

肝癌组织中 lncRNA-PRR34-AS1 的表达特性及其对肝癌细胞增殖、迁移的影响和潜在分子机制

魏 英^a, 王小林^b

(榆林市第二医院 a. 肿瘤放疗科; b. 普外科, 陕西榆林 719000)

摘要:目的 分析长链非编码 RNA-PRR34-AS1 在肝癌组织中的表达特性, 探究其对肝癌细胞增殖、迁移的影响及潜在分子作用机制。方法 收集 2020 年 6 月~12 月于榆林市第二医院行手术治疗的 30 例肝癌患者癌组织及其对应癌旁正常组织标本, 采用实时荧光定量 PCR 实验 (RT-qPCR) 检测组织中 lncRNA-PRR34-AS1 相对表达水平。通过转染 siRNA 介导敲低 PRR34-AS1 基因表达, 利用细胞增殖实验和细胞迁移实验验证 PRR34-AS1 对肝癌细胞增殖、迁移的影响; 通过生物信息学数据库网站预测 PRR34-AS1 与 JAK1 结合的基因位点, 双荧光素酶报告基因实验验证两者靶向关系, 探究其在肝癌发生发展中的调控作用。结果 30 例临床肝癌组织中 PRR34-AS1 表达显著高于癌旁正常组织 (5.714 ± 0.612 vs 2.981 ± 0.572), 差异有统计学意义 ($t=17.870$, $P=0.000$), PRR34-AS1 具有高表达预后差的临床特征。敲低 PRR34-AS1 后, 转染 24, 48 和 72 h 时 siRNA-PRR34-AS1#1 组和 siRNA-PRR34-AS1#2 组细胞增殖率较对照组明显降低, 差异均有统计学意义 ($F=83.440 \sim 89.297$, 均 $P<0.001$); siRNA-PRR34-AS1#1 组 (38.451 ± 4.263) 和 siRNA-PRR34-AS1#2 组 (42.106 ± 3.512) 细胞愈合迁移速率较对照组 (83.247 ± 6.205) 显著减慢, 差异均有统计学意义 ($F=83.357$, $P<0.001$)。JAK1 是 PRR34-AS1 的靶基因, siRNA-PRR34-AS1#1 组 (0.453 ± 0.019) 和 siRNA-PRR34-AS1#2 组 (0.476 ± 0.022) 细胞中 JAK1 相对表达较对照组相比 (1.002 ± 0.003) 明显降低, 差异均有统计学意义 ($F=716.287$, $P<0.001$)。转染敲低 JAK1 表达后, 各转染时间点 siRNA-JAK1#1 组和 siRNA-JAK1#2 组细胞增殖速率较对照组明显减缓, 差异均有统计学意义 ($F=45.465 \sim 76.548$, 均 $P<0.05$)。30 组临床肝癌组织中 JAK1 表达显著高于癌旁正常组织 (5.963 ± 1.214 vs 4.052 ± 0.876), 差异有统计学意义 ($t=6.992$, $P=0.000$), PRR34-AS1 与 JAK1 表达呈显著正相关 ($r=0.907$, $P<0.05$)。在敲低 PRR34-AS1 表达的肝癌细胞中回补 JAK1 后, 肝癌细胞增殖、迁移速率又回归到正常水平。结论 肝癌中 PRR34-AS1 显著高表达, 其可能通过正向调控 JAK1 表达影响 JAK/STAT 信号通路, 进而调控促进肝癌细胞的增殖和迁移。

关键词: 肝癌; 长链非编码 RNA-PRR34-AS1; JAK1; 增殖; 迁移

中图分类号: R735.7; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 06-041-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.06.008

Expression Characteristics of lncRNA-PRR34-AS1 in Liver Cancer Tissues and Its Effects on Proliferation and Migration of Liver Cancer Cells and Potential Molecular Mechanism

WEI Ying^a, WANG Xiao-lin^b (a. Department of Oncology Radiotherapy;

b. Department of General Surgery, the Second Hospital of Yulin City, Shaanxi Yulin 719000, China)

Abstract: Objective To explore its effect on the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cell and its potential molecular mechanism. by analyzing the expression characteristics of long non-coding RNA-PRR34-AS1 in hepatocellular carcinoma. **Methods** The relative expression levels of lncRNA-PRR34-AS1 in the tissues of 30 patients with liver cancer who underwent surgical treatment in the Second Hospital of Yulin City from June 2020 to December 2020 were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR). The expression of PRR34-AS1 gene was knocked down by siRNA transfection, and the effect of PRR34-AS1 on the proliferation and migration of HCC cells was verified by cell proliferation assay and cell migration assay. The binding loci of PRR34-AS1 and JAK1 were predicted through bioinformatics database website, and the targeting relationship between PRR34-AS1 and JAK1 was verified by double luciferase reporter gene assay to explore the

基金项目: 陕西省卫生健康委员会科研项目 (2019D106)。

作者简介: 魏英 (1978-), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 消化道肿瘤规范化、个体化多学科综合治疗及相关转化研究, E-mail: ddcsfge@163.com。

通讯作者: 王小林 (1979-), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 擅长胃肠道肿瘤的传统及微创手术以及综合治疗。

regulatory role of PRR34-AS1 in the occurrence and development of liver cancer. **Results** The expression of PRR34-AS1 in 30 clinical HCC tissues was significantly higher than that in adjacent normal tissues (5.714 ± 0.612 vs 2.981 ± 0.572), the difference was statistically significant ($t=17.870$, $P=0.000$), and PRR34-AS1 was characterized by high expression and poor prognosis. After knockdown of PRR34-AS1, the cell proliferation rate of SiRNA-PRR34-AS1#1 group and SiRNA-PRR34-AS1#2 group was significantly lower than that of control group at 24, 48 and 72 h after transfection, the differences were statistically significant ($F=83.440\sim 89.297$, $P<0.001$). Cell healing migration rate in SiRNA-PRR34-AS1#1 group (38.451 ± 4.263) and SiRNA-PRR34-AS1#2 group (42.106 ± 3.512) was significantly slower than that in control group (83.247 ± 6.205), the difference was statistically significant ($F=83.357$, $P<0.001$). JAK1 was a target gene for PRR34-AS1, and the relative expression of JAK1 in siRNA-PRR34-AS1#1 group (0.453 ± 0.019) and siRNA-PRR34-AS1#2 group (0.476 ± 0.022) was significantly lower than that in the control group (1.002 ± 0.003), the difference was statistically significant ($F=716.287$, $P<0.001$). After knockdown of JAK1 expression, the cell proliferation rate in SiRNA-JAK1#1 and SiRNA-JAK1#2 groups was significantly slower than that in the control group at each transfection time point, the difference were statistically significant ($F=45.465\sim 76.548$, $P<0.05$). The expression of JAK1 in the 30 groups was significantly higher than that in the adjacent normal tissues (5.963 ± 1.214 vs 4.052 ± 0.876), the difference was statistically significant ($t=6.992$, $P=0.000$), and there was a significant positive correlation between PRR34-AS1 and JAK1 ($r=0.907$, $P<0.05$). After JAK1 was supplemented in HCC cells with PRR34-AS1 knockdown, the proliferation and migration rate of HCC cells returned to normal level. **Conclusion** PRR34-AS1 was significantly overexpressed in HCC, which may affect the JAK/STAT signaling pathway through the positive regulation of JAK1 expression, thereby regulating and promoting the proliferation and migration of HCC cells.

Keywords: liver cancer; long non-coding RNA-PRR34-AS1; JAK1; proliferation; migration

据《2020年全球癌症统计》,全球新增约905 677例新诊断肝癌病例和830 180例肝癌死亡病例,肝癌所致死亡人数位居世界第三^[1-2]。尽管在中国观察到肝癌的发病率和死亡率呈显著下降趋势,但庞大的人口基础和快速的人口增长仍然导致大量新的肝癌病例出现并呈上升趋势^[3]。因此,有必要更好地了解肝癌发生和发展的分子机制,研发出有效的靶向治疗方法^[4]。近年研究发现,原癌基因和抑癌基因的失调导致了肝癌的发生和发展,其中大多数集中在蛋白质编码基因上^[5-6]。长链非编码RNA(long non-coding RNAs, lncRNAs)被定义为长度大于200 nt的非编码RNA,其通过表观遗传调控机制发挥其基因转录调控功能^[7]。越来越多证据表明,lncRNAs与多种病理、生理过程有关,在癌症中经常观察到lncRNA的异常表达^[8-10]。发现lncRNAs能够调节癌细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭等恶性行为及上皮-间质转化和细胞耐药性^[11-13]。PRR34-AS1是最新发现的一种lncRNA,目前国内外对其报道有限,但最新研究在肝癌中发现其高表达,通过调节mRNA介导参与了肝癌细胞的各种生物学行为过程,与肝癌发展关系密切,证明了PRR34-AS1的原癌基因属性,为肝癌研究提供了新的生物靶标^[14-15]。然而PRR34-AS1在肝癌发生发展中的作用机制尚未完全明确且有关报道鲜少。因此,本研究拟进一步探究肝癌组织中PRR34-AS1的表达特性及其对肝癌细胞的作用机制,以期临床肝癌的研究攻克提供新的分子机制基础。

1 材料与方法

1.1 研究对象 人肝癌HepG2细胞购于中国科学院上海细胞库,10ml/dl胎牛血清RPMI-1640培养液中加入青霉素100 IU/ml和链霉素100 μ g/ml,37℃,5ml/dl CO₂孵育箱培养。收集2020年6月~12月于榆林市第二医院行手术治疗的30例肝癌患者癌组织及其对应癌旁正常组织标本,所有入选病例术前未行放化疗治疗,组织均由手术获取,离体后快速行冰冻病理确认为肝细胞癌,后置于低温液氮中保存备用。

1.2 试剂及仪器 胎牛血清、链霉素、青霉素及RPMI-1640培养液购自美国HyClone公司;MTS反应液购自美国Corning公司;酶标仪购自美国赛默飞公司;lipo2000购自美国Invitrogen公司;实时荧光定量PCR试剂盒、PCR仪、逆转录试剂盒、Trizol试剂购自美国Promega公司;酶标仪购自美国Bio Rad公司;转染细胞所用的阴性对照siCTL无义序列及2条干扰siRNA序列及JAK1 3' UTR-wt野生型和JAK1 3' UTR-mut突变型荧光质粒均由南京科佰生物科技有限公司设计合成;荧光素酶测定系统购自北京Promega公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞转染及分组:取待测细胞培养至生长密度达80%~85%左右时参照Lipo 2000试剂盒说明书操作进行细胞转染,置于37℃,5ml/dl CO₂条件下常规培养48 h。细胞分组:转染阴性对照siCTL无义序列的细胞设为siCTL对照组;转染2条PRR34-AS1干扰siRNA序列细胞设为siRNA-PRR34-AS1#1组和siRNA-PRR34-AS1#2组;转

染2条JAK1干扰siRNA细胞设为siRNA-JAK1#1组和siRNA-JAK1#2组;共转染siRNA-PRR34-AS1+JAK1细胞设为共转染组。

1.3.2 实时荧光定量PCR实验(RT-qPCR):使用primer 3软件(<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>)设计特异性qPCR引物;采用Trizol试剂盒提取细胞总RNA,逆转录为cDNA,以此为模板配置PCR反应体系,行RT-qPCR反应。引物序列:PRR34-AS1上游:5'-AGAACGGAGCCGATGTTTCG-3',下游:5'-TAACGCAGGCGGACGAATCT-3';JAK1上游:5'-AATCTTCTGTATCAGCTCATGCTGACT-3',下游:5'-CAGTTTTTACGGCTTCAGTTTACTT-3';内参GAPDH上游:5'-GAACGCGAAGCTTGTCATCAA-3',下游:5'-CTAAGCAGTTGCTCGTGCAG-3'。反应条件:95℃ 30 s, 95℃ 10 s, 72℃ 15 s, 循环40次。反应完成后,拷贝数据,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各目的基因相对表达。

1.3.3 MTT细胞增殖实验:取转染培养后对数生长期待测细胞以 1×10^6 /孔接种于96孔板,每组设3个生物复孔,37℃, 5ml/dl CO₂条件下孵育4 h,每孔加入100 μl MTS反应溶液,常规继续培养2, 24, 48, 72 h,在490 nm处测量各孔吸光度(A值)。

1.3.4 划痕迁移实验:取培养贴壁后各组进行转染,到细胞生长至密度达90%时用枪头垂直于孔板背面在盘中央划痕,PBS清洗细胞3次,去除划下细胞,加入无血清培养基,37℃, 5ml/dl CO₂培养24 h后拍照观察,实验重复3次取平均值。

1.3.5 PRR34-AS1靶基因预测:通过生物信息学数据库网站预测lncRNA PRR34-AS1与JAK1结合的基因位点,双荧光素酶报告基因实验验证两者靶向

关系。

1.3.6 双荧光素酶报告基因实验:将细胞接种到6孔板,通过构建包含PRR34-AS1基因位点在内的含有海肾荧光素酶报告质粒的JAK1 3' UTR-wt野生型和JAK1 3'UTR-mut突变型荧光质粒,将其转染至肝癌细胞中,使用荧光素酶测定系统测量各组细胞荧光素酶活性,实验重复3次取平均值。

1.3.7 细胞回补实验:取消化培养后各组细胞铺于96孔板或6孔板,37℃, 5ml/dl CO₂孵育贴壁后进行转染,将siCTL, siRNA-PRR34-AS1, siRNA-JAK1, siRNA-PRR34-AS1+JAK1及siRNA-JAK1+PRR34-AS1分别转染至细胞中,每孔设3个复孔;后按照细胞增殖实验、细胞划痕迁移实验步骤检测各组细胞增殖、迁移情况进行实验验证。

1.4 统计学分析 采用SPSS 25.0进行数据分析,数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;多组间比较采用one-way ANOVA分析,组间比较采用LSD检验;癌组织及对应癌旁组织中差异比较采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌组织中lncRNA PRR34-AS1表达特征 30组临床肝癌组织中PRR34-AS1表达显著高于临近正常组织(5.714 ± 0.612 vs 2.981 ± 0.572),差异有统计学意义($t=17.870$, $P=0.000$);同时检索GEPIA数据库发现,相比于临近正常组织,肝癌组织中PRR34-AS1显著高表达,具有表达水平越高预后越差的临床特征,见图1。提示PRR34-AS1扮演原癌基因角色,可能参与肝癌的发生发展。

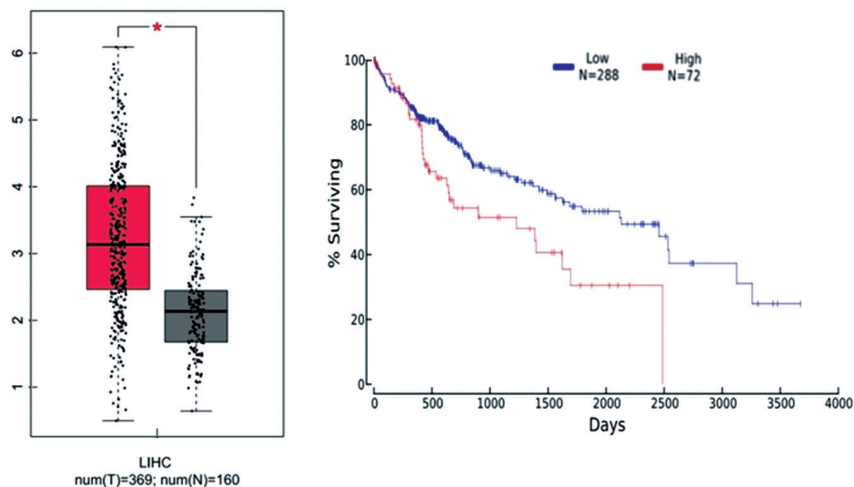


图1 GEPIA数据库中分析PRR34-AS1在肝癌中的表达特征

2.2 敲降PRR34-AS1表达转染效率验证 检测发现siRNA-PRR34-AS1#1组(0.289 ± 0.046)和siRNA-PRR34-AS1#2组(0.302 ± 0.031)细胞中PRR34-AS1

表达明显低于阴性对照siCTL组(1.001 ± 0.030),差异有统计学意义($F=375.552$, $P < 0.001$),提示敲降PRR34-AS1表达转染效率验证成功。

2.3 PRR34-AS1 促进肝癌细胞的增殖和迁移 细胞增殖实验显示,随着转染时间延长,siRNA-PRR34-AS1#1 组和 siRNA-PRR34-AS1#2 组细胞增殖率较对照组明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),不同时间点各组细胞 A 值见表 1。划痕迁移实验显示,siRNA-PRR34-AS1#1 组 (38.451 ± 4.263) 和 siRNA-

PRR34-AS1#2 组 (42.106 ± 3.512) 细胞愈合迁移速率较对照组 (83.247 ± 6.205) 显著减慢,差异有统计学意义($F=83.357, P<0.001$),表明 PRR34-AS1 高表达促进了肝癌细胞的增殖和迁移,发挥致癌基因作用。

表 1 敲低 PRR34-AS1 表达对肝癌细胞 A 值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

时间 (h)	siCTL 组 ^①	siRNA-PRR34-AS1#1 组 ^②	siRNA-PRR34-AS1#2 组 ^③	F	P	① vs ②		① vs ③	
						t_1	P_1	t_2	P_2
0	0.189 ± 0.012	0.196 ± 0.009	0.193 ± 0.011	0.321	0.737	0.808	> 0.05	0.426	> 0.05
24	0.386 ± 0.021	0.209 ± 0.016	0.221 ± 0.017	89.297	<0.001	11.958	< 0.001	11.147	< 0.001
48	0.537 ± 0.027	0.334 ± 0.019	0.347 ± 0.015	88.378	<0.001	11.875	< 0.001	11.115	< 0.001
72	0.649 ± 0.032	0.398 ± 0.022	0.420 ± 0.024	83.440	<0.001	11.664	< 0.001	10.641	< 0.001

2.4 PRR34-AS1 靶向正调控 JAK1 表达, JAK1 促进肝癌细胞增殖 通过查阅文献发现,PRR34-AS1 可通过调控 JAK1 表达参与癌症的发展进程^[16]。研究经检索生物信息学数据库发现 JAK1 3' UTR 区含有潜在的 PRR34-AS1 结合位点(见图 2),推测 JAK1 可能是 PRR34-AS1 的靶基因。后将 JAK1 3' UTR 质粒及 siRNA-PRR34-AS1 共转染至肝癌细胞中,双荧光素酶报告基因实验验证发现,转染 siRNA-PRR34-AS1 显著抑制了 JAK1 3' UTR-wt 质粒荧光素酶活性($P<0.001$),而对 JAK1 3' UTR-mut 质粒荧光素酶活性无明显影响($P>0.05$),见表 2,证实 JAK1 是 PRR34-AS1 的靶基因。进一步探究发现,与对照组相比(1.002 ± 0.003),siRNA-PRR34-AS1#1 组 (0.453 ± 0.019) 和 siRNA-PRR34-AS1#2 组 (0.476 ± 0.022) 细胞中 JAK1 相对表达明

显降低,差异有统计学意义($F=716.287, P<0.001$),表明 PRR34-AS1 靶向正调控 JAK1 表达。同时经转染 2 条 siRNA 敲低肝癌细胞中 JAK1 表达,发现较对照组相比,敲低 JAK1 表达明显减缓了肝癌细胞的增殖速率($P<0.05$),见表 3,证明肝癌发生发展过程中 JAK1 同样发挥促癌基因作用。

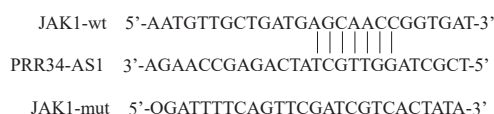


图 2 生物信息网站预测 PRR34-AS1 与 JAK1 的结合位点
表 2 PRR34-AS1 与 JAK1 结合关系验证 ($\bar{x} \pm s$)

类别	siCTL 组	siRNA-PRR34-AS1 组	t	P
WT	1.002 ± 0.005	0.437 ± 0.021	45.333	< 0.001
MUT	1.001 ± 0.003	0.977 ± 0.016	1.490	0.211

表 3 敲低 JAK1 表达对肝癌细胞 A 值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

时间 (h)	siCTL 组 ^①	siRNA-JAK1#1 组 ^②	siRNA-JAK1#2 组 ^③	F	P	① vs ②		① vs ③	
						t_1	P_1	t_2	P_2
0	0.203 ± 0.008	0.201 ± 0.012	0.202 ± 0.010	0.039	0.962	0.240	> 0.05	0.315	> 0.05
24	0.396 ± 0.022	0.232 ± 0.019 ^a	0.225 ± 0.016 ^a	76.548	<0.001	10.485	< 0.001	10.932	< 0.001
48	0.501 ± 0.026	0.354 ± 0.020 ^a	0.332 ± 0.018 ^a	54.272	<0.001	8.334	< 0.001	9.581	< 0.001
72	0.598 ± 0.031	0.421 ± 0.025 ^a	0.417 ± 0.023 ^a	45.465	<0.001	8.164	< 0.001	8.349	< 0.001

2.5 JAK1 在肝癌组织中的表达及与 PRR34-AS1 的相关性分析 30 组临床肝癌组织中 JAK1 表达显著高于癌旁正常组织 (5.963 ± 1.214 vs 4.052 ± 0.876),差异有统计学意义($t=6.992, P=0.000$),肝癌组织中 PRR34-AS1 与 JAK1 表达呈显著正相关($r=0.907, P<0.05$)。

表 4 PRR34-AS1 调控 JAK1 对肝癌细胞增殖、迁移的影响 ($\bar{x} \pm s$)

类别	siCTL 组 ^①	siRNA-PRR34-AS1 组 ^②	siRNA-JAK1 组 ^③	siRNA-PRR34-AS1+ JAK1 组 ^④	F 值	P 值
细胞增殖 A 值	0.586 ± 0.019	0.423 ± 0.015 ^a	0.437 ± 0.023 ^a	0.614 ± 0.021	90.701	< 0.001
细胞迁移率 (%)	82.154 ± 5.896	48.213 ± 3.988 ^a	46.347 ± 4.305 ^a	85.014 ± 6.013	50.224	< 0.001

注: t_1 为① vs ②, t_2 为① vs ③, t_3 为① vs ④; 细胞增殖 A 值的 $t_1=10.122, t_2=9.252, t_3=1.739$, 均 $P<0.001$; 细胞迁移率 (%) 的 $t_1=8.100, t_2=8.545, t_3=0.683$, 均 $P<0.001$ 。

2.6 PRR34-AS1 正向调控 JAK1 促进肝癌细胞增殖和迁移 见表 4。细胞回补试验验证发现,在敲低 PRR34-AS1 表达的肝癌细胞中回补 JAK1 后,肝癌细胞增殖、迁移速率又回归到正常水平。证实 PRR34-AS1 可通过调控 JAK1 来促进肝癌细胞的增殖和迁移。

3 讨论

肝癌作为临床常见的恶性肿瘤,早期症状不明显,临床诊断多为中晚期,手术治疗后5年生存率较低^[1]。临床常采用肿瘤分化程度和淋巴结转移等传统病理特征来评估患者生存期,但其效果并不理想^[3]。近年研究表明,lncRNAs的异常表达与癌症的发生发展有关,发现其可以通过影响mRNA的稳定性及翻译、蛋白质修饰过程,作为竞争性内源RNA或mRNA前体发挥功能,也可招募相关因子改变染色质结构影响基因表达,广泛参与疾病生理、病理过程^[17-18]。如既往研究报道,PTENP1可竞争性吸附miR-20a,miR-19b,减少其与3'UTR结合,从而抑制肿瘤的发展^[19];lncRNA CASC15在肝癌中通过SOX4/Wnt/ β -catenin信号通路促进肿瘤进展^[20]。提示lncRNAs与肝癌的发生发展密切相关,故积极探究更多特异性lncRNAs对肝癌临床研究具有重要意义。

本研究前期通过检索GEPIA数据库发现,除既往研究报道的lncRNAs外,PRR34-AS1在肝癌组织中也异常高表达。最新研究也表明,PRR34-AS1通过吸附microRNA-498可上调FOXO3表达,加速肝细胞癌的发展进程^[14]。PRR34-AS1使miR-498海绵化促进了TOMM20和ITGA6介导的肝癌进展^[15],更加证实了其在肝癌发生发展中扮演重要角色。基于目前国内外关于PRR34-AS1的研究报道有限,其调控肝癌发生发展的作用机制尚未探明且相关报道鲜少,故研究拟探究PRR34-AS1在肝癌中的表达,以及对肝癌细胞生物学行为的影响及潜在分子作用机制。首先,研究发现,肝癌组织中PRR34-AS1显著高表达,同时检索GEPIA数据库证实肝癌组织中PRR34-AS1高表达且具有高表达预后差的临床特征,提示其可能扮演原癌基因角色发挥作用。通过转染siRNA介导敲低PRR34-AS1表达,经细胞实验探究发现,敲低PRR34-AS1表达显著抑制了肝癌细胞的增殖、迁移速率,确定了其致癌基因属性,与既往研究相符。

近年研究表明,肿瘤的发生发展是一个多基因参与调控的极其复杂的过程,除癌基因的激活和抑癌基因的失活外,信号通路也参与其中^[7]。JAK/STAT信号通路是细胞因子信号传导的下游通路,研究发现其能调控细胞的分化、增殖及凋亡等过程,在肿瘤的发生发展、转移及耐药机制形成中起着重要作用^[21]。Janus激酶(JAK)属于非受体酪氨酸激酶家族,由JAK1,JAK2,JAK3和TYK2组成,可响应各种细胞因子和生长因子激活信号转导子和转录激活子(STAT)蛋白^[22-23]。STAT在包括肝细胞癌(HCC)、头颈癌、乳腺癌和肺癌等不同类型

的人类癌症中异常激活,而JAK是调控激活STAT酪氨酸激酶功能的主要因素,提示被激活的JAK1/STAT3信号传导与肿瘤发生和癌症进展有关^[24-26]。正常情况下,机体可通过JAK和STAT反馈调节模式来维持动态平衡状态;当机体发生病变时,JAK蛋白被激活后发生磷酸化,其信号传导途径被打开,导致STAT蛋白中的酪氨酸残基被磷酸化形成同源二聚体,其与细胞核中的靶基因结合,从而进行调控表达^[24,26]。另据相关报道,JAK/STAT信号通路在正常细胞中受到严格调节,且由于癌细胞中JAK家族激酶或其他酪氨酸激酶的异常激活而被持续激活^[27]。而在JAK/STAT家族成员中,JAK1/STAT3在许多生物学过程(例如细胞生长、凋亡、迁移和侵袭)中起着至关重要的作用^[28]。JAK1刺激STAT3磷酸化可促进细胞增殖、迁移、侵袭和血管生成^[29-30]。相关研究也表明^[31],JAK/STAT信号通路在肝癌的发生发展中扮演着重要角色,抑制该通路则显著抑制了体内HCC细胞的生长。本研究经查阅文献发现,PRR34-AS1能够调控JAK1基因表达,PRR34-AS1过表达通过阻断JAK1依赖的JAK/STAT信号通路能够促进丙泊酚预处理对全膝关节置换术后小鼠缺血/再灌注损伤的保护^[17],提示PRR34-AS1发挥作用与JAK/STAT通路间的紧密性。研究经荧光素实验证实PRR34-AS1与JAK1确实存在相互结合位点,JAK1是PRR34-AS1的靶基因,且探究发现,肝癌组织中JAK1也显著高表达,与PRR34-AS1呈显著正相关;同时JAK1表达受PRR34-AS1调控,敲低JAK1表达明显抑制了肝癌细胞增殖速率;细胞回补实验证实,在敲低PRR34-AS1表达的肝癌细胞中回补JAK1后肝癌细胞增殖、迁移速率恢复到正常水平,由此初步证明了PRR34-AS1促进肝癌细胞增殖和迁移是通过正调控JAK1表达来实现。然而癌基因参与调控肿瘤发生的机制及信号通路复杂,研究对PRR34-AS1调控JAK/STAT信号通路发挥作用参与肝癌发生发展的机制较表浅,因此后期还需通过体内体外试验进一步深入探讨两者间的调控作用关系,以期得出更精确结论用于临床指导。

综上所述,肝癌中PRR34-AS1显著高表达,敲低PRR34-AS1则显著抑制了肝癌细胞的增殖和迁移,其可能通过正向调控JAK1表达影响JAK/STAT信号通路,进而发挥作用参与肝癌的恶性进展。

参考文献:

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA-A Cancer Journal for Clinicians,

- 2021, 71(3): 209-249.
- [2] CAO Wei, CHEN Hongda, YU Yiwei, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020[J]. Chinese Medical Journal, 2021, 134(7): 783-791.
 - [3] PRASAD D, NGUYEN M H. Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, surveillance, and management of hepatocellular carcinoma associated with vascular liver disease[J]. The Kaohsiung Journal of Medical Sciences, 2021, 37(5): 355-360.
 - [4] 吴良银, 李文丽, 刘俊. 肝细胞癌患者生存预后相关长链非编码 RNA(LncRNA) 的生物信息学分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(4): 18-21.
WU Liangyin, LI Wenli, LIU Jun. Bioinformatics analysis of long-chain non-coding RNA related to survival and prognosis in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(4): 18-21.
 - [5] 张鑫浩, 张涛元, 李俏, 等. 基于 GEO 芯片数据的肝癌关键生物标志物的筛选与鉴定及生物信息学分析[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(4): 26-31.
ZHANG Xinhao, ZHANG Taoyuan, LI Qiao, et al. Screening, identification and bioinformatics analysis of Key biomarkers for hepatocellular carcinoma based on GEO chip data[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(4): 26-31.
 - [6] PENG Cheng, HAN Siyu, ZHANG Hui, et al. RPITER: A hierarchical deep learning framework for ncRNA-protein interaction prediction[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(5): 1070.
 - [7] MCCABE E M, RASMUSSEN T P. LncRNA involvement in cancer stem cell function and epithelial-mesenchymal transitions[J]. Seminars in Cancer Biology, 2020, S1044-579X(20): 30272.
 - [8] XU Shaohua, BO Yuhong, MA Hanchen, et al. LncRNA LINC00473 promotes proliferation, migration, invasion and inhibition of apoptosis of non-small cell lung cancer cells by acting as a sponge of miR-497-5p[J]. Oncology Letters, 2021, 21(6): 429.
 - [9] FANG Kun, XU Zhengjie, JIANG Suxiao, et al. LncRNA FGD5AS1 promotes breast cancer progression by regulating the hsamiR1955p/NUAK2 axis[J]. Molecular Medicine Reports, 2021, 23(6): 12099.
 - [10] LUO Jun, ZHENG Jiaping, HAO Weiyuan, et al. LncRNA PCAT6 facilitates cell proliferation and invasion via regulating the miR-326/hnRNPA2B1 axis in liver cancer[J]. Oncology Letters, 2021, 21(6): 12732.
 - [11] TAN Weixi, SUN Ge, SHANGGUAN Mengyuan, et al. Novel role of lncRNA CHRF in cisplatin resistance of ovarian cancer is mediated by miR-10b induced EMT and STAT3 signaling[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 14768.
 - [12] HE Bo, PENG Feng, LI Wei, et al. Interaction of lncRNA-MALAT1 and miR-124 regulates HBx-induced cancer stem cell properties in HepG2 through PI3K/Akt signaling[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 120(suppl 4): 26823.
 - [13] LI Meiling, MENG Fuxue, LU Quanyi. Expression profile screening and bioinformatics analysis of circRNA, lncRNA, and mRNA in acute myeloid leukemia drug-resistant cells[J]. Turkish Journal of Haematology, 2020, 37(2): 104-110.
 - [14] LIU Zhaoming, LI Zhen, XU Binghui, et al. Long noncoding RNA PRR34-AS1 aggravates the progression of hepatocellular carcinoma by adsorbing microRNA-498 and thereby upregulating FOXO3[J]. Cancer Management and Research, 2020, 12: 10749-10762.
 - [15] YANG Xuejing, SONG Dong, ZHANG Junping, et al. PRR34-AS1 sponges miR-498 to facilitate TOMM20 and ITGA6 mediated tumor progression in HCC[J]. Experimental and Molecular Pathology, 2021, 120: 104620.
 - [16] FANG Hua, ZHANG Fangxiang, LI Huafeng, et al. PRR34 - AS1 overexpression promotes protection of propofol pretreatment against ischemia/reperfusion injury in a mouse model after total knee arthroplasty via blockade of the JAK1 - dependent JAK - STAT signaling pathway[J]. Journal of Cellular Physiology, 2020, 235(3): 2545-2556.
 - [17] BRIDGES M C, DAULAGALA A C, KOURTIDIS A. LNCcation: lncRNA localization and function[J]. The Journal of Cell Biology, 2021, 220(2): e202009045.
 - [18] AKKIPEDDI S, VELLECA A J, CARONE D M. Probing the function of long noncoding RNAs in the nucleus[J]. Chromosome Research, 2020, 28(1): 87-110.
 - [19] GAO Xue, QIN Tao, MAO Jun, et al. PTENP1/miR-20a/PTEN axis contributes to breast cancer progression by regulating PTEN via PI3K/AKT pathway[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2019, 38(1): 256.
 - [20] WANG Chaoyang, ZI Hao, WANG Yinghui, et al. LncRNA CASC15 promotes tumour progression through SOX4/Wnt/ β -catenin signalling pathway in hepatocellular carcinoma[J]. Artificial Cells, 2020, 48(1): 763-769.
 - [21] 杨昕, 唐哲, 张鹏, 等. JAK/STAT 信号通路在肺癌中的研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2019, 22(1): 45-51.
YANG Xin, TANG Zhe, ZANG Peng, et al. Research advances of JAK/STAT signaling pathway in lung cancer[J]. Chinese Journal of Lung Cancer, 2019, 22(1): 45-51.
 - [22] TOH T B, LIM J J, HOOI L, et al. Targeting Jak/Stat pathway as a therapeutic strategy against SP/CD44+ tumorigenic cells in Akt/ β -catenin-driven hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Hepatology, 2020, 72(1): 104-118.
 - [23] LI Yaping, SUN Weixuan, HAN Ning, et al. Curcumin inhibits proliferation, migration, invasion and promotes apoptosis of retinoblastoma cell lines through modulation of miR-99a and JAK/STAT pathway[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 1230.