



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240537
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.240537
China Journal of General Surgery, 2025, 34(6):1209-1218.

· 基础研究 ·

长链非编码 RNA FGD5-AS1 调控 miR-142-3p/PDK1 信号轴在胃癌中的作用及机制

李华志, 孙海涛, 曹广, 张雅静

(首都医科大学附属北京安贞医院 普通外科, 北京 100029)

摘要

背景与目的: 研究显示, 长链非编码 RNA (lncRNA) FGD5-AS1 在胃癌 (GC) 中发挥致癌基因的作用。笔者前期通过生物信息学分析发现, FGD5-AS1 与微小 RNA-142-3p (miR-142-3p)、miR-142-3p 与丙酮酸脱氢酶激酶 1 (PDK1) 之间存在结合位点。因此, 本研究探讨 FGD5-AS1 靶向 miR-142-3p/PDK1 对 GC 细胞中的表达及作用。

方法: 利用双荧光素酶报告基因实验验证 FGD5-AS1 与 miR-142-3p、miR-142-3p 与 PDK1 之间的靶向关系。采用 qRT-PCR 检测 GC 组织中 FGD5-AS1、miR-142-3p 和 PDK1 的表达水平。构建 sh-FGD5-AS1 干扰体系及 miR-142-3p 抑制模型, 分别或联合转染 GC 细胞系 BGC823, 观察细胞增殖 (CCK8、EdU)、凋亡 (流式细胞术)、迁移与侵袭 (Transwell) 等生物学行为及相关蛋白表达 (Western blot)。通过裸鼠皮下成瘤实验检测 FGD5-AS1 对 GC 移植瘤生长的影响。

结果: 双荧光素酶报告基因实验显示, miR-142-3p mimic 可明显降低 FGD5-AS1 和 PDK1 野生型 (WT) 报告基因的荧光活性 (均 $P < 0.05$), 而对突变型 (MUT) 无影响, 证实 FGD5-AS1 与 miR-142-3p、miR-142-3p 与 PDK1 之间存在直接结合关系。敲除 FGD5-AS1 后, GC 细胞中 miR-142-3p 表达上调, PDK1 表达下调, 细胞增殖、迁移、侵袭能力减弱, 凋亡增强, 上述变化可被 miR-142-3p 抑制剂逆转 (均 $P < 0.05$)。动物实验显示敲除 FGD5-AS1 可明显抑制裸鼠移植瘤的生长及移植瘤组织中 Ki-67、PDK1 表达 (均 $P < 0.05$)。

结论: FGD5-AS1 可能通过 ceRNA 机制靶向吸附 miR-142-3p, 从而解除对 PDK1 的抑制, 促进 GC 细胞的增殖与侵袭, 并加速肿瘤生长。FGD5-AS1/miR-142-3p/PDK1 轴在 GC 发生发展中发挥关键作用, 或可作为潜在的诊疗靶点。

关键词

胃肿瘤; RNA, 长链非编码; 微 RNAs; 丙酮酸脱氢酶激酶 1; 肿瘤浸润

中图分类号: R735.2

The function and mechanism of long non-coding RNA FGD5-AS1 in regulating the miR-142-3p/PDK1 signaling axis in gastric cancer

LI Huazhi, SUN Haitao, CAO Guang, ZHANG Yajing

(Department of General Surgery, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China)

Abstract

Background and Aims: Studies have shown that the long non-coding RNA (lncRNA) FGD5-AS1

收稿日期: 2024-10-16; 修订日期: 2025-06-17。

作者简介: 李华志, 首都医科大学附属北京安贞医院主治医师, 主要从事腹腔镜胃肠手术、肝脏手术相关方面的研究。

通信作者: 曹广, Email: lhzltt0429@163.com

functions as an oncogene in gastric cancer (GC). Our previous bioinformatics analysis revealed potential binding sites between FGD5-AS1 and microRNA-142-3p (miR-142-3p), as well as between miR-142-3p and pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1). Therefore, this study aimed to investigate the expression and functional role of the FGD5-AS1/miR-142-3p/PDK1 axis in GC cells.

Methods: Dual-luciferase reporter assays were used to verify the targeting relationships between FGD5-AS1 and miR-142-3p, and between miR-142-3p and PDK1. qRT-PCR was conducted to measure the expression levels of FGD5-AS1, miR-142-3p, and PDK1 in GC tissues. A knockdown model of FGD5-AS1 (sh-FGD5-AS1) and an miR-142-3p inhibitor were constructed and transfected, alone or in combination, into BGC823 GC cells. Cellular behaviors, including proliferation (CCK8, EdU), apoptosis (flow cytometry), migration, and invasion (Transwell assays), were assessed, along with related protein expression (Western blot). A subcutaneous xenograft model in nude mice was used to evaluate the effect of FGD5-AS1 on tumor growth in vivo.

Results: The dual-luciferase assays demonstrated that miR-142-3p mimics significantly reduced the luciferase activity of wild-type (WT) FGD5-AS1 and PDK1 reporters (both $P<0.05$), but had no effect on mutant (MUT) reporters, confirming a direct binding relationship. Knockdown of FGD5-AS1 led to upregulation of miR-142-3p and downregulation of PDK1 in GC cells, with reduced proliferation, migration, and invasion, and enhanced apoptosis (all $P<0.05$); these effects were reversed by the miR-142-3p inhibitor. In vivo, FGD5-AS1 knockdown significantly inhibited tumor growth in nude mice and decreased Ki-67 and PDK1 expression in tumor tissues (all $P<0.05$).

Conclusion: FGD5-AS1 may act as a ceRNA that sponges miR-142-3p, thereby relieving its suppression on PDK1, and promoting GC cell proliferation and invasion as well as tumor progression. The FGD5-AS1/miR-142-3p/PDK1 axis plays a critical role in the development of GC and may serve as a potential therapeutic target.

Key words

Stomach Neoplasms; RNA, Long Noncoding; MicroRNAs; Pyruvate Dehydrogenase Kinase 1; Neoplasm Invasiveness

CLC number: R735.2

胃癌 (gastric cancer, GC) 是世界上消化道恶性肿瘤的第二大病因, 超过 70% 的 GC 新发和死亡病例发生在发展中国家, 其中中国约占全球 GC 新发病例的 42%^[1-2]。虽然近几十年来手术技术、免疫治疗、分子靶向治疗等领域取得了一定的进展, 但由于对 GC 发生的细胞和分子水平的具体机制知之甚少^[3], 治疗效果仍不佳。因此, 阐明 GC 发病的分子机制, 寻找有希望、有效的 GC 诊断和治疗靶点具有重要意义。近年来, 长链非编码 RNA (lncRNA) 被广泛报道为竞争内源性 RNA (ceRNA), ceRNA 可以通过结合微小 RNA (miRNA) 反应元件调控 miRNA 引起的基因沉默, 与 GC 在内的许多肿瘤的发展和癌变有关^[4-5]。在众多 lncRNA 中, FGD5-AS1 因其对肿瘤发生和发展的影响引起了广泛的关注, 研究发现 lncRNA FGD5-AS1 在 GC、口腔癌、肝细胞癌等多种癌症中表达

上调^[6]。miRNA 海绵是 lncRNA 在调节癌症发展中的关键, 相关研究显示 miR-142-3p 在 GC 中表达下调^[7]。丙酮酸脱氢酶激酶 1 (PDK1) 是一种重要的糖酵解酶, 可以磷酸化和灭活丙酮酸脱氢酶, 从而抑制丙酮酸氧化且已被发现与癌细胞的增殖、转移和化疗耐药密切相关^[8]。笔者前期通过生物信息学研究发现, FGD5-AS1 与 miR-142-3p、miR-142-3p 与 PDK1 之间存在结合位点。因此, 本研究探讨 FGD5-AS1 靶向 miR-142-3p/PDK1 对 GC 细胞中的表达及作用, 以期对 GC 的治疗提供新靶点和策略。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

BALB/c 裸鼠[许可证号: SCXK (鄂) 2022-0013, 武汉生物制品研究所有限责任公司]; BGC823 细胞

(货号: SHC782, 南京赛泓瑞生物科技有限公司); M-MLV-RTase 试剂盒 (货号: CYZ-C15021, 艾美捷科技有限公司); 总 RNA 提取试剂盒 (货号: QPE-011, 上海吉玛制药技术有限公司); qRT-PCR 试剂盒 (货号: T427, 广州英赞生物科技有限公司); CCK-8 细胞增殖及毒性检测试剂盒 (货号: R2740, 北京康瑞纳生物科技有限公司); EdU 细胞增殖检测试剂盒 (货号: C10338, 广州市锐博生物科技有限公司); Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒 (货号: APOAF, 上海益启生物科技有限公司); 双荧光素酶报告基因检测试剂盒 (货号: GM-040502, 上海吉满生物科技有限公司); GAPDH、PDK1、Ki-67、PCNA、cleaved caspase-3、MMP-9、HRP (货号: ab128915、ab202468、ab16667、ab92552、ab32042、ab228402、ab6721, 英国 Abcam 公司); 引物由上海经科化学科技有限公司合成; qRT-PCR (型号: ABI 2720, 美国 ABI 公司); 倒置显微镜 (型号: Revolve, 广州德瑞科仪科技有限公司); 流式细胞仪 (型号: Navios EX, 上海贝克

曼库尔特国际贸易有限公司)。

1.2 临床样本

收集 30 例在首都医科大学附属北京安贞医院进行手术治疗的 GC 患者 (2023 年 9 月—2024 年 6 月) 的癌组织样本和癌旁组织标本。经本院伦理委员会批准。

1.3 方法

1.3.1 双荧光素酶报告基因实验 将含 miR-142-3p 结合位点的 FGD5-AS1 和 PDK1 野生型 (WT) 和突变型 (MUT) 的报告基因质粒克隆到 pmiRGLO 载体, 分别与 mimic-NC 和 miR-142-3p mimic 共转染到 BGC823 细胞中, 转染 24 h 后, 用荧光素酶报告基因检测系统检测荧光素酶活性。

1.3.2 qRT-PCR 法检测 FGD5-AS1、miR-142-3p、PDK1 mRNA 的表达 利用 RNA 提取试剂盒 GC 组织和癌旁组织总 RNA, 验证 RNA 纯度后, 利用 M-MLV-RTase 试剂盒逆转录 cDNA, lncRNA FGD5-AS1、PDK1 以 GAPDH 作为内参, miR-142-3p 以 U6 作为内参, 进行 qRT-PCR, 据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 mRNA 的表达。引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequences

基因	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
FGD5-AS1	GAA GGG CCG AAG AGC TCA AT	GGC TCG CAA AGT GTC TGT TG
miR-142-3p	AGC GTG TAG TGT TTC CTA CTT	GTT GTG GTT GGT TGG TTT GT
PDK1	AAG CAG TTC CTG GAC TTC GG	TCT TGC AGG CCA TAC AGC AT
U6	GCT GGA CTC TAG GGT GCA AG	GAG CAT ACC AGG TGG TAG TAG
GAPDH	GAA GGT GAA GGT CGG AGT CA	AAT GAA GGG GTC ATT GAT GG

1.3.3 细胞转染 将 BGC823 细胞随机分为空白对照组 (正常培养)、sh-NC 组 (转染 sh-阴性对照)、sh-FGD5-AS1 组 (转染 sh-FGD5-AS1)、sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC 组 (转染 sh-FGD5-AS1+inhibitor-阴性对照)、sh-FGD5-AS1+miR-142-3p inhibitor 组 (转染 sh-FGD5-AS1+miR-142-3p inhibitor)。每组实验重复 3 次, 每次 2 个平行。

1.3.4 CCK8 法和 EdU 染色检测 BGC823 细胞增殖
CCK8 法: 将 5×10^3 个/孔 BGC823 细胞接种于含有 10% FBS 的完整培养基的 96 孔板中, 悬浮细胞贴壁 8 h 后, 加入 10 μ L CCK8 试剂 (10%) 的 CCK8 溶液孵育 40 min, 用酶标仪检测 450 nm 处 OD 值, 该值表示细胞的增殖情况。EdU 染色法: 将 6×10^3 个/孔 BGC823 细胞接种于 96 孔板, 培养过夜,

每孔细胞在含有 50 μ mol EdU 的 100 μ L 培养基中孵育 2 h, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 0.5% Triton X-100 的 PBS 清洗 10 min, 并用 100 μ L Apollo 染色缓冲液在黑暗中染色, 样品在荧光显微镜下成像。

1.3.5 流式细胞仪检测对 BGC823 细胞凋亡 收集处理后的 BGC823 细胞, 重悬于 200 μ L 结合缓冲液中, 用 10 μ L Annexin V-FITC 和 5 μ L PI 在室温下黑暗处理 15 min, 加入 300 μ L 结合缓冲液后, 流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.3.6 Transwell 实验检测 BGC823 细胞迁移和侵袭 为了进行侵袭试验, 在 Transwell 上室中添加培养基之前, 先用 100 μ L Matrigel 基质胶涂 30 min, 转染后的 BGC823 细胞以 1×10^6 个/mL 在无血清培养基中重悬, 上室加 100 μ L 细胞悬浮培养基, 下腔加

含血清培养基 600 μ L, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 孵育 24 h 后, 用 4% 多聚甲醛固定细胞, 0.1% 结晶紫染色, 通过滤光片的细胞用倒置荧光显微镜拍照和计数。

1.3.7 Western blot 检测 BGC823 细胞中 PDK1、PCNA、cleaved caspase-3、MMP-9 蛋白的表达 RIPA 裂解法提取 BGC823 细胞总蛋白, 蛋白浓度检测采用 BCA 法, 等量的蛋白质按照常规方法用 SDS-PAGE 凝胶分离, 将蛋白质从凝胶转移到 PVDF 膜上, 然后 PVDF 膜在 5% BSA-TBST 中室温封闭 2 h, 加入 GAPDH (1: 10 000)、PDK1 (1: 2 000)、PCNA (1: 1 000)、cleaved caspase-3 (1: 500)、MMP-9 (1: 1 000) 一抗在 4 $^{\circ}$ C 下过夜, 用 TBST 洗涤 10 min, 重复 3 次, 室温下接种二抗 (1: 2 000) 1 h, 再次洗涤后, 用超灵敏 ECL 试剂盒对膜进行显像, 根据 ImageJ 测试的条带强度计算蛋白表达水平。

1.3.8 动物实验 4 周龄 BALB/c 雄性裸鼠 (20 \pm 0.4) g 置于 SPF 条件下培养, 获得稳定转染的 sh-FGD5-AS1 (sh-FGD5-AS1 组) 和 sh-NC (sh-NC 组) BGC823 细胞, 皮下注射 0.1 mL 1×10^6 个细胞, 28 d 后异氟醚麻醉小鼠并处死, 切除肿瘤, 测量肿瘤重量和体积。本实验通过本院动物委员会批准。

1.3.9 免疫组化法检测裸鼠 GC 肿瘤组织 Ki-67、PDK1 蛋白的表达 GC 肿瘤组织用 10% 福尔马林溶液固定, 二甲苯脱蜡, 梯度乙醇复水化, 室温孵

育 10 min, 加入 0.01 mol/L 柠檬酸盐后, 经微波提取抗原 20 min, 并与正常山羊血清在室温下孵育 5 min, 组织与 PDK1 (1: 1 000)、Ki-67 (1: 250) 一抗在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。然后, 将组织与二抗 (1: 1 000) 在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 30 min, 用 DAB 培养 1~2 min, 用苏木精反染观察。

1.4 统计学处理

数据用 SPSS 25.0 分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较行 SNK-*q* 检验, 两组间比较行独立样本 *t* 检验进行。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FGD5-AS1 和 miR-142-3p、miR-142-3p 和 PDK1 的靶向关系分析

笔者前期使用 Starbase 网站分析显示, FGD5-AS1 与 miR-142-3p、miR-142-3p 和 PDK1 之间存在结合位点 (图 1)。本研究中, 进一步采用双荧光素酶报告基因实验验证, 结果显示, 在转染 FGD5-AS1-WT 和转染 PDK1-WT 的 BGC823 细胞中, miR-142-3p mimic 组的荧光素酶活性降低 (均 P<0.05) (表 2)。

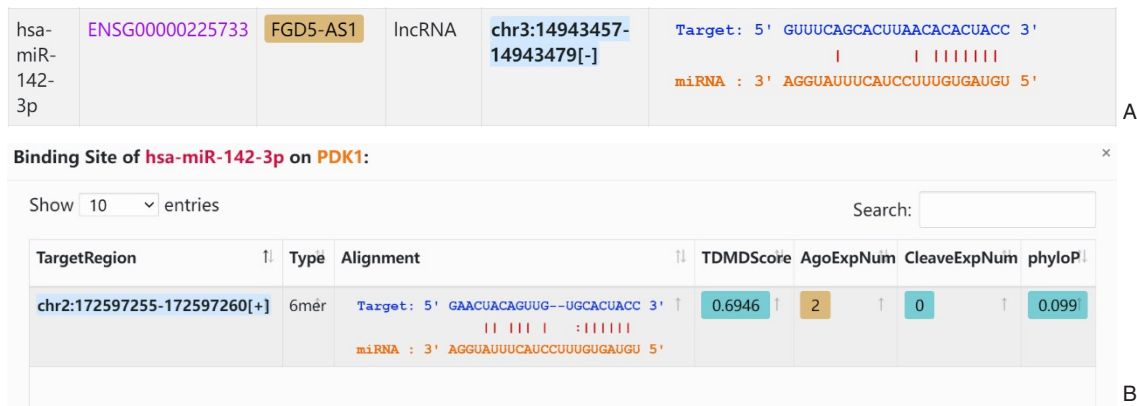


图1 Starbase网站分析结果 A: FGD5-AS1与miR-142-3p的结合位点; B: miR-142-3p与PDK1的结合位点

Figure 1 StarBase website analysis results A: Binding sites between FGD5-AS1 and miR-142-3p; B: Binding sites between miR-142-3p and PDK1

表2 双荧光素酶活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of dual-luciferase activity ($\bar{x} \pm s$)

组别	FGD5-AS1-WT	FGD5-AS1-MUT	PDK1-WT	PDK1-MUT
mimic-NC组	1.00 \pm 0.16	1.05 \pm 0.32	1.00 \pm 0.14	0.99 \pm 0.31
miR-142-3p mimic组	0.46 \pm 0.13 ¹⁾	1.02 \pm 0.31	0.53 \pm 0.10 ¹⁾	1.06 \pm 0.34

注: 1) 与 mimic-NC 组比较, P<0.05

Note: 1) P<0.05 vs. the mimic-NC group

2.2 GC 组织中 FGD5-AS1、miR-142-3p、PDK1 的表达

30 例临床样本中,与癌旁组织比较,GC 组织 FGD5-AS1、PDK1 表达明显升高,miR-142-3p 表达明显降低(均 $P < 0.05$)(图 2)。

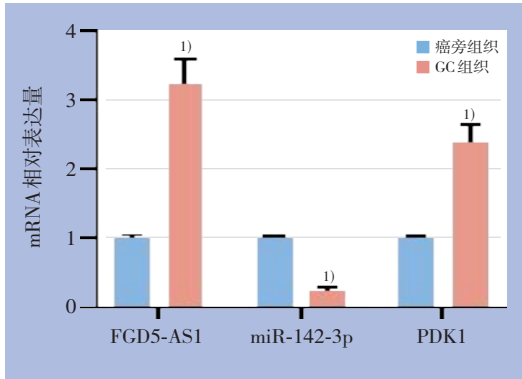


图 2 qRT-PCR 检测临床标本中 FGD5-AS1、miR-142-3p、PDK1 的表达 注: 1) 与癌旁组织比较, $P < 0.05$
 Figure 2 qRT-PCR analysis of FGD5-AS1, miR-142-3p, and PDK1 expression in clinical specimens
 Note: 1) $P < 0.05$ vs. the adjacent tissue

2.3 各组 BGC823 细胞中 FGD5-AS1、miR-142-3p、PDK1 mRNA 的表达情况

sh-FGD5-AS1 组 FGD5-AS1、PDK1 mRNA 低于 sh-NC 组、空白对照组,miR-142-3p 表达高于 sh-NC 组、空白对照组(均 $P < 0.05$);与 sh-FGD5-AS1 组、sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC 组相比,sh-FGD5-AS1+miR-142-3p inhibitor 组 miR-142-3p 表达降低,PDK1 mRNA

表达升高(均 $P < 0.05$)(图 3)。

2.4 各组 BGC823 细胞的增殖情况

sh-FGD5-AS1 组 OD₄₅₀ 值、EdU 阳性细胞率均明显低于 sh-NC 组、空白对照组(均 $P < 0.05$);与 sh-FGD5-AS1 组、sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC 组比较,sh-FGD5-AS1+miR-142-3p inhibitor 组 BGC823 细胞的 OD₄₅₀ 值、EdU 阳性细胞率均明显升高(均 $P < 0.05$)(图 4)。

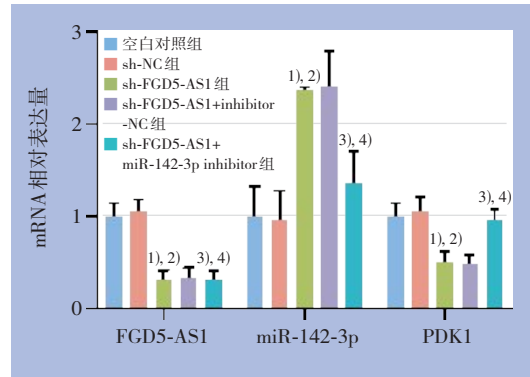


图 3 各组 BGC823 细胞中 FGD5-AS1、miR-142-3p、PDK1 的 mRNA 表达比较 注: 1) 与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 sh-NC 组比较, $P < 0.05$; 3) 与 sh-FGD5-AS1 组比较, $P < 0.05$; 4) 与 sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC 组比较, $P < 0.05$
 Figure 3 Comparison of FGD5-AS1, miR-142-3p, and PDK1 mRNA expression in BGC823 cells across groups
 Note: 1) $P < 0.05$ vs. the blank control group; 2) $P < 0.05$ vs. the sh-NC group; 3) $P < 0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1 group; 4) $P < 0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC group

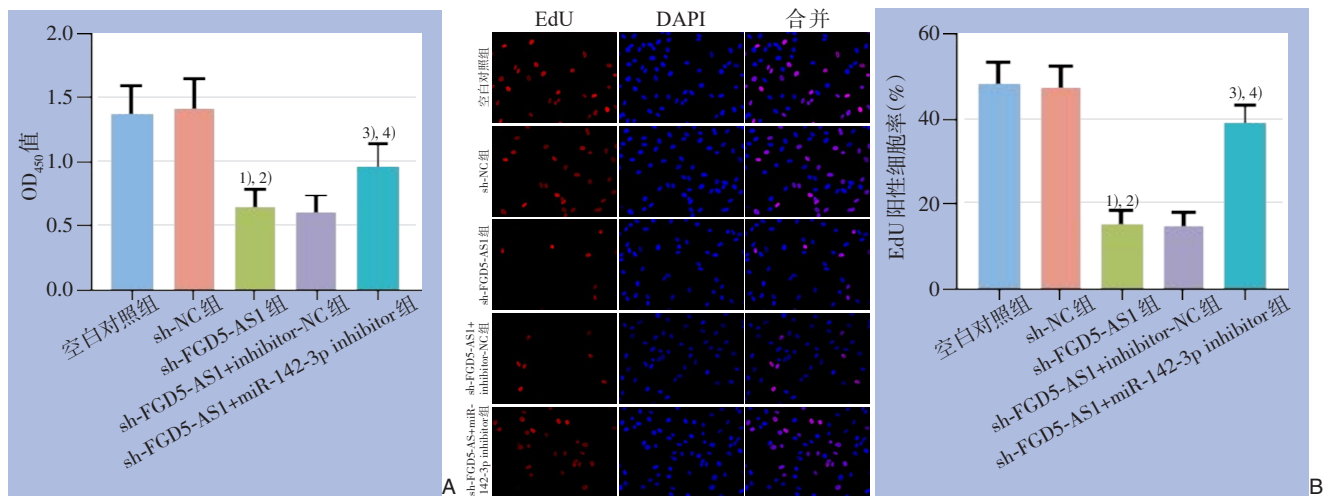


图 4 细胞增殖检测 A: CCK8 法; B: EdU 染色法 ($\times 400$) 注: 1) 与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 sh-NC 组比较, $P < 0.05$; 3) 与 sh-FGD5-AS1 组比较, $P < 0.05$; 4) 与 sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC 组比较, $P < 0.05$
 Figure 4 Cell proliferation assays A: CCK-8 assay; B: EdU staining ($\times 400$) Note: 1) $P < 0.05$ vs. the blank control group; 2) $P < 0.05$ vs. the sh-NC group; 3) $P < 0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1 group; 4) $P < 0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC group

2.5 各组BGC823细胞的凋亡情况

sh-FGD5-AS1组凋亡率高于sh-NC组、空白对照组(均 $P<0.05$);与sh-FGD5-AS1组、sh-FGD5-

AS1+inhibitor-NC组相比,sh-FGD5-AS1+miR-142-3p inhibitor组凋亡率均降低(均 $P<0.05$)(图5)。

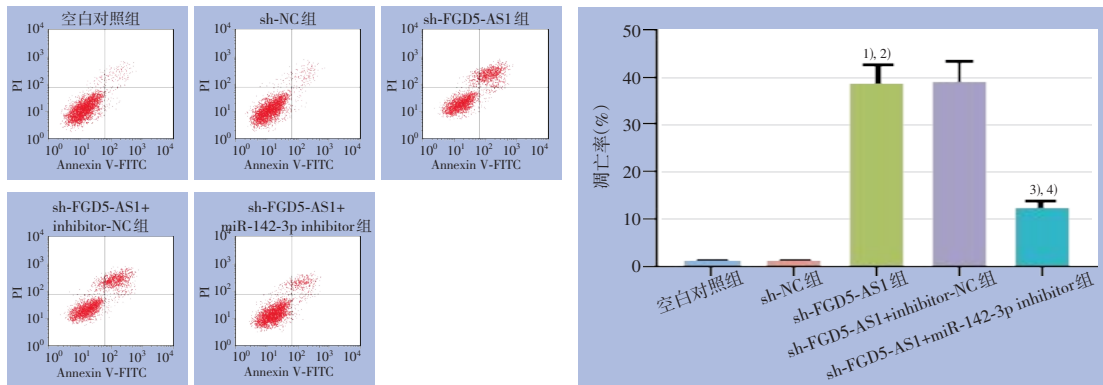


图5 流式细胞术检测各组BGC823细胞凋亡 注: 1) 与空白对照组比较, $P<0.05$; 2) 与sh-NC组比较, $P<0.05$; 3) 与sh-FGD5-AS1组比较, $P<0.05$; 4) 与sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC组比较, $P<0.05$

Figure 5 Flow cytometry analysis of apoptosis in BGC823 cells from each group Note: 1) $P<0.05$ vs. the blank control group; 2) $P<0.05$ vs. the sh-NC group; 3) $P<0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1 group; 4) $P<0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC group

2.6 各组BGC823细胞迁移、侵袭能力

sh-FGD5-AS1组迁移数、侵袭数明显低于sh-NC组、空白对照组(均 $P<0.05$);与sh-FGD5-AS1组、

sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC组比较,sh-FGD5-AS1+miR-142-3p inhibitor组迁移数、侵袭数均明显升高(均 $P<0.05$)(图6)。

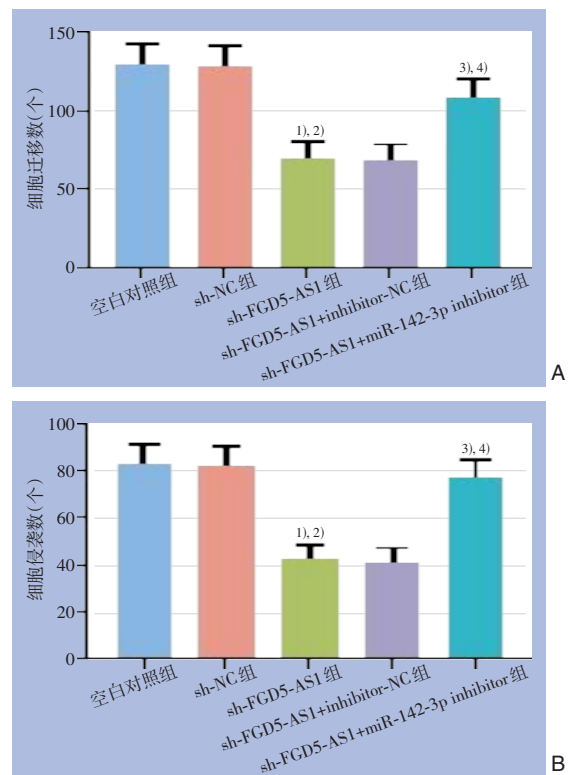
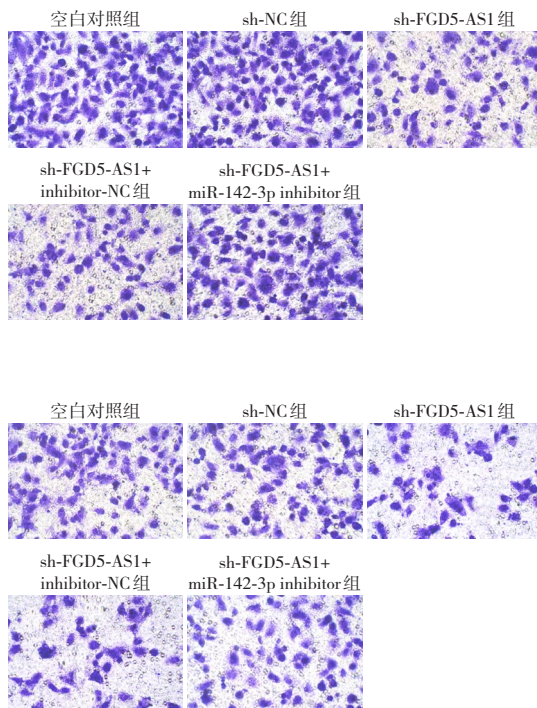


图6 Transwell实验(结晶紫染色, $\times 400$) A: 细胞迁移检测; B: 细胞侵袭检测 注: 1) 与空白对照组比较, $P<0.05$; 2) 与sh-NC组比较, $P<0.05$; 3) 与sh-FGD5-AS1组比较, $P<0.05$; 4) 与sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC组比较, $P<0.05$

Figure 6 Transwell assay (crystal violet staining, $\times 400$) A: Cell migration assay; B: Cell invasion assay Note: 1) $P<0.05$ vs. the blank control group; 2) $P<0.05$ vs. the sh-NC group; 3) $P<0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1 group; 4) $P<0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC group

2.7 各组 BGC823 细胞中 PDK1、PCNA、cleaved caspase-3、MMP-9 蛋白表达

sh-FGD5-AS1 组 PDK1、PCNA、MMP-9 蛋白表达低于 sh-NC 组、空白对照组, cleaved caspase-3 蛋白表达高于 sh-NC 组、空白对照组 (均 $P < 0.05$); 与 sh-FGD5-AS1 组、sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC 组比较, sh-FGD5-AS1+miR-142-3p inhibitor 组 PDK1、

PCNA、MMP-9 蛋白表达升高, cleaved caspase-3 蛋白表达降低 (均 $P < 0.05$) (图 7)。

2.8 敲除 FGD5-AS1 对裸鼠移植瘤生长的影响

与 sh-NC 组比较, sh-FGD5-AS1 组移植瘤体积、质量、Ki-67 阳性率、PDK1 阳性率均明显降低 (均 $P < 0.05$) (图 8-9)。

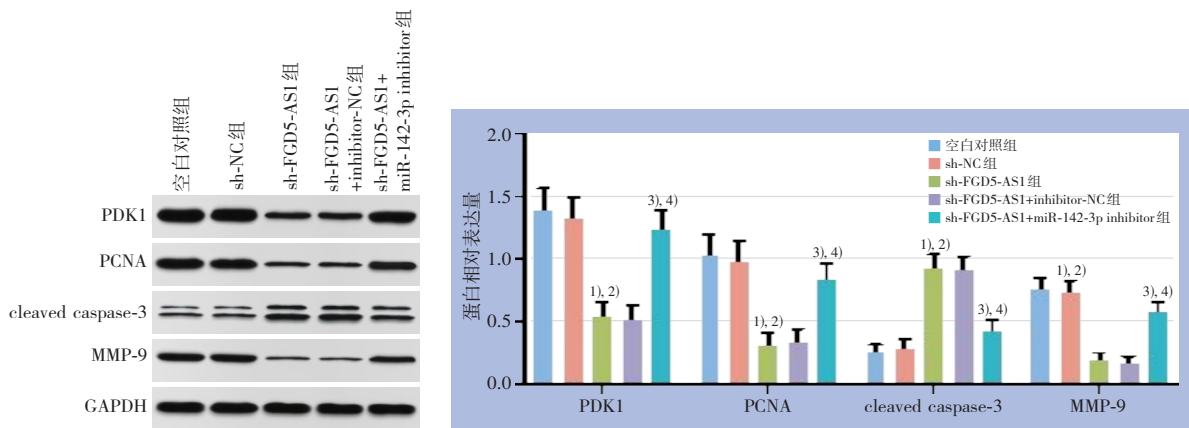


图 7 Western blot 检测各组 BGC823 细胞中相关蛋白表达 注: 1) 与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 sh-NC 组比较, $P < 0.05$; 3) 与 sh-FGD5-AS1 组比较, $P < 0.05$; 4) 与 sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC 组比较, $P < 0.05$

Figure 7 Western blot analysis of relevant protein expression in BGC823 cells from each group Note: 1) $P < 0.05$ vs. the blank control group; 2) $P < 0.05$ vs. the sh-NC group; 3) $P < 0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1 group; 4) $P < 0.05$ vs. the sh-FGD5-AS1+inhibitor-NC group

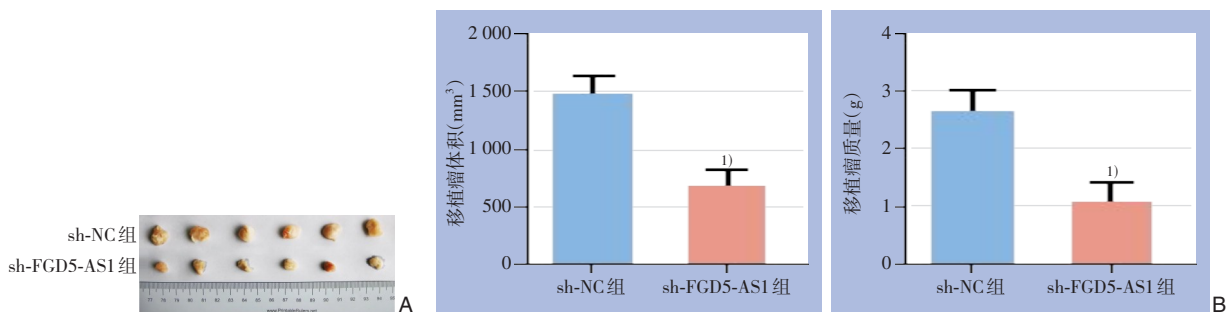


图 8 两组小鼠移植瘤情况比较 A: 移植瘤大体标本; B: 移植瘤体积与质量比较 注: 1) 与 sh-NC 组比较, $P < 0.05$

Figure 8 Comparison of xenograft tumors between the two groups A: Gross specimens of xenograft tumors; B: Comparison of tumor volume and weight Note: 1) $P < 0.05$ vs. the sh-NC group

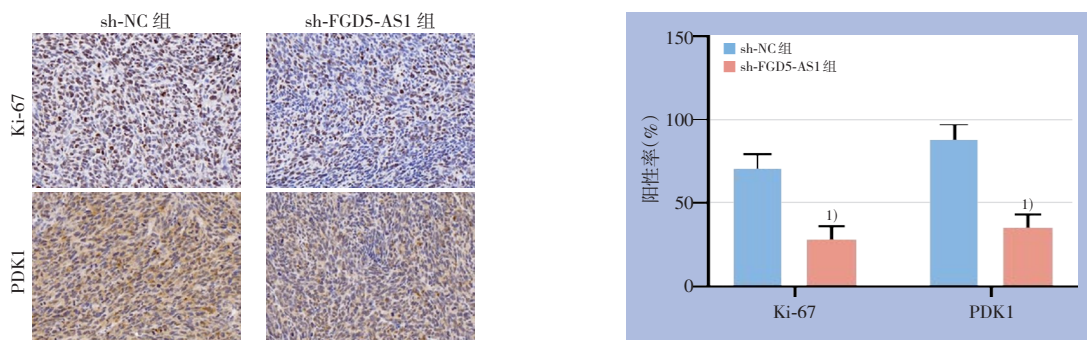


图 9 免疫组化检测移植瘤组织中 Ki-67、PDK1 蛋白表达 (DAB 染色, $\times 200$) 注: 1) 与 sh-NC 组比较, $P < 0.05$

Figure 9 Immunohistochemical detection of Ki-67 and PDK1 protein expression in xenograft tumor tissues (DAB staining, $\times 200$) Note: 1) $P < 0.05$ vs. the sh-NC group

3 讨论

GC是一种异质性疾病,由表观遗传改变的逐渐积累诱发,导致致癌和抗癌途径不平衡^[9]。尽管在过去几年中GC的诊断和治疗取得了实质性进展,但GC患者的病死率仍然很高,特别是在疾病晚期或转移的患者中。晚期胃部肿瘤经常转移到身体的邻近甚至远处器官,如肝脏、肺、骨骼或淋巴结,从而给GC患者带来预后不良和治疗选择有限的负担^[10]。大多数癌症的死亡原因不是原发肿瘤,而是肿瘤转移,约90%的癌症相关死亡是由肿瘤转移引起的^[11]。GC细胞的恶性生物行为,如增殖、侵袭、转移的分子机制促进了GC的进展,分子靶向治疗被认为是GC最有前途的治疗方法之一,然而,治疗GC的挑战不仅包括肿瘤的转移和复发,还包括不确定和非特异性的治疗靶点^[12]。因此,寻找GC的有效治疗靶点可能为GC的精准治疗提供丰富的理论依据。

lncRNA参与调控细胞的增殖、转移、分化、炎症、血管生成在多种癌症的进展中发挥重要作用^[13]。研究^[14]发现,FGD5-AS1在宫颈癌中高表达,FGD5-AS1通过靶向下游miRNA/mRNA轴促进宫颈癌细胞的恶性生物学行为和化疗耐药性。此外,研究^[15]表明,lncRNA FGD5-AS1在胰腺癌中高表达,其过表达过靶向下游miRNA/mRNA轴促进胰腺癌细胞的增殖、迁移。提示FGD5-AS1在多种癌症中发挥促癌基因的作用,且其机制可能是介导miRNA/mRNA信号通路实现的。此外,多项研究发现FGD5-AS1通过调控miRNA/mRNA信号通路参与GC的进展^[16]。Feng等^[17]发现,FGD5-AS1在GC组织中高表达,且FGD5-AS1高表达的GC患者发生淋巴转移或远处转移的风险高于表达水平低的GC患者,预后较差,FGD5-AS1通过靶向负调控FZD3促进GC的增殖和转移。Qin等^[18]发现,FGD5-AS1过表达与GC淋巴结转移相关,并预示GC患者生存期较差,FGD5-AS1过表达通过结合和稳定YBX1蛋白抑制细胞衰老和活性氧产生,从而促进GC进展。Gao等^[19]发现,GC细胞系和人肿瘤样本均显示FGD5-AS1异常上调,FGD5-AS1通过调控miR-153-3p/CITED2信号通路,促进GC细胞的增殖、化疗耐药性和体内致瘤性。本研究发现敲除FGD5-AS1可以抑制GC细胞的增殖、迁移,促进细胞凋亡,抑制GC移植瘤的生长,提示FGD5-AS1通过在

体外促进GC细胞的恶性生物学行为,在体内促进移植瘤生长,促进GC的进展。

miRNA可通过直接结合靶基因的3'UTR来抑制靶基因的生物学功能,参与了广泛的生物学过程,可以调节GC的进展和化疗耐药性^[20-21]。Dong等^[22]发现,miR-142-3p可以抑制宫颈癌细胞的增殖,是通过负向调节HMGB1的胞质定位实现的。Ma等^[23]发现,miR-142-3p在三阴性乳腺癌中低表达,LINC00689通过负调控miR-142-3p促进USP6NL的表达,促进三阴性乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭和上皮-间充质转化,抑制细胞的凋亡。Cui等^[24]发现,miR-142-3p在肝细胞癌中低表达,lncRNA lnc712通过靶向miR-142-3p/Bach-1轴促进肝细胞癌细胞增殖、迁移、侵袭和细胞周期,从而抑制肝细胞癌的生长。提示miR-142-3p在多种癌症中发挥抑癌基因的作用,并受上游lncRNA的调控,并可以调控下游mRNA,进而参与调控癌症的进展。Wang等^[25]发现,GC组织中miR-142-3p低表达,miR-142-3p可下调CCNT2抑制GC细胞的增殖、侵袭和迁移。Ma等^[26]发现,miR-142-3p通过靶向丝裂原活化蛋白激酶复合1抑制烟曲霉激活的CD4 T细胞中IFN- γ 的生成,进而抑制GC的疾病。本研究发现FGD5-AS1与miR-142-3p之间存在结合位点,抑制miR-142-3p可以逆转敲除FGD5-AS1对GC细胞恶性生物学行为的抑制作用,提示FGD5-AS1可能通过海绵化miR-142-3p促进GC的进展。

大多数癌细胞主要通过高速率的糖酵解产生能量,随后是乳酸发酵,即使在充足的氧气存在下,PDK1是一种通过磷酸化和灭活丙酮酸脱氢酶复合物负责有氧糖酵解的酶,在多种肿瘤中高表达^[27]。You等^[28]发现,SDC2过表达激活了GC中Akt信号通路,其机制是通过SDC2与PDK1-ph结构域相互作用,从而促进PDK1膜易位促进Akt活化,促进GC的进展。Ba等^[29]发现,PDK1在转移性GC组织中表达上调,lncRNA AC093818.1通过表观遗传促进PDK1表达,在体外和体内促进GC的迁移和侵袭。Guo等^[30]发现,MeCP2通过与启动子区的CpG位点结合来提高PDK-1的表达,调节GC细胞中顺铂的耐药性。本研究发现,miR-142-3p与PDK1之间存在结合位点,据此推测FGD5-AS1可能通过海绵化miR-142-3p上调PDK1的表达,抑制GC细胞的增殖、侵袭,促进细胞凋亡,抑制GC裸鼠移植瘤生长,可能作为GC的潜在治疗靶点。

综上所述,敲除 FGD5-AS1 可以抑制 GC 细胞的增殖、侵袭,促进细胞凋亡,抑制 GC 裸鼠移植瘤生长,其机制可能是靶向 miR-142-3p/PDK1 信号轴实现的 FGD5-AS1/miR-142-3p/PDK1 信号通路可能作为 GC 的潜在治疗靶点。然而,本研究局限于 FGD5-AS1/miR-142-3p/PDK1 信号通路,后续会关注更多靶点,深入研究。

作者贡献声明:李华志负责酝酿和设计实验、实施研究、分析/解释数据,起草文章;孙海涛负责获取研究经费,统计分析、行政、技术或材料支持;曹广负责文章内容作批评性审阅;张雅静负责指导、支持性贡献。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Zhao Z, Zhu L, Xing Y, et al. Praja2 suppresses the growth of gastric cancer by ubiquitylation of KSR1 and inhibiting MEK-ERK signal pathways[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(3):3886-3897. doi:10.18632/aging.202356.
- [2] Liu-Burdowski J, Park J. Treatment of early gastric cancer[J]. *Surg Clin N Am*, 2025, 105(1):55-63. doi:10.1016/j.suc.2024.06.006.
- [3] Fan H, Ge Y, Ma X, et al. Long non-coding RNA CCDC144NL-AS1 sponges miR-143-3p and regulates MAP3K7 by acting as a competing endogenous RNA in gastric cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7):521. doi:10.1038/s41419-020-02740-2.
- [4] Shi C, Yang Q, Pan S, et al. LncRNA OIP5-AS1 promotes cell proliferation and migration and induces angiogenesis via regulating miR-3163/VEGFA in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2020, 21(7):604-614. doi:10.1080/15384047.2020.1738908.
- [5] 陈巍,韩峥,黄莎莎,等.长链非编码RNA NEAT1调控 miR-124-3p/CTNBN1轴对胰腺癌细胞生物学功能的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2025, 34(3):495-505. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.230365.
Chen W, Han Z, Huang SS, et al. Long noncoding RNA NEAT1 regulates the miR-124-3p/CTNBN1 axis to affect the biological functions of pancreatic cancer cells[J]. *China Journal of General Surgery*, 2025, 34(3):495-505. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.230365.
- [6] Liu L, Zhang C, Wang J, et al. A high level of lncFGD5-AS1 inhibits epithelial-to-Mesenchymal transition by regulating the miR-196a-5p/SMAD6/BMP axis in gastric Cancer[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1):453. doi:10.1186/s12885-021-08192-x.
- [7] Cheng Z, Liu G, Huang C, et al. Upregulation of circRNA_100395 sponges miR-142-3p to inhibit gastric cancer progression by targeting the PI3K/AKT axis[J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(5):419. doi:10.3892/ol.2021.12680.
- [8] Qian Y, Wu X, Wang H, et al. microRNA-4290 suppresses PDK1-mediated glycolysis to enhance the sensitivity of gastric cancer cell to cisplatin[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2020, 53(5):e9330. doi:10.1590/1414-431X20209330.
- [9] Yasuda T, Wang YA. Gastric cancer immunosuppressive microenvironment heterogeneity: implications for therapy development[J]. *Trends Cancer*, 2024, 10(7):627-642. doi:10.1016/j.trecan.2024.03.008.
- [10] 王虔,贾廷印,彭朝阳,等. SOX2-OT/miR-409-3p/ANXA2轴对胃癌细胞功能的调控及其作用机制[J]. *中国普通外科杂志*, 2025, 34(4):708-718. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240090.
Wang Q, Jia TY, Peng CY, et al. The regulatory effect of the SOX2-OT/miR-409-3p/ANXA2 axis on gastric cancer cell functions and its mechanism[J]. *China Journal of General Surgery*, 2025, 34(4):708-718. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240090.
- [11] Zhang G, Gao Z, Guo X, et al. CAP2 promotes gastric cancer metastasis by mediating the interaction between tumor cells and tumor-associated macrophages[J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(21):e166224. doi:10.1172/JCI166224.
- [12] Xu L, Chen X, Jiang H, et al. NDUFC1 is upregulated in gastric cancer and regulates cell proliferation, apoptosis, cycle and migration[J]. *Front Oncol*, 2021, 11:09044. doi:10.3389/fonc.2021.709044.
- [13] Yang H, Hu Y, Weng M, et al. Hypoxia inducible lncRNA-CBSLR modulates ferroptosis through m6A-YTHDF2-dependent modulation of CBS in gastric cancer[J]. *J Adv Res*, 2021, 37:91-106. doi:10.1016/j.jare.2021.10.001.
- [14] Xia Z, Zhang L, Zhou H, et al. LncRNA-FGD5-AS1 promotes 5-Fu resistance of cervical cancer cells through modulating the miR-130a-3p-YTHDF2 axis[J]. *J Chemother*, 2024, 1-13. doi:10.1080/1120009X.2024.2436803.
- [15] Lin J, Liao S, Liu Z, et al. LncRNA FGD5-AS1 accelerates cell proliferation in pancreatic cancer by regulating miR-520a-3p/KIAA1522 axis[J]. *Cancer Biol Ther*, 2021, 22(3):257-266. doi:10.1080/15384047.2021.1883184.
- [16] Tong KH, Qian J. Long non-coding RNA FGD5-AS1 is an inducer of cisplatin chemoresistance in gastric cancer cells by sponging miR-195[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2021, 35(2):819-826. doi:10.23812/20-667-L.
- [17] Feng L, Zheng H, Zhang H, et al. LncRNA FGD5-AS1 drives the malignant development of gastric cancer by negatively interacting with FZD3[J]. *Pol J Pathol*, 2022, 73(1):72-79. doi:10.5114/

- pjp.2022.117179.
- [18] Qin S, Liu Y, Zhang X, et al. lncRNA FGD5-AS1 is required for gastric cancer proliferation by inhibiting cell senescence and ROS production via stabilizing YBX1[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1):188. doi:10.1186/s13046-024-03103-x.
- [19] Gao Y, Xie M, Guo Y, et al. Long non-coding RNA FGD5-AS1 regulates cancer cell proliferation and chemoresistance in gastric cancer through miR-153-3p/CITED2 axis[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 715. doi:10.3389/fgene.2020.00715.
- [20] Peng Z, Fang W, Wu B, et al. Targeting Smurf1 to block PDK1-Akt signaling in KRAS-mutated colorectal cancer[J]. *Nat Chem Biol*, 2025, 21(1):59-70. doi:10.1038/s41589-024-01683-5.
- [21] So JBY, Kapoor R, Zhu F, et al. Development and validation of a serum microRNA biomarker panel for detecting gastric cancer in a high-risk population[J]. *Gut*, 2021, 70(5): 829-837. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322065.
- [22] Dong H, Song J. miR-142-3p reduces the viability of human cervical cancer cells by negatively regulating the cytoplasmic localization of HMGB1[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(3):212. doi: 10.3892/etm.2021.9644.
- [23] Ma T, Liu H, Liu Y, et al. USP6NL mediated by LINC00689/miR-142-3p promotes the development of triple-negative breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 998. doi: 10.1186/s12885-020-07394-z.
- [24] Cui D, Ni CF. LncRNA Lnc712 promotes tumorigenesis in hepatocellular carcinoma by targeting miR-142-3p/bach-1 axis[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 11285-11294. doi: 10.2147/CMAR.S254950.
- [25] Wang Y, Cao Z, Wang L, et al. Downregulation of microRNA-142-3p and its tumor suppressor role in gastric cancer[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5):8172-8180. doi:10.3892/ol.2018.8330.
- [26] Ma N, Wei T, Wang B, et al. microRNA-142-3p inhibits IFN- γ production via targeting of RICTOR in *Aspergillus fumigatus* activated CD4⁺ T cells[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(22): 649. doi: 10.21037/atm.2019.10.85.
- [27] Jin L, Kim EY, Chung TW, et al. Hemistepsin A suppresses colorectal cancer growth through inhibiting pyruvate dehydrogenase kinase activity[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):21940. doi: 10.1038/s41598-020-79019-1.
- [28] You L, Dou Y, Zhang Y, et al. SDC2 stabilization by USP14 promotes gastric cancer progression through co-option of PDK1[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(11):3483-3498. doi:10.7150/ijbs.84331.
- [29] Ba MC, Ba Z, Long H, et al. LncRNA AC093818.1 accelerates gastric cancer metastasis by epigenetically promoting PDK1 expression[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(1):64. doi:10.1038/s41419-020-2245-2.
- [30] Guo B, Cai S, Li W, et al. Increase in cisplatin resistance by MeCP2 in human gastric cancer through the activation of the AKT pathway by facilitating PDK-1 transcription[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2022, 22(5): 414-425. doi: 10.2174/1568009622666220223115216.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式:李华志,孙海涛,曹广,等.长链非编码RNA FGD5-AS1调控miR-142-3p/PDK1信号轴在胃癌中的作用及机制[J].中国普通外科杂志, 2025, 34(6): 1209-1218. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.240537

Cite this article as: Li HZ, Sun HT, Cao G, et al. The function and mechanism of long non-coding RNA FGD5-AS1 in regulating the miR-142-3p/PDK1 signaling axis in gastric cancer[J]. *Chin J Gen Surg*, 2025, 34(6):1209-1218. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240537