

沉默 circSATB2 对结直肠癌细胞 Caco2 迁移、侵袭和凋亡影响的机制研究

凌旭坤*, 陈超, 钟晓华, 胡琛

惠州市中心人民医院 胃肠外科, 广东 惠州 516001

【摘要】 目的 研究沉默 circSATB2 对结直肠癌细胞 Caco2 迁移、侵袭和凋亡的影响及其可能的机制。方法 qRT-PCR 方法测定 circSATB2 在结直肠癌细胞 SW480、HR-8348、Caco2 和正常肠黏膜上皮细胞中的表达差异。结直肠癌细胞 Caco2 分成对照组、sh-NC (shRNA 对照) 组、sh-circSATB2 (circSATB2 shRNA) 组、sh-circSATB2+anti-miR-NC (circSATB2 shRNA、抑制剂对照) 组、sh-circSATB2+anti-miR-150-5p (circSATB2 shRNA、miR-150-5p 抑制剂) 组, CCK-8 实验检测细胞增殖变化, 流式细胞术检测细胞凋亡, Transwell 小室检测细胞迁移和侵袭, 蛋白质印迹法检测 C-胱天蛋白酶-3 (C-caspase-3)、C-caspase-9、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-9 表达。荧光素酶报告系统鉴定 circSATB2 和 miR-150-5p 的靶向关系。结果 结直肠癌细胞 SW480、HR-8348、Caco2 中 circSATB2 水平高于正常肠黏膜上皮细胞 ($P<0.05$)。结直肠癌细胞 Caco2 中 circSATB2 水平高于结直肠癌细胞 SW480、HR-8348 ($P<0.05$)。与对照组、sh-NC 组比较, sh-circSATB2 组结直肠癌细胞存活率降低, 细胞迁移数目减少, 细胞侵袭数目也减少, 细胞凋亡率升高, 细胞中 C-caspase-3、C-caspase-9 表达增多, MMP-2、MMP-9 表达减少 ($P<0.05$)。与 sh-circSATB2+anti-miR-NC 组比较, sh-circSATB2+anti-miR-150-5p 组结直肠癌细胞中 miR-150-5p 水平降低, 细胞存活率升高, 细胞凋亡率降低, 细胞迁移和侵袭数目增加, 细胞中 C-caspase-3、C-caspase-9 表达减少, MMP-2、MMP-9 表达增多。沉默 circSATB2 靶向促进结直肠癌细胞 Caco2 中 miR-150-5p 表达。结论 沉默 circSATB2 可能通过靶向促进 miR-150-5p 表达来发挥其抑制结直肠癌细胞 Caco2 迁移、侵袭, 诱导细胞凋亡的作用。

【关键词】 结直肠癌; circSATB2; 凋亡; 迁移; miR-150-5p

Silencing circSATB2 affects the migration, invasion and apoptosis of colorectal cancer cells Caco2

Ling Xukun*, Chen Chao, Zhong Xiaohua, Hu Chen

Gastrointestinal Surgery Department, Huizhou Municipal Central Hospital, Huizhou, 516000, Guangdong, China

Corresponding author: Ling Xukun, E-mail: 157432653@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the effect and mechanism of silencing circSATB2 on the migration, invasion and apoptosis of colorectal cancer cells Caco2. **Methods** The qRT-PCR method was used to determine the expression differences of circSATB2 in colorectal cancer cells SW480, HR-8348, Caco2 and normal intestinal mucosal epithelial cells. Colorectal cancer cells Caco2 were divided into Control, sh-NC (shRNA control), sh-circSATB2 (circSATB2 shRNA), sh-circSATB2+anti-miR-NC (circSATB2 shRNA, inhibitor control), sh-circSATB2+anti-miR-150-5p group (circSATB2 shRNA, miR-150-5p inhibitor). CCK-8 experiment was used to detect cell proliferation, flow cytometry was used to detect cell apoptosis. We used Transwell chamber to detect cell migration and invasion, Western blot to detect C-caspase-3, C-caspase-9, MMP-2, MMP-9 expression. The luciferase reporter system identified the targeting relationship between circSATB2 and miR-150-5p. **Results** The level of circSATB2 in colorectal cancer cells SW480, HR-8348, and Caco2 were higher than that in normal intestinal mucosal epithelial cells ($P<0.05$). The level of circSATB2 in colorectal cancer cells Caco2 was higher than that in colorectal cancer cells SW480 and HR-8348 ($P<0.05$). Compared with control and sh-NC groups, the survival rate of colorectal cancer cells

基金项目:广东省医学科研基金(B2018263)

*通信作者:凌旭坤, E-mail: 157432653@qq.com

in the sh-circSATB2 group was reduced, the number of cell migration decreased, the number of cell invasions also decreased, the rate of cell apoptosis increased, and C-caspase-3 and C-caspase-9 in the cells increased, MMP-2, MMP-9 expression decreased ($P < 0.05$). Silencing circSATB2 induced colorectal cancer cell proliferation, migration, invasion inhibition and apoptosis promotion. Compared with the sh-circSATB2+anti-miR-NC group, in the sh-circSATB2+anti-miR-150-5p group, the level of miR-150-5p in colorectal cancer cells decreased, the cell survival rate increased, and the cell apoptosis rate decreased, the number of cell migration and invasion increased, the expression of C-caspase-3 and C-caspase-9 in the cells decreased, and the expression of MMP-2 and MMP-9 increased. Silencing circSATB2 targeting promotes the expression of miR-150-5p in colorectal cancer cells Caco2. **Conclusion** Silencing circSATB2 may inhibit the migration, invasion and induces cell apoptosis of colorectal cancer cells Caco2 by promoting the expression of miR-150-5p.

【Key words】 Colorectal cancer; CircSATB2; Apoptosis; Migration; miR-150-5p

随着人们生活水平的不断提高,结直肠癌的发病率和死亡率均明显升高,很多患者发现时已经处于中晚期,预后情况极差^[1]。研究显示,结直肠癌的发生与基因有关,基因调控肿瘤细胞的增殖、迁移和凋亡,分子靶向治疗已经成为现阶段研究的热点^[2]。环状RNA(circular RNA, circRNA)是一种新发现的非编码RNA,其5'端和3'端首位相连,构成一个闭合环状, circRNA具有组织特异性,能够在转录后影响基因的表达^[3]。circRNA和肿瘤的发生发展有关,并且circRNA有望成为肿瘤治疗的新型生物标志物,因此,研究circRNA在结直肠癌中的作用具有重要的意义及潜在的应用价值^[4]。

circSATB2是在肺癌中发现具有促进肺癌进展的调控因子, circSATB2能促进肺癌细胞增殖和迁移^[5]。目前尚无circSATB2在结直肠癌中的相关报道。circRNA发挥作用与调控miRNA有关,二者通过碱基互补的方式结合,共同影响正常生理活动和疾病进程^[6]。前期的预实验发现miR-150-5p和circSATB2存在互补结合位点。miR-150-5p在结直肠癌中表达下调, miR-150-5p降低结直肠癌细胞恶性生长和转移能力^[7]。本研究探讨沉默circSATB2靶向miR-150-5p对结直肠癌细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响,为分子靶向治疗结直肠癌提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 细胞培养和分组 结直肠癌细胞SW480购自上海远慕生物科技有限公司;结直肠癌细胞HR-8348、Caco2购自美国ATCC;正常肠黏膜上皮细胞购自南京科佰生物科技有限公司。结直肠癌

细胞Caco2中分别转染shRNA对照、circSATB2 shRNA,记为sh-NC组、sh-circSATB2组,共转染抑制剂对照、circSATB2 shRNA和miR-150-5p抑制剂、circSATB2 shRNA,记为sh-circSATB2+anti-miR-NC组和sh-circSATB2+anti-miR-150-5p组,将未转染的细胞设置为对照组。各组细胞培养48h以后,进行后续相关指标检测。细胞转染方法按照Lipofectamine 2000试剂说明书进行。

1.2 实验试剂与仪器 抑制剂对照、miR-150-5p抑制剂购自上海安必奇生物科技有限公司;C-caspase-9抗体购自安诺伦(北京)生物科技有限公司;模拟物、miR-150-5p模拟物购自上海吉玛制药技术有限公司;C-caspase-3抗体购自北京百奥莱博科技有限公司;circSATB2 shRNA、shRNA对照由吉满生物科技(上海)有限公司构建;基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-9抗体购自武汉艾美捷科技有限公司;WT、MUT由上海艾博思生物科技有限公司构建;MMP-2抗体购自上海信裕生物科技有限公司。

1.3 qRT-PCR方法测定circSATB2在结直肠癌细胞中的表达差异 结直肠癌细胞SW480、HR-8348、Caco2和正常肠黏膜上皮细胞生长密度约为80%时,用冰预冷以后的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤2次,然后按照每10 cm²细胞中添加1 ml的Trizol试剂提取细胞RNA, RNA样品经过紫外分光光度计测定浓度和纯度以后,保存在-10℃备用。在0.2 ml的离心管内添加1 μl的10×反应缓冲液MgCl₂、1 μg的RNA、1 μl的DNase I,最后添加无RNA酶水至10 μl,放在37℃孵育30 min,继续加入1 μl的EDTA(50 mM),放在65℃孵育10 min。以第一链cDNA

进行逆转录反应,体系:0.2 ng的模板RNA、1 μ l的引物,最后用无RNA酶水补足到12 μ l,放在65℃孵育5 min,放在冰上冷却,继续添加4 μ l的5 \times 反应缓冲液、1 μ l的RNA酶抑制剂、2 μ l的10 mM dNTP混合物、1 μ l的RevertAid M-MuLV RT,充分混合后,在25℃孵育5 min,42℃孵育60 min,70℃孵育5 min,放在-20℃保存。将cDNA的浓度调整为50 ng/ml,配制PCR体系,包含0.8 μ l的PCR上游引物和下游引物、10 μ l的SYBR Premix Ex Taq II、2 μ l的cDNA模板,最后添加ddH₂O至20 μ l。PCR程序:(95℃ 30 s) \times 1个循环,(95℃ 5 s,60℃ 20 s) \times 45个循环。内参为GAPDH,根据 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因的表达变化。GAPDH:PCR上游引物5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3',下游引物5'-TGGTGAAGACGCCAGTGGA-3';circSATB2:PCR上游引物5'-TGTGTCCCAAGC TGTCTTTG-3',下游引物5'-ACAAACTCGGCGTG TTCTTC-3'。

1.4 CCK-8检测细胞存活率 采用CCK-8实验分析细胞增殖能力变化。在96孔细胞培养板中加入细胞悬浮液(每个孔100 μ l,含 1×10^5 个细胞),按照1.1分组处理。培养48 h以后,每个孔内添加CCK-8溶液10 μ l,继续放在培养箱中结合2 h。转移至酶标仪,检测450 nm的OD值。计算细胞存活率变化。细胞存活率=(待测组OD值 \div 对照组OD值) $\times 100\%$ 。

1.5 流式细胞术检测细胞凋亡率 利用流式细胞术检测细胞凋亡变化。将各组细胞培养48 h以后,0.25%胰蛋白酶消化细胞,PBS反复洗涤2次,最后将细胞悬浮在100 μ l的膜联蛋白V-FITC缓冲液中,添加5 μ l的膜联蛋白V-FITC和5 μ l的PI,混合后,在避光条件下结合15 min。继续添加400 μ l的膜联蛋白V-FITC缓冲液,在1 h内上流式细胞仪测定。

1.6 Transwell实验检测细胞迁移和侵袭 利用Transwell小室检测细胞迁移和侵袭,细胞迁移实验省去包被步骤。小室包被:将-20℃保存的基底胶放在4℃融化,然后用不含血清的细胞培养液将基底胶稀释(基底胶:血清=1:8),在Transwell小室的上室内添加100 μ l稀释后的基底胶,在培养箱中过夜。将各组用不含血清的细胞培养液悬浮,细胞密度为 2×10^5 个/ml,吸取200 μ l的细胞溶液至小室的上室内,在下室内添加500 μ l的含血清细

胞培养液,继续培养16 h,以3.7%的多聚甲醛固定,吉姆萨染色,在显微镜下选择5个视野分析细胞迁移和侵袭数目,结果取均值。

1.7 蛋白质印迹法检测细胞中C-caspase-3、C-caspase-9、MMP-2、MMP-9表达 利用蛋白质印迹法方法检测C-caspase-3、C-caspase-9、MMP-2、MMP-9表达。将各组细胞培养48 h以后,0.25%胰蛋白酶消化细胞,PBS反复洗涤2次,按照每25 cm²培养瓶内添加200 μ l的细胞裂解试剂将细胞裂解,4℃,15 000 r/min离心10 min。留取蛋白上清,经BCA方法测定浓度以后,在剩余的蛋白样品中添加5 \times 上样缓冲液混合,100℃孵育5 min。选择5%的浓缩胶和10%的分离胶进行电泳,每个孔内蛋白量为30 μ g,设置100 V的电压在浓缩胶中电泳,设置120 V的电压在分离胶中电泳,约2.5 h后,观察溴酚蓝进入到玻璃板的底部位置,终止电泳。根据分离胶大小裁剪NC膜,浸泡在转膜缓冲液中备用,设置100 V的电压转膜2 h。将NC膜放在5%脱脂奶粉溶液中,室温结合2 h,然后放在1:800稀释以后的一抗溶液中,在4℃过夜,NC膜继续放在1:2000稀释以后的二抗溶液内,在室温孵育2 h。根据ECL试剂盒显色。扫描条带的灰度值,内参设置为GAPDH,根据灰度值分析目的蛋白的表达变化。

1.8 靶基因预测和鉴定 利用生物信息学软件starbase分析circSATB2的靶基因,以荧光素酶报告系统对二者的靶向关系进行鉴定。分别在结肠癌细胞Caco2中将WT、MUT和miR-150-5p模拟物、模拟物共转染,继续培养48 h以后,以荧光素酶活性检测试剂盒测定荧光素酶活性的变化。WT为含有circSATB2结合位点的荧光素酶报告载体,MUT为含有突变以后circSATB2结合位点的荧光素酶报告载体。将对照组、sh-NC组、sh-circSATB2组细胞培养48 h以后,按照1.3中qRT-PCR方法测定miR-150-5p表达,U6为内参。U6:PCR上游引物5'-TAGTCTCTGGAGGTTCTCA-3',下游引物5'-AGAGCCTGTGGTGTCCG'-3';miR-150-5p:PCR上游引物5'-AAAAAGAACACGTGGAAGGAT-3',下游引物5'-CCGCCTAACGTACCGCGAATTT-3'。

1.9 统计学分析 实验数据经SPSS 22.0软件分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,两组数据比较用独立样本t检验,多组差异比较用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 circSATB2 在结直肠癌细胞中表达上调 见表 1。结直肠癌细胞 SW480、HR-8348、Caco2 中 circSATB2 水平高于正常肠黏膜上皮细胞($P<0.05$)。结直肠癌细胞 Caco2 中 circSATB2 水平高于结直肠癌细胞 SW480、HR-8348($P<0.05$)。结直肠癌细胞中 circSATB2 高表达。

2.2 沉默 circSATB2 诱导结直肠癌细胞增殖、迁移、侵袭抑制和凋亡促进 与对照组、sh-NC 组比较, sh-circSATB2 组结直肠癌细胞存活率降低, 细胞迁移数目减少, 细胞侵袭数目也减少, 细胞凋亡率升高, 细胞中 C-caspase-3、C-caspase-9 表达增多, MMP-2、MMP-9 表达减少($P<0.05$)。沉默 circSATB2 诱导结直肠癌细胞增殖、迁移、抑制

表 1 结直肠癌细胞 SW480、HR-8348、Caco2 和正常肠黏膜上皮细胞中 circSATB2 水平比较($\bar{x}\pm s$)

细胞	circSATB2 水平
正常肠黏膜上皮细胞	1.00±0.12
SW480	1.63±0.14*
HR-8348	1.89±0.17*
Caco2	2.28±0.15**
F 值	121.883
P 值	<0.001

注:与正常肠黏膜上皮细胞比较,* $P<0.05$;与 SW480、HR-8348 比较,** $P<0.05$ 。

侵袭,促进凋亡。

2.3 circSATB2 靶基因预测和鉴定 生物信息学软件预测 circSATB2 和 miR-150-5p 有结合位点,并且 miR-150-5p 模拟物、WT 共转染下调细胞荧光素酶活性($P<0.05$)。circSATB2 和 miR-150-5p 为靶向关系。见图 2 和表 3。

2.4 沉默 circSATB2 促进结直肠癌细胞中 miR-150-5p 表达 与对照组、sh-NC 组比较, sh-circSATB2 组结直肠癌细胞中 miR-150-5p 水平升高($P<0.05$)。沉默 circSATB2 促进结直肠癌细胞中 miR-150-5p 表达。见表 4。

2.5 miR-150-5p 抑制剂对沉默 circSATB2 影响结直肠癌细胞功能的作用 与 sh-circSATB2 + anti-miR-NC 组比较, sh-circSATB2 + anti-miR-150-5p 组结直肠癌细胞中 miR-150-5p 水平降低, 细胞存活率升高, 细胞凋亡率降低, 细胞迁移和侵袭数目增加, 细胞中 C-caspase-3、C-caspase-9 表达减少, MMP-2、MMP-9 表达增多。

3 讨论

circRNA 具有稳定性高,时空特异性、组织特异性强等特点,在不同的生命体内均有表达, circRNA 不是细胞转录过程中的“副产物”,是细胞中不可缺少的组成部分, circRNA 参与了复杂的 RNA-RNA 调控网络,对于细胞生长、分化、新陈

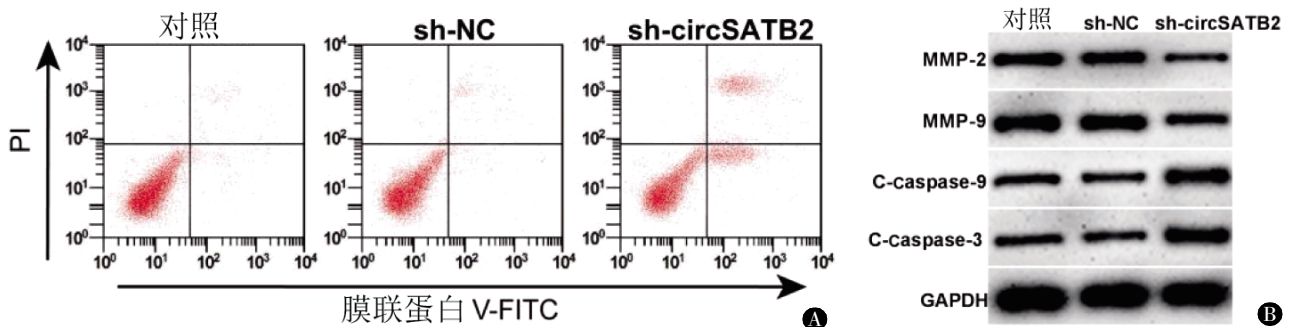


图 1 circSATB2 shRNA 对结直肠癌细胞凋亡和蛋白表达的影响

注:A,细胞凋亡检测结果(流式细胞术);B,细胞中 C-caspase-3、C-caspase-9、MMP-2、MMP-9 表达检测结果(蛋白质印迹法)。

表 2 沉默 circSATB2 对 Caco2 细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	circSATB2水平	存活率(%)	凋亡率(%)	迁移数目(个)	侵袭数目(个)	C-caspase-3	C-caspase-9	MMP-9	MMP-2
对照组	1.00±0.11	100.00±11.25	3.22±0.14	225.15±13.64	186.27±14.95	0.28±0.03	0.26±0.05	0.59±0.04	0.41±0.04
sh-NC 组	0.98±0.09	99.36±10.14	3.25±0.16	221.86±15.72	184.20±16.28	0.27±0.02	0.27±0.04	0.58±0.06	0.42±0.05
sh-circSATB2组	0.35±0.03*	63.25±4.15*	16.95±1.42*	160.42±14.23*	135.20±11.89*	0.48±0.05*	0.52±0.05*	0.35±0.04*	0.20±0.02*
F 值	174.839	48.446	821.167	56.462	35.815	99.711	88.773	73.191	91.600
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组、sh-NC 组比较,* $P<0.05$ 。

代谢等均有调控作用^[8]。目前研究证实了 circRNA 在肿瘤的治疗中有潜在的应用价值^[9]。有学者发现 circSATB2 在非小细胞肺癌中表达上调,且沉默 circSATB2 降低了肿瘤细胞迁移、增殖能力, circSATB2 可能是肿瘤进展中的促进因子^[5,10]。基于以上研究背景我们分析检测了结直肠癌细胞和正常结直肠上皮细胞中 circSATB2 的表达变化,发现结直肠癌细胞中 circSATB2 高表达,并且沉默 circSATB2 后的结直肠癌细胞增殖能力降低,细胞迁移和侵袭能力也下降,细胞凋亡增多,沉默 circSATB2 抑制结直肠癌细胞恶性生物学行为, circSATB2 在结直肠癌进展中可能发挥抑制作用,因此 circSATB2 可能是未来结直肠癌治疗的靶点。

肿瘤的转移是一个十分复杂的过程,肿瘤细胞从原来的病发灶脱落,进入微循环系统,随着体液循环到达新的组织和器官,在这个过程中,肿瘤

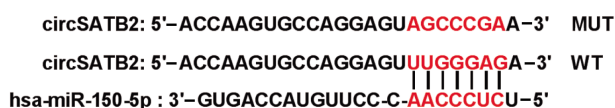


图2 circSATB2 和 miR-150-5p 结合位点

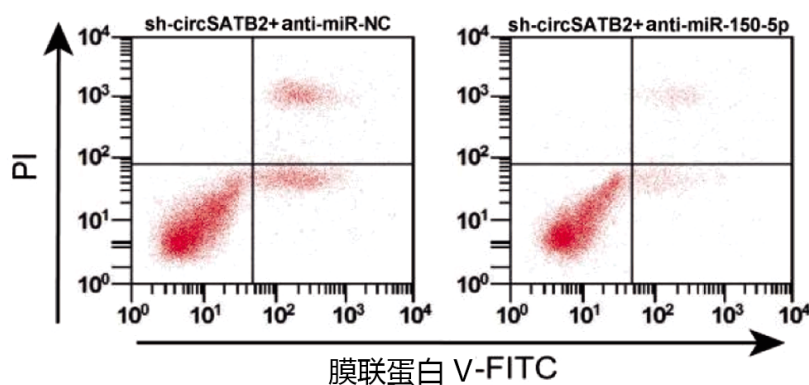


图3 同时抑制 miR-150-5p 和 circSATB2 对 Caco2 细胞凋亡和蛋白表达的影响

注:A,细胞凋亡检测结果(流式细胞术);B,细胞中 C-caspase-3、C-caspase-9、MMP-2、MMP-9 表达检测结果(蛋白质印迹法)。

细胞能够合成细胞外基质降解酶,为肿瘤的转移提供条件^[11]。MMP 是与肿瘤转移关系密切的细胞外基质降解酶,其成员包括 MMP-9、MMP-2 等,这些蛋白成员分别能够将不同的细胞外基质成分降解,为肿瘤的转移提供条件^[12]。肿瘤细胞凋亡减少也是肿瘤进展迅速的重要原因,肿瘤细胞凋亡也

表3 荧光素酶活性($\bar{x}\pm s$)

组别	WT	MUT
模拟物对照组	1.00±0.10	1.00±0.13
miR-150-5p 模拟物组	0.40±0.06*	0.97±0.11
t 值	15.435	0.528
P 值	<0.001	0.604

表4 circSATB2 shRNA 转染后结直肠癌细胞中 miR-150-5p 水平($\bar{x}\pm s$)

组别	miR-150-5p
对照组	1.00±0.10
sh-NC 组	0.99±0.11
sh-circSATB2 组	1.86±0.17*
F 值	132.053
P 值	<0.001

注:与对照组、sh-NC 组比较,*P<0.05。

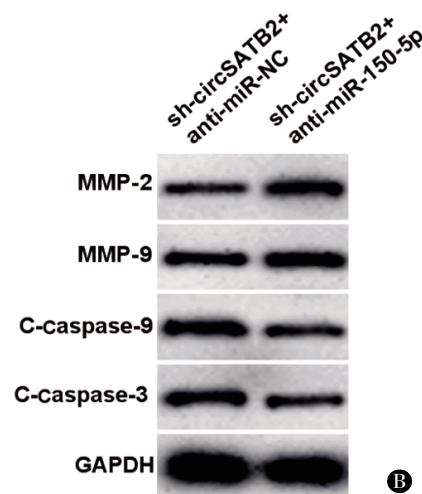


表5 同时抑制 miR-150-5p 和 circSATB2 对 Caco2 细胞功能的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	miR-150-5p 水平	存活率(%)	凋亡率(%)	迁移数目(个)	侵袭数目(个)	C-caspase-3	C-caspase-9	MMP-9	MMP-2
sh-circSATB2+ anti-miR-NC 组	1.00±0.12	100.00±9.95	15.82±1.66	161.40±14.28	136.82±12.47	0.49±0.04	0.53±0.06	0.39±0.06	0.24±0.04
sh-circSATB2+anti- miR-150-5p 组	0.78±0.08*	184.25±14.28*	7.23±0.85*	210.47±16.93*	175.00±16.52*	0.31±0.04*	0.33±0.03*	0.52±0.05*	0.38±0.03*
t 值	4.576	14.522	13.818	6.647	5.534	9.546	8.944	4.993	8.400
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 sh-circSATB2+anti-miR-NC 组比较,*P<0.05。

受到细胞内多种因子的表达调控作用^[13]。caspase 蛋白成员很多,在正常情况下常以没有活性的酶原形式存在,只有被活化后才能够形成凋亡级联反应,最终诱导细胞凋亡的发生^[14]。caspase-3 是 caspase 凋亡级联反应中的下游因子,也是凋亡的执行因子,其被活化后形成 C-caspase-3 是细胞凋亡的标志之一^[15]。caspase-9 是 caspase 凋亡级联反应中的上游因子,也是凋亡起始因子,其活化后形成 C-caspase-9 能够激活 caspase 其他蛋白成员,最终诱导细胞凋亡发生^[16]。本研究显示,沉默 circSATB2 后结直肠癌细胞中 C-caspase-3、C-caspase-9 蛋白水平升高,而 MMP-9、MMP-2 蛋白水平降低,沉默 circSATB2 诱导结直肠癌细胞凋亡和迁移、侵袭抑制,这与细胞凋亡、迁移和侵袭的检测结果一致,进一步证明了沉默 circSATB2 对结直肠癌细胞的影响。

文献显示, circRNA 含有多个 miRNA 的结合位点,分别在不同的病理或生理过程中调控不同的 miRNA 发挥功能^[17,18]。miR-150-5p 在人体组织中广泛表达,与脑缺血、冠心病等有关。miR-150-5p 与肿瘤关系密切,miR-150-5p 可抑制肝癌、乳腺癌、卵巢癌等肿瘤细胞的增殖和迁移,miR-150-5p 是一个肿瘤抑制因子^[19-22]。在结直肠癌中,miR-150-5p 表达下调,且 miR-150-5p 诱导结直肠癌细胞凋亡并抑制细胞增殖、迁移^[7,23-24]。本研究发现,沉默 circSATB2 靶向促进结直肠癌细胞中 miR-150-5p 表达,并且沉默 miR-150-5p 还可减弱沉默 circSATB2 对结直肠癌细胞凋亡诱导和迁移、侵袭、增殖抑制作用,这提示沉默 circSATB2 通过 miR-150-5p 发挥作用。

综上所述,沉默 circSATB2 可抑制结直肠癌细胞迁移、侵袭、增殖,诱导细胞凋亡,机制与可能与靶向促进 miR-150-5p 表达有关,这为研究 circSATB2 在结直肠癌中的作用机制奠定了基础,为分子靶向治疗结直肠癌提供了新方向。

参考文献

- [1] WIESZCZY P, KAMINSKI MF, FRANCZYK R, et al. Colorectal Cancer Incidence and Mortality After Removal of Adenomas During Screening Colonoscopies [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(4):875-883.
- [2] KALTENBACH T, ANDERSON JC, BURKE CA, et al. Endoscopic Removal of Colorectal Lesions: Recommendations by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer [J]. *Am J Gastroenterol*, 2020, 115(3):435-464.
- [3] LI R, JIANG J, SHI H, et al. CircRNA: a rising star in gastric cancer [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(9):1661-1680.
- [4] WANG X, ZHANG H, YANG H, et al. Exosome-delivered circRNA promotes glycolysis to induce chemoresistance through the miR-122-PKM2 axis in colorectal cancer [J]. *Mol Oncol*, 2020, 14(3):539-555.
- [5] LIU P, WANG M, TANG W, et al. Circ_SATB2 Attenuates the Anti-Tumor Role of Celestrol in Non-Small-Cell Lung Carcinoma Through Targeting miR-33a-5p/E2F7 Axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13(11):11899-11912.
- [6] ZHANG J, LIU Y, SHI G. The circRNA-miRNA-mRNA regulatory network in systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Rheumatol*, 2021, 40(1):331-339.
- [7] CHEN X, XU X, PAN B, et al. miR-150-5p suppresses tumor progression by targeting VEGFA in colorectal cancer [J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(11):3421-3437.
- [8] ZHU J, ZHANG X, GAO W, et al. lncRNA/circRNA-miRNA-mRNA ceRNA network in lumbar intervertebral disc degeneration [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(4):3160-3174.
- [9] LI X, DING J, WANG X, et al. NUDT21 regulates circRNA cyclization and ceRNA crosstalk in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2020, 39(4):891-904.
- [10] ZHANG N, NAN A, CHEN L, et al. Circular RNA circSATB2 promotes progression of non-small cell lung cancer cells [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):101-115.
- [11] DOFARA SG, CHANG SL, DIORIO C. Gene Polymorphisms and Circulating Levels of MMP-2 and MMP-9: A Review of Their Role in Breast Cancer Risk [J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(7):3619-3631.
- [12] COWELL S, CARROLL L, LAVDAS I, et al. Towards an MMP-2-activated molecular agent for cancer imaging [J]. *Dalton Trans*, 2018, 47(5):1530-1534.
- [13] TOULOUIMIS Z, LAZARIS A, GRINIATSOS J. The prognostic significance of Caspase-3 and survivin expression in colorectal cancer patients [J]. *J BUON*, 2020, 25(5):2160-2170.
- [14] LUO Y, FU X, RU R, et al. CpG Oligodeoxynucleotides Induces Apoptosis of Human Bladder Cancer Cells via Caspase-3-Bax/Bcl-2-p53 Axis [J]. *Arch Med Res*, 2020, 51(3):233-244.
- [15] ZHAO M, WANG Y, ZHAO Y, et al. Caspase-3 knockout attenuates radiation-induced tumor repopulation via impairing the ATM/p53/Cox-2/PGE2 pathway in non-small cell lung cancer [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(21):21758-21776.
- [16] PARASHAR P, TRIPATHI CB, ARYA M, et al. Correction to: a facile approach for fabricating CD44-targeted delivery of hyaluronic acid-functionalized PCL nanoparticles in urethane-induced lung cancer: Bcl-2, MMP-9, caspase-9, and BAX as potential markers [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2020, 10(5):1532-1533.
- [17] LIU Z, YANG Y, YANG Z, et al. Novel circRNA_0071196/miRNA-19b-3p/CIT axis is associated with proliferation and

- migration of bladder cancer[J]. Int J Oncol, 2020, 57(3):767-779.
- [18] DING B, YAO M, FAN W, et al. Whole-transcriptome analysis reveals a potential hsa_circ_0001955/hsa_circ_0000977 - mediated miRNA-mRNA regulatory sub-network in colorectal cancer[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(6):5259-5279.
- [19] SUI C, DONG Z, YANG C, et al. LncRNA FOXD2-AS1 as a competitive endogenous RNA against miR-150-5p reverses resistance to sorafenib in hepatocellular carcinoma[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(9):6024-6033.
- [20] JIA H, WU D, ZHANG Z, et al. Regulatory effect of the MAFG-AS1/miR-150-5p/MYB axis on the proliferation and migration of breast cancer cells[J]. Int J Oncol, 2020, 58(1):33-44.
- [21] ZHOU S, XU A, SONG T, et al. lncRNA MIAT Regulates Cell Growth, Migration, and Invasion Through Sponging miR-150-5p in Ovarian Cancer[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2020, 35(9):650-660.
- [22] LI X, LUO Y, LIU L, et al. The long noncoding RNA ZFAS1 promotes the progression of glioma by regulating the miR-150-5p/PLP2 axis[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(3):2937-2946.
- [23] LOU T, KE K, ZHANG L, et al. LncRNA PART1 facilitates the malignant progression of colorectal cancer via miR-150-5p/LRG1 axis[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(10):4271-4281.
- [24] ZOU SL, CHEN YL, GE ZZ, et al. Downregulation of serum exosomal miR-150-5p is associated with poor prognosis in patients with colorectal cancer[J]. Cancer Biomark, 2019, 26(1):69-77.

·读者·作者·编者·

本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1 统计学研究设计 应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究);实验设计(应交代具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等);临床试验设计(应交代属于第几期临床试验,采用了何种盲法等)。主要做法应围绕4个原则:随机、对照、重复、均衡进行概要说明,尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2 资料的表达与描述 用 $(\bar{x}\pm s)$ 表达近似正态分布的定量资料,用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的意义表达清楚,可使用表注在表格下方进行详细说明;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上的刻度值的标符合数学原则,可使用图注进行必要的说明;用相对数时,分母不宜少于20,要注意区分百分率和百分比。

3 统计分析方法的选择 对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料条件和分析目的,选择合适的统计方法,不能盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件以及分析目的,选择合适的统计分析方法,不能盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不能盲目套用简单直线回归分析,对于具有重复数据的回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面的解释和评价。

4 统计结果的解释和表达 当 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 时应说明对比组之间的差异有统计学意义,而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别;应写明所用统计分析方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间的两两比较的 q 检验等)、统计量的具体值(如 $t=3.12, \chi^2=4.36, F=6.86$ 等)、具体的 P 值(如 $P=0.012$);当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出95%CI。