

lncRNA SNHG12 与 ELAVL1 相互作用激活 PI3K/AKT 信号通路促进前列腺癌细胞多西他赛的耐药机制

赵 铖, 李 稳, 郑宝寿, 王光明, 肖芝松, 李云鹏

大理大学第一附属医院泌尿外一科, 云南 大理 671000

摘要:目的 探讨 lncRNA SNHG12 对前列腺癌 (PCa) 多西他赛 (DTX) 耐药的影响及潜在机制。方法 使用梯度 DTX 处理 PC-3 细胞获得 DTX 耐药的 PC-3 细胞 (PC-3R), 通过在雄性 BALB/c 裸鼠左背部注射 PC-3R 细胞构建 PCa 荷瘤模型。动物实验分为对照组 (NC), DTX 组, sh-SNHG12 组, DTX+sh-SNHG12 组, 5 只/组。通过 RT-qPCR、Western blotting、免疫荧光、免疫组化检测关键基因和蛋白的表达, 通过 CCK-8、克隆形成以及 Transwell 迁移实验评估细胞的增殖情况, 通过 RIP-qPCR 检测 RNA 与蛋白之间的结合。结果 SNHG12 在 PC-3R 细胞中表达上调 ($P < 0.001$), 敲低 SNHG12 可抑制 PC-3R 细胞的增殖和细胞迁移能力以及裸鼠荷瘤组织生长 ($P < 0.001$), 10 nmol/L DTX 处理对 PC-3R 细胞增殖及迁移没有显著影响, 而在 DTX 处理的基础上敲低 SNHG12 可抑制 PC-3R 细胞增殖、迁移以及裸鼠荷瘤组织的生长 ($P < 0.001$)。在 PC-3R 细胞中 ELAVL1 的表达上调 ($P < 0.001$), PC-3R 细胞及荷瘤组织中 PI3K/AKT 信号通路活化水平也上调, 并且额外 PI3K 激活剂 740 Y-P 处理可削弱敲低 SNHG12 的作用。PC-3R 细胞中的 SNHG12 可与 ELAVL1 结合。机制研究发现, SNHG12 通过与 ELAVL1 结合来激活 PI3K/AKT 信号通路, 进而导致 PCa DTX 耐药。结论 敲低 SNHG12 可以抑制 PCa DTX 耐药, 为 PCa DTX 增敏疗法的开发提供了潜在干预靶点。
关键词: 前列腺癌; 耐药; 多西他赛; lncRNA SNHG12; ELAVL1; PI3K/AKT 信号通路

Overexpression of lncRNA SNHG12 promotes docetaxel resistance of prostate cancer cells by activating PI3K/AKT signaling via interacting with ELAVL1

ZHAO Cheng, LI Wen, ZHENG Baoshou, WANG Guangming, XIAO Zhisong, LI Yunpeng
Department of Urology, First Affiliated Hospital of Dali University, Dali 671000, China

Abstract: Objective To investigate the regulatory role of lncRNA SNHG12 in docetaxel (DTX) resistance of prostate cancer (PCa) cells. **Methods** Tumor-bearing male BALB/c nude mouse models were established by dorsal subcutaneous injection of PC-3 cells or DTX-resistant PC-3 (PC-3R) cells, either with or without transfection with sh-SNHG12 prior to the injection ($n=5$). The expressions of the key genes and proteins in the tumor tissues were detected using RT-qPCR, Western blotting, immunofluorescence staining or immunohistochemistry. The proliferation and migration of the treated cells were evaluated with CCK-8, clone formation and Transwell migration assays. RIP-qPCR technique was used to determine the binding between the RNAs and proteins. **Results** SNHG12 expression was significantly up-regulated in PC-3R cells. SNHG12 knockdown effectively inhibited proliferation and migration of PC-3R cells *in vitro* and suppressed tumor growth in nude mice. While 10 nmol/L DTX treatment alone did not significantly affect proliferation or migration of PC-3R cells, its combination with SNHG12 knockdown strongly inhibited cell proliferation and migration both *in vitro* and in the tumor-bearing mice. The expression of ELAVL1 was obviously up-regulated in PC-3R cells, and increased activation level of PI3K/AKT signaling pathway was detected in both PC-3R cells and the xenografts. The effect of SNHG12 knockdown was significantly weakened by treatment with the PI3K activator 740 Y-P. SNHG12 was found to bind to ELAVL1 in PC-3R cells, and mechanistic studies showed that their binding activated the PI3K/AKT signaling pathway to result in DTX resistance in PCa. **Conclusion** SNHG12 knockdown inhibits DTX resistance of PCa cells by reducing SNHG12 binding to ELAVL1 to inhibit the activation the PI3K/AKT signaling pathway.

Keywords: prostate cancer; drug resistance; docetaxel; lncRNA SNHG12; ELAVL1; PI3K / AKT signaling pathway

前列腺癌 (PCa) 是男性第 2 大常见肿瘤类型, 也是全球癌症死亡相关的第 8 大原因^[1]。尽管目前已经付出了大量努力, 但是 PCa 的预后仍然较差^[2]。对于 PCa 的临床治疗, 前列腺切除术、放疗和化疗是常见的干预策略^[3]。

研究表明, 手术干预和放疗对早期 PCa 治疗有益。雄激素剥夺疗法是晚期 PCa 的标准治疗方法, 但不幸

的是高比例晚期 PCa 患者会出现复发^[4]。基于此, 紫杉醇家族成员多西他赛 (DTX) 的辅助化疗常用于晚期 PCa 的治疗^[5]。然而, 随着时间的推移, PCa 细胞对 DTX 的反应逐渐降低, 导致许多患者在治疗过程中对 DTX 产生耐药性^[6]。因此, 面对 PCa DTX 化疗耐药的困境, 迫切需要对 PCa 的化疗耐药性进行更多的分子机制研究, 并开发新的可能治疗靶点, 以提高 DTX 的治疗效果。

长链非编码 RNA (lncRNA) 是细胞内一种非常重要的 RNA, 被认为是转录、基因表达和蛋白质功能的重要调节分子^[7]。其中, 小核仁宿主基因 12 (SNHG12) 是位于 1 号染色体 p35.3 区域的 lncRNA, 广泛介导癌症增

收稿日期: 2025-06-18

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金 (2023J0887); 大理大学第一附属医院临床医学院学科队伍建设重点项目 (DFYZD2024005)

作者简介: 赵 铖, 在读硕士研究生, E-mail: 3243330487@qq.com

通信作者: 李云鹏, 硕士生导师, E-mail: lyp0872@163.com

殖、转移和侵袭等过程^[8]。既往研究表明,SNHG12在PCa中高表达,这与预后不良以及癌细胞恶性增殖密切相关^[9]。而下调SNHG12则可抑制PCa细胞的增殖、迁移和侵袭^[10]。研究证明SNHG12可用作PCa的预后生物标志物^[11]。值得注意的是,SNHG12的高表达也被证实是非小细胞肺癌紫杉醇耐药的重要诱因^[12]。这些研究说明SNHG12可能在PCa化疗耐药中发挥重要作用。然而,SNHG12是否促进PCa对DTX的耐药尚未可知,本研究将探讨SNHG12在PCa DTX耐药中的具体机制。

RNA结合蛋白ELAVL1,也称人抗原R(HuR),通常与靶基因3'-UTR中的富含AU的元件(ARE)结合来增强RNA稳定性^[13]。大量研究发现,ELAVL1在不同癌症中表达上调,并促进肿瘤的发生和发展,包括胃癌^[14]、肝细胞癌^[15]和肺癌^[16]。在PCa中,ELAVL1也是肿瘤发育的重要调控分子^[17]。此外,高水平ELAVL1还与三阴性乳腺癌DTX化疗耐药相关^[18]。值得注意的是,ELAVL1还可通过与SNHG12结合来调控非小细胞肺癌恶性进展^[19]。然而,SNHG12是否通过与ELAVL1结合来影响PCa DTX耐药性目前尚不清楚。

此外,磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)通路作为细胞内重要的信号通路,其异常活化也与PCa恶性进展有关^[20]。重要的是,PI3K/AKT通路的持续激活也是PCa DTX耐药的重要诱因,而抑制PI3K/AKT活化可增强DTX诱导的细胞凋亡^[21]。此外,PI3K/AKT的活化还受ELAVL1的调控^[16]。但是,目前尚没有报道ELAVL1可以调控PI3K/AKT通路影响PCa DTX耐药的分子机制。因此,我们推测ELAVL1可能通过调控PI3K/AKT信号通路来影响PCa DTX耐药。

基于上述分析,本研究旨在探讨SNHG12与ELAVL1结合能否通过PI3K/AKT信号通路在PCa DTX耐药中发挥作用,以期明确PCa DTX耐药机制提供新参考,并且为PCa DTX化疗耐药新干预靶点的开发奠定基础。

1 材料和方法

1.1 细胞培养、耐药细胞系构建、感染及处理

人前列腺癌细胞PC-3(中国科学院上海细胞库)。根据制造商的使用说明,PC-3细胞在补充有10%胎牛血清(Gibco)和1%青霉素链霉素双抗(Beyotime)的DMEM培养基(Gibco)中进行培养。为了获得DTX抵抗的PC-3细胞(PC-3R),将PC-3细胞暴露于梯度DTX下,使其对DTX产生耐药性^[22]。简单来说,将PC-3细胞分别用浓度为0.1、0.2、0.5、1、5或10 nmol/L剂量的DTX处理细胞,处理周期为30 d,期间持续观察细胞状态,如果细胞出现死亡或生长缓慢的状态,则应适当延迟DTX的处理时间。一旦细胞能在10 nmol/L DTX环

境下稳定生长,则认为PC-3R细胞构建成功。以上所有细胞培养均在37 °C、5% CO₂的标准环境下进行。

在探讨SNHG12以及ELAVL1在PCa DTX耐药影响的研究中,参考既往研究方法^[23]构建敲低SNHG12或ELAVL1的PC-3R细胞。简而言之,将SNHG12敲低(sh-SNHG12)、ELAVL1敲低(sh-ELAVL1)慢病毒(MOI=50, Genepharma)感染PC-3R细胞,24 h后获得敲低SNHG12、ELAVL1的PC-3R细胞,之后通过RT-qPCR检测转染效率。此外,在探讨PI3K/AKT信号通路在PCa DTX耐药的研究中,PI3K激活剂740 Y-P(HY-P0175, MCE)以50 μmol/L的浓度处理PC-3R细胞24 h以激活细胞内PI3K信号。

1.2 动物实验

如前所述建立小鼠PCa荷瘤模型^[24]。20只5~6周龄雄性裸鼠(体质量18~20g,湖南斯莱克景达实验动物有限公司)。所有小鼠在经过1周自适应饲养后,将裸鼠随机分为4个组,5只/组,并按照预先制定的实验方案进行处理:对照组(NC)裸鼠在裸鼠左背部注射100 μL浓度为 5×10^6 /mL的PC-3R细胞悬液;多西他赛(DTX)组裸鼠左背部注射PC-3R细胞(PC-3R细胞注射剂量同对照组)后第3天通过腹腔将10 mg/kg DTX注射到裸鼠体内,7 d/次进行DTX治疗,一共持续25 d;sh-SNHG12组裸鼠则在左背部注射100 μL浓度为 5×10^6 /mL敲低SNHG12的PC-3R细胞;而DTX+sh-SNHG12组裸鼠则在注射敲低SNHG12的PC-3R细胞后给予DTX干预,干预方式同DTX组。细胞注射后7 d/次测量肿瘤体积,肿瘤体积计算公式为 $0.5 \times \text{长} \times \text{宽}^2$ 。所有裸鼠在细胞注射28 d后被安乐死,并分离荷瘤组织用于后续研究。本研究所有动物相关操作均获得大理大学第一附属医院动物伦理委员会的审批(伦理批号:DFY20240701001)。

1.3 CCK-8检测细胞增殖活力

PC-3和PC-3R细胞培养结束后,向各实验孔内添加10 μL CCK-8试剂(Sorlabio)并置于37 °C、5% CO₂环境下继续孵育2 h,孵育结束后使用酶标仪测定各实验孔的吸光度 $A_{450\text{nm}}$ 值。

1.4 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)

通过TRIzol™试剂(Invitrogen)提取PC-3和PC-3R细胞内的总RNA,使用HiScript III第一链cDNA合成试剂盒(Vazyme)将RNA逆转录合成第一链cDNA,然后使用SYBR Green试剂(Vazyme)进行实时荧光定量PCR。实验结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算,引物序列信息详见(表1)。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

1.5 克隆形成实验

将200个PC-3R细胞接种于24孔板内,在37 °C、5% CO₂的常规环境下进行培养。培养过程中,2 d/次更换培养液,并于7 d后弃掉培养基,使用PBS缓冲液洗涤

表1 引物序列信息列表

Tab.1 Primer sequences for RT-qPCR

Genes	Primer (5'-3')
SNHG12	F:ATGAAATGCAGGGGACCTGG
	R:TGTAACATGAATCTTAAAGCACAGC
ELAVL1	F:AACTACGTGACCGCGAAGG
	R:CGCCCAAACCGAGAGAACA
β -actin	F:CATGTACGTTGCTATCCAGGC
	R:CTCCTTAATGTCACGCACGAT

F: Forward primer; R: Reverse primer.

细胞2次,之后用4%多聚甲醛固定细胞30 min,然后使用0.2%结晶紫(Beyotime)染色15 min,拍照并统计克隆形成数量。

1.6 Transwell检测细胞迁移

通过无血清培养基将PC-3R细胞密度调整至 1×10^5 /mL,并取200 μ L细胞悬液接种于Transwell小室中,而24孔板小室则加入200 μ L补充有10%胎牛血清的DMEM培养基。培养24 h后,用4%多聚甲醛固定细胞20 min,并用PBS洗去小室上层未迁移的细胞。之后使用1%结晶紫溶液(Beyotime)染色,并于倒置显微镜下观察细胞,选取3个视野进行计数、拍照。

1.7 Western blotting检测

使用含有1%蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂的RIPA缓冲液(USA)提取PC-3、PC-3R细胞以及裸鼠荷瘤组织中的总蛋白,通过BCA蛋白浓度测定试剂盒(Beyotime)对蛋白浓度进行定量。之后,通过SDS-PAGE分离等量蛋白质并将其转印到PVDF膜(Sigma-Aldrich)上,之后将膜与稀释过的一抗:PI3K(1:1000)、p-PI3K(1:1000)、AKT(1:1000)、p-AKT(1:1000); β -actin(1:1000,abcam)在4 $^{\circ}$ C环境下过夜孵育。然后将膜与相应二抗在室温下处理1 h,用增强型化学发光试剂盒(WBULP, Millipore)进行显色。使用Image J软件对蛋白条带进行半定量分析。

1.8 免疫荧光实验

PC-3和PC-3R细胞培养结束后使用4%多聚甲醛于室温下固定细胞30 min,并用0.1% TritonX透化细胞10 min。然后将细胞与ELAVL1一抗(1:200, abcam)在4 $^{\circ}$ C环境下孵育过夜。之后使用相应荧光二抗在室温下处理2 h,在经过15 min的DAPI(Solarbio)核染处理后,将切片置于荧光显微镜下拍照并统计相对荧光强度,以相对荧光强度来表征蛋白表达水平。

1.9 RNA免疫沉淀(RIP)实验

使用BeyoRIP™ RIP试剂盒(Beyotime)进行实验。简单来说,将ELAVL1(1:50, abcam)与A/G磁珠耦联,然后与PC-3细胞裂解液在4 $^{\circ}$ C环境下过夜孵育,在经过沉淀和洗涤后提取RNA,然后进行RT-qPCR。

1.10 免疫组化实验

将裸鼠荷瘤组织包埋在石蜡中,并从组织蜡块上切取5 μ m的切片。之后将切片用柠檬酸钠缓冲液进行抗原修复,并与Ki67(1:100, abcam)一抗在4 $^{\circ}$ C环境下过夜孵育,然后将切片与相应二抗在室温下孵育2 h。之后用DAB染色液(Solarbio)孵育10 min及苏木素复染核,并在荧光显微镜下观察、拍照。

1.11 统计学分析

所有实验数据均以均数 \pm 标准差表示。使用GraphPad Prism 8.1软件对实验数据进行统计分析。*t*检验用于比较两组之间的数据,而单因素方差分析(ANOVA)用于比较多组之间的数据,并用Tukey事后检验进行多重比较。 $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 多西他赛耐药细胞的构建以及SNHG12的表达鉴定

CCK-8实验结果显示,PC-3细胞 IC_{50} 值为4.237,PC-3R细胞 IC_{50} 值为70.09,其耐药性是PC-3细胞的16.54倍(图1A),表明PC-3R细胞构建成功。PC-3R细胞中SNHG12的表达水平高于PC-3细胞($P < 0.001$,图1B)。

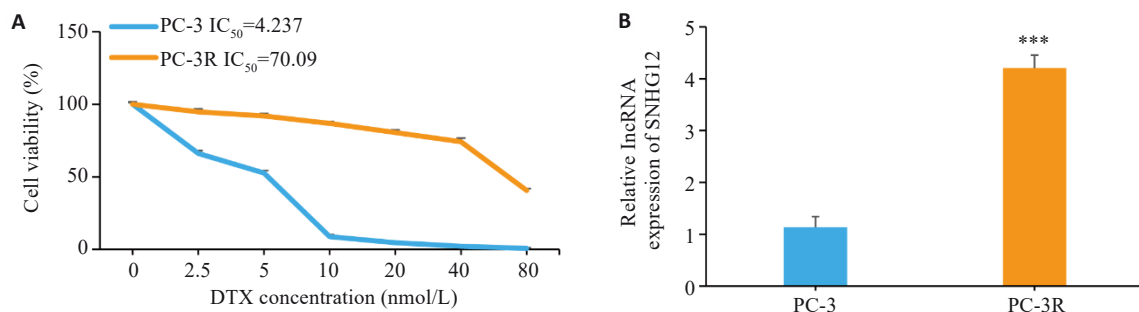


图1 多西他赛耐药细胞的构建以及SNHG12的表达鉴定

Fig.1 Construction of docetaxel-resistant PC-3 cells and identification of SNHG12 expression. A: CCK-8 assay for detecting cell viability. B: RT-qPCR for detecting expression of SNHG12 in PC-3 and PC-3R cells. $n=3$, *** $P < 0.001$ vs PC-3 group.

2.2 敲低SNHG12抑制前列腺癌细胞的多西他赛耐药

RT-qPCR结果显示,SNHG12在sh-SNHG12组中的表达低于对照组($P<0.001, P<0.01$),并且sh-SNHG12#1的敲降效果更好($P<0.001$,图2A),表明敲低SNHG12的PC-3R细胞构建成功。本研究10 nmol/L DTX对细胞PC-3R细胞增殖活力没有影响,而敲低SNHG12可抑制PC-3R细胞增殖活力($P<0.001$);与DTX组相比,敲低SNHG12后PC-3R细胞增殖活力下调($P<0.001$,图2B)。克隆形成实验结果显示,10 nmol/L DTX处理未改变PC-3R细胞克隆形成能力,而敲低SNHG12抑制了PC-3R细胞的克隆形成能力($P<0.001$),在DTX处理组

细胞中敲低SNHG12进一步下调克隆形成能力($P<0.001$,图2C)。在10 nmol/L DTX处理的PC-3R细胞中敲低SNHG12还使细胞迁移能力下调($P<0.001$,图2D)。

2.3 敲低SNHG12通过PI3K/AKT信号通路抑制前列腺癌细胞的多西他赛耐药

Western blotting结果显示,PC-3R细胞中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的表达高于PC-3细胞($P<0.001$,图3A)。PI3K激活剂740 Y-P处理能削弱DTX和敲低SNHG12联合干预带来的积极作用,使PC-3R细胞增殖活力($P<0.001$,图3B)、克隆形成能力($P<0.01$,图3C)、迁移能力($P<0.001$,图3D)部分上调。

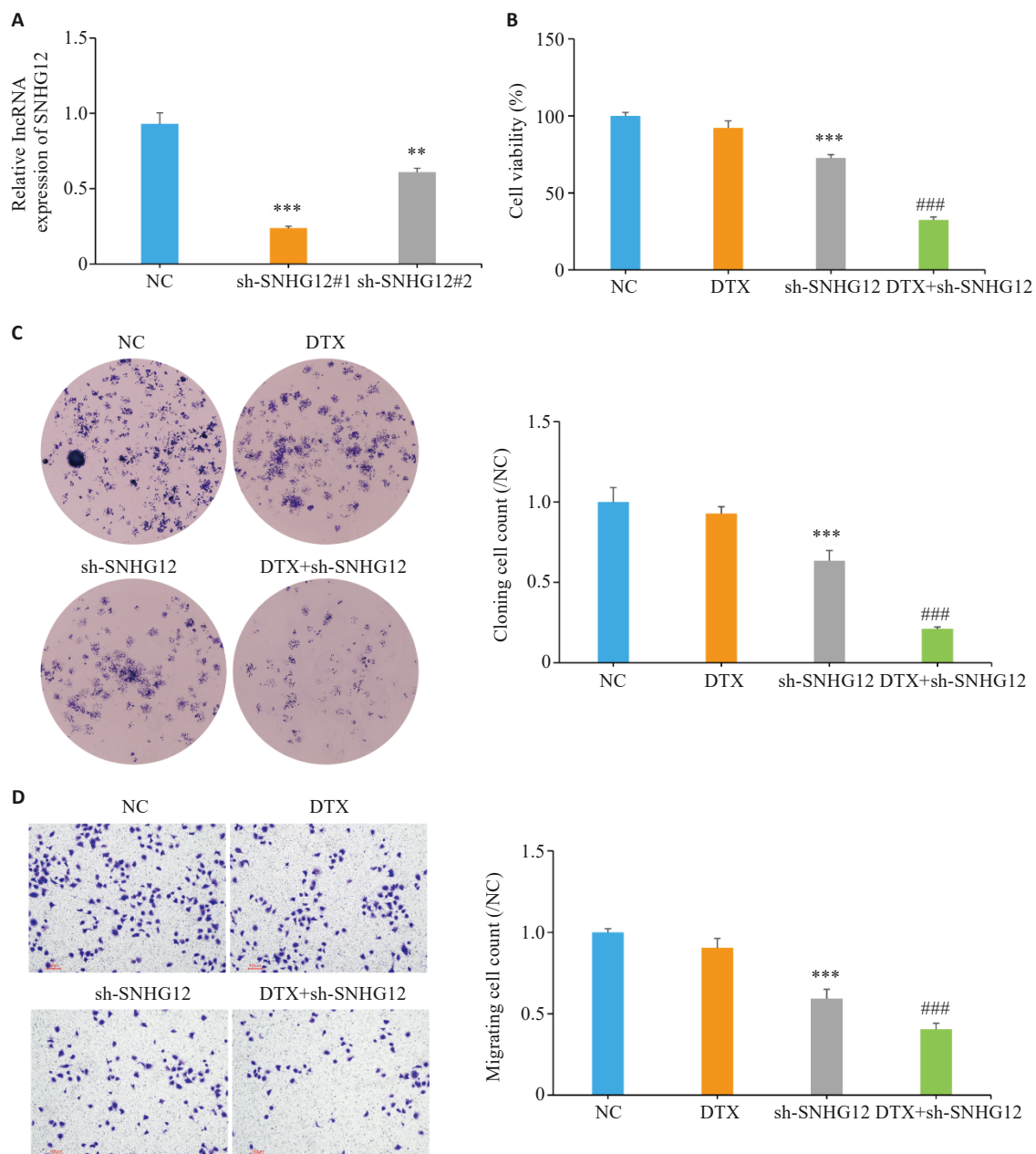


图2 敲低SNHG12抑制前列腺癌细胞的多西他赛耐药

Fig.2 Knockdown of SNHG12 inhibits docetaxel resistance in prostate cancer cells. **A:** Transfection efficiency of sh-SNHG12 detected by RT-qPCR. **B:** CCK-8 assay for assessing cell viability. **C:** Clone formation assay for assessing cell clone formation ability. **D:** Transwell assay for assessing cell migration ability (Scale bar=100 μ m). $n=3$, ** $P<0.001$, *** $P<0.001$ vs NC group; ### $P<0.001$ vs DTX group.

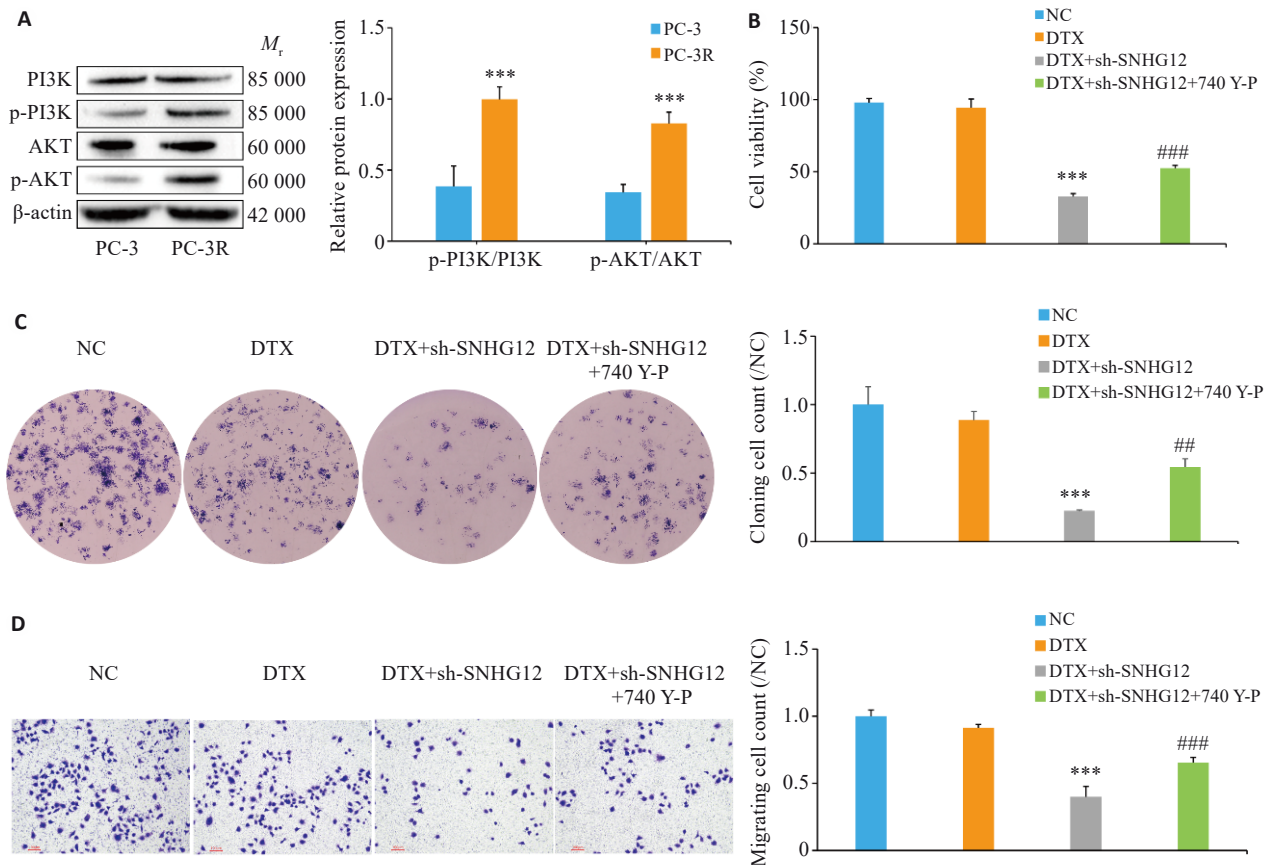


图3 敲低SNHG12通过PI3K/AKT信号通路抑制前列腺癌细胞的多西他赛耐药

Fig. 3 Knockdown of SNHG12 inhibits docetaxel resistance in prostate cancer cells through the PI3K/AKT signaling pathway. A: Western blotting for detecting expressions of p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT in PC-3 and PC-3R cells. B: CCK-8 assay for assessing viability of PC-3R cells. C: Clone formation assay for assessing clone formation ability of PC-3R cells. D: Transwell assay for assessing migration ability of PC-3R cells (Scale bar=100 μ m). $n=3$, *** $P<0.001$ vs PC-3 group/DTX group; ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs DTX+sh-SNHG12 group.

2.4 SNHG12与ELAVL1相互作用激活PI3K/AKT信号通路

通过免疫荧光检测ELAVL1的表达,发现PC-3R细胞中ELAVL1的表达水平高于PC-3细胞($P<0.001$,图4A)。RIP-qPCR结果显示,ELAVL1与SNHG12结合($P<0.001$,图4B)。在PC-3R细胞中敲低了ELAVL1的表达,RT-qPCR结果显示,sh-ELAVL1组ELAVL1的表达低于对照组($P<0.01$, $P<0.001$),并且sh-ELAVL1#2的敲降效果更好($P<0.001$,图4C),表明敲低ELAVL1的PC-3R细胞构建成功。敲低SNHG12或ELAVL1后PC-3R细胞中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的表达下调($P<0.01$, $P<0.001$,图4D)。

2.5 敲低SNHG12抑制前列腺癌多西他赛耐药

单独DTX或敲低SNHG12处理均可抑制荷瘤组织生长($P<0.001$),而在DTX处理的基础上敲低SNHG12可进一步抑制荷瘤组织生长($P<0.001$,图5A~C)。免疫组化结果显示,DTX或SNHG12敲低抑制荷瘤组织中Ki67的表达($P<0.001$);与DTX组相比,在敲低SNHG12后Ki67的表达被进一步下调($P<0.001$,图5D)。此外,

DTX处理或SNHG12敲低还下调了荷瘤组织中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的表达($P<0.05$, $P<0.001$),而在DTX暴露的条件下额外敲低SNHG12可使p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的表达进一步下调($P<0.001$,图5E)。

3 讨论

PCa是全球常见的男性恶性肿瘤,严重影响了男性群体的生命安全^[1]。目前,DTX的辅助化疗一直是晚期PCa患者临床治疗的标准措施,但是DTX的获得性耐药往往导致不良结局的发生^[6]。在本研究中,我们揭示了SNHG12通过与ELAVL1结合来激活PI3K/AKT信号通路进而导致PCa DTX耐药的关键机制,强调了SNHG12用于改善PCa DTX耐药的强大潜力。

越来越多的证据表明,SNHG12在肿瘤恶性进展过程中起关键作用。例如,Sun等^[25]的研究表明,高水平SNHG12与卵巢癌预后不良相关,抑制其表达可抑制癌细胞的增殖和迁移。在Wang等^[26]的研究中,高水平SNHG12促进了结直肠癌细胞的增殖,抑制了细胞凋亡。在PCa中,SNHG12也与预后不良以及癌细胞的恶性增殖、转移密切相关^[9]。此外,既往研究证实高水平

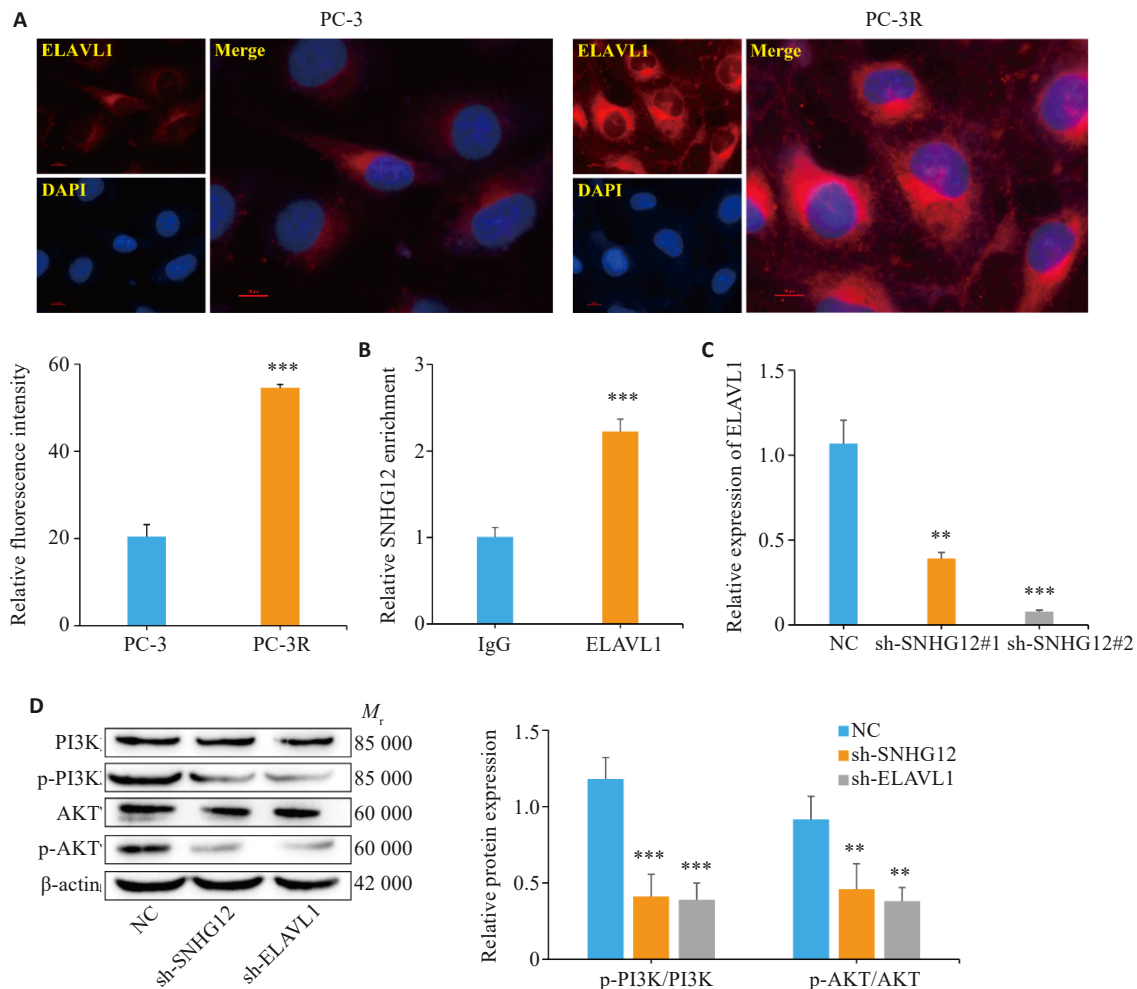


图4 SNHG12与ELAVL1相互作用激活PI3K/AKT信号通路

Fig.4 SNHG12 interacts with ELAVL1 to activate the PI3K/AKT signaling pathway. A: Immunofluorescence staining for detecting ELAVL1 expression in PC-3 and PC-3R cells (Scale bar=10 μm). B: RIP-qPCR for detecting enrichment level of SNHG12 on ELAVL1 in PC-3 and PC-3R cells. C: RT-qPCR for detecting transfection efficiency of sh-ELAVL1. D: Western blotting for detecting expressions of p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT in PC-3R cells. n=3, **P<0.01, ***P<0.001 vs PC-3 group/IgG group/NC group.

SNHG12也是非小细胞肺癌紫杉醇耐药的重要诱因^[12]。与前人研究结果相似,我们发现SNHG12在PC-3R细胞中的表达上调。此外,DTX处理对PC-3R细胞增殖及迁移没有显著影响,敲低SNHG12可显著抑制PC-3R细胞增殖、迁移,但在DTX干预的基础上敲低SNHG12可进一步抑制PC-3R细胞的增殖和迁移。然而,DTX可显著抑制裸鼠荷瘤组织生长,且在DTX处理的基础上敲低SNHG12后荷瘤组织的生长被进一步抑制。上述结果表明DTX对PC-3R在体内和体外生长的影响具有异质性,我们推测这可能是由于动物体内环境复杂以及DTX暴露时间差异,导致了PC-3R细胞对DTX敏感度的变化。我们的研究表明,SNHG12的高表达导致了PCa的DTX耐药。

既往研究表明,作为细胞内重要的信号通路,PI3K/AKT通路除了介导癌细胞增殖、自噬、凋亡等过程外,也是调控肿瘤化疗耐药的重要调控通路^[27]。Li等^[28]的研究表明,PI3K/AKT信号通路的持续激活可诱导骨肉

瘤细胞对顺铂产生耐药性。Okuno等^[29]的研究指出,抑制PI3K/AKT信号传导可克服胰腺导管腺癌的吉西他滨耐药。此外,在Yin等^[30]的研究中,PI3K/AKT信号通路的激活可以促进Pca中的DTX耐药性。与前人研究结果一致,我们发现PC-3R细胞中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的表达也显著上调。重要的是,Li^[31]的研究表明PI3K/AKT信号通路活化还受SNHG12的调控。因此,我们也探讨了SNHG12是否通过PI3K/AKT信号通路来影响Pca DTX耐药。我们发现在PC-3R细胞中补充PI3K激活剂740 Y-P处理可部分削弱DTX和敲低SNHG12联合干预带来的积极作用,使细胞增殖活力、克隆形成能力及迁移能力上调。尽管前人研究已经证实抑制PI3K/AKT通路活化对改善Pca DTX耐药有益^[21],但我们的研究强调了敲低SNHG12通过抑制PI3K/AKT通路激活来削弱Pca DTX抗性的关键作用。

此外,既往研究表明SNHG12可通过与ELAVL1结合来调控下游基因的表达^[19]。值得注意的是,在Pca

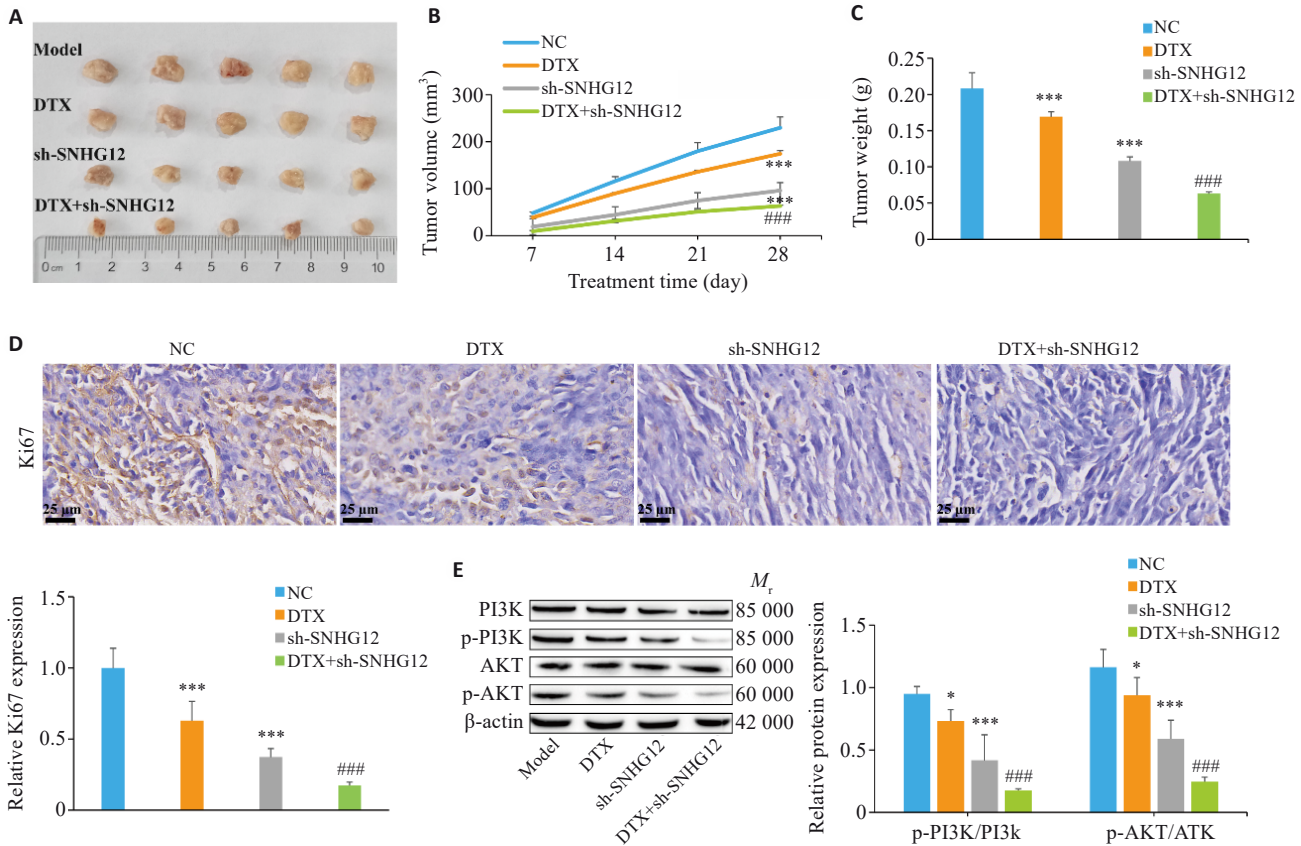


图5 敲低SNHG12抑制前列腺癌多西他赛耐药

Fig.5 Knockdown of SNHG12 inhibits docetaxel resistance in prostate cancer. A: Gross observation of the dissected tumors from the nude mouse models. B: Tumor volume changes in each group. C: Tumor weight changes in each group. D: Immunohistochemical detection of Ki67 expression in the tumor tissues in each group (Scale bar=25 μm). E: Western blotting for detecting expressions of p-PI3K/PI3K and p-AKT/ATK in the tumor tissues. n=5, *P<0.05, ***P<0.001 vs NC group; ###P<0.001 vs DTX group.

中ELAVL1被证实可作为癌基因促进肿瘤恶性进展^[17]。Cai等^[32]的研究表明,ELAVL1高表达也是导致PCa免疫治疗效果不佳的重要原因。Wei等^[33]的研究指出,高水平ELAVL1还抑制了PCa细胞凋亡,而抑制其表达可诱导癌细胞的凋亡和铁死亡。与前人研究结果相似,我们发现在PC-3R细胞中ELAVL1表达上调。此外,在三阴性乳腺癌中,ELAVL1也与癌细胞DTX耐药有关,抑制ELAVL1可增强DTX诱导的细胞凋亡^[18]。因此,我们也探讨了在PCa中是否存在SNHG12/ELAVL1的信号轴来调控PI3K/AKT信号通路活化,进而影响DTX敏感性。通过RIP-qPCR实验,我们发现SNHG12与ELAVL1存在结合。值得注意的是,在PC-3R细胞中敲低SNHG12或ELAVL1可抑制p-PI3K/PI3K、p-AKT/ATK的表达。我们的研究表明,SNHG12通过与ELAVL1结合来激活PI3K/AKT信号通路,进而导致PCa DTX耐药。

总之,我们的研究首次揭示了SNHG12通过与ELAVL1结合来促进PI3K/AKT信号通路活化,进而导致PCa DTX耐药的关键机制。上述发现为SNHG12作为PCa DTX增敏疗法中潜在干预靶点的作用提供了见

解。然而,我们的研究也存在不足之处。首先,PCa DTX耐药细胞在体内和体外水平上对DTX敏感差异性的原因尚未被探明。其次,要将上述发现应用于临床尚需进一步的临床前数据加以支撑。后续研究将着重解决上述问题。

Declaration of interests: The authors declare no competing interests.

参考文献:

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-63.
- [2] Chen HT, Pang BR, Zhou C, et al. Prostate cancer-derived small extracellular vesicle proteins: the hope in diagnosis, prognosis, and therapeutics[J]. J Nanobiotechnology, 2023, 21(1): 480.
- [3] Graham LS, Lin JK, Lage DE, et al. Management of prostate cancer in older adults[J]. Am Soc Clin Oncol Educ Book, 2023, 43: e390396.
- [4] Sun XC, Zhang Y, Xin SY, et al. NOTCH₃ promotes docetaxel resistance of prostate cancer cells through regulating TUBB3 and MAPK signaling pathway[J]. Cancer Sci, 2024, 115(2): 412-26.
- [5] Lu JH, Zou QR, Li Y, et al. FTH1P8 induces and transmits docetaxel

- resistance by inhibiting ferroptosis in prostate cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 180: 117472.
- [6] Hashemi M, Zandieh MA, Talebi Y, et al. Paclitaxel and docetaxel resistance in prostate cancer: Molecular mechanisms and possible therapeutic strategies[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 160: 114392.
- [7] Zhang YG. LncRNA-encoded peptides in cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2024, 17(1): 66.
- [8] Tamang S, Acharya V, Roy D, et al. SNHG12: an LncRNA as a potential therapeutic target and biomarker for human cancer[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 901.
- [9] Cheng G, Song ZS, Liu YN, et al. Long noncoding RNA SNHG12 indicates the prognosis of prostate cancer and accelerates tumorigenesis *via* sponging miR-133b[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(2): 1235-46.
- [10] Song JN, Wu XH, Ma R, et al. Long noncoding RNA SNHG12 promotes cell proliferation and activates Wnt/ β -catenin signaling in prostate cancer through sponging microRNA-195[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 13066-75.
- [11] Li KY, Wang Q, Tang XY, et al. Advances in prostate cancer biomarkers and probes[J]. *Cyborg Bionic Syst*, 2024, 5: 0129.
- [12] Wang P, Chen D, Ma HB, et al. LncRNA SNHG12 contributes to multidrug resistance through activating the MAPK/Slug pathway by sponging miR-181a in non-small cell lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(48): 84086-101.
- [13] Lebedeva S, Jens M, Theil K, et al. Transcriptome-wide analysis of regulatory interactions of the RNA-binding protein HuR[J]. *Mol Cell*, 2011, 43(3): 340-52.
- [14] Ma S, Xu YH, Qin XY, et al. RUNX1, FUS, and ELAVL1-induced circPTPN22 promote gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion through miR-6788-5p/PAK1 axis-mediated autophagy[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2024, 29(1): 95.
- [15] Kanzaki H, Chiba T, Kaneko T, et al. The RNA-binding protein ELAVL1 regulates hepatitis B virus replication and growth of hepatocellular carcinoma cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7878.
- [16] Mao GX, Mu ZM, Wu DA. Exosomal lncRNA FOXD3-AS1 upregulates ELAVL1 expression and activates PI3K/Akt pathway to enhance lung cancer cell proliferation, invasion, and 5-fluorouracil resistance[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2021, 53(11): 1484-94.
- [17] Cai ZL, Xu H, Bai G, et al. ELAVL1 promotes prostate cancer progression by interacting with other m6A regulators[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 939784.
- [18] Wei LJ, Zhang Q, Zhong CC, et al. Functional inhibition of the RNA-binding protein HuR sensitizes triple-negative breast cancer to chemotherapy[J]. *Mol Oncol*, 2023, 17(10): 1962-80.
- [19] Huang YS, Xia L, Tan XW, et al. Molecular mechanism of lncRNA SNHG12 in immune escape of non-small cell lung cancer through the HuR/PD-L1/USP8 axis[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27(1): 43.
- [20] Li MX, Che N, Liu XZ, et al. Dauricine regulates prostate cancer progression by inhibiting PI3K/AKT-dependent M2 polarization of macrophages[J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 217: 115838.
- [21] Eberlein C, Williamson SC, Hopcroft L, et al. Capivasertib combines with docetaxel to enhance anti-tumour activity through inhibition of AKT-mediated survival mechanisms in prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2024, 130(8): 1377-87.
- [22] Lu XX, Yang FY, Chen DX, et al. Quercetin reverses docetaxel resistance in prostate cancer *via* androgen receptor and PI3K/Akt signaling pathways[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(7): 1121-34.
- [23] Brady SN, Maggi LB Jr, Winkler CL, et al. Nucleophosmin protein expression level, but not threonine 198 phosphorylation, is essential in growth and proliferation[J]. *Oncogene*, 2009, 28(36): 3209-20.
- [24] Shi Q, Zhu YS, Ma J, et al. Prostate Cancer-associated SPOP mutations enhance cancer cell survival and docetaxel resistance by upregulating Caprin1-dependent stress granule assembly[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 170.
- [25] Sun D, Fan XH. LncRNA SNHG12 accelerates the progression of ovarian cancer *via* absorbing miRNA-129 to upregulate SOX4[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(6): 2345-52.
- [26] Wang JZ, Xu CL, Wu H, et al. LncRNA SNHG12 promotes cell growth and inhibits cell apoptosis in colorectal cancer cells[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2017, 50(3): e6079.
- [27] Peng Y, Wang YY, Zhou C, et al. PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: are we making headway? [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 819128.
- [28] Li HY, Shen X, Ma MJ, et al. ZIP10 drives osteosarcoma proliferation and chemoresistance through ITGA10-mediated activation of the PI3K/AKT pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 340.
- [29] Okuno K, Xu CM, Pascual-Sabater S, et al. Berberine overcomes gemcitabine-associated chemoresistance through regulation of Rap1/PI3K-Akt signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(10): 1199.
- [30] Yin HL, Qin HX, Yang L, et al. circCYP24A1 promotes Docetaxel resistance in prostate Cancer by Upregulating ALDH1A3[J]. *Biomark Res*, 2022, 10(1): 48.
- [31] Li YZ, Guo SQ, Liu WC, et al. Silencing of SNHG12 enhanced the effectiveness of MSCs in alleviating ischemia/reperfusion injuries *via* the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 645.
- [32] Cai ZL, Zhai XX, Xu JD, et al. ELAVL1 regulates PD-L1 mRNA stability to disrupt the infiltration of CD4-positive T cells in prostate cancer[J]. *Neoplasia*, 2024, 57: 101049.
- [33] Wei LJ, Kim SH, Armaly AM, et al. RNA-binding protein HuR inhibition induces multiple programmed cell death in breast and prostate cancer[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 580.

(编辑:经 媛)