基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003544

ADAR1 p150和p110参与肝癌细胞增殖、迁移和侵袭

巩 雪，柳 静，蹇文文，崔易红，涂 增
（重庆医科大学基础医学院病原生物学教研室，重庆 400016）

【摘 要】**目的：**研究腺苷脱氨酶1（adenosine deaminase acting on RNA 1，ADAR1）对肝细胞癌（liver hepatocellular carcinoma，LIHC）增殖、迁移与侵袭的影响。**方法：**利用基因表达谱交互式分析网站GEPIA检测ADAR1在LIHC中的表达水平和预后价值；提取人体肝癌标本的蛋白，通过Western blot实验检测ADAR1的表达情况。将ADAR1 p150和p110过表达质粒和靶向ADAR1 p150和p110的小干扰RNA分别转染进HepG2和Huh7细胞，利用Western blot和qPCR检测转染后细胞的ADAR1表达情况。通过CCK-8实验检测ADAR1对肝癌细胞增殖能力的影响。通过细胞划痕实验和Transwell实验检测ADAR1对肝癌细胞迁移和侵袭的影响。最后，在DAVID在线数据库中分析与ADAR1相关的信号通路，利用Western blot实验检测信号通路中相关蛋白的表达。**结果：**肝癌组织中ADAR1蛋白质水平明显高于癌旁组织，这与生物信息学的预测一致，且高表达的ADAR1与肝癌的不良预后相关；通过CCK-8实验，本研究发现过表达ADAR1可以促进肝癌细胞的增殖能力（$P<0.05$），敲低ADAR1使肝癌细胞增殖能力下降（$P<0.05$）。通过划痕和Transwell实验，本研究发现ADAR1的过表达促进了肝癌细胞的迁移和侵袭（$P<0.05$），敲低ADAR1后，肝癌细胞迁移和侵袭能力受到抑制（$P<0.05$）。DAVID在线分析结果显示，ADAR1主要富集在Wnt信号通路中。Western blot结果提示，过表达ADAR1抑制GSK3β表达和β-catenin的磷酸化水平，敲低ADAR1后GSK3β表达和β-catenin的磷酸化水平升高。**结论：**本研究结果表明，ADAR1在肝癌中处于高表达水平，可激活Wnt/β-catenin信号通路，从而促进肝癌的增殖、迁移和侵袭。

【关键词】腺苷脱氨酶1；肝癌；增殖；迁移侵袭；Wnt/β-catenin信号通路
【中图分类号】R735.7 【文献标志码】A 【收稿日期】2024-01-25

Adenosine deaminase acting on RNA 1 p150 and p110 are involved in the proliferation, migration, and invasion of liver cancer cells

Gong Xue, Liu Jing, Jian Wenwen, Cui Yihong, Tu Zeng
(*Department of Pathogen Biology, School of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University*)

【**Abstract**】***Objective***: To investigate the effect of adenosine deaminase acting on RNA 1 (ADAR1) on the proliferation, migration, and invasion of liver hepatocellular carcinoma (LIHC) cells. ***Methods***: The gene expression profiling interactive analysis website GEPIA was used to obtain the expression level and prognostic value of ADAR1 in LIHC; proteins were extracted from human hepatocellular carcinoma specimens, and Western blot was used to measure the expression level of ADAR1. HepG2 and Huh7 cells were transfected with ADAR1 p150 and p110 overexpression plasmids or small interfering RNAs targeting both ADAR1 p150 and p110, and Western blot and qPCR were used to measure the expression of ADAR1 in cells after transfection. CCK-8 assay was used to observe the effect of ADAR1 on the proliferative ability of hepatocellular carcinoma cells, and scratch assay and Transwell assay were used to observe the effect of ADAR1 on the migration and invasion of LIHC cells. Finally, the DAVID online database was used to analyze the signaling pathways related to ADAR1, and Western blot was used to measure the expression of proteins associated with the signaling pathways. ***Results***: The protein expression level of ADAR1 in hepatocellular carcinoma tissue was significantly higher than that in paracancerous tissue, which was consistent with the prediction based on bioinformatics, and the high expression of ADAR1 was associated with the poor prognosis of hepatocellular carcinoma. CCK-8 assay showed that overexpression of ADAR1 promoted the proliferation ability of hepatocellular carcinoma cells ($P<0.05$), and knockdown of

作者介绍：巩 雪，Email：gong19982021@126.com，研究方向：恶性肿瘤迁移侵袭分子机制研究。
通信作者：涂 增，Email：tuzeng@cqmu.edu.cn。
基金项目：国家自然科学基金青年科学基金资助项目（编号：81501751）；重庆市科技局自然科学基金面上资助项目（编号：cstc2021jcyj-msxmX0158）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240717.0955.014（2024-07-18）

ADAR1 reduced the proliferation ability of hepatocellular carcinoma cells（$P<0.05$）. Scratch assay and Transwell assay showed that overexpression of ADAR1 significantly promoted the migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells（$P<0.05$）, and knockdown of ADAR1 inhibited the migration and invasion abilities of hepatocellular carcinoma cells（$P<0.05$）. The results of DAVID online analysis showed that ADAR1 was mainly enriched in the Wnt signaling pathway. Western blot showed that overexpression of ADAR1 inhibited the expression of GSK3β and the phosphorylation level of β-catenin, and knockdown of ADAR1 increased the expression of GSK3β and the phosphorylation level of β-catenin. ***Conclusion***: The results of this study show that there is a high expression level of ADAR1 in LIHC, which can activate the Wnt/β-catenin signaling pathway and thus promote the proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma.

【Key words】adenosine deaminase acting on RNA 1; hepatocellular carcinoma; proliferation; migration and invasion; Wnt/β-catenin signaling pathway

肝癌是全球最常见的恶性肿瘤之一，死亡率接近发病率[1]。肝细胞癌（liver hepatocellular carcinoma，LIHC）是最常见的肝癌形式，占90%以上的病例[2]。LIHC的危险因素多种多样，包括肝炎病毒感染、酒精、非酒精性脂肪肝炎、年龄、性别等因素[3-5]。目前肝癌治疗靶向药物主要有索拉菲尼、仑伐替尼和瑞戈非尼等[6]，尽管取得了一些进展，但肝癌细胞具有高度迁移性和侵袭性[7]，导致肝癌复发和转移，治疗效果不理想，其机制也尚未明了。因此，深入探讨肝癌发生发展的机制对指导LIHC诊断预后具有重要意义。

腺苷脱氨酶1（adenosine deaminases acting on RNA 1，ADAR1）是一种双链RNA编辑酶[8-9]，催化腺苷（A）的水解脱氨反应，产生肌苷（I）。先前的研究表明，ADAR1的异常表达与LIHC的进展密切相关[10-12]，ADAR1通过编辑细胞周期蛋白依赖性激酶13（cyclin-dependent kinases 13，CDK13）、胶质瘤相关癌基因1（gliomaassociated oncogene 1，GLI1）和抗酶抑制因子（antizyme inhibitor 1，AZIN1）[13-15]进而促进细胞增殖和肝癌的发生发展。ADAR1具有2种亚型：组成性表达的p110（110 kD）和干扰素诱导表达的p150（150 kD）[16]。在LIHC临床样本中，ADAR1 p110和p150处于高表达状态，且与患者不良预后相关[17]。有研究表明，ADAR1 p110通过上调整合素α2（integrinα 2，ITGA2）表达增强肝细胞癌的增殖和侵袭能力[18]，但ADAR1 p150和ADAR1 p110的作用是否相同，在肝癌研究中鲜有报道。本研究基于ADAR1的2个亚型p150和p110展开研究，探究其对肝癌增殖、迁移和侵袭的影响。

1 材料与方法

1.1 组织标本、细胞系及主要试剂

组织标本：人肝癌组织和癌旁组织来源于重庆医科大学附属第一医院，本研究方案通过重庆医科大学医学研究伦理委员会审批同意。

细胞系：人肝癌细胞系Huh7、HepG2均由重庆医科大学基础医学院病原生物学教研室提供。

主要试剂：DMEM和Opti-EME培养基（Gibco）；胰酶（多沃生物）；胎牛血清（ExCell）；鼠尾Ⅰ型胶原（索莱宝）；Trizol和Lipofectamine™3000（Invitrogen）；DMSO（Sigma）；CCK-8（APE×Bio）；逆转录试剂盒（Takara）；2×通用SYBR Green Fast qPCR Mix（Abcolnal）；无内毒素质粒中提试剂盒Endo-Free Plasmid Midi Kit（康为生物）；Transwell细胞小室和Matrigel基质胶（Coring）；ADAR1抗体（正能生物）；GSK3β（proteintech）；β-catenin（proteintech）；p-β-catenin（proteintech）；GAPDH和兔二抗（proteintech）。

质粒：ADAR1-p110表达质粒由广州复能基因公司将ADAR1-p110的cDNA序列（NM001025107.2）构建到EX-Z3143-M07载体中；ADAR1-p150表达质粒由OriGene公司将ADAR1-p150的cDNA序列（NM 001111.4）构建到pCMV6-Entry载体中。靶向ADAR1的小干扰RNA（siADAR-1、siADAR-2和siADAR-3）购自湖州河马生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 肝癌细胞株（HepG2和Huh7）复苏后，置于含10%胎牛血清和1%青霉素/链霉素的DMEM完全培养基于5%二氧化碳，37 ℃的条件下培养，待愈合度达90%后用胰酶消化传代。其中，对HepG2开展实验时，其细胞培养皿的表面需使用鼠尾Ⅰ型胶原提前处理促进细胞伸展。

1.2.2 基因表达谱互动分析（GEPIA） 基因表达谱互动分

析（http://gepia.cancer-pku.cn）选取来源于TCGA和GTEx数据库369例肝癌肿瘤样本和160例正常肝脏组织样本，使用RNA测序处理后输出可视化结果。最终得到ADAR1和GSK3β在肝癌与正常肝脏组织中的表达，并分析ADAR1基因在肝癌不同疾病分期中的表达水平及其对肝癌患者预后的影响。

1.2.3 细胞转染 取生长状态良好的细胞接种于6 cm细胞培养皿中，当细胞融合度达到60%左右时，按照Lipofectamine™3000说明书，将ADAR过表达质粒或siRNA（表1）分别配制成鸡尾酒混合物转染到细胞中。转染后4～6 h，更换成完全培养基继续培养48 h收取细胞进行后续检测。

表1 siADAR1序列

引物	序列（5'-3'）
hADAR si-1正义链	GCCCACUGUUAUCUUCACUUUTT
hADAR si-1反义链	AAAGUGAAGAUAACAGUGGGCTT
hADAR si-2正义链	GCUGUUAGAAUAUGCCCAGUUTT
hADAR si-2反义链	AACUGGGCAUAUUCUAACAGCTT
hADAR si-3正义链	GAGGAUGCAAAUCAAGAGAAATT
hADAR si-3反义链	UUUCUCUUGAUUUGCAUCCUCTT

1.2.4 细胞活力测定 将处理好的HepG2和Huh7细胞分别以每孔2×10^3个细胞的密度接种在96孔板中，每组3个孔。培养至相应时间后，每孔中加入10 μL CCK-8溶液，孵育1 h。使用酶标仪在450 nm处测定吸光度（absorbance，A）值。

1.2.5 划痕实验 细胞被接种在6孔板中，培养到90%的融合度，利用枪头进行划痕，然后用磷酸盐缓冲液（PBS）洗涤后，加入无血清的DMEM培养基继续培养，使用显微镜分别在0 h和48 h定点拍照记录，观察细胞的边缘运动。使用Image J软件计算分析伤口相对迁移速度。

1.2.6 Transwell实验 细胞迁移和侵袭试验使用24孔Transwell室和8 μm聚碳酸酯膜（Coring，美国）进行。Transwell迁移实验是细胞在无血清饥饿2 h后，将细胞消化离心，用无血清培养基重悬，计数，稀释至所需浓度，小室上层每孔接种2×10^4个细胞的悬液，下层加入完全培养基，于培养箱中孵育48 h。拿出小室用4%多聚甲醛固定，0.1%结晶紫染色。最后，用显微镜拍照观察，计数穿膜细胞。Transwell侵袭实验需提前将基质胶铺被于小室中，其余步骤与Transwell迁移实验相同。

1.2.7 实时荧光定量PCR（qPCR） 采用TRizol试剂提取细胞总RNA，取1 μg RNA按照PrimeScript RT Reagent Kit with gDNA Eraser逆转录试剂盒操作手册合成cDNA，使用2×通用SYBR Green Fast qPCR Mix进行qPCR。反应条件如下：95 ℃循环3 min，95 ℃循环5 s，60 ℃循环30 s。所有qPCR引物均使用NCBI网站（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/）在线设计（表2），由北京擎科生物技术有限公司合成。GAPDH基因作为内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算相对表达量。

表2 qPCR引物序列

引物名称	序列（5'-3'）
F-ADAR1 p110	GGCAGCCTCCGGGTG
R-ADAR1 p110	CTGTCTGTGCTCATAGCCTTGA
F-ADAR1 p150	CGGGCAATGCCTCGC
R-ADAR1 p150	AATGGATGGGTGTAGTATCCGC
F-GAPDH	CAAATTCCATGGCACCGTCA
R-GAPDH	AGCATCGCCCCACTTGATTT

1.2.8 Western blot检测 使用RIPA裂解液提取组织和细胞中的总蛋白并用BCA法定量。每个蛋白样品经SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，并转移到PVDF膜（0.45 μm）上。随后用5%脱脂奶粉封闭膜后，与一抗（ADAR1，1∶2 000；GAPDH，1∶5 000，GSK3β，1∶2 000；β-catenin，1∶5 000；p-β-catenin，1∶5 000）4 ℃孵育过夜，经TBST缓冲液洗涤3次，与二抗在室温下孵育1 h。TBST洗涤3次后使用增强型化学发光试剂盒（Beyotime Biotechnology）进行显色检测。

1.2.9 蛋白-蛋白互作和富集分析 通过STRING在线网站（https://cn.string-db.org/）进行蛋白-蛋白互作（protein-protein interaction，PPI）网络分析，所得结果进行可视化分析；筛选与ADAR1直接作用的Hub gene，再通过生物学信息注释数据库DAVID（http://david.ncifcrf.gov）对基因进行GO和KEGG富集分析。

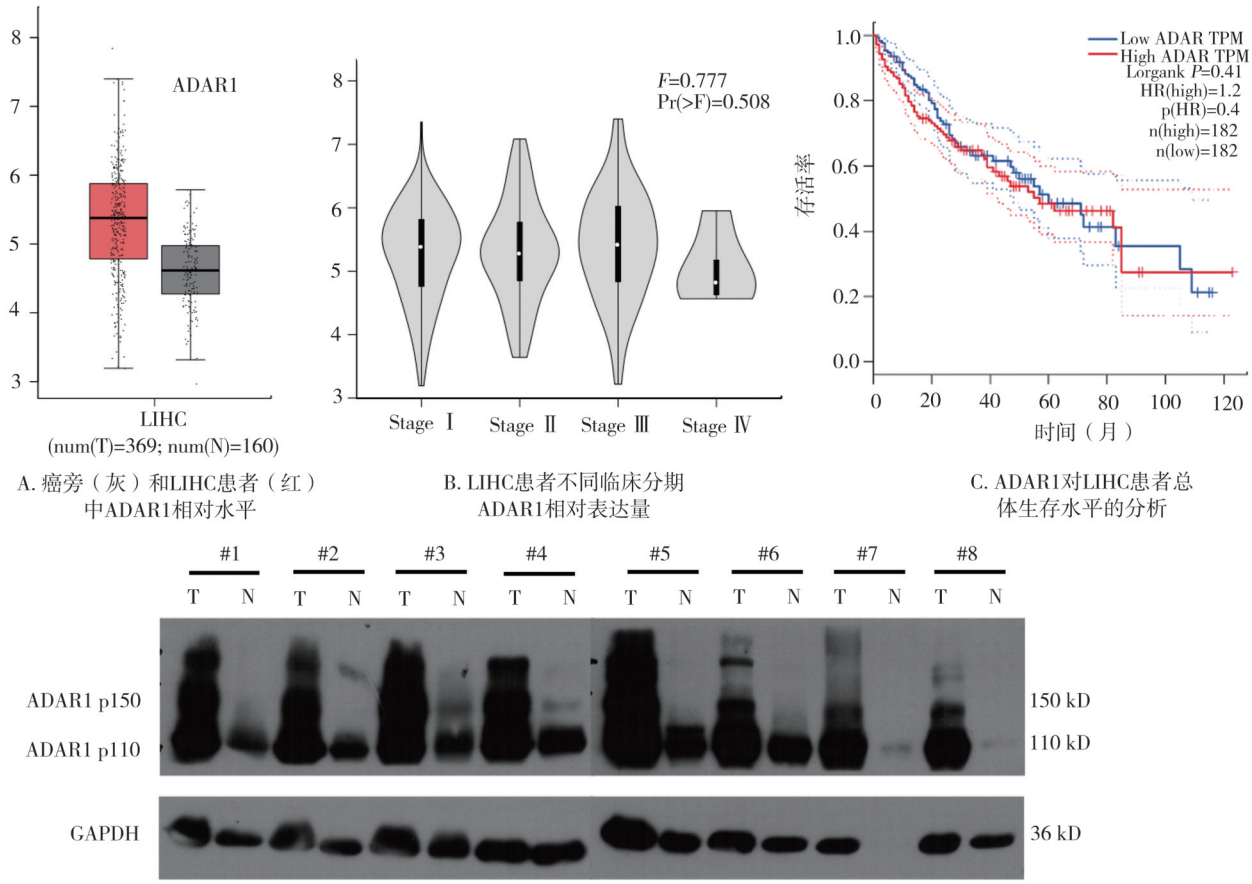
1.3 统计学方法

实验结果均取3次重复实验，数据用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，应用Graph Pad Prism（9.5.1）对数据进行统计分析和绘图，2组间比较采用t检验，多组间比较采用单因素方差分析。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 ADAR1在肝癌组织中高表达，并与预后不良有关

首先，本研究组通过生物信息学在线分析工具GEPIA对肝癌组织与癌旁组织中ADAR1的表达水平进行了分析，结果显示，相较于癌旁组织，肝癌组织中ADAR1表达显著上调（图1A），这提示ADAR1在肝癌的进展中可能发挥促进作用。此外，ADAR1在肝癌不同分期中，ADAR1表达无统计学意义（P=0.508，图1B），但高表达患者相较于低表达患者的预后较差（图1C）。最后，本研究组采用Western blot对8例临床肝癌组织和癌旁组织进行检测，发现肝癌组织相较于癌旁组织，ADAR1 p150和p110两个亚型的蛋白质表达水平均更高（图1D）。这些结果表明，ADAR1在肝癌中表达上调，且与预后不良密切相关。



A. 癌旁（灰）和LIHC患者（红）中ADAR1相对水平

B. LIHC患者不同临床分期ADAR1相对表达量

C. ADAR1对LIHC患者总体生存水平的分析

D. 临床标本肝癌组织（T）和癌旁组织（N）中ADAR1蛋白表达水平

图1　ADAR1在LIHC组织中的表达及其与患者总体生存水平的关系

2.2　过表达ADAR1 p150和p110均能促进肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力

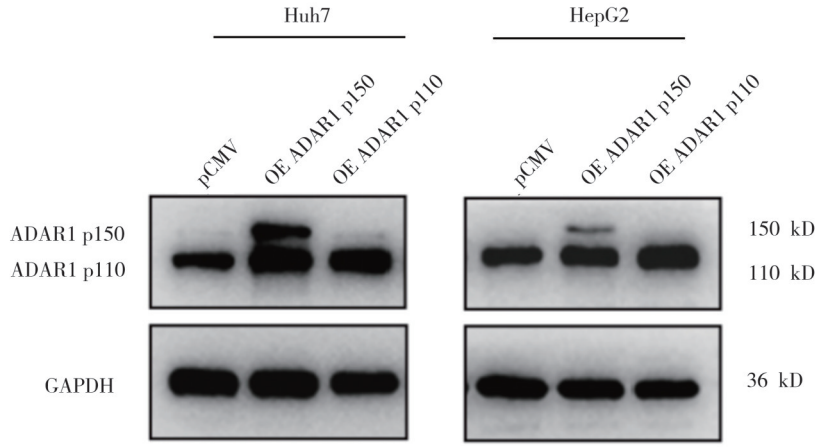
为验证肝癌组织中得到的结果，本研究组在Huh7和HepG2细胞中转染ADAR1过表达质粒p150和p110，通过Western blot和qPCR检测细胞中ADAR1表达水平。结果表明，过表达组的ADAR1蛋白质和mRNA表达水平均明显升高（图2A、B）。通过CCK-8检测过表达ADAR1对细胞增殖的影响，结果表明，过表达ADAR1 p150和p110后细胞增殖能力明显高于对照组（P<0.01，图2C）。划痕实验结果显示，划痕后48 h，过表达ADAR1 p150和p110组伤口愈合能力显著强于对照组（P<0.001、P<0.01，图3A、B）。此外，Transwell细胞迁移和侵袭实验表明，过表达ADAR1 p150和p110组细胞穿孔数明显多于对照组（P<0.05，图3C、D）。以上结果表明过表达ADAR1 p150和p110均能促进肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

2.3　敲低ADAR1抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力

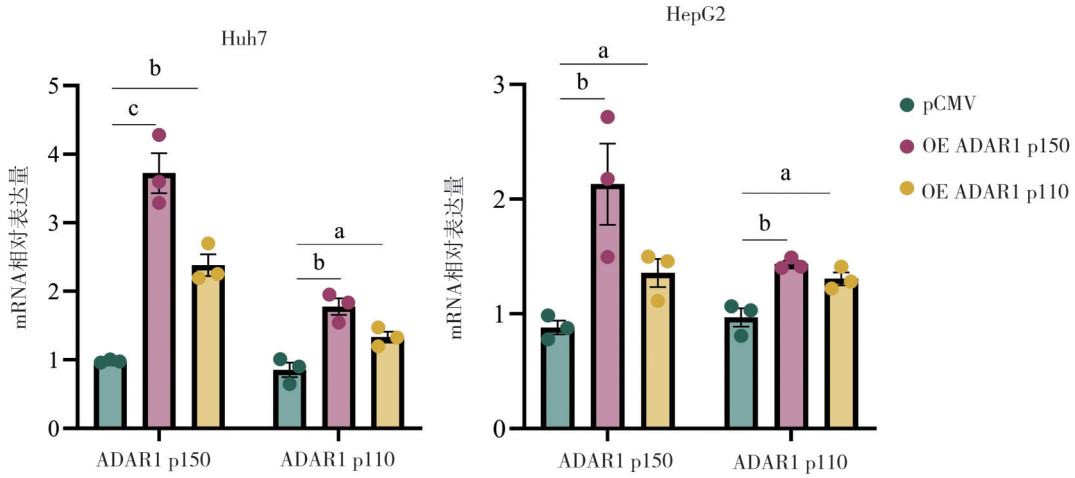
为进一步分析ADAR1两个亚型表达水平对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响，本研究设计了同时靶向2个亚型的siRNA序列，通过对肝癌Huh7和HepG2细胞转染siRNA干扰ADAR1两个亚型的表达。采用Western blot和qPCR检测ADAR1的干扰效率。结果显示，与对照siNC相比，siADAR组ADAR1两个亚型的蛋白质和RNA表达水平均明显降低（P<0.001，图4A、B）。通过CCK-8实验检测细胞活力，结果显示，与对照组siNC相比，siADAR1组的Huh7和HepG2细胞活力显著降低，尤其是在96 h时最为明显（P<0.001，图4C）。划痕实验结果显示，siADAR1组细胞伤口愈合能力受到抑制（P<0.05，图5A、B）。同时，Transwell细胞迁移和侵袭实验表明，siADAR1组细胞迁移和侵袭能力受到抑制（P<0.05，图5C、D）。以上结果表明，敲低ADAR1可以抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

2.4　ADAR1调控Wnt/β-catenin信号通路

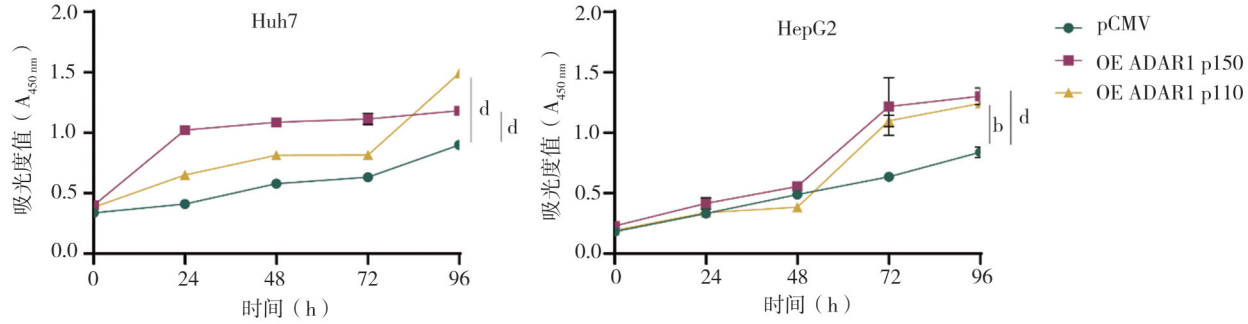
利用STRING数据库构建ADAR1蛋白质互作网络，根据蛋白关联性获取了前10的相关蛋白，其中包括糖原合酶激酶3β（glycogen synthase kinase 3β，GSK3β）（图6A）。通过DAVID数据库对这些互作蛋白进行GO和KEGG富集分析，结果显示主要参与的生物过程包括：细胞增殖、间充质上皮转化、干扰素刺激基因（interferon stimulated gene factor 3，ISGF3）表达调控、核糖核酸酶Ⅲ活性调控、RNA结合域调控、Wnt信号通路等（图6B、C）。Wnt信号通路是经典的肿瘤



A. ADAR1过表达效果蛋白水平验证



B. ADAR1过表达效果mRNA水平验证

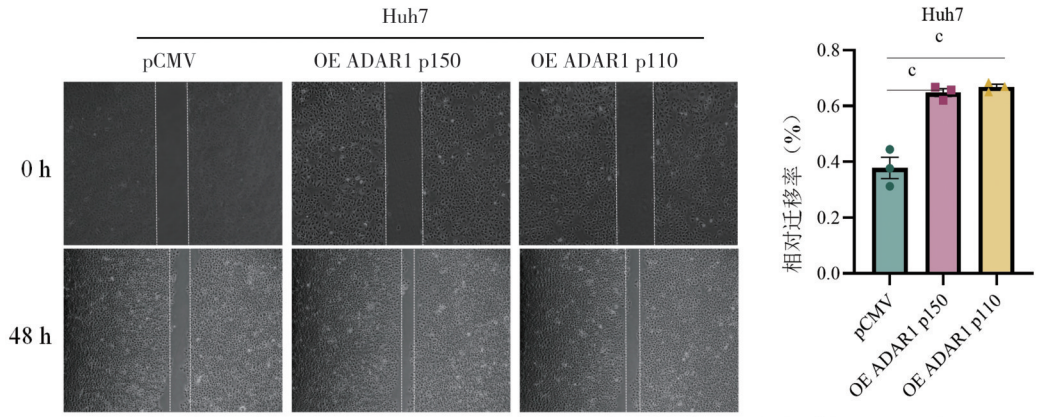


C. 过表达ADAR1后Huh7、HepG2细胞的增殖能力

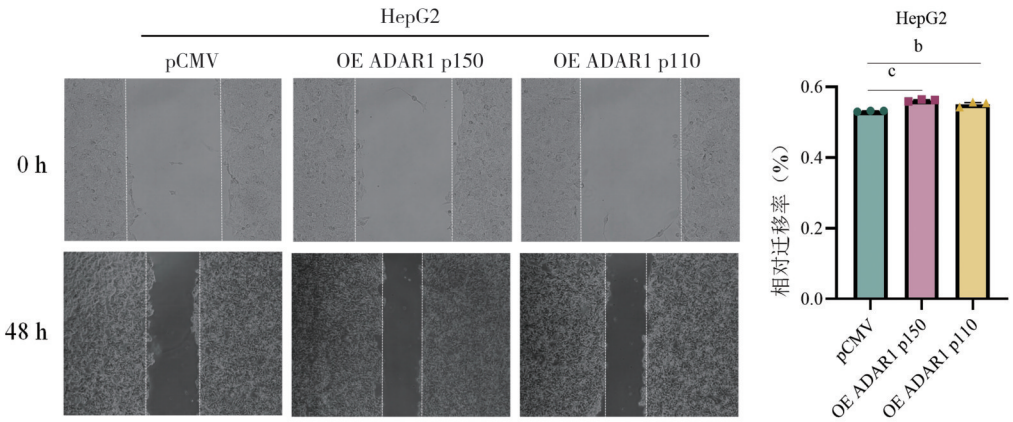
注：a，与pCMV组比较，$P<0.05$；b，与pCMV组比较，$P<0.01$；c，与pCMV组比较，$P<0.001$；d，与pCMV组比较，$P<0.000\ 1$

图2　过表达ADAR1 p150和p110促进肝癌细胞的增殖

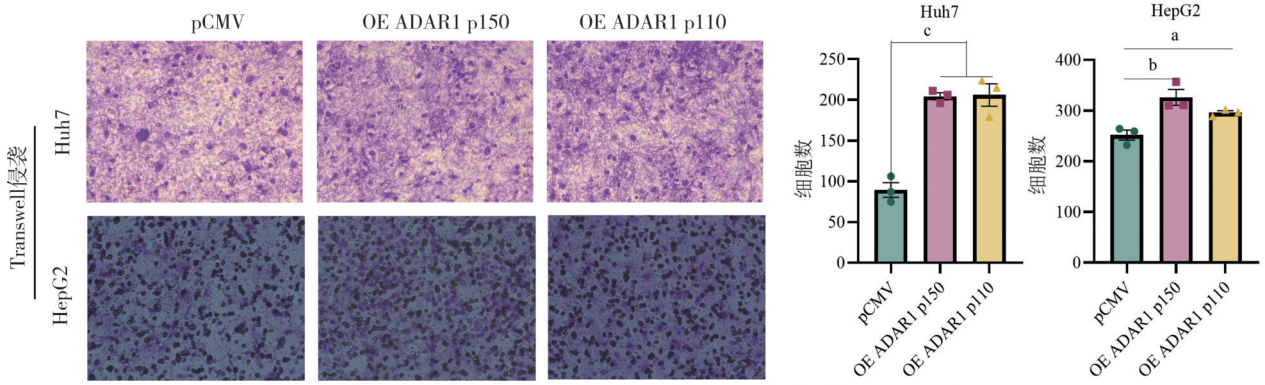
调控通路，在支架蛋白的辅助下，β-连环蛋白（β-catenin）与GSK3β、APC基因产物形成复合体。当激活Wnt信号之后，Wnt分子与跨膜受体Fzd结合，抑制GSK3β，使得β-catenin磷酸化程度降低，并抑制β-catenin降解，使其稳定并聚集于细胞核内，经过转录调控，参与肿瘤的调控。因此，本研究通过在肝癌细胞Huh7和HepG2里面过表达和敲低ADAR1 p150和p110，进行Western blot实验分析Wnt信号通路相关蛋白的表达情况，结果发现，过表达ADAR1 p150和p110后减少了GSK3β含量，降低了β-catenin的磷酸化水平，而对β-catenin水平无明显影响（图6D）；相反，敲低ADAR1 p150和p110后GSK3β的含量升高，磷酸化β-catenin水平升高，同样对β-catenin无明显影响（图6E）。综上，这些数据表明ADAR1对肝癌细胞的影响可能是通过Wnt/β-catenin信号通路发挥作用的。



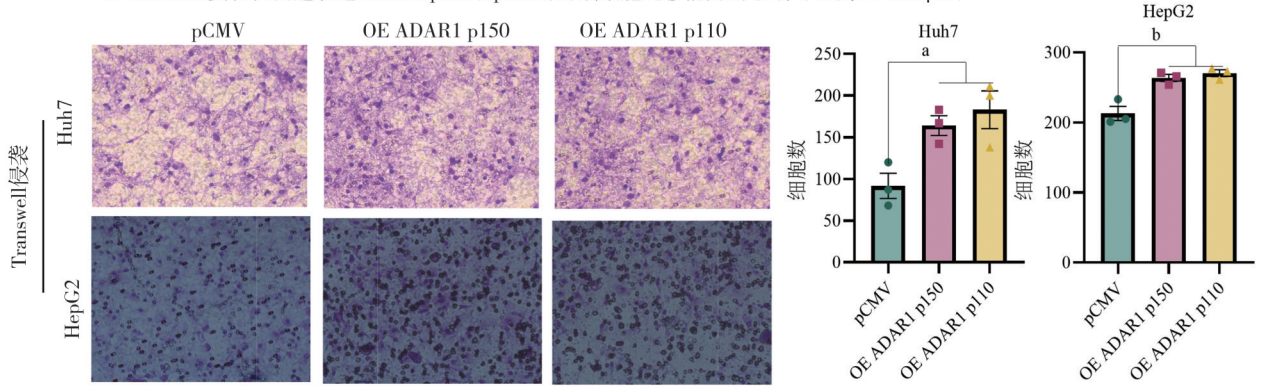
A. 划痕实验检测过表达ADAR1 p150和p110对肝癌Huh7细胞迁移能力的影响（比例尺=200 μm）



B. 划痕实验检测过表达ADAR1 p150和p110对肝癌HepG2细胞迁移能力的影响（比例尺=200 μm）



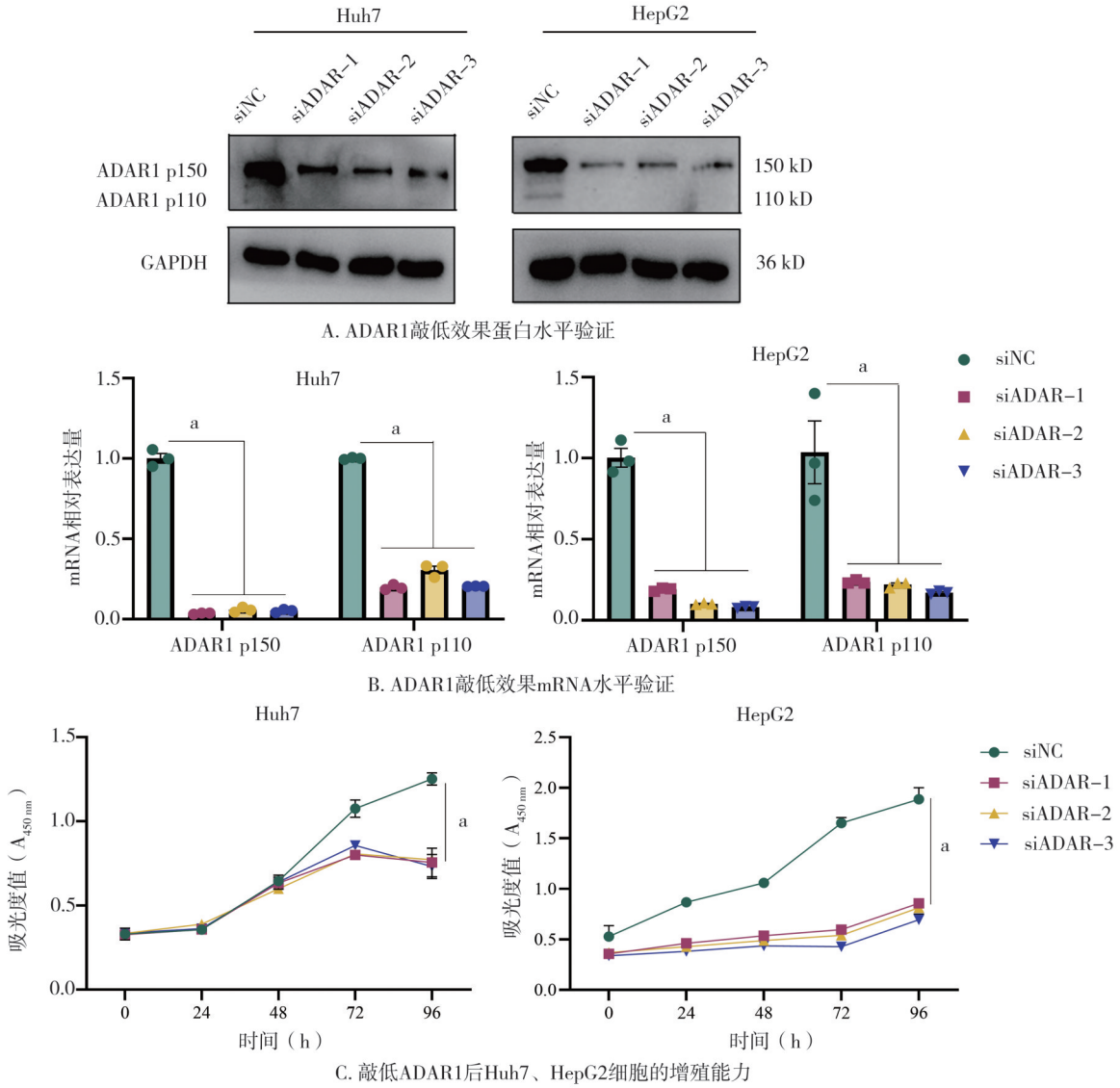
C. Transwell实验检测过表达ADAR1 p150和p110对肝癌细胞迁移能力的影响（比例尺=100 μm）



D. Transwell实验检测过表达ADAR1 p150和p110对肝癌细胞侵袭能力的影响（比例尺=100 μm）

注：a，与pCMV组比较，$P<0.05$；b，与pCMV组比较，$P<0.01$；c，与pCMV组比较，$P<0.001$；d，与pCMV组比较，$P<0.000\ 1$

图3　过表达ADAR1 p150和p110促进肝癌细胞的迁移和侵袭



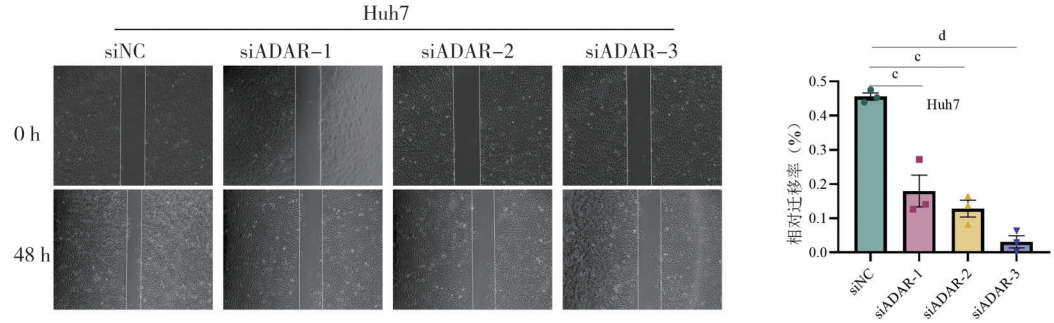
注：a，与siNC组比较，$P<0.000\,1$

图4　敲低ADAR1 p150和p110抑制肝癌细胞增殖

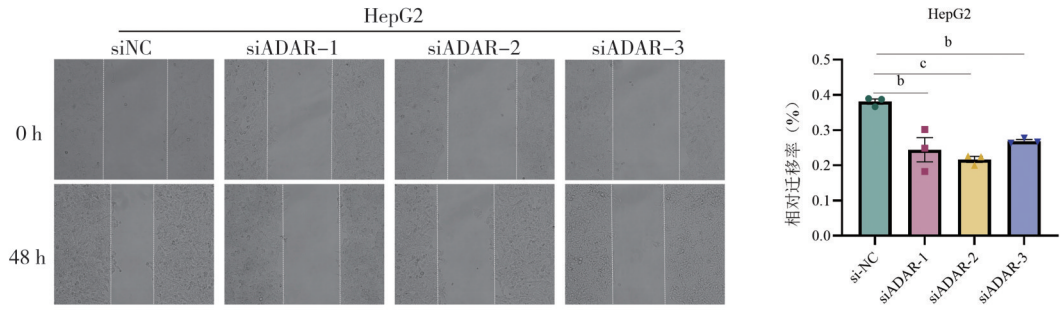
3　讨　论

肝细胞癌严重威胁人类健康，是世界范围内的重要公共卫生问题。近年来，肝细胞癌的研究持续受到关注[19]。因高度复制性和异质性，其致病分子机制未完全解析[20]。因此，肝细胞癌的有效预防和治疗面临巨大挑战。

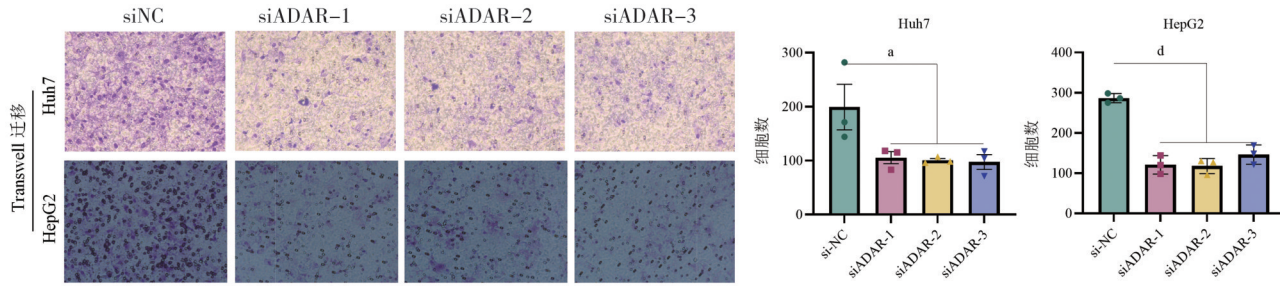
ADAR1是一种多功能蛋白，在炎症损伤[21]、细胞应激[22]和免疫调控[23]等方面发挥重要作用。研究表明，ADAR1异常表达与卵巢癌[24]、乳腺癌[16]等多种恶性肿瘤的发生发展密切相关。ADAR1有2种亚型：p150和p110。p150由干扰素诱导表达，主要定位于细胞质；p110因缺乏核输出信号（nuclear export signal，NES）而定位于细胞核。在肝癌中，ADAR1 p110通过编辑一种RNA结合蛋白DDX1促进细胞增殖和转移[25]，此外，ADAR1 p110还可以促进肝癌细胞的增殖和侵袭[18]。目前尚未有研究报道p150对肝癌细胞恶性增殖的影响。基于此，本研究同时探讨了ADAR1两种亚型对肝癌Huh7和HepG2细胞增殖、迁移和侵袭的影响，并对机制进行初步研究。GEPIA在线网站分析结果显示，与正常肝脏组织相比，ADAR1在肝癌组织中高表达，尽管在肝癌的不同分期中其表达量差异无统计学意义，但高表达ADAR1的患者预后不良。此外，Western blot检测临床肝癌和癌旁组织表达，结果显示，ADAR1



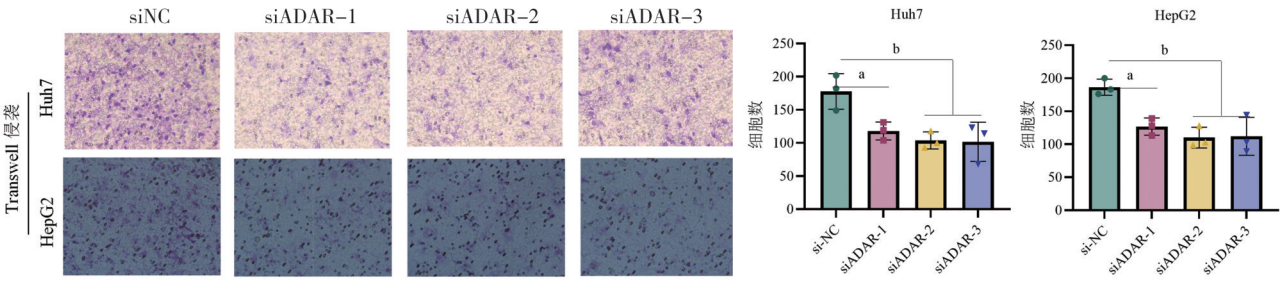
A. 划痕实验检测敲低ADAR1 p150和p110对肝癌Huh7细胞迁移能力的影响（比例尺=200 μm）



B. 划痕实验检测敲低ADAR1 p150和p110对肝癌HepG2细胞迁移能力的影响（比例尺=200 μm）



C. Transwell实验检测敲低ADAR1 p150和p110对肝癌细胞迁移能力的影响（比例尺=100 μm）



D. Transwell实验检测敲低ADAR1 p150和p110对肝癌细胞侵袭能力的影响（比例尺=100 μm）

注：a，与siNC组比较，$P<0.05$；b，与siNC组比较，$P<0.01$；c，与siNC组比较，$P<0.001$；d，与siNC组比较，$P<0.000\ 1$

图5　敲低ADAR1 p150和p110抑制肝癌细胞的迁移和侵袭

p150和ADAR1 p110在肝癌组织中表达量均异常增高，这与在线分析数据是一致的。在肝癌Huh7和HepG2细胞中转染ADAR1过表达质粒，CCK-8、划痕及Transwell实验证明ADAR1两个亚型均能促进肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭。然后，通过转染ADAR1小干扰质粒，发现在ADAR1两个亚型的表达量降低后，肝癌Huh7和HepG2细胞的增殖、迁移和侵袭能力均受到明显抑制。这些结果说明ADAR1与肝癌细胞的增殖和存活密切相关。

Wnt/β-catenin信号通路是一种复杂的蛋白网络调控系统，参与炎症[26]、肿瘤[27]等多种疾病过程。GSK3β是Wnt/β-catenin信号通路中的负调控因子，β-catenin是GSK3β的下游底物。激活状态下的GSK3β能够磷酸化β-catenin并诱导其在蛋白酶体

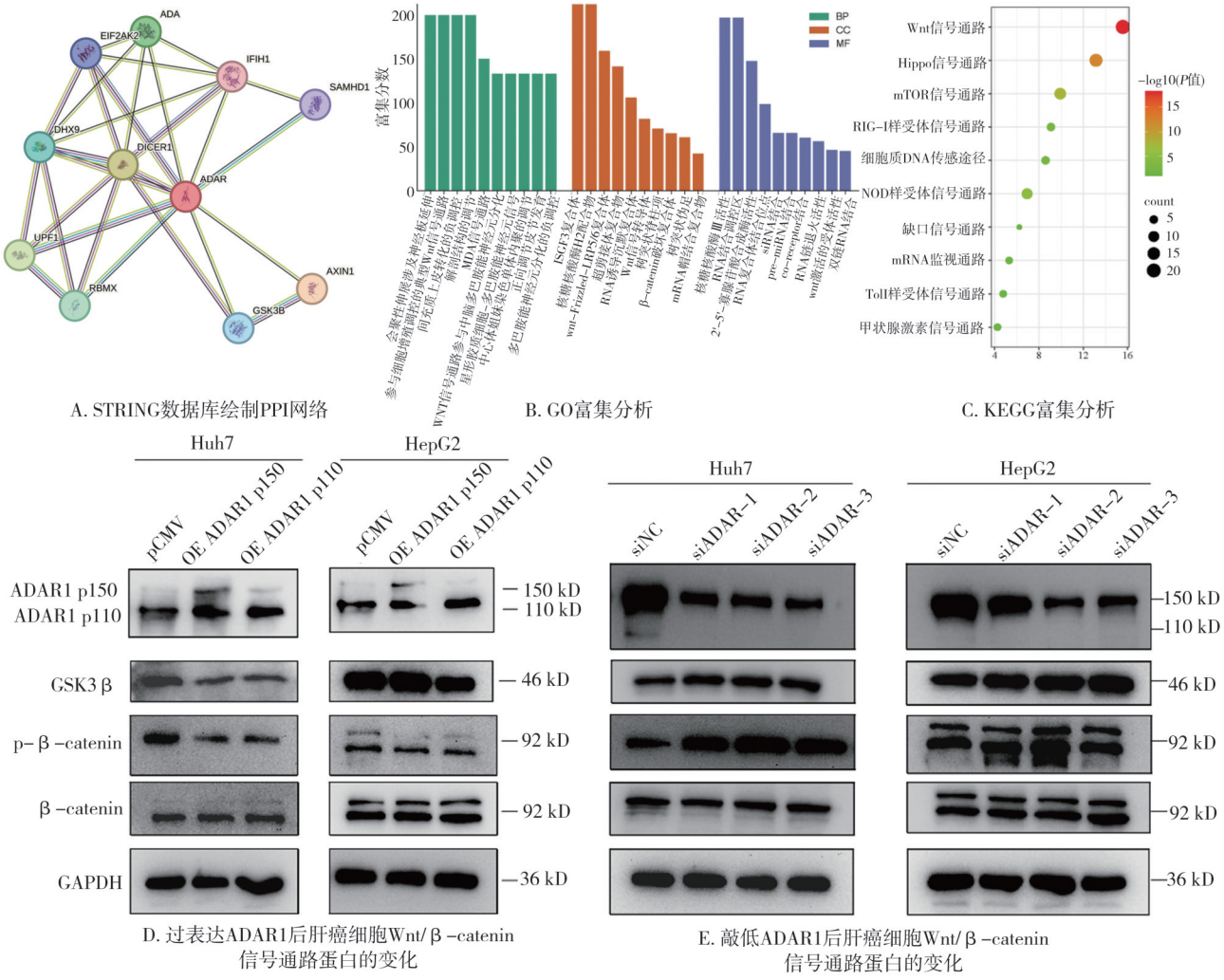


图6　ADAR1调控Wnt/β-catenin信号通路

中的降解。既往研究表明，Wnt/β-catenin通路抑制剂可促进胃癌细胞的增殖和迁移，沉默ADAR1后β-catenin表达水平受到抑制，并逆转由Wnt/β-catenin通路抑制剂导致的胃癌发生发展。此外，在乳腺癌细胞系中，ADAR1 p110过表达降低了GSK3β的表达，同时增加了β-catenin的活性，ADAR1敲除具有相反的效果。ADAR1通过抑制GSK3β活性，使β-catenin积累和核易位减少，从而介导ADAR1诱导的细胞侵袭和新生血管形成。目前尚未有ADAR1靶向Wnt/β-catenin信号通路在肝癌中的研究。本研究通过生物信息学和Western blot实验验证，在肝癌中，ADAR1和Wnt/β-catenin信号通路存在相关性。结果显示，过表达ADAR1 p150和p110均能抑制GSK3β表达，降低β-catenin磷酸化水平，而对β-catenin无明显影响；敲低ADAR1后GSK3β含量增加，并激活磷酸化β-catenin水平，β-catenin表达无显著差异。这些数据提示，肝癌细胞中异常升高的ADAR1可能通过激活Wnt/β-catenin信号通路，从而促进肝癌的增殖、迁移和侵袭。

综上所述，ADAR1在LIHC中高表达，并与不良预后相关。ADAR1 p150和p110均能促进肝癌Huh7和HepG2细胞的增殖、迁移以及侵袭能力，其作用机制与Wnt/β-catenin信号通路存在一定相关性。但仍需更多的实验来进一步探索ADAR1与Wnt/β-catenin在LIHC发生发展过程中的作用和机制，为LIHC诊断和预后提供新的方向和途径。

参　考　文　献

[1]　Anwanwan D, Singh SK, Singh S, et al. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2020, 1873(1): 188314.

[2]　Sperandio RC, Pestana RC, Miyamura BV, et al. Hepatocellular

carcinoma immunotherapy[J]. Annu Rev Med,2022,73:267-278.

[3] Llovet JM,De Baere T,Kulik L,et al. Locoregional therapies in the era of molecular and immune treatments for hepatocellular carcinoma[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol,2021,18(5):293-313.

[4] Jiang C,Sun XD,Qiu W,et al. Conversion therapy in liver transplantation for hepatocellular carcinoma:what's new in the era of molecular and immune therapy?[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int,2023,22(1):7-13.

[5] Cannella R,Lewis S,da Fonseca L,et al. Immunotherapy-based treatments of hepatocellular carcinoma:AJR expert panel narrative review[J]. AJR Am J Roentgenol,2022,219(4):533-546.

[6] Li H,Wu ZY,Chen JL,et al. External radiotherapy combined with sorafenib has better efficacy in unresectable hepatocellular carcinoma:a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Exp Med,2023,23(5):1537-1549.

[7] Guo LL,Hu CT,Yao MW,et al. Mechanism of sorafenib resistance associated with ferroptosis in HCC[J]. Front Pharmacol,2023,14:1207496.

[8] Shen HQ,An O,Ren X,et al. ADARs act as potent regulators of circular transcriptome in cancer[J]. Nat Commun,2022,13(1):1508.

[9] Sun T,Yu YP,Wu XF,et al. Decoupling expression and editing preferences of ADAR1 p150 and p110 isoforms[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2021,118(12):e2021757118.

[10] Quin J,Sedmík J,Vukić D,et al. ADAR RNA modifications,the epitranscriptome and innate immunity[J]. Trends Biochem Sci,2021,46(9):758-771.

[11] Fritzell K,Xu LD,Lagergren J,et al. ADARs and editing:the role of A-to-I RNA modification in cancer progression[J]. Semin Cell Dev Biol,2018,79:123-130.

[12] Shigeyasu K,Okugawa Y,Toden S,et al. AZIN1 RNA editing confers cancer stemness and enhances oncogenic potential in colorectal cancer[J]. JCI Insight,2018,3(12):e99976.

[13] Dong XQ,Chen G,Cai ZX,et al. CDK13 RNA over-editing mediated by ADAR1 associates with poor prognosis of hepatocellular carcinoma patients[J]. Cell Physiol Biochem,2018,47(6):2602-2612.

[14] Luo J,Gong LQ,Yang YM,et al. Enhanced mitophagy driven by ADAR1-GLI1 editing supports the self-renewal of cancer stem cells in HCC[J]. Hepatology,2024,79(1):61-78.

[15] Chen LL,Li Y,Lin CH,et al. Recoding RNA editing of AZIN1 predisposes to hepatocellular carcinoma[J]. Nat Med,2013,19(2):209-216.

[16] Baker AR,Miliotis C,Ramírez-Moya J,et al. Transcriptome profiling of ADAR1 targets in triple-negative breast cancer cells reveals mechanisms for regulating growth and invasion[J]. Mol Cancer Res,2022,20(6):960-971.

[17] Chan TH,Lin CH,Qi LH,et al. A disrupted RNA editing balance mediated by ADARs(Adenosine DeAminases that act on RNA) in human hepatocellular carcinoma[J]. Gut,2014,63(5):832-843.

[18] Yu JJ,Zhang CJ,Yu QS,et al. ADAR1 p110 enhances adhesion of tumor cells to extracellular matrix in hepatocellular carcinoma via up-regulating ITGA2 expression[J]. Med Sci Monit,2019,25:1469-1479.

[19] 王 珉,徐子岩,于 超,等.肝脏类器官在肝癌研究中的进展及其应用[J].中华肝脏病杂志,2023,31(12):1332-1335.
Wang M,Xu ZY,Yu C,et al. Progress and application of liver organoids in liver cancer research[J]. Chin J Hepatol,2023,31(12):1332-1335

[20] Murai H,Kodama T,Maesaka K,et al. Multiomics identifies the link between intratumor steatosis and the exhausted tumor immune microenvironment in hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology,2023,77(1):77-91.

[21] Hu SB,Heraud-Farlow J,Sun T,et al. ADAR1p150 prevents MDA5 and PKR activation via distinct mechanisms to avert fatal autoinflammation[J]. Mol Cell,2023,83(21):3869-3884.e7.

[22] Zhang B,Li Y,Zhang JY,et al. ADAR1 links R-loop homeostasis to ATR activation in replication stress response[J]. Nucleic Acids Res,2023,51(21):11668-11687.

[23] Yang WD,Chen KH,Yu Q,et al. ADAR1 is a prognostic biomarker and is correlated with immune infiltration in lung adenocarcinoma[J]. Cancer Med,2023,12(13):14820-14832.

[24] Cui HW,Yi Q,Tian M,et al. ADAR1 prevents R-loop accumulation-driven ATR pathway activation in ovarian cancer[J]. J Cancer,2022,13(8):2397-2412.

[25] Yang Q,Xu P,Liu QT,et al. Depleting DDX1 sensitizes non-small cell lung cancer cells to chemotherapy by attenuating cancer stem cell traits[J]. Life Sci,2023,323:121592.

[26] Gajos-Michniewicz A,Czyz M. WNT/β-catenin signaling in hepatocellular carcinoma:the aberrant activation,pathogenic roles,and therapeutic opportunities[J]. Genes Dis,2024,11(2):727-746.

[27] Chen X,Zhang Y,Zhang PP,et al. IGFBP2 drives epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma via activating the Wnt/β-catenin pathway[J]. Infect Agent Cancer,2023,18(1):73.

（责任编辑：李青颖）