

lncRNA SNHG14调控miR-579-3p/KIF18B轴 对胃癌细胞恶性生物学行为的影响

王海伟 张小辉*

(邯郸市中心医院病理科, 邯郸 056000)

摘要 该文旨在探讨长链非编码RNA(lncRNA)小核仁RNA宿主基因14(SNHG14)靶向微小RNA-579-3p(miR-579-3p)/驱动蛋白家族成员18B(KIF18B)轴对胃癌(GC)细胞恶性生物学行为的影响。应用RT-qPCR实验检测30例GC患者癌组织及癌旁组织、人正常胃上皮细胞(GES-1)以及GC细胞系(AGS、MGC-803、HGC-27)中lncRNA SNHG14、miR-579-3p、KIF18B mRNA水平。将MGC-803细胞分为sh-NC组、sh-SNHG14组、sh-SNHG14+anti-miR-NC组、sh-SNHG14+anti-miR-579-3p组。RT-qPCR实验检测各组细胞lncRNA SNHG14、miR-579-3p、KIF18B mRNA表达水平, CCK-8法检测细胞活力, 克隆形成实验检测细胞增殖能力, 流式细胞术检测细胞凋亡情况, 划痕实验检测细胞迁移能力, Transwell小室检测细胞侵袭能力, Western blot实验检测KIF18B、cleaved caspase-3、N-cadherin和E-cadherin蛋白表达量。另将MGC-803细胞设为miR-NC组、miR-579-3p mimics组、miR-579-3p mimics+pcDNA组、miR-579-3p mimics+KIF18B组。RT-qPCR实验检测MGC-803细胞中miR-579-3p和KIF18B mRNA表达水平。双荧光素酶报告基因实验验证miR-579-3p与lncRNA SNHG14、miR-579-3p与KIF18B之间的靶向关系。沉默lncRNA SNHG14可下调lncRNA SNHG14、KIF18B mRNA表达水平, 降低细胞活力、细胞克隆数、划痕愈合率、细胞侵袭数以及N-cadherin、KIF18B蛋白表达量, 提高miR-579-3p表达水平、细胞凋亡率以及cleaved caspase-3、E-cadherin蛋白表达量($P<0.05$); 沉默lncRNA SNHG14的同时下调miR-579-3p可上调KIF18B mRNA表达水平, 增加细胞克隆数、细胞侵袭数, 提高细胞活力、划痕愈合率以及N-cadherin、KIF18B蛋白表达量, 降低miR-579-3p表达水平、细胞凋亡率以及cleaved caspase-3、E-cadherin蛋白表达量($P<0.05$)。过表达miR-579-3p可上调miR-579-3p表达水平, 下调KIF18B mRNA表达水平($P<0.05$); 共转染miR-579-3p和KIF18B可上调KIF18B mRNA表达水平。双荧光素酶报告基因实验显示miR-579-3p与lncRNA SNHG14、miR-579-3p与KIF18B之间存在靶向关系。在胃癌细胞中lncRNA SNHG14表达显著上调, 沉默lncRNA SNHG14的表达可靶向上调miR-579-3p的表达, 抑制KIF18B的表达, 进而抑制胃癌细胞的恶性生物学行为。

关键词 小核仁RNA宿主基因14; miRNA-579-3p/驱动蛋白家族成员18B轴; 胃癌细胞; 恶性生物学行为

Effects of LncRNA SNHG14 on the Malignant Biological Behaviors of Gastric Cancer Cells by Regulating miR-579-3p/KIF18B Axis

WANG Haiwei, ZHANG Xiaohui*

(Department of Pathology, Handan Central Hospital, Handan 056000, China)

收稿日期: 2025-07-18

接受日期: 2026-03-30

河北省医学科学研究课题(批准号: 20211576)资助的课题

*通信作者。Tel: 18632008579, E-mail: 624892352@qq.com

Received: July 18, 2025

Accepted: March 30, 2026

This work was supported by the Medical Science Research Project of Hebei Province (Grant No.20211576)

*Corresponding author. Tel: +86-18632008579, E-mail: 624892352@qq.com

Abstract This study aims to investigate the effects of lncRNA (long non-coding RNA) SNHG14 (small nucleolar RNA host gene 14) on the malignant biological behaviors of GC (gastric cancer) cells by targeting miR-579-3p (microRNA-579-3p)/KIF18B (kinesin family member 18B) axis. RT-qPCR was employed to detect the expression levels of lncRNA SNHG14, miR-579-3p, and *KIF18B* mRNA in cancer tissues and adjacent normal tissues from 30 GC patients, as well as in the normal human gastric epithelial cell line (GES-1) and GC cell lines (AGS, MGC-803, HGC-27). MGC-803 cells were assigned into sh-NC group, sh-SNHG14 group, sh-SNHG14+anti-miR-NC group, and sh-SNHG14+anti-miR-579-3p group. RT-qPCR was used to detect the expression levels of lncRNA SNHG14, miR-579-3p, and *KIF18B* mRNA in each group of cells. Cell viability was assessed using the CCK-8 assay, and cell proliferation ability was evaluated by colony formation assay. Flow cytometry was performed to measure cell apoptosis. Wound healing assay was used to detect cell migration ability, and Transwell chamber assay was employed to assess cell invasion ability. Western blot analysis was conducted to determine the protein expression levels of KIF18B, cleaved caspase-3, N-cadherin, and E-cadherin. MGC-803 cells were assigned into miR-NC group, miR-579-3p mimics group, miR-579-3p mimics+pcDNA group, and miR-579-3p mimics+KIF18B group. The expression levels of miR-579-3p and *KIF18B* mRNA in MGC-803 cells were detected by RT-qPCR. A dual-luciferase reporter assay was performed to validate the targeting relationships between miR-579-3p and lncRNA SNHG14, as well as between miR-579-3p and *KIF18B*. Silencing lncRNA SNHG14 could downregulate the expression levels of lncRNA SNHG14 and *KIF18B* mRNA, reduce cell viability, colony number, wound healing rate, and cell invasion number, decrease N-cadherin and KIF18B protein levels, while upregulating miR-579-3p expression, increasing apoptosis rate, and elevating cleaved caspase-3 and E-cadherin protein levels ($P<0.05$). Silencing lncRNA SNHG14 while downregulating miR-579-3p could upregulate *KIF18B* mRNA expression levels, increase cell viability, colony number, wound healing rate, cell invasion number, as well as N-cadherin and KIF18B protein expression levels, while reducing miR-579-3p expression levels, cell apoptosis rate, and cleaved caspase-3 and E-cadherin protein expression levels ($P<0.05$). Over-expression of miR-579-3p could upregulate the expression level of miR-579-3p and downregulate the expression level of *KIF18B* mRNA ($P<0.05$); co-transfection of miR-579-3p and *KIF18B* upregulated *KIF18B* mRNA expression levels. Dual-luciferase reporter assay confirmed the targeting relationships between miR-579-3p and lncRNA SNHG14, as well as between miR-579-3p and *KIF18B*. The expression of lncRNA SNHG14 is prominently upregulated in gastric cancer cells. Silencing the expression of lncRNA SNHG14 can target the upregulation of miR-579-3p expression, inhibit the expression of KIF18B, and thus suppress the malignant biological behaviors of gastric cancer cells.

Keywords small nucleolar RNA host gene 14; miRNA-579-3p/kinesin family member 18B axis; gastric cancer cells; malignant biological behaviors

胃癌(gastric cancer, GC)是最常见的恶性消化道癌症,具有高传播性和高侵袭性^[1]。目前GC的疗法主要包括放疗、化疗和手术切除,其虽在短期内有一定的效果,但长期疗效并不理想且常伴有一系列的副作用^[2]。GC患者若未能得到及时诊断,则会导致其治疗效果不佳及总体预后不良,5年生存率将低于40%。此外GC的形成和发展是一个多因素的致瘤过程,涉及表观遗传变化。目前与GC发生和发展有关的分子机制仍不清楚,因此有必要通过了解GC的分子机制来识别能够预测预后和指导治疗的生物标志物。长链非编码RNA(long non-

coding RNA, lncRNA)在表观遗传调控、细胞分化调控等多种生物学过程中扮演重要角色。小核仁RNA宿主基因14(small nucleolar RNA host gene 14, SNHG14)是lncRNA的一种,已被发现在结直肠癌、肝细胞癌等癌症中可促进肿瘤细胞的增殖和侵袭^[3-4]。相关研究表明, lncRNA SNHG14在GC细胞中高表达并通过促进细胞的增殖和迁移影响GC进展^[5]。微小RNA(microRNA, miRNA)是一类能够被lncRNA竞争性结合的RNA,在一些癌症中异常表达。如miR-579-3p在食管鳞状癌细胞、小细胞肺癌中低表达,而过表达miR-579-3p则可抑制癌

细胞的恶性生物学行为^[6-7]。目前的研究显示 miR-579-3p 在胃腺癌细胞中低表达,而上调其表达可降低胃腺癌细胞的增殖活性^[8]。驱动蛋白家族成员 18B(kinesin family member 18B, KIF18B)是一种新的肿瘤相关蛋白。相关研究表明 KIF18B 在 GC 细胞中高表达并通过调节上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)促进 GC 进展,可作为 GC 的预后标志物^[9]。KIF18B 常作为 miRNA 的直接靶点,受调控后其表达水平发生变化,进而影响相关细胞功能。如 miR-139-3p 通过靶向抑制 KIF18B 的表达影响 GC 细胞的增殖、迁移和侵袭能力^[10]。综上 lncRNA SNHG14、miR-579-3p 以及 KIF18B 在 GC 细胞中异常表达且影响细胞的增殖,但三者之间是否具有互相调控的关系目前还未有研究。本研究经 ENCORI 数据库预测发现 miR-579-3p 与 lncRNA SNHG14、KIF18B 之间存在结合位点。基于此,本研究旨在研究 lncRNA SNHG14 通过调控 miR-579-3p/KIF18B 轴对 GC 细胞增殖、迁移及侵袭的影响。

1 材料与方法

1.1 组织、细胞与主要试剂

收集 2023 年 12 月至 2024 年 10 月期间于邯郸市中心医院接受胃癌切除术的 30 例患者的癌组织及相应癌旁组织。所有患者均知情并签署了书面同意书,且本研究获得了邯郸市中心医院伦理委员会批准(批准号:2023-0092)。人正常胃上皮细胞 GES-1(货号:1054)以及胃癌细胞系 AGS(货号:1016)、MGC-803(货号:1106)、HGC-27(货号:1070)购自北京博沃尔斯生物科技有限公司;DMEM 培养基(含胎牛血清)(货号:OMDCM-031)购自江西江蓝纯生物试剂有限公司;Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(货号:CA1020)购自北京索莱宝科技有限公司;RT-qPCR 试剂盒(货号:B-11047)购自上海圻明生物科技有限公司;sh-NC、sh-SNHG14、pcDNA NC、pcDNA KIF18B 质粒以及 anti-miR-NC、anti-miR-579-3p、miR-NC、miR-579-3p mimics 寡核苷酸片段均购自武汉华美生物工程技术有限公司;lncRNA SNHG14、KIF18B、miR-579-3p 及 GAPDH 引物序列购自北京擎科生物科技股份有限公司;CCK-8 试剂盒(货号:FY600001)购自弗元(上海)生物科技有限公司;Lipofectamine 2000 转染试剂(货号:L266177)

购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;Transwell 小室(货号:3450)购自上海朗喜工业科技有限公司;KIF18B(货号:ab168812)、cleaved caspase-3(货号:ab32042)、N-cadherin(货号:ab76011)、E-cadherin(货号:ab314063)、 β -actin(货号:ab8226)抗体购自英国 Abcam 公司。

1.2 细胞培养

将 GES-1、AGS、MGC-803、HGC-27 细胞接种在 DMEM 高糖培养基(含 10% 胎牛血清、2 mmol/L 谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素及 100 μ g/mL 链霉素)中,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养,每隔 2 d 对培养液进行更换,待细胞密度达 80% 左右时加入 0.25% 胰蛋白酶(含 0.02% EDTA)进行消化(37 $^{\circ}$ C、3 min)、传代。收集传代 3 次后的细胞,利用 RT-qPCR 法检测 lncRNA SNHG14、miR-579-3p 和 KIF18B mRNA 的表达情况。引物序列见表 1。

1.3 细胞转染

将 MGC-803 细胞分为 sh-NC 组(转染 sh-NC 质粒)、sh-SNHG14 组(转染 sh-SNHG14 质粒)、sh-SNHG14+anti-miR-NC 组(共转染 sh-SNHG14 质粒与 miRNA 抑制剂阴性对照)、sh-SNHG14+anti-miR-579-3p 组(共转染 sh-SNHG14 质粒与 miR-579-3p 抑制剂)、miR-NC 组(转染 miRNA 模拟物阴性对照)、miR-579-3p mimics 组(转染 miR-579-3p 模拟物)、miR-579-3p mimics+pcDNA 组(共转染 miR-579-3p 模拟物与 pcDNA 空载质粒)、miR-579-3p mimics+KIF18B 组(共转染 miR-579-3p mimics 与 KIF18B 过表达质粒),各组均使用 Lipofectamine 2000 转染试剂进行转染,48 h 后进行后续实验研究。

1.4 RT-qPCR 检测 lncRNA SNHG14、miR-579-3p 和 KIF18B mRNA 的表达情况

使用 TRIzol 法提取细胞及组织中的总 RNA,使用分光光度计检测 RNA 浓度和纯度。取等量合格 RNA 样品,按照逆转录试剂盒说明书配制反应体系,并将其置于 PCR 仪中进行逆转录合成 cDNA。以 cDNA 为模板进行 qPCR 扩增反应。扩增程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s;95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,60 $^{\circ}$ C 退火/延伸 30 s,40 个循环。以 U6 作为 miR-579-3p 的内参,GAPDH 作为 lncRNA SNHG14 和 KIF18B 的内参,用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算基因相对表达量。

1.5 CCK-8 法检测细胞活力

收集各组对数生长期的 MGC-803 细胞,以 1 \times 10⁵/孔

表1 RT-qPCR引物序列
Table 1 Primer sequences for RT-qPCR

| 基因名称 Gene name | 引物序列 Primer sequences |
|-------------------|---|
| miR-579-3p | F: 5'-TTC ATT TGG TAT AAA CCG CGA T-3' R: 5'-GTC GTA TCC AGT GCA GGG T-3' |
| U6 | F: 5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3' R: 5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3' |
| LncRNA SNHG14 | F: 5'-GCA ACC AGA GCG TGA AGA A-3' R: 5'-ACC CGA GCA ATG CCA GTA-3' |
| KIF18B | F: 5'-GCT GCA AGT AGT GGT ACG GG-3' R: 5'-CCT CAG GGT TAA ACA CCA GCA-3' |
| GAPDH | F: 5'-CAT GAG AAG TAT GAC AAC AGC CT-3' R: 5'-AGT CCT TCC ACG ATA CCA AAG T-3' |

的密度接种在96孔板中,在细胞培养箱(37℃、5% CO₂)中培养24 h后,分别向每孔中加入10 μL CCK-8试剂,继续在37℃、5% CO₂条件下孵育2 h后,用酶标仪测定细胞的吸光度(D₄₅₀)值。

1.6 细胞克隆数检测

收集各组对数生长期的MGC-803细胞以1×10³/孔的密度接种于6孔板中。在37℃、5% CO₂培养箱中培养14 d,待肉眼可见的细胞集落形成后,用4%多聚甲醛于37℃固定30 min,0.1%结晶紫于37℃染色20 min,于光镜下进行拍照并计数。

1.7 流式细胞术检测细胞凋亡情况

分别收集各组MGC-803细胞,用预冷的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)清洗2次,离心(4℃、1 000 r/min、5 min)并弃上清,加入1×结合缓冲液重悬细胞,调整细胞浓度至1×10⁶/mL。取100 μL细胞悬液(含1×10⁵个细胞)至流式管中,再分别加入5 μL Annexin V-FITC和PI,避光反应10 min后立即用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.8 划痕实验检测细胞迁移情况

取对数生长期的细胞以1×10⁵/孔的密度接种在6孔板中,于37℃、5% CO₂培养箱中培养24 h,待细胞基本铺满孔底,形成致密、均一的单层时,使用移液器的枪头尖端轻轻划动,然后在显微镜下拍照并记为0 h。继续培养至24 h,再次在显微镜下拍照,根据2次视野下的划痕情况计算划痕愈合率。

1.9 Transwell小室法检测细胞侵袭情况

取少量基质胶(matrigel)在4℃下融化并将其包被到Transwell上室中。将收集的各组MGC-803细胞用不含血清的细胞培养基重悬,然后将其接种到

Transwell上室,在Transwell下室中加入含有10%胎牛血清的培养基,在37℃、5% CO₂细胞培养箱中培养24 h,用4%多聚甲醛室温固定30 min,0.1%结晶紫室温避光染色30 min,在显微镜下观察并拍照计数。

1.10 Western blot检测蛋白表达情况

收集各处理组细胞并用RIPA裂解液裂解细胞,提取并定量总蛋白;蛋白变性处理后用SDS-PAGE法电泳(恒压120 V,电泳约1 h)分离,然后将其转移到PVDF膜上;5%脱脂奶粉室温下封闭1 h后,将PVDF膜分别与KIF18B、cleaved caspase-3、N-cadherin、E-cadherin、β-actin一抗(稀释比例均为1:1 000)在4℃下孵育过夜,次日用TBST(tris-buffered saline with Tween 20)洗膜后加入HRP标记的山羊抗兔二抗IgG(1:1 000),室温孵育1 h,再次洗膜。可视化处理后用ImageJ软件对蛋白条带进行定量。

1.11 双荧光素酶报告基因检测

ENCORI数据库(<https://rnasysu.com/encori/>)的预测结果显示,LncRNA SNHG14与miR-579-3p之间存在潜在的结合位点,同时miR-579-3p与KIF18B的3'非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)区域也存在互补配对序列。构建SNHG14-WT、SNHG14-MUT、KIF18B-WT、KIF18B-MUT双荧光素酶报告基因表达载体,将其分别与miR-NC和miR-579-3p mimics共转染于MGC-803细胞中,于37℃、5% CO₂培养箱中培养48 h后,测定各组细胞的荧光素酶活性。

1.12 统计学分析

使用SPSS 24.0软件分析实验结果,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验;多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用

LSD-*t*检验。当 $P<0.05$ 时,差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌组织及癌旁组织中lncRNA SNHG14、miR-579-3p、KIF18B mRNA的表达变化

与癌旁组织比较,癌组织中lncRNA SNHG14和KIF18B mRNA表达显著上调,miR-579-3p表达显著下调($P<0.05$)(图1)。

2.2 胃癌细胞系中lncRNA SNHG14、miR-579-3p、KIF18B mRNA表达变化

与GES-1细胞比较,AGS、HGC-27和MGC-803细胞中lncRNA SNHG14和KIF18B mRNA表达

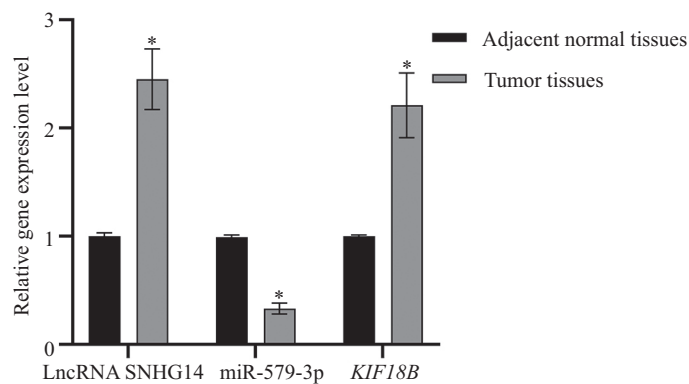
水平显著升高,miR-579-3p表达水平降低($P<0.05$)(图2)。综合考虑后,选用MGC-803细胞进行后续实验。

2.3 转染效率验证

如图3所示,与sh-NC组比较,sh-SNHG14组lncRNA SNHG14和KIF18B mRNA表达水平显著下降,miR-579-3p表达水平升高($P<0.05$);与sh-SNHG14+anti-miR-NC组比较,sh-SNHG14+anti-miR-579-3p组miR-579-3p表达水平降低,KIF18B mRNA水平升高($P<0.05$)。

2.4 各组细胞活力变化

如图4所示,与sh-NC组比较,sh-SNHG14组 D_{450}

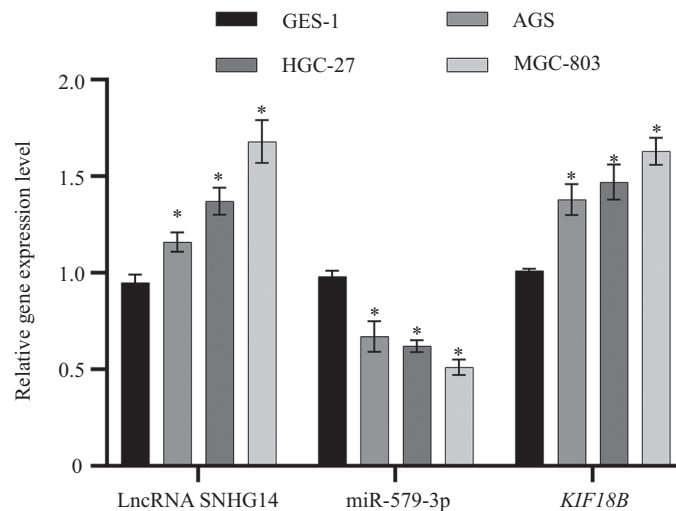


* $P<0.05$,与癌旁组织相比。 $\bar{x}\pm s$, $n=30$ 。

* $P<0.05$ compared with the adjacent normal tissues. $\bar{x}\pm s$, $n=30$ 。

图1 癌组织及癌旁组织中lncRNA SNHG14、miR-579-3p、KIF18B mRNA表达水平比较

Fig.1 Comparison of lncRNA SNHG14, miR-579-3p, and KIF18B mRNA expression levels in tumor tissues and adjacent normal tissues

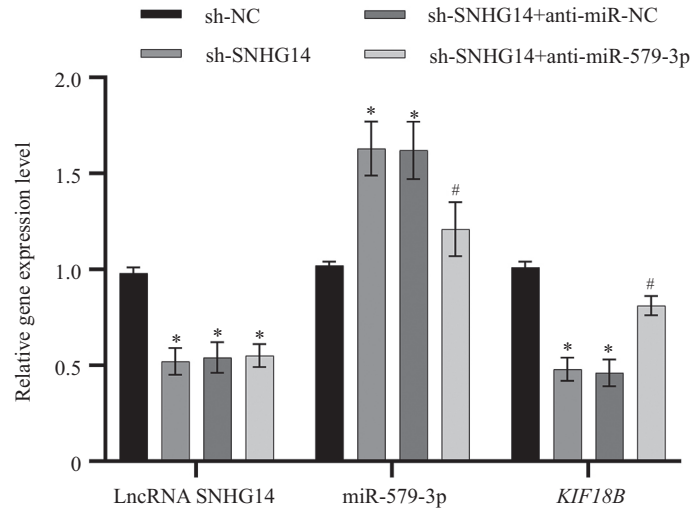


* $P<0.05$,与GES-1细胞相比。 $\bar{x}\pm s$, $n=6$ 。

* $P<0.05$ compared with the GES-1 cells. $\bar{x}\pm s$, $n=6$ 。

图2 各胃癌细胞中lncRNA SNHG14、miR-579-3p、KIF18B mRNA表达水平比较

Fig.2 Comparison of lncRNA SNHG14, miR-579-3p, and KIF18B mRNA expression levels in various gastric cancer cell lines

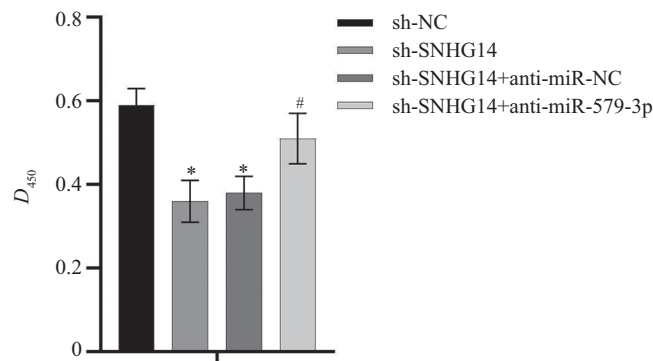


* $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; # $P < 0.05$, 与sh-SNHG14+anti-miR-NC组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

* $P < 0.05$ compared with the sh-NC group; # $P < 0.05$ compared with the sh-SNHG14+anti-miR-NC group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

图3 各组LncRNA SNHG14、miR-579-3p、KIF18B mRNA表达水平比较

Fig.3 Comparison of LncRNA SNHG14, miR-579-3p, and KIF18B mRNA expression levels in each group



* $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; # $P < 0.05$, 与sh-SNHG14+anti-miR-NC组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

* $P < 0.05$ compared with the sh-NC group; # $P < 0.05$ compared with the sh-SNHG14+anti-miR-NC group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

图4 各组细胞活力比较

Fig.4 Comparison of cell viability in each group

值显著降低 ($P < 0.05$); 与 sh-SNHG14+anti-miR-NC 组比较, sh-SNHG14+anti-miR-579-3p 组 D_{450} 值显著升高 ($P < 0.05$)。

2.5 各组细胞克隆数比较

如图5所示, 与 sh-NC 组比较, sh-SNHG14 组 MGC-803 细胞克隆数显著减少 ($P < 0.05$); 与 sh-SNHG14+anti-miR-NC 组比较, sh-SNHG14+anti-miR-579-3p 组 MGC-803 细胞克隆数增加 ($P < 0.05$)。

2.6 各组细胞凋亡率比较

如图6所示, 与 sh-NC 组比较, sh-SNHG14 组细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$); 与 sh-SNHG14+anti-miR-NC 组比较, sh-SNHG14+anti-miR-579-3p 组细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$)。

2.7 各组细胞迁移能力比较

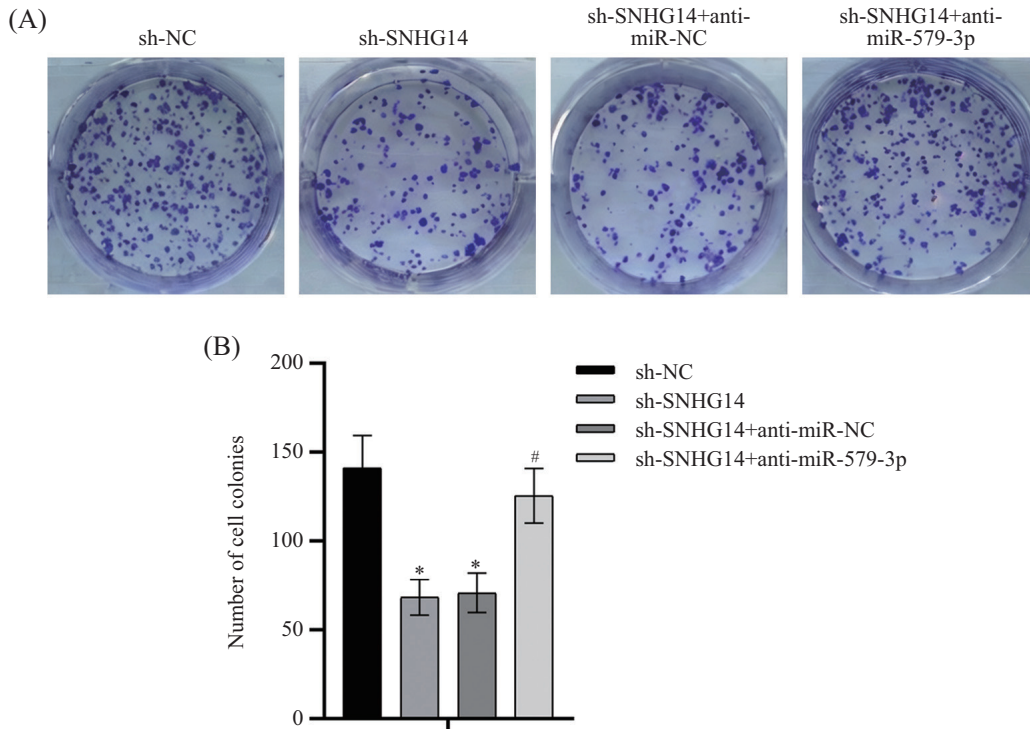
如图7所示, 与 sh-NC 组比较, sh-SNHG14 组细胞划痕愈合率显著降低 ($P < 0.05$); 与 sh-SNHG14+anti-miR-NC 组比较, sh-SNHG14+anti-miR-579-3p 组细胞划痕愈合率显著升高 ($P < 0.05$)。

2.8 各组细胞侵袭能力比较

如图8所示, 与 sh-NC 组比较, sh-SNHG14 组细胞侵袭数显著降低 ($P < 0.05$); 与 sh-SNHG14+anti-miR-NC 组比较, sh-SNHG14+anti-miR-579-3p 组细胞侵袭数显著增加 ($P < 0.05$)。

2.9 各组细胞 KIF18B、cleaved caspase-3、N-cadherin 和 E-cadherin 蛋白表达量检测

如图9所示, 与 sh-NC 组比较, sh-SNHG14 组细

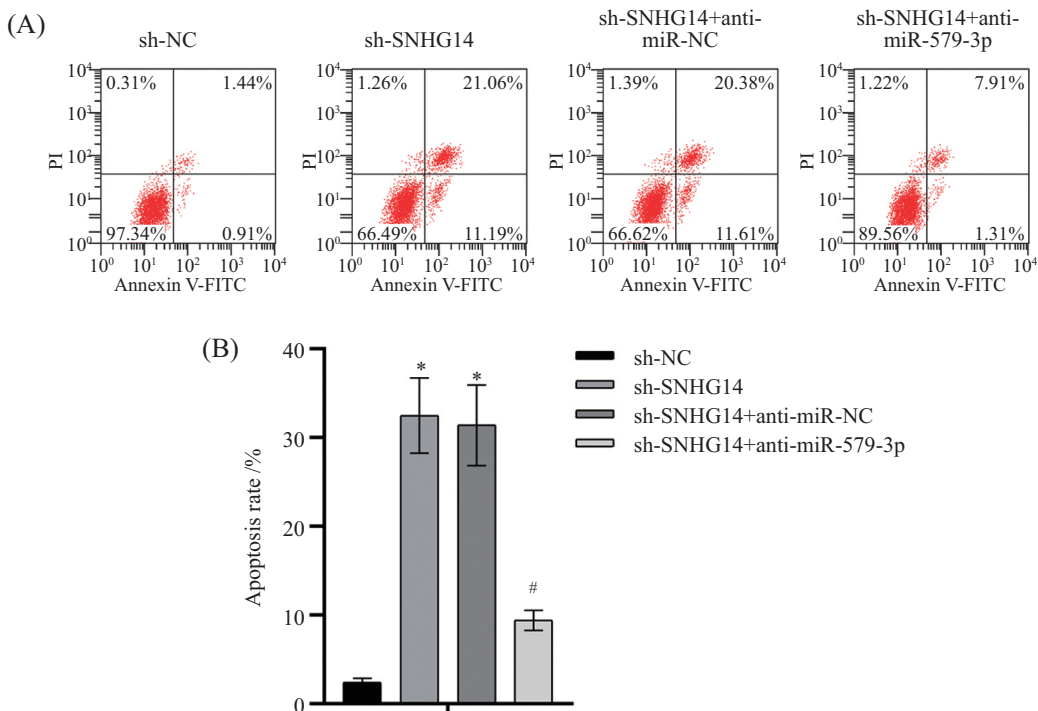


A: 克隆形成实验; B: 各组细胞克隆数比较。* $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; # $P < 0.05$, 与sh-SNHG14+anti-miR-NC组相比。 $\bar{x} \pm s, n=6$ 。

A: colony formation assay; B: comparison of colony number in each group. * $P < 0.05$ compared with the sh-NC group; # $P < 0.05$ compared with the sh-SNHG14+anti-miR-NC group. $\bar{x} \pm s, n=6$.

图5 克隆形成实验及各组细胞克隆数比较

Fig.5 Colony formation assay and comparison of colony number in each group

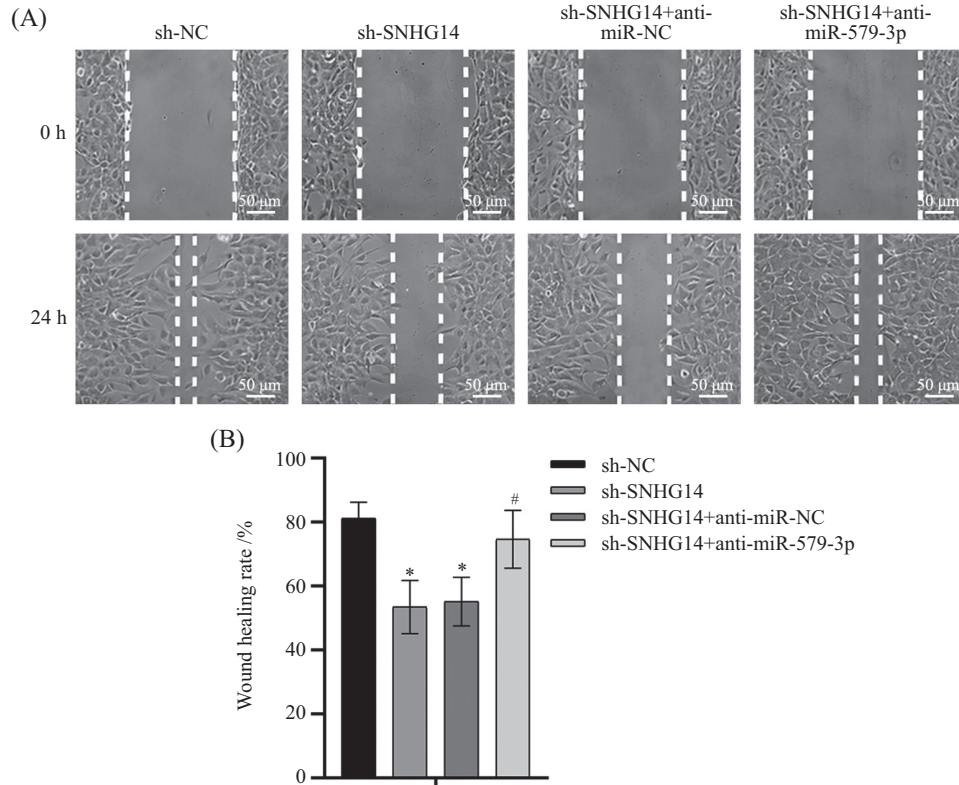


A: 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况; B: 各组细胞凋亡率比较。* $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; # $P < 0.05$, 与sh-SNHG14+anti-miR-NC组相比。 $\bar{x} \pm s, n=6$ 。

A: detection of cell apoptosis in each group by flow cytometry; B: comparison of apoptosis rates among groups. * $P < 0.05$ compared with the sh-NC group; # $P < 0.05$ compared with the sh-SNHG14+anti-miR-NC group. $\bar{x} \pm s, n=6$.

图6 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况及各组细胞凋亡率比较

Fig.6 Detection of cell apoptosis by flow cytometry and comparison of apoptosis rate in each group

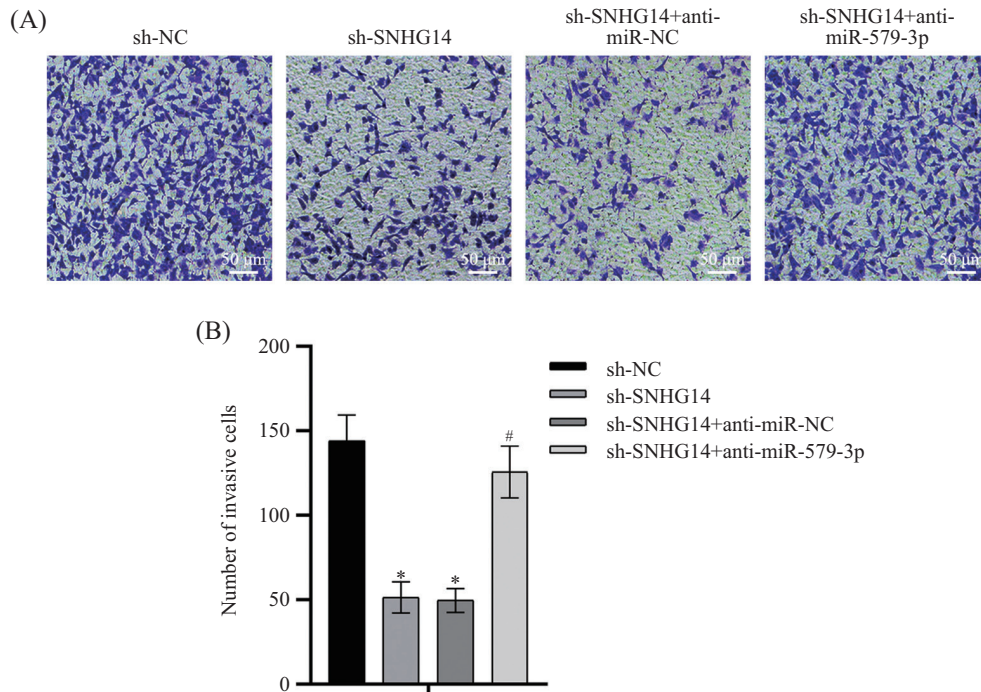


A: 划痕实验检测细胞迁移能力; B: 各组划痕愈合率比较。* $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; # $P < 0.05$, 与sh-SNHG14+anti-miR-NC组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n = 6$ 。

A: detection of cell migration ability by wound healing assay; B: comparison of wound healing rates among groups. * $P < 0.05$ compared with the sh-NC group; # $P < 0.05$ compared with the sh-SNHG14+anti-miR-NC group. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

图7 划痕实验检测细胞迁移能力及各组划痕愈合率比较

Fig.7 Detection of cell migration ability by wound healing assay and comparison of wound healing rate in each group

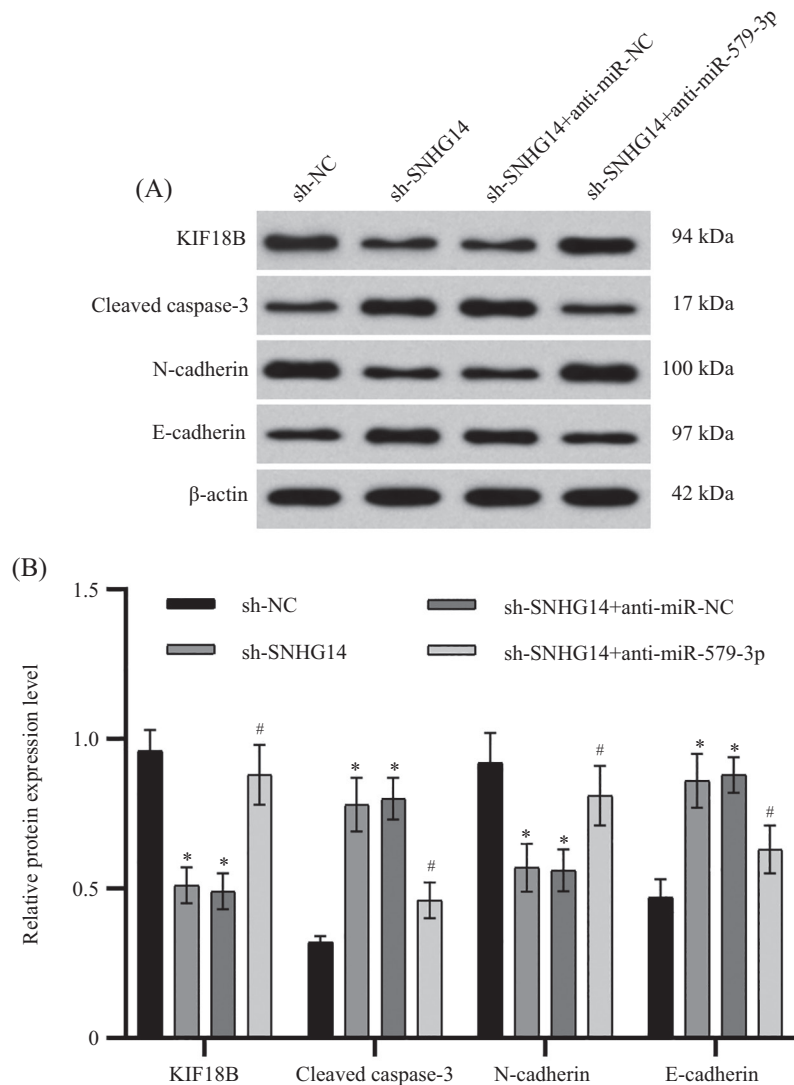


A: Transwell小室法检测细胞侵袭能力; B: 各组细胞侵袭数比较。* $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; # $P < 0.05$, 与sh-SNHG14+anti-miR-NC组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n = 6$ 。

A: detection of cell invasion ability by Transwell assay; B: comparison of invasive cell numbers among groups. * $P < 0.05$ compared with the sh-NC group; # $P < 0.05$ compared with the sh-SNHG14+anti-miR-NC group. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

图8 Transwell小室法检测细胞侵袭能力及各组细胞侵袭数比较

Fig.8 Detection of cell invasion ability by Transwell assay and comparison of invasive cell number in each group



A: Western blot实验检测KIF18B、cleaved caspase-3、N-cadherin和E-cadherin蛋白表达情况; B: 各组蛋白表达量比较。* $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; # $P < 0.05$, 与sh-SNHG14+anti-miR-NC组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

A: Western blot detection of KIF18B, cleaved caspase-3, N-cadherin, and E-cadherin protein expression; B: comparison of protein expression levels among groups. * $P < 0.05$ compared with the sh-NC group; # $P < 0.05$ compared with the sh-SNHG14+anti-miR-NC group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

图9 KIF18B、cleaved caspase-3、N-cadherin和E-cadherin蛋白表达量检测及各组蛋白表达量比较

Fig.9 Detection of KIF18B, cleaved caspase-3, N-cadherin, and E-cadherin protein expression and comparison of protein expression levels in each group

胞KIF18B和N-cadherin蛋白表达量显著降低, E-cadherin和cleaved caspase-3蛋白表达量显著升高($P < 0.05$); 与sh-SNHG14+anti-miR-NC组比较, sh-SNHG14+anti-miR-579-3p组细胞KIF18B和N-cadherin蛋白表达量增加, E-cadherin和cleaved caspase-3蛋白表达量降低($P < 0.05$)。

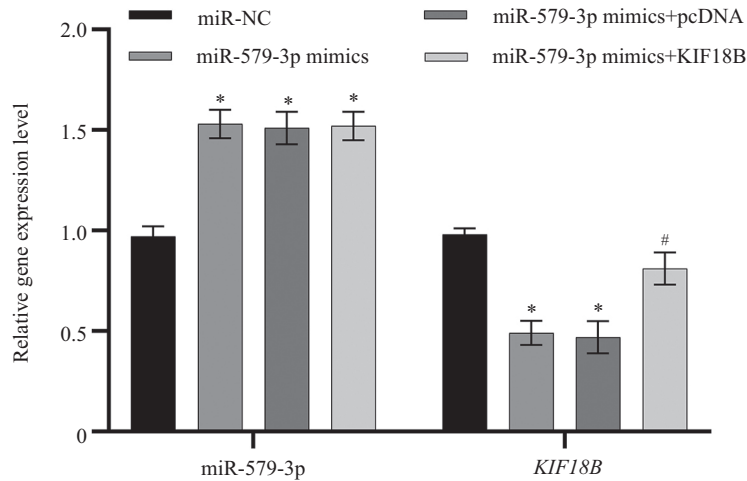
2.10 各组细胞miR-579-3p和KIF18B mRNA表达水平比较

如图10所示, 与miR-NC组比较, miR-579-3p mimics组细胞miR-579-3p表达水平显著升高,

KIF18B mRNA水平显著降低($P < 0.05$); 与miR-579-3p mimics+pcDNA组比较, miR-579-3p mimics+KIF18B组细胞KIF18B mRNA水平显著升高($P < 0.05$)。

2.11 miR-579-3p与lncRNA SNHG14、KIF18B的靶向关系验证

如图11所示, miR-579-3p与lncRNA SNHG14、KIF18B之间分别存在互补结合位点。如表2所示, 与miR-NC+SNHG14-WT组比较, miR-579-3p mimics+SNHG14-WT组荧光素酶活性较显著降低($P < 0.05$); 与miR-NC+KIF18B-WT组比较, miR-579-

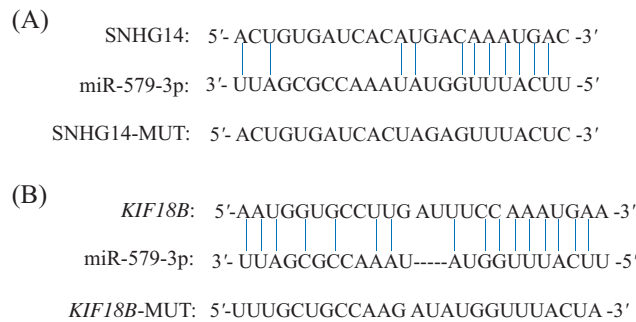


* $P < 0.05$, 与miR-NC组相比; # $P < 0.05$, 与miR-579-3p mimics+pcDNA组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

* $P < 0.05$ compared with the miR-NC group; # $P < 0.05$ compared with the miR-579-3p mimics+pcDNA group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

图10 各组细胞miR-579-3p和KIF18B mRNA表达量比较

Fig.10 Comparison of miR-579-3p and KIF18B mRNA expression levels in each group



A: miR-579-3p与lncRNA SNHG14的结合位点; B: miR-579-3p与KIF18B的结合位点。

A: binding sites of miR-579-3p with lncRNA SNHG14; B: binding sites of miR-579-3p with KIF18B.

图11 miR-579-3p与lncRNA SNHG14、miR-579-3p与KIF18B的结合位点

Fig.11 Binding sites of miR-579-3p with lncRNA SNHG14, and miR-579-3p with KIF18B

表2 各组荧光素酶活性比较

Table 2 Comparison of relative luciferase activity in each group

| 组别 Groups | SNHG14-WT | SNHG14-MUT | KIF18B-WT | KIF18B-MUT |
|-------------------|------------|------------|------------|------------|
| miR-NC | 1.01±0.05 | 0.96±0.05 | 1.00±0.01 | 0.98±0.03 |
| miR-579-3p mimics | 0.47±0.07* | 0.98±0.03 | 0.44±0.06# | 0.99±0.04 |

* $P < 0.05$, 与miR-NC+SNHG14-WT组相比; # $P < 0.05$, 与miR-NC+KIF18B-WT组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

* $P < 0.05$ compared with the miR-NC+SNHG14-WT group; # $P < 0.05$ compared with the miR-NC+KIF18B-WT group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

3p mimics+KIF18B-WT组荧光素酶活性显著降低 ($P < 0.05$)。

3 讨论

GC是常见的高度恶性肿瘤之一, 尽管近年来诊断工具和抗肿瘤药物得到快速发展, 但GC患者的生存时间并没有明显延长; 此外由于缺乏有效的早期

检测癌症的生物标志物, 患者往往在癌症晚期才被确诊, 这大大提升了患者的死亡率^[11]。因此有必要为GC的早期诊断和治疗寻找有效的生物标志物。

目前越来越多的研究显示, lncRNA可作为多种癌症的生物标志物且参与多种肿瘤的发生发展过程^[12-13]。据报道, lncRNA SNHG14参与了多种癌症(如结直肠癌、乳腺癌等)的恶性发展^[14-15]。

SANG等^[16]的研究指出lncRNA SNHG14通过海绵化miR-206促进甲状腺癌细胞的增殖和侵袭。目前已有研究表明lncRNA SNHG14在GC组织及细胞中高表达^[5],然而其在GC中的作用和机制尚不明确。GC的发生和转移涉及多种细胞生物学过程,其中癌细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭是核心环节。在GC中,凋亡失调可导致癌细胞逃避细胞周期监测和死亡信号,从而加速肿瘤的生长与发展^[17]。癌细胞的迁移和侵袭是GC恶化的主要病理活动,而EMT等过程可增强癌细胞的迁移和侵袭能力^[18]。本研究发现lncRNA SNHG14在GC癌组织及细胞系中高表达,提示lncRNA SNHG14可作为GC的标志物。进一步实验显示沉默lncRNA SNHG14的表达可抑制细胞的增殖、迁移、侵袭,促进细胞凋亡。以上结果表明,lncRNA SNHG14可促进GC的进展,提示其可作为潜在的预后生物标志物。

lncRNA能够作为miRNA的分子海绵,通过发挥竞争性内源性RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)的作用,减轻miRNA对其靶基因的抑制作用,调节癌症的发展^[19]。LIN等^[20]的研究表明,lncRNA SNHG14可通过海绵化miR-206调节SRY盒转录因子9(SRY-box transcription factor 9, SOX9)的表达,从而促进肝细胞癌细胞的恶性生物学行为。lncRNA SNHG14通过海绵化miR-543和调节Kruppel样因子7(Kruppel-like factor 7, KLF7)表达加速乳腺癌进展^[21]。miR-579-3p在多种癌症中表达失调,并通过调控靶基因的表达影响癌细胞的生物学功能^[22]。李培莉等^[23]的研究指出miR-579-3p在宫颈癌细胞中低表达,过表达miR-579-3p可通过抑制角鲨烯环氧酶(squalene epoxidase, SQLE)基因的表达抑制宫颈癌细胞的增殖和侵袭。lncRNA HCG11通过海绵化miR-579-3p和介导鼠双微粒体基因2(murine double minute 2, MDM2)的表达促进胰腺癌细胞的增殖、侵袭等恶性生物学行为^[24]。目前尚不明确miR-579-3p在GC中的表达情况,且其上游调控网络仍有待深入探究。本研究显示miR-579-3p是lncRNA SNHG14的靶标且miR-579-3p在GC组织及细胞系中表达下调,提示miR-579-3p可能作为抑癌因子参与GC的发展。进一步通过细胞转染实验发现,沉默SNHG14可显著上调MGC-803细胞中miR-579-3p的表达水平,而抑制miR-579-3p表达可逆转沉默SNHG14对GC细胞增

殖、迁移、侵袭等恶性生物学行为的抑制作用,表明SNHG14可能通过海绵化miR-579-3p参与GC细胞恶性行为的调控。

KIF18B是驱动蛋白超家族的重要成员,研究表明KIF18B在呼吸系统、泌尿系统和消化系统等多种组织来源的癌症中均存在过表达,并发挥促进肿瘤恶性进展的作用^[25]。此外,相关文献显示KIF18B的高表达与不良预后密切相关,且KIF18B可通过调节EMT促进GC进展^[9]。GAN等^[26]研究显示KIF18B的表达上调可降低GC细胞的化疗敏感性,并增强GC细胞的增殖、迁移和侵袭能力。而KIF18B的表达受到上游特定miRNA的转录后调控。在GC细胞中,一些miRNA(如miR-139-3p)可通过与KIF18B mRNA的3'UTR结合,负向调控其表达水平,进而影响癌细胞的恶性生物学行为^[27]。本研究结果显示KIF18B是miR-579-3p的靶点,KIF18B在GC组织及细胞系中高表达,其表达趋势与以往研究一致^[28]。沉默lncRNA SNHG14后,miR-579-3p表达上调、KIF18B表达下调,MGC-803细胞恶性生物学行为受到抑制。以上研究进一步表明沉默lncRNA SNHG14表达可通过上调miR-579-3p的表达靶向抑制KIF18B的表达,从而抑制GC细胞的恶性生物学进展。

综上所述,lncRNA SNHG14在GC组织及细胞中异常高表达,沉默lncRNA SNHG14可通过靶向调控miR-579-3p/KIF18B轴抑制MGC-803细胞的恶性生物学行为。lncRNA SNHG14/miR-579-3p/KIF18B轴可能为GC诊断、治疗及预后评估提供潜在分子靶点。但本研究仍存在不足之处,首先,所有功能验证仅在MGC-803细胞中进行,未能在其他GC细胞系中重复验证,这可能限制结论的普适性;其次,本研究为体外细胞实验,后续需通过动物实验进一步证实lncRNA SNHG14/miR-579-3p/KIF18B轴在GC发生发展中的调控作用。

参考文献 (References)

- [1] YANG W J, ZHAO H P, YU Y, et al. Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(16): 2452-68.
- [2] ALSINA M, ARRAZUBI V, DIEZ M, et al. Current developments in gastric cancer: from molecular profiling to treatment strategy [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(3): 155-70.
- [3] WANG X Y, YANG P, ZHANG D S, et al. lncRNA SNHG14 promotes cell proliferation and invasion in colorectal cancer through modulating miR-519b-3p/DDX5 axis [J]. J Cancer,

- 2021, 12(16): 4958-70.
- [4] LIAO Z B, ZHANG H W, SU C, et al. Long noncoding RNA SNHG14 promotes hepatocellular carcinoma progression by regulating miR-876-5p/SSR2 axis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021 40(1): 36-47.
- [5] 渠辉恒, 王宁, 陈义钢, 等. 长链非编码RNA SNHG14可能通过促进胃癌细胞增殖和转移影响胃癌的进展[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*(QU H H, WANG N, CHEN Y G, et al. The role of long non-coding RNA SNHG14 in proliferation, invasion and migration of gastric cancer [J]. *Journal of Nanjing Medical University, Natural Sciences*), 2020, 40(1): 50-5.
- [6] BARBIER R H, MCCREA E M, LEE K Y, et al. Abiraterone induces SLC10B3 expression in prostate cancer via microRNA-579-3p [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 10765-75.
- [7] QIAN C J, TONG Y Y, WANG Y C, et al. Circ_0001093 promotes glutamine metabolism and cancer progression of esophageal squamous cell carcinoma by targeting miR-579-3p/glutaminase axis [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2022, 54(2): 119-34.
- [8] QIAN C J, ZHOU Y X, WU L K, et al. Circ_0000182 promotes cholesterol synthesis and proliferation of stomach adenocarcinoma cells by targeting miR-579-3p/SQLE axis [J]. *Discov Oncol*, 2023, 14(1): 22-38.
- [9] ISHIKAWA A, YASUMATSU R, FUKUI T, et al. Kinesin family member B18 is related to gastric mucin phenotype and contributes to gastric cancer progression by regulating epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncology*, 2024, 102(4): 354-65.
- [10] KE H L, WU S L, ZHANG Y Y, et al. miR-139-3p/Kinesin family member 18B axis suppresses malignant progression of gastric cancer [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(2): 4528-36.
- [11] GUAN W L, HE Y, XU R H. Gastric cancer treatment: recent progress and future perspectives [J]. *J Hematol Oncol*, 2023, 16(1): 57-84.
- [12] MCCABE E M, RASMUSSEN T P. LncRNA involvement in cancer stem cell function and epithelial-mesenchymal transitions [J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 75(1): 38-48.
- [13] ZHU Y X, HUANG C M, 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): 8141-59.
- [14] DONG H Y, YANG C C, CHEN X, et al. Breast cancer-derived exosomal lncRNA SNHG14 induces normal fibroblast activation to cancer-associated fibroblasts via the EBF1/FAM171A1 axis [J]. *Breast Cancer*, 2023, 30(6): 1028-40.
- [15] SHEN M M, SU Y, SONG S B, et al. SNHG14 facilitates cell proliferation in colorectal cancer through targeting KRAS via Hippo-YAP signaling [J]. *Cell Mol Biol*, 2023, 69(3): 64-8.
- [16] SANG Y M, MIN R, HUANG T, et al. Biological functions of LncRNA SNHG14 in the development of thyroid cancer cells via targeting miR-206 [J]. *Cell Mol Biol*, 2024, 70(4): 77-84.
- [17] HUANG H, SHI J G, CHEN W, et al. Rutin suppresses the malignant biological behavior of gastric cancer cells through the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Discov Oncol*, 2024, 15(1): 407-16.
- [18] DENG L, ZOU J, SU Y F, et al. Resveratrol inhibits TGF- β 1-induced EMT in gastric cancer cells through Hippo-YAP signaling pathway [J]. *Clin Transl Oncol*, 2022, 24(11): 2210-21.
- [19] DENG C C, PENG J Z, YUAN C, et al. Comprehensive analysis to construct a novel immune-related prognostic panel in aging-related gastric cancer based on the lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA network [J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10(1): 1-18.
- [20] LIN R X, ZHAN G F, WU J C, et al. LncRNA SNHG14 sponges miR-206 to affect proliferation, apoptosis, and metastasis of hepatocellular carcinoma cells by regulating SOX9 [J]. *Dig Dis Sci*, 2022, 67(3): 936-46.
- [21] ZHANG D P, DING X, PENG M R. LncRNA SNHG14 accelerates breast cancer progression through sponging miR-543 and regulating KLF7 expression [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2022, 305(6): 1507-16.
- [22] YU X Z, ZHANG Y, LUO F M, et al. The role of microRNAs in the gastric cancer tumor microenvironment [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 170-95.
- [23] 李培莉, 文丽芳. miR-579-3p靶向角鲨烯单加氧酶调节铁死亡对宫颈癌HeLa细胞的恶性行为研究[J]. *中国临床药理学杂志* (LI P L, WEN L F. Research of miR-579-3p targeting squalene epoxidase to regulate ferroptosis on malignant behavior of cervical cancer HeLa cells [J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*), 2023, 39(13): 1894-8.
- [24] XU J, XU W X, YANG X, et al. LncRNA HCG11/miR-579-3p/MDM2 axis modulates malignant biological properties in pancreatic carcinoma via Notch/Hes1 signaling pathway [J]. *Aging*, 2021, 13(12): 16471-84.
- [25] CHEN S C, YU B, DU G T, et al. KIF18B: an important role in signaling pathways and a potential resistant target in tumor development [J]. *Discov Oncol*, 2024, 15(1): 430-40.
- [26] GAN L H, YAO L, YAN J H, et al. Differential expression of KIF18B in gastric cancer and its role in chemotherapy sensitivity [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2024, 34(3): 37-48.
- [27] KE H L, WU S L, ZHANG Y Y, et al. miR-139-3p/Kinesin family member 18B axis suppresses malignant progression of gastric cancer [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(2): 4528-36.
- [28] 李怡君, 王雨, 原姗姗, 等. KIF18B在胃癌细胞增殖、迁移中的作用及机制研究[J]. *医学分子生物学杂志* (LI Y J, WANG Y, YUAN S S. et al. Role of KIF18B in proliferation and migration of gastric cancer cells [J]. *Journal of Medical Molecular Biology*), 2022, 19(1): 62-7.