



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240090
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.240090
China Journal of General Surgery, 2025, 34(4):708-718.

· 基础研究 ·

SOX2-OT/miR-409-3p/ANXA2轴对胃癌细胞功能的调控及其作用机制

王虔, 贾廷印, 彭朝阳, 李永坤

(南阳医学高等专科学校第一附属医院 普通外科三病区, 河南 南阳 473000)

摘要

背景与目的: 长链非编码SOX2-OT (SRY-盒转录因子2重叠转录本) 可参与调控癌细胞周期、细胞增殖等过程。此外, 生物信息学分析发现 miR-409-3p 与SOX2-OT和膜联蛋白A2 (ANXA2) 存在结合位点。因此, 本研究探讨SOX2-OT/miR-409-3p/ANXA2轴在胃癌细胞中的表达及作用。

方法: 用qRT-PCR检测胃癌组织与胃癌细胞中SOX2-OT、miR-409-3p和ANXA2 mRNA的表达。将胃癌细胞分别转染SOX2-OT shRNA质粒 (sh-SOX2-OT)、共转染sh-SOX2-OT和miR-409-3p抑制物、共转染sh-SOX2-OT和ANXA2过表达质粒, 并设空白对照、shRNA阴性质粒对照、抑制物阴性质粒对照和过表达质粒阴性对照, 随后检测各组细胞SOX2-OT、miR-409-3p和ANXA2 mRNA表达, 细胞增殖与细胞迁移/侵袭能力, 细胞凋亡情况, 以及增殖标志物Ki-67、活化的半胱天冬酶-3 (cleaved caspase-3)、Bcl-2关联X蛋白 (Bax)、基质金属蛋白酶9 (MMP-9)、ANXA2蛋白的表达。用双荧光素酶报告基因实验验证miR-409-3p、SOX2-OT、ANXA2之间的靶向关系。裸鼠移植瘤实验检测SOX2-OT对胃癌肿瘤生长的影响。

结果: 胃癌组织 (vs. 癌旁组织) 与胃癌细胞 (vs. 正常胃上皮细胞) 中SOX2-OT和ANXA2表达明显升高, miR-409-3p表达明显降低 (均 $P < 0.05$)。转染sh-SOX2-OT后, 胃癌细胞中SOX2-OT和ANXA2 mRNA表达明显降低, miR-409-3p表达明显升高 (均 $P < 0.05$)；增殖与迁移/侵袭能力明显减弱, 凋亡率明显升高 (均 $P < 0.05$)；ANXA2、Ki-67、MMP-9蛋白表达明显降低, cleaved caspase-3和Bax蛋白表达明显升高 (均 $P < 0.05$)。同时转染miR-409-3p抑制物或过表达ANXA2后, sh-SOX2-OT对胃癌细胞的上述影响均被明显抑制 (均 $P < 0.05$)。双荧光素酶报告基因实验显示, miR-409-3p、SOX2-OT、ANXA2之间的靶向关系。移植瘤实验结果显示, 转染si-SOX2-OT的胃癌细胞在裸鼠体内的生长被明显抑制, 且移植瘤组织中SOX2-OT表达下调、miR-409-3p表达上调, ANXA2和Ki-67蛋白阳性率明显降低 (均 $P < 0.05$)。

结论: SOX2-OT在胃癌细胞中表达上调, SOX2-OT可能通过竞争性结合miR-409-3p解除其对ANXA2的抑制作用, 进而促进胃癌细胞的恶性生物学行为。因此, SOX2-OT/miR-409-3p/ANXA2轴可能是胃癌治疗的潜在分子靶点。

关键词

胃肿瘤; RNA, 长链非编码; 微RNAs; 膜联蛋白A2; 细胞增殖; 肿瘤浸润

中图分类号: R735.2

收稿日期: 2024-02-19; 修订日期: 2025-04-20。

作者简介: 王虔, 南阳医学高等专科学校第一附属医院主治医师, 主要从事普通外科方面的研究。

通信作者: 王虔, Email: wangqiannyzyfy@163.com

The regulatory effect of the SOX2-OT/miR-409-3p/ANXA2 axis on gastric cancer cell functions and its mechanism

WANG Qian, JIA Tingyin, PENG Chaoyang, LI Yongkun

(General Surgery Ward 3, the First affiliated Hospital of Nanyang Medical College, Nanyang, Henan 473000, China)

Abstract

Background and Aims: The long non-coding RNA SOX2 overlapping transcript (SOX2-OT) is involved in the regulation of cancer cell cycle and proliferation. Bioinformatics analysis has revealed potential binding sites among miR-409-3p, SOX2-OT, and membrane binding protein annexin A2 (ANXA2). This study aims to investigate the expression and functional role of the SOX2-OT/miR-409-3p/ANXA2 axis in gastric cancer cells.

Methods: qRT-PCR was used to measure the expression levels of SOX2-OT, miR-409-3p, and ANXA2 mRNA in gastric cancer tissues and cell lines. Gastric cancer cells were transfected with SOX2-OT shRNA plasmid (sh-SOX2-OT), co-transfected with sh-SOX2-OT and miR-409-3p inhibitor, or co-transfected with sh-SOX2-OT and ANXA2 overexpression plasmid. The control groups included blank, shRNA-negative control, inhibitor-negative control, and overexpression plasmid-negative control. Expression levels of SOX2-OT, miR-409-3p, and ANXA2 mRNA, cell proliferation, migration/invasion, apoptosis, and protein expression of Ki-67, cleaved caspase-3, Bax, MMP-9, and ANXA2 were assessed. Dual-luciferase reporter assays were conducted to confirm the targeting relationships among miR-409-3p, SOX2-OT, and ANXA2. A xenograft tumor model in nude mice was used to evaluate the effect of SOX2-OT on gastric cancer tumor growth in vivo.

Results: SOX2-OT and ANXA2 expression levels were significantly upregulated, while miR-409-3p was downregulated in gastric cancer tissues (vs. adjacent non-cancerous tissues) and gastric cancer cell lines (vs. normal gastric epithelial cells) (all $P < 0.05$). In gastric cancer cells, knockdown of SOX2-OT led to decreased expression of SOX2-OT and ANXA2 mRNA and increased expression of miR-409-3p (all $P < 0.05$), and this was accompanied by reduced proliferation and migration/invasion abilities, and increased apoptosis (all $P < 0.05$); protein levels of ANXA2, Ki-67, and MMP-9 were significantly decreased, whereas cleaved caspase-3 and Bax levels were significantly increased (all $P < 0.05$). These effects were reversed by co-transfection with the miR-409-3p inhibitor or ANXA2 overexpression plasmid (all $P < 0.05$). Dual-luciferase assays confirmed the direct targeting relationships among miR-409-3p, SOX2-OT, and ANXA2. In vivo, knockdown of SOX2-OT significantly inhibited tumor growth in nude mice, with reduced SOX2-OT and increased miR-409-3p expression, as well as decreased ANXA2 and Ki-67 protein positivity in xenograft tissues (all $P < 0.05$).

Conclusion: SOX2-OT is upregulated in gastric cancer cells and may promote malignant behaviors by competitively binding miR-409-3p, thereby relieving its inhibition on ANXA2. The SOX2-OT/miR-409-3p/ANXA2 axis may represent a potential molecular target for gastric cancer therapy.

Key words

Stomach Neoplasms; RNA, Long Noncoding; MicroRNAs; Annexin A2; Cell Proliferation; Neoplasm Invasiveness

CLC number: R735.2

胃癌是世界上常见的恶性肿瘤之一, 据世界卫生组织统计, 2020年全球新增胃癌患者达到

115万例左右, 死亡人数达76万例左右^[1-2]。胃癌的发病机制尚不完全清楚, 研究显示其与饮食习

惯、遗传、幽门螺杆菌、环境因素有关^[3]。目前针对胃癌的治疗措施主要包括手术切除、放化疗、中药治疗等，但胃癌细胞具有较高的迁移和侵袭特性，导致治愈率极低，5年生存率仅有35%左右^[4]。因此探究胃癌的分子发生机制和从分子角度干预治疗胃癌具有重要意义^[5]。已证实，lncRNA可调控癌细胞的生理代谢过程，Wang等^[6]研究表明SRY-盒转录因子2重叠转录本（SOX2-OT）在骨肉瘤细胞中高表达，可促进骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭。Dodangeh等^[7]研究表明SOX2-OT在肺癌细胞中高表达，可促进肺癌细胞恶性生物学行为的发生。SOX2-OT在多种肿瘤中高表达，故推测SOX2-OT可能也影响胃癌的发生发展。lncRNA发挥生物学作用主要是通过调控下游miRNA表达实现的^[8]。Feng等^[9]研究表明上调miR-409-3p表达可抑制胃癌细胞侵袭、迁移和上皮间质转化。Cheng等^[10]研究表明过表达miR-409-3p可增加卵巢癌细胞化疗敏感性。膜联蛋白A2（ANXA2）是一种钙依赖性磷脂结合细胞骨架蛋白，在多种癌细胞中过表达，可促进癌细胞迁移和黏附^[11]。Xie等^[12]研究表明沉默ANXA2表达可减弱胃癌细胞增殖、迁移和侵袭能力，是胃癌治疗的潜在靶标。此外，生物信息学分析发现miR-409-3p、SOX2-OT和ANXA2之间存在靶向结合位点。因此，本研究探讨SOX2-OT是否可通过调节miR-409-3p/ANXA2轴来调控胃癌细胞的恶性生物学行为。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料 32例胃癌患者的癌组织和癌旁组织（2022年1月—2023年12月期间在南阳医学高等专科学校第一附属医院治疗的患者）被收集。所有参与者均提供知情同意书。本研究获得本院伦理委员会的伦理批准。胃癌MGC-803、HGC-27、BGC-823、SGC-7901细胞及胃上皮细胞GES-1购自无锡欣润生物科技有限公司。SOX2-OT shRNA质粒（sh-SOX2-OT）及阴性对照质粒（sh-NC）、miR-409-3p抑制物质粒（miR-409-3p inhibitor）及阴性对照质粒（inhibitor NC）、ANXA2过表达质粒（oe-ANXA2）及阴性对照质粒（oe-NC），均由上海吉玛公司设计并合成。20只BALB/c裸鼠购自湖北贝恩生物科技有限公司，生产许可证号：SCXK（鄂）

2021-0027。

1.1.2 主要试剂 胎牛血清购自广州互成技术有限公司；RPMI 1640培养基购自上海澳音生物科技有限公司；qRT-PCR和总RNA提取试剂盒购自北京孚博生物科技有限公司；CCK-8试剂盒购自上海恪敏生物科技有限公司；Transwell小室和细胞凋亡检测试剂盒购自上海盖宁生物科技有限公司；增殖标志物Ki-67抗原、活化的半胱天冬酶-3（cleaved caspase-3）、Bcl-2关联X蛋白（Bax）、基质金属蛋白酶9（MMP-9）、ANXA2、 β -肌动蛋白（ β -actin）抗体购自英国Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 qRT-PCR检测SOX2-OT、miR-409-3p和ANXA2 mRNA表达 提取组织和细胞中的总RNA，并将其逆转录为cDNA，对cDNA进行荧光定量PCR扩增。以U6和GAPDH为内参计算SOX2-OT、miR-409-3p和ANXA2 mRNA的相对表达量（ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法）。引物：SOX2-OT正向：5'-GTT CAT GGC CTG GAC TCT CC-3'；反向：5'-ATT GCT AGC CCT CAC ACC TC-3'；miR-409-3p正向：5'-CGG AAT GTT GCT CGG TGA-3'；反向：5'-AGT GCA GGG TCC GAG GTA TT-3'；ANXA2 mRNA正向：5'-GAG CGG GAT GCT TTG AAC ATT-3'；反向：5'-TAG GCG AAG GCA ATA TCC TGT-3'；U6正向：5'-ATA TAG AAC AGG CAA CCA-3'；反向：5'-TGT CCA TCT ACT TTG AGT-3'；GAPDH正向：5'-CCA CCC ATG GCA AAT TCC ATG GCA-3'；反向：5'-TCT AGA CGG CAG GTC AGG TCC ACC-3'。

1.2.2 细胞转染 对HGC-27细胞分别进行如下处理：正常培养（空白对照组）、转染sh-NC（sh-NC组）、转染sh-SOX2-OT（sh-SOX2-OT组）、共转染sh-SOX2-OT和inhibitor NC（sh-SOX2-OT+inhibitor NC组）、共转染sh-SOX2-OT和miR-409-3p inhibitor（sh-SOX2-OT+miR-409-3p inhibitor组）、共转染sh-SOX2-OT和oe-NC（sh-SOX2-OT+oe-NC组），共转染sh-SOX2-OT和oe-ANXA2（sh-SOX2-OT+oe-ANXA2组）。用Lipofectamine2000试剂分别将对应质粒转染到HGC-27细胞中，转染48 h后进行后续实验。

1.2.3 CCK-8法检测细胞增殖 于96孔板中接种HGC-27细胞（ 5×10^4 个/孔），24 h和48 h时，更换为含有10 μ L CCK-8的培养基，2 h后酶标仪测定吸光值（450 nm）。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡 收集各组HGC-27

细胞加入24孔板,加入Annexin V-FITC与PI试剂进行染色,孵育15 min,流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.2.5 细胞迁移和侵袭检测 迁移实验:将浓度为(5×10^5 个/mL)的200 μ L细胞悬液接种于Transwell小室的上室中加入,同时将600 μ L培养液加入下室,48 h后洗涤,固定,染色,显微镜选5个视野观察细胞迁移情况。侵袭实验:Matrigel胶包被上室,其余步骤同上。

1.2.6 Western blot检测Ki-67、cleaved caspase-3、Bax、MMP-9、ANXA2蛋白表达 提取各组HGC-27细胞总蛋白,并对其定量,变性后电泳,转移至PVDF膜,封闭2 h。加入以下兔抗过夜培养,一抗:Ki-67、cleaved caspase-3、Bax、MMP-9、ANXA2、 β -actin,清洗后加入二抗孵育1 h,ECL显色,Image-Pro Plus软件分析蛋白灰度值。

1.2.7 双荧光素酶报告基因检测miR-409-3p与SOX2-OT及ANXA2的靶向关系 分别构建SOX2-OT野生型和突变型载体SOX2-OT-WT和SOX2-OT-MUT,将SOX2-OT-WT和SOX2-OT-MUT分别与miR-NC和miR-409-3p mimic共转染于HGC-27细胞中,48 h后,检测荧光素酶活性。如上所述,验证ANXA2与miR-409-3p的靶向关系。

1.2.8 裸鼠移植瘤实验 将20只BALB/c裸鼠随机分为si-NC组、si-SOX2-OT组,分别皮下注射200 μ L(5×10^6) si-NC和si-SOX2-OT转染的HGC-27细胞,

每5 d测量移植瘤体积,30 d后分离肿瘤,称重并测量体积,qRT-PCR检测肿瘤组织中SOX2-OT和miR-409-3p表达。

1.2.9 免疫组化检测肿瘤组织中ANXA2和Ki-67蛋白表达 将肿瘤组织切片固定,脱蜡水化后进行抗原修复,添加一抗ANXA2和Ki-67孵育过夜,再用二抗孵育,DAB显色后复染,拍照用Imag J分析,计算ANXA2和Ki-67的阳性率。

1.3 统计学处理

用Graphpad Prism 8.0.1分析数据,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组间单独比较用*t*检验,单因素方差分析用于多组间比较,SNK-*q*检验组内两组间差异; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌组织和细胞中SOX2-OT、miR-409-3p和ANXA2 mRNA表达

胃癌组织中SOX2-OT和ANXA2 mRNA表达水平明显高于癌旁组织,miR-409-3p表达水平明显低于癌旁组织(均 $P < 0.05$)(图1A);胃癌细胞系MGC-803、HGC-27、BGC-823、SGC-7901中SOX2-OT和ANXA2 mRNA表达水平明显高于胃上皮GES-1细胞,miR-409-3p明显低于胃上皮GES-1细胞(均 $P < 0.05$)(图1B)。其中HGC-27细胞基本表达水平差异最显著,用于后续实验。

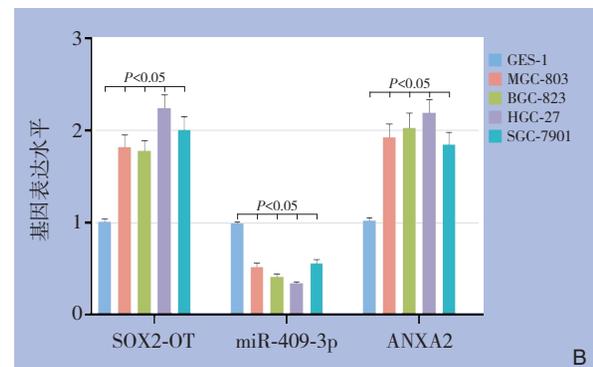
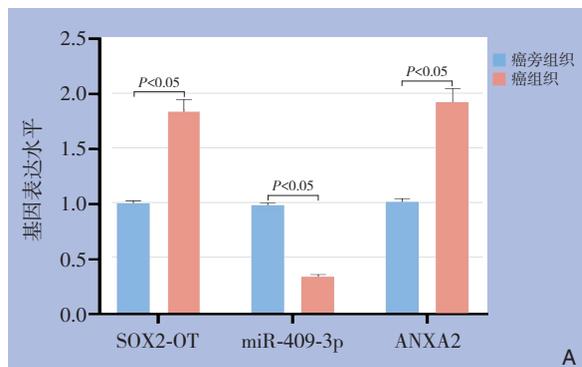


图1 SOX2-OT、miR-409-3p和ANXA2 mRNA表达检测 A: 胃癌组织与癌旁组织; B: 胃癌细胞系与正常胃上皮细胞
Figure 1 Detection of SOX2-OT, miR-409-3p, and ANXA2 mRNA expressions A: Gastric cancer tissues versus adjacent normal tissues; B: Gastric cancer cell lines versus normal gastric epithelial cells

2.2 各组HGC-27细胞中SOX2-OT、miR-409-3p和ANXA2 mRNA表达

sh-SOX2-OT组HGC-27细胞中SOX2-OT和ANXA2 mRNA表达明显低于空白对照组和sh-NC组,

miR-409-3p表达明显高于空白对照组和sh-NC组(均 $P < 0.05$);与sh-SOX2-OT+inhibitor NC组比较,sh-SOX2-OT+miR-409-3p inhibitor组HGC-27细胞中miR-409-3p表达明显降低,ANXA2 mRNA表达明显

升高 (均 $P < 0.05$), SOX2-OT 表达无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 sh-SOX2-OT+oe-NC 组比较, sh-SOX2-OT+oe-ANXA2 组 HGC-27 细胞 ANXA2 mRNA 表达明显升

高 ($P < 0.05$), SOX2-OT 和 miR-409-3p 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 2)。

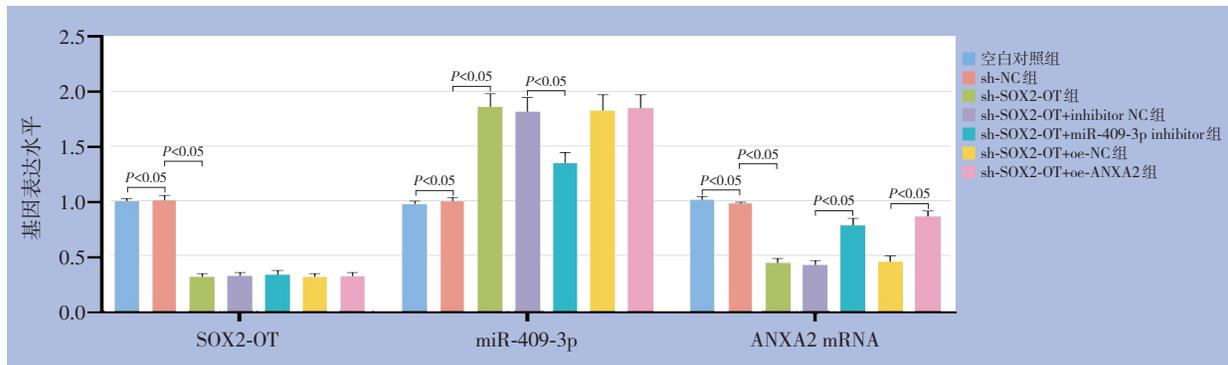


图 2 各组细胞中 SOX2-OT、miR-409-3p 和 ANXA2 mRNA 表达量比较

Figure 2 Comparison of SOX2-OT, miR-409-3p, and ANXA2 mRNA expression levels among different cell groups

2.3 各组 HGC-27 细胞增殖能力

sh-SOX2-OT 组 HGC-27 细胞 OD_{450} 值 (24 h、48 h) 明显低于空白对照组和 sh-NC 组 ($P < 0.05$); sh-SOX2-OT+miR-409-3p inhibitor 组 OD_{450} 值 (24 h、48 h)

明显高于 sh-SOX2-OT+inhibitor NC 组 ($P < 0.05$); sh-SOX2-OT+oe-ANXA2 组 OD_{450} 值 (24 h、48 h) 明显高于 sh-SOX2-OT+oe-NC 组 ($P < 0.05$) (图 3)。

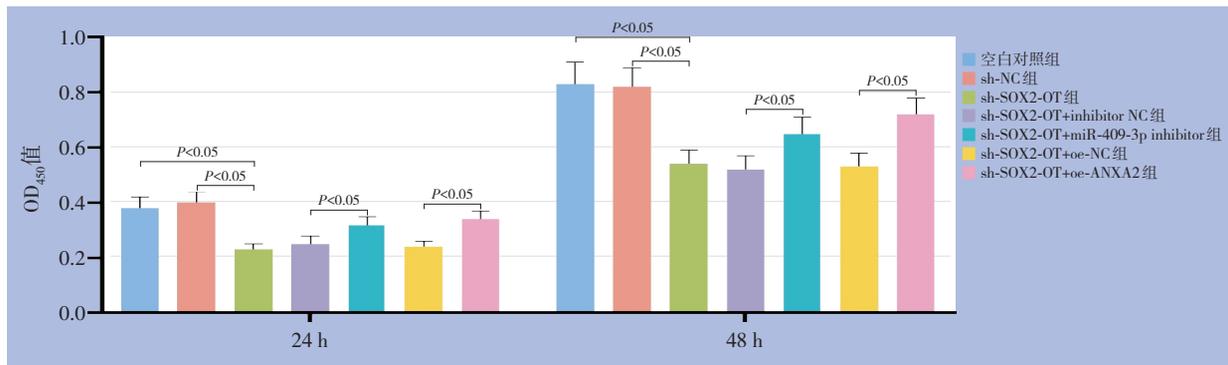


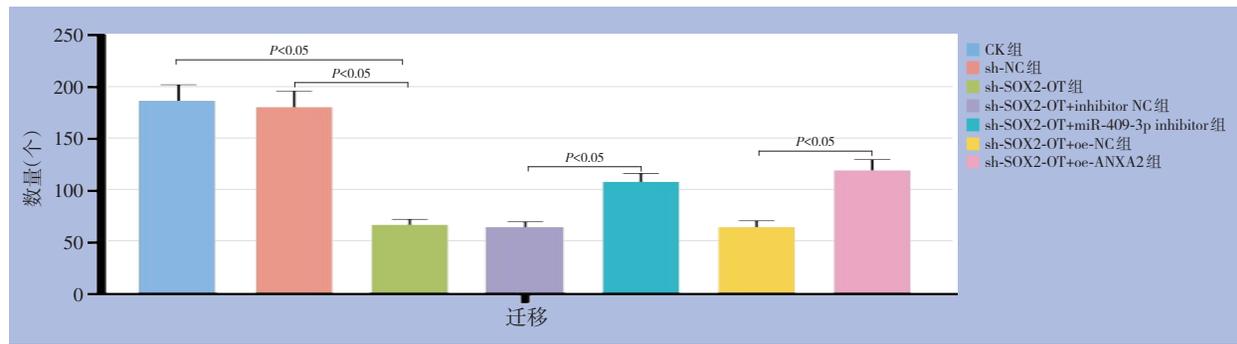
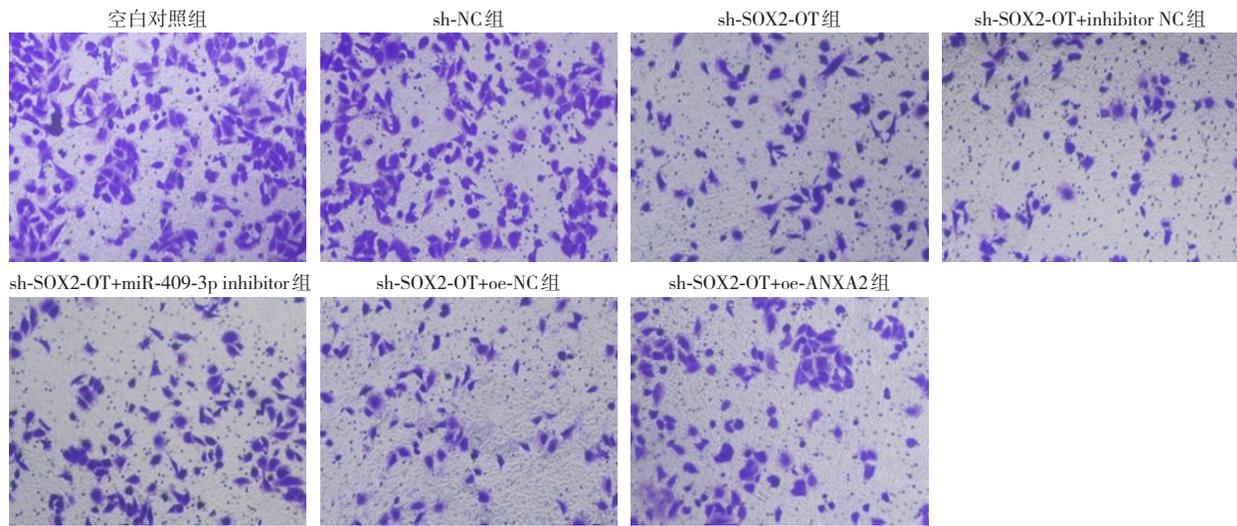
图 3 各组细胞增殖能力比较

Figure 3 Comparison of cell proliferation abilities among different groups

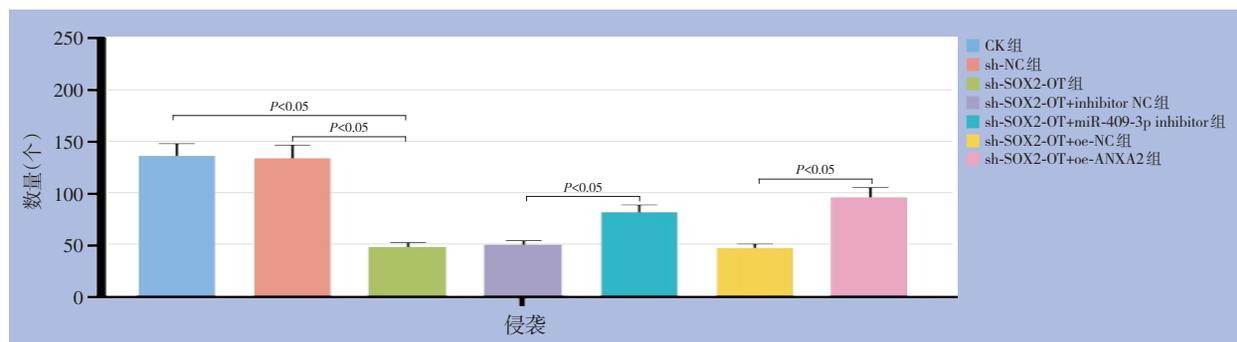
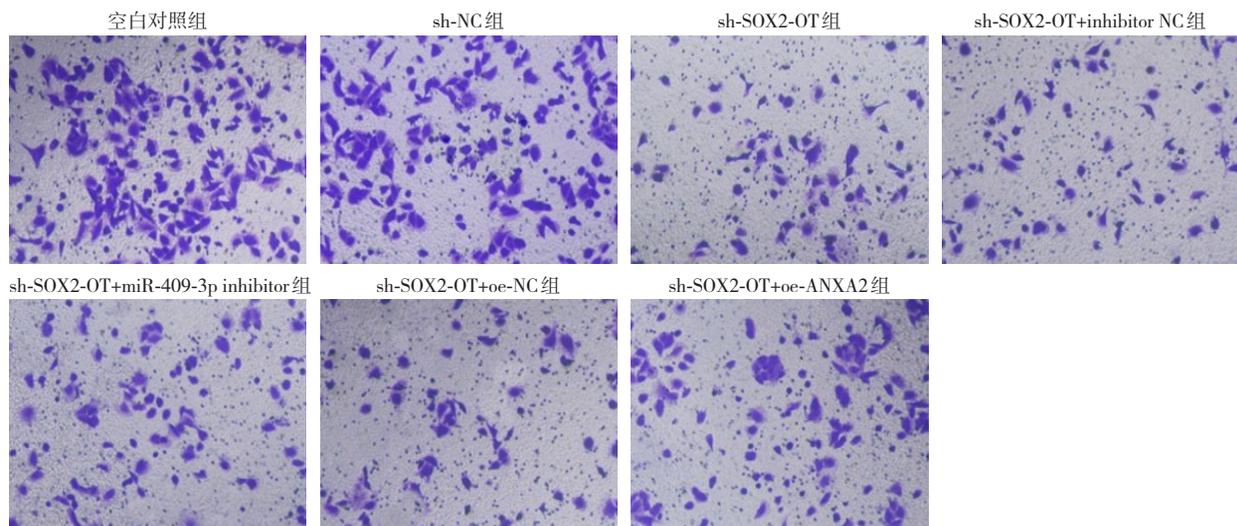
2.4 各组 HGC-27 细胞迁移和侵袭能力比较

sh-SOX2-OT 组 HGC-27 细胞迁移和侵袭个数明显低于空白对照组和 sh-NC 组 (均 $P < 0.05$); sh-SOX2-OT+miR-409-3p inhibitor 组 HGC-27 细胞迁移和

侵袭个数明显高于 sh-SOX2-OT+inhibitor NC 组 (均 $P < 0.05$); sh-SOX2-OT+oe-ANXA2 组 HGC-27 细胞迁移和侵袭个数明显高于 sh-SOX2-OT+oe-NC 组 (均 $P < 0.05$) (图 4)。



A



B

图4 Transwell实验检测各组细胞迁移/侵袭能力(×100) A: 细胞迁移实验; B: 细胞侵袭实验

Figure 4 Transwell assay to evaluate cell migration and invasion abilities in different groups (×100) A: Cell migration assay; B: Cell invasion assay

2.5 各组HGC-27细胞凋亡率

sh-SOX2-OT组HGC-27细胞凋亡率 $[(42.36 \pm 5.27)\%]$ 明显高于空白对照组 $[(5.82 \pm 0.71)\%]$ 和sh-NC组 $[(5.49 \pm 0.65)\%]$ (均 $P < 0.05$)；sh-SOX2-OT+miR-409-3p inhibitor组HGC-27细胞凋亡率

$[(24.78 \pm 3.12)\%]$ 明显低于sh-SOX2-OT+inhibitor NC组 $[(40.37 \pm 5.86)\%]$ ($P < 0.05$)；sh-SOX2-OT+oe-ANXA2组HGC-27细胞凋亡率 $[(20.54 \pm 2.82)\%]$ 明显低于sh-SOX2-OT+oe-NC组 $[(41.28 \pm 5.31)\%]$ ($P < 0.05$)(图5)。

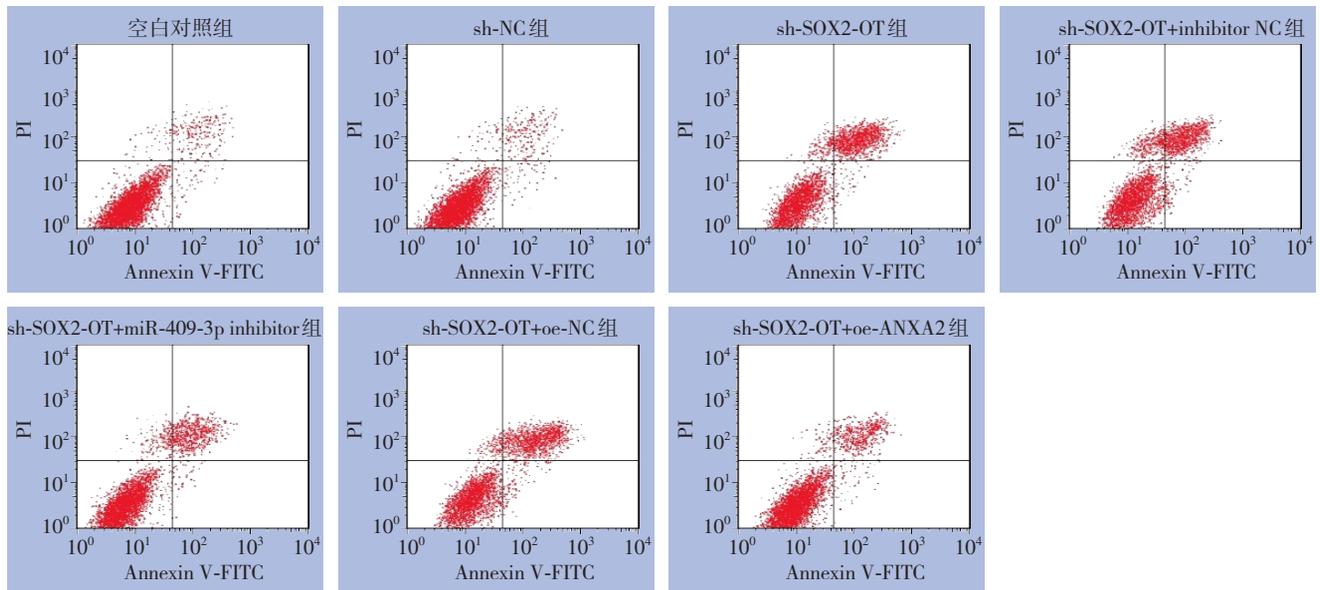


图5 各组细胞凋亡检测结果

Figure 5 Apoptosis analysis of cells in different groups

2.6 各组HGC-27细胞中Ki-67、cleaved caspase-3、Bax、MMP-9、ANXA2蛋白表达比较

sh-SOX2-OT组HGC-27细胞Ki-67、MMP-9、ANXA2蛋白表达明显低于空白对照组和sh-NC组，cleaved caspase-3和Bax蛋白表达明显高于空白对照组和sh-NC组(均 $P < 0.05$)；sh-SOX2-OT+miR-409-3p inhibitor组HGC-27细胞Ki-67、MMP-9、ANXA2蛋白表达明显高于sh-SOX2-OT+inhibitor NC组，cleaved caspase-3和Bax蛋白表达明显低于sh-SOX2-OT+inhibitor NC组(均 $P < 0.05$)；sh-SOX2-OT+oe-ANXA2组HGC-27细胞Ki-67、MMP-9、ANXA2蛋白表达明显高于sh-SOX2-OT+oe-NC组，cleaved caspase-3和Bax蛋白表达显著低于sh-SOX2-OT+oe-NC组($P < 0.05$)(图6)。

2.7 miR-409-3p与SOX2-OT和ANXA2的靶向关系验证

利用Starbase网站预测miR-409-3p与SOX2-OT和ANXA2的结合位点。miR-409-3p mimic+SOX2-OT-

WT组荧光素酶活性 (0.41 ± 0.04) 明显低于miR-NC+SOX2-OT-WT组 (1.05 ± 0.09) ($P < 0.05$)；miR-409-3p mimic+SOX2-OT-MUT组荧光素酶活性 (1.02 ± 0.09) 与miR-NC+SOX2-OT-MUT组 (0.98 ± 0.10) 差异无统计学意义($P > 0.05$)。miR-409-3p mimic+ANXA2-WT组的荧光素酶活性 (0.43 ± 0.04) 明显低于miR-NC+ANXA2-WT组 (1.06 ± 0.08) ($P < 0.05$)；miR-409-3p mimic+ANXA2-MUT组荧光素酶活性 (0.99 ± 0.08) 与miR-NC+ANXA2-MUT组 (1.04 ± 0.09) 无统计学意义($P > 0.05$)。

2.8 敲低SOX2-OT对裸鼠移植瘤质量、SOX2-OT和miR-409-3p基因表达和ANXA2和Ki-67阳性率的影响

si-SOX2-OT组移植瘤质量、SOX2-OT表达水平明显低于si-NC组，miR-409-3p表达水平明显高于si-NC组，ANXA2和Ki-67阳性率明显低于si-NC组(均 $P < 0.05$)(图7-9)。

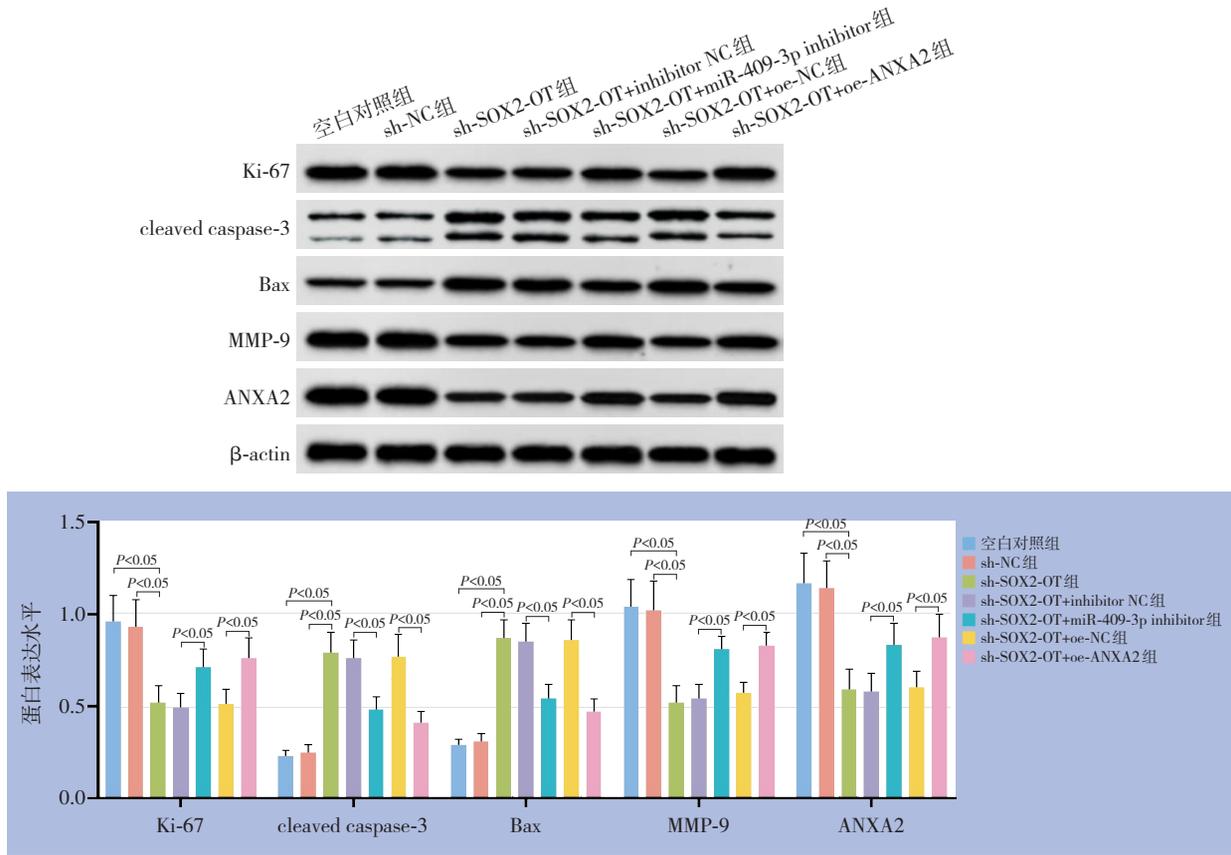


图6 各组细胞Ki-67、cleaved caspase-3、Bax、MMP-9、ANXA2蛋白表达检测结果

Figure 6 Expression levels of Ki-67, cleaved caspase-3, Bax, MMP-9, and ANXA2 proteins in different cell groups

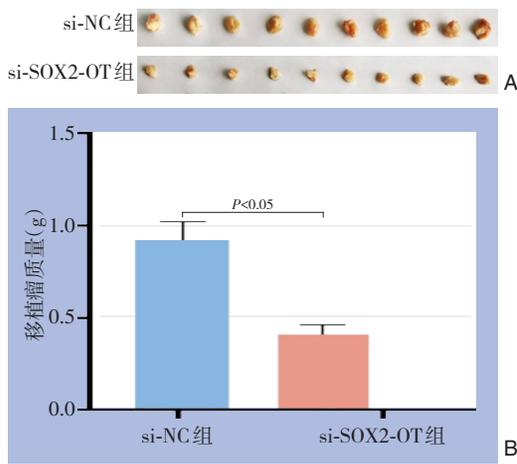


图7 si-SOX2-OT组与si-NC组移植瘤情况 A: 两组移植瘤大体标本; B: 两组移植瘤质量比较

Figure 7 Xenograft tumors in the si-SOX2-OT and si-NC groups A: Gross specimens of xenograft tumors from both groups; B: Comparison of tumor weights between the two group

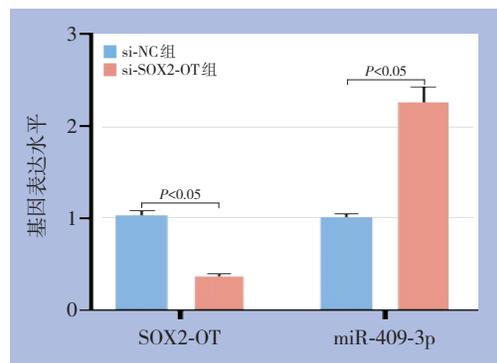


图8 两组移植瘤组织SOX2-OT与miR-409-3p表达检测 Figure 8 Expression of SOX2-OT and miR-409-3p in xenograft tumor tissues from the two groups

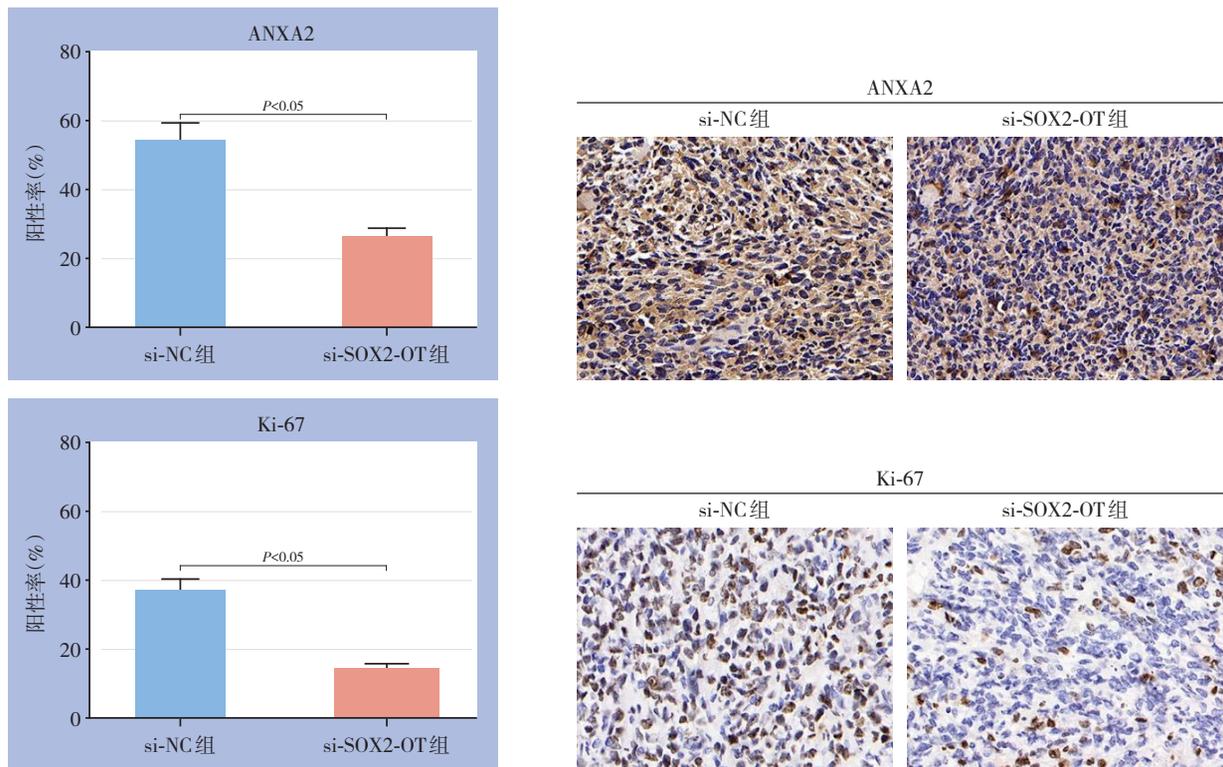


图9 免疫组化检测移植瘤组织ANXA2和Ki-67蛋白表达(×200)

Figure 9 Immunohistochemical staining for ANXA2 and Ki-67 protein expressions in xenograft tumor tissues (×200)

3 讨论

胃癌是消化道常见的一种恶性肿瘤，具有较高的发病率和病死率^[13-14]。目前胃癌的发病机制尚不明确，但有研究显示个人饮食习惯如摄食较多亚硝酸盐、不卫生食品，环境因素等是引起胃癌主要因素^[15-16]。胃癌早期症状不明显，易与其他胃病混淆，确诊时一般已进入晚期，胃癌细胞已经发生扩散转移，传统的手术、放化疗等治疗措施难以治愈，病死率较高^[17-18]。随着医学技术进步，分子诊断和治疗技术正在快速发展，因此探究胃癌的分子发生机制及分子治疗靶点对治疗胃癌具有重要意义。

lncRNA 是一种长度大于 200 个碱基，但不编码蛋白的非编码 RNA，大量研究证实，lncRNA 可调控癌细胞的生殖、迁移过程^[19]。Li 等^[20]研究表明，SOX2-OT 在喉癌细胞中高表达，沉默 SOX2-OT 表达可促进喉癌细胞凋亡并抑制其增殖和迁移。Zhang 等^[21]研究表明 SOX2-OT 在三阴性乳腺癌细胞中高表达，上调 SOX2-OT 表达可促进癌细胞转移。推测过表达 SOX2-OT 可促进癌细胞的恶性生物学行为发生。本研究结果显示，SOX2-OT 在胃癌组织和

细胞中高表达，下调 SOX2-OT 表达可抑制胃癌 HGC-27 细胞恶性生物学行为，并促进其凋亡，体内移植瘤实验结果也证实，下调 SOX2-OT 表达可抑制肿瘤生长。为进一步探究 SOX2-OT 调控癌细胞生物学机制，本研究探究调控癌细胞恶性生物学行为的几种蛋白表达，Ki-67 是一种调控细胞周期的蛋白，在细胞增殖分裂时高表达，可促进细胞增殖^[22]；cleaved caspase-3 和 Bax 是细胞凋亡相关蛋白，高表达可促进细胞凋亡^[23-24]；MMP-9 是一种基质金属蛋白酶，可降解和破坏基底膜，促进肿瘤细胞向基底膜位置迁移、浸润和侵袭^[25]。本研究结果显示，下调 SOX2-OT 表达可显著抑制 HGC-27 细胞中 Ki-67 和 MMP-9 蛋白表达，促进 cleaved caspase-3 和 Bax 凋亡蛋白表达。提示沉默 SOX2-OT 表达可能通过抑制 HGC-27 细胞中相关蛋白表达来抑制其恶性生物学行为。

miRNA 是不编码蛋白长度约为 20~22 个碱基的 RNA，已证实 miRNA 表达受到其上游 lncRNA 的调控，而 miRNA 通过调控其靶基因表达来影响细胞的生理代谢过程，进行调控肿瘤细胞的生物学过程^[26]。Yu 等^[27]研究表明 miR-409-3p 在胃癌细胞中低表达，miR-409-3p 高表达可通过抑制 MAP7 表达

来抑制胃癌细胞的恶性生物学行为。Wang等^[28]研究表明抑制miR-409-3p表达可促进胃癌细胞的恶性生物学行为发生。本研究结果显示,胃癌组织和细胞中miR-409-3p低表达,miR-409-3p可能参与胃癌的发生。沉默SOX2-OT表达后,miR-409-3p显著升高。荧光素酶活性实验证实SOX2-OT与miR-409-3p存在靶向调控关系。为进一步证实两者调控关系,本研究设置回复实验在沉默SOX2-OT的基础上,下调miR-409-3p表达,结果显示,下调miR-409-3p表达可减弱单独沉默SOX2-OT对HGC-27细胞的恶性生物学的抑制作用。提示SOX2-OT可能通过竞争性结合miR-409-3p表达来调控HGC-27细胞的恶性生物学行为。

ANXA2是一种参与细胞膜的形成钙依赖性磷脂结合细胞骨架蛋白,可调控细胞骨架形成,具有促进肿瘤细胞迁移的作用^[29]。Mao等^[30]研究表明敲低ANXA2表达可抑制体外胃癌细胞迁移和侵袭,抑制体内胃癌肿瘤生长。Li等^[31]研究表明ANXA2过表达可促进食管鳞状癌细胞的恶性生物学发生。本研究结果显示,ANXA2在胃癌组织和细胞中高表达,下调SOX2-OT表达后,miR-409-3p表达升高,ANXA2表达降低。下调miR-409-3p表达时,ANXA2表达显著升高,荧光素酶活性实验证实miR-409-3p和ANXA2存在靶向调控关系。提示SOX2-OT可能通过下调miR-409-3p表达进而提高ANXA2表达,促进胃癌的发生。为进一步验证该结论,本研究设置回复实验,下调SOX2-OT表达的同时过表达ANXA2,结果显示过表达ANXA2可减弱下调SOX2-OT表达对HGC-27细胞恶性生物学行为的抑制作用。综合以上结果得出结论,下调SOX2-OT表达可通过竞争性结合miR-409-3p,下调ANXA2表达,抑制胃癌细胞增殖、迁移和裸鼠移植瘤生长,并促进细胞凋亡。

综上所述,SOX2-OT在胃癌细胞中表达上调,SOX2-OT可能通过竞争性结合miR-409-3p解除其对ANXA2的抑制作用,进而促进胃癌细胞的恶性生物学行为。SOX2-OT/miR-409-3p/ANXA2可能成为治疗胃癌的一个靶点。

作者贡献声明:王虔负责起草文章、对文章的知识性内容作批评性审阅和统计分析、行政、技术或材料支持以及酝酿和设计实验、实施研究、分析/解释数据;贾

廷印负责获取研究经费;彭朝阳负责支持性贡献;李永坤负责学术指导。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Yang WJ, Zhao HP, Yu Y, et al. Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2023, 29(16): 2452-2468. doi: 10.3748/wjg.v29.i16.2452.
- [2] 王秦西,张炯,车康明. miR-199b-3p与CRIM1在胃癌细胞中的靶向关系及其功能[J]. *中国普通外科杂志*, 2024, 33(10):1679-1687. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.10.014.
Wang QX, Zhang J, Che KM. The targeting relationship and function of miR-199b-3p and CRIM1 in gastric cancer cells[J]. *China Journal of General Surgery*, 2024, 33(10):1679-1687. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2024.10.014.
- [3] Lopes C, Chaves J, Ortigão R, et al. Gastric cancer detection by non-blood-based liquid biopsies: a systematic review looking into the last decade of research[J]. *United European Gastroenterol J*, 2023, 11(1):114-130. doi:10.1002/ueg2.12328.
- [4] Fujisaki YY, Yoshikawa T, Ogawa R, et al. Necessity of splenectomy for antral-type scirrhous gastric cancer[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2024:108734. doi:10.1016/j.ejso.2024.108734.
- [5] Guo X, Peng Y, Song Q, et al. A liquid biopsy signature for the early detection of gastric cancer in patients[J]. *Gastroenterology*, 2023, 165(2):402-413. doi:10.1053/j.gastro.2023.02.044.
- [6] Wang Z, Tan M, Chen G, et al. LncRNA SOX2-OT is a novel prognostic biomarker for osteosarcoma patients and regulates osteosarcoma cells proliferation and motility through modulating SOX2[J]. *IUBMB Life*, 2017, 69(11): 867-876. doi: 10.1002/iub.1681.
- [7] Dodangeh F, Sadeghi Z, Maleki P, et al. Long non-coding RNA SOX2-OT enhances cancer biological traits via sponging to tumor suppressor miR-122-3p and miR-194-5p in non-small cell lung carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 12371. doi: 10.1038/s41598-023-39000-0.
- [8] Patel D, Thankachan S, Sreeram S, et al. LncRNA-miRNA-mRNA regulatory axes as potential biomarkers in cervical cancer: a comprehensive overview[J]. *Mol Biol Rep*, 2025, 52(1):110. doi: 10.1007/s11033-024-10215-2.
- [9] Feng J, Li K, Liu G, et al. Precision hyperthermia-induced miRNA-409-3p upregulation inhibits migration, invasion, and EMT of gastric cancer cells by targeting KLF17[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 549:113-119. doi:10.1016/j.bbrc.2021.02.063.
- [10] Cheng Y, Ban R, Liu W, et al. MiRNA-409-3p enhances cisplatin-sensitivity of ovarian cancer cells by blocking the autophagy

- mediated by Fip200[J]. *Oncol Res*, 2018. doi:10.3727/096504017X15138991620238.
- [11] Huang L, Xu K, Yang Q, et al. ANXA2 in cancer: aberrant regulation of tumour cell apoptosis and its immune interactions[J]. *Cell Death Discov*, 2025, 11(1): 174. doi: 10.1038/s41420-025-02469-x.
- [12] Xie R, Liu J, Yu X, et al. ANXA2 silencing inhibits proliferation, invasion, and migration in gastric cancer cells[J]. *J Oncol*, 2019, 2019:4035460. doi:10.1155/2019/4035460.
- [13] Wang Z, Liu Y, Niu X. Application of artificial intelligence for improving early detection and prediction of therapeutic outcomes for gastric cancer in the era of precision oncology[J]. *Semin Cancer Biol*, 2023, 93:83–96. doi:10.1016/j.semcancer.2023.04.009.
- [14] Kono K, Nakajima S, Mimura K. Biomarker-oriented chemotherapeutic for advanced gastric cancer[J]. *Int J Clin Oncol*, 2024, 29(7):865–872. doi:10.1007/s10147-024-02525-z.
- [15] Moreno-Sánchez M, Cubiella J, Fernández Esparrach G, et al. Image-enhanced endoscopy in the diagnosis of gastric premalignant conditions and gastric cancer[J]. *Gastroenterol Y Hepatol*, 2023, 46(5):397–409. doi:10.1016/j.gastrohep.2022.06.007.
- [16] Ooki A, Osumi H, Yoshino K, et al. Potent therapeutic strategy in gastric cancer with microsatellite instability-high and/or deficient mismatch repair[J]. *Gastric Cancer*, 2024, 27(5): 907–931. doi: 10.1007/s10120-024-01523-4.
- [17] Liu C, Li S, Tang Y. Mechanism of cisplatin resistance in gastric cancer and associated microRNAs[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2023, 92(5): 329–340. doi: 10.1007/s00280-023-04572-1.
- [18] Li H, Guan B, Liu S, et al. PTPN14 promotes gastric cancer progression by PI3KA/AKT/mTOR pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(3):188. doi:10.1038/s41419-023-05712-4.
- [19] Deng H, Gao J, Cao B, et al. LncRNA CCAT2 promotes malignant progression of metastatic gastric cancer through regulating CD44 alternative splicing[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2023, 46(6):1675–1690. doi:10.1007/s13402-023-00835-4.
- [20] Li G, Pan C, Sun J, et al. LncRNA SOX2-OT regulates laryngeal cancer cell proliferation, migration and invasion and induces apoptosis by suppressing miR-654[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(5): 3316–3324. doi:10.3892/etm.2020.8577.
- [21] Zhang W, Yang S, Chen D, et al. SOX2-OT induced by PAI-1 promotes triple-negative breast cancer cells metastasis by sponging miR-942-5p and activating PI3K/Akt signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(1):59. doi:10.1007/s00018-021-04120-1.
- [22] Kawabata K, Takahashi T, Tanaka K, et al. Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor promote lipid uptake and fatty acid oxidation in gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2024, 27(6):1258–1272. doi: 10.1007/s10120-024-01552-z.
- [23] Song Y, Long C, Chen W, et al. *Cratogeomys formosus* ssp. *pruniflorum* induces gastric cancer cell apoptosis and pyroptosis through the elevation of ROS and cell cycle arrest[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2024, 82(3): 2937–2955. doi: 10.1007/s12013-024-01408-4.
- [24] Chen J, Ji Z, Wu D, et al. MYBL2 promotes cell proliferation and inhibits cell apoptosis via PI3K/AKT and BCL2/BAX/Cleaved-caspase-3 signaling pathway in gastric cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1):9148. doi:10.1038/s41598-025-93022-4.
- [25] Sun Z, Huang G, Cheng H. Transcription factor Nrf2 induces the up-regulation of lncRNA TUG1 to promote progression and adriamycin resistance in urothelial carcinoma of the bladder[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 6079–6090. doi: 10.2147/CMAR.S200998.
- [26] de la Cruz-Ojeda P, Parras-Martínez E, Rey-Pérez R, et al. In silico analysis of lncRNA-miRNA-mRNA signatures related to Sorafenib effectiveness in liver cancer cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2025, 31(3):95207. doi:10.3748/wjg.v31.i3.95207.
- [27] Yu L, Xie J, Liu X, et al. Plasma exosomal CircNEK9 accelerates the progression of gastric cancer via miR-409-3p/MAP7 axis[J]. *Dig Dis Sci*, 2021, 66(12):4274–4289. doi: 10.1007/s10620-020-06816-z.
- [28] Wang Y, Zhang J, Chen X, et al. Circ_0001023 promotes proliferation and metastasis of gastric cancer cells through miR-409-3p/PHF10 axis[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 4533–4544. doi:10.2147/OTT.S244358.
- [29] Wang Y, Liu Y, Chen H, et al. PIN1 promotes the metastasis of cholangiocarcinoma cells by RACK1-mediated phosphorylation of ANXA2[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2024, 47(4): 1233–1252. doi: 10.1007/s13402-024-00924-y.
- [30] Mao L, Yuan W, Cai K, et al. EphA2-YES1-ANXA2 pathway promotes gastric cancer progression and metastasis[J]. *Oncogene*, 2021, 40(20):3610–3623. doi:10.1038/s41388-021-01786-6.
- [31] Li Z, Pan Y, Yao J, et al. ANXA2 as a novel substrate of FBXW7 promoting esophageal squamous cell carcinoma via ERK phosphorylation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 649:93–100. doi:10.1016/j.bbrc.2023.01.082.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: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

Cite this article as: 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]. *Chin J Gen Surg*, 2025, 34(4): 708–718. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240090