

[文章编号] 1671-587X(2024)01-0113-07

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240114

## 下调富含脯氨酸蛋白11表达对食管癌耐药细胞EC9706/DDP 耐药性的影响及其机制

亢春彦<sup>1</sup>, 张秀芝<sup>1</sup>, 周慧聪<sup>2</sup>, 陈洁<sup>1</sup>

(1. 河南医学高等专科学校病理学教研室, 河南 郑州 451191; 2. 郑州大学第二附属医院消化内科, 河南 郑州 450000)

**[摘要]** **目的:** 探讨下调富含脯氨酸蛋白11 (PRR11) 表达对食管癌耐药细胞耐药性的影响, 阐明其相关机制。**方法:** 采用顺铂 (DDP) 浓度递增间断刺激人食管癌 EC9706 细胞建立 DDP 耐药细胞株 EC9706/DDP, MTT 法检测 EC9706/DDP 细胞药敏性, 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法和 Western blotting 法检测 EC9706/DDP 细胞及其亲本 EC9706 细胞中 PRR11 mRNA 和蛋白表达水平。将 EC9706/DDP 细胞分为对照组、sh-NC 组 (转染 sh-NC)、sh-PRR11 组 (转染 sh-PRR11)、sh-NC+DDP 组 (转染 sh-NC 后用 4 mg·L<sup>-1</sup> DDP 处理) 和 sh-PRR11+DDP 组 (转染 sh-PRR11 后用 4 mg·L<sup>-1</sup> DDP 处理), RT-qPCR 法检测各组细胞中 PRR11 mRNA 表达水平, Western blotting 法检测各组细胞中 PRR11、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) p110 $\alpha$ 、蛋白激酶 B (AKT)、磷酸化 AKT (p-AKT)、P-糖蛋白 (P-gp) 和多药耐药相关蛋白 1 (MRP1) 蛋白表达水平, 流式细胞术检测各组细胞凋亡率。**结果:** 成功获得 DDP 耐药细胞株 EC9706/DDP, 耐药指数为 7.23 $\pm$ 0.86。与 EC9706 细胞比较, EC9706/DDP 细胞中 PRR11 mRNA 和蛋白表达水平升高 ( $P < 0.05$ )。分别与对照组和 sh-NC 组比较, sh-PRR11 组细胞中 PRR11 mRNA 和蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ ), 细胞的 DDP 半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 降低 ( $P < 0.05$ )。与 sh-NC 组比较, sh-NC+DDP 组和 sh-PRR11 组细胞中 PI3K p110 $\alpha$ 、p-AKT、P-gp 和 MRP1 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ ), 细胞凋亡率升高 ( $P < 0.05$ ); 分别与 sh-NC+DDP 组和 sh-PRR11 组比较, sh-PRR11+DDP 组细胞中 PI3K p110 $\alpha$ 、p-AKT、P-gp 和 MRP1 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ ), 细胞凋亡率升高 ( $P < 0.05$ )。**结论:** 下调 EC9706/DDP 耐药细胞中 PRR11 基因的表达, 可抑制耐药相关蛋白的表达, 逆转对 DDP 耐药, 并诱导细胞凋亡, 其作用机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路激活有关。

**[关键词]** 富含脯氨酸蛋白11; 食管肿瘤; 顺铂; 耐药; 磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B信号通路

**[中图分类号]** R735.1 **[文献标志码]** A

## Effect of downregulating proline-rich protein 11 expression on drug resistance of esophageal cancer drug resistant cell EC9706/DDP and its mechanism

KANG Chunyan<sup>1</sup>, ZHANG Xiuzhi<sup>1</sup>, ZHOU Huicong<sup>2</sup>, CHEN Jie<sup>1</sup>

(1. Department of Pathology, Henan Medical College, Zhengzhou 451191, China; 2. Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China)

[收稿日期] 2023-03-13

[基金项目] 河南省科技厅科技攻关项目 (192102310103)

[作者简介] 亢春彦 (1977-), 女, 河南省焦作市人, 副教授, 医学硕士, 主要从事肿瘤早期诊断方面的研究。

[通信作者] 陈洁, 教授 (E-mail: chjchj77@163.com)

**ABSTRACT Objective:** To discuss the effect of downregulating the proline-rich protein 11 (PRR11) expression on drug resistance of the esophageal cancer drug resistant cells, and to clarify the related mechanism. **Methods:** The drug resistant cells EC9706/cisplatin(DDP) were established by incrementally stimulating the human esophageal cancer EC9706 cells with the increasing concentrations of DDP. The drug sensitivity of the EC9706/DDP cells was detected by MTT assay; the expression levels of PRR11 mRNA and protein in the EC9706/DDP cells and their parent EC9706 cells were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) and Western blotting methods. The EC9706/DDP cells were divided into control group, sh-NC group (infected with sh-NC), sh-PRR11 group (infected with sh-PRR11), sh-NC+DDP group (infected with sh-NC and treated with  $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  DDP), and sh-PRR11+DDP group (infected with sh-PRR11 and treated with  $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  DDP). The expression levels of PRR11 mRNA in the cells in various groups were detected by RT-qPCR method; the expression levels of PRR11, phosphoinositide 3-kinase (PI3K) p110 $\alpha$ , protein kinase B (AKT), phosphorylated AKT (p-AKT), P-glycoprotein (P-gp), and multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1) proteins in the cells in various groups were detected by Western blotting method; the apoptotic rates of the cells in various groups were detected by flow cytometry. **Results:** The DDP-resistant cell line EC9706/DDP was successfully obtained, and the drug resistance index was  $7.23 \pm 0.86$ . Compared with the EC9706 cells, the expression levels of PRR11 mRNA and protein in the EC9706/DDP cells were increased ( $P < 0.05$ ). Compared with control and sh-NC groups, the expression levels of PRR11 mRNA and protein in the cells in sh-PRR11 group were decreased ( $P < 0.05$ ), and the 50% inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) of DDP was decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with sh-NC group, the expression levels of PI3K p110 $\alpha$ , p-AKT, P-gp, and MRP1 proteins in the cells in sh-NC+DDP and sh-PRR11 groups were decreased ( $P < 0.05$ ), and the apoptotic rate of the cells was increased ( $P < 0.05$ ). Compared with sh-NC+DDP group and sh-PRR11 group, the expression levels of PI3K p110 $\alpha$ , p-AKT, P-gp, and MRP1 proteins in the cells in sh-PRR11+DDP group were increased ( $P < 0.05$ ), and the apoptotic rate of the cells was increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Downregulating the expression of PRR11 gene in the drug resistant EC9706/DDP cells can inhibit the expressions of drug resistance-related proteins, reverse the resistance to DDP, and induce the apoptosis; its mechanism may be related to the inhibition of activation of the PI3K/AKT signaling pathway. **KEYWORDS** Proline-rich protein 11; Esophageal neoplasm; Cisplatin; Drug resistance; Phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B signaling pathway

食管癌是目前全世界最常见的癌症之一, 尽管目前的医疗技术已经有很大进展, 但食管癌患者5年生存率仍然较差<sup>[1-2]</sup>。针对晚期/转移性食管癌, 通常采用顺铂 (cisplatin, DDP)、紫杉醇和5-氟尿嘧啶等药物进行化疗, 然而对上述药物的化疗耐药性是治疗食管癌的主要障碍<sup>[3-4]</sup>。人食管癌DDP耐药性的产生可能是食管癌临床化疗失败的重要原因<sup>[5-6]</sup>。因此, 研究逆转食管癌细胞DDP耐药的有效方法对于提高食管癌临床化疗效果具有重要价值。

研究<sup>[7]</sup>显示: 富含脯氨酸蛋白11 (proline-rich protein 11, PRR11) 是一种肿瘤相关蛋白, 在食管癌组织中呈高表达, 其表达水平与食管癌预后有关联。体外研究<sup>[8]</sup>证实: 敲低食管癌细胞中PRR11的表达, 可抑制癌细胞的增殖、迁移和

侵袭, 表明PRR11在食管癌发生发展过程中发挥重要作用。但PRR11与食管癌DDP耐药的关系尚未阐明。本研究通过构建食管癌DDP耐药细胞株, 采用慢病毒干扰耐药细胞中PRR11的表达, 旨在探讨下调食管癌DDP耐药细胞中PRR11表达对细胞耐药性的影响, 为逆转食管癌DDP耐药提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞和主要试剂** 人食管癌EC9706细胞株购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。DDP由山东齐鲁制药有限公司生产。胎牛血清、DMEM、Lipofectamine RNAiMax和TRIZOL试剂购自美国Ausbio公司, MTT购自美国APEX-BIO公司, PRR11 shRNA慢病毒及空载慢病

毒由上海吉凯基因公司提供(慢病毒滴度均为 $2 \times 10^8$  TU $\cdot$ mL $^{-1}$ ), SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq 购自宝生物工程(大连)有限公司, Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购自美国eBioscience公司, 兔抗人 PRR11 (ab237526)、兔抗人 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp) (ab235954)、兔抗人多药耐药相关蛋白1 (multidrug resistance associated protein1, MRP1) (ab260038)、山羊抗兔 IgG (ab205718) 和兔抗人 GAPDH (ab181603) 抗体购自英国 Abcam 公司, 兔抗人磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K) p110 $\alpha$  抗体、兔抗人蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 抗体和兔抗人磷酸化 AKT (phosphorylated AKT, p-AKT) 抗体购自美国 CST 公司。

**1.2 细胞培养和耐药细胞株构建** 采用含 10% 胎牛血清、100 U $\cdot$ mL $^{-1}$  青霉素和 100 g $\cdot$ L $^{-1}$  链霉素的 DMEM 培养基培养人食管癌 EC9706 细胞株。收集对数生长期 EC9706 细胞, 采用 DDP 浓度递增间断刺激细胞, 建立 DDP 耐药细胞株 EC9706/DDP: 从低浓度 (0.05 mg $\cdot$ L $^{-1}$ ) DDP 作用 48 h 开始, 当细胞出现死亡时, PBS 缓冲液清洗细胞, 将含药培养液更换为新鲜不含药培养液; 待细胞恢复正常生长, 无明显死亡细胞时, 加入浓度递增的 DDP 作用 48 h, 每次增加 0.05 mg $\cdot$ L $^{-1}$ , 间断作用直至细胞在含 0.5 mg $\cdot$ L $^{-1}$  DDP 的培养液中长期正常生存, 则 DDP 耐药细胞株 EC9706/DDP 构建成功。

**1.3 MTT 法检测 EC9706/DDP 细胞药敏性** 分别收集对数生长期 EC9706/DDP 和亲本 EC9706 细胞, 接种于 96 孔细胞培养板中, 约每孔  $5 \times 10^3$  个细胞。待细胞贴壁后, 弃去培养液, 加入含有不同浓度 (0、2、4、8、16 和 32 mg $\cdot$ L $^{-1}$ ) DDP 的新鲜培养液继续培养 24 h。每孔加入 20  $\mu$ L MTT 溶液 (5 g $\cdot$ L $^{-1}$ ), 37  $^{\circ}$ C 继续培养 4 h。弃去培养液, 加入 100  $\mu$ L DMSO, 结晶溶解后, 酶标仪检测 490 nm 波长处吸光度 (A) 值。根据 A 值计算 DDP 对 EC9706/DDP 细胞和 EC9706 细胞的半数抑制浓度 (50% inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>), 计算耐药指数。耐药指数 = IC<sub>50</sub> (EC9706/DDP 细胞) / IC<sub>50</sub> (EC9706 细胞)。

**1.4 细胞转染和分组** 收集对数生长期 EC9706/DDP 细胞, 接种于 6 孔细胞培养板中, 待细胞贴壁且密度达到 80% 时进行慢病毒转染, 按照感染复数 50 : 1 取 PRR11 shRNA 慢病毒和空载慢病毒分

别转染 EC9706/DDP 细胞, 分别为 PRR11 干扰 (sh-PRR11) 组和阴性对照干扰 (sh-NC) 组, 另取未进行病毒转染的 EC9706/DDP 细胞作为对照组。慢病毒转染 6~8 h 后更换新鲜培养基继续培养 48 h, 采用实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR) 法和 Western blotting 法检测各组细胞中 PRR11 mRNA 和蛋白表达水平, 以验证干扰效果。此外, 采用不同浓度 (0、2、4、8、16 和 32 mg $\cdot$ L $^{-1}$ ) DDP 处理各组细胞 24 h 后, 采用 MTT 法检测各组细胞增殖活性, 并计算 IC<sub>50</sub> 值。

**1.5 RT-qPCR 法检测各组细胞中 PRR11 mRNA 表达水平** 分别收集 EC9706 细胞、EC9706/DDP 细胞和转染后的 3 组细胞, 采用 TRIzol 法提取细胞总 RNA。采用反转录试剂盒合成 cDNA, 采用 SYBR 荧光定量试剂盒进行扩增反应。反应条件: 95  $^{\circ}$ C、20 s, 60  $^{\circ}$ C、30 s, 72  $^{\circ}$ C、30 s, 40 个循环。引物序列: PRR11, 上游引物 5'-GAAGC-TGGCTAACATCCTG-3', 下游引物 5'-CTCTG-GGTTATGCAGTTCTGG-3'; GAPDH, 上游引物 5'-ATGACCCCTTCATTGACCTCA-3', 下游引物 5'-GAGATGATGACCCTTTTGGCT-3'。采用 2 $^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算各组细胞中 PRR11 mRNA 表达水平。

**1.6 Western blotting 法检测各组细胞中 PRR11、PI3K/AKT 信号通路相关蛋白和耐药相关蛋白表达水平** ① 收集耐药 EC9706/DDP 细胞及其亲本 EC9706 细胞, 检测细胞中 PRR11 蛋白表达水平; ② 收集“1.4”中 3 组细胞, 检测各组细胞中 PRR11 蛋白表达水平; ③ 转染后的 EC9706/DDP 细胞分为 sh-NC 组、sh-NC+DDP 组、sh-PRR11 组和 sh-PRR11+DDP 组, 其中 sh-NC+DDP 组和 sh-PRR11+DDP 组 EC9706/DDP 细胞慢病毒转染后采用 4 mg $\cdot$ L $^{-1}$  DDP 处理 24 h, 检测各组细胞中 PI3K p110 $\alpha$ 、AKT、p-AKT、P-gp 和 MRP1 蛋白表达水平。操作步骤如下: 收集细胞沉淀, 加入 RIPA 裂解液于冰上裂解 30 min, 10 000 g、4  $^{\circ}$ C 离心 20 min, 收集上清液。BCA 法进行蛋白定量后, 以 25  $\mu$ g 蛋白的上样量进行 10% SDS-PAGE 分离, 将蛋白转移至硝酸纤维薄膜。采用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h。加入一抗 PRR11 (1 : 500)、PI3Kp110 $\alpha$  (1 : 1000)、AKT (1 : 1000)、p-AKT (1 : 2 000)、P-gp (1 : 1 000)、MRP1

(1:1000)和GAPDH(1:5000),室温孵育2h。PBS缓冲液洗膜3次,加入二抗(1:20000),室温孵育2h。PBS缓冲液洗膜3次,加入化学发光试剂,于暗室中曝光显影,分析蛋白条带灰度值,计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/GAPDH蛋白条带灰度值;p-AKT蛋白表达水平以p-AKT/AKT比值表示。

**1.7 流式细胞术检测各组细胞凋亡率** 收集sh-NC组、sh-NC+DDP组、sh-PRR11组和sh-PRR11+DDP组细胞,各组取 $1 \times 10^6$ 个细胞,加入1mL预冷PBS缓冲液混匀,400g、4℃离心5min。收集细胞沉淀,200μL预冷PBS缓冲液重悬,分别加入10μL Annexin V-FITC和PI,混匀,避光孵育30min。加入300μL PBS缓冲液混匀,采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。细胞凋亡率=早期凋亡率+晚期凋亡率。

**1.8 统计学分析** 采用SPSS 21.0统计软件进行统计学分析。各组细胞 $IC_{50}$ ,各组细胞中PRR11 mRNA和PRR11、PI3K p110 $\alpha$ 、p-AKT、P-gp及MRP1蛋白表达水平,各组细胞凋亡率,均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间样本均数比较采用两独立样本 $t$ 检验,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,组间样本均数两两比较采用LSD- $t$ 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

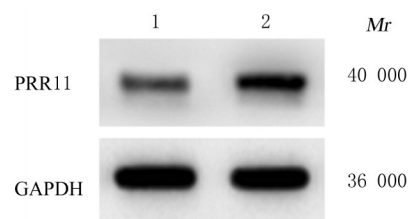
## 2 结果

### 2.1 EC9706/DDP细胞对DDP的耐药指数

EC9706细胞和EC9706/DDP细胞DDP的 $IC_{50}$ 值分别为 $(0.96 \pm 0.11) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(6.85 \pm 0.14) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,EC9706/DDP细胞对DDP的耐药

指数为 $7.23 \pm 0.86$ 。

**2.2 EC9706细胞和EC9706/DDP细胞中PRR11 mRNA及蛋白表达水平** 与EC9706细胞(PRR11 mRNA: $1.03 \pm 0.15$ , PRR11蛋白: $0.28 \pm 0.03$ )比较,EC9706/DDP细胞中PRR11 mRNA表达水平( $1.78 \pm 0.11$ )和蛋白表达水平( $0.63 \pm 0.08$ )均升高( $P < 0.05$ )。见图1。



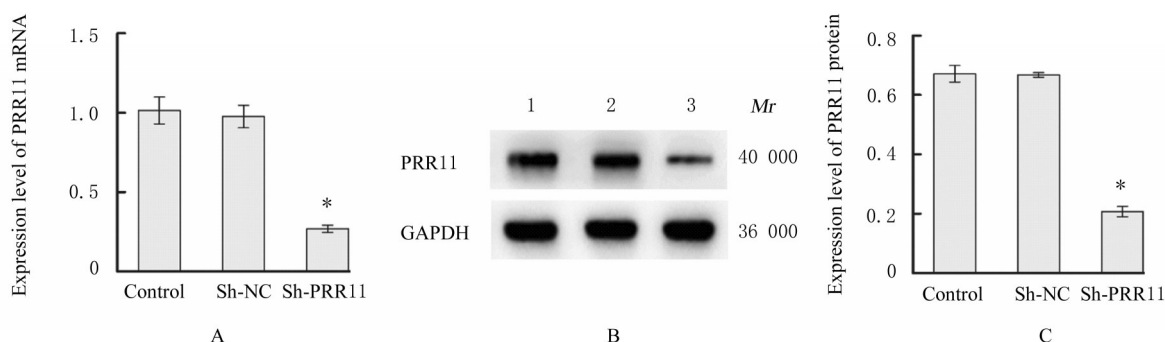
Lane 1: EC9706 cells; Lane 2: EC9706/DDP cells.

图1 Western blotting法检测2组细胞中PRR11蛋白表达电泳图

Fig. 1 Electrophoregram of expression of PRR11 protein in cells in two groups detected by Western blotting method

**2.3 下调PRR11基因表达后各组细胞中PRR11 mRNA和蛋白表达水平及 $IC_{50}$**  与对照组比较,sh-NC组EC9706/DDP细胞中PRR11 mRNA和蛋白表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与sh-NC组比较,sh-PRR11组EC9706/DDP细胞中PRR11 mRNA和蛋白表达水平降低( $P < 0.05$ )。见图2。

与sh-NC组 [ $(6.63 \pm 0.40) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ]比较,sh-PRR11组细胞DDP的 $IC_{50}$  [ $(4.39 \pm 0.21) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ]降低( $P < 0.05$ )。



Lane 1: Control group; Lane 2: Sh-NC group; Lane 3: Sh-PRR11 group. \* $P < 0.05$  compared with control group.

图2 各组细胞中PRR11 mRNA表达水平(A)、PRR11蛋白表达电泳图(B)和PRR11蛋白表达水平(C)

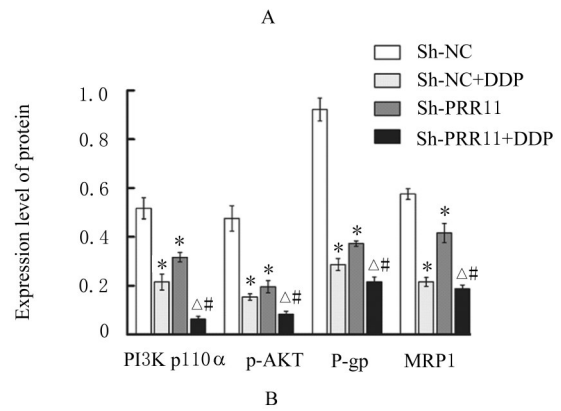
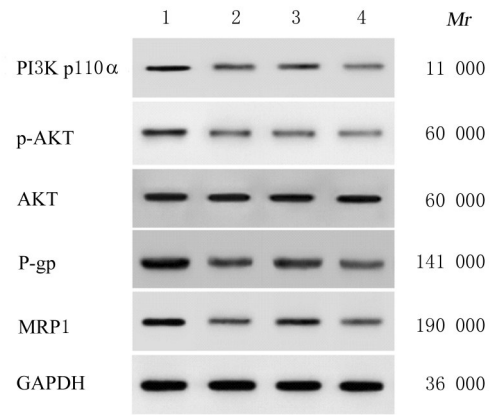
Fig. 2 Expression level of PRR11 mRNA (A), electrophoregram of expression of PRR11 protein (B), and expression level of RPP11 protein(C) in cells in various groups

**2.4 下调PRR11基因表达后各组细胞中PI3K/AKT信号通路相关蛋白和耐药相关蛋白表达水平** 与sh-NC组比较, sh-NC+DDP组和sh-PRR11组细胞中PI3K p110 $\alpha$ 、p-AKT、P-gp和MRP1蛋白表达水平降低 ( $P<0.05$ ); 分别与sh-NC+DDP组和sh-PRR11组比较, sh-PRR11+DDP组细胞中PI3K p110 $\alpha$ 、p-AKT、P-gp和MRP1蛋白表达水平降低 ( $P<0.05$ )。见图3。

**2.5 下调PRR11基因表达后各组细胞凋亡率** 与sh-NC组 (2.54% $\pm$ 0.27%) 比较, sh-NC+DDP组和sh-PRR11组细胞凋亡率 (24.49% $\pm$ 1.15%和17.05% $\pm$ 0.76%) 升高 ( $P<0.05$ ); 分别与sh-NC+DDP组和sh-PRR11组比较, sh-PRR11+DDP组细胞凋亡率 (42.36% $\pm$ 1.19%) 升高 ( $P<0.05$ )。见图4。

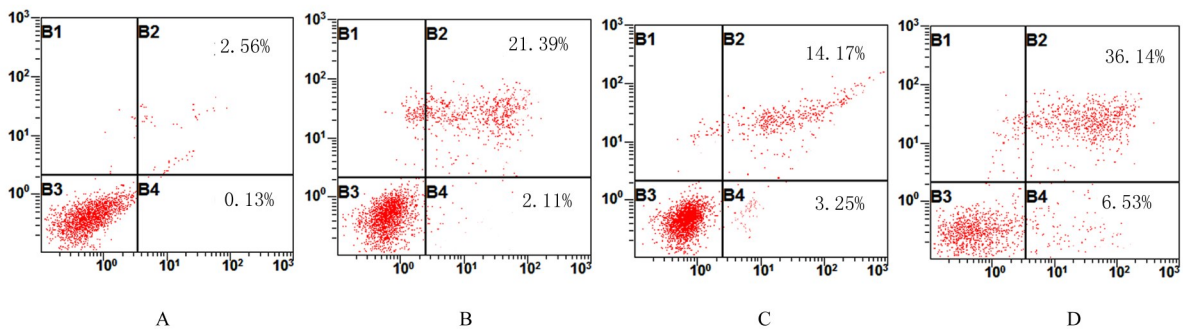
**3 讨论**

PRR11是位于17q22染色体上与肿瘤相关的基因, 在正常组织中其表达水平较低, 但在某些肿瘤组织中呈现过度表达趋势, 在多种恶性肿瘤细胞生物学行为中发挥重要作用<sup>[9-10]</sup>。研究<sup>[11]</sup>显示: 抑制结直肠癌细胞中PRR11基因的表达, 可抑制癌细胞的增殖、侵袭和迁移。沉默肝癌细胞PRR11表达, 可以使AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammation target of rapamycin, mTOR)信号通路失活, 抑制细胞增殖和迁移, 并促进细胞凋亡<sup>[12]</sup>。研究<sup>[13]</sup>显示: PRR11表达上调可能是食管鳞状细胞癌患者生存的独立预后指标, 抑制PRR11基因表达在体内和体外均可抑制食管鳞状细胞癌细胞的迁移和浸润。上述研究表明PRR11



Lane 1:Sh-NC group; Lane 2:Sh-NC+DDP group; Lane 3:Sh-PRR11 group; Lane 4: Sh-PRR11+DDP group. \* $P<0.05$  compared with sh-NC group;  $\Delta P<0.05$  compared with sh-NC+DDP group; # $P<0.05$  compared with sh-PRR11 group.

**图3 Western blotting法检测各组细胞中PI3K/AKT信号通路相关蛋白和耐药相关蛋白表达电泳图(A)和直条图(B)**  
Fig. 3 Electrophoregram(A) and histogram(B) of expressions of PI3K/AKT signaling pathway related proteins and drug resistance related proteins in cells in various groups detected by Western blotting method



A: Sh-NC group; B: Sh-NC+DDP group; C: Sh-PRR11 group; D: Sh-PRR11+DDP group.

**图4 流式细胞术检测各组细胞凋亡率**

Fig. 4 Apoptotic rates of cells in various groups detected by flow cytometry

在包括食管癌的多种癌症中发挥促癌作用。本研究从DDP耐药角度出发,通过DDP浓度递增间断刺激食管癌EC9706细胞成功获得DDP耐药细胞株EC9706/DDP,结果显示:EC9706/DDP细胞中PRR11 mRNA和蛋白表达水平明显高于亲本EC9706细胞,推测PRR11基因可能参与了食管癌细胞DDP耐药的过程;通过RNA干扰技术下调EC9706/DDP细胞中PRR11基因表达,结果显示:EC9706/DDP细胞DDP的 $IC_{50}$ 明显降低,证实PRR11基因参与了食管癌细胞对DDP的耐药。

DDP为治疗食管癌的关键性药物之一,但化疗耐药限制了DDP的治疗效果,提高对DDP的敏感性是食管癌治疗的重要环节。相关研究<sup>[14-15]</sup>显示:DDP在癌症中的作用机制可能与抑制PI3K/AKT信号通路有关,抑制癌细胞中PI3K/AKT信号通路的激活,有助于提高DDP的疗效。敲除AKT3可抑制食管癌细胞的PI3K/AKT信号通路,降低DDP治疗的 $IC_{50}$ ,下调耐药相关蛋白的表达,诱导细胞凋亡,提示PI3K/AKT信号通路在食管癌细胞DDP耐药过程中起着重要作用<sup>[16]</sup>。激活PI3K/AKT信号通路,可上调耐药相关蛋白(P-gp和MRP1)的表达,导致DDP对宫颈癌细胞的 $IC_{50}$ 升高,形成DDP抗性<sup>[17]</sup>。MRP1和P-gp均为膜结合药物转运蛋白,下调其表达可逆转癌症的多药耐药<sup>[18]</sup>。研究<sup>[19]</sup>显示:敲除PI3K p110 $\alpha$ 基因和PI3K p110 $\beta$ 基因,可降低ABC转运蛋白的表达,从而逆转癌细胞耐药,被认为是一种降低肿瘤细胞多药耐药的有效策略。大量研究<sup>[11-12, 20]</sup>显示:PRR11表达与PI3K/AKT信号通路有密切联系。沉默PRR11后,AKT磷酸化水平降低,其下游关键调节因子活性也明显降低,上调PRR11表达后p-AKT及下游因子表达水平明显升高,提示PRR11可能通过激活PI3K/AKT信号通路在肿瘤细胞中发挥作用<sup>[21]</sup>。在本研究中,DDP干预或下调PRR11的表达均可诱导EC9706/DDP细胞凋亡,降低耐药相关蛋白MRP1和P-gp及PI3K p110 $\alpha$ 和p-AKT的表达水平,抑制PI3K/AKT信号通路的活化,且二者联合作用效果更明显。

综上所述,PRR11参与了食管癌EC9706细胞对DDP的耐药过程,下调PRR11的表达,可增强耐药细胞对DDP的敏感性,诱导细胞凋亡,PRR11具有作为食管癌分子标志物和治疗靶点的潜在价值,其作用机制可能与抑制PI3K/AKT信

号通路的激活有关,后续将通过体内实验进一步验证。

#### 利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

亢春彦参与实验设计和论文撰写,张秀芝参与统计学分析、实验指导和数据采集,周慧聪参与论文修改和论文审阅,陈洁参与实验设计和指导及提供研究经费。

#### [参考文献]

- [1] LI Q, LIU T, DING Z Y. Neoadjuvant immunotherapy for resectable esophageal cancer: a review [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1051841.
- [2] GHOSH N R, JONES L A. Dietary risk factors for esophageal cancer based on World Health Organization regions[J]. *Nutrition*, 2022, 95: 111552.
- [3] LOHAN-CODEÇO M, BARAMBO-WAGNER M L, NASCIUTTI L E, et al. Molecular mechanisms associated with chemoresistance in esophageal cancer[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(2): 116.
- [4] GIACOMINI I, RAGAZZI E, PASUT G, et al. The pentose phosphate pathway and its involvement in cisplatin resistance[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 937.
- [5] 陈洁, 亢春彦, 杨红梅, 等. PRR11和SKA2在食管鳞癌中的表达及与临床预后的关系[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(2): 302-309.
- [6] LI Z H, LI S W, WEN Y Q, et al. miR-495 inhibits cisplatin resistance and angiogenesis in esophageal cancer by targeting ATP7A [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, 20: 15330338211039127.
- [7] CHEN J, YANG H M, ZHOU H C, et al. PRR11 and SKA2 promote the proliferation, migration and invasion of esophageal carcinoma cells [J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(1): 639-646.
- [8] WANG C Y, YU L, REN X Y, et al. The oncogenic potential of PRR11 gene in tongue squamous cell carcinoma cells[J]. *J Cancer*, 2019, 10(11): 2541-2551.
- [9] LIN C J, XIA J, GU Z W, et al. Downregulation of USP34 inhibits the growth and migration of pancreatic cancer cells via inhibiting the PRR11[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 1471-1480.
- [10] HAN W, CHEN L. PRR11 in malignancies: biological activities and targeted therapies [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(12): 1800.
- [11] MA H L, YANG W G, WANG X F, et al. PRR11 promotes proliferation and migration of colorectal cancer

- through activating the EGFR/ERK/AKT pathway via increasing CTHRC1[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2022, 52(1): 86-94.
- [12] ZHONG F J, LIU S, HU D H, et al. LncRNA AC099850.3 promotes hepatocellular carcinoma proliferation and invasion through PRR11/PI3K/AKT axis and is associated with patients prognosis[J]. *J Cancer*, 2022, 13(3): 1048-1060.
- [13] ZHOU L, DENG Z Z, LI H Y, et al. Overexpression of PRR11 promotes tumorigenic capability and is associated with progression in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 2677-2693.
- [14] WANG P, HU Y J, QU P P, et al. Protein tyrosine phosphatase receptor type Z1 inhibits the cisplatin resistance of ovarian cancer by regulating PI3K/AKT/mTOR signal pathway[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(1): 1931-1941.
- [15] WU L J, CAI S Y, DENG Y Y, et al. PD-1/PD-L1 enhanced cisplatin resistance in gastric cancer through PI3K/AKT mediated P-gp expression [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 94: 107443.
- [16] ZHENG T L, LI D P, HE Z F, et al. miR-145 sensitizes esophageal squamous cell carcinoma to cisplatin through directly inhibiting PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 250.
- [17] DUAN W X, LIU X M. PSAT1 upregulation contributes to cell growth and cisplatin resistance in cervical cancer cells via regulating PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2020, 50(4): 512-518.
- [18] GAO M H, LIU T, LI J N, et al. YAN, a novel microtubule inhibitor, inhibits P-gp and MRP1 function and induces mitotic slippage followed by apoptosis in multidrug-resistant A549/Taxol cells [J]. *Toxicol In Vitro*, 2020, 69: 104971.
- [19] ZHANG L, LI Y D, WANG Q C, et al. The PI3K subunits, P110 $\alpha$  and P110 $\beta$  are potential targets for overcoming P-gp and BCRP-mediated MDR in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 10.
- [20] LEE K M, GUERRERO-ZOTANO A L, SERVETTO A, et al. Proline rich 11 (PRR11) overexpression amplifies PI3K signaling and promotes antiestrogen resistance in breast cancer [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5488.
- [21] ZHU J, HU H, WANG J, et al. PRR11 overexpression facilitates ovarian carcinoma cell proliferation, migration, and invasion through activation of the PI3K/AKT/ $\beta$ -catenin pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(2): 696-705.