞系,并采用 RT-qPCR 检测敲减及过表达效率;通过 CCK-8、克隆形成和 Transwell 实验检测细胞增殖与转移能力;采用双荧光素酶报告实验、RT-qPCR 实验和 Western blot 实验检测 *LINC00894*、*miR-205-5p* 和 *ZEB1* 的靶向调控关系。**结果** *LINC00894* 基因在胃癌组织或细胞中的表达量明显高于胃正常组织或细胞,且 *LINC00894* 基因高表达的胃癌患者预后更差;*LINC00894* 基因的敲减抑制了胃癌细胞的活力、克隆形成能力、迁移能力和侵袭能力,相反,*LINC00894* 基因的过表达得到相反地结果;*LINC00894* 通过靶向 *miR-205-5p* 并下调其表达,从而促进 *ZEB1* 的表达。**结论** *LINC00894* 在胃癌中扮演癌基因的角色,可能通过 *miR-205-5p/ZEB1* 轴促进胃癌细胞增殖和转移。

关键词 胃癌;*LINC00894*;*miR-205-5p*;*ZEB1*

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A **文章编号** 1000 - 1492(2024)02 - 0282 - 07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2024.02.016

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,全球每年新增胃癌病例达 100 万,因胃癌死亡病例达 78.40 万[1]。尽管目前治疗手段很多,但早期诊断率不高,针对胃癌的机制研究仍是目前研究的热点。长非编码 RNA(long non-coding RNA,lncRNA)是一类长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA,通常以疾病、组织或阶段特异性的方式表达,参与多种生物学过程,并在癌症的发生、发展中扮演重要角色[2-3]。课题组前期通过利用 RT-qPCR 技术对比胃癌及其配对癌旁组织中的数条 lncRNA 的表达差异,发现 *LINC00894* 在胃癌组织中的表达水平明显上调。近些年,有研究[4-7]表明 *LINC00894* 在一些肿瘤中高表达、发挥促癌作用,也有研究[8-9]显示 *LINC00894* 在肿瘤中扮演抑癌基因的角色。然而,目前关于 *LINC00894* 在胃癌中的研究较少。大量证据表明 lncRNA 可作为竞争性内源 RNA(competing endogenous RNA,ceRNA),与 miRNA 相互作用从而吸附它们,降低它们对靶基因 mRNA 的调控效应[10]。因此,该研究通过细胞实验结合生物信息学分析,探索 *LINC00894* 基因对人胃癌细胞增殖、转移的影响,并验证 *LINC00894*、*miR-205-5p*、*ZEB1* 在胃癌中的调控关系。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

1.1.1 主要细胞 人胃癌细胞系(MGC-803、AGS、BGC-823、NCI-N87、HGC-27)及人正常胃细胞系(GES-1)取自中国科学院上海细胞库。

1.1.2 主要试剂 RPMI-1640、DMEM、Opti-MEM 培养基和转染试剂 Lipofectamine 2000(货号:11668-027)购于美国 Invitrogen 公司;血清购于美国 Life Technology 公司;总 RNA 提取试剂盒购于南京诺唯赞生物科技股份有限公司;*LINC00894* 干扰质粒(LINC-KD1,LINC-KD2)、*LINC00894* 过表达质粒(LINC-OE)、*miR-205-5p* 模拟物(mimic)及其相应的阴性对照 mimic control、*miR-205-5p* 抑制物(inhibitor)及其相应的阴性对照 inhibitor control、含 *miR-205-5p* 结合位点的野生型 *LINC00894* 荧光素酶报告质粒(LIN-WT)和 *miR-205-5p* 结合位点突变的突变型 *LINC00894* 荧光素酶报告质粒(LIN-MUT)、含有 *ZEB1* 基因 3′UTR 序列的野生型或突变型荧光素酶报告质粒(ZEB1-3U-WT,ZEB1-3U-MUT)均购于上海吉玛公司;双荧光素酶报告基因试剂盒和报告基

2023 - 10 - 11 接收

基金项目:安徽高校自然科学研究项目(编号:KJ2021A1364、KJ2021ZD0025)

作者单位:[1] 安徽医科大学第一附属医院胃肠外科,合肥 230022

[2] 皖西卫生职业学院外科教研室,六安 237000

作者简介:康伟彪,男,博士研究生,医师;

周理好,男,主任医师,责任作者,E-mail:zlh6086@163.com;

余昌俊,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail:yuchangjun321@163.com

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

因载体购于北京索莱宝科技有限公司;抗 *ZEB1* 抗体购于美国 Abcam 公司(货号:ab124512)(稀释度:1∶1 000);抗 β-actin 抗体购于美国 Abcam 公司(货号:ab8227)(稀释度:1∶1 000);二抗购于美国 Abcam 公司(货号:ab97051)(稀释度:1∶6 000)。

1.1.3 主要仪器 CO_2 培养箱(型号:NU-5810E)及生物安全柜(型号:NU-425-400S)均购于美国 NUAIRE 公司;倒置荧光显微镜(型号:DeltaVision)购于美国 GE 公司;微量核酸蛋白紫外分析仪(型号:Genove Nano)购于英国 JENWAY 公司;荧光定量 PCR 仪(型号:Step One Plus ABI)购于美国 Thermo 公司。

1.2 样本收集 所有样本均收集于 2011－2012 年在安徽医科大学第一附属医院行手术治疗的胃癌患者术后标本,所有患者的纳入标准均为:无其它特殊疾病;术前未接受任何放疗、化学治疗、免疫治疗、靶向治疗或其它特殊治疗。所有胃癌患者的随访时间均超过 5 年,且所有纳入本研究的患者均签署了知情同意书。本研究经安徽医科大学机构审查委员会审查及批准,并严格遵照《赫尔辛基宣言》。

1.3 细胞培养与转染 所有实验细胞均使用含有 10% 胎牛血清、1% 双抗的 DMEM 或 RPMI-1640 培养基,并置于 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中培养。采用说明书推荐的操作步骤,使用 Lipofectamine 2000,对呈对数生长期的 BGC-823 和 AGS 细胞进行转染质粒,分为敲低组(LINC-KD1、LINC-KD2)、过表达组(LINC-OE)和对照组(Control),转染 48 h 后,提取总 RNA 或总蛋白,通过定量逆转录聚合酶链反应(RT-qPCR)检测针对 *LINC00894* 的敲低和过表达效率,以确定 *LINC00894* 敲减或过表达细胞模型是否构建成功;通过 Western blot 实验检测 *LINC00894* 与 *ZEB1* 之间表达水平的关系。

1.4 RNA 提取与 RT-qPCR 细胞总 RNA 的提取、RNA 的逆转录及 RT-qPCR 的方法参课题组前期发表的文章[11]。

1.5 Western blot 实验 胃癌细胞转染质粒 48 h 后,使用 PBS 溶液清洗细胞 3 次,然后用含有蛋白酶抑制剂的裂解液对细胞进行裂解,使用干净的细胞刮刮净培养皿中的液体,收集后并离心,提取细胞中的总蛋白,并检测总蛋白浓度。制备 SDS-PAGE 胶后,取 20 μl 的蛋白样品或 Marker 在 SDS-PAGE 胶中进行电泳分离,然后将蛋白转膜至 PVDF 膜上,丽春红染色后再次清洗 PVDF 膜,然后将 PVDF 膜放入 5% 脱脂奶粉中室温封闭 1 h,根据说明书加入稀释后的一抗(抗 *ZEB1* 抗体,1∶1 000;抗 β-actin 抗体,1∶1 000),4 ℃ 孵育过夜,第 2 天使用 PBST 浸洗 3 次后,加入相应的二抗[山羊抗兔 IgG H&L(HRP),1∶6 000],室温下孵育 60 min 后取出 PVDF 膜,再次使用 PBST 浸洗 3 次,最后加入显影液放在显影仪中进行显影并保存图片。

1.6 CCK-8 实验 胃癌细胞转染质粒 48 h 后,使用胰酶消化细胞后进行细胞计数,以每孔 2 000 个细胞的密度于 96 孔板种板,每组设置 3 个复孔,分别于种板后的第 1、2、3、4 天进行数据收集,数据收集前,每孔加入 CCK-8 试剂 10 μl,孵育 120 min 后,收集 450 nm 波长的光密度(optimal density, OD)值。

1.7 克隆形成实验 胃癌细胞转染质粒 48 h 后,使用胰酶消化细胞后进行细胞计数,以每孔 600 个的密度于 6 孔板种板,每组设置 3 个复孔,每隔 3 d 更换 1 次培养基,连续培养 2 周,待克隆形成后终止培养,弃去旧的培养基,并使用 PBS 溶液清洗细胞,去除原有残余培养基和细胞碎片等杂质,使用浓度为 4% 的多聚甲醛(1 000 μl/孔),固定 20 min;弃去多聚甲醛后,使用 0.1% 的结晶紫溶液(1 000 μl/孔)染色 1 h 后,拍照并计数每组克隆形成数。

1.8 Transwell 实验

1.8.1 *迁移实验* 胃癌细胞转染质粒 48 h 后,使用胰酶消化细胞后进行细胞计数,用无血清培养基稀释细胞密度至 5×10^5/ml,于 Transwell 24 孔板中加入 600 μl 完全培养基,向孔中安装 Transwell 小室,然后向上室加入 200 μl 目的细胞悬液,每组设置 3 个复孔,放入培养箱培养 24 h 后,90% 乙醇固定 0.5 h,0.1% 结晶紫染色 5 min 后,最后,使用显微镜拍照并计数迁移细胞数。

1.8.2 *侵袭实验* 于冰上预先配制基质胶工作混合液(基质胶∶无血清培养基=1∶8),吸取 60 μl 基质胶工作液于小室上层(小室放于 Transwell 24 孔板中),将 24 孔板放入细胞培养箱中超过 2 h,按照相同的步骤将细胞悬液种植与小室上层,剩余步骤与迁移实验相同。

1.9 双荧光素酶报告实验 使用生物信息学在线数据库 starbase(https://starbase.sysu.edu.cn)预测 *LINC00894* 靶基因,*miR-205-5p* 与 *LINC00894* 具有互补结合位点,将结合位点突变,构建突变型荧光素酶报告质粒(LIN-MUT);同样使用 starbase 数据库预测 *miR-205-5p* 靶基因,*ZEB1* 与 *miR-205-5p* 具有互补结合位点,将结合位点突变,构建突变型荧光素

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

酶报告质粒(ZEB1-3U-MUT)。将 LIN-WT 或 LIN-MUT 分别与 miR-205-5p mimic 或 mimic control 共转染到 BGC-823 细胞中;将 LIN-WT 或 LIN-MUT 分别与 miR-205-5p inhibitor 或 inhibitor control 共转染到 AGS 细胞中;将 ZEB1-3U-WT 或 ZEB1-3U-MUT 分别与 miR-205-5p mimic 或 mimic control 共转染到 BGC-823 细胞中;将 ZEB1-3U-WT 或 ZEB1-3U-MUT 分别与 miR-205-5p inhibitor 或 inhibitor control 共转染到 AGS 细胞中。转染 48 h 后,利用荧光素酶活性检测试剂盒检测荧光素酶活性。

1.10 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析。定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用单因素方差分析,采用 Kaplan-Meier 曲线分析胃癌患者的总生存期(overall survival,OS)和无进展生存期(progression-free survival,PFS),并采用 Log-rank 检验比较差异。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *LINC00894* 在胃癌中高表达且与不良预后有关 RT-qPCR 结果显示(图 1A):*LINC00894* 在胃癌组织中的表达水平较胃正常组织明显升高($P<0.01$);Kaplan-Meier 生存曲线分析显示(图 1B、C):高表达 *LINC00894* 的胃癌患者具有更差的总生存期和无进展生存期;RT-qPCR 结果显示(图 1D):*LINC00894* 在胃癌细胞系中的表达水平较胃正常细胞系 GES-1 明显升高,其中在 BGC-823 细胞中表达最高,在 AGS 细胞中表达最低,因此,选择 BGC-823 和 AGS 细胞进行后续实验。

2.2 *LINC00894* 对胃癌细胞增殖的影响 RT-qPCR 结果显示(图 2A):敲低组 LINC-KD1、LINC-KD2 较对照组 Control 的 *LINC00894* 表达量下降($F=53.04$, $P<0.01$);过表达组 LINC-OE 较对照(Control)组的 *LINC00894* 表达量上升($P<0.01$)。

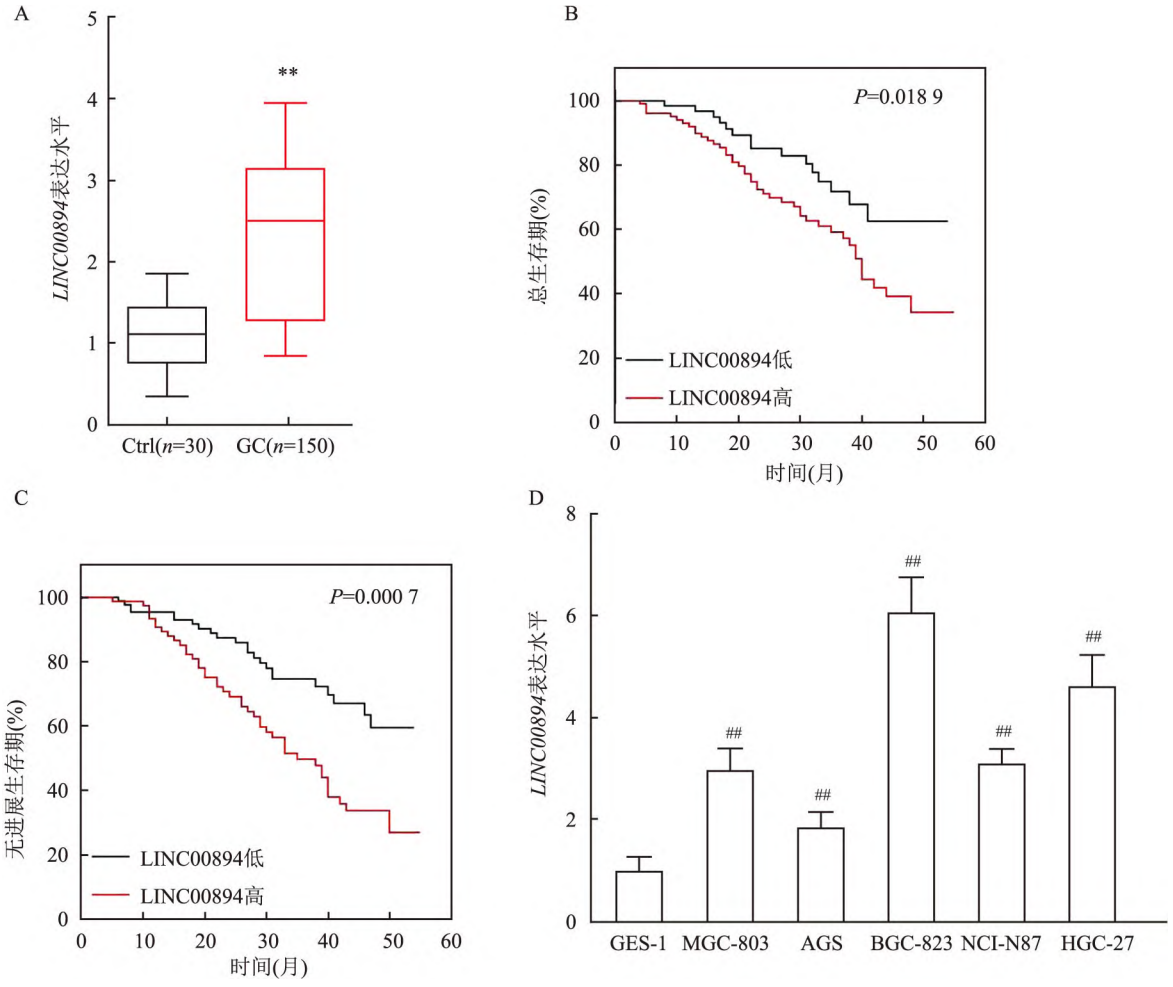

图 1 *LINC00894* 在胃癌中高表达且与不良预后有关

A:RT-qPCR 结果直方图,GC:胃癌组织,Ctrl:胃正常组织;B:Kaplan-Meier 生存曲线分析胃癌患者 OS;C:Kaplan-Meier 生存曲线分析胃癌患者 PFS;D:RT-qPCR 结果直方图;与 Ctrl 组比较:$P<0.01$;与 GES-1 比较:$^{\#\#}P<0.01$

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

此外,对 *LINC00894* 的敲低效率和过表达效率均超过 50%,表明敲减和过表达模型构建成功。CCK-8 实验结果显示(图 2B):与对照组比较,*LINC00894* 敲低组(LINC-KD1、LINC-KD2)的 OD 值(450 nm)减小($F = 26.21$, $P < 0.01$),而 *LINC00894* 过表达组(LINC-OE)(1.76 ± 0.21)的 OD 值(450 nm)增加,提示 *LINC00894* 基因的表达上调可提高胃癌细胞的增殖能力。克隆形成实验结果显示(图 2C):*LINC00894* 敲低组(LINC-KD1、LINC-KD2)细胞形成克隆数较对照组减少($F = 135.0$, $P < 0.01$),*LINC00894* 过表达组(LINC-OE)细胞形成克隆数较对照组增加,且差异均有统计学意义,提示 *LINC00894* 基因的高表达显著增强胃癌细胞的克隆形成能力。

2.3 *LINC00894* 对胃癌细胞迁移、侵袭的影响 Transwell 迁移实验结果显示(图 3A):LINC-KD1、LINC-KD2 组较 Control 组的迁移细胞数减少($F = 75.77$, $P < 0.01$),LINC-OE 组较 Control 组的迁移细胞数增加,且差异均有统计学意义($P < 0.01$)。Transwell 侵袭实验结果显示(图 3B):LINC-KD1、LINC-KD2 组较 Control 组的侵袭细胞数减少($F = 70.46$, $P < 0.01$),LINC-OE 组较 Control 组的侵袭细胞数增加,且差异均有统计学意义。以上结果提示 *LINC00894* 基因的高表达增强胃癌细胞的迁移和侵袭能力。

2.4 *LINC00894* 与 *miR-205-5p* 和 *ZEB1* 的靶向关系 生物信息学分析显示(图 4A、B):*LINC00894* 与 *miR-205-5p*、*miR-205-5p* 与 *ZEB1* 具有互补序列,因此 *miR-205-5p* 可能是 *LINC00894* 的靶基因,而 *ZEB1* 可能是 *miR-205-5p* 的靶基因。双荧光素酶报告实验显示:在 BGC-823 细胞中,miR-205-5p mimic 降低了LIN-WT组的荧光素酶活性,而LIN-MUT组

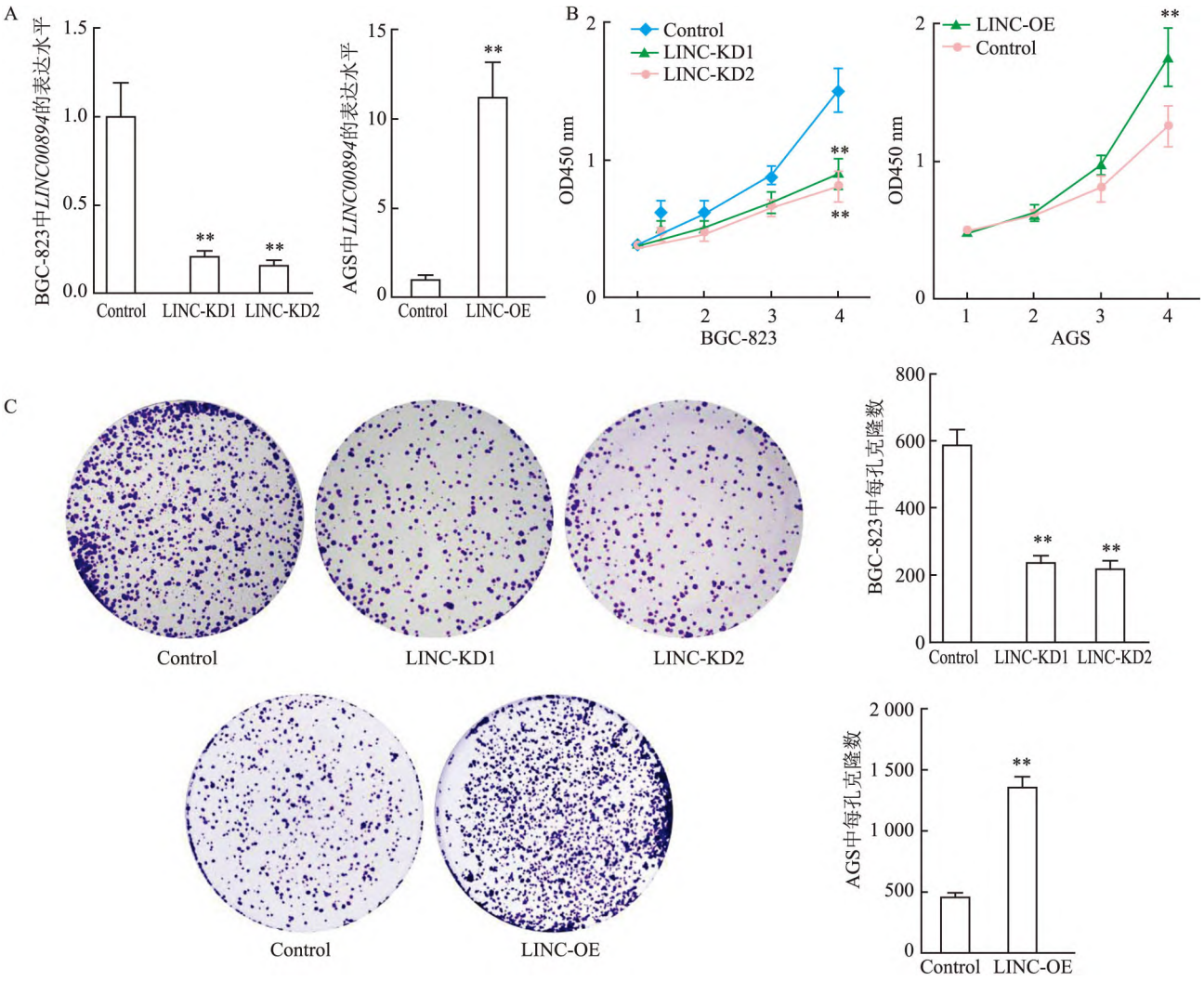

图 2 *LINC00894* 对胃癌细胞增殖的影响

A:RT-qPCR 结果直方图;B:CCK-8 实验检测细胞第 1、2、3、4 天的 OD 值(450 nm);C:克隆形成实验检测细胞克隆数;与 Control 组比较:$^{**}P < 0.01$

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

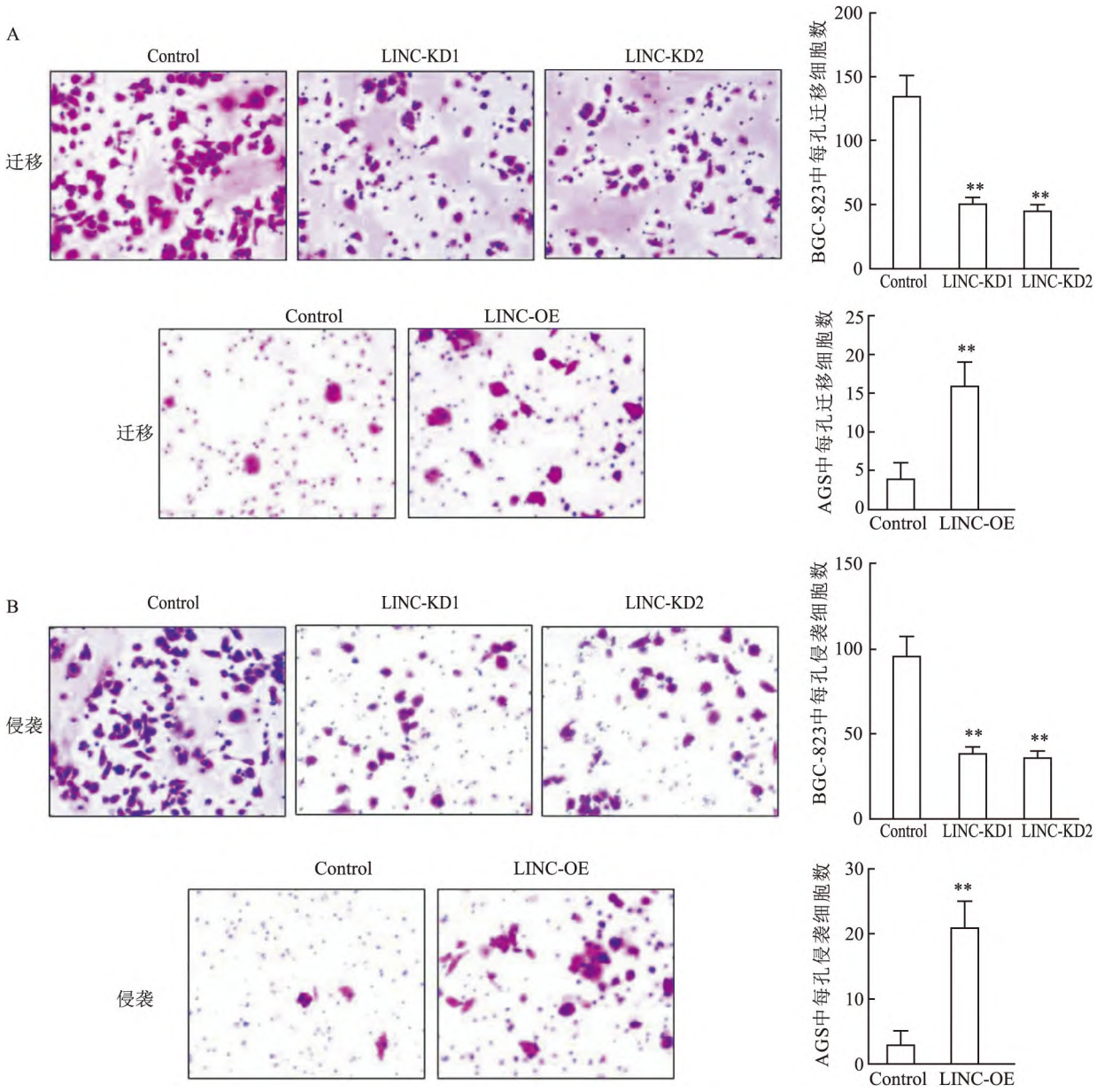

图 3 ***LINC00894*** **对胃癌细胞迁移、侵袭的影响**

A：迁移实验检测细胞的迁移能力 ×100；B：侵袭实验检测细胞的侵袭能力 ×100；与 Control 组比较：$^{**}P<0.01$

的荧光素酶活性没有变化，在 AGS 细胞中，miR-205-5p inhibitor 增强了 LIN-WT 组的荧光素酶活性，而 LIN-MUT 组的荧光素酶活性没有变化，以上结果提示 *LINC00894* 和 *miR-205-5p* 之间可能存在直接的相互作用（图 4C）；在 BGC-823，miR-205-5p mimic 降低了 ZEB1-3U-WT 组的荧光素酶活性，而 ZEB1-3U-MUT 组的荧光素酶活性没有变化，在 AGS 细胞中，miR-205-5p inhibitor 增强了 ZEB1-3U-WT 组的荧光素酶活性，而 ZEB1-3U-MUT 组的荧光素酶活性没有变化，以上结果提示 ZEB1 和 *miR-205-5p* 之间可能存在直接的相互作用（图 4D）。RT-qPCR 结果显示（图 4E）：在 BGC-823 细胞中，敲低组 LINC-KD1、LINC-KD2 较对照组 Control 的 *miR-205-5p* 表达量上升（$F=42.17$，$P<0.01$）；在 AGS 细胞中，过表达组 LINC-OE 较对照组 Control 的 *miR-205-5p* 表达量下降。Western blot 实验显示（图 4F）：在 BGC-823 细胞中，敲低组 LINC-KD1、LINC-KD2 较对照组 Control 的 *ZEB1* 蛋白的表达量下降；在 AGS 细胞中，过表达组 LINC-OE 较对照组 Control 的 *ZEB1* 蛋白的表达量上升。以上结果表明：*LINC00894* 通过靶向 *miR-205-5p* 并下调其表达，从而促进 *ZEB1* 的表达。

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

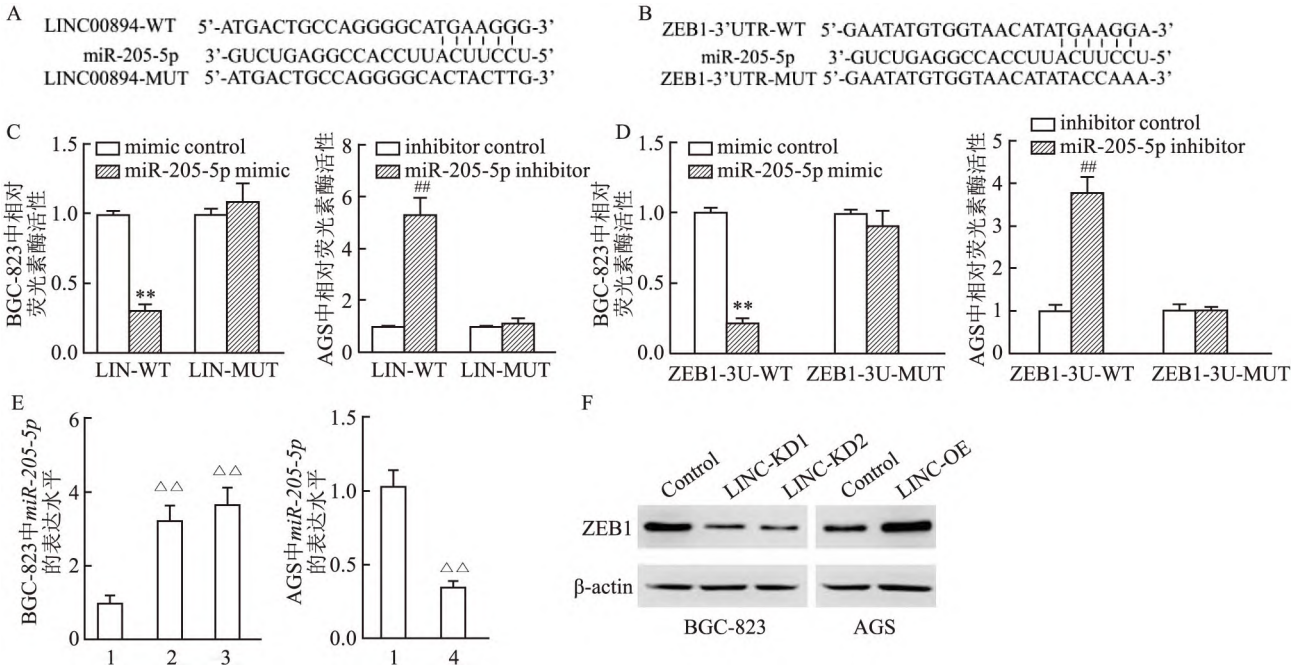

图4 *LINC00894* 与 *miR-205-5p* 和 *ZEB1* 的靶向关系

A:Starbase 数据库分析 *LINC00894* 与 *miR-205-5p* 的结合位点;B:Starbase 数据库分析 *miR-205-5p* 与 *ZEB1* 的结合位点;C、D:双荧光素酶报告实验检测细胞中相对荧光素酶活性;E:RT-qPCR 结果直方图;F:Western blot 实验检测 *ZEB1* 蛋白的表达;1:Control 组;2:LINC-KD1;3:LINC-KD2;4:LINC-OE;与 mimic control 组比较:$^{**}P<0.01$;与 inhibitor control 组比较:$^{\#\#}P<0.01$;与 Control 组比较:$^{\triangle\triangle}P<0.01$

3 讨论

随着对癌症机制的不断深入研究,lncRNA 作为癌症的潜在生物标志物,已逐渐成为极具吸引力的癌症治疗靶点[12-13]。课题组前期通过荟萃分析发现[14],lncRNA 在胃肠道肿瘤中具有预后价值,有望成为新的肿瘤预后标志物。近些年,多篇研究报道 *LINC00894* 在癌症中扮演着癌基因的角色,其中包括肾癌[4-6]和乳腺癌[7]。然而,有报道[8]说明 *LINC00894* 在抑制乳腺癌细胞他莫昔芬耐药的进展方面也起到关键作用,此外,也有报道[9]说明 *LINC00894* 在甲状腺癌中同样发挥抑癌作用。由此可见,*LINC00894* 的功能因肿瘤类型而异,这可能与组织异质性或基因的多功能性有关。

本研究中,*LINC00894* 在胃癌中表达上调,且 *LINC00894* 高表达的胃癌患者往往预后更差。此外,*LINC00894* 低表达后,CCK-8 和克隆形成实验表明 *LINC00894* 的敲低对胃癌细胞的活力和增殖能力具有明显抑制作用;Transwell 实验表明 *LINC00894* 的敲低对胃癌细胞的迁移和侵袭能力也具有显著的抑制作用。相反,*LINC00894* 基因的过表达得到相反的结果,此数据与过去的研究[7]结果一致。因此,本研究表明 *LINC00894* 对胃癌细胞的增殖、转移具有促进作用。为了探究 *LINC00894* 调控胃癌细胞增殖、转移的潜在机制,本研究通过 starbase 数据库预测了“*LINC00894* /*miR-205-5p*/ZEB1”ceRNA 调控机制,并通过双荧光素酶报告实验、RT-qPCR 实验和 Western blot 实验检测了 *LINC00894* 、*miR-205-5p* 和 *ZEB1* 三者之间的调控关系。实验结果表明,*LINC00894* 与 *miR-205-5p*、*miR-205-5p* 与 *ZEB1* 存在直接结合,且 *LINC00894* 与 *miR-205-5p* 存在负调控关系,*LINC00894* 与 *ZEB1* 存在正调控关系。过去的研究[7-8]表明,在乳腺癌中,*LINC00894* 可通过 ceRNA 调控机制竞争性地结合 miRNA,从而介导 *ZEB1* 的表达,此结论与上述数据一致。由此说明,在胃癌中,*LINC00894* 可通过靶向 *miR-205-5p* 并下调其表达,从而促进 *ZEB1* 的表达。

综上所述,*LINC00894* 在胃癌中扮演癌基因的角色,且 *LINC00894* 可能通过调控 *miR-205-5p*/*ZEB1* 生物轴促进胃癌细胞的增殖和转移,然而,具体的机制仍需进一步证实。本研究有望为胃癌的靶向治疗及预后预测提供新的线索。

参考文献

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394 – 424.

[2] Sun M, Jin F Y, Xia R, et al. Decreased expression of long noncoding RNA GAS5 indicates a poor prognosis and promotes cell proliferation in gastric cancer[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 319.

[3] Choudhari R, Sedano M J, Harrison A L, et al. Long noncoding RNAs in cancer: From discovery to therapeutic targets[J]. Adv Clin Chem, 2020, 95: 105 – 47.

[4] Ju L, Shi Y, 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.

[5] Deng L, Wang P, Qu Z, et al. The construction and analysis of ceRNA network and immune infiltration in kidney renal clear cell carcinoma[J]. Front Genet, 2021,12: 667610.

[6] Zhou Q, Li D, Zheng H, et al. A novel lncRNA-miRNA-mRNA competing endogenous RNA regulatory network in lung adenocarcinoma and kidney renal papillary cell carcinoma[J]. Thorac Cancer, 2021, 12(19): 2526 – 2536.

[7] Meng D F, Shao H, Feng C B. LINC00894 enhances the progression of breast cancer by sponging miR-429 to regulate ZEB1 expression[J]. Onco Targets Ther, 2021, 14: 3395 – 407.

[8] Zhang X, Wang M, Sun H, et al. Downregulation of LINC00894-002 contributes to tamoxifen resistance by enhancing the TGF-β signaling pathway[J]. Biochemistry (Mosc), 2018, 83(5): 603 – 11.

[9] Chen B, Liu D, Chen R, et al. Elevated LINC00894 relieves the oncogenic properties of thyroid cancer cell by sponging let-7e-5p to promote TIA-1 expression[J]. Discov Oncol, 2022, 13(1): 56.

[10] Tay Y, Rinn J, Pandolfi P P. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition[J]. Nature, 2014, 505(7483): 344 – 52.

[11] Chen C, Zheng Q, Kang W, et al. Long non-coding RNA LINC00472 suppresses hepatocellular carcinoma cell proliferation, migration and invasion through miR-93-5p/PDCD4 pathway[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2019, 43(4): 436 – 45.

[12] Kumar A, Girisa S, Alqahtani M S, et al. Targeting autophagy using long non-coding RNAs (LncRNAs): new landscapes in the arena of cancer therapeutics[J]. Cells, 2023, 12(5): 810.

[13] 范清泉, 陈 腾, 王 杰. 长链非编码 RNA 在胃癌中的研究进展[J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(4):668 – 72.

[14] Kang W, Zheng Q, Lei J, et al. Prognostic value of long noncoding RNAs in patients with gastrointestinal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Dis Markers, 2018, 2018: 5340894.

Effect of *LINC00894* gene on proliferation and metastasis of gastric cancer cells *via miR-205-5p/ZEB1* axis

Kang Weibiao[1], Zhou Lihao[2], Yu Changjun[1], Jiang Lu[2], Chen Changyu[1]

([1]*Dept of Gastrointestinal Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei* 230022;
[2]*Dept of Surgery, West Anhui Health Vocational College, Lu'an* 237000)

Abstract ***Objective*** To investigate the effects of long non-coding RNA 00894 (*LINC00894*) gene on proliferation and metastasis of human gastric cancer cells, and to verify the regulatory relationship of *LINC00894*, *miR-205-5p* and *ZEB1* in gastric cancer. ***Methods*** The expression level of *LINC00894* in gastric cancer cell lines, normal gastric lines, clinical gastric cancer and normal gastric tissue samples were determined by RT-qPCR. Through follow-up, the relationship between the expression level of *LINC00894* and the prognosis of gastric cancer patients was explored. *LINC00894* knockdown cell lines and overexpression cell lines were constructed, and the knockdown and overexpression efficiency was detected by RT-qPCR. Cell proliferation and metastatic capacity were determined by CCK 8, clone formation and Transwell assays. Dual-luciferase reporter assays, RT-qPCR assays and Western blot assays were used to examine the targeted regulatory relationships of *LINC00894*, *miR-205-5p* and *ZEB1*. ***Results*** The expression of *LINC00894* gene in gastric cancer tissues or cells was significantly higher than that in normal gastric tissues or cells, moreover, gastric cancer patients with high *LINC00894* gene expression had a worse prognosis. The knockdown of *LINC00894* inhibited the viability, clonogenesis, migration and invasion ability of gastric cancer cells, and conversely, the overexpression of *LINC00894* obtained the opposite results. *LINC00894* promoted *ZEB1* expression by targeted downregulation of *miR-205-5p* expression. *LINC00894* promoted the expression of *ZEB1* by targeting *miR-205-5p* and down-regulating its expression. ***Conclusion*** *LINC00894* serves as an oncogene in gastric cancer and may promote proliferation and metastasis of gastric cancer cells *via* regulating *miR-205-5p/ZEB1* axis.

Key words gastric cancer; *LINC00894*; *miR-205-5p*; *ZEB1*

(C)1994-2024 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net