lncRNA-PVT1 通过 *Hp*/CagA 介导的胃黏膜屏障损伤促进胃癌的发病机制研究

张霹雲[1],刘梁英[2],万晓强[1],肖　潇[1],陈　佳[1],周　礼[1]
(1. 重庆大学附属中心医院,重庆 400014;
2. 重庆市红十字会医院(江北区人民医院),重庆 400020)

摘　要:[目的]探讨 lncRNA-PVT1 通过 *Hp*/CagA 介导的胃黏膜屏障损伤促进胃癌的发病机制。[方法] 检测 lncRNA-PVT1 在 CagA 阳性幽门螺杆菌菌株(*Hp*-CagA$^+$)和 *CagA* 基因敲除突变体(*Hp*-ΔCagA$^-$)感染的人胃癌上皮细胞系 AGS 中的表达。过表达 PVT1,分为对照组和 PVT1 组。qPCR 和荧光原位杂交技术测定 lncRNA-PVT1 的表达,CCK8 和流式细胞术检测细胞活力及凋亡率。检测细胞中活性氧(ROS)水平,透射电子显微镜(TEM)观察细胞中线粒体的超微结构;Western blot 检测两组中细胞周期蛋白 CDK4 和 cyclinD1, 凋亡蛋白 BAX、Bcl-2 和裂解的 caspase3, 线粒体裂变相关蛋白 DRP1 和 MFN2,紧密连接蛋白(occludin,claudin-1 和 ZO-1)的表达。[结果] lncRNA-PVT1 在 *Hp*-CagA$^+$感染 AGS 细胞中表达增加。过表达 PVT1 后增加 *Hp*-CagA$^+$感染 AGS 细胞中增殖,降低了其凋亡,调节 *Hp*-CagA$^+$感染 AGS 细胞中 CDK4(1.22±0.02 *vs* 1.65±0.03)和 cyclinD1(1.16±0.05 *vs* 1.53±0.01)的表达,增加了 ROS 生成的增加和线粒体膜电位(MMP)而升高了细胞的比例,增加了线粒体脊的肿胀畸形,降低了 DRP1 的磷酸化和 MFN2(1.16±0.06 *vs* 0.59±0.03)和 BAX(1.05±0.06 *vs* 1.40±0.03)的表达,升高了 Bcl-2(1.66±0.03 *vs* 1.24±0.02)和裂解的 caspase3(1.03±0.06 *vs* 1.71±0.02)的表达,增加了氧化应激反应诱导的线粒体功能障碍。过表达 PVT1 通过降低紧密连接蛋白 occludin(4.13±0.05 *vs* 1.31±0.02)、claudin-1(5.03±0.06 *vs* 1.33±0.03)和 ZO-1(1.48±0.04 *vs* 0.60±0.01)表达增加了细胞屏障。[结论] lncRNA-PVT1 通过 *Hp*/CagA 介导的胃黏膜屏障损伤促进胃癌的发病,促进肿瘤形成和发展。

主题词:胃癌;lncRNA-PVT1;*Hp*/CagA;胃黏膜屏障
中图分类号:R735.2　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-170X(2022)10-0841-06
doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2022.10.B007

lncRNA Promotes the Pathogenesis of Gastric Cancer Through *Hp*/CagA-mediated Gastric Mucosal Barrier Damage

ZHANG Pi-yun[1], LIU Liang-Ying[2], WAN Xiao-qiang[1], XIAO Xiao[1], CHEN Jia[1], ZHOU Li[1]
(1. *Central Hospital of Chongqing University*, *Chongqing* 400014, *China*; 2. *Chongqing Red Cross Hospital(Jiangbei People's Hospital)*, *Chongqing* 400020, *China*)

Abstract:[Objective] To explore the effect of lncRNA-PVT1 on pathogenesis of gastric cancer and its relation with *Hp*/CagA-mediated gastric mucosal barrier damage. [Methods] Human gastric cancer epithelial AGS cells were infected with CagA-positive *Helicobacter pylori* strain (*Hp*-CagA$^+$) or *CagA* gene knockout mutant *Hp* strain (*Hp*-ΔCagA$^-$), respectively. The expression of lncRNA-PVT1 in AGS cells was detected. The expression of lncRNA-PVT1 was measured by qPCR and fluorescence in situ hybridization techniques. Cell viability and apoptosis rate were detected by CCK8 and flow cytometry. The level of reactive oxygen species (ROS) and transmission electron microscopy (TEM) were used to observe the ultrastructure of mitochondria in cells. The expressions of cyclins CDK4 and cyclinD1, apoptosis proteins BAX, Bcl-2 and cleaved caspase3 were measured by Western blot, mitochondrial fission-related proteins DRP1 and MFN2 were used to detect the expression of tight junction proteins occludin, claudin-1 and ZO-1. [Results] The expression of lncRNA-PVT1 increased in *Hp*-CagA$^+$ infected AGS cells. Over expression of lncRNA-PVT1 in *Hp*-CagA$^+$ infected AGS cells increased cell proliferation, reduces their apoptosis, increased the expression of CDK4(1.22±0.02 *vs* 1.65±0.03) and cyclinD1(1.16±0.05 *vs* 1.53±0.01), increased the generation of ROS and the mitochondrial membrane potential (MMP), increased the swelling deformity of mitochondrial ridges, decreased the phosphorylation of DRP1 and the expression of MFN2(1.16±0.06 *vs* 0.59±0.03) and BAX (1.05±0.06 *vs* 1.40±0.03), increased the expression of Bcl-2 (1.66±0.03 *vs* 1.24±0.02) and cleaved caspase3 (1.03±0.06 *vs* 1.71±0.02), and increased the mitochondrial dysfunction induced by oxidative stress. In addition, overexpression of PVT1 increased the cell barrier by reducing the tight junction proteins occludin(4.13±0.05 *vs* 1.31±0.02), claudin-1(5.03±0.06 *vs* 1.33±0.03) and ZO-1(1.48±0.04 *vs* 0.60±0.01). [Conclusion] The study indicates that lncRNA-PVT1 may promote the pathogenesis and development of gastric cancer through *Hp*/CagA-mediated gastric mucosal barrier damage.

Subject words: gastric cancer; lncRNA-PVT1; *Hp*/CagA; gastric mucosal barrier

基金项目:重庆市技术创新与应用发展专项面上项目(cstc2019iscx-msxmX0202)
通信作者:刘梁英,E-mail:37145266@qq.com
收稿日期:2022-02-21;**修回日期**:2022-03-30

胃癌是常见的恶性肿瘤之一,5 年生存率低于40%,对人类健康构成严重威胁[1]。目前尚无针对胃癌的有效治疗方法[2],有必要进一步探索胃癌发生和发展的机制,预防胃癌的发生。胃黏膜屏障由前上皮层(黏液和碳酸氢盐)、紧密的上皮成分、后上皮层(成纤维细胞和免疫细胞)、微循环(血流)和神经组成,上皮细胞负责胃屏障的完整性和功能[3]。由于感染因子或炎症引起的胃黏膜屏障破坏会导致各种疾病,包括胃炎甚至胃癌[4]。

在细菌病原体中, 革兰氏阴性螺旋形细菌幽门螺杆菌(*Hp*)已被证明在胃炎和胃以及十二指肠溃疡的发展中起着至关重要的作用[5]。在 10%~15%的个体中,这种感染可导致严重的炎症,如消化性溃疡病(10%),黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤(0.1%)或胃腺癌(1%~3%)[6]。幽门螺杆菌诱导组织学胃炎,与免疫细胞浸润胃黏膜有关。研究表明,幽门螺杆菌感染是胃癌的重要病因 [7]。长链非编码 RNA(long non-coding RNA,lncRNA)已被证实为一类功能强大的转录本,在人类疾病中起主要作用,包括癌症,研究显示 lncRNA PVT1 在体细胞恶性肿瘤中异常上调,并且可促进胃癌的肿瘤生长[8]。本研究探讨 lncRNA 通过 *Hp*/CagA 介导的胃黏膜屏障损伤促进胃癌的发病机制。

1 材料与方法

1.1 细 胞

人胃癌上皮细胞系 AGS 购自中国科学院细胞库。用含有 10%胎牛血清(FBS)和青霉素-链霉素的 Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 培养基中培养,置于 37 ℃,5% CO_2 孵箱培养。细胞脱离用 0.25%胰蛋白酶/0.02%EDTA 处理,按 1:3 传代。将细胞接种于 6 孔板中, 当汇合度达到 70%~80%时,对数生长期的细胞用于后续实验。

1.2 *Hp*-CagA 感染和质粒构建

将活性增殖细胞以 2.5×10^5 的密度接种在 6 孔板中。当细胞附着时, 更换不含抗生素的细胞培养基。接种环用于从培养基中刮下活的幽门螺杆菌,悬浮在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中,调节细菌密度,并将细菌溶液以 1:100 细菌与细胞的比例加入细胞培养皿中继续培养。分为 CagA 阳性幽门螺杆菌菌株(*Hp*-CagA$^+$)和 *CagA* 基因敲除突变体(*Hp*-ΔCagA$^-$)。通过 PCR 从 AGS 细胞的 cDNA 扩增全长 PVT1 序列,后亚克隆到 pcDNA3.1(+)载体和表达慢速递量中。pcDNA3.1-反义-PVT1 通过将反义 PVT1 序列亚克隆到 pcDNA3.1 (-) 载体中来构建。将推定的 PVT1 启动子进行 PCR 扩增并克隆到 pGL3(-)对照载体的 *Sma* Ⅰ/*Hind* Ⅲ位点以生成 pGL3-PVT1 -3′UTR 载体。所有 PCR 产物均通过 DNA 测序进行验证。分为对照组(*Hp*-CagA$^{+/-}$感染胃癌细胞 AGS)和 PVT1 组(过表达 *Hp*-CagA$^{+/-}$感染胃癌细胞 AGS 中的 PVT1)。

1.3 细胞计数试剂盒 (CCK-8)

将 AGS 细胞接种到 96 孔板中, 继续温育 12 h 后,将 DMEM 培养基弃去,并用 *Hp*-CagA 感染及过表达 PVT1 进一步孵育 24、48、72 h, 加入 200 μL DMEM 培养基孵育 24 h 后,20 μL CCK-8 溶液,培养 2 h 后弃去培养基。用多功能酶标仪测量 450 nm 处的吸光度。测定 AGS 细胞上 DDP 的半数抑制浓度 (IC50)。

1.4 流式细胞术

将细胞以 1×10^6 的密度接种在 6 孔微孔板中,预孵育过夜后, 在细菌刺激存在下或仅在培养基中将细胞再培养 48 h。荧光素异硫氰酸酯(FITC)膜联蛋白Ⅴ细胞凋亡检测试剂盒(Becton Dickinson)用于凋亡和坏死细胞的分化。在刺激后通过温和的胰蛋白合成收获细胞并用冷 PBS 洗涤。将细胞重悬于 1 mL 的 1×结合缓冲液中。将 100 μL 转移到 5 mL 流式细胞术管中,5 μL 膜联蛋白Ⅴ-FITC 和 5 μL PI(Sigma,美国)加入至孔中,充分混合后,将细胞在室温下避光孵育 10 min。在流式细胞仪上测试细胞凋亡。

1.5 RNA 提取、cDNA 合成和 qPCR

使用 MicroElute Total RNA 试剂盒从细胞中提取总 RNA(Omega Bio-Tek)。根据制造商的说明,使用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen)从器官/组织中提取 RNA。分光光度法验证 RNA 质量,A260/A280 比值在 1.8~2.0 之间。根据制造商的说明,从 2 μg DNase 处理的总 RNA 样品中用寡核苷酸 (dT) 引物和 PrimeScript™ 逆转录酶(TaKaRa)合成 cDNA。cDNA 稀释 10 倍,用于 qPCR。

使用 SYBR 预混料 EX Taq 试剂盒 (中国大连 Takara)在定量实时聚合酶链反应检测系统(BIO-RAD)上使用制造商的建议进行荧光 qPCR 实验。

1.6 免疫荧光

CKD4/cyclinD1 分布的变化通过使用以下一抗的免疫荧光来确定：用 DAPI(Beyotime Biotechnology)染色细胞核，荧光偶联二抗染色胞质，使用具有 40×1.25 油物镜的共聚焦显微镜收集共聚焦图像。

1.7 活性氧生成分析

以 3×10^3 密度收获的细胞，将细胞重悬于 1 mL稀释的 DCFH-DA（10 μmoL/L）中，并在 37 ℃，5% CO_2，下培养 20 min，将细胞重悬于 500 μL 磷酸盐缓冲盐水(PBS)中，进行流式细胞术(Biosciences)以检测活性氧(ROS)增加的细胞比例。

1.8 线粒体膜电位测定和超微结构观察

流式细胞术以检测胞中的线粒体膜电位(MMP)。细胞以 1×10^6 的密度重悬于 0.5 mL 培养基和 0.5 mL JC-1 染色液(Beyotime)中，并在 37 ℃，5% CO_2 下培养 20 min，将细胞在 400 g，4 ℃下离心 3 min，并重悬于 1 mL JC-1 染色溶液中，并在 400 g，4℃下离心 3 min。将细胞重悬于 400 μL 的 JC-1 染色溶液中，并进行流式细胞术(Biosciences)以检测 MMP 降低的细胞比例。

透射电子显微镜(TEM)以观察细胞中线粒体的超微结构。将每组中 1×10^7 个细胞在 4 ℃、2 mL 2.5%戊二醛中固定 30 min，在 1%渗透酸中固定 1 h。脱水、浸泡和包埋后，获得超薄切片，并在黑暗中用乙酸铀酰染色 20 min，柠檬酸铅染色 15 min。在 TEM(日立)下观察到线粒体的超微结构。

1.9 蛋白质印迹

使用放射免疫沉淀测定裂解缓冲液(Solarbio)从细胞中提取总蛋白，加入 10 μL 蛋白裂解缓冲液。在冰上裂解 30 min 后，样品以 12 000 g 离心 20 min。收集上清液以获得外泌体蛋白。80 μg 外泌体蛋白电泳 2 h 后转移至膜上。将膜用脱脂奶粉封闭 1 h，并与一抗过夜。后将膜与二抗（1:2 000；Abcam，美国）一起孵育 1 h。ECL(Absin，中国上海)显色、暗室曝光、显影后，通过凝胶成像系统获得蛋白质条带。

1.10 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件分析数据，所有计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，多组间差异行单因素方差分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

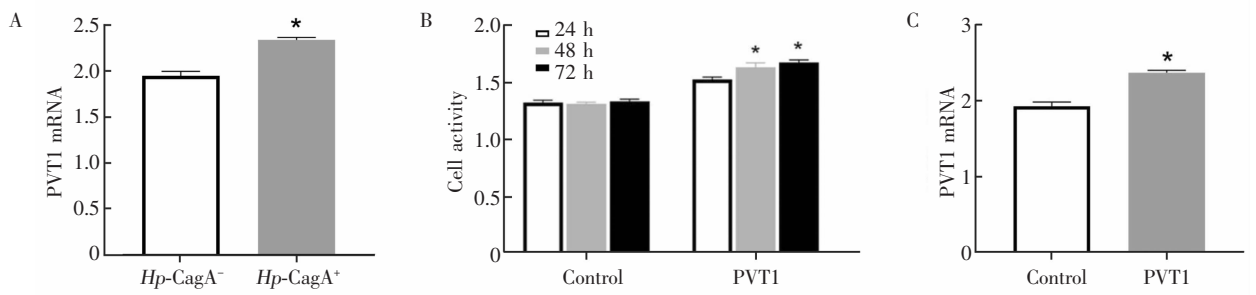
2 结 果

2.1 PVT1 在 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞中升高

qPCR 检测 PVT1 在人胃癌细胞系 AGS 中的表达，结果表明，与 *Hp*-ΔCagA⁻细胞相比(1.98±0.05)，*Hp*-CagA⁺细胞中 PVT1 的表达升高（2.34±0.03)；为了进一步验证 PVT1 在 AGS 细胞中的作用，过表达 PVT1，并通过 qPCR 检测了 PVT1 的表达。对照组(1.93±0.05）的 PVT1 明显低于 PVT1 组（2.38±0.03)，CCK-8 结果显示，过表达 PVT1 增加了 AGS 细胞的活力($P<0.05$)(Figure 1)。

2.2 过表达 PVT1 调节 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞中 CDK4 和 cyclinD1 的表达

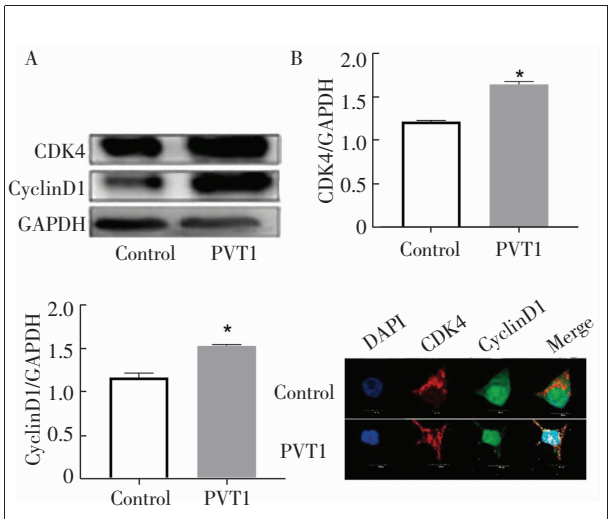
在胃癌细胞中 PVT1 上调后检测到细胞周期依赖性基因 *CDK4* 和 *cyclinD1* 的变化，结果表明，与对照组相比，PVT1 组 CDK4（1.22±0.02 *vs* 1.65±0.03）和 cyclinD1(1.16±0.05 *vs* 1.53±0.01)升高($P<0.05$)。免疫荧光 PVT1 的过表达增加了 CDK4 和 cyclinD1 在细胞核中的分布，并观察到共定位。免疫荧光还检测到过表达 PVT1 对 *Hp*-CagA⁺感染细胞中增加了



Notes：A：the expression of PVT1 in *Hp*-CagA⁺ infected AGS cells was detected by qPCR；B：CCK8 detects the viability of *Hp*-CagA⁺ infected AGS cells overexpressing PVT1；C：the expression of overexpressed PVT1 in *Hp*-CagA⁺ infected AGS cells was detected by qPCR；*：$P<0.05$

Figure 1 PVT1 is elevated in *Hp*-CagA⁺ infected AGS cells

CDK4 和 cyclinD1 在细胞核中的分布,并观察到共定位。这可能是 PVT1 调节细胞周期的机制(Figure 2)。



Notes:A~D:Western blot and immunofluorescence observation that overexpression of PVT1 regulates the expression of CDK4 and cyclinD1 in *Hp*-CagA⁺ infected AGS cells; *:$P<0.05$,compared with the control group

Figure 2 Overexpression of PVT1 regulates the expression of CDK4 and cyclinD1 in *Hp*-CagA⁺ infected AGS cells

2.3 过表达 PVT1 调节 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞中氧化应激和细胞凋亡

过表达 PVT1 降低 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞的活力并增加了 ROS 的产生 (2.20±0.17 *vs* 4.60±0.13)。流式细胞术显示与对照组(23.54±0.9)相比,*Hp*-CagA⁺感染 AGS 中诱导的细胞凋亡被 PVT1 抑制(10.76±0.46)。蛋白质印迹测定表明,与对照组比较,PVT1 组降低了 Bcl-2(1.66±0.03 *vs* 1.24±0.02)的表达,且裂解的半胱天冬酶 3(caspase3)(1.03±0.06 *vs* 1.71±0.02)和 BAX(1.05±0.06 *vs* 1.40±0.03)的活化增加(Figure 3)。

2.4 过表达 PVT1 调节 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞中线粒体功能障碍

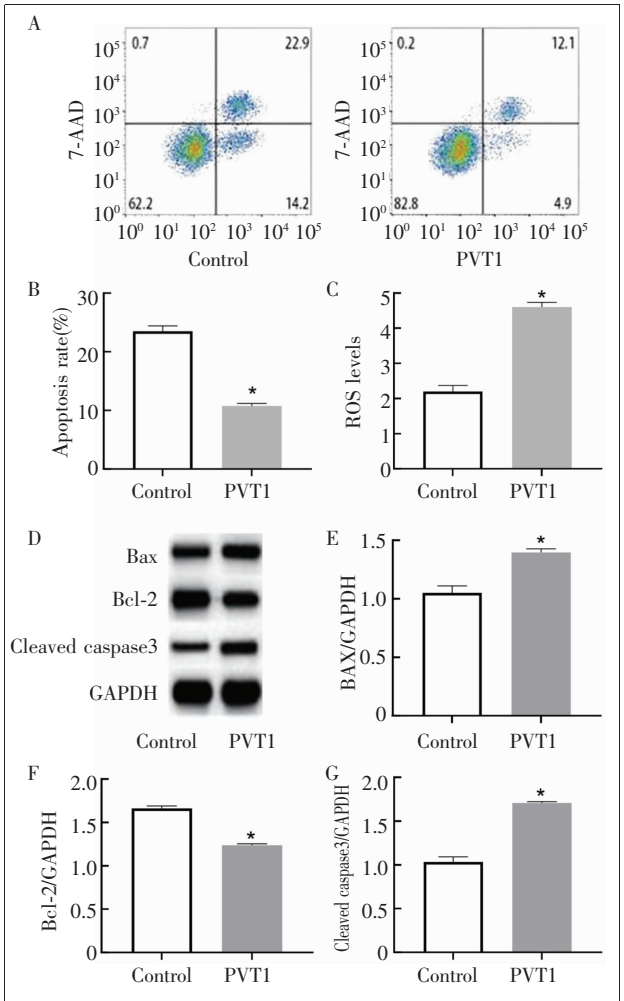
蛋白印迹检测线粒体裂变相关蛋白 DRP1 和 MFN2,蛋白质印迹测定显示过表达 PVT1 调节 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞中降低了 DRP1 (1.41±0.02 *vs* 1.16±0.04)及其磷酸化(1.68±0.03 *vs* 1.13±0.05)和 MFN2(1.16±0.06 *vs* 0.59±0.03)的表达。此外,过表达 PVT1 破坏了 AGS 细胞中的线粒体结构,如线粒体肿胀和脊部畸形所示, 过表达 PVT1 处理增加了被破坏的线粒体结构(Figure 4)。

2.5 过表达 PVT1 调节 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞中细胞屏障

蛋白质印迹用于检测紧密连接蛋白的表达(occludin、claudin-1 和 ZO-1), 结果表明, 与对照组比较, 过表达 PVT1 降低了 occludin (4.13±0.05 *vs* 1.31±0.02)、claudin-1(5.03±0.06 *vs* 1.33±0.03)和 ZO-1(1.48±0.04 *vs* 0.60±0.01)的表达(Figure 5)。

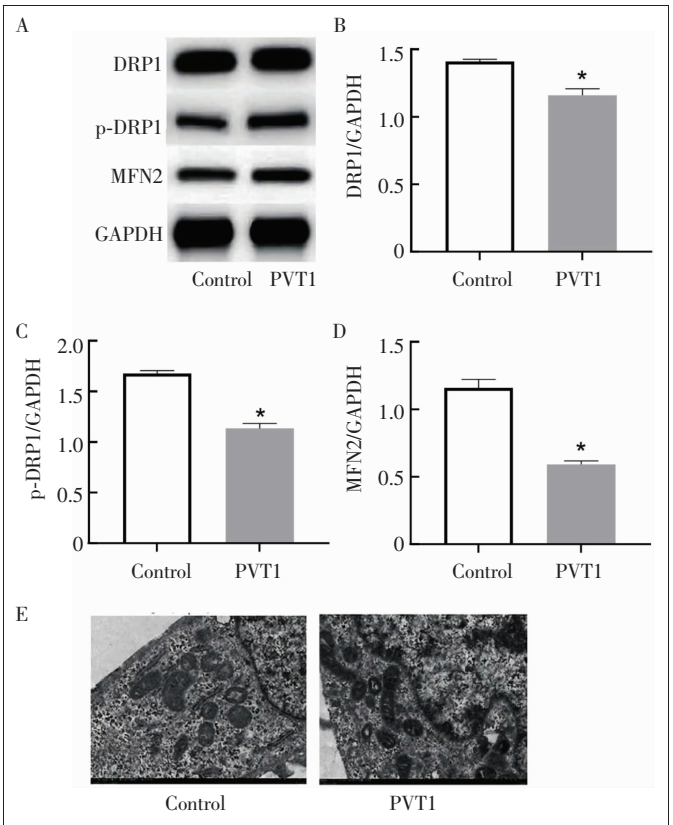
3 讨 论

胃癌的发生、发展和侵袭是一个复杂而持续的过程,大多数幽门螺杆菌感染者无症状,慢性胃炎和其他疾病仅见于 10%的感染者[9]。幽门螺杆菌在胃



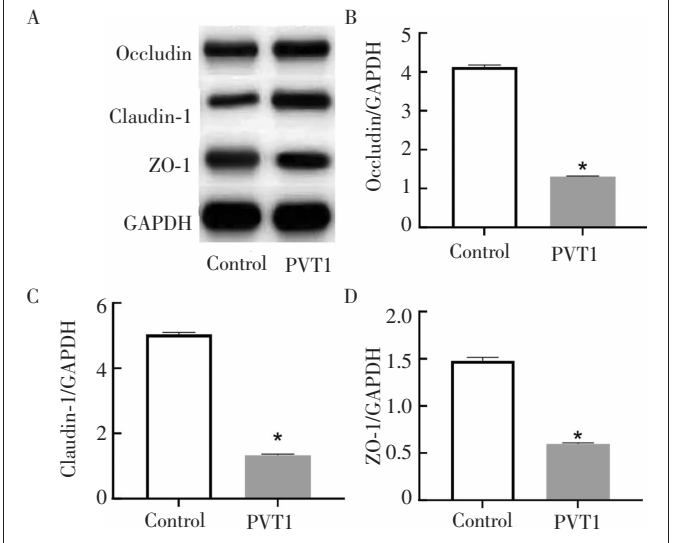
Notes:A~B:apoptosis detected by flow cytometry; C:detection of ROS levels; D~G:Western blot detection of apoptotic proteins BAX, Bcl-2 and caspase3; *:$P<0.05$,compared with the control group

Figure 3 Overexpression of PVT1 regulates oxidative stress and apoptosis in *Hp*-CagA⁺ infected AGS cells



Notes: A ~D: Western blot detection of mitochondrial fission-related proteins DRP1 and MFN2; E: representative ultrastructure of mitochondria; *: $P<0.05$, compared with the control group

Figure 4 Overexpression of PVT1 regulates mitochondrial dysfunction in *Hp*-CagA⁺ infected AGS cells



Notes: A ~D: Western blot detection of claudin expression; *: $P<0.05$, compared with the control group

Figure 5 Overexpression of PVT1 regulates cell barrier in *Hp*-CagA⁺ infected AGS cells

组织中会促进过度炎症，从而对胃黏膜产生有害影响，但组织破坏的确切机制尚不清楚。幽门螺杆菌产生许多导致细胞损伤的毒力因子，其促进这些病原体在胃黏膜表面的存活和宿主免疫反应的逃避[10]。在本研究中，通过人胃上皮 AGS 细胞作为体外模型来评估 lncRNA-PVT1 通过 *Hp*/CagA 介导的胃黏膜屏障损伤促进胃癌的发病机制。

相关研究表明 lncRNA 可能在人类胃癌的致癌和侵袭性中发挥重要作用[11]。lncRNA H19 在幽门螺杆菌感染胃癌患者的肿瘤组织中显著上调，lncRNA H19 的过表达与所有炎症指数相关，并促进幽门螺杆菌感染的胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭[12]。研究显示在幽门螺杆菌感染的正常胃上皮细胞 GES-1 中，PVT1 明显上调，PVT1 可以调节幽门螺杆菌感染胃上皮细胞系炎症反应，并抑制了细胞的迁移，表明 PVT1 可作为促炎因子，调节幽门螺杆菌感染引起的胃癌[13]。研究发现 PVT1 通过与 FOXM1 相互作用来促进胃癌进展。PVT1 可能是胃癌的有价值的预后预测因子，PVT1-FOXM1 的正反馈回路可能是药物策略中的治疗靶点[8]。在本研究中，发现 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞中 PVT1 表达升高；过表达 PVT1 促进 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞的增殖，降低其凋亡；过表达 PVT1 还影响细胞周期，影响细胞周期依赖性复合物 CDK4/cyclinD1 的表达，表明 PVT1 可能是 *Hp*-CagA⁺感染 AGS 细胞调节细胞周期的靶标。

氧化应激是指当身体暴露于各种有害刺激时，由于 ROS 等高活性分子的过度产生以及体内氧化和抗氧化失衡引起的细胞和组织的生理和病理反应。ROS 主要由线粒体产生，ROS 的过量产生通过改变线粒体膜的通透性诱导线粒体膜电位的降低，导致一系列与半胱天冬酶相关的级联反应，从而促进线粒体细胞凋亡。线粒体是具有双膜结构的重要细胞器，是 ATP 产生的最重要部位，在细胞氧化应激、钙稳态和细胞凋亡的调节中起重要作用[14]，其形态变化受线粒体融合和裂变的调控，其动力学干扰可导致 ROS 产生过多和凋亡[15]。线粒体损伤后会产生更多的 ROS，从而加速细胞凋亡。线粒体通透性过渡孔（mitochondrial permeability transition pore，MPTP）结构和功能与线粒体生物学功能密切相关，MPTP 的打开和关闭处于平

衡状态,有助于细胞内钙离子平衡[16]。氧化应激加速MPTP的开放,导致蛋白质大分子聚集,从而导致基质渗透膨胀和线粒体功能障碍[17]。研究表明氧化应激增强了MPTP的开放及对Bcl-2家族蛋白的调节作用[18]。MPTP的可持续开放导致MMP的减少和细胞色素C释放到细胞质基质中，从而促进细胞内凋亡相关蛋白(如caspase3)蛋白水解裂解,从而诱导细胞凋亡[19]。除上述情况外,线粒体生理功能的完整性也由线粒体的形态变化决定，线粒体主要由线粒体裂变和融合基因调节。有证据表明,氧化应激通过调节线粒体裂变相关蛋白DRP1和MFN2（线粒体融合相关蛋白)参与改变线粒体裂变和融合的平衡,进而诱导能量代谢紊乱介导的线粒体细胞凋亡[20]。本研究表明,与对照组相比,过表达PVT1增加了ROS生成和线粒体膜电位升高细胞的比例，增加了线粒体脊的肿胀畸形，降低了了DRP1的磷酸化和MFN2和BAX的表达，升高了Bcl-2和裂解的caspase3的表达,过表达PVT1增加了氧化应激反应诱导的线粒体功能障碍。此外，本研究发现过表达PVT1通过降低紧密连接蛋白occludin、claudin-1和ZO-1来增加了细胞屏障。

本研究显示PVT1在*Hp*-CagA$^+$感染AGS细胞表达升高。过表达PVT1增加了*Hp*-CagA$^+$感染AGS细胞的氧化应激损伤,如增殖增加、ROS生成、细胞凋亡减少、炎症以及线粒体功能和黏膜屏障的增加。因此,lncRNA-PVT1通过*Hp*/CagA介导的胃黏膜屏障损伤促进胃癌的发病,促进肿瘤形成和发展。

参考文献：

[1] Liu B,Li X,Sun F,et al. Hp-CagA$^+$ regulates the expression of CDK4/cyclind1 via Reg3 to change cell cycle and promote cell proliferation[J]. Int J Mol Sci,2019,21(1):224.

[2] Takahashi T,Saikawa Y,Igarashi T,et al. Octreotide acetate enables the administration of chemoradiotherapy,including the oral anticancer drug S-1,in gastric cancer patients with malignant gastrointestinal obstruction[J]. Oncol Lett,2010,1:673-677.

[3] Zhang X,Li C,Chen D,et al. Hpylori CagA activates the NLRP3 inflammasome to promote gastric cancer cell migration and invasion[J]. Inflamm Res,2022,71(1):141-155.

[4] Fiorentino M,Ding H,Blanchard TG,et al. Helicobacter pylori-induced disruption of monolayer permeability and proinflammatory cytokine secretion in polarized human gastric epithelial cells[J]. Infect Immun,2013,81:876-883.

[5] Chen ZM,Hu J,Xu YM,et al. Cryptotanshinone inhibits cytotoxin-associated gene A-associated development of gastric cancer and mucosal erosions[J]. World J Gastrointest Oncol,2021,13(7):693-705.

[6] Mnich E,Kowalewicz-Kulbat M,Sicińska P,et al. Impact of Helicobacter pylori on the healing process of the gastric barrier[J]. World J Gastroenterol,2016,22(33):7536-7358.

[7] Takahashi-Kanemitsu A,Knight CT,Hatakeyama M. Molecular anatomy and pathogenic actions of Helicobacter pylori caga that underpin gastric carcinogenesis[J]. Cell Mol Immunol,2020,17(1):50-63.

[8] Xu MD,Wang Y,Weng W,et al. A positive feedback loop of lncRNA-PVT1 and FOXM1 facilitates gastric cancer growth and invasion [J]. Clin Cancer Res,2017,23(8):2071-2080.

[9] Chen SY,Zhang RG,Duan GC. Pathogenic mechanisms of the oncoprotein CagA in H. pylori-induced gastric cancer (review) oncol[J]. Rep,2016,36:3087-3094.

[10] Mnich E,Kowalewicz-Kulbat M,Sicińska P,et al. Impact of Helicobacter pylori on the healing process of the gastric barrier[J]. World J Gastroenterol,2016,22(33):7536-58.

[11] Gupta RA,Shah N,Wang KC,et al. Long non-coding RNA hotair reprograms chromatin state to promote cancer metastasis[J]. Nature,2010,464(7291):1071-1076.

[12] Li Y,Lu L,Wu X,et al. The multifaceted role of long non-coding RNA in gastric cancer: current status and future perspectives[J]. Int J Biol Sci,2021,17(11):2737-2755.

[13] 竟晓慧,李凌雪,韩涛涛,等. 长链非编码RNA浆细胞瘤多样异型基因1对幽门螺旋杆菌感染胃上皮细胞系引起的炎症反应和细胞迁移的影响[J]. 中国医学科学院学报,2020,42(2):228-235.
Jing XH,Li LX,Han TT,et al. Effects of long non-coding RNA plasmacytoma variant translocation 1 gene on inflammatory response and cell migration in Helicobacter pylori infected gastric epithelial cell line [J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae,2020,42(2):228-235.

[14] Yang D,Yang Q,Fu N,et al. Hexavalent chromium induced heart dysfunction via Sesn2-mediated impairment of mitochondrial function and energy supply [J]. Chemosphere,2021,264(Pt2):128547.

[15] Han B,Lv Z,Han X,et al. Harmful effects of inorganic mercury exposure on kidney cells: mitochondrial dynamics disorder and excessive oxidative stress [J]. Biol Trace Elem Res,2022,200(4):1591-1597.

[16] Wang Z,Sun R,Wang G,et al. SIRT3-mediated deacetylation of PRDX3 alleviates mitochondrial oxidative damage and apoptosis induced by intestinal ischemia/reperfusion injury[J]. Redox Biol,2020,28:101343.

[17] Gyawali CP,Sonu I,Becker L,et al. The esophageal mucosal barrier in health and disease: mucosal pathophysiology and protective mechanisms[J]. Ann N Y Acad Sci,2020,1482(1):49-60.

[18] Roca FJ,Whitworth LJ,Redmond S,et al. TNF induces pathogenic programmed macrophage necrosis in tuberculosis through a mitochondrial-lysosomal-endoplasmic reticulum circuit[J]. Cell,2019,178(6):1344-1361.

[19] Li R,Zhao J,Huang L,et al. Antimicrobial peptide CGAN12 decreases the Candida tropicalis mitochondrial membrane potential via mitochondrial permeability transition pore[J]. Biosci Rep,2020,40(5):BSR20201007.

[20] Liang X,Wang S,Wang L,et al. Mitophagy inhibitor liensinine suppresses doxorubicin-induced cardiotoxicity through inhibition of Drp1-mediated maladaptive mitochondrial fission[J]. Pharmacol Res,2020,157:104846.