

circACVR2A调节miR-486-5p/CCND2信号轴 对非小细胞肺癌细胞增殖、迁移 及上皮-间质转化的影响

王曦仕 米杰 杨晨路*

(上海市肺科医院胸外科, 上海 200433)

摘要 该文探讨环状RNA激活素A受体2A型(circACVR2A)调节微小RNA-486-5p(miR-486-5p)/细胞周期蛋白D2(CCND2)信号轴对非小细胞肺癌(NSCLC)细胞增殖、迁移及上皮-间质转化的影响。体外培养NSCLC细胞HCC827, 将HCC827细胞随机分成Control组、sh-NC组、sh-circACVR2A组、inhibitor-NC组、miR-486-5p inhibitor组。qRT-PCR实验检测各组细胞circACVR2A、miR-486-5p、CCND2 mRNA的表达情况; CCK8实验检测细胞增殖情况; 细胞划痕、Transwell和流式细胞术实验检测细胞迁移、侵袭和凋亡情况; Western blot检测各组细胞增殖、凋亡、迁移侵袭、上皮-间质转化、CCND2相关蛋白表达情况; 双荧光素酶实验检测circACVR2A与miR-486-5p、miR-486-5p与CCND2之间的关系。sh-circACVR2A组与Control组和sh-NC组相比, circACVR2A、CCND2 mRNA的表达水平, 存活率、迁移率、侵袭数, 以及PCNA、MMP9、Bcl-2、N-cadherin、CCND2蛋白表达水平均降低, miR-486-5p水平、凋亡率、Bax和E-cadherin表达水平均升高($P<0.05$); miR-486-5p inhibitor组与sh-circACVR2A组和inhibitor-NC组相比, circACVR2A表达水平无明显变化, CCND2 mRNA表达水平、存活率、迁移率、侵袭数以及PCNA、MMP9、Bcl-2、N-cadherin、CCND2蛋白表达水平均升高, miR-486-5p水平、凋亡率以及Bax和E-cadherin表达水平均降低($P<0.05$)。双荧光素酶报告实验结果显示, mimic-NC组细胞中的荧光素酶活性显著高于miR-486-5p mimic组($P<0.05$)。下调circACVR2A表达可抑制NSCLC细胞增殖、迁移及上皮-间质转化, 促进细胞凋亡, 与miR-486-5p/CCND2信号轴相关。

关键词 环状RNA激活素A受体2A型; 微小RNA-486-5p/细胞周期蛋白D2; 非小细胞肺癌; 增殖; 迁移; 上皮-间质转化

Impacts of circACVR2A on Proliferation, Migration, and Epithelial Mesenchymal Transition of Non-Small Cell Lung Cancer Cells by Adjusting miR-486-5p/CCND2 Signaling Axis

WANG Xishi, MI Jie, YANG Chenlu*

(Department of Thoracic Surgery, Shanghai Pulmonary Hospital, Shanghai 200433, China)

Abstract The aim of this study is to investigate the effects of circACVR2A (circular RNA activin A receptor 2A type) on the proliferation, migration and EMT (epithelial-mesenchymal transition) of NSCLC (non-small cell lung cancer) cells by regulating miR-486-5p (microRNA-486-5p)/CCND2 (cyclin D2) signaling axis. NSCLC

收稿日期: 2025-04-14

接受日期: 2025-04-30

*通信作者: Tel: 13917599730, E-mail: 13917599730@163.com

Received: April 14, 2025

Accepted: April 30, 2025

*Corresponding author. Tel: +86-13917599730, E-mail: 13917599730@163.com

cells HCC827 were cultured *in vitro*. HCC827 cells were stochastically assigned into Control group, sh-NC group, sh-circACVR2A group, inhibitor-NC group, and miR-486-5p inhibitor group. The qRT-PCR experiment was used to measure the level of circACVR2A, miR-486-5p, and *CCND2* mRNA in each group. CCK8 experiment was performed to measure cell proliferation. Cell scratch, Transwell, and flow cytometry experiments were performed to detect cell migration, invasion, and apoptosis. Western blot was performed to measure cell proliferation, apoptosis, migration and invasion, EMT, and *CCND2* related protein expression in each group. The dual luciferase assay was used to detect the relationship between circACVR2A and miR-486-5p, as well as miR-486-5p and *CCND2*. Compared with the Control group and sh-NC group, the sh-circACVR2A group showed decreased circACVR2A, *CCND2* mRNA, survival rate, migration rate, invasion number, PCNA, MMP9, Bcl-2, N-cadherin, and *CCND2* proteins ($P<0.05$), and raised miR-486-5p, apoptosis rate, Bax, and E-cadherin ($P<0.05$). Compared with the sh-circACVR2A group and inhibitor-NC group, the miR-486-5p inhibitor group had no obvious change in circACVR2A, raised *CCND2* mRNA, survival rate, migration rate, invasion number, PCNA, MMP9, Bcl-2, N-cadherin, and *CCND2* proteins ($P<0.05$), and decreased miR-486-5p, apoptosis rate, Bax, and E-cadherin ($P<0.05$). The dual luciferase assay showed that the mimic NC group had obviously higher luciferase activity in cells than the miR-486-5p mimic group ($P<0.05$). Downregulation of circACVR2A can inhibit the proliferation, migration, and epithelial mesenchymal transition of NSCLC cells, and promote cell apoptosis, which is associated with miR-486-5p/*CCND2* signaling axis.

Keywords circular RNA activin A receptor 2A type; microRNA-486-5p/cyclin D2; non-small cell lung cancer; proliferation; migration; epithelial-mesenchymal transition

肺癌是全球范围内第二大致命性恶性肿瘤,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是肺癌中最常见的病理类型^[1]。NSCLC病理形成过程涉及多种致病因素,是遗传易感性和环境因素长期协同作用的结果。长期吸烟、家族史、职业暴露于致癌物质等被认为是诱发NSCLC的重要风险因素^[2]。在临床表现上,NSCLC发病初期常表现出隐匿性,首次确诊时已进展至疾病中晚期阶段,导致患者预后较差^[3]。目前,NSCLC的治疗策略已经从传统的化疗、放疗逐步向靶向治疗和免疫治疗转变,进而显著提高患者的生存率和生存质量^[4]。与此同时,免疫检查点抑制剂的应用,也为部分NSCLC患者带来长期生存的希望^[5]。尽管治疗手段不断进步,NSCLC的预后仍然不容乐观。因此,仍然需要继续深入研究NSCLC病理机制,为NSCLC的精准治疗提供新的靶点和方向。环状RNA(circular RNA, circRNA)是一类特殊的非编码RNA分子,其结构呈闭合环状,与癌症发生和发展有关^[6]。环状RNA激活素A受体2A型(circular RNA activin A receptor 2A type, circACVR2A)是由*ACVR2A*基因通过反向剪接形成的,在细胞增殖、分化和凋亡等过程发挥重要作用^[7]。已有研究表明 circACVR2A在胃癌进展中

具有重要意义^[8]。miR-486-5p是一种microRNA,属于非编码家族,其在多种生物学过程和疾病中具有重要作用,尤其是在癌症、心血管疾病等的研究较为广泛^[9]。细胞周期蛋白D2(cyclin D2, *CCND2*)是细胞周期蛋白D家族的成员之一,与细胞周期密切相关。*CCND2*的表达影响癌细胞生长和增殖,在肿瘤免疫反应中起至关重要的作用^[10]。本研究通过Starbase数据库深度分析发现, circACVR2A、miR-486-5p以及*CCND2*之间存在潜在的调控网络。因此,本研究探讨circACVR2A这一环状RNA,旨在揭示其通过调控miR-486-5p/*CCND2*信号轴对NSCLC恶性生物学行为的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂与仪器

人NSCLC细胞HCC827(货号:JSY-CC1218)购自金少源(上海)生物科技有限公司; Lipofectamine™ 3000转染试剂货号(L3000-015)购自上海科夷生物科技有限公司; 反转录试剂盒(货号:AG11615)购自湖南艾科瑞生物工程有限公司; CCK8试剂盒(货号:K1018)购自美国APEX BIO公司; 细胞凋亡检测试剂盒(货号:BB-4101)购自BestBio上海贝博生

物科技有限公司; 双荧光素酶报告检测试剂盒(货号: LF001)购自广州易锦生物技术有限公司; 抗体PCNA、Bax、E-cadherin、MMP9、Bcl-2、N-cadherin、CCND2、GAPDH、Rabbit anti-Goat IgG Secondary Antibody(货号: NBP1-32075、AB820、AF648、AF911、AF810、NBP1-48309、AF4196、AF5718、HAF017)购自Novus Biologicals公司; 流式细胞仪(型号: FongCyte™3)购自北京层浪生物科技有限公司; 酶标仪(型号: ST-360)购自上海科华生物工程股份有限公司; 倒置显微镜(型号: ICX41)购自舜宇光学科技(集团)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞转染及分组 将HCC827细胞培养在含10%血清和1%双抗的RPMI-1640完全培养基中, 随机分为Control组、sh-NC组、sh-circACVR2A组、sh-circACVR2A+inhibitor-NC组、sh-circACVR2A+miR-486-5p inhibitor组。Control组使用标准条件培养; sh-NC组为瞬时转染sh-circACVR2A的阴性对照; sh-circACVR2A组则瞬时转染sh-circACVR2A; inhibitor-NC组为瞬时转染sh-circACVR2A和miR-486-5p inhibitor阴性对照; miR-486-5p inhibitor组则瞬时转染sh-circACVR2A和miR-486-5p inhibitor。

1.2.2 circACVR2A、miR-486-5p、CCND2 mRNA表达水平的检测 首先, 各组细胞转染48 h后, 收集细胞悬液, 利用Trizol试剂提取总RNA, 随后将提取RNA放到65 °C水浴锅中5 min, 然后转移至冰上冷却, 再使用DEPC水将RNA稀释后通过反转录PCR仪将其转化为cDNA。之后采用qRT-PCR技术进行扩增, 以GAPDH、U6作为内参对照, 运用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算circACVR2A、miR-486-5p、CCND2 mRNA表达量。引物序列见表1。

1.2.3 HCC827细胞增殖能力的检测 将转染48 h的各组细胞制成细胞悬液, 按 $1 \times 10^3/100 \mu\text{L}$ 密度均

匀接种于96孔板中, 继续在37 °C培养箱中培养24 h, 随后, 向各孔加入CCK8溶液, 恒温37 °C培养箱中继续孵育1 h, 接着使用酶标仪检测每孔细胞的吸光度值。基于吸光度值数据, 通过标准曲线法计算出各组细胞的存活率。

1.2.4 HCC827细胞迁移能力的检测 各组细胞接种于6孔板中, 使用200 μL 枪头在培养板底部垂直划出均匀的横线, 细胞继续培养在含无血清的RPMI-1640培养基中, 且置于37 °C、5% CO₂恒温培养箱中。在孵育过程中, 分别在0 h和24 h两个时间点, 利用倒置显微镜对细胞进行观察和拍照。通过ImageJ软件处理照片, 进行定量分析。

1.2.5 检测HCC827细胞侵袭 24孔细胞培养板作为载体, 将Transwell上室平稳置于孔中, 缓慢加入适量无血清培养基, 在培养箱中静置30 min, 通过显微镜观察到胶体形成水化层。然后, 各组细胞悬液按密度 $2 \times 10^4/\text{mL}$ 加入Transwell小室, 下室加入含10%血清的培养基, 确保无气泡产生, 继续在37 °C、5% CO₂恒温培养箱中培养细胞24 h。采用固定液对Transwell小室中侵袭细胞室温下进行固定, 随后在室温下使用0.1%结晶紫染液对细胞核进行染色20 min。清洗染色液后, 在显微镜下随机选取5个非重叠视野, 采用图像分析软件进行计数, 取平均值为侵袭数。

1.2.6 HCC827细胞凋亡能力的检测 在室温条件下, 收集转染48 h的各组细胞, 将细胞以每孔 3×10^5 个接种于6孔板中, 在37 °C、5% CO₂恒温培养箱中继续培养48 h。然后, 收集细胞并使用PBS清洗细胞3次, 每次3 min, 去除培养基中杂质和残留物。采用细胞凋亡试剂盒在避光环境下对细胞进行Annexin V-FITC和碘化丙啶室温下染色处理15 min。使用流式细胞仪对细胞进行定量分析, 测定各组细胞的凋亡率。

1.2.7 双荧光素酶报告基因检测 使用StarBase

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

基因 Genes	上游引物(5'→3') Upstream primers (5'→3')	下游引物(5'→3') Downstream primers (5'→3')
circACVR2A	AGG GTT CAC TAT CAG ACT TTC	GTA AAT ATG CCA ATC CTC TAG C
miR-486-5p	GCG CGC CGA CGA GCG C	AGT GCA GGG TCC GAG GTA TT
CCND2	TTT GCC ATG TAC CCA CCG TC	AGG GCA TCA CAA GTG AGC G
GAPDH	CTG GGC TAC ACT GAG CAC C	AAG TGG TCG TTG AGG GCA ATG
U6	CTC GCT TGG CAC A	AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT

在线软件预测 circACVR2A 和 miR-486-5p 以及 miR-486-5p 和 CCND2 的结合位点, 设计并合成突变序列, 分别将其命名为 WT-ACVR2A 和 MUT-ACVR2A、WT-CCND2 和 MUT-CCND2。将预测的结合位点 (WT-ACVR2A、Mut-ACVR2A、WT-CCND2、MUT-CCND2) 插入荧光素酶报告基因载体 pGL3-Promoter 中, 构建重组载体。然后, 再分别与 mimic-NC 或 miR-486-5p mimic 与报告载体共转染到 HCC827 细胞中, 转染 48 h 后收集细胞样本, 使用酶标仪进行荧光信号采集, 计算相对荧光素酶活性。

1.2.8 HCC827 细胞增殖、凋亡、上皮-间质转化、CCND2 相关蛋白表达的检测 将转染 48 h 的各组细胞, 通过裂解液进行裂解, 以提取总蛋白, 所有过程均在冰上进行。将提取的蛋白样品与上样缓冲液按比例混合, 在 100 °C 水浴锅中进行变性处理。变性后蛋白质通过电泳进行分离。电泳结束后, 将凝胶中的蛋白转移至 PVDF 膜上, 使用快速封闭液室温封闭 1 h。随后, 将一抗 (稀释比例均为 1:1 000) 与蛋白条带在 4 °C 环境下孵育过夜。TBST 缓冲液洗膜后, 与二抗 (1:2 000) 室温下孵育 1 h。最后, 使用 ECL 试剂滴加到蛋白条带上, 使用全自动凝胶成像系统进行拍照。通过 ImageJ 软件对 WB 实验获得的蛋白条带进行灰度值定量测定, 进而计算目标蛋白的表达量。

1.3 统计与分析

本研究采用 GraphPad Prism 9 软件进行数据分析。所有计量资料均以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 的形式呈现。不同组别中 circACVR2A 和 miR-486-5p 的表达差异采用单因素方差分析方法。采用独立样本 *t* 检

验对 mimic-NC 组和 miR-486-5p mimic 组间的表达差异进行分析。后续采用 SNK-*q* 检验两两比较。所有统计分析均以 $P < 0.05$ 为判定统计学显著性的标准。

2 结果

2.1 各组细胞中 circACVR2A、miR-486-5p、CCND2 mRNA 的表达水平

与 Control 组和 sh-NC 组相比, sh-circACVR2A 组细胞 circACVR2A、CCND2 mRNA 表达水平均降低, miR-486-5p 表达水平均升高 ($P < 0.05$); miR-486-5p inhibitor 组细胞与 sh-circACVR2A 组和 inhibitor-NC 组相比 circACVR2A 表达水平无明显变化, CCND2 mRNA 表达水平均高于 sh-circACVR2A 组和 inhibitor-NC 组, 而 miR-486-5p 表达水平则降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 circACVR2A 和 miR-486-5p、miR-486-5p 和 CCND2 靶向关系的检测

根据 Starbase 数据库分析, circACVR2A 和 miR-486-5p、miR-486-5p 和 CCND2 之间存在显著的相互作用位点。见图 1 和图 2。进一步双荧光素酶报告显示, 在转染 miR-486-5p mimic 组中, 荧光素酶的活性显著低于转染 mimic-NC 组 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 沉默 circACVR2A 对细胞增殖的影响

与 Control 组和 sh-NC 组相比, sh-circACVR2A 组细胞存活率、PCNA、CCND2 表达水平降低 ($P < 0.05$); miR-486-5p inhibitor 组细胞存活率、PCNA、CCND2 表达水平高于 sh-circACVR2A 组和 inhibitor-NC 组 ($P < 0.05$)。见图 3 和表 4。

表 2 细胞 circACVR2A、miR-486-5p、CCND2 mRNA 表达水平比较

Table 2 Comparison of mRNA expression levels of circACVR2A, miR-486-5p and CCND2 in cells

组别 Groups	circACVR2A	miR-486-5p	CCND2
Control	1.03 $\pm$ 0.15	0.38 $\pm$ 0.09	0.98 $\pm$ 0.12
sh-NC	1.01 $\pm$ 0.13	0.41 $\pm$ 0.06	1.02 $\pm$ 0.18
sh-circACVR2A	0.45 $\pm$ 0.11 [*]	0.99 $\pm$ 0.13 ^{*#}	0.51 $\pm$ 0.07 ^{*#}
Inhibitor-NC	0.42 $\pm$ 0.06	1.04 $\pm$ 0.16	0.49 $\pm$ 0.08
miR-486-5p inhibitor	0.46 $\pm$ 0.08	0.48 $\pm$ 0.05 ^{@&}	0.95 $\pm$ 0.14 ^{@&}

^{*} $P < 0.05$, 与 Control 组相比; [#] $P < 0.05$, 与 sh-NC 组相比; [@] $P < 0.05$, 与 sh-circACVR2A 组相比; [&] $P < 0.05$, 与 inhibitor-NC 组相比。n=6, $\bar{x} \pm s$ 。

^{*} $P < 0.05$ compared with Control group; [#] $P < 0.05$ compared with sh-NC group; [@] $P < 0.05$ compared with sh-circACVR2A group; [&] $P < 0.05$ compared with inhibitor-NC group. n=6, $\bar{x} \pm s$ 。

表4 各组细胞存活率以及PCNA、CCDN2蛋白表达水平比较

Table 4 Comparison of cell survival rate, PCNA and CCDN2 protein expression in each group

组别 Groups	存活率/% Survival rate /%	PCNA	CCDN2
Control	99.18±0.72	1.04±0.16	0.97±0.19
sh-NC	98.59±1.41	1.01±0.13	0.98±0.22
sh-circACVR2A	52.13±9.37 ^{*#}	0.39±0.08 ^{*#}	0.43±0.06 ^{*#}
Inhibitor-NC	51.64±11.21	0.41±0.05	0.45±0.11
miR-486-5p inhibitor	78.27±15.09 ^{@&}	0.69±0.12 ^{@&}	0.72±0.15 ^{@&}

* $P<0.05$, 与Control组相比; [#] $P<0.05$, 与sh-NC组相比; [@] $P<0.05$, 与sh-circACVR2A组相比; [&] $P<0.05$, 与inhibitor-NC组相比。 $n=6$, $\bar{x}\pm s$ 。
* $P<0.05$ compared with Control group; [#] $P<0.05$ compared with sh-NC group; [@] $P<0.05$ compared with sh-circACVR2A group; [&] $P<0.05$ compared with inhibitor-NC group. $n=6$, $\bar{x}\pm s$.

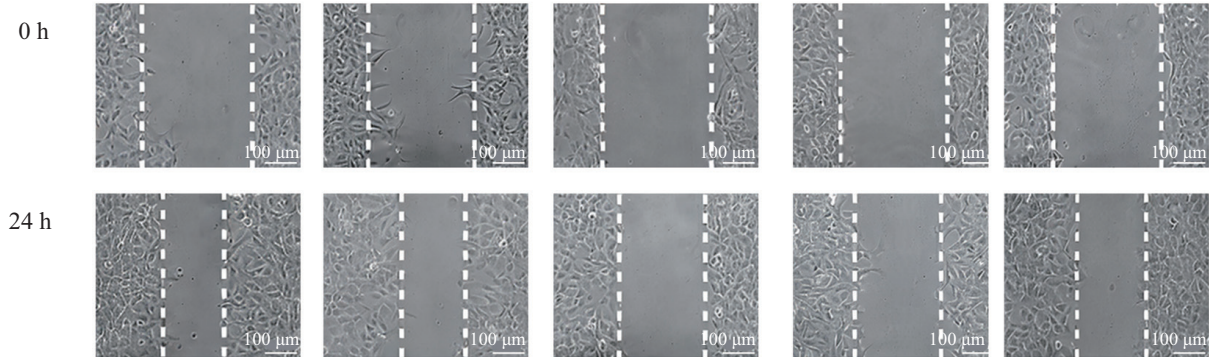


图4 划痕实验检测细胞迁移情况
Fig.4 Cell migration was detected by scratch assay

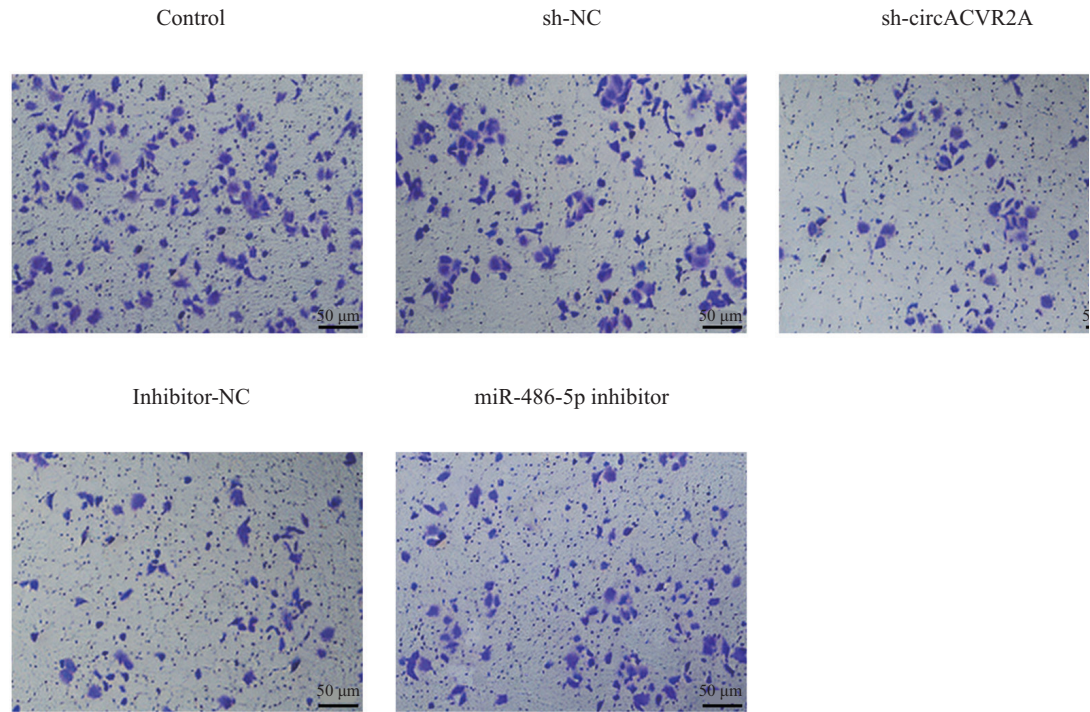


图5 Transwell实验检测细胞侵袭情况
Fig.5 Cell invasion was detected by Transwell assay

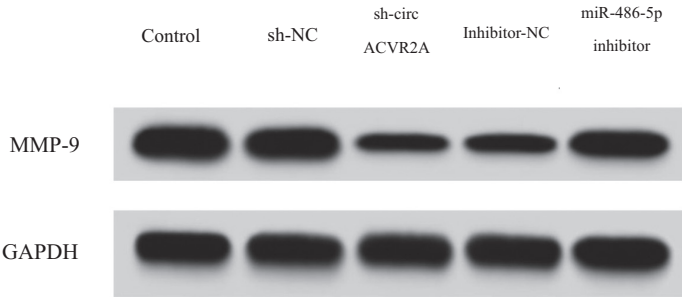


图6 Western blot测定各组细胞中MMP-9蛋白的表达情况
Fig.6 Western blot analysis of MMP-9 protein expression in each group of cells

表5 各组细胞迁移、侵袭以及MPP-9表达情况比较
Table 5 Comparison of cell migration, invasion and MPP-9 expression in each group

组别 Groups	迁移率/% Migration rate /%	侵袭数 Invasion number	MMP-9
Control	45.31±9.15	136.82±19.62	1.12±0.16
sh-NC	43.97±10.03	128.67±21.89	1.08±0.13
sh-circACVR2A	21.58±5.19*#	61.78±8.56*#	0.52±0.07*#
Inhibitor-NC	20.37±4.79	57.16±13.05	0.55±0.11
miR-486-5p inhibitor	37.25±6.41@&	96.39±12.18@&	0.86±0.09@&

* $P<0.05$, 与Control组相比; # $P<0.05$, 与sh-NC组相比; @ $P<0.05$, 与sh-circACVR2A组相比; & $P<0.05$, 与inhibitor-NC组相比。 $n=6$, $\bar{x}\pm s$ 。
* $P<0.05$ compared with Control group; # $P<0.05$ compared with sh-NC group; @ $P<0.05$ compared with sh-circACVR2A group; & $P<0.05$ compared with inhibitor-NC group. $n=6$, $\bar{x}\pm s$.

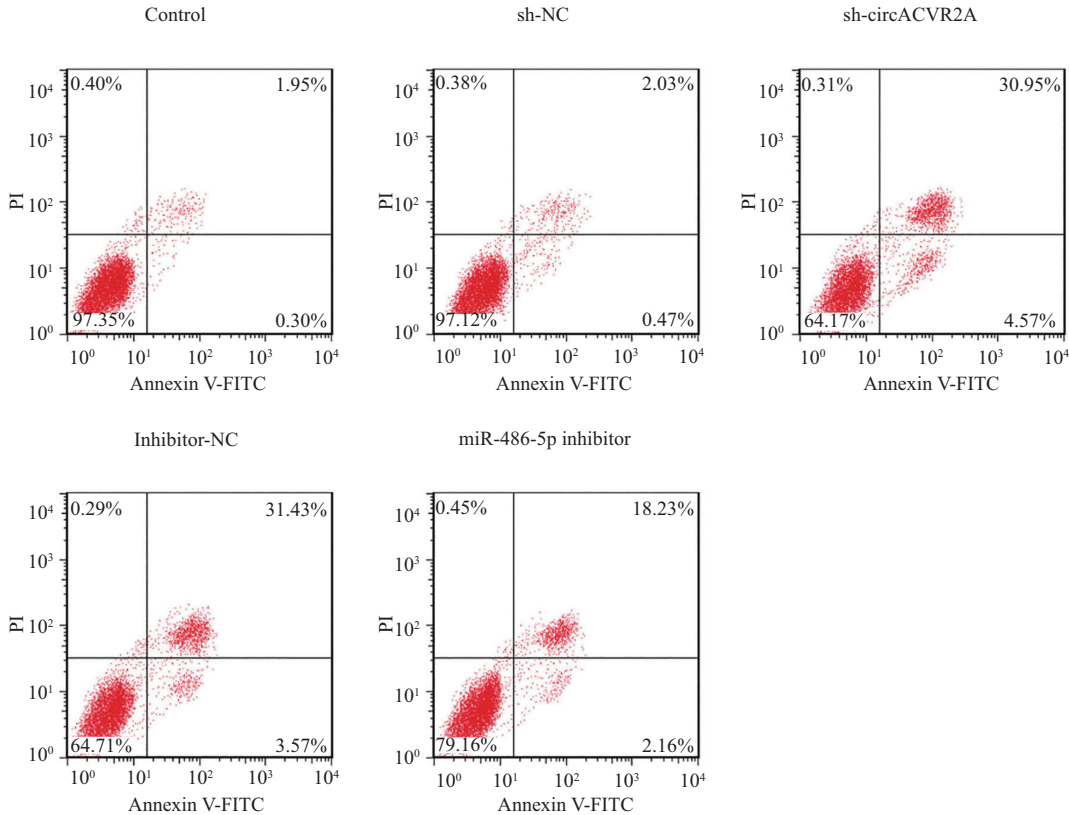


图7 流式细胞仪检测细胞凋亡情况
Fig.7 Detection of apoptosis by flow cytometry

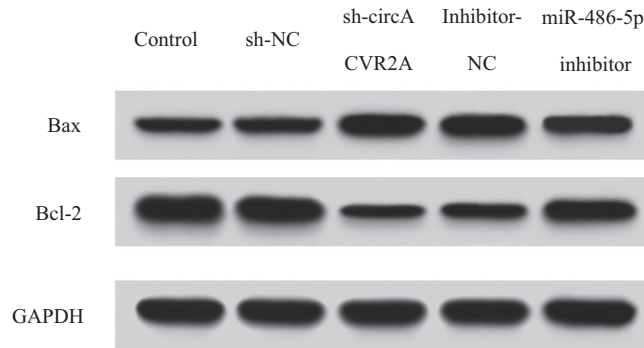


图8 Western blot测定各组细胞中Bax、Bcl-2蛋白表达情况

Fig.8 Western blot analysis of Bax and Bcl-2 protein expression in each group of cells

表6 各组细胞凋亡率以及Bax、Bcl-2蛋白表达比较

Table 6 Comparison of apoptosis rate, Bax and Bcl-2 protein expression in each group

组别 Groups	凋亡率 / % Apoptosis rate / %	Bax	Bcl-2
Control	1.95±0.31	0.42±0.08	1.07±0.15
sh-NC	2.03±0.46	0.45±0.06	1.03±0.11
sh-circACVR2A	30.95±6.72* [#]	0.97±0.18* [#]	0.38±0.06* [#]
inhibitor-NC	31.43±5.17	0.99±0.21	0.41±0.09
miR-486-5p inhibitor	18.23±3.54@ ^{&}	0.67±0.11@ ^{&}	0.76±0.08@ ^{&}

* $P < 0.05$, 与Control组相比; [#] $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; @ $P < 0.05$, 与sh-circACVR2A组相比; & $P < 0.05$, 与inhibitor-NC组相比。 $n=6$, $\bar{x} \pm s$ 。

* $P < 0.05$ compared with Control group; [#] $P < 0.05$ compared with sh-NC group; @ $P < 0.05$ compared with sh-circACVR2A group; & $P < 0.05$ compared with inhibitor-NC group. $n=6$, $\bar{x} \pm s$.

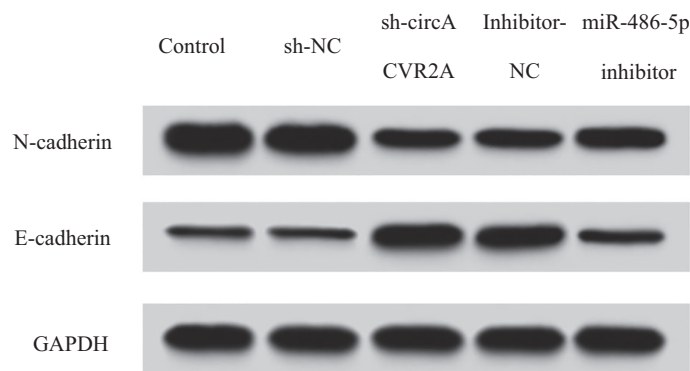


图9 Western blot测定各组细胞中N-cadherin、E-cadherin蛋白表达情况

Fig.9 Western blot analysis of N-cadherin and E-cadherin protein expression in each group of cells

表7 各组细胞N-cadherin、E-cadherin蛋白表达水平比较

Table 7 Comparison of N-cadherin and E-cadherin protein expression in each group

组别 Groups	N-cadherin	E-cadherin
Control	1.12±0.17	0.36±0.05
sh-NC	1.09±0.13	0.35±0.09
sh-circACVR2A	0.63±0.07* [#]	0.98±0.16* [#]
inhibitor-NC	0.61±0.12	0.96±0.18
miR-486-5p inhibitor	0.87±0.18@ ^{&}	0.41±0.08@ ^{&}

* $P < 0.05$, 与Control组相比; [#] $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; @ $P < 0.05$, 与sh-circACVR2A组相比; & $P < 0.05$, 与inhibitor-NC组相比。 $n=6$, $\bar{x} \pm s$ 。

* $P < 0.05$ compared with Control group; [#] $P < 0.05$ compared with sh-NC group; @ $P < 0.05$ compared with sh-circACVR2A group; & $P < 0.05$ compared with inhibitor-NC group. $n=6$, $\bar{x} \pm s$.

3 讨论

NSCLC作为肺癌的主要亚型,其主要特征是隐蔽的发病机制和迅速的病程进展^[11]。NSCLC早期症状较轻微,甚至无症状,使得早期诊断较为困难^[12]。大多数患者在确诊时,肿瘤已经扩散至肺部以外的组织或者器官,导致生存率较低^[13]。尽管现代医学在NSCLC治疗上取得显著进展,如靶向治疗和免疫疗法等,但对于晚期患者而言,根治性手术的可能性依然微乎其微^[14]。这些治疗方法在一定程度上延长了患者的生存期,但彻底治愈NSCLC仍然是一个挑战。近年来circRNA已被证明能够作为肿瘤发展和远处转移的关键因子发挥作用^[15]。因此,探讨circRNA在NSCLC中参与的分子机制具有重要意义。

circRNAs作为NSCLC发病机制中重要调控因子,通过调控细胞异常增殖、凋亡、侵袭迁移能力及上皮-间质转化过程失调等关键病理生理环节,影响NSCLC进展^[16]。circACVR2A在多种恶性肿瘤中呈现异常表达模式。FEI等^[7]研究发现,抑制circACVR2A表达,通过上调miR511-5p表达,激活PI3K信号通路,抑制肝细胞癌的增殖、迁移、侵袭。ZHUANG等^[8]研究显示, circACVR2A下调促进GC细胞增殖和转移,并抑制E-cadherin和Vimentin的表达, miR-1290抑制剂逆转circACVR2A对GC细胞进展的影响,表明circACVR2A/miR-1290轴能够作为GC治疗的可能生物标记物。以上研究均说明circACVR2A在癌症的进展中发挥重要作用。本研究结果显示,抑制circACVR2A的表达,显著抑制HCC827细胞的增殖、迁移侵袭、EMT,促进细胞凋亡,这表明circACVR2A可在NSCLC的恶性行为中发挥重要作用。

通过生物信息学预测发现, miR-486-5p与circACVR2A之间存在显著的分子互作关系。采用双荧光素酶报告基因系统进行实验发现, miR-486-5p与circACVR2A存在相互作用,呈现出负相关关系。miRNA作为一类非编码RNA分子,通过调控基因表达,影响细胞增殖、凋亡、侵袭转移等关键生物学过程^[17]。近年来,多项研究表明miRNA在NSCLC的病理进程中发挥不可替代的调控作用^[18]。DING等^[19]研究显示, miR-486-5p通过直接抑制核糖体S6激酶表达,抑制mTOR信号转导,进而抑制NSCLC细胞增殖、迁移、EMT过程。WEI等^[20]研究发现, miR-486-5p的上调抑制肺腺癌细胞的抗凋亡、增

殖、迁移和侵袭,其可能成为肺腺癌的治疗靶点。WANG等^[21]研究表明, miR-486-5p过表达可以通过调节表皮生长因子受体信号通路,抑制NSCLC细胞的增殖和迁移,为NSCLC发生提供新的见解。在本研究,下调circACVR2A显著上调miR-486-5p表达,抑制NSCLC细胞恶性行为的发生。当miR-486-5p表达被显著抑制时,其对circACVR2A的调控作用会减弱。这提示circACVR2A靶向负调控miR-486-5p,抑制NSCLC细胞增殖、迁移侵袭、EMT,促进细胞凋亡。

进一步通过生物信息学分析发现, miR-486-5p与CCND2之间存在显著的序列互补性,这一结果表明miR-486-5p与CCND2可能存在靶向关系。CCND2被认为是一种癌症生物标记物,抑制CCND2表达能够抑制NSCLC进展^[22]。WANG等^[23]研究表明, miR-646过表达,下调成纤维细胞生长因子2和CCND2表达,抑制NSCLC的增殖和转移。JIN等^[24]研究显示,长链非编码RNA JPX与miR-145-5p相互作用,上调CCND2表达,致使NSCLC的发生和发展。本研究发现, miR-486-5p能够靶向负调控CCND2表达。当抑制circACVR2A表达时, miR-486-5p表达水平升高, CCND2表达水平降低。这一结果表明circACVR2A可能通过调控miR-486-5p表达,影响CCND2表达。通过抑制miR-486-5p表达, CCND2的表达得以恢复,部分逆转由于circACVR2A下调所引起的细胞增殖、迁移侵袭以及EMT的变化。这一发现揭示circACVR2A通过miR-486-5p/CCND2信号轴影响NSCLC细胞增殖、迁移及EMT的调控机制。

综上所述,下调circACVR2A通过miR-486-5p/CCND2信号轴,抑制NSCLC细胞增殖、迁移和EMT,延缓NSCLC进展。由于NSCLC发生发展的多样性和复杂性,仍然需要在临床样本以及相应的动物模型中进行实验和分析,为开发新的治疗策略提供坚实的科学依据。

参考文献 (References)

- [1] MIAO D, ZHAO J, HAN Y, et al. Management of locally advanced non-small cell lung cancer: state of the art and future directions [J]. Cancer Commun, 2024, 44(1): 23-46.
- [2] CHEN P, LIU Y, WEN Y, et al. Non-small cell lung cancer in China [J]. Cancer Commun, 2022, 42(10): 937-70.
- [3] MENON T, GOPAL S, RASTOGI VERMA S. Targeted therapies in non-small cell lung cancer and the potential role of AI interventions in cancer treatment [J]. Biotechnol Appl Biochem, 2023,

- 70(1): 344-56.
- [4] DAMS R V, YUAN Y, ROBINSON C G, et al. Immunotherapy and radiation therapy for non-small cell lung cancer: a stimulating partnership [J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2020, 41(3): 360-8.
 - [5] RHODIN K E, RUCKER A J, READY N E, et al. The immunotherapeutic landscape in non-small cell lung cancer and its surgical horizons [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2020, 159(4): 1616-23.
 - [6] GHAFOURI-FARD S, NAJAFI S, HUSSEN B M, et al. The role of circular RNAs in the carcinogenesis of bladder cancer [J]. *Front Oncol*, 2022, 12(2): 801842-53.
 - [7] FEI D, WANG F, WANG Y, et al. Circular RNA ACVR2A promotes the progression of hepatocellular carcinoma through mir-511-5p targeting PI3K-Akt signaling pathway [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 159-71.
 - [8] ZHUANG Y, LI L, WU H, et al. CircRNA ACVR2A sponges miR-1290 to modulate cell progression in gastric cancer [J]. *J Oncol*, 2022, 2022(2): 9461054-63.
 - [9] LI Q, XU Y, LYU K, et al. Small extracellular vesicles containing miR-486-5p promote angiogenesis after myocardial infarction in mice and nonhuman primates [J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(584): eabb0202-11.
 - [10] JIA E, SHI X, XUE J. CCND2 is a prognostic biomarker and correlates with immune infiltration in lung adenocarcinoma [J]. *Transl Cancer Res*, 2024, 13(3): 1241-51.
 - [11] ZHOU M, WEI L, LU R. Emerging role of sirtuins in non small cell lung cancer [J]. *Oncol Rep*, 2024, 52(4): 127-35.
 - [12] DZIEDZIC R, MARJAŃSKI T, RZYMAN W. A narrative review of invasive diagnostics and treatment of early lung cancer [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2021, 10(2): 1110-23.
 - [13] LI Y, YAN B, HE S. Advances and challenges in the treatment of lung cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 169(11): 115891-101.
 - [14] KUMAR M, SARKAR A. Current therapeutic strategies and challenges in nsclc treatment: a comprehensive review [J]. *Exp Oncol*, 2022, 44(1): 7-16.
 - [15] KRISTENSEN LS, 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.
 - [16] LI S, LIU Y, QIU G, et al. Emerging roles of circular RNAs in non small cell lung cancer [J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(4): 17-28.
 - [17] ZHANG J, WU L, DING R, et al. Role of miRNA 122 in cancer [J]. *Int J Oncol*, 2024, 65(3): 83-92.
 - [18] LIANG X, WU Q, WANG Y, et al. MicroRNAs as early diagnostic biomarkers for non small cell lung cancer [J]. *Oncol Rep*, 2023, 49(1): 8-18.
 - [19] DING L, TIAN W, ZHANG H, et al. MicroRNA-486-5p suppresses lung cancer via downregulating mtor signaling *in vitro* and *in vivo* [J]. *Front Oncol*, 2021, 11(5): 655236-46.
 - [20] WEI D. MiR-486-5p specifically suppresses SAPCD2 expression, which attenuates the aggressive phenotypes of lung adenocarcinoma cells [J]. *Histol Histopathol*, 2022, 37(9): 909-17.
 - [21] WANG A, ZHU J, LI J, et al. Downregulation of KIAA1199 by miR-486-5p suppresses tumorigenesis in lung cancer [J]. *Cancer Med*, 2020, 9(15): 5570-86.
 - [22] YUE Q, XU Y, DENG X, et al. Circ-PITX1 promotes the progression of non-small cell lung cancer through regulating the miR-1248/CCND2 axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14(3): 1807-19.
 - [23] WANG J, SHU H, GUO S. MiR-646 suppresses proliferation and metastasis of non-small cell lung cancer by repressing FGF2 and CCND2 [J]. *Cancer Med*, 2020, 9(12): 4360-70.
 - [24] JIN M, REN J, LUO M, et al. Long non-coding RNA JPX correlates with poor prognosis and tumor progression in non-small-cell lung cancer by interacting with miR-145-5p and CCND2 [J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(5): 634-45.