doi:10.11659/jjssx.11E021088

·基础研究·

FAM83H-AS1 靶向 miR-4684-5p 对胰腺癌细胞放射敏感性的影响

时彩艳,刘 峰,卢宏全,黄国定 (海南西部中心医院肿瘤内科,海南 儋州 571700)

[摘 要] **目的** 探讨 FAM83H-AS1 对胰腺癌 PANC-1 细胞放射敏感性的影响。**方法** 采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)分析胰腺癌组织、癌旁组织、PANC-1 细胞、HPDE 细胞中 FAM83H-AS1 和 miR-4684-5p 的差异表达。上调 pcDNA-FAM83H-AS1 表达后,采用 CCK-8 法检测细胞活力,采用流式细胞技术和 Western blot 分析细胞凋亡率和 Bax、Bcl-2 蛋白表达水平。miRnada 和双荧光素酶报告基因实验检测 FAM83H-AS1 与 miR-4684-5p 的关系。分析上调 miR-4684-5p 或同时上调 FAM83H-AS1 与 miR-4684-5p 表达对 PANC-1 细胞活力、细胞凋亡率和 Bax、Bcl-2 蛋白表达水平的影响。**结果** 与癌旁组织相比,胰腺癌组织 FAM83H-AS1 表达升高($P<0.01$),miR-4684-5p 表达降低($P<0.01$);与 HPDE 细胞相比,PANC-1 细胞 FAM83H-AS1 表达升高($P<0.01$),miR-4684-5p 表达降低($P<0.01$);FAM83H-AS1 的表达水平随 X 射线照射剂量增加而降低($P<0.05$),miR-4684-5p 的表达水平随 X 射线照射剂量增加而升高($P<0.05$)。上调 FAM83H-AS1 可增强 PANC-1 细胞活力($P<0.05$),降低细胞凋亡率($P<0.05$)。FAM83H-AS1 和 miR-4684-5p 具有靶向和负调控关系。上调 miR-4684-5p 表达可降低 PANC-1 细胞活力($P<0.05$),增加细胞凋亡率($P<0.05$)。干扰 FAM83H-AS1 表达可通过 miR-4684-5p 上调 PANC-1 细胞的放射敏感性($P<0.05$)。**结论** FAM83H-AS1在胰腺癌 PANC-1 细胞中高表达,且靶向 miR-4684-5p 可减弱胰腺癌细胞的放射敏感性。

[关键词] FAM83H-AS1;miR-4684-5p;胰腺癌;放射敏感性

[中图分类号] R735.9 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-11-16

Effect of FAM83H-AS1 targeting miR-4684-5p on radiosensitivity of pancreatic cancer cells

SHI Cai-yan, LIU Feng, LU Hong-quan, HUANG Guo-ding (Department of Oncology, Hainan Western Central Hospital, Danzhou Hainan 571700, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of FAM83H-AS1 on the radiosensitivity of pancreatic cancer PANC-1 cells. **Methods** The differential expressions of FAM83H-AS1 and miR-4684-5p in pancreatic cancer tissues, adjacent tissues, PANC-1 cells and HPDE cells were analyzed by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). After the expression of pcDNA-FAM83H-AS1 was up-regulated, the cell viability was detected by CCK-8 assay, and the cell apoptosis rate and expression levels of Bax and Bcl-2 proteins were analyzed by the flow cytometry and Western blot. The relationship between FAM83H-AS1 and miR-4684-5p was detected by miRnada and dual luciferase reporter assay. The effects of upregulation of miR-4684-5p or simultaneous upregulation of FAM83H-AS1 and miR-4684-5p on the cell viability, apoptosis rate and expression levels of Bax and Bcl-2 proteins of PANC-1 cells were analyzed. **Results** Compared with the adjacent tissues, the expression of FAM83H-AS1 in the pancreatic cancer tissues increased ($P<0.01$), and the expression of miR-4684-5p decreased ($P<0.01$). Compared with the HPDE cells, the expression of FAM83H-AS1 in the PANC-1 cells increased ($P<0.01$), and the expression of miR-4684-5p decreased ($P<0.01$). The expression level of FAM83H-AS1 decreased with the increase of X-ray radiation dose ($P<0.05$), and the expression level of miR-4684-5p increased with the increase of X-ray radiation dose ($P<0.05$). Upregulation of FAM83H-AS1 could incerase the viability of PANC-1 cells ($P<0.05$), and reduce the cell apoptosis rate ($P<0.05$). FAM83H-AS1 and miR-4684-5p were both targeted and negatively regulated. Upregulation of miR-4684-5p could reduce the viability of PANC-1 cells ($P<0.05$), and increase the cell apoptosis rate ($P<0.05$). Interfering with the expression of FAM83H-AS1 could up-regulate the radiosensitivity of PANC-1 cells through miR-4684-5p ($P<0.05$). **Conclusion** FAM83H-AS1 is highly expressed in pancreatic cancer PANC-1 cells, and targets miR-4684-5p can reduce the radiosensitivity of pancreatic cancer cells.

Keywords: FAM83H-AS1; miR-4684-5p; pancreatic cancer; radiosensitiviy

胰腺癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,其早期症状不明显,限制了早期诊断和治疗[1-2]。尽管近年来胰腺癌的治疗水平有所提高,但患者的5年生存率仍小于5%[3]。清楚地认识胰腺癌的发病机制将有助于明确胰腺癌诊治的有效靶点和策略。长链非编码 RNAs(long non-coding RNAs, lncRNAs)是真核细胞中长度超过 200 核苷酸的 RNA 转录本,不具有蛋白质编

[基金项目] 海南省卫生计生行业科研项目(20A200001)

码能力[4],lncRNAs 可参与调节多种细胞的生物学过程和疾病发病,包括正常胰腺细胞的癌变等[5-6],也可参与调控肿瘤的放射敏感性[7],如沉默 lncRNA LINC00857 通过招募 NF-κB1 增强肺腺癌细胞的放射敏感性[8];另有研究发现,lncRNA HOTAIR 可通过 miR-449b-5p 促进 HSPA1A 表达,增强乳腺癌耐辐射性[9];还有研究表明 lncRNA SBF2-AS1 可通过 miR-302a/MBNL3 轴影响非小细胞肺癌的放射敏感性[10]。有研究发现 FAM83H-AS1 参与乳腺癌、结直肠癌、食管鳞癌等肿瘤的增殖与转移[11-12],但其在胰腺癌中的表达及其调控胰腺癌放射敏感性的作用机制仍不明确。因此,本研究通过探讨 FAM83H-AS1 对胰腺癌放射敏感性的影响及其作用机制,首次揭示了 FAM83H-AS1 与胰腺癌辐射抵抗有关,为研究癌症辐射耐药性的分子机制开辟了新的途径,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 主要材料

经患者和家属同意,收集我院胰腺癌组织和距离病变位置约 5 cm 的癌旁组织标本各 30 个,且立即保存在液氮中。胰腺癌 PANC-1 细胞、正常胰腺 HPDE 细胞来自中国科学院上海细胞库,DMEM 培养基及胎牛血清(FBS)来自美国 Gibco 公司,细胞凋亡检测试剂盒购自美国 Sigma 公司,GAPDH 多克隆抗体和 Bcl-2、Bax 抗体购自英国 Abcam 公司,FAM83H-AS1 siRNA、pcDNA-FAM83H-AS1 由北京擎科生物有限公司合成,miR-4684-5p inhibitor 和 miR-4684-5p mimics 由上海吉玛公司提供,流式细胞仪购自美国 Cell Signaling。

1.2 细胞培养与转染

PANC-1 细胞、HPDE 细胞用含 10% FBS、10 kU 链霉素—青霉素的 DMEM 培养基培养,置于 37 ℃、饱和湿度为 5% CO_2 的细胞培养箱中。待细胞融合至 90%时,加入 0.25%胰蛋白酶进行消化传代。转染的细胞分组如下:①siRNA NC 组(PANC-1 细胞转染 siRNA NC 质粒)、FAM83H-AS1 siRNA 组(PANC-1 细胞转染 FAM83H-AS1 siRNA 质粒);②pcDNA-3.1(+)组[PANC-1 细胞转染 pcDNA-3.1(+)质粒]、pcDNA-3.1(+)+8 Gy 组[PANC-1 细胞转染 pcDNA-3.1(+)质粒后,用 8 Gy 射线垂直照射]、pcDNA-FAM83H-AS1 组(PANC-1 细胞转染 pcDNA-FAM83H-AS1 质粒)、pcDNA-FAM83H-AS1 + 8 Gy 组(PANC-1 细胞转染 pcDNA-FAM83H-AS1 质粒后,用 8 Gy 射线垂直照射);③FAM83H-AS1 WT + mimics NC 组(PANC-1 细胞共转染 FAM83H-AS1 WT 与 mimics NC 质粒)、FAM83H-AS1 WT + miR-4684-5p mimics 组(PANC-1 细胞共转染 FAM83H-AS1 WT 与 miR-4684-5p mimics 质粒)、FAM83H-AS1 MUT + mimics NC 组(PANC-1 细胞共转染 FAM83H-AS1 MUT 与 mimics NC 质粒)、FAM83H-AS1 MUT + miR-4684-5p mimics 组(PANC-1 细胞共转染 FAM83H-AS1 MUT 与 miR-4684-5p mimics 质粒);④mimics NC 组(PANC-1 细胞转染 mimics NC 质粒)、mimics NC +8 Gy 组(PANC-1 细胞转染 mimics NC 质粒后,用 8 Gy 射线垂直照射)、miR-4684-5p mimics 组(PANC-1 细胞转染 miR-4684-5p mimics 质粒)、miR-4684-5p mimics +8 Gy 组(PANC-1 细胞转染 miR-4684-5p mimics 质粒后,用8 Gy射线垂直照射);⑤siRNA NC + inhibitor NC 组(PANC-1 细胞共转染 siRNA NC 与 inhibitor NC 质粒)、FAM83H-AS1 siRNA + inhibitor NC 组(PANC-1 细胞共转染 FAM83H-AS1 siRNA 与 inhibitor NC 质粒)、siRNA NC + miR-4684-5p inhibitor 组(PANC-1 细胞共转染 siRNA NC 与 miR-4684-5p inhibitor 质粒)、FAM83H-AS1 siRNA + miR-4684-5p inhibitor 组(PANC-1 细胞共转染 FAM83H-AS1 siRNA 与 miR-4684-5p inhibitor 质粒);⑥X 射线未照射组、X 射线照射组(细胞完成转染后,分别采用 0、2、4、6、8 Gy 的 X 射线垂直照射)。细胞铺于 12 孔板,待融合至 75%时弃培养基,用无 FBS 的 DMEM 覆盖细胞,取稀释好的重组质粒和脂质体混匀,室温静置 20 min,缓慢滴入细胞。48 h 后收集细胞 RNA 和蛋白进行分析检测。

1.3 细胞活力测定

细胞铺于 96 孔板,融合至 70% ~80%时,按照 1.2 转染步骤将重组质粒转染至细胞内,需行 X 射线照射的细胞转染后用 8 Gy 的 X 射线垂直照射,在培养箱中静置 48 h 后,用 PBS 清洗,每孔细胞加入 10 μL CCK-8 溶液,放置 4 h,在酶标仪下读取每孔细胞在 450 nm 处的吸光度值,计算细胞活力。

1.4 流式细胞仪检测细胞凋亡率

细胞接种于 12 孔板,用 Lipofectamine™ 2000 进行质粒转染,需行 X 射线照射的细胞转染后用 8 Gy 的 X 射线垂直照射,48 h 后收集细胞置于 EP 管,PBS 清洗后,用 500 μL 结合缓冲液重悬细胞。细胞中加入 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL PI,避光放置 15 min 后离心,采用流式细胞仪测定细胞的凋亡率。

1.5 双荧光素酶报告基因实验

采用生物信息学软件 miRnada 预测 FAM83H-AS1 的靶基因后，构建 FAM83H-AS1 野生型载体（FAM83H-AS1 WT）和突变型载体（FAM83H-AS1 MUT）。分别将 FAM83H-AS1 WT + miR-4684-5p mimics 与 FAM83H-AS1 MUT + miR-4684-5p mimics 质粒共转染至细胞内，用 8 Gy 的 X 射线垂直照射，48 h 后用双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测荧光素酶活性。

1.6 实时荧光定量聚合酶链反应（real-time fluoresent quantitative polymerase chain reaction，RT-qPCR）

从液氮中取出保存的胰腺癌组织和癌旁组织，用液氮充分研磨后提取总 RNA。PANC-1 细胞转染 48 h 后或转染完成用 X 射线照射 48 h 后，用 Trizol 法提取细胞 RNA。通过逆转录试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA。以稀释后的 cDNA 为模板，GAPDH 为内参，进行 RT-qPCR，反应程序为 95 ℃ 10 min，95 ℃ 15 s，60 ℃ 1 min，共 40 个循环。结果通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析。引物序列为 GAPDH：F-CAAGGACCTCTACGCCAACAC，R-TGGAGGCGCGATGATCTT；FAM83H-AS1：F-CCTGGGTTCAAGCGATTCT，R-GGTGGCACACACCTGCTAT。

1.7 Western blot

根据说明书提取细胞中总蛋白，通过 BCA 试剂盒对蛋白进行定量后，取 50 μg 蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳，90 V 电泳 90 min，120 V 电泳 30 min，再将蛋白湿转到 PVDF 膜上（20 V 湿转 1 h）。PVDF 膜用封闭液室温摇床封闭 3 h，与特异性一抗（Bcl-2、Bax 和 GAPDH）在 4 ℃ 下反应过夜，PBST 洗涤 5 次，再于 37 ℃ 下与二抗反应 1 h，PBST 洗涤 5 次，滴加化学发光剂进行蛋白曝光，使用 Image J 软件分析目的蛋白与内参蛋白的灰度值，目的蛋白的相对表达量 = 目的蛋白灰度值/内参蛋白灰度值。

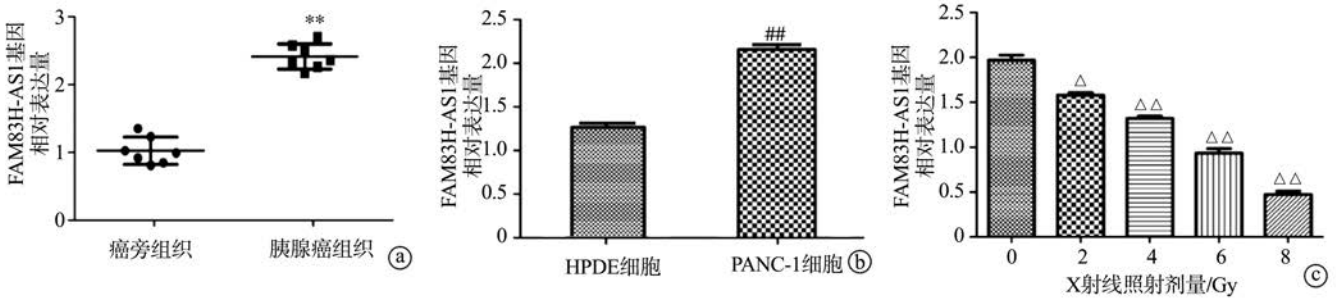
1.8 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计学软件分析数据，计量数据用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，至少取 3 次独立实验结果。组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 *LSD-t* 检验，$P<0.05$ 表示差异有统计学意义；$P<0.01$ 为差异具有极显著性统计学意义。

2 结果

2.1 FAM83H-AS1 在胰腺癌组织、细胞和抗辐射 PANC-1 细胞中的表达

FAM83H-AS1 在胰腺癌组织中的表达高于癌旁组织（$P<0.01$）；PANC-1 细胞中 FAM83H-AS1 表达高于 HPDE 细胞（$P<0.01$），见图 1a、b；与经 0 Gy X 射线照射的 PANC-1 细胞相比，用 2、4、6、8 Gy X 射线照射 PANC-1 细胞后，FAM83H-AS1 的表达水平随 X 射线照射剂量的增加而降低（$P<0.05$），见图 1c。表明 FAM83H-AS1 在胰腺癌组织和细胞中表达上调，而在抗辐射胰腺癌 PANC-1 细胞中表达下调。



a～c：RT-qPCR 检测 FAM83H-AS1 表达　＊＊：与癌旁组织比较，$P<0.01$；##：与 HPDE 细胞比较，$P<0.01$；△：与未用 X 射线照射的细胞比较，$P<0.05$；△△：与未用 X 射线照射的细胞比较，$P<0.01$

图 1 FAM83H-AS1 在胰腺癌组织、细胞和抗辐射 PANC-1 细胞中的表达

2.2 上调 FAM83H-AS1 抑制 PANC-1 细胞的放射敏感性

与 pcDNA-3.1（+）组相比，pcDNA-FAM83H-AS1 组 FAM83H-AS1 表达、Bcl-2 蛋白表达和细胞活力升高（$P<0.05$），Bax 蛋白表达和细胞凋亡率降低（$P<0.01$）；与 pcDNA-3.1（+）组相比，pcDNA-3.1（+）+8 Gy 组 FAM83H-AS1 表达、Bcl-2 蛋白表达和细胞活力降低（$P<0.05$），Bax 蛋白表达和细胞凋亡率升高（$P<0.01$）；与 pcDNA-3.1（+）+8 Gy 组相比，pcDNA-FAM83H-AS1 +8 Gy 组的 FAM83H-AS1 表达、Bcl-2 蛋白表达和细胞活力升高（$P<0.01$），Bax 蛋白表达和细胞凋亡率降低（$P<0.01$），见图 2。表明上调 FAM83H-AS1 能够抑制 PANC-1 细胞的放射敏感性。

2.3 FAM83H-AS1 和 miR-4684-5p 的关系

miRnada 预测 FAM83H-AS1 和 miR-4684-5p 之间

有直接结合位点。与 FAM83H-AS1 WT + mimics NC 组相比,FAM83H-AS1 WT + miR-4684-5p mimics 组荧光素酶活性降低($P<0.01$);与 FAM83H-AS1 MUT + mimics NC 组相比,FAM83H-AS1 MUT + miR-4684-5p mimics 组荧光素酶活性无变化($P>0.05$)。与 siRNA NC 组相比,FAM83H-AS1 siRNA 组 FAM83H-AS1 表达降低($P<0.01$)。与 siRNA NC 组相比,FAM83H-AS1 siRNA 组 miR-4684-5p 表达升高($P<0.01$);与 pcDNA-3.1(+)组相比,pcDNA-FAM83H-AS1 组 miR-4684-5p 表达降低($P<0.01$),见图 3。表明 FAM83H-AS1 和 miR-4684-5p 存在靶向和负调控关系。

2.4 miR-4684-5p 在胰腺癌组织、细胞和抗辐射 PANC-1 细胞中的表达

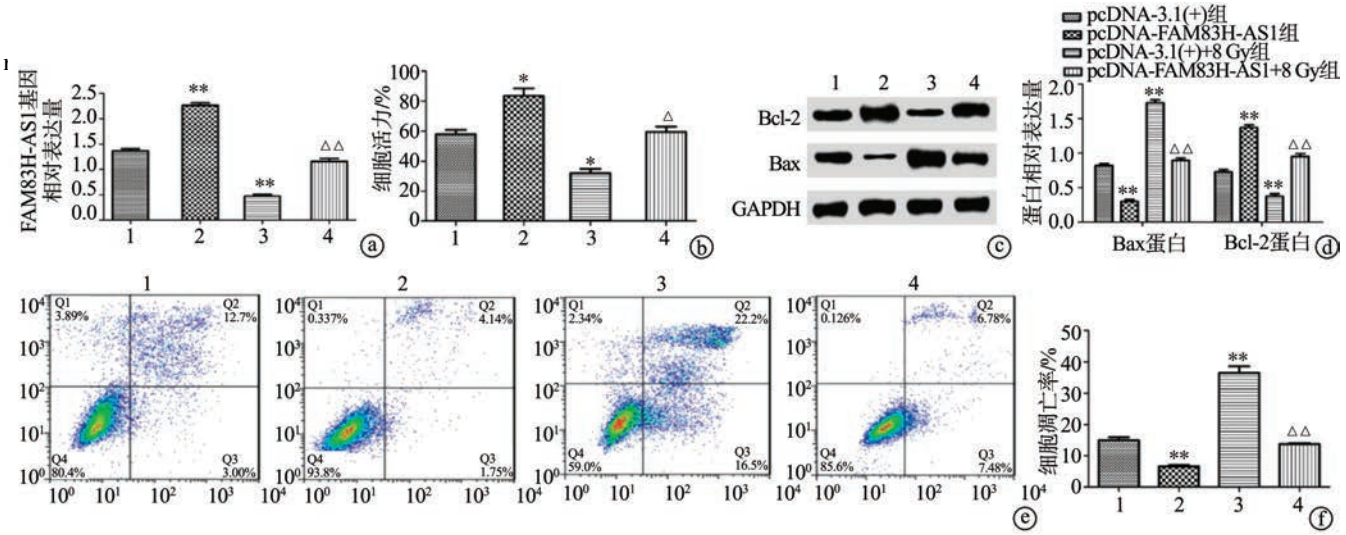
miR-4684-5p 在胰腺癌组织中的表达低于癌旁组织($P<0.01$),见图 4a;PANC-1 细胞中 miR-4684-5p 表达低于 HPDE 细胞($P<0.01$),见图 4b;与经 0 Gy X 射线照射的 PANC-1 细胞相比,经不同剂量(2、4、6、8 Gy)X 射线照射后的 PANC-1 细胞中 miR-4684-5p 的表达水平随 X 射线照射剂量的增加而升高($P<0.05$),见图 4c。表明 miR-4684-5p 在胰腺癌组织和细胞中表达下调,而在抗辐射胰腺癌 PANC-1 细胞中表达上调。

2.5 上调 miR-4684-5p 增强 PANC-1 细胞的放射敏感性

($P<0.05$),细胞活力和 Bcl-2 蛋白表达降低($P<0.05$);与 mimics NC 组相比,mimics NC + 8 Gy 组 miR-4684-5p 表达、Bax 蛋白表达和细胞凋亡率升高($P<0.01$),细胞活力和 Bcl-2 蛋白表达降低($P<0.01$);与 mimics NC + 8 Gy 组相比,miR-4684-5p mimics + 8 Gy 组细胞内 miR-4684-5p 表达、Bax 表达和细胞凋亡率升高($P<0.01$),细胞活力和 Bcl-2 蛋白表达降低($P<0.05$),见图 5。表明上调 miR-4684-5p 能够增强 PANC-1 细胞的放射敏感性。

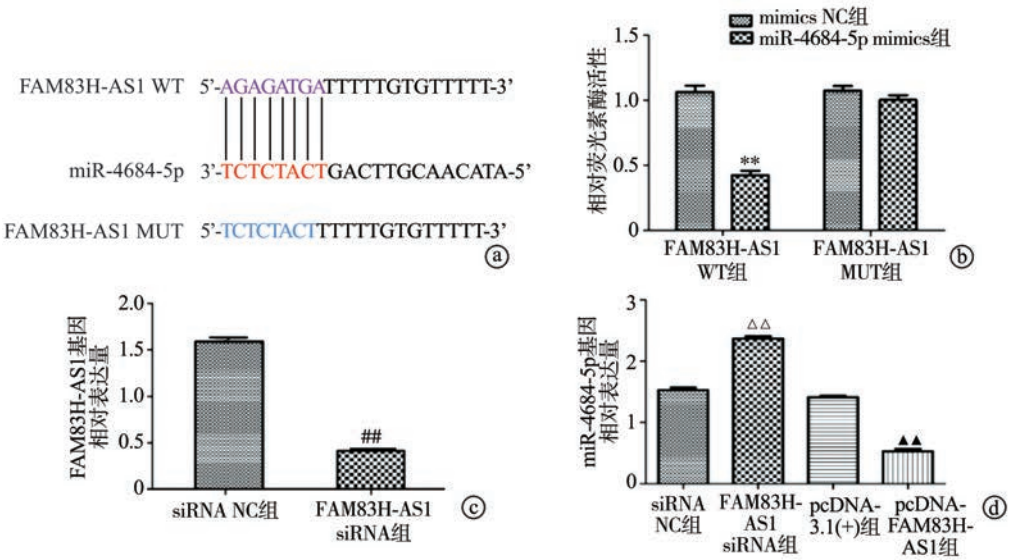
2.6 FAM83H-AS1 通过 miR-4684-5p 调控 PANC-1 细胞放射敏感性

PANC-1 细胞经 8 Gy X 射线垂直照射后,与 siRNA NC + inhibitor NC 组相比,FAM83H-AS1 siRNA + inhibitor NC 组细胞活力和 Bcl-2 蛋白表达降低($P<0.01$),Bax 蛋白表达和细胞凋亡率升高($P<0.01$);与 siRNA NC + inhibitor NC 组相比,siRNA NC + miR-4684-5p inhibitor组的细胞活力和 Bcl-2 蛋白表达升高($P<0.05$),Bax 蛋白表达和细胞凋亡率降低($P<0.01$);与 siRNA NC + miR-4684-5p inhibitor 组相比,FAM83H-AS1 siRNA + miR-4684-5p inhibitor 组的细胞活力和 Bcl-2 蛋白表达降低($P<0.05$),Bax 蛋白表达和细胞凋亡率升高($P<0.01$),见图 6。表明下调 FAM83H-AS1 能够通过 miR-4684-5p 调控 PANC-1 细胞的放射敏感性。



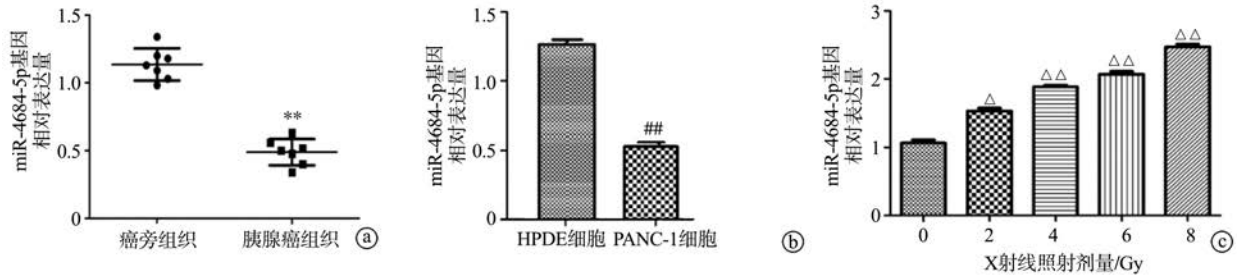
a:RT-qPCR 检测 FAM83H-AS1 表达;b:CCK-8 法检测 PANC-1 细胞活力;c、d:Western blot 检测 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平;e、f:流式细胞仪测定 PANC-1 细胞凋亡率 1:pcDNA-3.1(+)组;2:pcDNA-FAM83H-AS1 组;3:pcDNA-3.1(+)+8 Gy 组;4:pcDNA-FAM83H-AS1 +8 Gy 组;*:与 pcDNA-3.1(+)组比较,$P<0.05$;**:与 pcDNA-3.1(+)组比较,$P<0.01$;△:与 pcDNA-3.1(+)+8 Gy 组对比,$P<0.05$;△△:与 pcDNA-3.1(+)+8 Gy 组对比,$P<0.01$

图 2 上调 FAM83H-AS1 抑制 PANC-1 细胞的放射敏感性



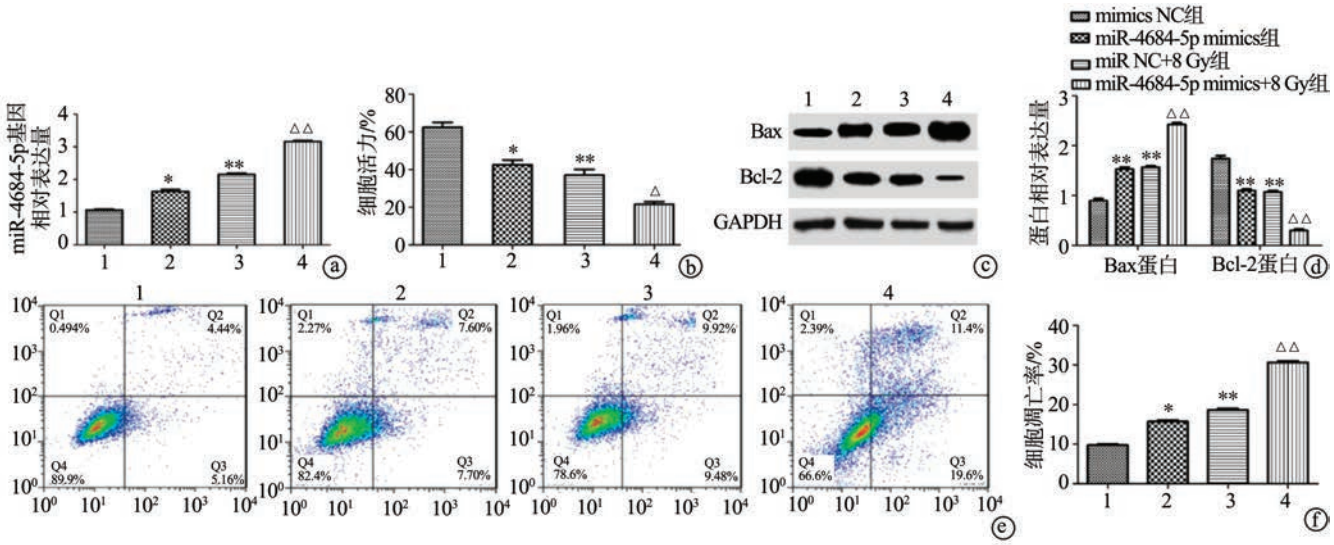
a:miRnada 预测 FAM83H-AS1 和 miR-4684-5p 之间的结合位点;b:荧光素酶活性的测定;c:RT-qPCR 检测 FAM83H-AS1 表达;d:RT-qPCR检测 miR-4684-5p 表达 ＊＊:与 FAM83H-AS1 WT + mimics NC 组比较,$P<0.01$;##:与 siRNA NC 组比较,$P<0.01$;△△:与 siRNA NC 组比较,$P<0.01$;▲▲:与 pcDNA-3.1(+)组比较,$P<0.01$

图 3 FAM83H-AS1 和 miR-4684-5p 的关系



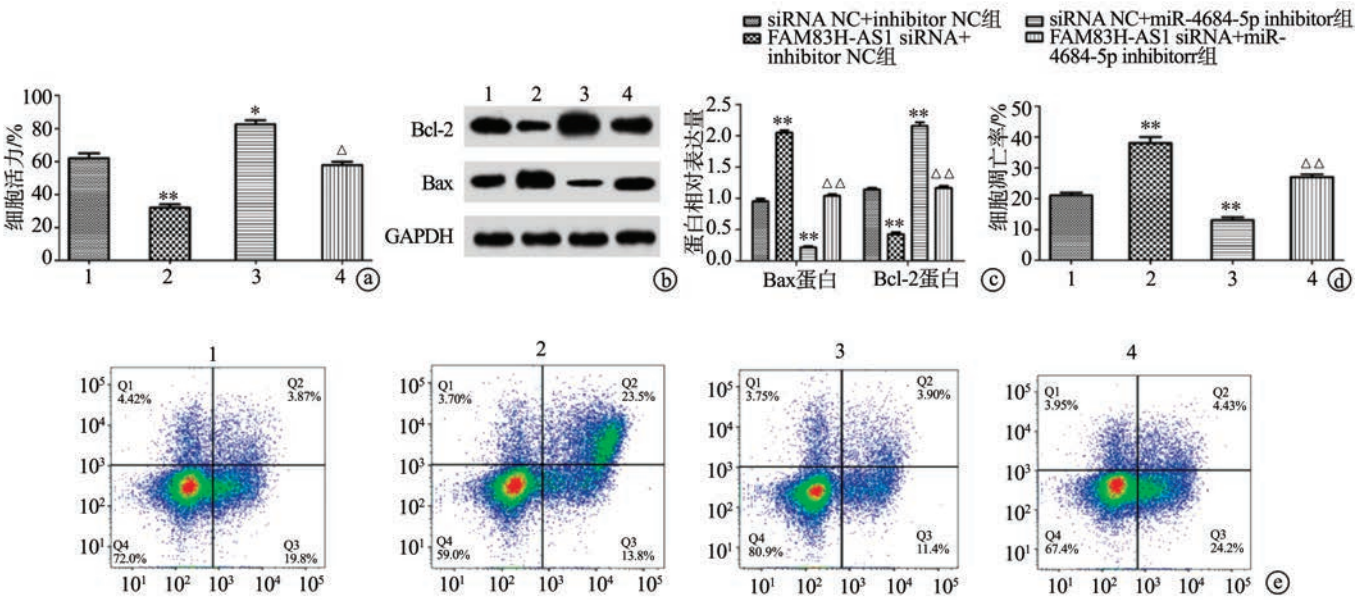
a~c:RT-qPCR 检测 miR-4684-5p 表达 ＊＊:与癌旁组织比较,$P<0.01$;##:与 HPDE 细胞比较,$P<0.01$;△:与未经 X 射线照射的细胞比较,$P<0.05$;△△:与未经 X 射线照射的细胞比较,$P<0.01$

图 4 miR-4684-5p 在胰腺癌组织、细胞和抗辐射 PANC-1 细胞中的表达



a:RT-qPCR 检测 miR-4684-5p 表达;b:CCK-8 法检测 PANC-1 细胞活力;c~d:Western blot 检测 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平;e~f:流式细胞仪测定 PANC-1 细胞的凋亡率 1:mimics NC 组;2:miR-4684-5p mimics 组;3:mimics NC + 8 Gy 组;4:miR-4684-5p mimics + 8 Gy 组;＊:与 mimics NC 组比较,$P<0.05$;＊＊:与 mimics NC 组比较,$P<0.01$;△:与 mimics NC + 8 Gy 组比较,$P<0.05$;△△:与 mimics NC + 8 Gy 组比较,$P<0.01$

图 5 上调 miR-4684-5p 增强 PANC-1 细胞的放射敏感性



a:CCK-8 法检测 PANC-1 细胞活力;b、c:Western blot 检测 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平;d、e:流式细胞仪测定 PANC-1 细胞凋亡率 1:siRNA NC + inhibitor NC 组;2:FAM83H-AS1 siRNA + inhibitor NC 组;3:siRNA NC + miR-4684-5p inhibitor 组;4:FAM83H-AS1 siRNA + miR-4684-5p inhibitor 组;*:与 siRNA NC + inhibitor NC 组比较,$P<0.05$;**:与 siRNA NC + inhibitor NC 组比较,$P<0.01$;△:与 siRNA NC + miR-4684-5p inhibitor 组比较,$P<0.05$;△△:与 siRNA NC + miR-4684-5p inhibitor 组比较,$P<0.01$

图 6 FAM83H-AS1 通过 miR-4684-5p 调控 PANC-1 细胞的放射敏感性

3 讨论

胰腺癌是一种高度转移性和侵袭性的恶性肿瘤,通常对放射治疗有耐药性[13]。越来越多的证据表明,lncRNAs 的异常表达可能对肿瘤细胞的增殖和凋亡产生重要影响[14]。因此,探讨 lncRNAs 在胰腺癌发生和辐射耐受中的作用机制,对明确其是否可以成为胰腺癌治疗的潜在靶点至关重要。有研究发现,FAM83H-AS1 在多种癌症中发挥着致癌基因的作用。如 FAM83H-AS1 是不同癌症驱动基因的潜在调制剂,也是 ER/PR$^+$ 乳腺癌患者的预后标志物[15]。在肝细胞癌中上调 FAM83H-AS1 可通过激活 Wnt/β-catenin 通路促进细胞增殖和侵袭[16]。另一项研究表明 FAM83H-AS1 可通过激活 Notch 信号通路促进大肠癌细胞增殖[17]。上述研究明确了 FAM83H-AS1 在癌症进展中的重要作用,然而目前对于 FAM83H-AS1 对胰腺癌细胞增殖与凋亡的影响尚无文献报道,因此,本研究对 FAM83H-AS1 在胰腺癌中的表达进行检测,结果显示,FAM83H-AS1 在胰腺癌组织和细胞系中高表达,结合 FAM83H-AS1 在结直肠癌、乳腺癌等肿瘤中发挥的作用,我们猜测 FAM83H-AS1 在胰腺癌细胞中也可能具有致癌作用,而上调 FAM83H-AS1 后胰腺癌细胞增殖得到促进、细胞凋亡得到抑制,进一步证实了我们的推测。说明 FAM83H-AS1 在胰腺癌的发展中也发挥了明显的致癌基因作用,与 FAM83H-AS1 在其他癌症中发挥的作用一致。此外,本研究结果还表明,FAM83H-AS1 在抗辐射胰腺癌 PANC-1 细胞中表达下调,上调其表达能够抑制 PANC-1 细胞的放射敏感性。

近期研究表明,lncRNAs 作为 miRNA 海绵负调控 miRNA 表达,进而调控肿瘤的发展[18]。如 FAM83A-AS1 靶向 miR-150-5p 和修饰 MMP14 促进肺腺癌细胞迁移和侵袭[19]。另有研究发现,FAM83H-AS1 可通过调控 miR-136-5p 促进三阴性乳腺癌进展[20]。结合前人的研究思路,本研究继续探讨了 FAM83H-AS1 的下游作用靶点,结果显示,FAM83H-AS1 能够靶向 miR-4684-5p,荧光素酶活性检测证实了 FAM83H-AS1 与 miR-4684-5p 的直接结合。有研究认为,在食管鳞癌中,FAM83H-AS1 与 miR-4684-5p 具有靶向作用,并可通过调控 miR-4684-5p/ZBTB38 轴促进有氧糖酵解和肿瘤进展[21],表明 miR-4684-5p 与肿瘤进展密切相关。目前 miR-4684-5p 在胰腺癌细胞增殖、凋亡中的作用及其机制尚未完全阐明,因此本研究还探讨了 miR-4684-5p 在胰腺癌细胞中的表达情况及其生物学功能,结果显示,miR-4684-5p 在抗辐射胰腺癌 PANC-1 细胞中表达明显上调,上调 miR-4684-5p 表达能够增强 PANC-1 细胞的放射敏感性;且下调 FAM83H-AS1 能够通过 miR-4684-5p 调控 PANC-1 细胞的放射敏感性。以上结果表明,FAM83H-AS1 的下调通过海绵样

作用在转录后水平负调控 miR-4684-5p 的表达,抑制胰腺癌细胞增殖,促进细胞凋亡,增强胰腺癌放射敏感性。说明 FAM83H-AS1 可以靶向 miR-4684-5p 调节胰腺癌细胞的放射敏感性,这可能是胰腺癌耐辐射的潜在靶点。

综上所述,FAM83H-AS1 在胰腺癌组织和细胞系中高表达,其表达下调可通过负调控 miR-4684-5p 抑制癌细胞增殖,增强胰腺癌放射敏感性。因此,靶向 FAM83H-AS1/miR-4684-5p 轴可能是一种胰腺癌辐射耐受的新的治疗方向。

[参考文献]

[1] 程 浩,仇毓东. 循环肿瘤细胞在胰腺癌诊疗中的应用[J]. 岭南现代临床外科,2021,21(2):141 - 145. doi:10.3969/j.issn.1009 - 976X.2021.02.003.

[2] 马福林,王新刚,王 琛. 胰腺癌早期诊断的研究进展[J]. 中国微创外科杂志,2020,20(4):358 - 361. doi:10.3969/j.issn.1009 - 6604.2020.04.017.

[3] 栗志磊,范新奇,包 伟,等. 局部进展期胰腺癌的诊治策略进展[J]. 中华肝胆外科杂志,2018,24(11):789 - 792. doi:10.3760/cma.j.issn.1007 - 8118.2018.11.017.

[4] Li J,Cao LT,Liu HH,et al. Long non coding RNA H19:an emerging therapeutic target in fibrosing diseases[J]. Autoimmunity,2020,53(1):1 - 7. doi:10.1080/08916934.2019.1681983.

[5] Zhai X,Xu W. Long noncoding RNA ATB promotes proliferation,migration and invasion in bladder cancer by suppressing microRNA-126[J]. Oncol Res,2018,26(7):1063 - 1072. doi:10.3727/096504018X15152072098476.

[6] Zhu K,Wang Y,Liu L,et al. Long non-coding RNA MBNL1-AS1 regulates proliferation,migration,and invasion of cancer stem cells in colon cancer by interacting with MYL9 via sponging microRNA-412-3p[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol,2020,44(1):101 - 114. doi:10.1016/j.clinre.2019.05.001.

[7] Zhou Y,Wang C,Liu X,et al. Long non-coding RNA HOTAIR enhances radioresistance in MDA-MB231 breast cancer cells[J]. Oncol Lett,2017,13(3):1143 - 1148. doi:10.3892/ol.2017.5587.

[8] Han F,Yang S,Wang W,et al. Silencing of lncRNA LINC00857 enhances BIRC5-dependent radio-sensitivity of lung adenocarcinoma cells by recruiting NF-κB1[J]. Mol Ther Nucleic Acids,2020,23(22):981 - 993. doi:10.1016/j.omtn.2020.09.020.

[9] Zhang S,Wang B,Xiao H,et al. LncRNA HOTAIR enhances breast cancer radioresistance through facilitating HSPA1A expression via sequestering miR-449b-5p[J]. Thorac Cancer,2020,11(7):1801 - 1816. doi:10.1111/1759 - 7714.13450.

[10] Yu Z,Wang G,Zhang C,et al. LncRNA SBF2-AS1 affects the radiosensitivity of non-small cell lung cancer via modulating microRNA-302a/MBNL3 axis[J]. Cell Cycle,2020,19(3):300 - 316. doi:10.1080/15384101.2019.1708016.

[11] Yang F,Lv SX,Lv L,et al. Identification of FAM83H-AS1 as a novel prognostic marker in luminal subtype breast cancer[J]. Onco Targets Ther,2016,15(9):7039 - 7045. doi:10.2147/OTT.S110055.

[12] Lu S,Dong W,Zhao P,et al. FAM83H-AS1 is associated with the prognosis of colorectal carcinoma and promotes cell proliferation by targeting the Notch signaling pathway[J]. Oncol Lett,2018,15(2):1861 - 1868. doi:10.3892/ol.2017.7520.

[13] 余海燕,朱晓斐,汤 寅,等. 立体定向体部放射治疗对胰腺癌术后复发患者生存期的影响[J]. 中华胰腺病杂志,2019,19(1):30 - 33. doi:10.3760/cma.j.issn.1674 - 1935.2019.01.007.

[14] 尹艳桃,倪亚光,覃 丽. lncRNA 在肿瘤中的表达及作用机制[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2015,31(4):352 - 359. doi:10.13865/j.cnki.cjbmb.2015.04.04.

[15] Ríos-Romero M,Cedro-Tanda A,Peña-Luna M,et al. FAM83H-AS1 is a potential modulator of cancer driver genes across different tumors and a prognostic marker for ER/PR + BRCA patients[J]. Sci Rep,2020,10(1):14145. doi:10.1038/s41598 - 020 - 71062 - 2.

[16] Ma YK,Shen TH,Yang XY. Upregulation of FAM83H-AS1 in hepatocellular carcinoma promotes cell proliferation,migration and invasion by Wnt/β-catenin pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(18):7855 - 7862. doi:10.26355/eurrev_201909_18995.

[17] Feng B,Wang G,Liang X,et al. LncRNA FAM83H-AS1 promotes oesophageal squamous cell carcinoma progression via miR-10a-5p/Girdin axis[J]. J Cell Mol Med,2020,24(16):8962 - 8976. doi:10.1111/jcmm.15530.

[18] Zheng D,Chen D,Lin F,et al. LncRNA NNT-AS1 promote glioma cell proliferation and metastases through miR-494-3p/PRMT1 axis[J]. Cell Cycle,2020,19(13):1621 - 1631. doi:10.1080/15384101.2020.1762037.

[19] Xiao G,Wang P,Zheng X,et al. FAM83A-AS1 promotes lung adenocarcinoma cell migration and invasion by targeting miR-150-5p and modifying MMP14[J]. Cell cycle,2019,18(9):1 - 14. doi:10.1080/15384101.2019.1664225.

[20] Han C,Fu Y,Zeng N,et al. FAM83H-AS1 promotes triple-negative breast cancer progression by regulating the miR-136-5p/metadherin axis[J]. Aging (Albany NY),2020,12(4):3594 - 3616. doi:10.18632/aging.102832.

[21] Qian C,Xu Z,Chen L,et al. FAM83H-AS1 promotes aerobic glycolysis and tumor progression by regulating miR-4684-5p/ZBTB38 axis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Res Sq,2020,23(5):1 - 17. doi:10.21203/rs.3.rs-31503/v2.

(编辑:贺绍梅)