

LncRNA PCAT-1 对鼻咽癌细胞生物学行为及化疗敏感性的影响

张茂华¹, 魏日富¹, 朱忠寿¹, 刘平¹, 高尚^{1,2}, 李慧凤¹

1. 宁德师范学院附属宁德市医院 耳鼻咽喉头颈外科, 福建 宁德 352100

2. 上海市第一人民医院 耳鼻咽喉头颈外科, 上海 200080

摘要: **目的** 探讨长链非编码 RNA 转录产物 1 (long non-coding RNA Prostate cancer associated transcript-1, lncRNA PCAT-1) 对鼻咽癌 HK-1 细胞生物学行为及化疗敏感性的影响。 **方法** 实时定量 PCR (Real-time quantitative PCR, RT-qPCR) 检测 LncRNA PCAT-1 在不同鼻咽癌细胞株中的表达, CCK8、transwell、流式细胞术检测过表达/干扰 LncRNA PCAT-1 的 HK-1 细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡的变化, 蛋白免疫印记 (Western blot, WB) 检测上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 通路相关蛋白的表达, 细胞增殖实验检测 5-FU 及 DDP 的半数抑制率 (median inhibition concentration, IC₅₀) 变化。 **结果** LncRNA PCAT-1 在 HK-1 细胞株中表达升高。过表达 LncRNA PCAT-1 后, HK-1 细胞的增殖、迁移、侵袭显著增加, 而凋亡减少; E-cadherin 蛋白表达水平显著降低, vimentin 和 N-cadherin 蛋白表达水平显著升高; 过表达后 HK-1 细胞对 5-FU 及 DDP 的 IC₅₀ 升高, 细胞克隆数增加。干扰 LncRNA PCAT-1 后则相反, HK-1 细胞增殖、迁移、侵袭显著降低, 而凋亡增加; E-cadherin 蛋白表达量显著升高, vimentin 和 N-cadherin 蛋白表达水平显著降低; 干扰后 HK-1 细胞对 5-FU 及 DDP 的 IC₅₀ 降低, 细胞克隆数减少; 差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)。 **结论** lncRNA PCAT-1 通过 EMT 途径来调控鼻咽癌 HK-1 细胞的生物学行为, 并降低细胞对 5-FU 和 DDP 的药物敏感性。

关键词: 鼻咽癌细胞; 长链非编码 RNA 转录产物 1; 上皮间质转化; 化疗敏感性

中图分类号: R739.6; R766.3

文献标志码: A

文章编号: 1673-3770(2025)01-0068-09

引用格式: 张茂华, 魏日富, 朱忠寿, 等. LncRNA PCAT-1 对鼻咽癌细胞生物学行为及化疗敏感性的影响 [J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2025, 39(1): 68-76. ZHANG Maohua, WEI Rifu, ZHU Zhongshou, et al. Effect of LncRNA PCAT-1 on the biological behaviour and chemosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2025, 39(1): 68-76.

Effect of LncRNA PCAT-1 on the biological behaviour and chemosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cells

ZHANG Maohua¹, WEI Rifu¹, ZHU Zhongshou¹, LIU Ping¹, GAO Shang^{1,2}, LI Huifeng¹

1. Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, Ningde Affiliated Hospital of Ningde Normal University, Ningde 352100, Fujian, China

2. Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, Shanghai General Hospital, Shanghai 200080, China

Abstract: Objective To investigate the effect of (long non-coding RNA Prostate cancer associated transcript-1, lncRNA PCAT-1) on the biological behaviour and chemosensitivity of nasopharyngeal carcinoma HK-1 cells. **Methods** Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression of LncRNA PCAT-1 in different nasopharyngeal carcinoma cell lines. CCK8, Transwell, and flow cytometry were used to detect changes in cell proliferation, migration, invasion, and apoptosis of HK-1 cells overexpressing/interfering with LncRNA PCAT-1. Western blot (WB) was used to detect the expression of proteins associated with the epithelial-mesenchymal transition (EMT) pathway. Cell proliferation experiments were used to detect changes in the median inhibition concentration (IC₅₀) of 5-FU and DDP. **Results** The expression of LncRNA PCAT-1 was increased in nasopharyngeal carcinoma cell lines. Overexpression of LncRNA PCAT-1 significantly increased the proliferation, migration, and invasion of HK-1 cells, while decreasing apoptosis; the expression level of E-cadherin protein significantly decreased, while the expression levels of vimentin and N-cadherin proteins were significantly increased. Overexpression also increased the IC₅₀ of HK-1 cells against 5-FU

收稿日期: 2024-03-21

基金课题: 福建省自然科学基金项目 (2021J011159)

通信作者: 高尚。E-mail: gaoshang10190@sina.com; 李慧凤。E-mail: zmh216@163.com

and DDP and the number of cell clones. Interference with LncRNA PCAT-1, on the contrary, led to reduced proliferation, migration, and invasion, with increased apoptosis in HK-1 cells. The expression level of E-cadherin protein significantly increased, while the expression levels of vimentin and N-cadherin proteins significantly decreased. After interference, the IC50 of HK-1 cells against 5-FU and DDP decreased, and the number of cell clones reduced. All differences were statistically significant ($P < 0.05$).

Conclusion LncRNA PCAT-1 regulates the biological behavior of HK-1 nasopharyngeal carcinoma cells through the EMT pathway and reduces their drug sensitivity to 5-FU and DDP.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma cells; LncRNA PCAT-1; Epithelial-mesenchymal transition, EMT; Chemotherapy sensitivity

鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 发病机制的复杂导致大多数患者在首次诊断时被诊断为局部晚期鼻咽癌,其 5 年生存率仍仅为 30%~80% 左右^[1-2]。国家综合癌症网络 (national comprehensive cancer network, NCCN) 指南中指出局部区域晚期疾病需要基于抗肿瘤药物的同步放、化疗^[3]。因此,深入探究鼻咽癌的发病机制以及研究如何逆转耐药从而提高鼻咽癌的治疗效果对于开发特异性治疗靶点、提高治疗效果、改善患者预后具有重要意义。

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是在真核生物中发现的长度大于 200 nt、不参与编码蛋白但具有基因表达调控功能的一类非编码 RNA^[4]。lncRNA 在表观遗传学、转录及转录后等水平调控基因的表达,参与肿瘤的发生发展、浸润与转移等病理过程。研究表明 lncRNA 还可通过操纵肿瘤耐药相关基因、调节相关信号通路等多种机制,来改变肿瘤细胞对化疗药物的敏感度、调控肿瘤耐药的发生和发展^[5]。长链非编码 RNA 转录产物 1 (long non-coding RNA Prostate cancer associated transcript-1, lncRNA PCAT-1) 是近年来对前列腺癌进行转录组测序分析发现的 RNA 序列,与肿瘤大小、淋巴转移、远处转移 (TNM 分期) 及预后不良等临床病理特征密切相关^[6],且与恶性肿瘤的化疗抵抗关系密切^[7]。通过检索 TCGA 数据库,我们发现在头颈部鳞癌组织中 lncRNA PCAT-1 的表达量明显高于正常组织,且差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),但 lncRNA PCAT-1 对鼻咽癌细胞生物学行为及化疗敏感性的影响尚未有研究报道,值得进一步探索。

1 材料与方法

2021 年 11 月 1 日至 2023 年 11 月 1 日期间,在宁德师范学院附属宁德市医院进行了 lncRNA PCAT-1 在鼻咽癌中的作用及其对化疗敏感性的影响的相关研究。该研究符合科技计划管理办法及相关伦理规范,经过医院伦理委员会审核并通过 (审批号:20211004)。

1.1 一般资料

1.1.1 细胞株培养

培养 2 株鼻咽癌细胞 C666-1、HK-1 和人鼻咽正常上皮细胞 NP69,三株细胞均购于福建载体生物有限公司,培养条件均为 RPMI-1640+10% FBS+1% P/S。

1.1.2 实时定量 PCR (real-time quantitative PCR, RT-qPCR)

收集细胞,Trizol 法萃取 RNA,测定 RNA 浓度后逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板,GAPDH 为内参,实时定量 PCR (Real-time quantitative PCR, RT-qPCR) 扩增目的基因;每组重复 3 次, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析基因的相对表达量。引物序列,表 1。

表 1 用于 RT-qPCR 检测的引物

Table 1 Primers used for RT-qPCR

引物	序列 (5'-3')
PCAT-1-Forward	TCCAATTCTTCTCCACGACAAC
PCAT-1-Reverse	CAGGTGAATATGGCGGATGAG
GAPDH-Forward	CACCCACTCCTCCACCTTGA
GAPDH-Reverse	TCTCTCTCTCTTGTGCTCTTGC

1.1.3 细胞转染

取对数生长期 HK-1 细胞稀释后铺于 12 孔板,细胞密度为 70% 时,每孔加入 2 mL 无血清 DMEM 培养基,根据 Lipofectarnine™ 2000 说明书 (Invitrogen 公司,美国) 转染细胞,转染 12 h 后换液,转染 48 h 后 RT-qPCR 检测 lncRNA PCAT-1 表达,验证转染效率。

1.2 测定项目

1.2.1 细胞增殖测定

收集细胞,调整细胞悬液浓度 1×10^4 /mL,每孔 100 μ L 接种至 96 孔板中,分别于转染 0、24、48 h 后,取出 96 孔板,换新鲜培养基,每孔中加入 CCK-8 溶液 10 μ L,继续培养 4 h;酶标仪上测定各孔在 450 nm 处吸光度 OD 值;重复以上实验三次,计算不同处理组细胞增殖情况的差异。

1.2.2 细胞迁移测定

胰酶消化转染后的 HK-1 细胞,弃培养液,无血清培养基重悬,调整细胞浓度至 1×10^5 个/mL。取细胞悬液加入 Transwell 小室上表面,下室加入含 20% FBS 培养基,37 $^{\circ}$ C 培养 24 h 后 4% 多聚甲醛固定,0.1% 结晶紫染色,显微镜下随机选取视野拍照,

观察细胞并计数。

1.2.3 细胞侵袭测定

1×10^5 个/mL 细胞接种于基质胶包裹的 Transwell 上室,下室加入含 20% FBS 的培养基,37 °C 培养 24 h,棉签擦去上室细胞,继续培养 24 h,4%多聚甲醛固定,0.1%结晶紫染色,显微镜下随机选取视野拍照,观察细胞并计数。

1.2.4 细胞凋亡测定

胰酶消化并收集细胞,1× Annexin-binding buffer 重悬,调整细胞浓度为 1×10^6 个细胞/mL,将细胞悬液加入 5 mL 流式管内,加入标记有 FITC 的 Annexin V,混匀后加入 PI,混匀置冰浴暗处孵育 15 min 后加入缓冲液,流式细胞仪检测分析。

1.2.5 蛋白免疫印迹(westblot blot, WB)

收集细胞,蛋白裂解液裂解,高速冷冻离心,收集蛋白质样品,BCA 法测定蛋白浓度,稀释至同一浓度后加入 loading buffer,98 °C 水浴变性 5 min;上样,SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,封闭,一抗 4 °C 孵育过夜,TBST 洗膜 3 次,二抗孵育 2 h,TBST 洗膜 3 次,凝胶成像仪中自动曝光,分析蛋白表达水平。

1.2.6 细胞半数抑制率(median inhibition concentration, IC50)测定

将处于对数生长期的各组细胞胰酶消化,完全培养基重悬,调整细胞悬液浓度,待细胞贴壁后加入不同浓度的 5-氟尿嘧啶(5-FU)和顺铂(DDP),37 °C 共培养 72 h。胰酶消化,调整细胞浓度 1×10^4 /mL,每组 3 个复孔。37 °C 孵育 24 h,加入 10% 的 CCK-8,培养 1 h 后于 450 nm 测 OD 值。细胞活

性率 = $[(OD \text{ 实验孔} - OD \text{ 空白孔}) / (OD \text{ 对照孔} - OD \text{ 空白孔})] \times 100\%$,抑制率 = $100\% - \text{各组别细胞活性率}$,IC50 通过 SPSS 分析得出。

1.2.7 细胞克隆测定

细胞培养基中加入 5-FU 和 DDP 共培养 72 h,胰酶消化,按 800 个细胞/孔接种到含 10%FBS 的完全培养基 6 孔板培养板,摇匀后置于培养箱中培养,每隔 3 天进行换液并观察细胞状态,显微镜下观察克隆大小;待孔中大多数单个克隆中细胞数大于 50 为止,弃上清,PBS 洗涤细胞后每孔加入 4%多聚甲醛 4 °C 固定 60 min,0.1%结晶紫染色,数码相机拍照整,克隆计数。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,计数资料比较采用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 LncRNA PCAT-1 在鼻咽癌细胞中的表达

通过检索 TCGA 数据库,我们发现在头颈部鳞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)组织中 LncRNA PCAT-1 的表达量高于正常组织,且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。RT-qPCR 检测结果表明与人正常鼻咽上皮细胞 NP69 相比,鼻咽癌细胞株 C666-1、HK-1 中 LncRNA PCAT-1 表达量显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。我们选择表达量更高的 HK-1 细胞进行后续研究(图 1)。

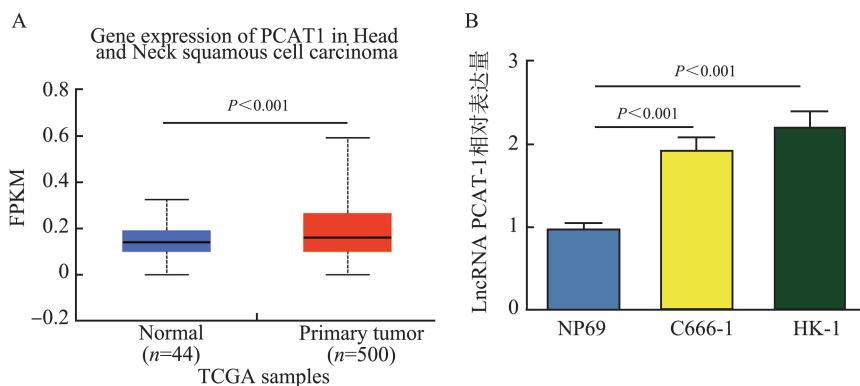


图 1 LncRNA PCAT-1 在头颈部鳞癌及鼻咽癌组织中表达上调

A: 头颈部鳞状细胞癌中 LncRNA PCAT-1 的表达上调; B: 鼻咽癌细胞系较正常鼻咽上皮细胞 LncRNA PCAT-1 的表达上调

Figure 1 Upregulated lncRNA PCAT-1 expression in HSNCC and NPC tissues

A: Upregulated lncRNA PCAT-1 expression in HSNCC; B: Upregulated lncRNA PCAT-1 expression in NPC lines compared to normal nasopharyngeal epithelial cells

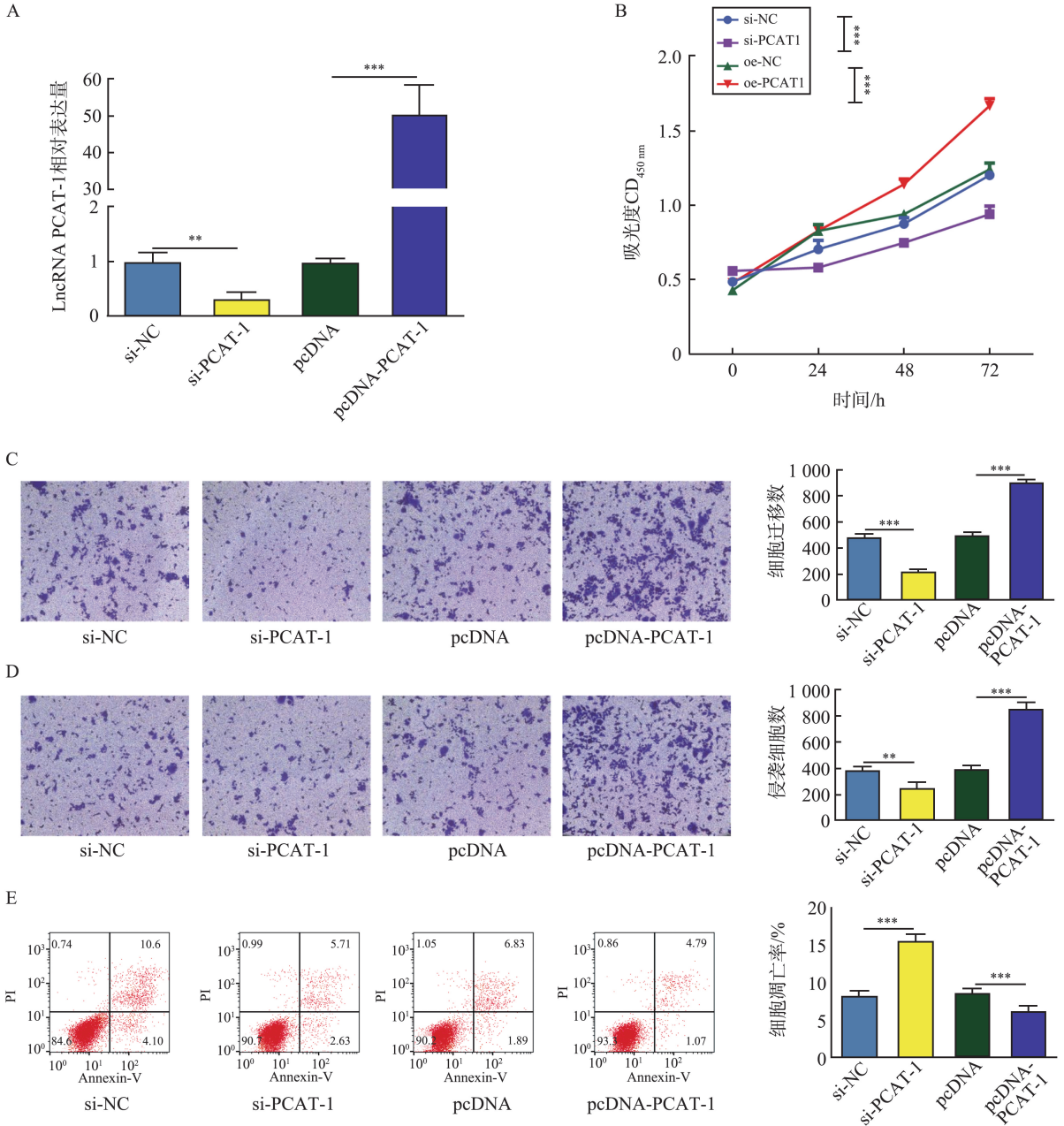
2.2 干扰/过表达 LncRNA PCAT-1 对 HK-1 细胞生物学行为影响

RT-qPCR 结果显示,过表达 LncRNA PCAT-1 后,HK-1 细胞 LncRNA PCAT-1 表达量显著升高;干扰 LncRNA PCAT-1 后,LncRNA PCAT-1 表达量

显著降低,表明 LncRNA PCAT-1 干扰/过表达转染 HK-1 细胞成功(图 2A)。细胞增殖实验结果显示,过表达 LncRNA PCAT-1 后 HK-1 细胞增殖能力显著增强,而干扰 LncRNA PCAT-1 后则显著降低(图 2B);细胞迁移与侵袭实验结果表明过表达

LncRNA PCAT-1 后HK-1 细胞迁移、侵袭能力显著增强,而干扰 LncRNA PCAT-1 后则显著降低(图 2C、D)。流式细胞术结果表明过表达 LncRNA

PCAT-1 后 HK-1 细胞凋亡减少,而干扰 LncRNA PCAT-1 后细胞凋亡增加,差异均有统计学意义(图 2E)。



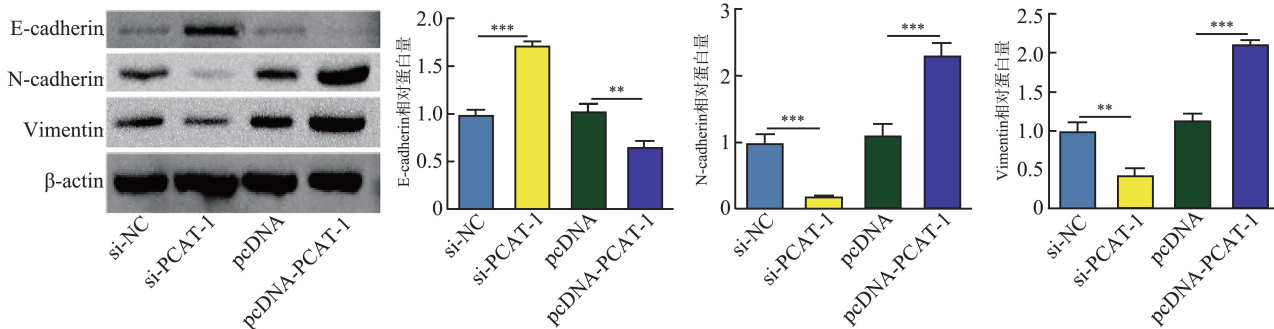
si-NC:干扰对照组;si-PCAT-1:干扰 LncRNA PCAT-1 组;pcDNA:过表达对照组;pcDNA-PCAT-1:过表达 LncRNA PCAT-1 组; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

图 2 过表达 LncRNA PCAT-1 后 HK-1 细胞增殖、迁移、侵袭增强,凋亡减少;干扰 LncRNA PCAT-1 后则与之相反
 A:RT-qPCR 检测 HK-1 细胞 LncRNA PCAT-1 转染效率; B:CCK8 检测干扰/过表达 LncRNA PCAT-1 后 HK-1 细胞增殖能力; C:transwell 检测干扰/过表达 LncRNA PCAT-1 后 HK-1 细胞迁移能力; D:transwell 检测干扰/过表达 LncRNA PCAT-1 后 HK-1 细胞侵袭能力; E:流式细胞术检测干扰/过表达 LncRNA PCAT-1 后 HK-1 细胞凋亡

Figure 2 Enhanced proliferation, migration, and invasion and reduced apoptosis in HK-1 cells following LncRNA PCAT-1 Overexpression; Opposite Effects Observed Upon LncRNA PCAT-1 Interference
 A: Transfection efficacy of LncRNA PCAT-1 in HK-1 cells detected by RT-qPCR; B: Proliferation capacity of HK-1 cells after LncRNA PCAT-1 interference/overexpression detected by CCK8 assay; C: Migration capacity of HK-1 cells after LncRNA PCAT-1 interference/overexpression detected by Transwell assay; D: Invasion capacity of HK-1 cells after LncRNA PCAT-1 interference/overexpression detected by Transwell assay; E: Apoptosis of HK-1 cells after LncRNA PCAT-1 interference /overexpression detected by flow cytometry

2.3 干扰/过表达 LncRNA PCAT-1 对 HK-1 细胞上皮-间质转化 (Epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的影响

为研究 LncRNA PCAT-1 是否通过 EMT 途径影响鼻咽癌细胞生物学行为,我们运用 WB 检测了 HK-1 细胞 EMT 通路的三个关键蛋白。结果表明



干扰 LncRNA PCAT-1 后 E-cadherin 蛋白表达量显著升高, vimentin 和 N-cadherin 蛋白表达水平显著降低;而过表达 LncRNA PCAT-1 后 E-cadherin 蛋白表达量显著降低, vimentin 和 N-cadherin 蛋白表达水平显著升高,差异均有统计学意义。见图 3。

si-NC:干扰对照组;si-PCAT-1:干扰 LncRNA PCAT-1 组;pcDNA:过表达对照组;pcDNA-PCAT-1:过表达 LncRNA PCAT-1 组; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 3 WB 检测干扰/过表达 LncRNA PCAT-1 后 EMT 通路关键蛋白(E-cadherin,N-cadherin 和 vimentin)表达
A: WB 检测干扰/过表达 LncRNA PCAT-1 后 E-cadherin,N-cadherin 和 vimentin 表达量; B: E-cadherin 在不同组的相对表达量; C: N-cadherin 在不同组的相对表达量; D: vimentin 在不同组的相对表达量

Figure 3 WB detect the expression of key proteins in the EMT pathway (E-cadherin, N-cadherin and vimentin) after interference / overexpression of LncRNA PCAT-1

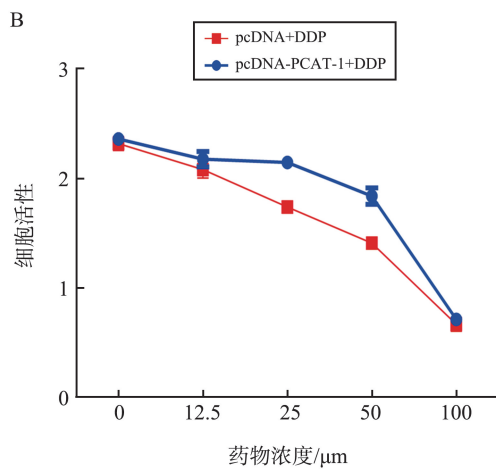
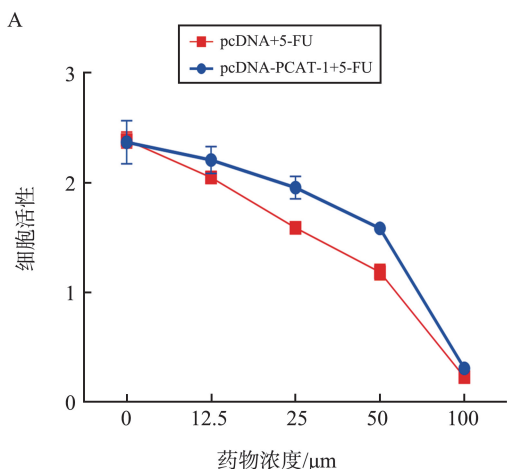
A: WB detect the expression of E-cadherin, vimentin, and N-cadherin protein; B: Relative. expressions of E-cadherin protein in different groups; C: Relative. expressions of N-cadherin protein in different groups; D: Relative. expressions of vimentin protein in different groups

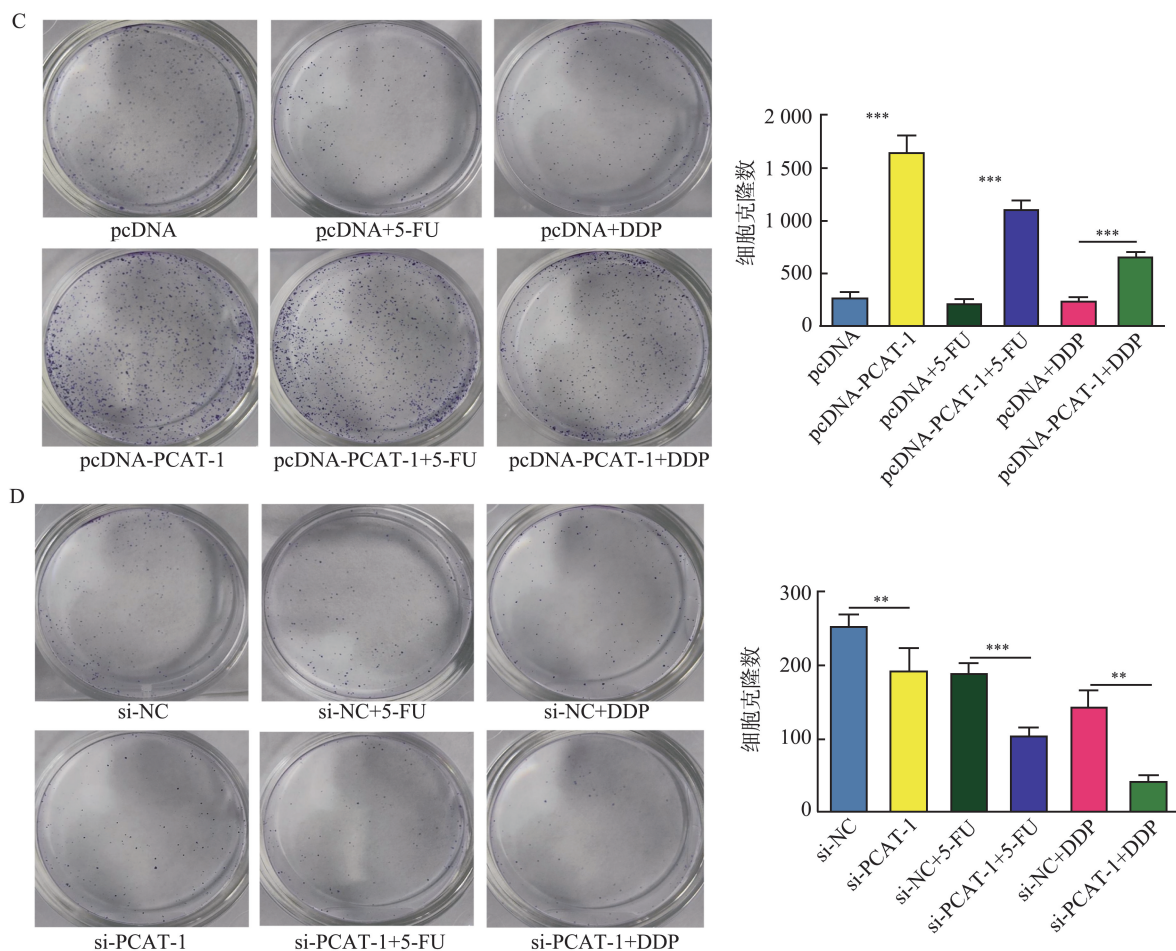
2.4 干扰/过表达 LncRNA PCAT-1 对化疗敏感性的影响

为探讨 LncRNA PCAT-1 表达量高低是否影响化疗敏感性,我们通过细胞增殖实验测定化疗药物 5-FU 和 DDP 的 IC_{50} 。结果表明,过表达 LncRNA PCAT-1 后,5-FU 的 IC_{50} 为 $54.159 \mu M$, DDP 的 IC_{50} 为 $75.726 \mu M$,而对照组分别为 $38.790 \mu M$ 及 $58.561 \mu M$ (图 4A、4B)。

pcDNA+DDP 组和 si-NC+5-FU 组、si-NC+DDP 组细胞克隆数较对照组显著降低,表明 5-FU 和 DDP 对 HK-1 细胞增殖具有抑制作用。过表达 LncRNA PCAT-1 后,pcDNA-PCAT-1+5-FU 组、pcDNA-PCAT-1+DDP 组细胞克隆数较对照组明显增加;干扰 LncRNA PCAT-1 后,si-PCAT-1+5-FU 组、si-PCAT-1+DDP 组细胞克隆数较对照组显著降低(图 4C、4D),差异均有统计学意义。

克隆形成实验结果表明,pcDNA+5-FU 组、





5-FU:5-氟尿嘧啶;DDP:顺铂;si-NC:干扰对照组;si-PCAT-1:干扰 LncRNA PCAT-1 组;pcDNA:过表达对照组;pcDNA-PCAT-1:过表达 LncRNA PCAT-1 组; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 4 LncRNA PCAT-1 对化疗敏感性的影响

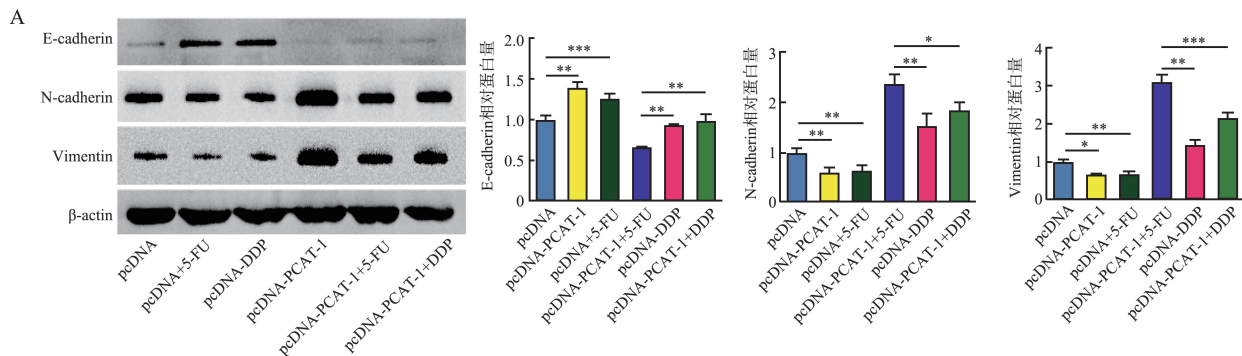
A:不同浓度的 5-FU 对 HK-1 细胞活性的影响; B:不同浓度的 DDP 对 HK-1 细胞活性的影响; C:平板克隆实验检测过表达 LncRNA PCAT-1 后,5-FU 和 DDP 增加细胞克隆数; D:平板克隆实验检测干扰 LncRNA PCAT-1 后,5-FU 和 DDP 减少细胞克隆数

Figure 4 Effect of LncRNA PCAT-1 on chemotherapy sensitivity

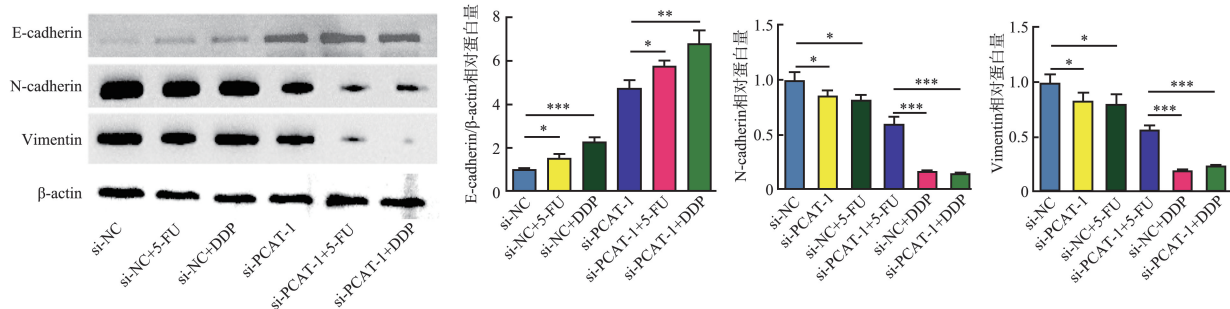
A: Effect of different concentrations of 5-FU on the activity of HK-1 cells; B: Effect of different concentrations of DDP on the activity of HK-1 cells; C: overexpression of LncRNA PCAT-1 increased the number of cell clones significantly; D: Interference of LncRNA PCAT-1 decreased the number of cell clones significantly

检测 EMT 通路关键蛋白显示,较 pcDNA 和 si-NC 组,pcDNA+5-FU 组、pcDNA+DDP 组和 si-NC+5-FU 组、si-NC+DDP 组,E-cadherin 蛋白表达量均显著升高,而 vimentin 和 N-cadherin 蛋白表达水平均显著降低。过表达 LncRNA PCAT-1 后,pcDNA-

PCAT-1+5-FU 组、pcDNA-PCAT-1+DDP 组较对照组 E-cadherin 蛋白表达量均显著降低,而 vimentin 和 N-cadherin 蛋白表达水平均显著升高;干扰 LncRNA PCAT-1 后,EMT 通路关键蛋白则呈现相反的结果。见图 5。



B



5-FU; 5-氟尿嘧啶; DDP; 顺铂; si-NC; 干扰对照组; si-PCAT-1; 干扰 LncRNA PCAT-1 组; pcDNA; 过表达对照组; pcDNA-PCAT-1; 过表达 LncRNA PCAT-1 组; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 5 WB 检测 LncRNA PCAT-1 对化疗后 EMT 通路关键蛋白表达量的影响

A: 过表达 LncRNA PCAT-1 后, 5-FU 和 DDP 对 EMT 通路关键蛋白表达量的影响; B: 干扰 LncRNA PCAT-1 后, 5-FU 和 DDP 对 EMT 通路关键蛋白表达量的影响

Figure 5 Effect of LncRNA PCAT-1 on the expression of Key proteins in the EMT Pathway after chemotherapy by WB

A: Effect of 5-FU and DDP on the expression of key proteins in the EMT pathway after overexpression of LncRNA PCAT-1; B: Effect of 5-FU and DDP on the expression of key proteins in the EMT pathway after interference with LncRNA PCAT-1

3 讨论

化疗是许多上皮肿瘤类型(包括鼻咽癌)的重要治疗选择,常用的基础和经典化疗药物包括 5-Fu 和 DDP^[8-9]。然而,有的患者对基于 5-Fu 或 DDP 的化疗耐药,也有患者在治疗一段时间后会获得耐药性,导致治疗效果有限,5 年生存率低,化疗的有效性降低^[10]。目前临床上可用于预测鼻咽癌化学放射敏感性的有效生物标志物很少,因此迫切需要揭示鼻咽癌化学耐药性的分子机制,以确定更有效的治疗靶点,提高药物敏感性及化疗疗效。近年来,越来越多的证据表明, lncRNA PCAT-1 作为一种致癌基因,在调节肿瘤发展中起重要作用^[11-13],且与肿瘤大小、淋巴转移、远处转移、TNM 分期及预后不良等临床病理特征密切相关。有研究认为 lncRNA PCAT-1 主要作为转录抑制因子^[14]、通过负调节 BRCA2 肿瘤抑制蛋白并正调节 Myc 癌蛋白起作用^[15]。该基因含有 microRNA 的结合位点,通过调节细胞生长途径的 microRNA 海绵,从而影响细胞周期进程和细胞功能。Huang 等^[11]认为 lncRNA PCAT-1 通过干扰 microRNA (miR-3-3667p 和 miR-34a) 对 MYC 的调节来增加 MYC 3'UTR 活性,从而促进鼻咽癌细胞的增殖; Zhang 等^[16]发现 lncRNA PCAT-1 通过抑制 miR-129-5p 的抑制作用,逆转 miR-129-5p 靶基因高迁移基因 BOX1 (HMGB1) 的表达,从而间接调控 HMGB1 促进肝细胞癌的转移和侵袭。本研究中我们同样发现, lncRNA PCAT-1 在鼻咽癌 HK-1 细胞中有高表达,与正常人鼻咽上皮细胞相比差异有显著性。过表达 lncRNA PCAT-1 后 HK-1 细胞的增殖、侵袭、迁移能

力均增强,干扰 lncRNA PCAT-1 后则与之相反。本研究结果与以往报导一致,表明 lncRNA PCAT-1 确实可能通过某种机制促进了鼻咽癌的增殖与侵袭。

EMT 是指分化的上皮细胞失去上皮特征并获得间充质细胞迁移性的生物过程。EMT 的激活是癌症转移进展的标志之一,它触发细胞移动并诱导肿瘤细胞侵袭。在 EMT 激活后,典型特征的上皮细胞停止表达,细胞失去粘附,从而改变其顶基极性并转分化为间充质细胞。在分子机制上,表现为 E-cadherin 下调以及间充质标志物 N-cadherin 和 vimentin 上调^[17]。本实验结果也证实在鼻咽癌中存在这一病理过程,我们发现过表达 lncRNA PCAT-1 后, HK-1 细胞 E-cadherin 表达下调, N-cadherin 和 vimentin 表达上调,同时细胞的增殖、侵袭及迁移增加,凋亡减少;干扰 lncRNA PCAT-1 后则与之相反。因此我们推测 lncRNA PCAT-1 可能通过激活 EMT 途径,促进了鼻咽癌细胞增殖迁移侵袭。

最新研究表明, lncRNA PCAT-1 对化疗敏感性和耐药性方面也起着重要作用。在吉非替尼耐药的肺非小细胞肺癌组织中, lncRNA PCAT-1 高表达引起 AKT 和 GSK3 蛋白磷酸化从而激活 PI3K/Akt 途径调节吉非替尼耐药性^[18]。另一项研究表明 lncRNA PCAT-1 通过增加肺组织 miR-182/miR 217 的表达诱导成纤维细胞分化从而提高 Kras 相关的肺化学抗性^[19], Shen 等^[20]表明 lncRNA PCAT-1 通过 p38 和 JNK MAPK 通路促进骨肉瘤细胞生长和耐药性。我们的研究结果显示过表达 lncRNA PCAT-1 后, pcDNA-PCAT-1+5-FU 组、pcDNA-PCAT-1+DDP 组细胞克隆数较对照组明显增加,提示过表达 lncRNA PCAT-1 降低了 5-FU 和 DDP 对 HK-1 细胞

的抑制效果,导致 HK-1 细胞对 DDP 和 5-FU 的药物敏感性均显著减低,获得化学抵抗;而干扰 LncRNA PCAT-1 则相反,细胞克隆数较对照组明显减少,提示干扰 LncRNA PCAT-1 增加了 5-FU 和 DDP 对 HK-1 细胞的抑制效果。本实验结果与以往研究结果一致,表明在鼻咽癌细胞中 LncRNA PCAT-1 参与了肿瘤细胞的化疗耐药机制,促进了鼻咽癌化疗耐药性的产生。

既往研究表明 EMT 除参与肿瘤的侵袭转移外,与肿瘤细胞耐药性亦密切相关^[21]。Shao 等^[22]报导 miR-139-5p 作为肿瘤抑制因子,可通过调节 EMT 恢复鼻咽癌细胞对顺铂的敏感性,miR-205-5p 通过 PI3K/AKT 信号通路靶向 PTEN 在获得顺铂耐药表型的鼻咽癌细胞中发挥其抑制 EMT 调节功能^[23]。在口腔鳞癌中,miR-485-5p 可通过上调 PAK 1 的表达激活 EMT 的发生,并通过上调 YAP 和 ERCC 1 蛋白的表达导致顺铂耐药的发生^[24]。在人鼻咽癌细胞中 DDP 耐药性的发展伴随着可诱导的 EMT 样变化,使得体外转移潜力增加^[25]。为观察鼻咽癌耐药中 EMT 信号的变化并进一步探究 LncRNA PCAT-1 对鼻咽癌转移和耐药的可能机制,本研究也检测了各药物处理组 EMT 通路的相关蛋白表达,结果显示在 5-FU 和 DDP 处理 pcDNA-PCAT-1 的 HK-1 细胞后,与对照组相比 pcDNA-PCAT-1 + 5-FU 组、pcDNA-PCAT-1 + DDP 组的 E-cadherin 蛋白表达量均显著降低,而 vimentin 和 N-cadherin 蛋白表达水平均显著升高,提示 EMT 通路的抑制被挽回,而干扰组则相反。这一结果表明 5-FU 和 DDP 可通过抑制 EMT 调控 HK-1 的增殖,干扰 LncRNA PCAT-1 可以增强 5-FU 和 DDP 对 EMT 通路的抑制效果,而过表达 LncRNA PCAT-1 后,5-FU 和 DDP 的抑制效果减弱。因此我们合理推测 LncRNA PCAT-1 通过 EMT 通路诱导了鼻咽癌细胞的肿瘤耐药性。

综上,LncRNA PCAT-1 在鼻咽癌细胞中表达升高并激活 EMT,暗示 LncRNA PCAT-1 在鼻咽癌中可通过 EMT 途径调控细胞的生物学功能,同时降低肿瘤细胞对 5-FU 和 DDP 的药物敏感性。但本研究内容尚显粗浅,仅初步探索了 LncRNA PCAT-1 在鼻咽癌增殖、侵袭及耐药中的作用,其具体的信号通路和机制仍不明了,且并未在动物实验中进行验证,后续我们将更进一步探究 LncRNA PCAT-1 在鼻咽癌转移及耐药的可能分子机制,为寻找更多的鼻咽癌的治疗靶点提供实验基础和理论依据。

参考文献:

- [1] Wang YA, Yan QJ, Mo YZ, et al. Splicing factor derived circular RNA circCAMSAP1 accelerates nasopharyngeal carcinoma tumorigenesis via a SERPINH1/c-Myc positive feedback loop[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 62. doi:10.1186/s12943-022-01502-2
- [2] Zhou C, Shen GW, Yang F, et al. Loss of AKR1C1 is a good prognostic factor in advanced NPC cases and increases chemosensitivity to cisplatin in NPC cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(11): 6438-6447. doi:10.1111/jcmm.15291
- [3] Chen YP, Chan ATC, Le QT, et al. Nasopharyngeal carcinoma[J]. *Lancet*, 2019, 394(10192): 64-80. doi:10.1016/s0140-6736(19)30956-0
- [4] Ruiz-Orera J, Messegue X, Subirana JA, et al. Long non-coding RNAs as a source of new peptides[J]. *Elife*, 2014, 3: e03523. doi:10.7554/eLife.03523
- [5] Discrimination negatively impacts minorities' cancer outcomes[J]. *Cancer Discov*, 2023, 13(12): OF3. doi:10.1158/2159-8290.CD-NB2023-0076
- [6] Akhgari H, Shokri N, Dehghanzadeh P, et al. Expression pattern of PCAT1, PCAT2, and PCAT5 lncRNAs and their value as diagnostic biomarkers in patients with gastric cancer[J]. *Pathol Res Pract*, 2023, 248: 154654. doi:10.1016/j.prp.2023.154654
- [7] Domvri K, Petanidis S, Anastakis D, et al. Exosomal lncRNA PCAT-1 promotes Kras-associated chemoresistance via immunosuppressive miR-182/miR-217 signaling and p27/CDK6 regulation[J]. *Oncotarget*, 2020, 11(29): 2847-2862. doi:10.18632/oncotarget.27675
- [8] Chen YP, Chan ATC, Le QT, et al. Nasopharyngeal carcinoma[J]. *Lancet*, 2019, 394(10192): 64-80. doi:10.1016/S0140-6736(19)30956-0
- [9] Yao F, Huang XY, Xie ZF, et al. LINC02418 upregulates EPHA2 by competitively sponging miR-372-3p to promote 5-Fu/DDP chemoresistance in colorectal cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2022, 43(9): 895-907. doi:10.1093/carcin/bgac065
- [10] Zhou DN, Ye CS, Pan ZY, et al. SATB1 knockdown inhibits proliferation and invasion and decreases chemoradiation resistance in nasopharyngeal carcinoma cells by reversing EMT and suppressing MMP-9[J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(1): 42-52. doi:10.7150/ijms.49792
- [11] Huang J, Deng GR, Liu TM, et al. Long noncoding RNA PCAT-1 acts as an oncogene in osteosarcoma by reducing p21 levels[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(4): 2622-2629. doi:10.1016/j.bbrc.2017.12.157

- [12] Cui WC, Wu YF, Qu HM. Up-regulation of long non-coding RNA PCAT-1 correlates with tumor progression and poor prognosis in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(13): 3021-3027
- [13] Shi WH, Wu QQ, Li SQ, et al. Upregulation of the long noncoding RNA PCAT-1 correlates with advanced clinical stage and poor prognosis in esophageal squamous carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(4): 2501-2507. doi:10.1007/s13277-014-2863-3
- [14] Xiong TF, Li JF, Chen FF, et al. PCAT-1: a novel oncogenic long non-coding RNA in human cancers[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(4): 847-856. doi:10.7150/ijbs.30970
- [15] Prensner JR, Chen W, Iyer MK, et al. PCAT-1, a long noncoding RNA, regulates BRCA2 and controls homologous recombination in cancer[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(6): 1651-1660. doi:10.1158/0008-5472.CAN-13-3159
- [16] Zhang DY, Cao JY, Zhong QL, et al. Long noncoding RNA PCAT-1 promotes invasion and metastasis via the miR-129-5p-HMGB1 signaling pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2017, 95: 1187-1193. doi:10.1016/j.biopha.2017.09.045
- [17] Yadav A, Biswas T, Praveen A, et al. Targeting MAL-AT1 augments sensitivity to PARP inhibition by impairing homologous recombination in prostate cancer[J]. *Cancer Res Commun*, 2023, 3(10): 2044-2061. doi:10.1158/2767-9764.CRC-23-0089
- [18] Wang SJ, Liu C, Lei Q, et al. Relationship between long non-coding RNA PCAT-1 expression and gefitinib resistance in non-small-cell lung cancer cells[J]. *Respir Res*, 2021, 22(1): 146. doi:10.1186/s12931-021-01719-7
- [19] Domvri K, Petanidis S, Anestakis D, et al. Exosomal lncRNA PCAT-1 promotes Kras-associated chemoresistance via immunosuppressive miR-182/miR-217 signaling and p27/CDK6 regulation[J]. *Oncotarget*, 2020, 11(29): 2847-2862. doi:10.18632/oncotarget.27675
- [20] Shen XJ, Shen P, Yang Q, et al. Knockdown of long non-coding RNA pcat-1 inhibits myeloma cell growth and drug resistance via p38 and jnk mapk pathways[J]. *J Cancer*, 2019, 10(26): 6502-6510. doi:10.7150/jca.35098
- [21] Guo JW, Jin D, Wu Y, et al. The miR 495-UBE2C-ABCG2/ERCC1 axis reverses cisplatin resistance by downregulating drug resistance genes in cisplatin-resistant non-small cell lung cancer cells[J]. *eBioMedicine*, 2018, 35: 204-221. doi:10.1016/j.ebiom.2018.08.001
- [22] Shao QQ, Zhang P, Ma YY, et al. MicroRNA-139-5p affects cisplatin sensitivity in human nasopharyngeal carcinoma cells by regulating the epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Gene*, 2018, 652: 48-58. doi:10.1016/j.gene.2018.02.003
- [23] Zhang P, Lu XY, Shi ZF, et al. MiR-205-5p regulates epithelial-mesenchymal transition by targeting PTEN via PI3K/AKT signaling pathway in cisplatin-resistant nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Gene*, 2019, 710: 103-113. doi:10.1016/j.gene.2019.05.058
- [24] Lin XJ, He CL, Sun T, et al. Hsa-miR-485-5p reverses epithelial to mesenchymal transition and promotes cisplatin-induced cell death by targeting PAK1 in oral tongue squamous cell carcinoma[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(1): 83-89. doi:10.3892/ijmm.2017.2992
- [25] Zhang P, Liu H, Xia F, et al. Epithelial-mesenchymal transition is necessary for acquired resistance to cisplatin and increases the metastatic potential of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(1): 151-159. doi:10.3892/ijmm.2013.1538

(编辑:李纬)

(上接第 45 页)

- [17] 浦诗磊, 徐宏鸣, 李晓艳. 儿童鼻骨骨折的临床特征分析[J]. *中国眼耳鼻喉科杂志*, 2023, 23(1): 60-63, 72. doi:10.14166/j.issn.1671-2420.2023.01.012
- PU Shilei, XU Hongming, LI Xiaoyan. Clinical characteristics of nasal bone fracture in children[J]. *Chinese Journal of Ophthalmology and Otorhinolaryngology*, 2023, 23(1): 60-63, 72. doi:10.14166/j.issn.1671-2420.2023.01.012

- [18] 危高生, 周颖, 李育广, 等. 高频超声联合鼻内镜引导

下外伤性鼻骨骨折伴鼻中隔骨折同期手术治疗的疗效分析[J]. *中国实用医药*, 2019, 14(33)26-28. doi:10.14163/j.cnki.11-5547/r.2019.33.011

WEI Gaosheng, ZHOU Ying, LI Yuguang, et al. Therapeutic effect of high-frequency ultrasonography combined with simultaneous surgery on endoscopic guided traumatic nasal bone fracture with nasal septal fracture[J]. *China Practical Medical*, 2019, 14(33)26-28. doi:10.14163/j.cnki.11-5547/r.2019.33.011

(编辑:李纬)