

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.08.001

文章编号: 1005-8982 (2024) 08-0001-08

肝疾病专题·论著

circRNA CCND1 对人肝癌 HepG2 细胞增殖、 凋亡、侵袭和迁移的影响*

董辉¹, 顾铃毓², 俞梦楚¹, 张旭¹

(1. 宁夏医科大学总医院医学科学研究院, 宁夏 银川 750000; 2. 宁夏医科大学
总医院心脑血管病医院 医学检验科, 宁夏 银川 750000)

摘要: 目的 探讨 circRNA CCND1 对人肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移的影响。**方法** 采用荧光原位杂交(FISH) 实验及实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR) 检测 circRNA CCND1 在 HepG2 细胞及 LO2 细胞中的表达情况; 进一步干扰及过表达 circRNA CCND1 后, 通过 qRT-PCR 检测 circRNA CCND1 在 HepG2 细胞中的表达情况, CCK-8 法和 EDU 法检测 HepG2 细胞增殖情况, 流式细胞术检测细胞凋亡、细胞周期, Transwell 实验检测细胞侵袭情况, 划痕实验检测细胞迁移情况。**结果** HepG2 细胞 circRNA CCND1 相对表达量较 LO2 细胞高 ($P < 0.05$)。Si-circRNA CCND1 组 circRNA CCND1 相对表达量较 Control 组和 Si-NC 组下降 ($P < 0.05$), Oe-circRNA CCND1 组较 Control 组和 Oe-NC 组升高 ($P < 0.05$)。各组细胞培养 0、24、48、72 和 96 h 后细胞增殖活性比较, 经重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点细胞增殖活性比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); ②各组细胞增殖活性比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); ③各组细胞增殖活性变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 Control 组及 Si-NC 组比较, Si-circRNA CCND1 组细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$), G_0/G_1 期比值升高 ($P < 0.05$), S 及 G_2/M 期比值下降 ($P < 0.05$); 与 Control 组及 Oe-NC 组比较, Oe-circRNA CCND1 组细胞凋亡率下降 ($P < 0.05$), G_0/G_1 期比值下降 ($P < 0.05$), S 及 G_2/M 期比值升高 ($P < 0.05$)。Si-circRNA CCND1 组细胞侵袭数、细胞迁移数较 Control 组、Si-NC 组少 ($P < 0.05$), Oe-circRNA CCND1 组较 Control 组及 Oe-NC 组多 ($P < 0.05$)。**结论** circRNA CCND1 能够促进人肝癌细胞 HepG2 细胞增殖、侵袭和迁移, 抑制细胞凋亡。

关键词: 肝肿瘤; circRNA CCND1; HepG2; 细胞生理学现象

中图分类号: R735.7

文献标识码: A

Effects of circRNA CCND1 on proliferation, apoptosis, invasion and migration of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells*

Dong Hui¹, Gu Ling-yu², Yu Meng-chu¹, Zhang Xu¹

(1. Institute of Medical Sciences, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Cardio-Cerebrovascular Hospital, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750000, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of circRNA CCND1 on the proliferation, apoptosis, invasion and migration of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. **Methods** The expression of circRNA CCND1 in HepG2 and LO2 cells was detected by fluorescence in situ hybridization (FISH) and quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). After further interference of the expression of circRNA CCND1 or

收稿日期: 2023-07-22

* 基金项目: 国家自然科学基金青年项目(No:82002955)

[通信作者] 张旭, E-mail: xuzhang1012@163.com; Tel: 13909585289

overexpression of circRNA CCND1, the level of circRNA CCND1 in HepG2 cells was detected by qRT-PCR, the proliferation of HepG2 cells was detected by the CCK-8 assay and the EdU assay, cell apoptosis and cell cycle were detected by flow cytometry, cell invasion was detected by the transwell invasion assay, and cell migration was detected by the scratch assay. **Results** The relative expression of circRNA CCND1 in HepG2 cells was higher than that in LO2 cells ($P < 0.05$). The relative expression of circRNA CCND1 in the si-circRNA CCND1 group was lower than that in the control group and the si-NC group ($P < 0.05$), while that in the Oe-circRNA CCND1 group was higher compared with that in the control group and the Oe-NC group ($P < 0.05$). The proliferation activity of cells in all groups after 0, 24, 48, 72 and 96 h of culture was compared via repeated measures analysis of variance, and the results demonstrated that the cell proliferation activity was different among the time points ($P < 0.05$) and the groups ($P < 0.05$), and that the change trend of the cell proliferation activity was also different among the groups ($P < 0.05$). Compared with the control group and the si-NC group, the apoptosis rate was higher ($P < 0.05$), the percentage of cells in the G_0/G_1 phase was higher ($P < 0.05$), and the percentage of cells in the S and G_2/M phase was lower in the si-circRNA CCND1 group ($P < 0.05$). Compared with the control group and the Oe-NC group, the apoptosis rate was lower ($P < 0.05$), the percentage of cells in the G_0/G_1 phase was lower ($P < 0.05$), and the percentage of cells in the S and G_2/M phase was higher in the Oe-circRNA CCND1 group ($P < 0.05$). The number of invaded and migrated cells in the si-circRNA CCND1 group was lower than that in the control group and the si-NC group ($P < 0.05$), while that in the Oe-circRNA CCND1 group was higher compared with the control group and the Oe-NC group ($P < 0.05$).

Conclusion The circRNA CCND1 promotes the proliferation, invasion and migration, but inhibits the apoptosis of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells.

Keywords: hepatocellular carcinoma; circRNA CCND1; HepG2; cell physiological phenomenon

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见和最具侵袭性的癌症之一, 近年来 HCC 的发病率和病死率均稳步上升^[1]。据统计, 2018 年全球有超过 80 万人被诊断为 HCC^[2]。HCC 主要来源于肝炎病毒感染、黄曲霉毒素 B1 暴露、过量饮酒、代谢综合征等, 恶性率高, 5 年生存率 < 5%^[3]。而且, 由于其具有侵袭性的生物学特性, 疗效不佳^[4]。因此, 深入了解肿瘤发生的分子机制, 识别肿瘤生长过程中的关键调控因子, 对 HCC 的早期诊断及治疗方案的选择具有重要意义。

随着生物信息学不断发展, circRNA 成为一种新型基因调节因子, 参与调控基因转录过程或转录后水平^[5]。circRNA 可通过介导 RNA 的选择性剪接、转录和作为内源性 RNA 等调节细胞生物过程^[6]。研究表明, circRNA 可影响肿瘤细胞增殖、分化、凋亡和侵袭等生物学功能, 进而参与 HCC 等肿瘤疾病的发生、发展^[7]。例如, circSETD3 在鼻咽癌中显著升高, 敲低 circSETD3 能抑制细胞增殖和侵袭^[8]; circDNMT1 在乳腺癌细胞和组织中高表达, 通过激活自噬来增强乳腺癌进展^[9]; 同样, circFOXK2 可通过调节 Warburg 效应促进 HCC 进展并导致临床预后不良^[10]。然而, HCC 相关的 circRNA 调控网络及其下游因子仍有待进一步完善。circRNA CCND1 来源于 CCND1 基因的转录本, 失调可导致细胞增殖

不受控和恶性肿瘤发生, 成为癌症的可行和有效的治疗靶点^[11]。研究表明, circRNA CCND1 可促进喉鳞状细胞癌进展^[12]。ZHENG 等^[13]发现, circRNA CCND1 mRNA 在 HCC 患者的癌组织和癌旁组织中表达升高。然而, 目前尚未有研究报道 circRNA CCND1 在 HepG2 细胞中的生物学作用及其潜在作用机制。

因此, 本研究拟探讨 circRNA CCND1 在 HepG2 细胞中的生物学作用, 为 HCC 的病理生理机制提供新的思路, 为 HCC 提供新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

HepG2、人正常肝细胞系 L02 购自上海细胞生物研究所, DMEM 培养基购自北京索莱宝科技有限公司, Lipofectamine 3000 试剂购自美国赛默飞公司, 超净工作台购自中国苏州净化设备有限公司, 胰酶购自美国 Sigma-aldrich 公司, 超速冷冻离心机购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司, 酶标仪购自美国 BIOTEK 公司, 倒置相差显微镜购自日本 OLYMPUS 公司, 5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷 (5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU) 成像检测试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 体外培养 HCC 肿瘤细胞系 HepG2 和人正常肝细胞系 L02。培养基为 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清, 1% 双抗)。将细胞培养于 37 °C、5% 二氧化碳环境中,待细胞生长密度为 90% 左右进行传代培养。

1.2.2 细胞转染及分组 针对人 circRNA CCND1 (hsa_circ_0023303) 构建 SiRNA 及其阴性对照,过表达载体(pCD5-ciR)及其空载对照;调整细胞状态后,采用 Lipofectamine 3000 试剂将 circRNA CCND1 SiRNA 及其阴性对照,过表达载体(pCD5-ciR)及其空载对照分别转染至对数生长期的 HepG2 细胞内,评估转染效率。将细胞分为未转染组(Control组)、阴性对照组(Si-NC组)、SiRNA 转染组(Si-circRNA CCND1组)、过表达对照组(Oe-NC组)及 circRNA CCND1 过表达载体组(Oe-circRNA CCND1组)。

1.2.3 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测 circRNA CCND1 使用 TRIpure 试剂裂解细胞,从细胞中提取总 RNA,并使用紫外分光光度计测定 RNA 的纯度和浓度。将得到的 RNA 样本进行逆转录以得到对应的 cDNA。反应体系:cDNA 1 μL,正反向引物 0.5 μL,SYBR GREEN mastermix 10 μL,后用 ddH₂O 补齐至 20 μL。反应条件:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 10 s,60 °C 退火 20 s,72 °C 延伸 30 s,共 40 个循环。采用 ExicyclerTM 96 荧光定量仪进行荧光定量分析。circRNA CCND1 的表达以 GAPDH 为内参,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物列表

基因	引物序列	长度/bp
circRNA	正向: 5'-GAAGTTGCAAAGTCTGGAGC-3'	21
CCND1	反向: 5'-TGGTTTCCACTTCGCAGCA-3'	19
GAPDH	正向: 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'	21
	反向: 5'-GGCTGTGTCTACTTCTCATGG-3'	23

1.2.4 CCK-8 法检测细胞增殖活性 将细胞接种于 96 孔板并进行干预,于 37 °C、5% 二氧化碳培养箱中培养。每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,置于培养箱内继续培养 1 h,使用酶标仪测量每孔细胞在 450 nm 处的吸光度值,表示各组细胞增殖活性。

1.2.5 EdU 法检测阳性细胞百分比 待细胞生长至 90% 左右,对细胞进行传代,细胞贴壁后进行转染。将 10 μmol/L 的 EdU 染色液加入各组转染细胞后,置于培养箱 2 h。取出加入 4% 多聚甲醛固定 15 min,加入 0.1 mL 0.5% Triton X-100 in 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)到每孔中,室温孵育 20 min。PBS 洗涤细胞 2 次,加入 Click-iT 反应液,室温避光孵育 20 min。最后,加入 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染色液对细胞核染色。采用显微镜观察细胞,并记录 EdU 阳性细胞的百分比。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡 将细胞以 5 × 10⁵ 个/孔的密度培养于 6 孔板中,在 37 °C、5% 二氧化碳、饱和湿度的细胞培养箱中培养,待细胞达到时间点后收集细胞,洗涤细胞后,继续加入 500 μL Binding Buffer 重悬细胞。使用 Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒对细胞进行双重染色,用 Flow Jo 软件分析细胞凋亡率。

1.2.7 细胞划痕实验检测细胞迁移 将细胞接种于 6 孔板,培养 24 h 后进行转染。用 200 μL 无菌吸头尖划伤单层细胞制造划痕,PBS 洗涤细胞 3 次,除去细胞碎片。向孔中加入培养基(无血清)继续培养于培养箱中。使用光学显微镜对 0 和 24 h 的划痕进行拍照记录,计算迁移距离。

1.2.8 Transwell 实验检测细胞侵袭 将 Matrigel 胶置于 4 °C 过夜解冻,建立 Transwell 侵袭小室模型。将转染后的细胞取出并消化,加入无血清的 DMEM 培养基重悬为单细胞悬液。涂有基质胶的 Transwell 放置在 24 孔板中,将 5 × 10⁴ 个/孔的细胞加入 Transwell 上室,下室加入含 10% 胎牛血清的培养液 800 μL,放入培养箱中继续培养 24 h,4% 多聚甲醛固定,对膜下细胞进行计数。

1.2.9 荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH) 实验 将处理过的细胞固定和透化后,与预杂交缓冲液在 37 °C 孵育 30 min,清洗细胞,并与含有探针的杂交缓冲液于 4 °C 培养过夜。随后清洗细胞,DAPI 染色 5 min。荧光显微镜下观察样品,circRNA CCND1 探针在细胞中表现为绿色,DAPI 染色表现为蓝色,并采集两项荧光通道合并后的 Merge 染色图。

1.2.10 流式细胞术检测细胞周期 将 5 × 10⁵ 个/孔的细胞培养于 6 孔板中,于细胞培养箱中培养,收

集细胞。加入 70% 乙醇细胞于 4 ℃ 中固定过夜。以 1 500 r/min 离心 5 min, 收集细胞, 弃上清液, PBS 后加入 100 μL RNase A, 置于 37 ℃ 水浴 30 min。最后加入 PI 染色液, 4 ℃ 避光孵育 30 min。通过流式细胞术检测细胞周期。

1.3 统计学方法

数据分析采用 Graph Pad Prism 6.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两样本间比较采用 *t* 检验, 多样本间比较采用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 进一步两两比较用 Tukey 显著性检验。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 circRNA CCND1 在 HepG2、L02 细胞中的表达

CircRNA CCND1 由 3 个外显子构成, 设计引物跨越成环位点 (见图 1)。凝胶电泳检测显示条带正常 (见图 2)。测序结果证实 CircRNA CCND1 的存在和引物的正确性 (见图 3)。FISH 实验结果显示, circRNA CCND1 能够表达于肝癌细胞系 HepG2 细胞质中 (见图 4)。通过 qRT-PCR 检测, L02、HepG2 细胞 circRNA CCND1 相对表达量分别为 (1.04 ± 0.10)、(2.63 ± 0.50), 经 *t* 检验, 差异有统计学意义 (*t* = 5.422, *P* = 0.006), HepG2 细胞较 L02 细胞高。

2.2 各组 circRNA CCND1 相对表达量比较

Control 组、Si-NC 组、Si-circRNA CCND1 组、Oe-NC 组、Oe-circRNA CCND1 组 circRNA CCND1 相对表达量分别为 (1.04 ± 0.04)、(0.96 ± 0.02)、(0.23 ± 0.03)、(0.99 ± 0.02)、(5.70 ± 0.60), 经方差分析, 差异有统计学意义 (*F* = 204.300, *P* = 0.000)。Si-circRNA CCND1 组较 Control 组和 Si-NC 组下降 (*P* < 0.05), Oe-circRNA CCND1 组较 Control 组和 Oe-NC 组升高 (*P* < 0.05)。

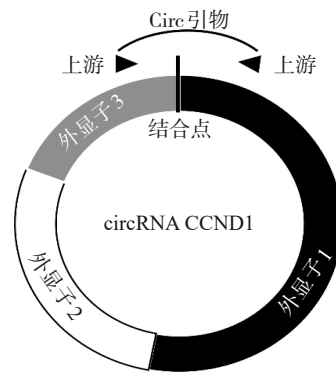


图 1 circRNA CCND1 结构图

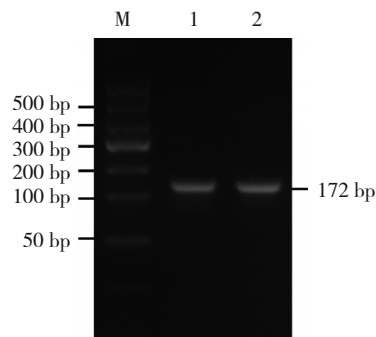


图 2 PCR凝胶电泳图

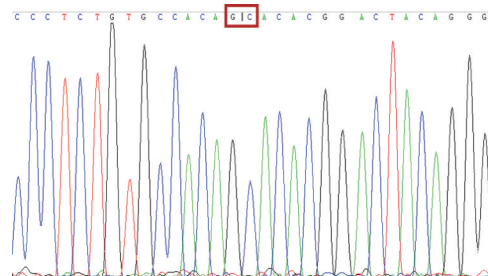


图 3 PCR产物测序图

2.3 各组不同时间点细胞吸光度值比较

各组培养 0、24、48、72 和 96 h 后细胞增殖活性比较, 经重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点细胞增殖活性比较, 差异有统计学意义 (*F* = 238.700, *P* = 0.000); ②各组细胞增殖活性比较, 差

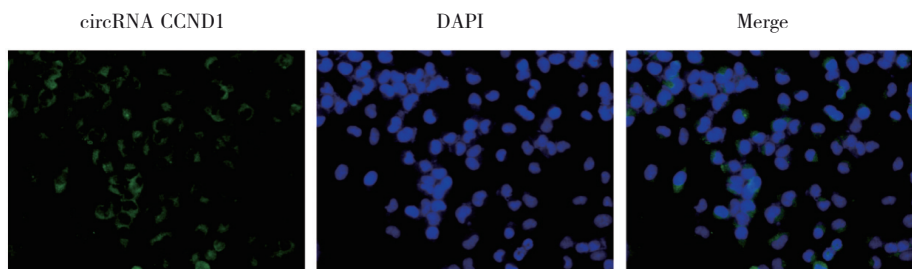


图 4 circRNA CCND1 在 HepG2 细胞的定位情况 (荧光原位杂交 × 400)

异有统计学意义 ($F=88.480, P=0.000$); ③各组细胞增殖活性变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F=5.059, P=0.000$)。通过 EdU 法检测结果表明, 与 Control 组和 Si-NC 组比较, Si-circRNA CCND1 组细

胞活力下降, 与 Control 组和 Oe-NC 组比较, Oe-circRNA CCND1 组细胞活力升高, 提示 circRNA CCND1 可促进 HepG2 细胞增殖。见表 1 和图 5。

表 1 各组不同时间点细胞吸光度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Control 组	0.28 ± 0.01	0.46 ± 0.06	0.60 ± 0.04	0.93 ± 0.14	1.07 ± 0.14
Si-NC 组	0.27 ± 0.02	0.43 ± 0.04	0.57 ± 0.02	0.89 ± 0.09	1.03 ± 0.05
Si-circRNA CCND1 组	0.28 ± 0.02	0.34 ± 0.07	0.43 ± 0.02 ^{①②}	0.71 ± 0.12 ^{①②}	0.72 ± 0.12 ^{①②}
Oe-NC 组	0.29 ± 0.03	0.51 ± 0.04	0.65 ± 0.10	0.95 ± 0.02	1.06 ± 0.16
Oe-circRNA CCND1 组	0.30 ± 0.02	0.58 ± 0.04	0.90 ± 0.10 ^{①③}	1.28 ± 0.12 ^{①③}	1.51 ± 0.04 ^{①③}

注: ①与 Control 组比较, $P < 0.05$; ②与 Si-NC 组比较, $P < 0.05$; ③与 Oe-NC 组比较, $P < 0.05$ 。

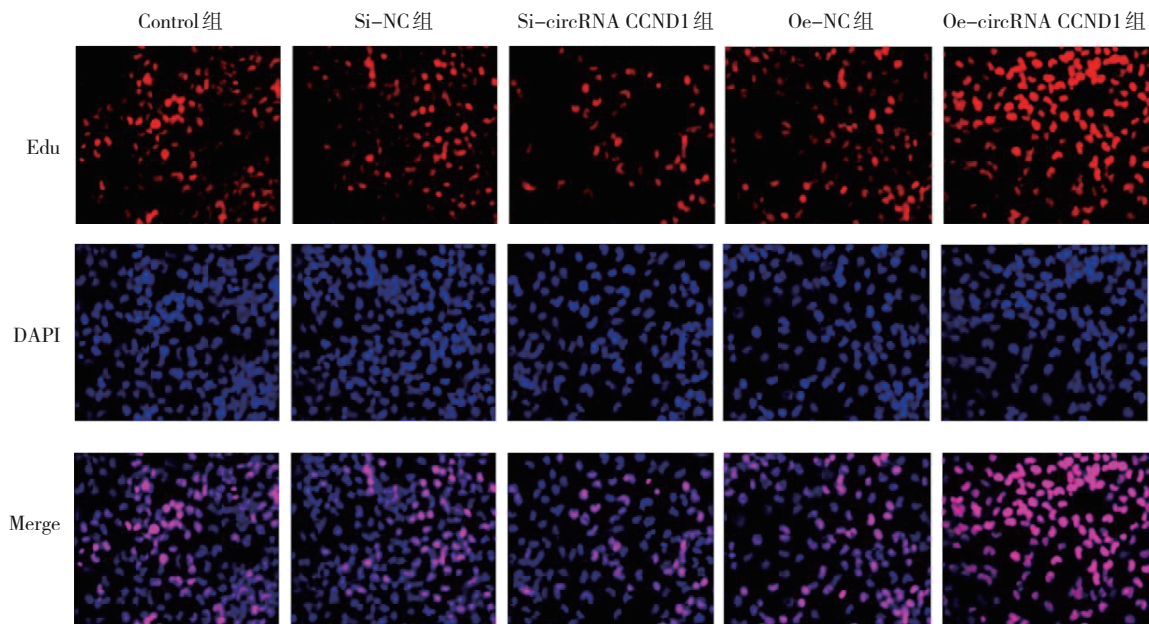


图 5 各组 HepG2 细胞增殖情况 ($\times 400$)

2.4 各组细胞凋亡率、细胞周期比较

各组细胞凋亡率、细胞周期比值比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 Control 组及 Si-NC 组比较, Si-circRNA CCND1 组细胞凋亡率升高, G_0/G_1 期比值升高, S 及 G_2/M 期比值下降 ($P < 0.05$); 与 Control

组及 Oe-NC 组比较, Oe-circRNA CCND1 组细胞凋亡率下降, G_0/G_1 期比值下降, S 及 G_2/M 期比值升高 ($P < 0.05$)。表明 circRNA CCND1 能够抑制细胞凋亡, 加快细胞周期。见图 6、7 和表 2。

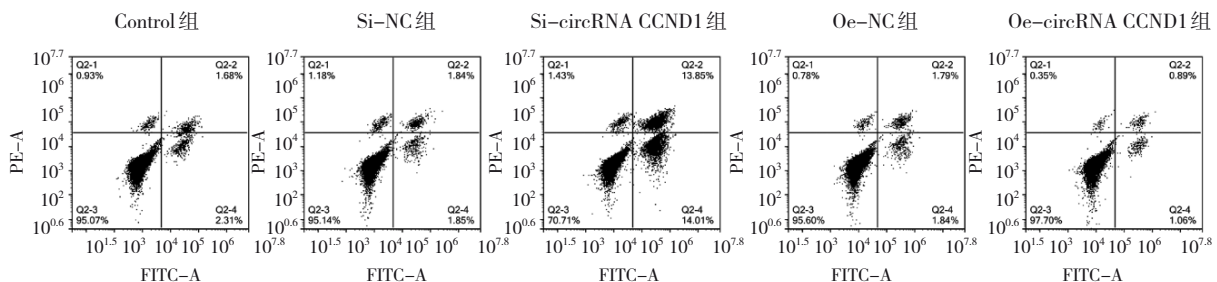


图 6 各组细胞凋亡情况

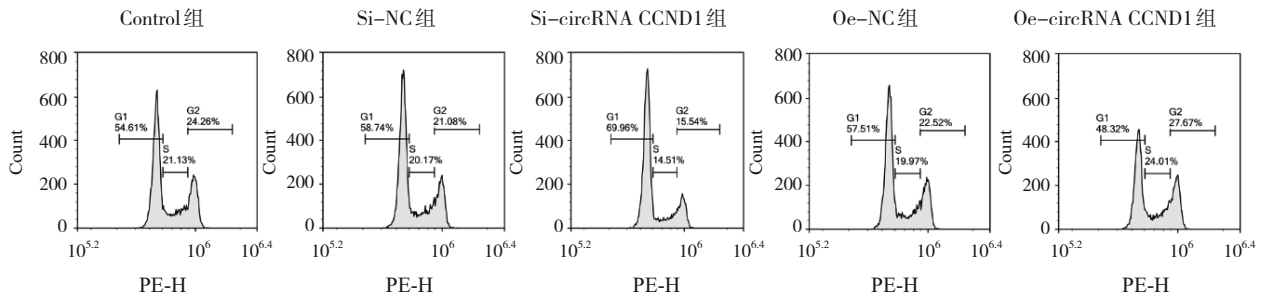


图 7 各组细胞周期变化

表 2 各组不同时间点细胞凋亡率、细胞周期比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	凋亡率/%	细胞周期		
		G ₀ /G ₁ 期	S期	G ₂ /M期
Control 组	3.94 ± 0.40	56.19 ± 1.98	20.78 ± 0.78	23.03 ± 1.28
Si-NC 组	4.08 ± 0.34	56.36 ± 2.22	20.95 ± 0.73	22.69 ± 1.50
Si-circRNA CCND1 组	30.26 ± 3.00	69.07 ± 0.96	15.61 ± 1.08	15.33 ± 0.19
Oe-NC 组	3.76 ± 0.22	56.49 ± 0.89	20.67 ± 0.64	22.84 ± 0.33
Oe-circRNA CCND1 组	2.28 ± 0.30	46.86 ± 1.27	24.88 ± 0.79	28.25 ± 0.64
F 值	233.743	77.003	49.040	71.893
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

2.5 各组迁移细胞数、侵袭细胞数比较

各组细胞侵袭数、细胞迁移数比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。Si-circRNA CCND1 组较 Control 组、Si-NC 组少 ($P < 0.05$), Oe-circRNA CCND1

组较 Control 组及 Oe-NC 组多 ($P < 0.05$)。表明 circRNA CCND1 能够促进 HepG2 细胞侵袭和迁移能力。见图 8、9 和表 3。

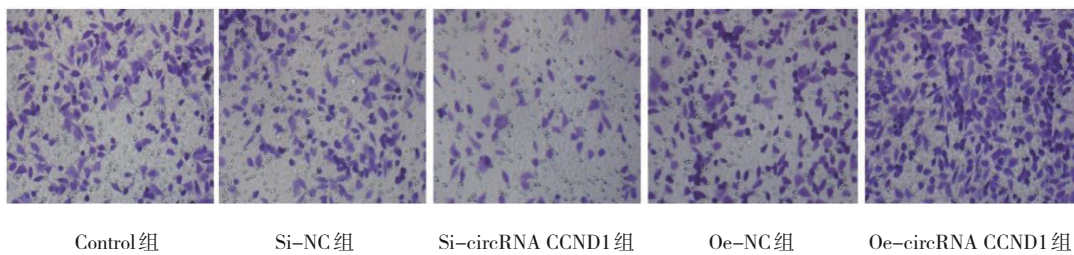


图 8 各组细胞侵袭能力比较 (× 200)

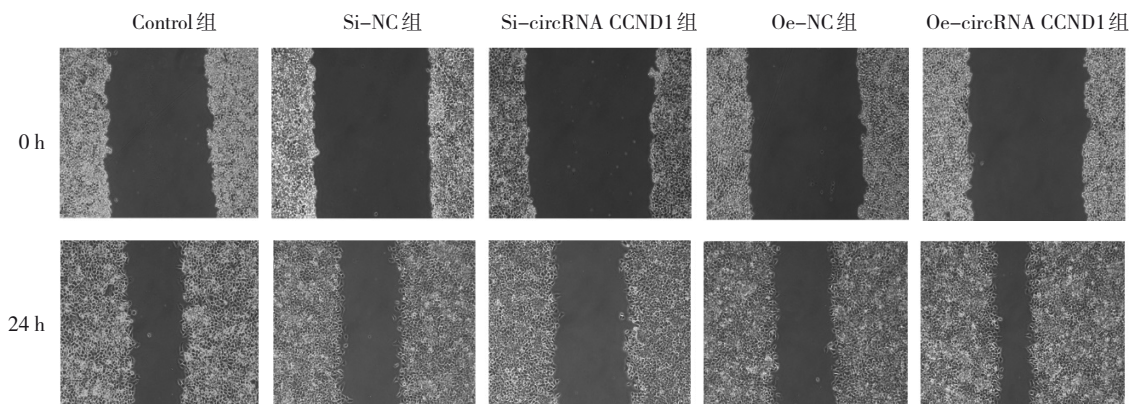


图 9 各组划痕实验 (× 100)

表 3 各组迁移细胞数、侵袭细胞数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	侵袭细胞数/个	迁移细胞率/%
Control 组	237.60 ± 31.00	47.56 ± 1.07
Si-NC 组	224.00 ± 31.70	45.28 ± 1.68
Si-circRNA CCND1 组	118.00 ± 19.65	29.46 ± 0.89
Oe-NC 组	231.80 ± 30.11	46.09 ± 1.18
Oe-circRNA CCND1 组	387.40 ± 30.85	76.13 ± 0.72
F 值	54.828	643.648
P 值	0.000	0.000

3 讨论

HCC 作为原发性恶性肿瘤之一,已成为一个重大的全球健康问题。因其早期阶段临床症状不明显,多数患者首次接受诊断时已处于晚期。目前的技术手段虽能够部分改善 HCC 的症状,但患者的预后和长期生存率较差^[14]。患者疾病的进展与肿瘤生长、侵袭、转移、上皮-间质转化和细胞周期等肿瘤生物学过程有关^[15]。因此,确定 HCC 的生物标志物及其作用机制对 HCC 的诊断,治疗及预后至关重要。

基因组测序研究表明,人类基因组中蛋白质编码基因组占比 < 2%, > 98% 的基因组被转录为非编码 RNA^[16]。近年来, circRNA 被认为是一种与癌症进展及治疗耐药性密切相关的内源性非编码 RNA^[17]。大量文献证实 circRNA 可通过与 microRNA 海绵吸附、蛋白质的相互作用及作为蛋白质翻译模板等调控功能,参与癌变和肿瘤进展^[18]。例如, hsa_circ_104348 作为 miR-187-3p 的竞争性内源 RNA 从而调节 RTKN2 表达,成为 HCC 预后的潜在生物标志物^[19]; XU 等^[20]发现 circRNA-SORE 在索拉非尼耐药的 HCC 细胞中上调,从而可作为晚期 HCC 的新型药物干预;另外,外泌体 circRNA-100338 可调控血管生成和 HCC 转移^[21]。笔者后续也将探讨 circRNA 在 HCC 中的作用。

CCND1 是细胞周期的重要调节因子,在癌症发病机制中起着核心作用,参与调控乳腺癌、肺癌、卵巢癌、HCC 等肿瘤的发生、发展^[22]。在正常细胞中, CCND1 表达水平受到严格调节;相反,在癌症中,其活性以各种方式增强,进而引起肿瘤细胞增殖失控,参与调节肿瘤细胞侵袭和迁移能力^[23]。有研究

表明 let-7i-3p 通过下调 CCND1 抑制结直肠癌细胞的细胞周期、增殖、侵袭和迁移^[24]; microRNA-195 通过抑制 CDC42/CCND1 途径,抑制上皮卵巢癌中的细胞增殖、迁移和侵袭^[25]; Hsa_circ_0008092 通过 miR-502-5p/CCND1 轴促进 HCC 的细胞增殖和转移^[26]。同时,另有研究表明 circRNA CCND1 可通过与 HuR 和 miR-1 相互作用提高 CCND646 表达,促进喉鳞状细胞癌的增殖^[12]。现有研究表明 HCC 患者的癌组织和癌旁组织中 circRNA CCND1 mRNA 高表达^[13]。本研究通过 FISH 及 qRT-PCR 检测,表明 circRNA CCND1 在肝癌细胞系 HepG2 中表达上调。为进一步探讨 circRNA CCND1 在 HepG2 中的作用,在 HepG 细胞中敲低或过表达 circRNA CCND1,进而观察 HepG2 细胞的生理学功能。结果显示,敲低 circRNA CCND1 可诱导细胞周期阻滞,进而抑制 HepG 细胞增殖、侵袭、迁移,促进细胞凋亡;而过表达 circRNA CCND1 可加快细胞分裂,促进 HepG 细胞增殖、侵袭、迁移,抑制细胞凋亡。

综上所述,本课题组证实了 circRNA CCND1 促进 HepG 细胞的细胞周期、增殖、侵袭、迁移,抑制细胞凋亡。虽然 circRNA 具有稳定,不易降解等特点。但由于检测手段及自身表达等问题,有关 circRNA 的研究仍需进一步探索。希望能够进一步通过体液检测等手段,探讨 circRNA CCND1 作为生物标志物,治疗剂和药物靶点的临床潜力。

参 考 文 献 :

- [1] CALDERARO J, SERAPHIN T P, LUEDDE T, et al. Artificial intelligence for the prevention and clinical management of hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2022, 76(6): 1348-1361.
- [2] LIU Y, ZHANG H L, HAN X, et al. Bioinformatics methods reveal the biomarkers and the miRNA-mRNA network in hepatocellular carcinoma[J]. J Healthc Eng, 2022, 2022: 9963096.
- [3] VOGEL A, MEYER T, SAPISOCHIN G, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2022, 400(10360): 1345-1362.
- [4] LEE T K W, GUAN X Y, MA S. Cancer stem cells in hepatocellular carcinoma - from origin to clinical implications[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2022, 19(1): 26-44.
- [5] YANG L, WILUSZ J E, CHEN L L. Biogenesis and regulatory roles of circular RNAs[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2022, 38: 263-289.
- [6] LASDA E, PARKER R. Circular RNAs: diversity of form and function[J]. RNA, 2014, 20(12): 1829-1842.
- [7] WANG D D, YANG S J, WANG H, et al. The progress of circular RNAs in various tumors[J]. Am J Transl Res, 2018, 10(6): 1571-

- 1582.
- [8] TANG L, XIONG W, ZHANG L S, et al. circSETD3 regulates MAPRE1 through miR-615-5p and miR-1538 sponges to promote migration and invasion in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncogene*, 2021, 40(2): 307-321.
- [9] DU W W, YANG W N, LI X M, et al. A circular RNA circ-DNMT1 enhances breast cancer progression by activating autophagy[J]. *Oncogene*, 2018, 37(44): 5829-5842.
- [10] ZHENG J, YAN X J, LU T Y, et al. CircFOXK2 promotes hepatocellular carcinoma progression and leads to a poor clinical prognosis via regulating the Warburg effect[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 63.
- [11] BENDRIS N, LEMMERS B, BLANCHARD J M. Cell cycle, cytoskeleton dynamics and beyond: the many functions of cyclins and CDK inhibitors[J]. *Cell Cycle*, 2015, 14(12): 1786-1798.
- [12] ZANG Y Z, LI J, WAN B L, et al. circRNA circ-CCND1 promotes the proliferation of laryngeal squamous cell carcinoma through elevating CCND1 expression via interacting with HuR and miR-646[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(4): 2423-2433.
- [13] ZHENG S, HOU J H, CHANG Y F, et al. CircRNA Circ-CCND1 aggravates hepatocellular carcinoma tumorigenesis by regulating the miR-497-5p/HMGA2 axis[J]. *Mol Biotechnol*, 2022, 64(2): 178-186.
- [14] CHIDAMBARANATHAN-REGHUPATY S, FISHER P B, SARKAR D. Hepatocellular carcinoma (HCC): epidemiology, etiology and molecular classification[J]. *Adv Cancer Res*, 2021, 149: 1-61.
- [15] LEBER M F, EFFERTH T. Molecular principles of cancer invasion and metastasis (review)[J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(4): 881-895.
- [16] SLACK F J, CHINNAIYAN A M. The role of non-coding RNAs in oncology[J]. *Cell*, 2019, 179(5): 1033-1055.
- [17] YU T, WANG Y F, FAN Y, et al. CircRNAs in cancer metabolism: a review[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 90.
- [18] KRISTENSEN L S, JAKOBSEN T, HAGER H, et al. The emerging roles of circRNAs in cancer and oncology[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(3): 188-206.
- [19] HUANG G Q, LIANG M, LIU H Y, et al. CircRNA hsa_circRNA_104348 promotes hepatocellular carcinoma progression through modulating miR-187-3p/RTKN2 axis and activating Wnt/β-catenin pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(12): 1065.
- [20] XU J J, WAN Z, TANG M Y, et al. N6-methyladenosine-modified CircRNA-SORE sustains sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma by regulating β-catenin signaling[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 163.
- [21] HUANG X Y, HUANG Z L, HUANG J, et al. Exosomal circRNA-100338 promotes hepatocellular carcinoma metastasis via enhancing invasiveness and angiogenesis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 20.
- [22] MONTALTO F I, DE AMICIS F. Cyclin D1 in cancer: a molecular connection for cell cycle control, adhesion and invasion in tumor and stroma[J]. *Cells*, 2020, 9(12): 2648.
- [23] TCHAKARSKA G, SOLA B. The double dealing of cyclin D1[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(2): 163-178.
- [24] TU F, LI M F, CHEN Y Y, et al. Let-7i-3p inhibits the cell cycle, proliferation, invasion, and migration of colorectal cancer cells via downregulating CCND1[J]. *Open Med (Wars)*, 2022, 17(1): 1019-1030.
- [25] HAO X Y, JIA Q Q, YUAN J L, et al. MicroRNA-195 suppresses cell proliferation, migration and invasion in epithelial ovarian carcinoma via inhibition of the CDC42/CCND1 pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(5): 1862-1872.
- [26] MAIMAITI Y L H M, KAMALI A H S, YANG P, et al. Hsa_circ_0008092 contributes to cell proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma via the miR-502-5p/CCND1 axis[J]. *Protein Pept Lett*, 2022, 29(7): 595-604.

(李科 编辑)

本文引用格式: 董辉, 顾铃毓, 俞梦楚, 等. circRNA CCND1 对人肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2024, 34(8): 1-8.

Cite this article as: DONG H, GU L Y, YU M C, et al. Effects of circRNA CCND1 on proliferation, apoptosis, invasion and migration of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(8): 1-8.