doi:10.11659/jjssx.09E019024

·基础研究·

miR-506-3p 通过靶向 MTDH 增加前列腺癌细胞的化学敏感性

侯 赞[1],王雪桃[2],何 朗[1],薛志红[1],曾贵林[1],戴刚毅[1],孟又胜[1],李光俊[2],柏 森[2] (1.成都市第五人民医院肿瘤科,四川 成都 611130;2.四川大学华西医院放疗中心,四川 成都 610041)

[摘 要] **目的** 研究 miR-506-3p 对前列腺癌细胞化学敏感性的影响及其作用机制。**方法** 用 RT-qPCR 检测 miR-506-3p 和 MTDH 在前列腺癌细胞系和正常前列腺细胞系中的表达水平;以紫杉醇为诱导药物构建人前列腺癌耐药细胞株 PC-3/PTX,将 PC-3/PTX 细胞随机分为 5 组:对照组、NC mimic 组、miR-506-3p mimic 组、LV-MTDH 组、mimic + MTDH 组,利用 Lipofectamine 3000 转染试剂盒分别转染对应质粒。检测其存活率、IC50 值、克隆细胞数目、凋亡率以及凋亡相关蛋白的表达水平;构建 MTDH 野生型(WT)和突变型(MUT),用双荧光素酶报告基因实验验证 miR-506-3p 与 MTDH 之间的靶向关系;Western blot 检测 miR-506-3p mimic 处理后PC-3/PTX细胞中 MTDH 的蛋白表达水平。**结果** miR-506-3p 在前列腺癌细胞中低表达,而 MTDH 高表达;miR-506-3p 在 PC-3/PTX 细胞中的表达量显著低于在前列腺癌细胞 PC-3 中的表达量;相比于对照组和 NC mimic 组,miR-506-3p mimic 组的 PC-3/PTX 细胞的存活率、IC50 值、克隆细胞数目及 Bcl-2 表达明显降低,凋亡率及 Bax 表达明显升高;MTDH 野生型较突变型能使荧光素酶活性显著下降;miR-506-3p mimic 组 PC-3/PTX 细胞中 MTDH 蛋白表达水平显著低于对照组和 NC mimic 组;相比于对照组,miR-506-3p mimic 组中 PC-3/PTX 细胞克隆数目显著减少,凋亡率升高,而 LV-MTDH 组与之相反;相比于 LV-MTDH 组,mimic + MTDH 组 PC-3/PTX 细胞中 MTDH 的表达量显著下降,细胞克隆数目减少,凋亡率升高。**结论** miR-506-3p 通过靶向抑制 MTDH 的表达能增强人前列腺癌耐药细胞株 PC-3/PTX 的化学敏感性。

[关键词] miR-506-3p;MTDH;靶向抑制;前列腺癌;细胞的化学敏感性

[中图分类号] R737.25 [文献标识码] A [收稿日期] 2019-09-08

MiR-506-3p increases chemosensitivity of prostate cancer cells by targeting MTDH

HOU Zan[1],WANG Xue-tao[2],HE Lang[1],XUE Zhi-hong[1],ZENG Gui-lin[1],DAI Gang-yi[1],MENG You-sheng[1],LI Guang-jun[2],BAI Sen[2] (1.Department of Oncology,Chengdu Fifth People's Hospital,Chengdu Sichuan 611130,China;2.Radiotherapy Center,West China Hospital,Sichuan University,Chengdu Sichuan 610041,China)

Abstract: Objective To elucidate the effect of miR-506-3p on the chemosensitivity of prostate cancer cells and its mechanism. **Methods** The expression levels of miR-506-3p and MTDH in prostate cancer cell lines and normal prostate cell lines were examined by RT-qPCR. The human prostate cancer resistant cell line PC-3/PTX was constructed with paclitaxel as the inducing drug, PC-3 / PTX cells were randomly divided into 5 groups: control group, NC mimic group, miR-506-3p mimic group, LV-MTDH group, mimic + MTDH group, and were transfected with corresponding plasmids by using Lipofectamine 3000 Stain kit. The survival rate, IC50 value, number of cloned cells, apoptosis rate and expression levels of apoptosis-related proteins were detected. The wild-type and mutant-type MTDH were constructed. The dual-luciferase reporter gene assay was employed to verify the targeting relationship between miR-506-3p and MTDH. Western blot was used to detect the expression of MTDH protein in PC-3/PTX cells after miR-506-3p mimic treatment. **Results** The expression of miR-506-3p was low in prostate cancer cells, while the expression of MTDH was high in prostate cancer cells. The expression level of miR-506-3p in PC-3/PTX cells was significantly lower than that in prostate cancer cells PC-3. Compared with the control group and NC mimic group, the survival rate, IC50 value, number of cloned cells and the expression of Bcl-2 in PC-3/PTX cells of miR-506-3p mimic group were significantly

[基金项目] 国家自然科学基金(81472807)

[通信作者] 柏 森,E-mail:baisen@scu.edu.cn

[19] Colhoun AF,Klausner AP,Nagle AS,et al. A pilot study to measure dynamic elasticity of the bladder during urodynamics[J]. Neurourol Urodyn,2017,36(4):1086-1090. doi:10.1002/nau.23043.

[20] 王振宇. 中枢神经损伤后轴突变性的研究进展[J]. 中华神经创伤外科电子杂志,2015,1(1):49-52. doi:10.3877/cma.j.issn.2095-9141.2015.01.014.

[21] Olmarker K,Holm S,Rydevik B,et al. Importance of compression onset rate for the degree of impairment of impulse propagation in experimental compression injury of the porcine cauda equina[J]. Spine,1990,15(5):416-419. doi:10.1097/00007632-199005000-00013.

(编辑:左艳芳)

decreased, while the apoptosis rate and the expression of Bax were significantly increased. The wild-type MTDH showed a significant decrease in luciferase activity compared with mutant-type MTDH. The expression level of MTDH protein in PC-3/PTX cells of miR-506-3p mimic group was significantly lower than those in the control group and NC mimic group. Compared with the control group, the number of PC-3/PTX cell clones was significantly decreased in the miR-506-3p mimic group, and the apoptosis rate was increased, while those in the LV-MTDH group were opposite. Compared with LV-MTDH group, the expression of MTDH and the number of cell clones in PC-3/PTX cells of mimic + MTDH group were significantly decreased, and the apoptosis rate was increased. **Conclusion** miR-506-3p can enhance the chemosensitivity of human prostate cancer resistant cell line PC-3/PTX by targeting inhibition of MTDH expression.

Keywords: miR-506-3p; metadherin; targeted inhibition; prostate cancer; chemosensitivity of cells

前列腺癌(prostate cancer,PCa)是世界范围内广泛存在的恶性肿瘤之一,主要危害男性泌尿生殖系统,具有较高的致死率[1-2]。近几年来我国前列腺癌的发病率也逐渐上升[3]。目前对前列腺癌采用的治疗手段有手术切除、化疗、放疗等,但预后会出现复发率高、癌细胞易发生转移等问题[4]。加之前列腺癌细胞对化疗药物已经表现出极严重的耐药效应,化疗效果有所降低[5]。紫杉醇(paclitaxel,PTX)属于紫杉烷类,是化疗常用药物。正常情况下紫杉醇相对于其他药物表现出 2 ~ 3 个月的中位生存优势,能明显改善患者生活质量,但患者在后期出现耐药性后仍然会死于前列腺癌[6-7]。因此,阐明前列腺癌细胞耐药机制,提高其对紫杉醇的化学敏感性,是治疗前列腺癌亟需解决的难点问题。

microRNA(miRNA)是一类长度只有 18 ~ 24 bp 的非编码 RNA,在真核细胞中广泛存在,能结合到下游 mRNA 的非编码区并调控其表达,进而参与多项生命过程[8]。研究发现,多种肿瘤的发生及发展过程都有 miRNA 的参与,这与其表达模式有密切关联[9]。miR-506-3p 位于 X 染色体上,是 miR-506-514 族成员之一,有众多靶基因[10],已发现其在直肠癌[11]、黑色素瘤[12]、视网膜母细胞瘤[13]等恶性肿瘤中发挥调控作用。有研究报道 miR-506-3p 在前列腺癌细胞中低表达[14],但尚无 miR-506-3p 参与前列腺癌细胞化学敏感性调控的相关报道。异黏蛋白(metadherin,MTDH)也称星型胶质细胞上调基因-1(AEG-1),是一类原癌基因,在多种恶性肿瘤中高表达[15-17]。在前列腺癌中过表达 MTDH 可促进前列腺癌细胞存活、侵袭和迁移,并抑制其凋亡[18-19]。本研究将探索过表达 miR-506-3p 对前列腺癌细胞生长和凋亡的影响,前列腺癌细胞中 miR-506-3p 与 MTDH 之间的靶向关系,进一步揭示 miR-506-3p 与 MTDH 相互作用对前列腺癌细胞化学敏感性的影响,以期改善前列腺癌的预后效果。

1 材料与方法

1.1 药物、试剂与仪器

前列腺癌细胞系(PC-3、DU145、LNCaP)、正常前列腺细胞系(RWPE-1)购自中科院上海生命科学院细胞库,Trizol reagent 总 RNA 提取试剂盒(Sigma),反转录试剂盒、RT-qPCR 定量试剂盒(Takara),miR-506-3p mimic、NC mimic(锐博),胎牛血清(Hyclone),DMEM 培养基(Gibco),MTDH、Bcl-2、Bax、GADPH 抗体(CST),紫杉醇(Sigma),引物设计(上海生工),Hoechst 染色试剂盒(碧云天),LV-MTDH(吉凯),ECL 化学发光检测试剂盒(ThermoFisher),Lipofectamine 3000 转染试剂盒(Invitrogen),双荧光素酶报告基因试剂盒(Promega),定量 PCR 仪(Corbett)光显微镜(蔡司),多功能酶标仪(Tecan)。

1.2 方法

1.2.1 组织获取 从我院行前列腺癌切除术的患者中获取癌组织。所有志愿者均签署了有关临床数据的书面知情同意书。本研究得到我院研究伦理委员会和临床医学学院的批准,并根据《赫尔辛基宣言》的道德准则进行。

1.2.2 细胞培养 将 PC-3、DU145、LNCaP、RWPE-1 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中,放置于 37 ℃、含 5% CO_2 的恒温培养箱内。

1.2.3 RT-qPCR 检测 miR-506-3p 和 MTDH 的表达水平 取对数期的细胞,用 Trizol reagent 总 RNA 提取试剂盒提取出细胞内的总 RNA,将 miRNA 和 mRNA 分别反转录为 cDNA,再进行定量分析。RT-qPCR 条件:95 ℃持续 10 min,然后再 95 ℃持续 15 s,60 ℃持续 25 s,72 ℃持续 35 s,进行 40 个循环。用 U6 标准化,使用 $2^{-\Delta\Delta C}$ 法测量表达水平。miR-506-3p 的正向引物:5′-TAAGGCACCCTTCTGAGTAGA-3′,反向引物:5′-GCGAGCACAGAATTAATACGAC-3′;MTDH 的正向引物:5′-TTACCACCGAGCAACTTACAAC-3′,反向引物:5′-ATTCCAGCCTCCTCCATTGAC-3′;U6 的正向引物:5′-TGACACGCAAATTCGTGAAGCGTTC-3′,反向引物:5′-CCAGTCTCAGGGTCCGAGGTGTC-3′。

1.2.4 构建人前列腺癌耐药细胞株 PC-3/PTX 取对数期的 PC-3 细胞,以化疗常用药物紫杉醇为诱导药物,采用间歇逐步增加计量法[5]诱导 PC-3 细胞产生耐药性,最终 PC-3/PTX 细胞维持在 1 μg/mL 紫杉醇以

保持耐药性。

1.2.5 分组及处理 取 PC-3/PTX 细胞用胰蛋白酶消化后,将适量细胞接种于 24 孔板,随机分为 5 组:对照组、NC mimic 组、miR-506-3p mimic 组、LV-MTDH 组、mimic + MTDH 组。培养 24 h 后使用 Lipofectamine 3000 转染试剂盒分组进行转染。

1.2.6 CCK8 检测 PC-3/PTX 细胞活力 CCK8 分析检测 PC-3/PTX 细胞存活率,并计算细胞 IC50 值。将 1.2.5 分组处理细胞在培养箱中预培养 24 h,向培养板中加入不同浓度的紫杉醇(0、2、4、6、8、10 μg/mL),并设置不加细胞液的对照孔,每种处理设 3 个复孔。孵育 24 h 后,向每孔加入 10% CCK8 无血清培养液 200 μL,孵育 4 h 后于酶标仪上测定 450 nm 处的吸光值(A)。细胞存活率(%) = [A(加药) - A(对照)]/[A(0 加药) - A(对照)] × 100%。以药物浓度为横坐标,细胞存活率为纵坐标,绘制浓度 - 效应曲线,确定板书抑制浓度(IC50)。

1.2.7 克隆形成分析检测细胞的生长情况 将消化后的细胞以 500 个/孔接种于 6 孔板,培养 14 d 后去培养液并用 PBS 洗涤,3.7% 甲醛固定 10 min,用结晶紫染色后于显微镜下观察并统计克隆形成情况。

1.2.8 Hoechst 检测细胞的调亡情况 取转染成功后的 PC-3/PTX 细胞平铺于 6 孔板,每孔分别加入 1 mL Hoechst 染色液,继续培养 20 ~ 30 min,弃染色液并进行荧光检测,将其置于倒置荧光显微镜下观察各组细胞核呈蓝色的细胞,观察并记录凋亡细胞数目,并计算细胞凋亡率。

1.2.9 Western blot 检测调亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 和 MTDH 的表达 收集转染成功的细胞,用 PIPA 裂解液提取总蛋白,并用 BCA 试剂盒检测浓度,将蛋白于 10% SDS-PAGE 进行电泳分离,用半转模仪转移蛋白质至 PVDF 膜,在 5% 脱脂牛奶封闭液中封闭 90 min,加入一抗 4 ℃过夜孵育,漂洗后加入二抗室温孵育 1 h,再次漂洗后用ECL液显色曝光,用GAPDH作为内标蛋白,使用 Image J 软件处理图像并计算蛋白相对表达水平。

1.2.10 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-506-3p 和 MTDH 之间的靶向关系 先用 TargetScan 软件预测 miR-506-3p 与 MTDH 的潜在结合位点。从 PC-3/PTX细胞中扩增出包含结合位点的片段以及包含突变结合位点的片段,将其分别连接到报告基因载体上,命名为 MTDH 野生型(WT)和突变型(MUT)重组质粒。之后又将其分别与 NC mimic 或 miR-506-3p mimic 共转入 PC-3/PTX 细胞,再按试剂盒使用说明测定各组荧光素酶活性变化。

1.3 统计学方法

使用 SPSS 19.0 软件进行数据分析,利用 GraphPad Prism 绘制图表,多组间比较用单因素方差分析,2 组比较采用 t 检验,$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义,$P<0.01$ 表示差异具有极显著性统计学意义。

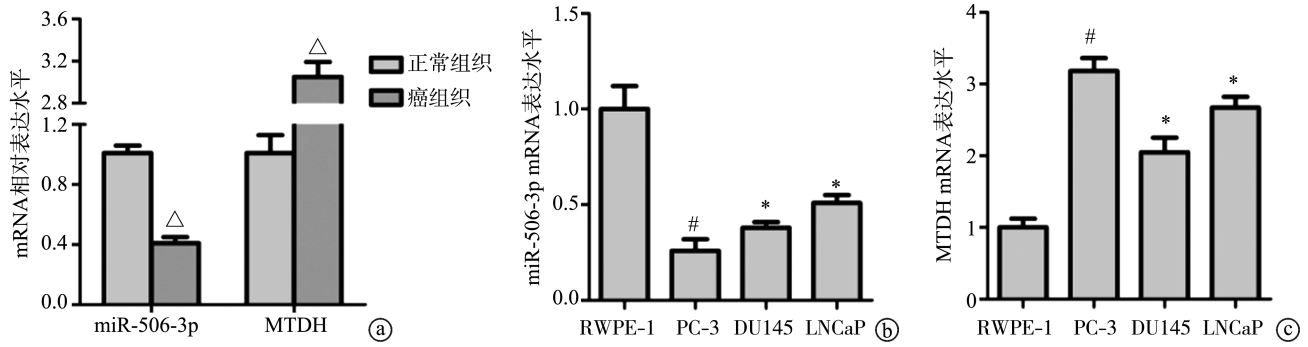
2 结果

2.1 miR-506-3p 与 MTDH 在前列腺癌细胞中的表达模式

RT-qPCR 定量结果显示,miR-506-3p 在前列腺癌组织及细胞系(PC-3、DU145、LNCaP)中的表达水平显著低于在正常前列腺组织及细胞系(RWPE-1)中的表达水平;而 MTDH 却表现出与 miR-506-3p 表达模式相反的趋势,在前列腺癌组织及细胞中表达水平高于在正常前列腺组织及细胞系(RWPE-1)中的表达水平,且以前列腺癌细胞系 PC-3 差异最大(图 1)。表明在前列腺癌组织及细胞中,miR-506-3p 低表达,而 MTDH 高表达。

2.2 miR-506-3p 过表达抑制前列腺癌耐药细胞 PC-3/PTX 生长

miR-506-3p 在人前列腺癌耐药细胞株 PC-3/PTX 的表达量显著低于在前列腺癌细胞 PC-3 的表达量(图 2a),说明 miR-506-3p 的表达降低可能是前列腺癌细胞对紫杉醇产生耐药的原因。经 miR-506-3p mimic



*:与 RWPE-1 比较,$P<0.05$;#:与 RWPE-1 比较,$P<0.01$;△:与癌旁组织比较,$P<0.01$ a:前列腺癌组织及正常组织中 miR-506-3p 及 MTDH 的表达水平; b:前列腺癌细胞系中 miR-506-3p 的表达水平;c:前列腺癌细胞系中 MTDH 的表达水平

图 1 RT-qPCR 检测 miR-506-3p 与 MTDH 在前列腺癌细胞中的表达

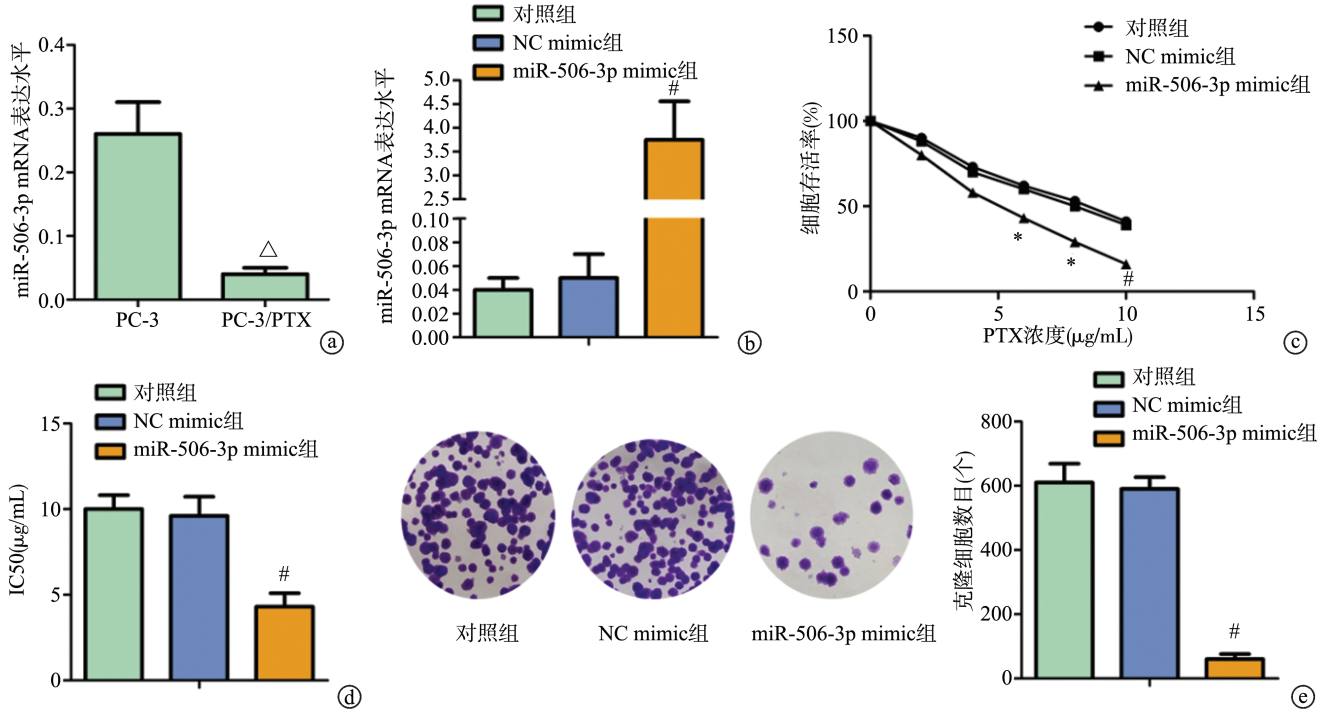
和 NC mimic 分别转染 PC-3/PTX 细胞后,miR-506-3p mimic 组的 PC-3/PTX 细胞内 miR-506-3p 的表达水平显著高于对照组和 NC mimic 组,说明处理成功(图 2b)。随着紫杉醇浓度的增加,3 组处理的 PC-3/PTX 细胞存活率均逐渐下降;当紫杉醇浓度达10 μg/mL时,miR-506-3p mimic 组的 PC-3/PTX 细胞存活率、IC50 值以及克隆细胞数目明显低于对照组和 NC mimic 组(图 2c~e),说明 miR-506-3p 过表达会抑制PC-3/PTX 细胞生长,增加其化学敏感性。

2.3 miR-506-3p 过表达促进前列腺癌耐药细胞 PC-3/PTX 凋亡

与对照组和 NC mimic 组相比,miR-506-3p mimic 处理后的 PC-3/PTX 细胞凋亡率显著升高,增长幅度为 2 倍以上(图 3a),并且抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达显著降低,促凋亡蛋白 Bax 的表达水平明显升高(图 3b),表明 miR-506-3p 过表达会促进 PC-3/PTX 细胞凋亡,从而增加其化学敏感性。

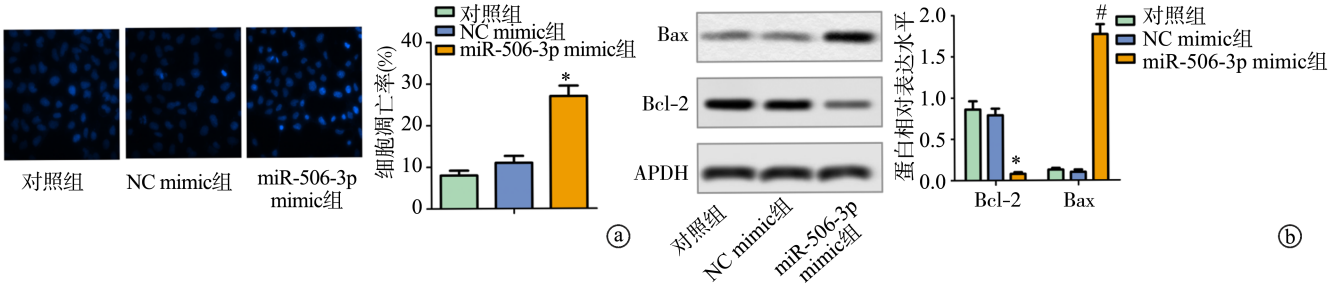
2.4 miR-506-3p 靶向抑制 MTDH 的表达

用 TargetScan 软件预测,发现在 MTDH 3′UTR 的 978-985 bp 区域存在 has-miR-506-3p 的潜在结合位点(图 4a)。用双荧光素酶报告基因实验验证,MTDH 野生型较突变型能使荧光素酶活性显著下降(图 4b),说明 miR-506-3p 与 MTDH 之间确实存在靶向关系。Western blot 检测发现 miR-506-3p mimic 组 PC-3/PTX 细胞中 MTDH 蛋白表达水平显著低于对照组和 NC mimic 组(图 4c),表明过表达 miR-506-3p 会抑制



*:与对照组比较,$P<0.05$;#:与对照组比较,$P<0.01$;△:与 PC-3 比较,$P<0.01$ a:RT-qPCR 检测在前列腺癌耐药细胞株 PC-3/PTX 中 miR-506-3p 的表达水平;b:RT-qPCR 检测在转染处理的前列腺癌耐药细胞株中 miR-506-3p 的表达水平;c:CCK8 检测细胞活力; d:CCK8 检测细胞 IC50;e:克隆形成实验检测细胞的生长(结晶紫染色 ×200)

图 2 miR-506-3p 过表达抑制前列腺癌耐药细胞 PC-3/PTX 生长



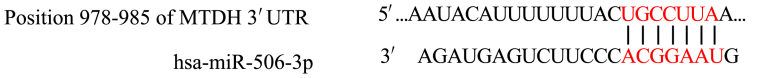
*:与对照组比较,$P<0.05$;#:与对照组比较,$P<0.01$ a:Hoechst 检测细胞的凋亡情况(×400);b:Western blot 检测调亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax 的表达

图 3 miR-506-3p 过表达促进前列腺癌耐药细胞 PC-3/PTX 凋亡

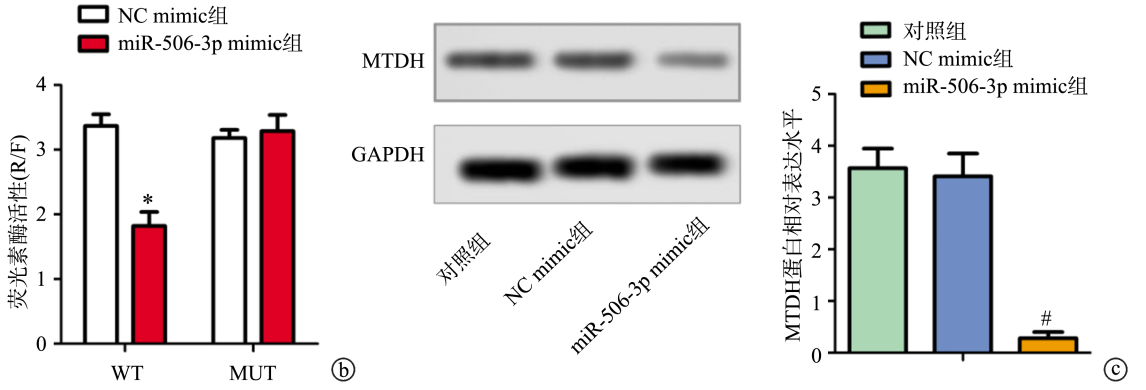
MTDH 的表达，即 miR-506-3p 靶向抑制 MTDH 的表达。

2.5 miR-506-3p 通过靶向抑制 MTDH 的表达增强 PC-3/PTX 细胞的化学敏感性

引入慢病毒载体 LV 构建过表达 MTDH，将 LV-MTDH 转染至 PC-3/PTX 细胞后发现，MTDH 的表达水平较对照组和 LV-MTDH 组明显升高（图 5a），说明载体构建和细胞转染是成功的。将 miR-506-3p mimic、LV-MTDH 单独或联合转染 PC-3/PTX 细胞，检测其 MTDH的表达水平、克隆数目及凋亡情况的变化。相

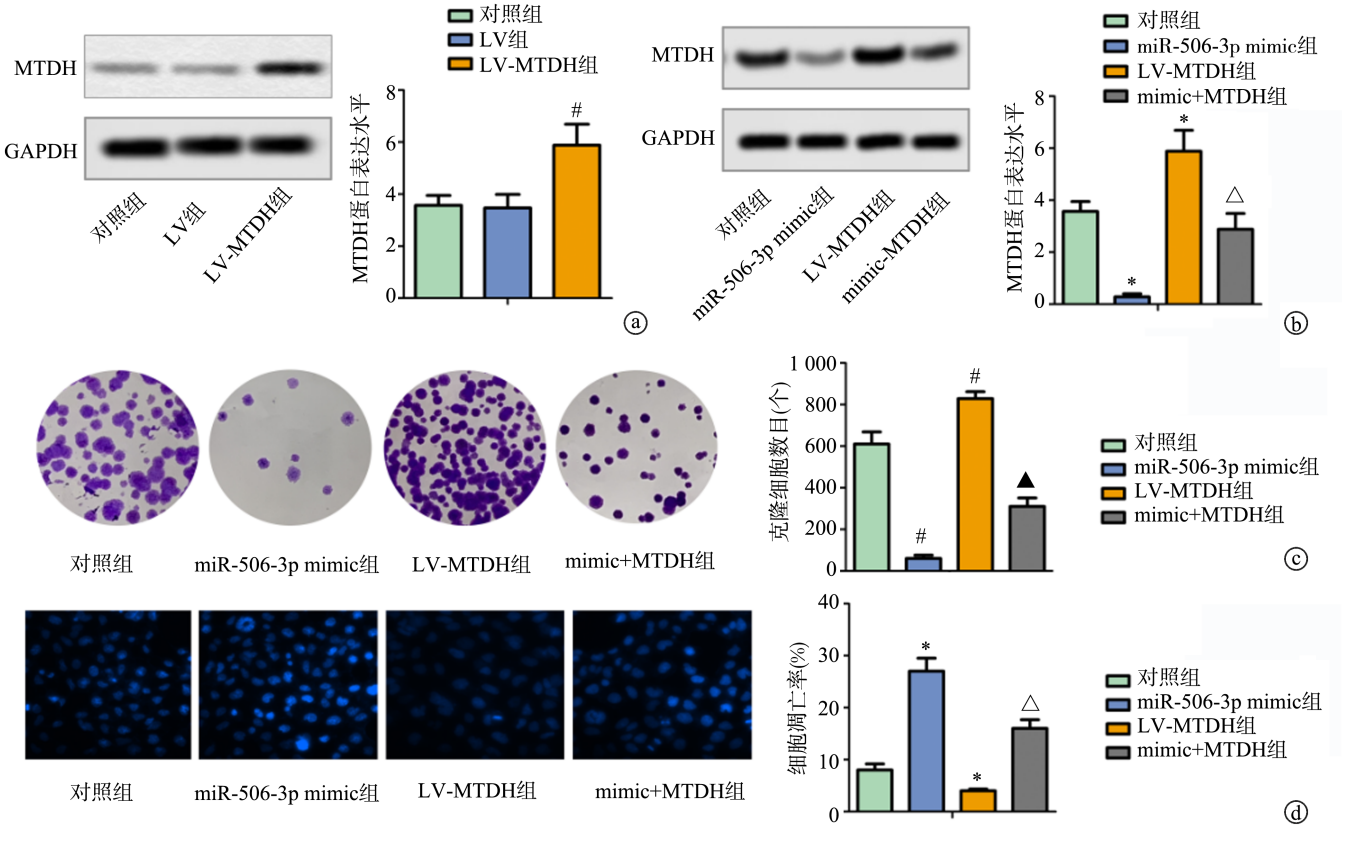


ⓐ



*：与 NC mimic 组比较，$P<0.05$；#：与对照组比较，$P<0.01$ a：TargetScan 软件预测靶向关系；b：双荧光素酶报告基因实验验证靶向关系；c：Western blot 检测调亡相关蛋白 MTDH 的表达

图 4 miR-506-3p 靶向抑制 MTDH 的表达



*：与对照组比较，$P<0.05$；#：与对照组比较，$P<0.01$；△：与 LV-MTDH 组比较，$P<0.05$；▲：与 LV-MTDH 组比较，$P<0.01$ a、b：Western blot检测调亡相关蛋白 MTDH 的表达；c：克隆形成实验检测细胞的生长（结晶紫染色 ×200）；d：Hoechst 检测细胞的调亡情况（×400）

图 5 miR-506-3p 通过靶向抑制 MTDH 的表达增强 PC-3/PTX 细胞的化学敏感性

比于对照组,miR-506-3p mimic 组中 MTDH 的表达量显著下降,PC-3/PTX 细胞克隆数目减少,凋亡率升高,而 LV-MTDH 组中 MTDH 的表达量明显升高,PC-3/PTX 细胞克隆数目增加,凋亡率显著下降。相对于 LV-MTDH 组,mimic + MTDH 组 PC-3/PTX 细胞中 MTDH 的表达量显著下降,细胞克隆数目减少,凋亡率升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见图 5b ~ d。上述结果表明,MTDH 过表达会促进 PC-3/PTX 细胞生长、抑制其凋亡,并且 miR-506-3p 过表达可逆转 MTDH 过表达对 PC-3/PTX 细胞产生的影响,因此,miR-506-3p 能够通过靶向抑制 MTDH 的表达增强 PC-3/PTX 细胞的化学敏感性。

3 讨论

对于前列腺癌的治疗目前主要采用常规临床手段,虽然可以暂时缓解癌症症状,但治疗后 1 ~ 3 年内易出现复发,对化疗药物产生耐药,最终导致前列腺癌进入晚期,大幅降低患者的存活率[20]。紫杉醇是一类临床治疗癌症的常规化疗药物,前列腺癌患者用药一段时间后会出现耐药,严重破坏治疗效果[6]。因此,阐明其耐药机制对患者预后具有重要意义。关于 miR-506-3p 和 MTDH 的关系及其对癌细胞化学敏感性的影响,目前还未见相关的报道。本研究探索了 miR-506-3p 和 MTDH 在前列腺癌细胞和正常前列腺细胞中的表达情况,通过检测 miR-506-3p 过表达对人前列腺癌耐药细胞株 PC-3/PTX 生长、凋亡的影响,体外验证 miR-506-3p 与 MTDH 的靶向关系,并验证其相互作用对 PC-3/PTX 细胞的影响。

本研究中,miR-506-3p 在前列腺癌细胞中低表达,表明在前列腺癌中 miR-506-3p 是一个抑癌因子,与之前的报道一致[14]。miR-506-3p 在其他疾病中也有着相似的作用,能抑制人肝癌细胞的侵袭和转移[21];过表达 miRNA-506 和 miRNA-124 可减轻人心肌细胞功能障碍[22];miR-506-3p 能抑制骨肉瘤细胞自噬、侵袭和转移[10,23],还可抑制鼻咽癌肿瘤生长和转移[24];沉默 miRNA-506 可促进非小细胞肺癌的发展[25]。而 MTDH 在前列腺癌细胞中高表达,与前人研究一致[15,19],表明其在前列腺癌中也是一个促癌因子,若降低 MTDH 的表达可抑制食管癌细胞增殖,抑制胶质瘤细胞、胃癌细胞增殖、侵袭和迁移[17,26-27]。据相关数据显示,我国大约 70% 的前列腺癌患者为局部晚期或已发生广泛转移[28],那么或许可将 miR-506-3p 或 MTDH 在前列腺癌细胞的表达情况作为前列腺癌恶性程度的早期确诊指标。miR-506-3p 在耐药细胞 PC-3/PTX 中的表达水平明显低于正常前列腺细胞,表明前列腺癌细胞产生耐药性可能是内部 miR-506-3p 的表达量降低导致的。并且 miR-506-3p 过表达可明显抑制 PC-3/PTX 细胞的生长,促进其凋亡,即 miR-506-3p 过表达可以增加前列腺癌细胞对紫杉醇的化学敏感性。有报道称,miR-34a 过表达可增强前列腺癌细胞对紫杉醇的耐药性,在这方面 miR-506-3p 与 miR-34a 可能存在协同作用[29],但还需进一步研究。

另外,本研究观察到 miR-506-3p 与 MTDH 的表达模式在前列腺癌细胞中呈负相关,随后通过双荧光素酶报告基因实验以及检测过表达 miR-506-3p 的 PC-3/PTX 细胞中 MTDH 蛋白表达水平变化来证明 miR-506-3p 与 MTDH 之间确实存在着靶向抑制的关系。之前有报道称,MTDH 上游有一些 miRNA 靶向调控[19,27],但未见 miR-506-3p 的相关研究,因此本研究结果可以说是前列腺癌中的一项重大发现。进一步研究两者的这种靶向关系发现,miR-506-3p 通过靶向抑制 MTDH 的表达抑制 PC-3/PTX 细胞生长,促使其发生凋亡,可以增强前列腺癌细胞的化学敏感性。

综上所述,本研究证明了 miR-506p 和 MTDH 参与调控前列腺癌细胞的化学敏感性,并且初步揭示了其调控机制可能是 miR-506-3p 靶向抑制 MTDH 的表达来抑制前列腺癌耐药细胞生长,促使其发生凋亡。本研究结果将为解决前列腺癌细胞耐药性这一重大难题提供一个新的思路,即通过调节癌细胞内 miR-506-3p 与 MTDH 的表达水平,或者干扰二者之间的靶向关系影响细胞耐药性。但本实验仅为体外细胞实验,关于其在动物体内的实验还需进一步研究。

[参考文献]

[1] 曾明坤,刘 玲,张晓梅,等. 代谢综合征对行根治术前列腺癌患者预后的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志,2019,11(2):136 - 140. doi:10.3969/j.issn.1674 - 6929.2019.02.014.

[2] 张朝晖,夏 宇,杨安卿,等. 前列腺癌与前列腺增生的差异基因比较[J]. 医学分子生物学杂志,2018,31(3):149 - 155. doi:10.3870/j.issn.1672 - 8009.2018.03.006.

[3] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in china,2015[J]. Ca Cancer J Clin,2016,66(2):115 - 132. doi:10.3322/caac.21338.

[4] Saad F,Hotte SJ. Guidelines for the management of castrate-resistant prostate cancer[J]. Can Urol Assoc J,2010,4(6):380 - 384. doi:10.5489/cuaj.10167.

[5] 杨 勇,黄 璐. CXXC 指蛋白 5 在前列腺癌组织中的表达及其与临床病理特征和预后的相关性分析[J]. 医学分子生物学杂志,2019,35(1):41 - 45. doi:10.3870/j.issn.1672 - 8009.2019.01.008.

[6] Impens F,Van Damme P,Demol H,et al. Mechanistic insight into taxol-induced cell death[J]. Oncogene,2008,27(33):4580 - 4591. doi:10.1038/onc.2008.96.

[7] Berry W,Eisenberger M. Achieving treatment goals for hormone-refractory prostate cancer with chemotherapy[J]. Oncologist,2005,10(3):30 - 39. doi:10.1634/theoncologist.10 - 90003 - 30.

[8] 刘学娟,甘海宁,张丽妹,等. 循环外泌体 miRNAs 在结直肠癌中的标志作用和临床转化中的挑战[J]. 分子诊断与治疗杂志,2019,11(3):157 - 163. doi:10.3969/j.issn.1674 - 6929.2019.03.002.

[9] 王青富,魏蓓蕾,胡瑞义. 微小 RNA-92a 在前列腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志,2019,24(5):406 - 411. doi:10.3969/j.issn.1009 - 0460.2019.05.005.

[10] Jiashi W,Chuang Q,Zhenjun Z,et al. MicroRNA-506-3p inhibits osteosarcoma cell proliferation and metastasis by suppressing RAB3D expression[J]. Aging,2018,10(6):1294 - 1305. doi: 10.18632/aging.101468.

[11] 李 真. Hsa-miR-506-3p 靶向 ERK-2/ETS-1 抑制胃癌血管新生及侵袭转移的功能及机制研究[D]. 广州:南方医科大学,2016. doi:10.7666/d.Y3116994.

[12] 李振昊,徐广贤,高 倩,等. miR-506-3p 对 PIK3CA 基因的靶向调控作用[J]. 宁夏医科大学学报,2017,39(5):492 - 496. doi:10.16050/j.cnki.issn1674 - 6309.2017.05.002.

[13] Wu L,Chen Z,Xing YQ. MiR-506-3p inhibits cell proliferation,induces cell cycle arrest and apoptosis in retinoblastoma by directly targeting NEK6[J]. Cell Biology International,2018,43(12). doi:10.1002/cbin.11041.

[14] Hu CY,You P,Zhang J,et al. MiR-506-3p acts as a novel tumor suppressor in prostate cancer through targeting GALNT4[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(12):5133-5138. doi: 10.26355/eurrev_201906_18177.

[15] Qian B,Yao Y,Liu C,et al. SU6668 modulates prostate cancer progression by downregulating MTDH/AKT signaling pathway [J]. Int J Oncol,2017,50(5):1601 - 1611. doi:10.3892/ijo.2017.3926.

[16] 陈鹭姗,张 声. MTDH 在肿瘤发生、发展中的作用[J]. 国际病理科学与临床杂志,2010,11(3):243 - 246. doi:10.3969/j.issn.1673 - 2588.2010.03.013.

[17] 张金灿,廖勇仕. 下调 MTDH 表达抑制胶质瘤 U87 细胞增殖、迁移与侵袭[J]. 中国社区医师,2018,34(25):5 - 6. doi:10.3969/j.issn.1007 - 614x.2018.25.001.

[18] Hu K,Mu X,Kolibaba H,et al. Metadherin is an apoptotic modulator in prostate cancer through miR-342-3p regulation[J]. Saudi J Biol Sci,2018,25(5):975 - 981. doi:10.1016/j.sjbs.2018.04.015.

[19] Pan D,Jia Z,Li W,et al. The targeting of MTDH by miR-145-5p or miR-145-3p is associated with prognosis and regulates the growth and metastasis of prostate cancer cells[J]. Int J Oncol,2019,54(6):1955 - 1968. doi:10.3892/ijo.2019.4782.

[20] 李小江,牟睿宇,邬明歆,等. 中医药治疗去势抵抗性前列腺癌的研究进展[J]. 中草药,2019,50(4):218 - 222. doi:10.7501/j.issn.0253 - 2670.2019.04.032.

[21] Deng Q,Xie L,Li H. MiR-506 suppresses cell proliferation and tumor growth by targeting Rho-associated protein kinase 1 in hepatocellular carcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun,2015,467(4):921 - 927. doi:10.1016/j.bbrc.2015.10.043.

[22] Zhang X,Liu F,Wang Q,et al. Overexpressed microRNA-506 and microRNA-124 alleviate H_2O_2-induced human cardiomyocyte dysfunction by targeting krüppel-like factor 4/5[J]. Mol Med Rep,2017,16(4):5363 - 5369. doi:10.3892/mmr.2017.7243.

[23] Wang D,Bao F,Teng Y,et al. MicroRNA-506-3p initiates mesenchymal-to-epithelial transition and suppresses autophagy in osteosarcoma cells by directly targeting SPHK1[J]. Biosci Biotechnol Biochem,2019,83(5):836 - 844. doi:10.1080/09168451.2019.1569496.

[24] Liang TS,Zheng YJ,Wang J,et al. MicroRNA-506 inhibits tumor growth and metastasis in nasopharyngeal carcinoma through the inactivation of the Wnt/β-catenin signaling pathway by down-regulating LHX2[J]. J Exp Clin Cancer Res,2019,38(1):97. doi:10.1186/s13046 - 019 - 1023 - 4.

[25] Guo S,Yang P,Jiang X,et al. Genetic and epigenetic silencing of mircoRNA-506-3p enhances COTL1 oncogene expression to foster non-small lung cancer progression[J]. Oncotarget,2017,8(1):644 - 657. doi: 10.18632/oncotarget.13501.

[26] 杨宣琴,赵园园,杜海燕,等. 食管鳞状细胞癌中 MTDH 和 c-myc 的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志,2017,33(6):680 - 682. doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2017.06.021.

[27] 余海红,蒋莉萍,周恺韬,等. 敲低转移黏附蛋白(MTDH)基因抑制 SGC7901 细胞增殖及迁移[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2017,33(9):86 - 91. doi:10.13423/j.cnki.cjcmi.008431.

[28] 田子阳,冯 伟,朱元全,等. HAI-1 基因对前列腺癌 LNCaP 细胞迁移、侵袭和增殖的调控机制[J]. 中国性科学,2019,28(2):13 - 19. doi: 10.3969/j.issn.1672 - 1993.2019.02.002.

[29] Liu X,Luo X,Wu Y,et al. MicroRNA-34a attenuates paclitaxel resistance in prostate cancer cells via direct suppression of JAG1/Notch1 axis[J]. Cell Physiol Biochem,2018,50(1):261 - 276. doi:10.1159/000494004.

(编辑:杨 颖)