基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003602

RNPS1通过Notch信号通路参与调控胰腺癌细胞的生存及进展

宋海岩，朱振东，余筱敏，张毅敏
（新乡医学院基础医学院，新乡 453003）

【摘 要】**目的**：探讨富含丝氨酸结构域1的RNA结合蛋白（RNA-binding protein with serine-rich domain 1，RNPS1）在胰腺癌进展中的作用及可能分子机制。**方法**：免疫组织化学与免疫荧光检测RNPS1与Notch3在胰腺癌组织及癌旁组织的表达；RT-qPCR、免疫荧光检测RNPS1与Notch3在胰腺癌细胞中的表达情况；Hoechst与CCK-8实验检测胰腺癌细胞凋亡与增殖；划痕实验与transwell实验检测胰腺癌细胞迁移与侵袭能力；Western blot实验检测胰腺癌细胞中N-Cadherin和E-Cadherin的表达；Western blot与RT-qPCR实验检测胰腺癌细胞中Notch3与HEY1的表达。**结果**：与癌旁组织与正常细胞系相比较，RNPS1与Notch3在胰腺癌组织中及胰腺癌细胞的表达均增高（F=121.612、34.649，均P<0.05）；与对照组相比较，敲低RNPS1抑制生物标志物N-Cadherin的表达（t=39.922，P<0.05），促进E-Cadherin的表达（t=8.281，P<0.05），敲低RNPS1可减弱癌细胞的生存、迁移侵袭的能力（t=2.017、4.874、19.747，均P<0.05，），促进了细胞凋亡（t=33.673，P<0.05）；敲低RNPS1降低了癌细胞中Notch3与HEY1的表达（t=17.546、6.258，均P<0.05）。**结论**：RNPS1的表达与胰腺癌细胞生存、恶性表型有关，RNPS1可能通过调控Notch3/HEY1信号通路促进胰腺癌细胞的生存及肿瘤进展。

【关键词】选择性剪切；胰腺癌；富含丝氨酸结构域1的RNA结合蛋白；生存；进展
【中图分类号】R361⁺.3 【文献标志码】A 【收稿日期】2023-10-20

RNA-binding protein with serine-rich domain 1 regulates the survival and progression of pancreatic cancer cells through the Notch signaling pathway

Song Haiyan，*Zhu Zhendong*，*Yu Xiaomin*，*Zhang Yimin*
（*School of Basic Medical Sciences*，*Xinxiang Medical University*）

【**Abstract**】***Objective***：To investigate the role and possible molecular mechanism of RNA-binding protein with serine-rich domain 1 (RNPS1) in the progression of pancreatic cancer. ***Methods***：Immunohistochemistry and immunofluorescence assay were used to measure the expression of RNPS1 and Notch3 in pancreatic cancer tissue and paracancerous tissue，and RT-qPCR and immunofluorescence assay were used to measure the expression of RNPS1 and Notch3 in pancreatic cancer cells. Hoechst staining and CCK-8 assay were used to measure the apoptosis and proliferation of pancreatic cancer cells；Wound healing assay and Transwell assay were used to observe the migration and invasion abilities of pancreatic cancer cells；Western blot was used to measure the expression of N-Cadherin and E-Cadherin in pancreatic cancer cells，and Western blot and RT-qPCR were used to measure the expression of Notch3 and HEY1 in pancreatic cancer cells. ***Results***：There were significant increases in the expression levels of RNPS1 and Notch3 in pancreatic cancer tissue and pancreatic cancer cells compared with the paracancerous tissue and normal cell lines（F=121.612 and 34.649，all P<0.05）. Comparing with the control group，RNPS1 knockdown inhibited the expression of the biomarker N-Cadherin（t=39.922，P<0.05），promoted the expression of E-Cadherin（t=8.281，P<0.05），reduced the survival，migration，and invasion abilities of cancer cells（t=2.017，4.874，and 19.747，all P<0.05），and promoted cancer cell apoptosis（t=33.673，P<0.05）. In addition，RNPS1 knockdown reduced the expression levels of Notch3 and HEY1 in cancer cells（t=17.546 and 6.258，all P<0.05）. ***Conclusion***：The expression of RNPS1 is associated with the survival and malignant phenotype of pancreatic cancer cells，and RNPS1 may promote the survival of pancreatic cancer cells and the progression of pancreatic cancer by regulating the Notch3/HEY1 signaling pathway.

【**Key words**】alternative splicing；pancreatic cancer；RNA-binding protein with serine-rich domain 1；survival；progression

作者介绍：宋海岩，Email：shy80825@163.com，
研究方向：肿瘤发生发展机制。

基金项目：新乡医学院博士科研启动基金资助项目（编号：XYBSKYZZ201815）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20241023.0948.020（2024-10-23）

胰腺癌（pancreatic cancer，PC）是一种侵袭性强，致死性高，预后极差的消化系统恶性肿瘤之一，最新的调查研究显示PC是世界上癌症相关死亡的第四大因素，并且其发病率每年以1.3%的速度增长，其5年生存率不足12%[1]，然而，PC的发生机制并不明确。研究显示，选择性剪接（alternative splicing，AS）事件在癌症组织中比正常组织更常见，剪接因子表达水平的改变似乎是剪接异常的主要驱动因素[2]。健康细胞和恶性细胞的剪切谱显示出高度的多样性，剪切因子的表达差异是癌症发病的重要因素[3]。异常选择性剪接与癌症的发生和发展密切相关，选择性剪接不仅在促进癌细胞的侵袭或迁移能力方面[4-6]，在肿瘤代谢、对抗癌药物的反应及对治疗药物的耐药性中均起着关键作用[7-8]。具有富含丝氨酸结构域1的RNA结合蛋白（RNA-binding protein with serine-rich domain 1，RNPS1）是剪接过程的重要调节因子。RNPS1表达的增加可能与宫颈癌的肿瘤进展有关[9]，抑制RNPS1的表达可激活肿瘤细胞的凋亡、抑制子宫内膜癌的进展[10]。然而，RNPS1在PC发生发展中的作用及其对PC细胞的影响还未见报道。本研究从生物信息分析出发，进行数据库分析，确定了RNPS1在PC中的表达情况，对RNPS1对PC细胞增殖，迁移，侵袭和凋亡的影响进行了更具体的研究，初步分析了其可能的作用机制，这可能为PC的早期诊断与治疗寻找潜在的新靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞培养与临床病例

人胰腺导管上皮细胞hTERT-HPNE，人PC HPAC细胞、BxPC-3细胞购自ATCC。培养液为DMEM、RPMI-1640，培养液内含10% FBS，100 U/L青霉素、100 μg/mL链霉素，培养条件为37 ℃，5% CO_2恒温培养箱培养，每2~3 d传代1次，用于后续实验的细胞为对数生长期细胞。人PC标本22例，RNPS1与Notch3在癌旁组织中呈阴性表达，在PC组织表达阳性比例，RNPS1是14/22，Nocth3是19/22。本研究获得伦理委员会审核批准，所有患者均签署知情同意书。

1.2 主要试剂

DMEM，RPMI-1640培养基，胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）购自美国Hyclone公司，CCK-8检测试剂盒（C0038）购自碧云天生物技术有限公司，RNPS1抗体（PA5-60589）购自美国Thermofisher公司，Notch3抗体，HEY1购自美国Proteintech公司，E-Cadherin抗体，N-Cadherin抗体购自碧云天生物技术有限公司，GAPDH抗体购自美国SIGMA公司，免疫组化检测试剂盒（SAP-9100）购自中杉金桥，Western blot专用Ⅱ抗购自美国LI-COR公司，Lipofectamine™ 2000转染试剂购自美国Invitrogen公司，RNPS1 siRNA（sc-38309），阴性对照（negative control，NC）siRNA（sc-37007）购自美国Santa Cruz公司的。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学 常规脱蜡、水化，热抗原修复后，5%驴血清室温封闭1 h，Notch3（1∶200），RNPS1（1∶200）孵育，4 ℃过夜，按照免疫组化检测试剂盒操作孵育，DAB显色，苏木素复染细胞核，脱水、透明，中性树胶封片后室温晾干，显微镜下观察，采集图像。

1.3.2 siRNA转染 取生长状态良好的HPAC细胞，培养板中的细胞融合度达70%~80%。利用Lipofectamine™ 2 000，转染RNPS1 siRNA（RNPS1：5'-AAGGAAGACCAGTAGGAAA-3'）（终浓度为50 nmol/L）及NC siRNA（终浓度为50 nmol/L）至细胞中，空白对照组只加1 mL无血清RPMI-1640培养液。37 ℃，5% CO_2细胞培养箱中培养4 h后，各组均更换为完全培养液继续培养，转染12 h、24 h、48 h后进行下一步的检测。

1.3.3 RNA提取及RT-qPCR 收集转染48 h后的HPAC细胞，利用TRLzol试剂提取总RNA，利用NanoDrop® ND-2000检测RNA浓度及纯度，按照逆转录试剂盒提供的说明书进行操作，将RNA逆转录成cDNA，所用引物均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成，RNPS1引物：5'-AGCTCTTCCTCAGCATCCAG-3'（forward），5'-CACTTTGGTGGGCTTAGGAG-3'（reverse）；Notch3引物：5'-AAGGACGTGGCCTCTGGT-3'（forward），5'-TCAGGCTCTCACCCTTGG-3'（reverse）；HEY1引物：5'-CCCGCTGAGAGGATCTG-3'（forward），5'-CCCTGTGCATCTCATTTCC-3'（reverse），GAPDH引物：5'-CATCACCATCTTCCAGGAGC-3'（forward），5'-GGATGATGTTCTGGAGAGCC-3'（reverse）。PCR反应按照说明书采用两步法进行，反应条件：94 ℃ 30 s；94 ℃ 5 s；55 ℃ 15 s；72 ℃ 10 s，共设置40个循环。

1.3.4 划痕实验（wound healing assay） 分别将对数生长期的HPAC细胞接种于6孔板中，培养6 h后用1 mL的无菌蓝色吸头在孔的中间划痕，尽量保证每一个孔中划痕的宽度一致。按照上述方法转染RNPS1 siRNA至细胞中，转染24 h、48 h后镜下观察细胞愈合情况，利用Image J软件测量愈合面积。

1.3.5 侵袭实验（invasion assay） 按照约3×10^5个/mL的密度接种于transwell板的上层小室中（包被基质胶），按照上述方法转染RNPS1 siRNA至HPAC细胞中，37 ℃，5% CO_2细胞培养箱中培养24 h。弃去培养液，用棉签擦去小室膜上面的HPAC细胞，4% PFA固定小室膜下面的HPAC细胞20 min，0.1% 结晶紫染细胞20 min，镜下观察，采集图像，计算穿过小室的细胞数目。

1.3.6 CCK-8实验 按照上述方法转染RNPS1 siRNA至HPAC细胞中，取转染后12 h、24 h、48 h的肿瘤细胞。弃去孔中的培养液，每孔新加入100 μL培养液。每孔加入10 μL CCK-8溶液，37 ℃，5% CO_2孵育2 h。设置酶标仪，在450 nm处测吸光度（absorbance，A）值。

1.3.7 Hoechst染色 将对数生长期的HPAC细胞接种于6孔板中（内含无菌盖玻片）培养12 h，转染RNPS1 siRNA至细胞中培养48 h，对照组正常培养，按照使用说明书进行Hoechst染色，封片，显微镜下选择视野，观察染色结果并拍照，每组设置5个副孔，计算凋亡指数，凋亡指数=凋亡细胞数/细胞总数×100%。

1.3.8 Western blot 取对照组，转染48 h的RNPS1 siRNA

组细胞，弃去培养液，每皿加入 500 μL RIPA 裂解液裂解细胞，提取总蛋白。常规 SDS-PAGE 电泳、转膜，5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h，RNPS1 抗体（1∶1 000），Notch3 抗体（1∶500），HEY1 抗体（1∶500），E-Cadherin 抗体（1∶500），N-Cadherin 抗体（1∶500）及 GAPDH 抗体（1∶10 000）4 ℃孵育过夜（12 h 以上），荧光Ⅱ抗室温孵育 2 h 后，曝光、拍照，Image J 软件分析灰度值。

1.4 统计学方法

利用 SPSS 19.0 软件进行数据分析处理，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，3 组及 3 组以上组间比较采用单因素方差分析，2 组之间比较采用 t 检验，数据来自 3 次以上的独立重复的实验结果，检验水准 α=0.05。

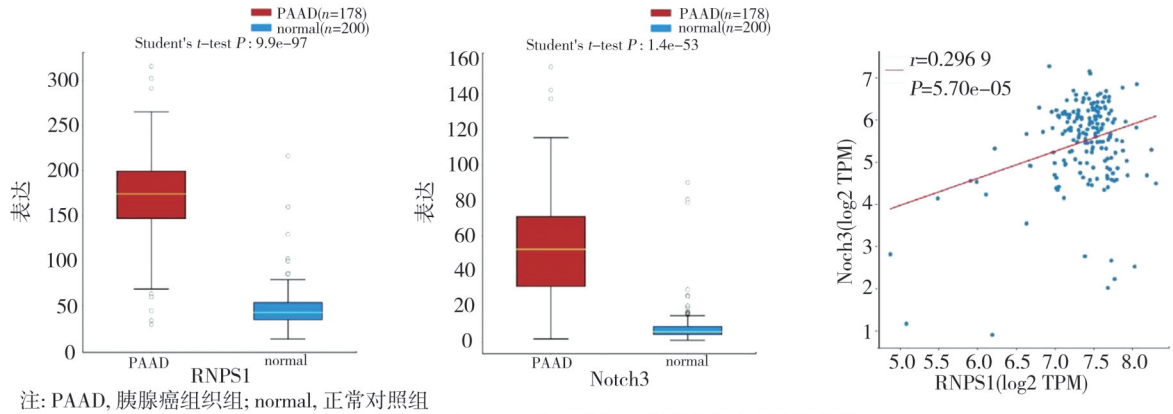
2 结 果

2.1 RNPS1 与 Notch3 在 PC 组织与癌细胞中的表达及相关性

为了确定 RNPS1 与 Notch3 在 PC 发生发展中的作用及它们的相关性，本研究使用 OncoDB web 资源。数据显示，与正常组织相比，RNPS1 与 Notch3 在 PC 样本中表达升高，并且二者有一定的相关性（图 1A）。进而本研究利用免疫组织化学与免疫荧光方法检测了二者在 PC 组织与癌旁组织及 PC 细胞中的表达，结果显示，与癌旁组织相比较，RNPS1 与 Notch3 在 PC 组织中的表达增高，且二者共存于癌细胞中（图 1B、C）；与胰腺导管上皮细胞（正常对照组）相比较，RNPS1 在 PC 细胞 HPAC 和 BxPC-3 呈高表达（t=20.940、6.680，P<0.001），与胰腺导管上皮细胞（正常对照组）相比较，Notch3 在 PC 细胞 HPAC 和 BxPC-3 也呈高表达（t=8.440、9.700，P<0.001）（图 1D、E）。这就提示 RNPS1 与 Notch3 可能在 PC 的进展中发挥作用。

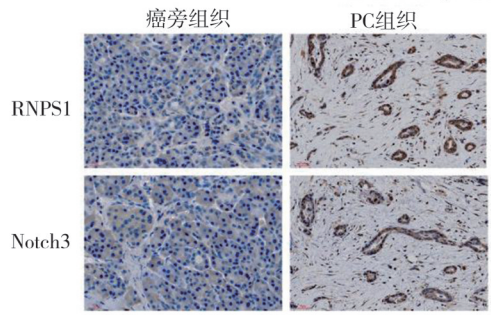
2.2 RNPS1 siRNA 降低 HPAC 中 RNPS1 mRNA 及蛋白的表达

为了检测 RNPS1 siRNA 的干扰效果，利用转染试剂将 RNPS1 siRNA 转染至 HPAC 中，采用 Western blot 与 RT-qPCR 的方法检测 RNPS1 蛋白水平及 mRNA 水平变化。结

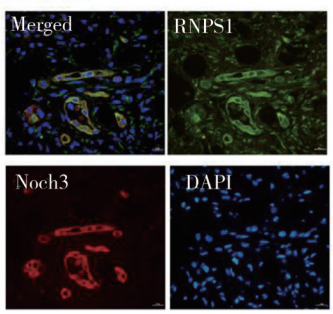


注：PAAD，胰腺癌组织组；normal，正常对照组

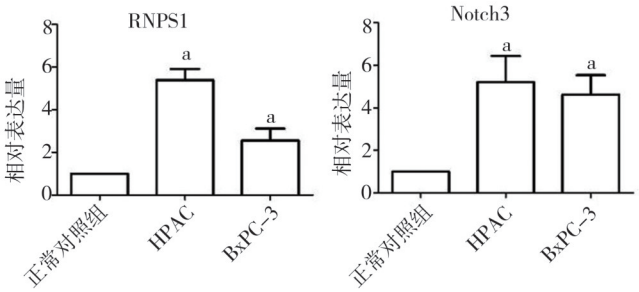
A. RNPS1 与 Notch3 在正常与 PC 组织中的表达及相关性



B. RNPS1 与 Notch3 在癌旁组织与 PC 组织中的表达

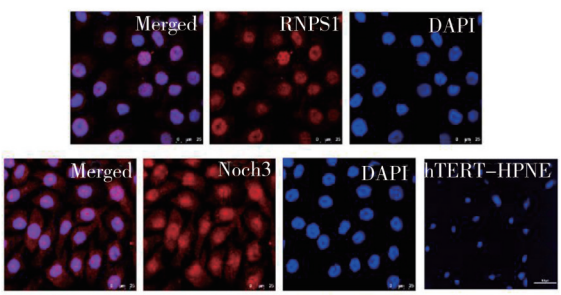


C. RNPS1 与 Notch3 在 PC 组织中的共表达



注：a，与正常对照组比较，P<0.001

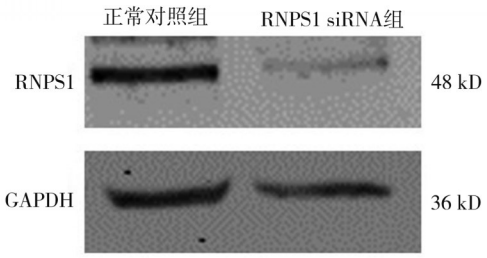
D. RNPS1 与 Notch3 在人 PC 细胞系 HPAC 和 BxPC-3 及正常对照组细胞（hTERT-HPNE）的相对表达



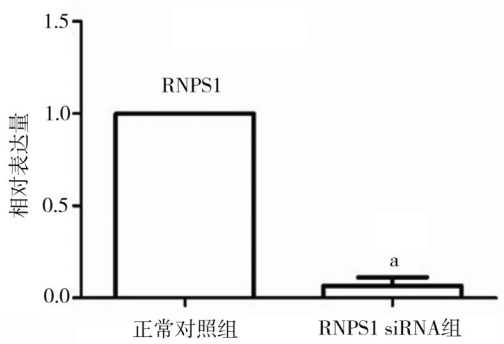
E. RNPS1 与 Notch3 在人 PC 细胞系 HPAC 的表达

图 1 RNPS1 与 Notch3 在 PC 组织与癌细胞中的表达及相关性

果如图2所示，与对照组相比较，RNPS1 siRNA可显著降低HPAC中RNPS1的表达（t=50.714，P<0.001），说明RNPS1 siRNA干扰效果较好。



A. RNPS1蛋白在正常对照组与RNPS1siRNA组的表达



注：a，与正常对照组比较，P<0.001

B. RNPS1 mRNA在正常对照组与RNPS1siRNA组的表达

图2　敲低RNPS1对PC细胞中RNPS1mRNA与蛋白表达的影响

2.3　敲低RNPS1促进PC细胞HPAC凋亡、抑制其增殖

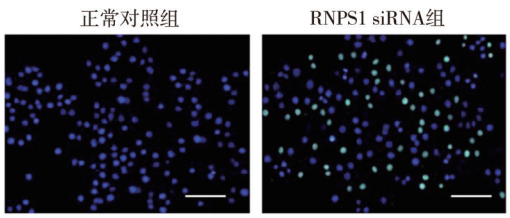
鉴于RNPS1在PC癌组织的表达高于其在癌旁组织的表达，本研究推测RNPS1可能作为致癌基因而发挥作用，使用siRNA敲低RNPS1基因，利用Hoechst染色与CCK-8实验检测PC细胞的凋亡与增殖能力，Hoechst染色实验结果显示，与对照组相比较，RNPS1 siRNA组细胞凋亡指数升高（图3A、B）（t=33.673，P<0.001）；CCK-8实验结果显示，与对照组相比较，RNPS1 siRNA组细胞的增殖能力降低（图3C）（t=2.017，P<0.01；t=4.874，P<0.05）。这些结果提示RNPS1可抑制PC细胞凋亡、促进其增殖。

2.4　敲低RNPS1抑制PC细胞HPAC迁移、侵袭能力

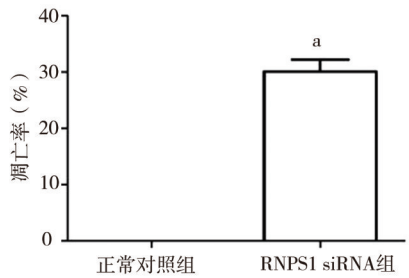
使用siRNA敲低RNPS1基因，利用划痕实验与transwell实验进行PC细胞的迁移、侵袭能力的检测，结果显示如图4A~C所示，与对照组相比较，RNPS1 siRNA组细胞迁移的愈合面积降低（t=4.472，P<0.053；t=6.354，P<0.001），侵袭细胞的数目减少（t=19.747，P<0.05），细胞的迁移与侵袭能力显著降低。这些表明RNPS1参与了PC细胞侵袭、迁移的正向调节。

2.5　敲低RNPS1抑制N-Cadherin表达、促进E-Cadherin表达

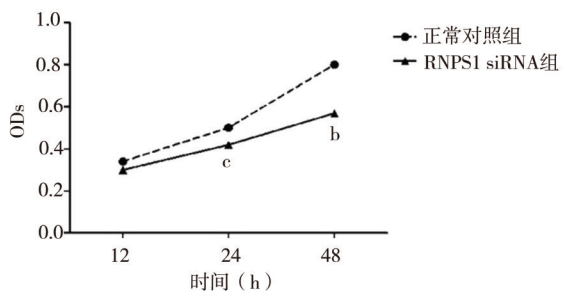
上皮间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）是肿瘤侵袭与转移最常见的原因，在肿瘤细胞中N-Cadherin的表达升高，E-Cadherin表达降低预示着肿瘤细胞间接触的黏附连接性降低，细胞分离与运动能力增强，肿瘤细胞迁移能力、侵袭与转移的能力增强，反之则作用相反。为进一步



A. HPAC细胞的凋亡情况



B. HPAC细胞凋亡指数百分比的分析图形



C. HPAC细胞增殖能力的分析图形

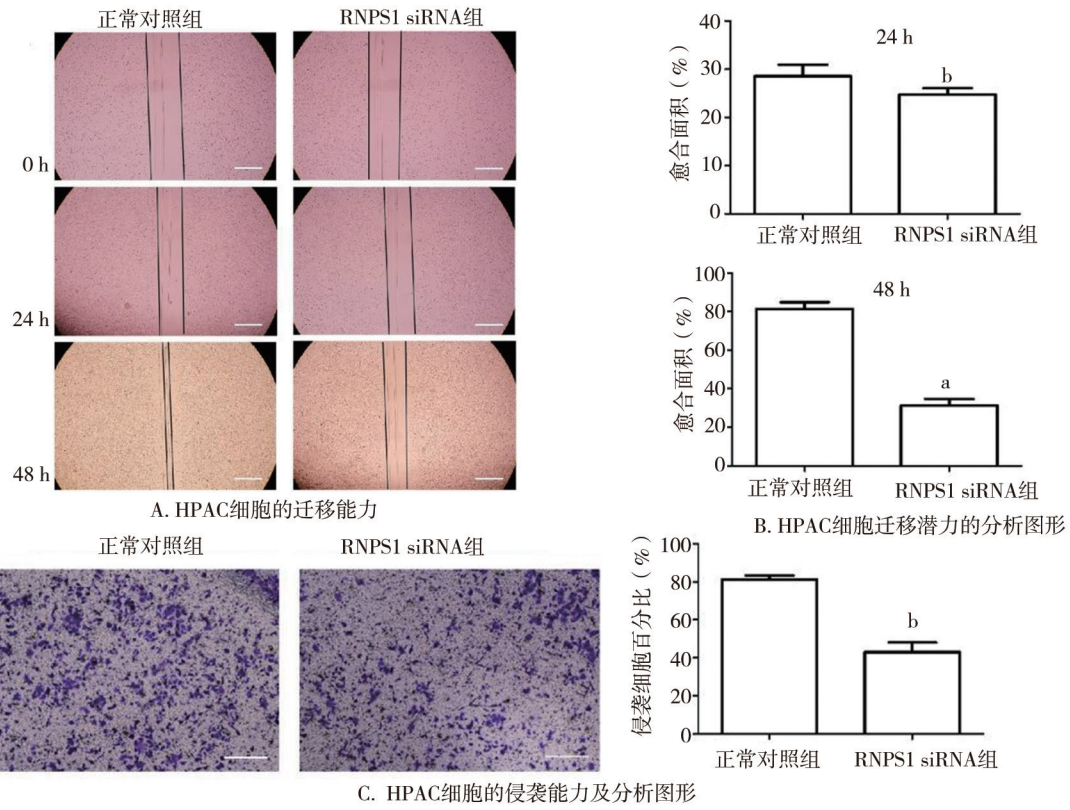
注：a，与正常对照组比较，P<0.001；b，与正常对照组比较，P<0.01；c，与正常对照组比较，P<0.05

图3　PC细胞凋亡与增殖实验及统计分析（Bar=50 μm）

检测癌细胞的转移、侵袭能力，本研究使用siRNA敲低RNPS1后，检测了细胞中N-Cadherin和E-Cadherin表达的变化，结果显示如图5所示，与对照组相比较，RNPS1 siRNA组细胞中N-Cadherin的相对表达量降低（t=39.922，P<0.001），而E-Cadherin的相对表达量升高（t=8.281，P<0.001）。这就提示，敲低RNPS1抑制了细胞的转移和侵袭能力，RNPS1可促进PC细胞的转移和侵袭。

2.6　敲低RNPS1抑制PC细胞中Notch3与HEY1 mRNA表达

基于OncoDB web资源库的检测结果显示，在PC中RNPS1与Notch3的表达存在相关性（图1），且在PC组织中RNPS1与Notch3共表达，为进一步探索RNPS1的下游靶点，利用RT-qPCR检测了敲低RNPS1后Notch3与HEY1 mRNA的表达变化，方差分析3组中Notch3 mRNA与HEY1 mRNA表达的差异，差异有统计学意义（F=20.416，P<0.001；F=16.314，P<0.01），如图6所示，与正常对照组相比较，阴性siRNA组中Notch3 mRNA的表达及其下游靶基因HEY1 mRNA表达无明显改变（t=2.988、0.028，均P>0.05），而RNPS1 siRNA组中，敲低RNPS1的表达后下调了Notch3 mRNA的表达及其下游靶基因HEY1 mRNA表达（t=5.180、6.724，均P<0.01）。



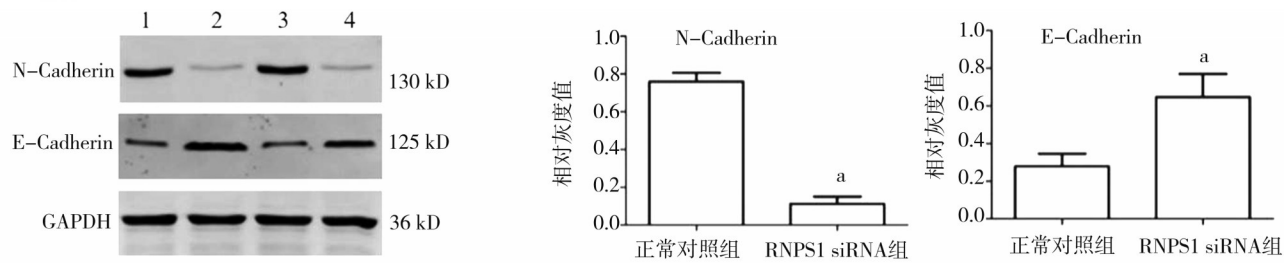
A. HPAC细胞的迁移能力

B. HPAC细胞迁移潜力的分析图形

C. HPAC细胞的侵袭能力及分析图形

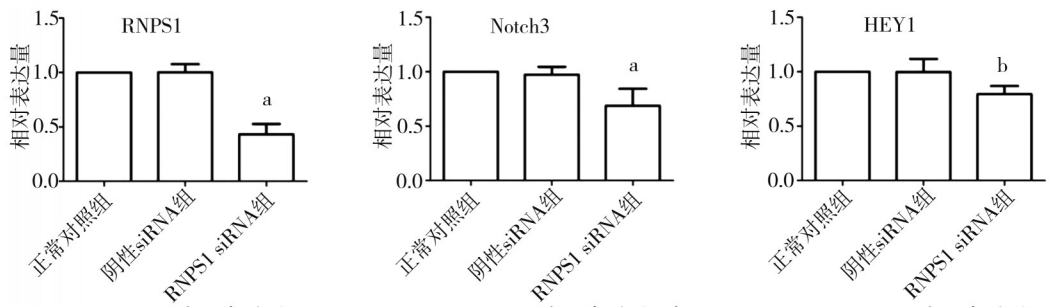
注：a，与正常对照组比较，$P<0.001$；b，与正常对照组相比较，$P<0.05$

图4 PC细胞迁移与侵袭实验及统计分析（Bar=50 μm）



注：1、3为正常对照组；2、4为RNPS1 siRNA组；a，与正常对照组比较，$P<0.001$

图5 PC细胞中N-Cadherin与E-Cadherin蛋白表达的相对灰度值及统计分析



A. RNPS1 mRNA在正常对照组与RNPS1 siRNA组的表达

B. Notch3 mRNA在正常对照组与RNPS1 siRNA组的表达

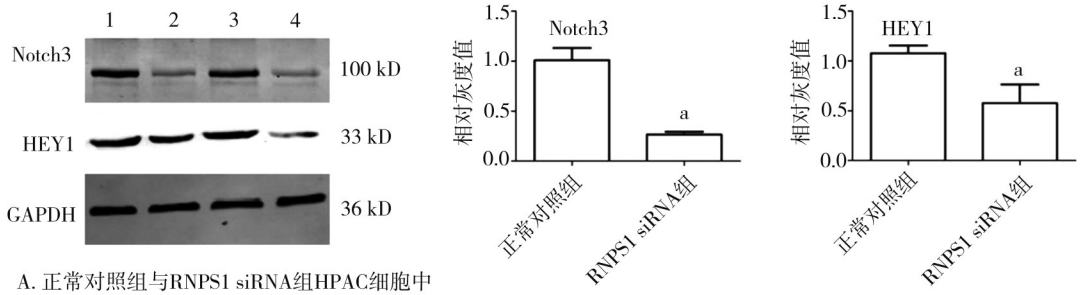
C. HEY1 mRNA在正常对照组与RNPS1 siRNA组的表达

注：a，与正常对照组比较，$P<0.001$；b，与正常对照组比较，$P<0.01$

图6 PC细胞中Notch3与HEY1 mRNA的相对表达量

2.7 敲低RNPS1抑制PC细胞中Notch3与HEY1蛋白表达

利用Western blot检测了敲低RNPS1后Notch3与HEY1蛋白的表达变化，结果显示如图7所示，敲低RNPS1的表达后，HPAC细胞中Notch3蛋白与HEY1蛋白表达均降低（$t=17.546$、6.258，均 $P<0.001$），以上结果提示RNPS1可能通过正向调控Notch3/HEY1信号通路参与PC的进展。



A. 正常对照组与RNPS1 siRNA组HPAC细胞中Notch3蛋白与HEY1蛋白的表达

B. Notch3蛋白印迹密度分析

C. HEY1蛋白印迹密度分析

注：1、3为正常对照组；2、4为RNPS1 siRNA组；a，与正常对照组相比较，$P<0.001$

图7 PC细胞中Notch3与HEY1蛋白表达的相对灰度值及统计分析

3 讨 论

PC是一种致死性高，预后极差的消化系统恶性肿瘤之一，目前PC主要的治疗方法是根治性手术切除，然而，由于PC早期缺乏明显的临床症状，进展相对较快，易发生转移，大多数患者已无法手术治疗，其生存率及治疗效果大大降低[11]。尽管越来越多的关于PC的遗传学研究已经发现了大量关键基因的改变[12-13]，但PC发生发展的分子机制仍有待进一步的研究。因此，探索PC早期诊断的生物标志物及寻找PC潜在治疗靶点，有助于早期发现PC并改善预后。

AS是真核生物基因表达的重要调控机制，它是一个高度调控的过程，该过程的失调对许多疾病的易感性及发生发展都有重要影响，如心血管疾病、免疫疾病、神经退行性疾病、代谢性疾病和癌症等[14-17]。剪接因子的失调或突变导致的AS失调已被证明参与了肿瘤的发生发展、肿瘤对化疗的敏感性，并可作为诊断或预后的生物标志物[18-21]。

1999年RNPS1被鉴定并纯化，为剪接过程的重要调节因子，在mRNA代谢调控中起重要作用[22-23]。敲低RNPS1可加重缺血诱导的神经元凋亡，并下调抗凋亡蛋白Bcl-xL和Mcl-1的表达，提示RNPS1可能是减轻缺血性卒中神经元死亡的潜在治疗靶点[24]。近年来，RNPS1在恶性肿瘤的作用受到研究者的关注，通过全基因组分析确定AS事件，并构建子宫内膜癌（endometrial cancer，EC）的预后模型，结果显示，RNPS1可能是EC治疗的新靶点[25]。通过对467例肺鳞癌患者的基因测序及临床分析显示，RNPS1是基因相互作用网络中的枢纽基因[26]。与正常卵巢上皮相比较，RNPS1在卵巢癌细胞的表达降低，功能研究表明，RNPS1在卵巢癌细胞中具有多种抗肿瘤作用[27]。而在宫颈癌中，RNPS1表达升高，其介导的选择性剪接有利于激活Rac1b/RhoA信号轴，进而参与宫颈癌细胞的侵袭和转移[9]。RNPS1在PC中发生发展中的作用尚不明确。

为了确定RNPS1是否在PC的发生和发展中起作用，本研究使用OncoDB web资源，数据显示，与正常组织相比，RNPS1在PC样本中表达升高，本研究进一步验证了RNPS1在PC组织、癌旁组织及PC细胞与胰腺导管上皮细胞的表达情况，结果显示，与数据库资源一致，与正常组织及细胞系相比，RNPS1在PC细胞中表达升高。

为了解RNPS1在PC中的作用，本研究利用siRNA靶向敲低PC细胞系HPAC中RNPS1的表达，本研究发现RNPS1的下调可以抑制PC细胞的增殖和迁移，促进癌细胞的凋亡。N-Cadherin和E-Cadherin是肿瘤细胞EMT重要的标记物，RNPS1敲低后，N-Cadherin蛋白表达降低，E-Cadherin蛋白表达升高，进一步提示RNPS1在PC细胞生存、迁移、侵袭中起到正向调节作用。

Notch3是在哺乳动物中发现的4种Notch受体之一，在不同的肿瘤中发挥着不同的作用，激活Notch3/Hey1促进肿瘤细胞的增殖、存活和上皮-间充质转化（Epithelial-mesenchymal transition，EMT），从而促进肿瘤的发展[28]。体内外实验结果表明，沉默Notch3可以抑制PC细胞的生长、迁移和侵袭[29]。OncoDB web资源数据显示，Notch3在PC样本中过表达，并且与RNPS1的表达有相关性，本研究结果也显示，与正常组织及细胞系相比，Notch3在PC细胞中表达升高。RNPS1是否是通过调节Notch3信号通路而发挥作用还不清楚。本研究利用siRNA靶向敲低PC细胞系HPAC中RNPS1的表达后，结果显示，Notch3及其下游靶基因HEY1的mRNA及蛋白水平均降低，提示RNPS1通过正向调控Notch3/

HEY1信号通路参与PC的进展。

在本研究中，检测了RNPS1与PC的进展的关系，研究结果揭示了RNPS1在调节PC的关键标志，如生存、迁移和侵袭等中发挥重要作用，RNPS1可通过Notch3/HEY1信号通路调节PC的肿瘤进展，这些结果将为通过调节Notch信号通路延缓PC的发展提供了新的方法和策略，有助于PC早期诊断或预后的生物标志物及潜在治疗靶点的寻找。

参 考 文 献

[1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.

[2] Kahles A, Lehmann KV, Toussaint NC, et al. Comprehensive analysis of alternative splicing across tumors from 8, 705 patients[J]. Cancer Cell, 2018, 34(2): 211-224.

[3] Sciarrillo R, Wojtuszkiewicz A, Assaraf YG, et al. The role of alternative splicing in cancer: from oncogenesis to drug resistance[J]. Drug Resist Updat, 2020, 53: 100728.

[4] Bradley RK, Anczuków O. RNA splicing dysregulation and the hallmarks of cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2023, 23(3): 135-155.

[5] Bonnal SC, López-Oreja I, Valcárcel J. Roles and mechanisms of alternative splicing in cancer—implications for care[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2020, 17: 457-474.

[6] Wang XL, Li JX, Bian X, et al. *CircURI1* interacts with hnRNPM to inhibit metastasis by modulating alternative splicing in gastric cancer [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(33): e2012881118.

[7] Peng Q, Zhou YJ, Oyang L, et al. Impacts and mechanisms of alternative mRNA splicing in cancer metabolism, immune response, and therapeutics[J]. Mol Ther, 2022, 30(3): 1018-1035.

[8] Mehterov N, Kazakova M, Sbirkov Y, et al. Alternative RNA splicing-the Trojan horse of cancer cells in chemotherapy[J]. Genes, 2021, 12(7): 1085.

[9] Deka B, Chandra P, Yadav P, et al. RNPS1 functions as an oncogenic splicing factor in cervical cancer cells[J]. IUBMB Life, 2023, 75(6): 514-529.

[10] Liu XJ, Ma H, Ma LS, et al. RNA-binding protein with serine-rich domain 1 regulates microsatellite instability of uterine corpus endometrial adenocarcinoma[J]. Clinics, 2021, 76: e3318.

[11] Strobel O, Neoptolemos J, Jäger D, et al. Optimizing the outcomes of pancreatic cancer surgery[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(1): 11-26.

[12] Sano M, Takahashi R, Ijichi H, et al. Blocking VCAM-1 inhibits pancreatic tumour progression and cancer-associated thrombosis/thromboembolism[J]. Gut, 2021, 70(9): 1713-1723.

[13] Liang C, Shi S, Qin Y, et al. Localisation of PGK1 determines metabolic phenotype to balance metastasis and proliferation in patients with SMAD4-negative pancreatic cancer[J]. Gut, 2020, 69(5): 888-900.

[14] Bashari A, Siegfried Z, Karni R. Targeting splicing factors for cancer therapy[J]. RNA, 2023, 29(4): 506-515.

[15] Prashad S, Gopal PP. RNA-binding proteins in neurological development and disease[J]. RNA Biol, 2021, 18(7): 972-987.

[16] Deng SF, Yi P, Xu ML, et al. Dysfunctional gene splicing in glucose metabolism may contribute to Alzheimer's disease[J]. Chin Med J, 2023, 136(6): 666-675.

[17] Sertznig H, Roesmann F, Wilhelm A, et al. SRSF1 acts as an IFN-I-regulated cellular dependency factor decisively affecting HIV-1 post-integration steps[J]. Front Immunol, 2022, 13: 935800.

[18] Yoshimi A, Lin KT, Wiseman DH, et al. Coordinated alterations in RNA splicing and epigenetic regulation drive leukaemogenesis[J]. Nature, 2019, 574(7777): 273-277.

[19] Tripathi V, Shin JH, Stuelten CH, et al. TGF-β-induced alternative splicing of TAK1 promotes EMT and drug resistance[J]. Oncogene, 2019, 38(17): 3185-3200.

[20] Zhang HH, Brown RL, Wei Y, et al. CD44 splice isoform switching determines breast cancer stem cell state[J]. Genes Dev, 2019, 33(3/4): 166-179.

[21] Li J, Choi PS, Chaffer CL, et al. An alternative splicing switch in FLNB promotes the mesenchymal cell state in human breast cancer[J]. Elife, 2018, 7: e37184.

[22] McCracken S, Longman, Johnstone IL, et al. An evolutionarily conserved role for SRm160 in 3′-end processing that functions independently of exon junction complex formation[J]. J Biol Chem, 2003, 278(45): 44153-44160.

[23] Fukumura K, Inoue K, Mayeda A. Splicing activator RNPS1 suppresses errors in pre-mRNA splicing: a key factor for mRNA quality control[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 496(3): 921-926.

[24] Zhang Z, Guo MD, Liu Y, et al. RNPS1 inhibition aggravates ischemic brain injury and promotes neuronal death[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 523(1): 39-45.

[25] Wang CX, Zheng MJ, Wang S, et al. Whole genome analysis and prognostic model construction based on alternative splicing events in endometrial cancer[J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 2686875.

[26] Liu Y, Jia WX, Li J, et al. Identification of survival-associated alternative splicing signatures in lung squamous cell carcinoma[J]. Front Oncol, 2020, 10: 587343.

[27] Syed V, Zhang X, Lau KM, et al. Profiling estrogen-regulated gene expression changes in normal and malignant human ovarian surface epithelial cells[J]. Oncogene, 2005, 24(55): 8128-8143.

[28] Pedrosa AR, Trindade A, Carvalho C, et al. Endothelial Jagged1 promotes solid tumor growth through both pro-angiogenic and angiocrine functions[J]. Oncotarget, 2015, 6(27): 24404-24423.

[29] Chiu TJ, Chen YJ, Lan J, et al. Downregulation of Notch3 links TIMP3 inhibition to suppress aggressive phenotypes of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Am J Cancer Res, 2021, 11(11): 5609-5624.

（责任编辑：曾 玲）