

• 论 著 •

LINC00319 通过靶向 miR-199a-5p 促进瘢痕疙瘩发生发展

陆海涛¹, 赵运华², 师绍敏³, 冀雅聪³, 刘亚玲^{3*}

(1.承德医学院附属医院皮肤科, 河北承德 067000; 2.河北省承德市中心医院耳鼻喉科, 河北承德 067000;
3.河北医科大学第三医院皮肤科, 河北石家庄 050051)

[摘要] 目的 探讨长链非编码 RNA LINC00319 在瘢痕疙瘩发生发展中的作用及其潜在分子机制。方法 纳入 2024 年 2 月—2025 年 2 月承德医学院附属医院收治的经临床明确诊断的瘢痕疙瘩患者 18 例, 分别采集瘢痕疙瘩组织及相邻正常皮肤组织, 分离原代成纤维细胞, 获得瘢痕疙瘩成纤维细胞(keloid fibroblasts, KFs)与正常皮肤成纤维细胞(normal dermal fibroblasts, NFs)。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测组织和细胞中 LINC00319 与 miR-199a-5p 的相对表达水平。通过小干扰 RNA 技术沉默 KFs 中 LINC00319 的表达, 并通过 qRT-PCR 验证沉默效率。应用 CCK-8 实验评估 LINC00319 沉默对 KFs 增殖能力的影响, 流式细胞术测定细胞凋亡情况。通过双荧光素酶报告基因检测明确 LINC00319 与 miR-199a-5p 之间的靶向结合关系, 进一步通过 qRT-PCR 检测 LINC00319 敲降对 miR-199a-5p 表达的调控作用。将 si-LINC00319 与 miR-199a-5p inhibitor 联合转染 KFs, 以评估其对细胞增殖能力的影响。结果 与正常皮肤组织(0.76 ± 0.31)及 NFs(0.84 ± 0.14)比较, LINC00319 在瘢痕疙瘩组织(6.29 ± 4.07)及 KFs(4.90 ± 0.37)中表达水平显著升高($P < 0.001$)。LINC00319 表达水平与温哥华瘢痕评定量表评分呈正相关($r = 0.794, P < 0.001$)。敲降 LINC00319 后, KFs 在 24 h、48 h、72 h 的光密度值($0.34 \pm 0.01, 0.50 \pm 0.01, 0.59 \pm 0.01$)显著低于对照组($0.49 \pm 0.01, 0.68 \pm 0.01, 0.80 \pm 0.01$), 组间、时点间、组间·时点间交互作用差异有统计学意义($P < 0.05$)。si-LINC00319 组的凋亡率(30.58 ± 2.48)% 显著高于对照组(9.69 ± 1.22)% ($P < 0.001$)。双荧光素酶报告实验结果表明, LINC00319 可与 miR-199a-5p 直接结合。在 KFs 中, miR-199a-5p 的表达水平(0.68 ± 0.02)显著低于对照组(1.09 ± 0.07) ($P < 0.001$), 而沉默 LINC00319 后, 其表达水平(1.81 ± 0.05)显著高于对照组($0.94 \pm 0.06, P < 0.001$)。功能回复实验显示, si-LINC00319 处理显著抑制 KFs 的增殖能力, 然而在同时转染 miR-199a-5p inhibitor 的条件下, KFs 于 24 h、48 h、72 h 的光密度值($0.43 \pm 0.01, 0.68 \pm 0.02, 0.79 \pm 0.02$)较 si-LINC00319 组($0.34 \pm 0.01, 0.49 \pm 0.01, 0.59 \pm 0.01$)显著升高, 组间、时点间、组间·时点间交互作用差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 LINC00319 通过负向调控 miR-199a-5p 的表达, 促进瘢痕疙瘩的发生与发展。

[关键词] 瘢痕疙瘩; LINC00319; miR-199a-5p doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2025.07.013

[中图分类号] R619.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2025)07-0826-07

LINC00319 promotes keloid progression by targeting miR-199a-5p

LU Hai-tao¹, ZHAO Yun-hua², SHI Shao-min³, JI Ya-cong³, LIU Ya-ling^{3*}

(1. Department of Dermatology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Hebei Province, Chengde 067000, China; 2. Department of Otolaryngology, Chengde Central Hospital, Hebei Province, Chengde 067000, China; 3. Department of Dermatology, the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050051, China)

[收稿日期] 2025-04-09

[基金项目] 河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目 (ZF2024067)

[作者简介] 陆海涛(1984—), 男, 河北石家庄人, 承德医学院附属医院副主任医师, 医学硕士, 从事皮肤科疾病诊治研究。

* 通信作者。E-mail: yzling_liu2023@hebm.u.edu.cn

[Abstract] Objective To investigate the role of long non-coding RNA LINC00319 in the occurrence and development of keloids, as well as its underlying molecular mechanisms. **Methods**

A total of 18 patients with clinically diagnosed keloids were enrolled from the Affiliated Hospital of Chengde Medical College from February 2024 to February 2025. Keloid tissues and adjacent normal skin tissues were collected, and primary fibroblasts were isolated to obtain keloid fibroblasts (KFs) and normal dermal fibroblasts (NFs). The expression levels of LINC00319 and miR-199a-5p in tissues and cells were determined by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Small interfering RNA was used to silence LINC00319 expression in KFs, and the silencing efficiency was verified using qRT-PCR. The effects of LINC00319 silencing on cell proliferation were evaluated using the CCK-8 assay, while apoptosis was assessed by flow cytometry. The targeted binding relationship between LINC00319 and miR-199a-5p was confirmed by dual-luciferase reporter assay. In addition, qRT-PCR was performed to determine the regulatory effect of LINC00319 knockdown on miR-199a-5p expression. KFs were co-transfected with si-LINC00319 and miR-199a-5p inhibitor to assess the effects on cellular proliferative activity.

Results Compared with normal tissues (0.76 ± 0.31) and NFs (0.84 ± 0.14), the expression level of LINC00319 was significantly elevated in keloid tissues (6.29 ± 4.07) and KFs (4.90 ± 0.37) ($P < 0.001$). Its expression was positively correlated with the Vancouver Scar Scale score ($r = 0.794$, $P < 0.001$). Following LINC00319 knockdown, the optical density values of KFs at 24 h, 48 h, and 72 h (0.34 ± 0.01 , 0.50 ± 0.01 , and 0.59 ± 0.01) were significantly lower than those in the control group (0.49 ± 0.01 , 0.68 ± 0.01 , and 0.80 ± 0.01), and significant differences were observed in interaction between groups, time points, and time points between groups ($P < 0.05$). The apoptosis rate in the si-LINC00319 group was significantly increased compared with the control group [$(30.58 \pm 2.48)\%$ vs. $(9.69 \pm 1.22)\%$] ($P < 0.001$). Dual-luciferase reporter assay confirmed a direct binding interaction between LINC00319 and miR-199a-5p. In KFs, the expression level of miR-199a-5p (0.68 ± 0.02) was significantly lower than that in the control group (1.09 ± 0.07) ($P < 0.001$), whereas silencing LINC00319 markedly elevated miR-199a-5p expression compared with the si-NC group [(1.81 ± 0.05) vs. (0.94 ± 0.06)] ($P < 0.001$). Rescue experiments demonstrated that silencing LINC00319 significantly inhibited the proliferative activity of KFs. However, under co-transfection with miR-199a-5p inhibitor, the optical density values at 24 h, 48 h, and 72 h (0.43 ± 0.01 , 0.68 ± 0.02 , 0.79 ± 0.02) were significantly higher than those in the si-LINC00319 group (0.34 ± 0.01 , 0.49 ± 0.01 , 0.59 ± 0.01) ($P < 0.001$). Statistical analysis indicated significant differences in interaction between groups, time points, and time points between groups ($P < 0.05$). **Conclusion** LINC00319 facilitates the occurrence and development of keloids by negatively regulating miR-199a-5p.

[Key words] keloid; LINC00319; miR-199a-5p

瘢痕疙瘩是一种源于皮肤损伤后组织修复过程异常所致的纤维增生性疾病,其临床特征为瘢痕组织超出原始创面范围生长,常伴有疼痛、瘙痒及美容和心理负担,严重影响患者生活质量^[1-2]。近年来,随着表观遗传学研究的深入,长链非编码RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs) 在瘢痕疙瘩发生发展中的调控作用逐渐受到广泛关注^[3-4]。多个 lncRNA 通过内源竞争 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 调控微小 RNA

(microRNA, miRNA) 活性,进而参与瘢痕疙瘩成纤维细胞(keloid fibroblasts, KFs)的增殖、迁移、凋亡及胶原合成等关键生物过程^[5-7]。LINC00319作为一种功能性 lncRNA,已在多种肿瘤相关疾病中被证实具有促进肿瘤进展的潜在作用^[8-10]。然而,其在瘢痕疙瘩发生发展中的表达特征及功能尚未被充分揭示。本研究旨在明确 LINC00319 在瘢痕疙瘩的表达水平,并进一步阐明其潜在的作用机制。报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究共纳入2024年2月—2025年2月承德医学院附属医院经临床诊断明确的瘢痕疙瘩患者18例,其中男性9例,女性9例,年龄22~43岁。术中获取瘢痕疙瘩组织及其邻近正常皮肤组织(取样点距病灶边缘 >0.5 cm),切取的新鲜组织一部分立即置于液氮中保存以用于后续RNA提取,另一部分用于原代成纤维细胞的分离培养实验。

本研究经承德医学院附属医院伦理委员会批准通过,所有患者均知情同意本研究并签署知情同意书。

1.2 主要试剂 DMEM高糖培养基及胎牛血清购自武汉普诺赛生命科技有限公司,Trizol试剂购自美国Thermo公司,FastKing cDNA第一链合成试剂盒、SuperReal荧光定量预混试剂增强版试剂盒及miRcute增强型miRNA cDNA第一链合成试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司,Lipofectamine 3000转染试剂购自美国Invitrogen公司,Annexin V-磷酸乙酯/7-放线霉素D细胞凋亡分析试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司。双荧光素酶试剂盒购自上海吉玛制药技术有限公司,敲低LINC00319的小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)、miR-199a-5p inhibitor和GP-mirGLO双荧光素酶报告载体由上海吉玛制药技术有限公司构建。

1.3 方法

1.3.1 原代成纤维细胞的分离培养与转染 通过外科手术获取新鲜人瘢痕疙瘩组织及正常皮肤组织样本,立即置入含有双抗(青霉素100 kU/L、链霉素100 mg/L)的无菌预冷无糖型DMEM培养基中,于4℃条件下转运,并确保6 h内完成处理。组织经磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)充分清洗,去除表皮层与脂肪,随后剪成约 0.5 mm^3 的小块,依次进行0.25%胰酶消化(室温振荡30 min)及2 g/L胶原酶I消化(室温振荡60 min)。消化结束后,样本经800 r/min离心5 min后重悬于添加20%胎牛血清的完全培养基中,置于37℃、5% CO₂恒温培养箱中培养,直至成纤维细胞自组织块中迁出并贴壁生长。待细胞增殖至适当密度后进行传代、扩增,部分原代细胞冻存于液氮中备用。细胞转染使用Lipofectamine 3000试剂完成,具体操作过程严格按照试剂盒说明书中的标准流程执行。si-NC(5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'; 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3')、si-

LINC00319(5'-GCTGTAATGTGCTGTGACT-3'; 5'-AGTCACAGCACATTACAGC-3')、inhibitors NC(5'-CAGUACUUUUGUGUAGUACAA-3')、miR-199a-5p inhibitor(5'-GAACAGGUAGUCU-GAACACUGGG-3')全部由上海吉玛制药技术有限公司设计、合成,转染48 h后,收集细胞用于本研究的后续实验。

1.3.2 qRT-PCR检测瘢痕疙瘩组织及KFs中LINC00319的表达水平 采用Trizol试剂分别提取瘢痕疙瘩组织、正常皮肤组织、KFs以及正常皮肤成纤维细胞(normal dermal fibroblasts, NFs)中的总RNA。mRNA和miRNA的逆转录反应分别使用FastKing cDNA第一链合成试剂盒与miRcute增强型miRNA cDNA第一链合成试剂盒进行,操作流程严格遵循各试剂盒说明书。qRT-PCR反应分别采用SuperReal荧光定量预混增强版试剂盒和miRcute增强型miRNA荧光定量检测试剂盒,并在全自动实时荧光定量PCR仪上完成检测。以GAPDH和U6分别作为mRNA和miRNA的内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因相对表达水平。

1.3.3 CCK-8检测各组细胞的增殖 将转染处理48 h后的细胞接种于96孔板中,每组设3个平行孔。分别于0 h、24 h、48 h及72 h时间点向各孔加入10 μL CCK-8工作液,于37℃孵育2 h后,在450 nm波长处测定各孔的光密度(optical density, OD)值。通过不同时间点的OD值变化评估细胞的增殖活性。

1.3.4 流式细胞术检测各组细胞的凋亡情况 实验分2组,分别为si-NC组和si-LINC00319组,每组均重设3个复孔。实验开始前,使用无EDTA的胰酶消化各组细胞,随后以预冷PBS洗涤2次(2 000 r/min, 5 min)。取 2×10^5 个细胞重悬于100 μL 结合缓冲液中,依次加入1 μL Annexin V-磷酸乙酯染色液及5 μL 7-放线霉素D染料,在避光条件下于室温孵育10 min。染色结束后补加400 μL 结合缓冲液进行稀释,随后使用流式细胞仪进行检测。

1.3.5 双荧光素酶报告基因检测 选取生长状态良好的细胞,消化后重悬并接种于12孔板中,在37℃培养箱中孵育过夜,待细胞密度达约60%时进行转染。转染复合物的制备如下:A管中加入4 μL GP-transfect-Mate转染试剂与50 μL 无血清培养基,混匀后静置5 min;B管中加入50 pmol miR-199a-5p mimics(5'-CCCAGUGUUCAGACU-

ACCUGUUC-3'; 5'-ACAGGUAGUCUGAACAC-UGGGUU-3')及1 μg 质粒于50 μL 无血清培养基中,混匀并静置5 min;随后将A管与B管内容物混合,室温孵育20 min以形成转染复合物。弃去孔内原培养基,每孔加入400 μL 无血清培养基,再缓慢滴加上述转染混合液,使最终体积为500 μL 。细胞于37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育6 h后更换为新鲜完全培养基,继续培养48 h。转染结束后,用PBS洗细胞,向每孔加入400 μL 1 \times 裂解液,于室温下裂解60 min。随后取50 μL 裂解液加入至全黑96孔板中,依次加入50 μL 萤火虫荧光素酶反应液,混匀后立即检测其荧光强度。紧接着加入50 μL 海肾荧光素酶反应液,再次混匀后检测其活性。

1.4 统计学方法 应用SPSS 17.0统计软件分析数据。计量资料比较采用 t 检验、重复测量的方差分析;相关性分析采用Spearman等级相关。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LINC00319在瘢痕疙瘩组织及细胞中的表达及其临床意义 通过qRT-PCR检测发现,LINC00319在瘢痕疙瘩样本及KFs中的表达高于正常皮肤组织和NFs,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图1,表1。进一步采用Spearman秩相关性显示,瘢痕疙瘩组织中LINC00319的表达水平与温哥华瘢痕评定量表(vancouver scar scale, VSS)评分呈显著正相关($r = 0.794, P < 0.001$),见图2。

2.2 LINC00319基因敲降细胞模型的构建 分别以si-NC和si-LINC00319转染KFs,qRT-PCR结果显示,与si-NC组相比,si-LINC00319处理的细胞中LINC00319表达水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

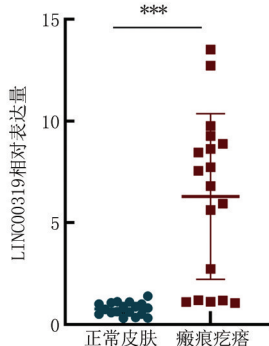


图1 LINC00319在瘢痕疙瘩组织显著高表达

Figure 1 Significantly upregulated LINC00319 in keloid tissues

表1 LINC00319在KFs和NFs的表达水平

Table 1 Expression levels of LINC00319 in KFs and NFs

($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	LINC00319水平
NFs组	0.84 \pm 0.14
KFs组	4.90 \pm 0.37
t 值	17.871
P 值	<0.001

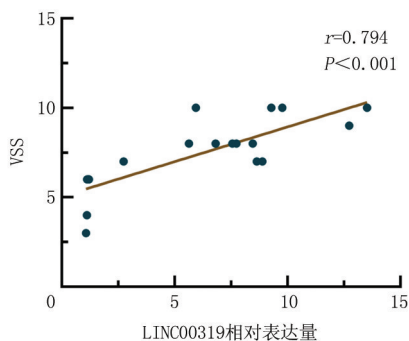


图2 瘢痕疙瘩组织中LINC00319的表达水平与VSS评分的相关性分析

Figure 2 Correlation analysis between LINC00319 expression and VSS scores in keloid tissues

表2 si-LINC00319转染后KFs中LINC00319的表达水平

Table 2 Expression levels of LINC00319 in KFs following transfection with si-LINC00319

($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	LINC00319水平
si-NC组	0.98 \pm 0.05
si-LINC00319组	0.39 \pm 0.02
t 值	18.760
P 值	<0.001

2.3 敲降LINC00319对KFs增殖能力的影响 为探讨LINC00319表达下调对KFs增殖的影响,在细胞中分别转染si-LINC00319和si-NC,采用CCK-8法检测细胞增殖情况。结果显示,随时间延长,2组OD值均呈逐渐升高趋势,敲降LINC00319后细胞的OD值较si-NC组显著降低,组间、时点间、组间·时点间交互作用差异有统计学意义($P < 0.05$),见表3。

2.4 LINC00319沉默对KFs凋亡的影响 流式细胞术检测结果显示,敲降LINC00319后KFs的凋亡率较si-NC组显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图3,表4。

2.5 LINC00319与miR-199a-5P结合位点分析 为进一步验证LINC00319是否与miR-199a-5p之间存在直接调控关系,构建了包含LINC00319野生型(wild type, WT)和突变型(mutant, MUT)序列的GP-mirGLO报告质粒,并分别与miR-199a-5p mimics共转染。双荧光素酶报告实验结果表明,与

miR-NC 组相比, miR-199a-5p mimics 组 统计学意义($P < 0.05$),见图 4,表 5。
LINC00319-WT 细胞的荧光活性显著降低,差异有

表 3 LINC00319 敲降对 KFs 增殖能力的抑制作用

Table 3 The inhibitory effect of LINC00319 knockdown on the proliferation of KFs

($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	OD 值			
	0 h	24 h	48 h	72 h
si-NC 组	0.32±0.01	0.49±0.01	0.68±0.01	0.80±0.01
si-LINC00319 组	0.32±0.01	0.34±0.01	0.50±0.01	0.59±0.01
组间		F 值=7.097	P 值=0.049	
时点间		F 值=22.379	P 值<0.001	
组间·时点间		F 值=234.847	P 值<0.001	

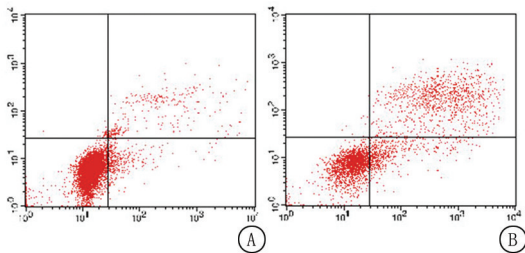


图 3 LINC00319 沉默对 KFs 凋亡的影响

A, si-NC 组; B, si-LINC00319 组

Figure 3 Impact of LINC00319 silencing on apoptosis in KFs

表 4 LINC00319 沉默对 KFs 凋亡的影响

Table 4 Impact of LINC00319 silencing on apoptosis in KFs

($n=3, \bar{x} \pm s, \%$)

组别	凋亡率
si-NC 组	9.69±1.22
si-LINC00319 组	30.58±2.48
t 值	13.103
P 值	<0.001

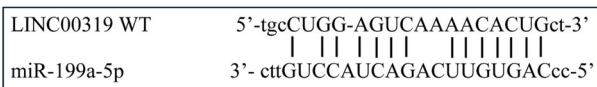


图 4 LINC00319 与 miR-199a-5p 之间的结合位点

Figure 4 Binding sites between LINC00319 and miR-199a-5p

表 5 通过双荧光素酶检测 LINC00319 与

miR-199a-5p 的相互作用

Table 5 Interaction between LINC00319 and miR-199a-5p using dual-luciferase reporter assay

($n=9, \bar{x} \pm s$)

组别	LINC00319-WT	LINC00319-MUT
miR-NC 组	1.00±0.03	1.00±0.02
miR-199a-5p mimics 组	0.55±0.01	1.01±0.02
t 值	46.214	0.616
P 值	<0.001	0.547

2.6 LINC00319 通过充当 miR-199a-5p 的 ceRNA 促进瘢痕疙瘩进展 qRT-PCR 结果表明, miR-199a-5p 在 KFs 中表达明显低于 NFs, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 6。进一步干预实验显示, 在沉默 LINC00319 表达后, miR-199a-5p 的转录水平明显上升, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 7。功能恢复实验显示, 随时间延长, 4 组 OD 值均呈逐渐升高趋势, si-LINC00319 组 KFs 的增殖能力显著降低, 然而, 在 si-LINC00319 与 miR-199a-5p inhibitor 共同转染的条件下, 细胞 OD 值较单独 si-LINC00319 组显著升高, 组间、时点间、组间·时点间交互作用差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 8。

表 6 miR-199a-5p 在 KFs 的表达水平

Table 6 Expression levels of miR-199a-5p in KFs

($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	miR-199a-5p 水平
NFs 组	1.09±0.07
KFs 组	0.68±0.02
t 值	10.348
P 值	<0.001

表 7 LINC00319 下调对 miR-199a-5p 表达的影响

Table 7 Effect of LINC00319 knockdown on miR-199a-5p expression

($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	miR-199a-5p 水平
si-NC 组	0.94±0.06
si-LINC00319 组	1.81±0.05
t 值	19.750
P 值	<0.001

表8 si-LINC00319与miR-199a-5p inhibitor联合转染对KFs增殖活性的影响

Table 8 Impact of co-transfection with si-LINC00319 and miR-199a-5p inhibitor on the proliferative activity of KFs

(n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	OD值			
	0 h	24 h	48 h	72 h
si-LINC00319组	0.32±0.01	0.34±0.01	0.49±0.01	0.59±0.01
miR-199a-5p inhibitor组	0.33±0.01	0.50±0.01	0.91±0.01	1.09±0.01
si-LINC00319+miR-199a-5p inhibitor组	0.32±0.01	0.43±0.01	0.68±0.02	0.79±0.02
组间		F值=2.955	P值=0.043	
时点间		F值=40.927	P值<0.001	
组间·时点间		F值=205.476	P值<0.001	

3 讨 论

瘢痕疙瘩的病理过程复杂,临床治疗效果不佳,易反复发作,严重影响患者生活质量^[11-12]。随着分子生物学技术的持续发展,在瘢痕疙瘩组织中发现多种异常表达的编码与非编码RNA,其通过调控细胞增殖、凋亡、迁移及细胞外基质合成,参与瘢痕疙瘩的病理过程^[13-15]。Liang等^[16]通过lncRNA芯片分析比较瘢痕疙瘩与正常皮肤组织,发现共计1731个lncRNA上调、782个lncRNA下调,提示非编码RNA广泛参与其发生发展过程。Duan等^[17]进一步通过RNA-seq与miRNA-seq构建了瘢痕疙瘩特异性ceRNA网络,揭示了多个潜在的调控通路。

LINC00319位于人类染色体21q22.3,属非编码RNA,缺乏蛋白质编码功能,在多种恶性肿瘤中具有促肿瘤进展的作用^[18-20]。实验显示^[21],LINC00319主要定位于细胞质,这一分布特征决定其具备通过ceRNA机制调控miRNA功能的功能。在卵巢癌中,LINC00319通过吸附miR-423-5p解除其对NACC1的抑制,促进细胞增殖、迁移与侵袭^[22]。在胃癌中,其作为ceRNA吸附miR-335-5p,进而上调ADCY3表达,增强肿瘤细胞增殖与转移能力^[23]。本研究发现,LINC00319在瘢痕疙瘩组织及KFs中均显著上调。VSS评分作为临床常用的瘢痕严重程度评估工具,其应用价值已被广泛认可。相关性分析结果显示,LINC00319的表达水平与VSS评分呈正相关,提示其可能参与瘢痕疙瘩的发生发展,并与临床严重程度密切相关。敲降实验结果表明,下调LINC00319的表达可显著抑制KFs增殖并诱导其凋亡,进一步提示LINC00319在瘢痕疙瘩的发生与发展中发挥重要调控作用。为进一步阐明其作用机制,本研究通过双荧光素酶报告实验证实LINC00319可与miR-199a-5p直接结合。

miR-199a-5p是一类具有广泛生物功能的miRNA,参与多种生理及病理过程的调控。Liu

等^[24]在卵巢癌中发现,miR-199a-5p可通过靶向NF- κ B1显著抑制细胞增殖与侵袭。Li等^[25]在喉癌中发现miR-199a-5p表达显著降低,其过表达可通过激活Caspase-3、抑制上皮间质转化相关蛋白,从而抑制细胞迁移与侵袭。在皮肤癌中,脂肪干细胞来源的外泌体富含miR-199a-5p,可通过靶向SOX4基因抑制肿瘤细胞的增殖与侵袭^[26]。在非小细胞肺癌中,miR-199a-3p/5p通过靶向Rheb,抑制mTOR通路激活,进而阻断肿瘤的生长和转移^[27]。本研究发现,miR-199a-5p在KFs中显著低表达,而敲降LINC00319可显著上调其表达,提示二者可能存在负向调控关系。功能恢复实验进一步表明,miR-199a-5p抑制剂可显著逆转LINC00319敲降所致的细胞增殖抑制效应,验证了LINC00319通过调控miR-199a-5p影响KFs生物学行为的分子机制。

综上所述,LINC00319在瘢痕疙瘩组织中呈现高表达,可促进KFs增殖并抑制其凋亡。LINC00319可通过竞争性结合miR-199a-5p,以ceRNA形式参与瘢痕疙瘩的发生及病理性进展。本研究为阐明瘢痕疙瘩的分子发病机制提供了新思路,并提示LINC00319/miR-199a-5p轴可能成为潜在的治疗靶点。

[参考文献]

- [1] Ojeh N, Bharatha A, Gaur U, et al. Keloids: Current and emerging therapies [J]. Scars Burn Heal, 2020, 6: 2059513120940499.
- [2] Kim HJ, Kim YH. Comprehensive insights into keloid pathogenesis and advanced therapeutic strategies [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(16): 8776.
- [3] Su X, Ma Y, Wang Q, et al. LncRNA HOXA11-AS aggravates keloid progression by the regulation of HOXA11-AS-miR-205-5p-FOXO1 pathway [J]. J Surg Res, 2021, 259: 284-295.
- [4] Guo Y, Li M, Long J, et al. LncRNA-ZNF252P-AS1/miR-15b-5p promotes the proliferation of keloid fibroblast by regulating the BTF3-STAT3 signaling pathway [J]. J

- Dermatol Sci,2022,108(3):146-156.
- [5] Xu L, Sun N, Li G, et al. LncRNA H19 promotes keloid formation through targeting the miR-769-5p/EIF3A pathway [J]. Mol Cell Biochem,2021,476(3):1477-1487.
- [6] Wang J, Shen J. LncRNA HOXA11-AS aggravates the keloid formation by targeting miR-148b-3p/IGFBP5 axis [J]. Biochem Biophys Res Commun,2021,581:60-67.
- [7] Yuan W, Sun H, Yu L. Long non-coding RNA LINC01116 accelerates the progression of keloid formation by regulating miR-203/SMAD5 axis[J]. Burns,2021,47(3):665-675.
- [8] Jiang X, Liang X, Li S, et al. The LINC00319 binding to STAT3 promotes the cell proliferation, migration, invasion and EMT process in oral squamous cell carcinoma[J]. Arch Biochem Biophys,2024,761:110170.
- [9] Su X, Yan L, Si J, et al. LINC00319: Unraveling the spectrum from gene regulation to clinical applications in cancer progression[J]. Gene,2024,896:148044.
- [10] Kong W, Zhang L, Chen Y, et al. Cancer cell-derived exosomal LINC00313 induces M2 macrophage differentiation in non-small cell lung cancer[J]. Clin Transl Oncol,2022,24(12):2395-2408.
- [11] Zhao SY, Wu D, Cheng C, et al. Advances and future directions in keloid research: Pathogenesis, diagnosis and personalized treatment strategies[J]. World J Clin Cases, 2023,11(34):8094-8098.
- [12] 唐悦玲,李心怡,桦木酸通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调控瘢痕疙瘩成纤维细胞增殖、侵袭和胶原合成[J].河北医药, 2024,46(5):658-663.
- [13] Yu F, Zhu X, Xu H, et al. Emerging roles of long non-coding RNAs in keloids[J]. Front Cell Dev Biol,2022,10:963524.
- [14] Zou A, Liu P, Liu T, et al. Long non-coding RNA HOXA11-AS contributes to the formation of keloid by relieving the inhibition of miR-182-5p on ZNF217[J]. Burns,2023,49(5):1157-1169.
- [15] Ye W, Lu J, Yang Z, et al. Long non-coding RNA B3GALT5-AS1 suppresses keloid progression by regulating the β -Trcp1-mediated ubiquitination of HuR [J]. Clin Cosmet Investig Dermatol,2024,17:967-979.
- [16] Liang X, Ma L, Long X, et al. LncRNA expression profiles and validation in keloid and normal skin tissue [J]. Int J Oncol,2015,47(5):1829-1838.
- [17] Duan X, Wu Y, Zhang Z, et al. Identification and analysis of dysregulated lncRNA and associated ceRNA in the pathogenesis of keloid[J]. Ann Transl Med,2020,8(5):222.
- [18] Sun F, Yu Z, Wu B, et al. LINC00319 promotes osteosarcoma progression by regulating the miR-455-3p/NFIB axis[J]. J Gene Med,2020,22(11):e3248.
- [19] Wang X, Meng R, Hu QM. LINC00319-mediated miR-3127 repression enhances bladder cancer progression through upregulation of RAP2A[J]. Front Genet,2020,11:180.
- [20] Yuan L, Tian X, Zhang Y, et al. LINC00319 promotes cancer stem cell-like properties in laryngeal squamous cell carcinoma via E2F1-mediated upregulation of HMGB3 [J]. Exp Mol Med,2021,53(8):1218-1228.
- [21] Yang J, Hou S, Liang B. LINC00319 promotes migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition process in cervical cancer by regulating miR-3127-5p/RPP25 axis[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim,2020,56(2):145-153.
- [22] Du W, Feng Z, Sun Q. LncRNA LINC00319 accelerates ovarian cancer progression through miR-423-5p/NACCC1 pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 507(1/4):198-202.
- [23] Zou J, Wu K, Lin C, et al. LINC00319 acts as a microRNA-335-5p sponge to accelerate tumor growth and metastasis in gastric cancer by up-regulating ADCY3 [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2020,318(1):g10-g22.
- [24] Liu X, Yao B, Wu Z. miRNA-199a-5p suppresses proliferation and invasion by directly targeting NF- κ B1 in human ovarian cancer cells[J]. Oncol Lett,2018,16(4):4543-4550.
- [25] Li DJ, Wang X, Yin WH, et al. miR-199a-5p suppresses proliferation and invasion of human laryngeal cancer cells[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2020,24(23):12200-12207.
- [26] Liu M, Wang H, Liu Z, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells inhibits skin cancer progression via miR-199a-5p/SOX4[J]. Biotechnol Genet Eng Rev, 2024, 40(4):3950-3962.
- [27] Liu X, Wang X, Chai B, et al. miR-199a-3p/5p regulate tumorigenesis via targeting Rheb in non-small cell lung cancer [J]. Int J Biol Sci,2022,18(10):4187-4202.

(本文编辑:赵丽洁)