DOI:10.16016/j.2097-0927.202309005

长链非编码 RNA SFTA1P 在肺鳞状细胞癌中的表达及其对肺鳞状细胞癌细胞生物学功能的影响

万围萍[1],谢薇佳[1],夏婷婷[1],向 颖[1],邬 娜[1],李成英[1],单亦凡[1],白 莉[2],李亚斐[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)军事预防医学系军队流行病学教研室[1];400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院呼吸内科研究所,全军呼吸病研究重点实验室[2]

[摘要] **目的** 探究长链非编码 RNA 表面活性剂相关 1 假基因(surfactant associated 1 pseudogene,SFTA1P)在肺鳞状细胞癌(简称肺鳞癌)中的表达水平及其对肺鳞癌细胞生物学功能的影响。**方法** 提取癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库数据,分析 SFTA1P 在肺鳞癌组织及正常肺组织中的表达差异;qRT-PCR 检测 SFTA1P 在人正常肺上皮细胞系(BEAS-2B)和肺鳞癌细胞系(H520 和 SK-MES-1)中的表达;通过转染 SFTA1P 过表达质粒及 SFTA1P 小干扰 RNA 分别构建 SFTA1P 过表达及干扰细胞模型;通过 CCK-8 及 Transwell 实验检测 SFTA1P 对肺鳞癌细胞生物学功能的影响;通过差异分析、相关性分析和功能富集分析探讨 SFTA1P 影响肺鳞癌细胞生物学功能的潜在机制。**结果** TCGA 数据库肺鳞癌样本分析结果显示,SFTA1P 在肺鳞癌组织中表达较正常肺组织低($P<0.05$);SFTA1P 在肺鳞癌细胞中表达也较人正常肺上皮细胞低($P<0.05$);在肺鳞癌细胞系中,相比于 H520 细胞株,SFTA1P 在 SK-MES-1 细胞株中相对低表达($P<0.05$);细胞功能实验结果发现,过表达 SFTA1P 可抑制肺鳞癌细胞增殖、迁移及侵袭($P<0.05$),敲低 SFTA1P 可增强肺鳞癌细胞增殖、迁移及侵袭($P<0.05$);差异分析、相关性分析和功能富集分析结果表明,SFTA1P 在肺鳞癌中可能抑制 MYC、G2m 检查点和 E2f 等信号通路。**结论** SFTA1P 在肺鳞癌中具有抑癌功能,其可能通过抑制 MYC、G2m 检查点和 E2f 等信号通路影响肺鳞癌细胞的生物学功能。

[关键词] 长链非编码 RNA;SFTA1P;肺鳞癌;细胞增殖;细胞迁移;细胞侵袭
[中图法分类号] R394.3; R730.23; R734.2 [文献标志码] A

Expression of long non-coding RNA SFTA1P and its effect on biological functions in lung squamous cell carcinoma

WAN Weiping[1], XIE Weijia[1], XIA Tingting[1], XIANG Ying[1], WU Na[1], LI Chengying[1], SHAN Yifan[1], BAI Li[2], LI Yafei[1] [1]Department of Epidemiology, Faculty of Military Preventive Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [2]Institute of Respiratory Diseases, Key Laboratory of Respiratory Disease of PLA, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the expression of long non-coding RNA (lncRNA), surfactant associated 1 pseudogene (SFTA1P) in lung squamous carcinoma and its effect on the biological functions of SFTA1P in lung squamous carcinoma cell lines. **Methods** Based on the cancer genome atlas (TCGA) database, the differential expression of SFTA1P in tumor and normal tissues were compared in patients diagnosed with lung squamous cell carcinoma. Then, the expression of SFTA1P was detected in human normal

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81871896)
[通信作者] 李亚斐,E-mail: liyafei2008@hotmail.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

lung epithelial cell line BEAS-2B and lung squamous cell lines SK-MES-1 and H520 with real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). SK-MES-1 and H520 cells with overexpression and/or knockdown of SFTA1P were constructed by transfecting the overexpression plasmids (pcDNA3.1-SFTA1P) and small interfering RNAs (si-SFTA1P-1 and si-SFTA1P-2). CCK-8 assay and Transwell assay were used to investigate the effect of SFTA1P on biological functions in lung squamous carcinoma cells. Differential gene expression analysis, correlation analysis and functional enrichment analysis were employed to explore the potential mechanism that SFTA1P may affect biological functions of lung squamous cells. **Results** Analysis of TCGA showed that the expression of SFTA1P was significantly lower in lung squamous cell carcinoma tissue than adjacent normal tissue ($P<0.05$). RT-PCR results showed that the expression of SFTA1P was obviously lower in lung squamous carcinoma cells than the human normal lung epithelial cells ($P<0.05$). And the expression level of SFTA1P was relatively lower in the SK-MES-1 cells than the H520 cells ($P<0.05$). Overexpression of SFTA1P suppressed the proliferation, migration and invasion of lung squamous carcinoma cells ($P<0.05$), while its knockdown promoted these abilities ($P<0.05$). Differential gene expression analysis, correlation analysis and functional enrichment analysis indicated that SFTA1P may inhibit MYC, G2m checkpoints and E2f signaling pathways in lung squamous cell carcinoma. **Conclusion** SFTA1P shows anti-cancer function in lung squamous cell carcinoma, and it may affect the biological functions of lung squamous cell carcinoma cells through down-regulating MYC, G2m checkpoints and E2f signaling pathways.

[**Key words**] long non-coding RNA; SFTA1P; lung squamous cell carcinoma; cell proliferation; cell migration; cell invasion

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81871896). Corresponding author: LI Yafei, E-mail: liyafei2008@hotmail.com

肺癌作为发病率及病死率均居全球前列的恶性肿瘤之一,其全国新发病例人数及新增死亡病例人数均居我国癌症首位[1-3]。肺癌根据病理组织类型不同可分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)。其中,NSCLC 最为常见(>85%),而肺鳞状细胞癌,即肺鳞癌,则是 NSCLC 第二常见的亚型[1,4]。据统计,全世界约有 2/3 的肺癌死亡归因于吸烟,而吸烟则是肺鳞癌致病的主要因素之一[5]。2017 年全球疾病负担研究显示[6],吸烟还是我国导致死亡的前四大风险因素之一。因此,在我国开展肺癌,尤其是肺鳞癌相关研究刻不容缓。

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一种包含 200 个以上核苷酸的 RNA,这类 RNA 大多没有蛋白编码能力,少部分可编码功能性小肽,具有较高的组织特异性和疾病特征性,在肿瘤中具有极其重要的作用[7-8]。近年来,大量研究表明,lncRNA 可在表观遗传、转录及转录后翻译层面对基因进行调控[9-10],影响肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭、凋亡和血管生成、上皮间质转化以及抗肿瘤药物的耐药性等多种功能[11-15]。

本课题组前期运用基因表达谱芯片筛选出了肺癌中差异表达的 lncRNAs 并重点关注了表面活性剂相关 1 假基因(surfactant associated 1 pseudogene, SFTA1P)。SFTA1P 位于 10p14 染色体区域,是一种由假基因衍生而来的 lncRNA,全长 693 bp[16]。有研究表明,SFTA1P 在肿瘤发生发展中具有重要作用[17-18],然而目前关于 lncRNA SFTA1P 在肺鳞癌中的作用及机制相关研究仍鲜有报道。因此,本研究将探讨 SFTA1P 对肺鳞癌细胞生物学功能的影响,以期为 lncRNA SFTA1P 在肺鳞癌中的作用及机制相关研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 肺鳞癌细胞系 SK-MES-1 购自美国模式培养物集成库(American type culture collection, ATCC),肺鳞癌细胞系 H520 及人正常肺上皮细胞系 BEAS-2B 购自中国科学院上海细胞生物学研究所细胞库。

1.1.2 主要试剂及耗材 1640 培养基及胎牛血清(Gibco 公司,美国),高糖培养基及胰酶(Hyclone 公司,

美国),青霉素与链霉素溶液、PBS 缓冲液、lipo8000、结晶紫染色液、Cell Counting Kit-8 试剂盒(碧云天公司,中国),RNA 提取试剂盒(Foregene 公司,中国),逆转录试剂盒及 PCR 检测试剂盒(abclonal 公司,中国),基质胶(BD Biosciences 公司,美国),Transwell 小室(康宁公司,美国),引物及 SFTA1P 过表达质粒(上海生工生物有限公司,中国),SFTA1P 小干扰 RNA(吉玛基因,中国)。

1.2 实验方法

1.2.1 SFTA1P 的生物信息学分析 肺鳞癌患者 RNA-seq 数据及临床相关数据均来源于癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库(https://gdc-portal.nci.nih.gov/),下载并提取肺鳞癌组织及其配对正常肺组织中 SFTA1P 表达量数据,探究 SFTA1P 在肺鳞癌组织及其配对正常肺组织之间的表达差异。根据 SFTA1P 表达量的中位数将 TCGA 肺鳞癌患者分为 SFTA1P 高表达组和低表达组,采用 R 软件包 DESeq2 分析两组间的差异表达基因(different expressed gene, DEG),调整 $P<0.05$,设置 $|\log_2 FC|>1$ 为 DEG 的阈值。采用 ggplot2、clusterProfiler、goplot、igraph 和 ggraph 等 R 软件包对 DEGs 进行相关性分析;采用基因本体(gene ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)和基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)对 DEGs 进行功能富集分析。

1.2.2 细胞培养 用含有 10%胎牛血清及 1%青霉素链霉素溶液的 1640 培养基培养 H520 细胞株,用含 10%胎牛血清及 1%青霉素链霉素溶液的高糖培养基培养 SK-MES-1 及 BEAS-2B 细胞株。以上所有细胞培养于 37 ℃的 CO_2 细胞培养箱内。待细胞生长至适宜密度,用 0.25%的胰酶进行消化传代培养。

1.2.3 qRT-PCR 检测细胞中 SFTA1P 表达水平 待细胞生长至 80%的细胞密度后对其进行消化、离心并收集沉淀,提取总 RNA 后进行逆转录 PCR。逆转录程序为 37 ℃ 2 min,55 ℃ 15 min,85 ℃ 5 min,4 ℃保持不变。PCR 程序为 95 ℃ 3 min,95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s,共 40 个循环。以上每个样本重复 3 次,得到的数据使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析处理。其中,内参基因为 *β-actin*,其上游引物为 5′-GCAGAGAAGCTGGTGCTCCGTA-3′,下游引物为 5′-CAGCATGTTGGACTCGATGCAG-3′;SFTA1P 为目的基因,其上游引物为 5′-CAGCATTCCAGGTGGGCTTT-3′,下游引物为 5′-TTGTTTGGCTTACTCGTGCC-3′。本课题组前期已检测过以上引物的效果及特异性[19]。此外,在 SFTA1P 相关下游靶基因的 qRT-PCR 验证过程中,所用靶基因引物序列均来自 PrimerBank(https://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/)。其中,*MYC* 上游引物为 5′-GGCTCCTGGCAAAAGGTCA-3′,下游引物为 5′-CTGCGTAGTTGTGCTGATGT-3′;*E2F1* 上游引物为 5′-ACGCTATGAGACCTCACTGAA-3′,下游引物为 5′-TCCTGGGTCAACCCCTCAAG-3′。

1.2.4 转染并构建过表达和干扰细胞模型 将肺鳞癌细胞接种于 6 孔板中,待生长至适宜密度即可对其进行转染。转染前 2 h 将 6 孔板中培养基更换为含 10%血清但不含青霉素链霉素溶液的培养基。按 lipo8000 说明书配制包含过表达质粒或小干扰 RNA、Opti-MEM 和 lipo8000 的转染混合液,配制完成后即可将混合液加入至 6 孔板中,4~6 h 后再更换为完全培养基继续培养。24 h 后收集细胞,提取总 RNA,进行逆转录 PCR 验证目的基因的转染效果。其中,过表达细胞模型构建过表达组转染 SFTA1P 过表达质粒(pcDNA3.1-SFTA1P),对照组转染空质粒(pcDNA3.1);干扰细胞模型构建敲低组转染 SFTA1P 小干扰 RNA(si-SFTA1P-1 和 si-SFTA1P-2),对照组转染对照小干扰 RNA(si-NC)。

1.2.5 细胞增殖实验 收集转染后的细胞,测定并调整细胞悬液浓度,于 96 孔板中每孔接种 200 μL 细胞悬液(含 3 000 个细胞),然后继续在细胞培养箱内培养 5 d。每天设 3 个复孔,分别在第 1、2、3、4、5 天加入 110 μL CCK-8 工作液,在培养箱中继续培养 1.5 h 后用酶标仪检测 450 nm 处光密度值。

1.2.6 细胞迁移和侵袭实验 迁移实验:向 24 孔板内加入 500 μL 含血清的培养基,然后将 Transwell 小室放置其中。收集细胞,用不含血清不含青霉素链霉素溶液的培养基重悬并测定细胞浓度。向小室内加入 100 μL 细胞悬液(含 30 000 个细胞),继续培养 12 h。12 h 后取出并擦净小室内侧,用甲醇固定后取出风干,用结晶紫染色后清洗晾干,最后于显微镜下进行拍照计数。

侵袭实验:实验前需将-20 ℃保存的基质胶置于 4 ℃冰箱过夜融化并用提前预冷的无血清培养基按 1∶10 的比例对基质胶进行稀释,将稀释后的基质胶加入 24 孔板中的小室内,再放入培养箱静置 1 h 使其凝固成型,其余步骤与迁移实验大致相同。

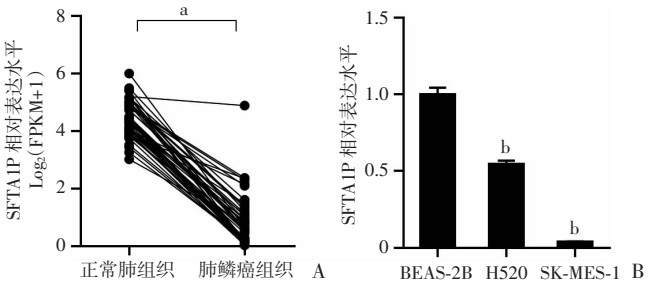
1.3 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9 进行全部统计分析。数据展示为 $\bar{x}\pm s$,通过 Shapiro-Wilk normality test 对数据进行正态性检验,对于符合正态分布的数据,采用 t 检验进行 2 组间比较;对于不符合正态分布的数据,采用非参数检验进行 2 组间比较。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　SFTA1P 在肺鳞癌组织及其配对正常肺组织以及肺鳞癌细胞中的表达

将 TCGA 数据库中 51 例肺鳞癌组织和 51 例与其配对的正常肺组织 SFTA1P 表达量数据(FPKM 数据)进行 $\log_2$(FPKM+1)对数转化处理后,采用配对 t 检验对其进行比较分析,结果显示相对正常肺组织,SFTA1P 在肺鳞癌组织中低表达($P<0.05$,图 1A);在细胞株中对 SFTA1P 进行定量分析,结果显示相比于 BEAS-2B 细胞株,SFTA1P 在 SK-MES-1 及 H520 细胞株中相对低表达($P<0.01$,图 1B)。

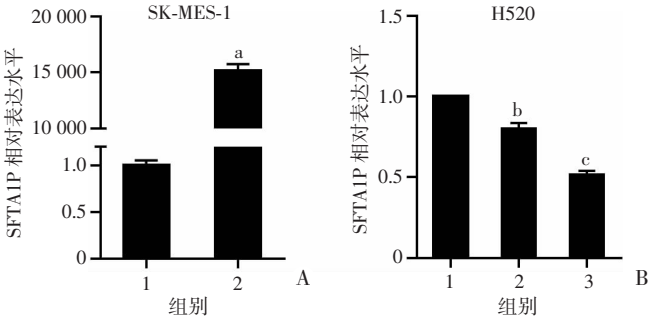


A:SFTA1P 在肺鳞癌组织及其配对正常肺组织中的表达 a:$P<0.05$;B:SFTA1P 在人正常肺上皮细胞及肺鳞癌细胞中的表达　b:$P<0.01$,与 BEAS-2B 细胞株比较

图 1　SFTA1P 在肺鳞癌组织及其配对正常肺组织以及人正常肺上皮细胞及肺鳞癌细胞中的表达

2.2　SFTA1P 过表达和干扰细胞模型的构建

在 SK-MES-1 细胞中转染 SFTA1P 过表达质粒,在 H520 细胞中转染小干扰 RNA 并在 37 ℃细胞培养箱中培养 24 h 后提取总 RNA 进行逆转录 PCR,结果显示,在 SK-MES-1 细胞系中,与转染空质粒(pcDNA3.1)的对照组相比,转染 SFTA1P 过表达质粒(pcDNA3.1-SFTA1P)组的 SFTA1P 表达水平显著升高($P<0.05$,图 2A);在 H520 细胞系中,与转染对照小干扰 RNA(si-NC)的对照组相比,转染 SFTA1P 小干扰 RNA(si-SFTA1P-1 和 si-SFTA1P-2)组的 SFTA1P 表达水平显著下降($P<0.05$,图 2B)。以上结果表明,SFTA1P 过表达及干扰细胞模型构建成功。

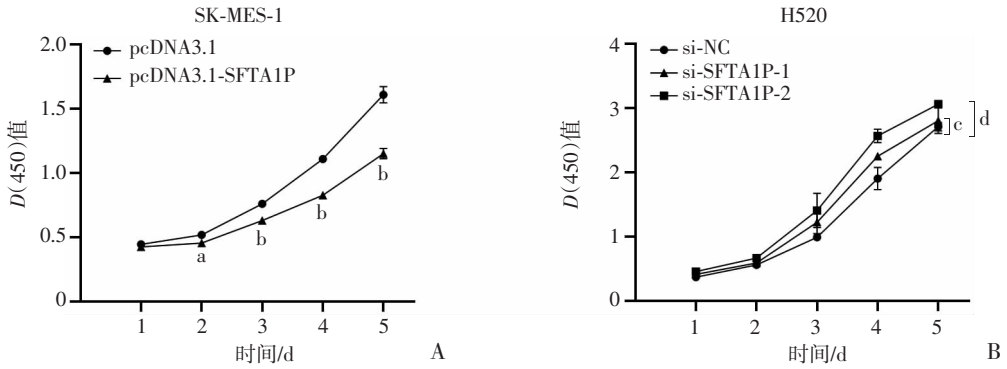


A:过表达细胞模型中 SFTA1P 过表达效果　1:pcDNA3.1;2:pcDNA3.1-SFTA1P;a:$P<0.05$,与 pcDNA3.1 比较;B:干扰细胞模型中 SFTA1P 干扰效果　1:si-NC;2:si-SFTA1P-1;3:si-SFTA1P-2;b:$P<0.05$,与 si-NC 比较;c:$P<0.01$,与 si-NC 比较

图 2　SFTA1P 过表达和干扰细胞模型的构建

2.3　SFTA1P 对肺鳞癌细胞增殖能力的影响

在 SK-MES-1 和 H520 细胞系中,分别过表达和敲低 SFTA1P 并在第 1、2、3、4、5 天对细胞增殖能力进行检测。结果发现在 SK-MES-1 细胞系中,过表达 SFTA1P 组较对照组细胞的增殖能力显著降低($P<0.05$,图 3A);在 H520 细胞系中,敲低 SFTA1P 组较对照组,细胞的增殖能力明显上升($P<0.05$,图 3B)。CCK-8 实验结果表明,SFTA1P 或可抑制肺鳞癌细胞的增殖能力。

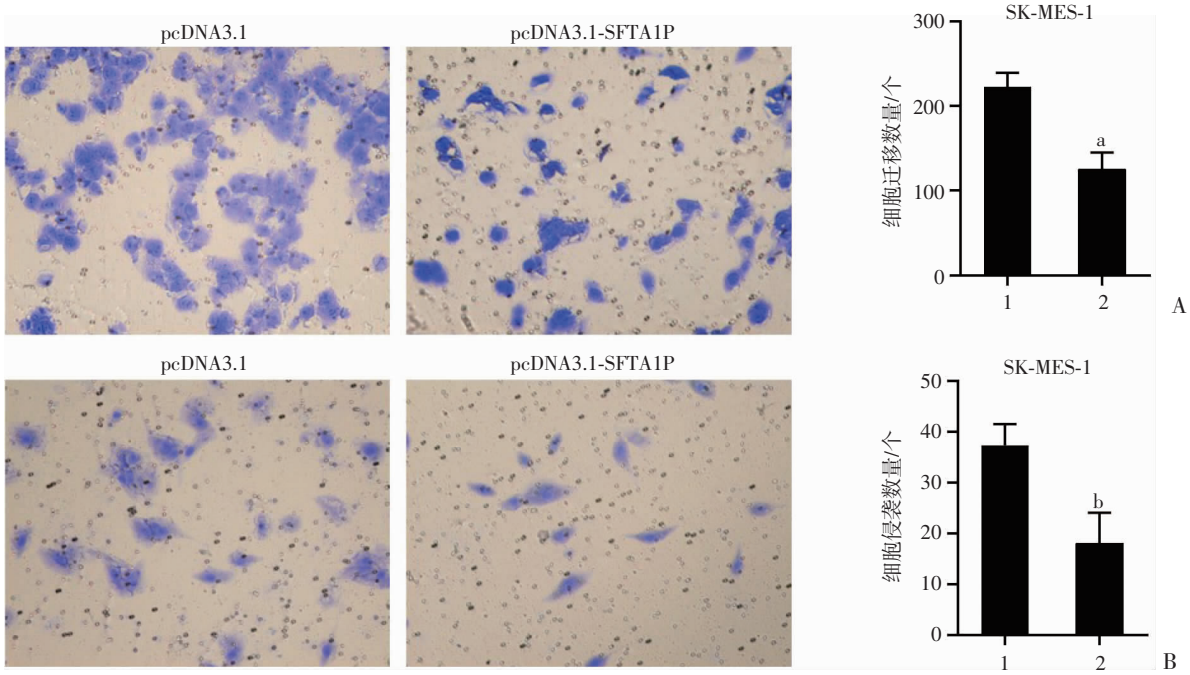


A:SFTA1P 过表达对 SK-MES-1 细胞增殖能力的影响　a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 pcDNA3.1 比较;B:SFTA1P 敲低对 H520 细胞增殖能力的影响　c:$P<0.05$,d:$P<0.01$

图 3　过表达和干扰 SFTA1P 对肺鳞癌细胞增殖的影响

2.4　SFTA1P 对肺鳞癌细胞迁移和侵袭能力的影响

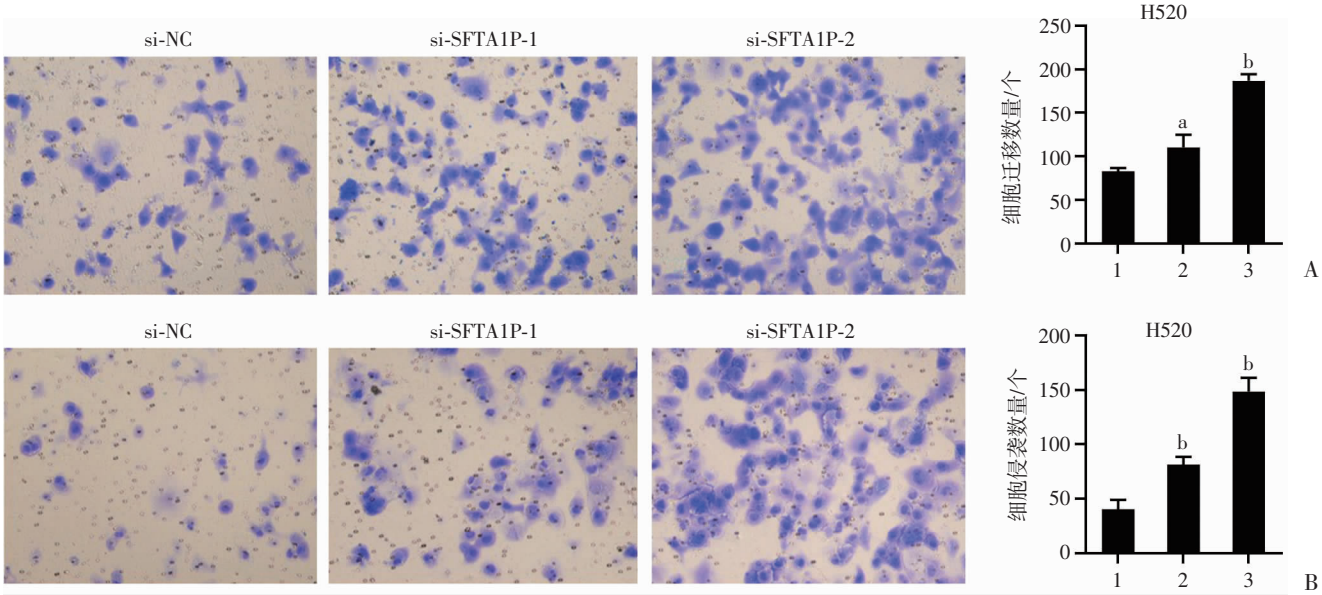
Transwell 迁移实验结果显示,SFTA1P 过表达组的细胞迁移能力较对照组降低($P<0.05$,图 4A),SFTA1P 敲低组的细胞迁移能力较对照组增加($P<0.05$,图 5A);Transwell 侵袭实验结果也显示 SFTA1P 过表达组的细胞侵袭能力较对照组降低($P<0.01$,图 4B),SFTA1P 敲低组的细胞侵袭能力较对照组增加($P<0.01$,图 5B)。Transwell 实验结果表明,SFTA1P 或可降低肺鳞癌细胞的迁移和侵袭能力。



1:pcDNA3.1;2:pcDNA3.1-SFTA1P

A:SFTA1P 过表达对 SK-MES-1 细胞迁移能力的影响(×100)　a:$P<0.05$,与 pcDNA3.1 比较;B:SFTA1P 过表达对 SK-MES-1 细胞侵袭能力的影响(×100)　b:$P<0.01$,与 pcDNA3.1 比较

图 4　过表达 SFTA1P 对肺鳞癌细胞迁移及侵袭的影响



1:si-NC;2:si-SFTA1P-1;3:si-SFTA1P-2;a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 si-NC 比较

A:SFTA1P 敲低对 H520 细胞迁移能力的影响(×100);B:SFTA1P 敲低对 H520 细胞侵袭能力的影响(×100)

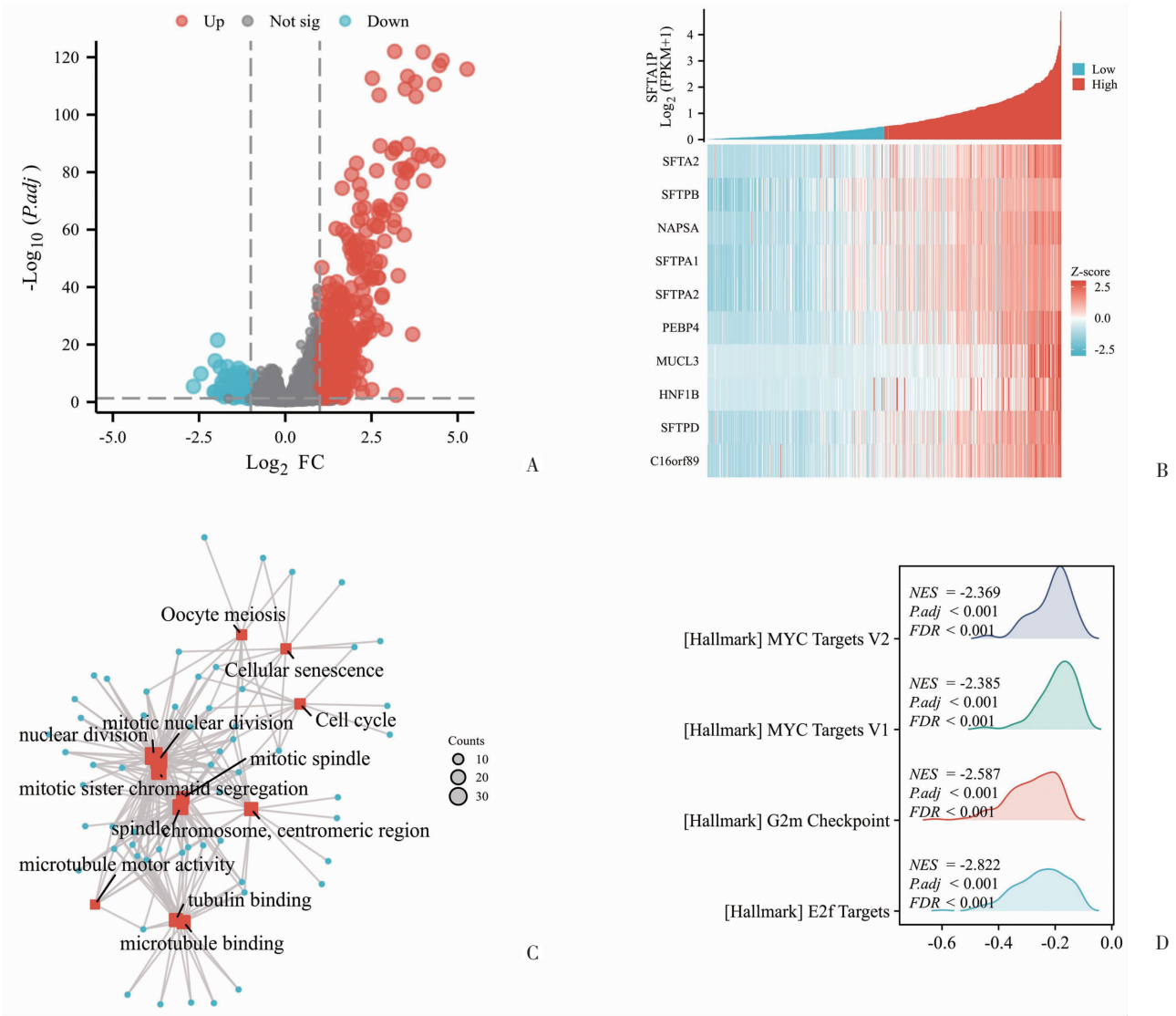
图 5　干扰 SFTA1P 对肺鳞癌细胞迁移及侵袭的影响

2.5 肺鳞癌中 SFTA1P 相关差异基因及其功能富集分析

根据 SFTA1P 表达量的中位数将 TCGA 肺鳞癌患者分为 SFTA1P 高表达组和低表达组并进行差异分析,结果显示 SFTA1P 高表达组和低表达组间共有 660 个 DEGs,其中 559 个上调,101 个下调(图 6A)。采用 Spearman 相关性分析方法分析差异表达最显著的前 10 个 DEGs 与 SFTA1P 的相关性(图 6B)。接下来进一步对 DEGs 进行 GO 和 KEGG 富集分析,结果显示差异基因主要富集在细胞的有丝分裂、周期和衰老等功能上(图 6C)。对差异基因进行 GSEA 富集分析,结果显示差异基因主要富集在 MYC、G2m 检查点和 E2f 等信号通路上,并在 SFTA1P 高表达组整体呈现下调趋势(MYC Targets V2 *NES* = −2.369;MYC Targets V1 *NES* = −2.385;G2m Checkpoints *NES* = −2.587;E2f Targets *NES* = −2.822)(图 6D)。以上结果提示 SFTA1P 在肺鳞癌中可能通过抑制 MYC、G2m 检查点和 E2f 等信号通路影响肺鳞癌细胞的生物学功能,从而在肺鳞癌中发挥抑癌作用。

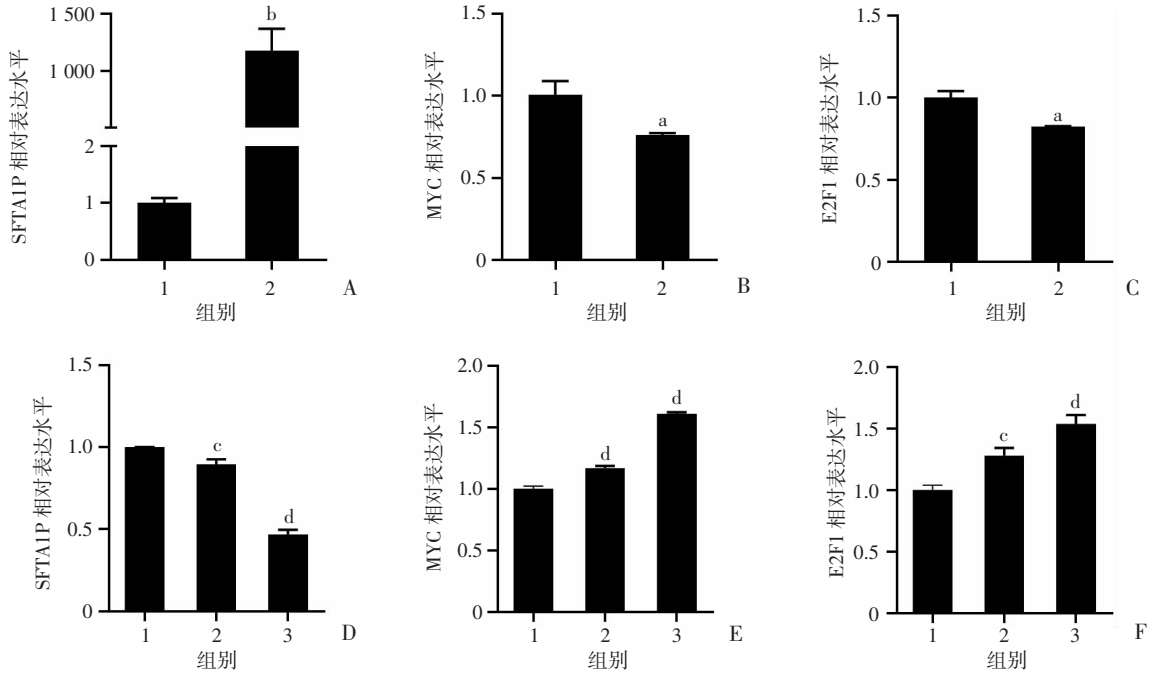
2.6 肺鳞癌中 SFTA1P 相关下游靶基因的验证

利用 SFTA1P 过表达和干扰细胞模型,通过 qRT-PCR 对 SFTA1P 相关下游靶基因(MYC 和 E2F1)进行验证,验证结果显示过表达 SFTA1P 可下调 MYC 和 E2F1 的表达(P<0.05,图 7A~C),而敲低 SFTA1P 可上调 MYC 和 E2F1 的表达(P<0.05,图 7D~F)。上述结果进一步提示 SFTA1P 在肺鳞癌中可能通过抑制 MYC 和 E2F1 等癌基因的表达而在肺鳞癌中发挥抑癌作用。



A:SFTA1P 相关 DEGs 火山图;B:SFTA1P 表达与差异表达最显著的前 10 个 DEGs 相关性热图;C:SFTA1P 相关 DEGs 的 GO 和 KEGG 富集分析网络图;D:SFTA1P 相关 DEGs 的 GSEA 富集分析山峦图

图 6 肺鳞癌中基于 SFTA1P 相关差异基因的富集分析



A~C:SK-MES-1 细胞过表达 SFTA1P 后 SFTA1P、MYC、E2F1 的相对表达水平 1:pcDNA3.1;2:pcDNA3.1-SFTA1P;a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 pcDNA3.1 比较;D~F:H520 细胞敲低 SFTA1P 后 SFTA1P、MYC、E2F1 的相对表达水平 1:si-NC;2:si-SFTA1P-1;3:si-SFTA1P-2;c:$P<0.05$,d:$P<0.01$,与 si-NC 比较

图 7 肺鳞癌中 SFTA1P 相关下游靶基因的 qRT-PCR 验证

3 讨论

本研究通过对 TCGA 数据库相关数据进行分析,发现 SFTA1P 在正常肺组织中高表达,在肺鳞癌组织中低表达,这引起了本课题组的极大关注。进而在肺鳞癌细胞中探究 SFTA1P 表达水平,通过构建 SFTA1P 过表达及干扰细胞模型并开展相关实验,发现 SFTA1P 可影响肺鳞癌细胞的增殖、迁移及侵袭。接着,通过生物信息学分析方法对肺鳞癌中 SFTA1P 相关 DEGs 进行相关性分析和功能富集分析,发现差异基因主要富集在 MYC、G2m 检查点和 E2f 等信号通路上。最后通过 qRT-PCR 对 SFTA1P 相关下游靶基因(MYC 和 E2F1)进行了验证。以上结果表明,SFTA1P 在肺鳞癌中可能通过抑制 MYC、G2m 检查点和 E2f 信号通路影响肺鳞癌细胞的生物学功能,从而在肺鳞癌中发挥抑癌作用。

越来越多研究证据表明,lncRNAs 在肺鳞癌的发生发展中具有重要作用[20-21]。有研究发现,lncRNA HHIP-AS1 可通过与 *HHIP* mRNA 和 RNA 结合蛋白 HuR 相互作用来稳定 *HHIP* mRNA,从而在肺鳞癌中发挥抑癌作用[22];还有研究发现,E2F 转录因子 7(*E2F7*)作为 lncRNA LINC00649 的转录激活剂,可诱导 LINC00649 在肺鳞癌细胞中高表达,而肺鳞癌细胞中高表达的 LINC00649 可通过募集 TATA-box 结合蛋白相关因子 15(*TAF15*)来增强 MAPK6 的表达从而激活 MAPK6 信号通路并促进肺鳞癌进展[23];此外,ZHAO 等[24]还发现肺鳞癌中高表达的 lncRNA DLX6-AS1 与肺鳞癌细胞的增殖、凋亡以及肿瘤的局部复发密切相关,并且受 H3K4me1 激活的 DLX6-AS1 还可通过 miR-181a-5p/miR-382-5p/CELF1 轴来诱导肺鳞癌的顺铂继发性耐药。

SFTA1P 作为一种新型 lncRNA,既往有文献报道其在胃癌[16]、宫颈癌[18]以及肝细胞癌[25]中均具有重要作用,然而 SFTA1P 在肺癌中的作用及机制却鲜有报道。近年来,有研究表明 SFTA1P 在肺腺癌中低表达,其高表达可抑制肺腺癌细胞的增殖、迁移及侵袭[26],如 ZHANG 等[27]发现 SFTA1P 在肺腺癌中可通过调节缺氧外泌体递送的 miR-4766-5p 激活激酶大肿瘤抑制因子 1/Yes 相关蛋白途径来抑制肿瘤转移。此外,还有文献报道,SFTA1P 在肺腺癌中不仅可以作为正反馈调节因子与 *TAZ* mRNA 相互作用调控 Hippo-YAP/TAZ 信号通路[28],还可以通过调节 hnRNP-U-GADD45A 轴来促进细胞凋亡并增加化疗药物顺铂的敏感性[29]。SFTA1P 在肺肿瘤组织中表达较肺正常组织低,肺腺癌和肺鳞癌作为肺肿瘤的 2 种不同病理类型,SFTA1P 在肺鳞癌组织中表达较肺腺癌组

织低[17],然而上述研究证据大多聚焦于肺腺癌[27-28],而SFTA1P在肺鳞癌中的具体功能却鲜有研究。因此,本研究以肺鳞癌为研究对象,探讨了SFTA1P对肺鳞癌细胞生物学功能的影响,细胞实验结果提示SFTA1P在肺鳞癌中的功能可能与肺腺癌相一致,即在肺鳞癌中高表达SFTA1P可抑制肺鳞癌细胞的增殖、迁移及侵袭。MYC、G2m检查点和E2f信号通路与肿瘤细胞的增殖、周期和DNA修复密切相关[30-34]。本研究细胞功能实验和生物信息学分析结果也提示SFTA1P在肺鳞癌中或可抑制MYC、G2m检查点和E2f信号通路,从而影响肺鳞癌细胞的生物学功能,进而抑制肺鳞癌的进展。上述研究证据充分表明,SFTA1P在肺癌中具有重要作用,或可成为肺癌靶向治疗的新靶点并为肺癌靶向药物的研发提供新的线索。

然而,本研究也存在一定的局限性,本研究仅在肺鳞癌细胞的生物学功能层面和生物信息学层面进行了初步探索,而尚未在具体的机制层面和动物实验层面展开深入研究,对此本课题组将在后续课题进一步完善。

综上所述,本研究将生物信息学和分子生物学方法相结合,探讨了SFTA1P在肺鳞癌中的表达及其影响肺鳞癌细胞生物学功能的潜在机制,发现SFTA1P在正常肺组织及细胞中高表达,在肺鳞癌组织及细胞中低表达,过表达SFTA1P可抑制肺鳞癌细胞的增殖、迁移及侵袭,提示在肺鳞癌中SFTA1P可能通过MYC、G2m检查点和E2f信号通路影响肺鳞癌细胞的生物学功能,从而在肺鳞癌发生发展中发挥抑癌作用,但其中的具体机制仍有待研究。

参考文献:

[1] LEITER A, VELUSWAMY R R, WISNIVESKY J P. The global burden of lung cancer: current status and future trends [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2023, 20(9): 624-639. DOI: 10.1038/s41571-023-00798-3.

[2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al*. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.

[3] DE MARTEL C, GEORGES D, BRAY F, *et al*. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis[J]. Lancet Glob Health, 2020, 8(2): e180-e190. DOI: 10.1016/S2214-109X(19)30488-7.

[4] SCHABATH M B, COTE M L. Cancer progress and priorities: lung cancer [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Pr2019, 28(10): 1563-1579. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-19-0221.

[5] GBD Respiratory Tract Cancers Collaborators. Global, regional, and national burden of respiratory tract cancers and associated risk factors from 1990 to 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. Lancet Respir Med, 2021, 9(9): 1030-1049. DOI: 10.1016/S2213-2600(21)00164-8.

[6] ZHOU M G, WANG H D, ZENG X Y, *et al*. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Lancet, 2019, 394(10204): 1145-1158. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)30427-1.

[7] BRAICU C, ZIMTA A A, HARANGUS A, *et al*. The function of non-coding RNAs in lung cancer tumorigenesis [J]. Cancers, 2019, 11(5): 605. DOI: 10.3390/cancers11050605.

[8] TAN Y T, LIN J F, LI T, *et al*. LncRNA-mediated posttranslational modifications and reprogramming of energy metabolism in cancer[J]. Cancer Commun, 2021, 41(2): 109-120. DOI: 10.1002/cac2.12108.

[9] DAI J L, QU T Y, YIN D D, *et al*. LncRNA LINC00969 promotes acquired gefitinib resistance by epigenetically suppressing of NLRP3 at transcriptional and posttranscriptional levels to inhibit pyroptosis in lung cancer [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(5): 312. DOI: 10.1038/s41419-023-05840-x.

[10] DONG H L, ZENG L L, CHEN W W, *et al*. N6-methyladenine-mediated aberrant activation of the lncRNA SOX2OT-GLI1 loop promotes non-small-cell lung cancer stemness[J]. Cell Death Discov, 2023, 9(1): 149. DOI: 10.1038/s41420-023-01442-w.

[11] ZHAN T, CHENG X T, ZHU Q X, *et al*. LncRNA LOC105369504 inhibits tumor proliferation and metastasis in colorectal cancer by regulating PSPC1 [J]. Cell Death Discov, 2023, 9(1): 89. DOI: 10.1038/s41420-023-01384-3.

[12] LI Z J, CHENG J, SONG Y, *et al*. LncRNA SNHG5 upregulation induced by YY1 contributes to angiogenesis *via* miR-26b/CTGF/VEGFA axis in acute myelogenous leukemia [J]. Lab Invest, 2021, 101(3): 341-352. DOI: 10.1038/s41374-020-00519-9.

[13] WANG G B, LI H, HOU Y. LncRNA MAGI2-AS3 inhibits tumor progression and angiogenesis by regulating ACY1 *via* interacting with transcription factor HEY1 in clear cell renal cell carcinoma [J]. Cancer Gene Ther, 2022, 29(5): 585-596. DOI: 10.1038/s41417-021-00339-z.

[14] SHI C J, XUE Z H, ZENG W Q, *et al*. LncRNA-NEF suppressed oxaliplatin resistance and epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer through epigenetically inactivating MEK/ERK signaling[J]. Cancer Gene Ther, 2023, 30(6): 855-865. DOI: 10.1038/s41417-023-00595-1.

[15] SINGH D, ASSARAF Y G, GACCHE R N. Long non-coding RNA mediated drug resistance in breast cancer[J]. Drug Resist Updat, 2022, 63: 100851. DOI: 10.1016/j.drup.2022.100851.

[16] MA H W, MA T S, CHEN M, *et al*. The pseudogene-derived long non-coding RNA SFTA1P suppresses cell proliferation, migration, and invasion in gastric cancer[J]. Biosci Rep, 2018, 38(2): BSR20171193. DOI: 10.1042/BSR20171193.

[17] DU D D, SHEN X, ZHANG Y Q, *et al*. Expression of long non-coding RNA SFTA1P and its function in non-small cell lung cancer[J]. Pathol Res Pract, 2020, 216(9): 153049. DOI: 10.1016/j.prp.2020.153049.

[18] LUO A R, LAN X X, QIU Q Z, *et al*. LncRNA SFTA1P promotes cervical cancer progression by interaction with PTBP1 to facilitate TPM4 mRNA degradation[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(11): 936. DOI: 10.1038/s41419-022-05359-7.

[19] 陈梦雷, 袁帅, 周玫余, 等. 长链非编码 RNA SFTA1P 在肺腺癌中的表达及预后预测研究[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(21): 2075-2080, 2115. DOI: 10.16016/j.1000-5404.202005271.
CHEN M L, YUAN S, ZHOU M Y, *et al*. Expression of long non-coding RNA SFTA1P in lung adenocarcinoma and its predictive value for prognosis[J]. J Third Mil Med Univ, 2020, 42(21): 2075-2080, 2115. DOI: 10.16016/j.1000-5404.202005271.

[20] YE P, LV X Y, AIZEMAITI R, *et al*. H3K27ac-activated LINC00519 promotes lung squamous cell carcinoma progression by targeting miR-450b-5p/miR-515-5p/YAP1 axis[J]. Cell Prolif, 2020, 53(5): e12797. DOI: 10.1111/cpr.12797.

[21] MA J, QI G B, LI L. LncRNA NNT-AS1 promotes lung squamous cell carcinoma progression by regulating the miR-22/FOXM1 axis[J]. Cell Mol Biol Lett, 2020, 25: 34. DOI: 10.1186/s11658-020-00227-8.

[22] HU Z Y, LIU Y X, TANG J, *et al*. LncRNA HHIP-AS1 suppresses lung squamous cell carcinoma by stabilizing HHIP mRNA[J]. Life Sci, 2023, 321: 121578. DOI: 10.1016/j.lfs.2023.121578.

[23] ZHU H Y, LIU Q Y, YANG X B, *et al*. LncRNA LINC00649 recruits TAF15 and enhances MAPK6 expression to promote the development of lung squamous cell carcinoma *via* activating MAPK signaling pathway[J]. Cancer Gene Ther, 2022, 29(8/9): 1285-1295. DOI: 10.1038/s41417-021-00410-9.

[24] ZHAO X, WANG J Z, ZHU R, *et al*. DLX6-AS1 activated by H3K4me1 enhanced secondary cisplatin resistance of lung squamous cell carcinoma through modulating miR-181a-5p/miR-382-5p/CELF1 axis[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 21014. DOI: 10.1038/s41598-021-99555-8.

[25] HUANG G H, YANG Y M, LV M X, *et al*. Novel lncRNA SFTA1P promotes tumor growth by down-regulating miR-4766-5p via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in hepatocellular carcinoma[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 9759-9770. DOI: 10.2147/OTT.S248660.

[26] ZHANG H, XIONG Y Q, XIA R, *et al*. The pseudogene-derived long noncoding RNA SFTA1P is down-regulated and suppresses cell migration and invasion in lung adenocarcinoma[J]. Tumour Biol, 2017, 39(2): 1010428317691418. DOI: 10.1177/1010428317691418.

[27] ZHANG W Q, BAI M C, LIU K Q, *et al*. LncRNA surfactant associated 1 activates large tumor suppressor kinase 1/Yes-associated protein pathway *via* modulating hypoxic exosome-delivered miR-4766-5p to inhibit lung adenocarcinoma metastasis[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2022, 153: 106317. DOI: 10.1016/j.biocel.2022.106317.

[28] ZHU B W, FINCH-EDMONDSON M, LEONG K W, *et al*. LncRNA SFTA1P mediates positive feedback regulation of the Hippo-YAP/TAZ signaling pathway in non-small cell lung cancer[J]. Cell Death Discov, 2021, 7(1): 369. DOI: 10.1038/s41420-021-00761-0.

[29] LI L, YIN J Y, HE F Z, *et al*. Long noncoding RNA *SFTA1P* promoted apoptosis and increased cisplatin chemosensitivity *via* regulating the hnRNP-U-GADD45A axis in lung squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(57): 97476-97489. DOI: 10.18632/oncotarget.22138.

[30] DHANASEKARAN R, DEUTZMANN A, MAHAUAD-FERNANDEZ W D, *et al*. The MYC oncogene-the grand orchestrator of cancer growth and immune evasion[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2022, 19(1): 23-36. DOI: 10.1038/s41571-021-00549-2.

[31] ZHU Q Q, ZHANG C G, QU T Y, *et al*. MNX1-AS1 promotes phase separation of IGF2BP1 to drive c-myc-mediated cell-cycle progression and proliferation in lung cancer[J]. Cancer Res, 2022, 82(23): 4340-4358. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-22-1289.

[32] ZHANG L W, HE M, ZHU W J, *et al*. Identification of a panel of mitotic spindle-related genes as a signature predicting survival in lung adenocarcinoma[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(5): 4361-4375. DOI: 10.1002/jcp.29312.

[33] MALANEY P, PALUMBO E, SEMIDEY-HURTADO J, *et al*. PTEN physically interacts with and regulates E2F1-mediated transcription in lung cancer[J]. Cell Cycle, 2018, 17(8): 947-962. DOI: 10.1080/15384101.2017.1388970.

[34] YAO Y, NG J F, PARK W D, *et al*. CDK7 controls E2F- and MYC-driven proliferative and metabolic vulnerabilities in multiple myeloma[J]. Blood, 2023, 141(23): 2841-2852. DOI: 10.1182/blood.2022018885.

(**收稿**:2023-09-01;**修回**:2023-12-28)

(编辑 张 维)