

miR - 425 - 5p 靶向成纤维细胞生长因子 9 对 卵巢癌细胞的作用

Effects of *miR - 425 - 5p* targeting fibroblast growth factor 9 on ovarian cancer cells

蔡怡园^{1a}, 袁 泉^{1a}, 张雅秋^{1b},
钟金妍^{1a}

(1. 青岛大学 附属青岛市海慈医院(青岛市中
医医院), a. 妇科; b. 药剂科, 山东 青岛
266033)

CAI Yi - yuan^{1a}, YUAN Quan^{1a},
ZHANG Ya - qiu^{1b},
ZHONG Jin - yan^{1a}

(1. a. Department of Gynaecology; b.
Department of Pharmacy, Qingdao Hiser
Hospital Affiliated of Qingdao University
(Qingdao Traditional Chinese Medicine
Hospital), Qingdao 266033, Shandong
Province, China)

作者简介: 蔡怡园(1972 -), 女, 副主任医师, 主
要从事妇科内分泌方面的临床诊疗
工作和相关研究

通信作者: 钟金妍, 副主任医师
MP: 13206368236

E - mail: zhongjinyan74@126.com

摘要:目的 研究微小 RNA - 425 - 5p (*miR - 425 - 5p*) 靶向成纤维细胞生长因子 9 (FGF9) 对卵巢癌细胞的增殖、葡萄糖代谢和奥拉帕利耐药性的影响机制。
方法 将人卵巢癌细胞株 SKOV3 分为对照组(正常培养)、NC inhibitor 组(转染空载体 *miR - NC*)、*miR - 425 - 5p* inhibitor 组(转染 *miR - 425 - 5p* 抑制剂)、*si - NC* 组(在 *miR - 425 - 5p* inhibitor 组的基础上转染 *si - NC*)、*si - FGF9* 组(在 *miR - 425 - 5p* inhibitor 组的基础上转染 *si - FGF9*)。用实时定量聚合酶链反应检测 *miR - 425 - 5p* 和 *FGF9* mRNA 在细胞中的表达水平, 用 5 - 乙炔基 - 2'-脱氧尿苷(EdU)实验检测细胞增殖率, 用乳酸代谢和葡萄糖检测试剂盒检测各组细胞乳酸生成量和葡萄糖吸收量, 用细胞计数试剂盒 - 8 实验检测各组细胞的存活率, 用蛋白质印迹法检测各组细胞信号传导转录激活因子 3/沉默调节蛋白 3 (STAT3/SIRT3) 信号通路相关蛋白的表达水平。
结果 NC inhibitor 组、*miR - 425 - 5p* inhibitor 组、*si - NC* 组和 *si - FGF9* 组的增殖率分别为 $(84.11 \pm 14.76)\%$ 、 $(36.12 \pm 6.95)\%$ 、 $(34.32 \pm 6.62)\%$ 和 $(77.37 \pm 12.83)\%$, 相对乳酸生成量分别为 1.02 ± 0.13 、 0.71 ± 0.09 、 0.74 ± 0.09 和 0.89 ± 0.10 , 相对葡萄糖吸收值分别为 0.99 ± 0.14 、 0.68 ± 0.08 、 0.70 ± 0.09 和 0.91 ± 0.11 , 在 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 奥拉帕利处理下的存活率分别为 $(59.86 \pm 9.55)\%$ 、 $(41.08 \pm 7.72)\%$ 、 $(40.25 \pm 7.02)\%$ 和 $(55.71 \pm 7.68)\%$, STAT3 蛋白相对表达水平分别为 1.01 ± 0.17 、 0.68 ± 0.10 、 0.66 ± 0.09 和 0.88 ± 0.12 , SIRT3 蛋白相对表达水平分别为 0.98 ± 0.17 、 1.84 ± 0.28 、 1.85 ± 0.29 和 1.23 ± 0.20 。*miR - 425 - 5p* inhibitor 组的上述指标与 NC inhibitor 组比较, *si - FGF9* 组的上述指标与 *si - NC* 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.001$)。
结论 沉默 *miR - 425 - 5p* 会抑制卵巢癌细胞的增殖和葡萄糖代谢, 降低细胞对奥拉帕利的耐药性, 可能是通过上调 FGF9 水平, 进而抑制 STAT3/SIRT3 信号通路来实现的。

关键词: 奥拉帕利; 微小 RNA - 425 - 5p; 卵巢癌; 成纤维细胞生长因子 9; 信号传导转录激活因子 3/沉默调节蛋白 3; 葡萄糖代谢

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.04.008

中图分类号: R97 文献标志码: A

文章编号: 1001 - 6821 (2025) 04 - 0487 - 05

Abstract: Objective To investigate the effects of microRNA - 425 - 5p (*miR - 425 - 5p*) targeting fibroblast growth factor 9 (FGF9) on the proliferation, glucose metabolism and olaparib resistance of ovarian cancer cells. **Methods** Human ovarian cancer cell line SKOV3 were divided into control group (normal culture), NC inhibitor group (transfected empty vector *miR - NC*), *miR - 425 - 5p* inhibitor group (transfected *miR - 425 - 5p* inhibitor), *si - NC* group (transfected *si - NC* on the basis of *miR - 425 - 5p* inhibitor group), *si - FGF9* group (transfected *si - FGF9* on the basis of *miR - 425 - 5p* inhibitor group). Quantitative real

time polymerase chain reaction was used to detect the expression levels of *miR-425-5p* and *FGF9* in cells. The cell proliferation rate was detected by 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) assay. Lactic acid production and glucose absorption were measured by lactic acid metabolism and glucose detection kit. The survival rate of cells in each group was detected by cell counting kit-8 assay. Western blot was used to detect signal transducer and activator of transcription 3/sirtuin 3 (STAT3/SIRT3) signaling pathway related protein expression levels in each group. **Results** The proliferation rate were $(84.11 \pm 14.76)\%$, $(36.12 \pm 6.95)\%$, $(34.32 \pm 6.62)\%$ and $(77.37 \pm 12.83)\%$ in the NC inhibitor group, *miR-425-5p* inhibitor group, si-NC group and si-FGF9 group, respectively; the relative lactic acid production were 1.02 ± 0.13 , 0.71 ± 0.09 , 0.74 ± 0.09 and 0.89 ± 0.10 , respectively; the relative glucose absorption values were 0.99 ± 0.14 , 0.68 ± 0.08 , 0.70 ± 0.09 and 0.91 ± 0.11 , respectively; the survival rates under $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ olaparib were $(59.86 \pm 9.55)\%$, $(41.08 \pm 7.72)\%$, $(40.25 \pm 7.02)\%$ and $(55.71 \pm 7.68)\%$, respectively; the relative expression levels of STAT3 protein were 1.01 ± 0.17 , 0.68 ± 0.10 , 0.66 ± 0.09 and 0.88 ± 0.12 , respectively; the relative expression levels of SIRT3 protein were 0.98 ± 0.17 , 1.84 ± 0.28 , 1.85 ± 0.29 and 1.23 ± 0.20 , respectively. The above indexes of *miR-425-5p* inhibitor group were compared with those of NC inhibitor group, and those of si-FGF9 group were compared with those of si-NC inhibitor group, and the differences were statistically significant ($P < 0.01$, $P < 0.001$). **Conclusion** Silencing *miR-425-5p* can inhibit the proliferation and glucose metabolism of ovarian cancer cells, and reduce the resistance of cells to olaparib, which may be achieved by up-regulating FGF9 level and inhibiting STAT3/SIRT3 signaling pathway.

Key words: olaparib; microRNA-425-5p; ovarian cancer; fibroblast growth factor 9; signal transducer and activator of transcription 3/sirtuin 3; glucose metabolism

卵巢癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,死亡率位居女性生殖系统恶性肿瘤首位,卵巢癌早期无特异性症状,患者确诊时通常处于晚期,5年生存率低^[1]。奥拉帕利是卵巢癌靶向治疗药之一,可促进肿瘤细胞DNA断裂、抑制细胞增殖,起到抗癌效果^[2]。微小RNA(microRNA, miR)参与转录后基因表达的调控,与卵巢癌的发生、发展有关,其中 *miR-425-5p* 可增加细胞对顺铂的敏感性^[3];成纤维细胞生长因子9(fibroblast growth factor 9, FGF9)作为细胞间信号分子在胚胎发生和分化过程中起重要作用。本研究旨在分析 *miR-425-5p* 和 FGF9 对卵巢癌细胞的增殖、葡萄糖代谢和奥拉帕利耐药性的影响,及其作用机制。

材料与方法

1 材料

细胞 人卵巢癌细胞株 SKOV3、人肾上皮细胞系 293T,均购自上海泽叶生物科技有限公司;人卵巢正常上皮细胞株 IOSE80,购自北京博沃尔斯生物科技有限公司。

药品与试剂 奥拉帕利片,规格:每片 150 mg,批号:039158、081632,注册证号:国药准字 HJ20180049,瑞典 AstraZeneca AB 公司生产。FGF9、信号传导转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcrip-

tion 3, STAT3)、沉默调节蛋白 3(sirtuin 3, SIRT3)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)兔抗人抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗,均购自英国 Abcam 公司;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司生产;荧光素酶报告基因检测试剂盒,美国 Promega 公司生产;葡萄糖检测试剂盒、乳酸代谢试剂盒,均为美国 BioVision 公司生产。

仪器 WD-2102 酶标仪,上海惠诚生物科技有限公司产品;LightCycler96 实时荧光聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪,瑞士罗氏公司产品;Tanon 5200 凝胶成像系统,上海天能科技有限公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养

分别用含 10% 胎牛血清的 DMEM/高糖培养液和 RPMI 1640 培养液在 37℃、5% CO₂、相对湿度 98% 的培养箱内培养 SKOV3 和 IOSE80 细胞,每天换液,每 2~3 d 传代 1 次。293T 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养基于 37℃、5% CO₂ 条件下培养。

2.2 细胞分组与给药方法

将人卵巢癌细胞株 SKOV3 分为对照组(正常培养)、NC inhibitor 组(转染空载体 *miR-NC*)、

miR-425-5p inhibitor 组(转染 miR-425-5p 抑制剂)、si-NC 组(在 miR-425-5p inhibitor 组的基础上转染 si-NC)、si-FGF9 组(在 miR-425-5p inhibitor 组的基础上转染 si-FGF9)。

293T 细胞分为 NC mimic 组($50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 miR-NC 处理)和 miR-425-5p mimic 组($50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 miR-425-5p 模拟物处理),分别与 FGF9-突变型(FGF9-mutant type, FGF9-MUT)和 FGF9-野生型(FGF9-wild type, FGF9-WT)质粒共转染。

2.3 实时荧光定量 PCR (quantitative real time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测 miR-425-5p 和 FGF9 mRNA 在细胞中的相对表达水平^[3]

加入 Trizol 试剂提取各组细胞总 RNA, 用 SYBR Green RT-PCR 试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA 并进行扩增。以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 miR-425-5p 以及 FGF9 的 mRNA 相对表达水平。

2.4 免疫荧光检测 FGF9 的阳性表达情况^[4]

将细胞按每孔 5×10^4 个接种于 12 孔板, 按“2.2”处理后, 收集并制作细胞涂片, 4% 多聚甲醛固定, 通透。加入一抗 4°C 孵育过夜, 加荧光二抗室温孵育 1 h。用含 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚(4', 6-diaminyl-2-phenylindole, DAPI) 染料封片剂封片, 在荧光显微镜下观察。用 Image J 软件分析阳性程度。

2.5 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-425-5p 和 FGF9 靶向关系^[5]

通过 Targetscan 预测发现 miR-425-5p 和 FGF9 存在结合位点, 构建质粒并转染至细胞, 培养 48 h 后进行双荧光素酶报告基因活性检测, 萤火虫荧光素酶活性/海肾荧光素酶活性表示相对荧光素酶活性。

2.6 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(5-ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU) 实验检测细胞增殖率^[6]

将细胞按每孔 1×10^4 个接种于 24 孔板中, 待细胞贴壁生长 48 h 后按照 EdU 试剂盒固定和标记细胞。染色后在荧光显微镜下拍照。用 Image J 软件统计细胞增殖数量, 计算细胞增殖率。

2.7 试剂盒检测各组细胞乳酸生成量和葡萄糖吸收量^[7]

收集各组细胞培养上清液, 按葡萄糖检测试剂盒、乳酸检测试剂盒说明书进行实验操作, 分别加入试剂盒中的酶工作液及显色剂, 37°C 水浴 10 min, 加入反应终止液, 记录各组反应液颜色变化, 取各组反应液加入 96 孔板中, 用酶标仪测定

505 和 530 nm 处的光密度值, 计算细胞葡萄糖吸收量、乳酸生成量。

2.8 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 实验检测各组细胞的存活率^[6]

将细胞按每孔 8×10^3 个接种于 96 孔板, 细胞贴壁后分别用不同浓度奥拉帕利处理(0、5、10、20、40、 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 24 h, 每孔加入 CCK-8 溶液避光孵育 1.5 h, 读取 562 nm 处光密度值, 计算半数抑制浓度 (median inhibitory concentration, IC_{50})。

2.9 蛋白质印迹 (Western blot, WB) 法检测各组细胞 STAT3/SIRT3 信号通路相关蛋白的表达水平^[8]

用 RIPA 蛋白裂解液, 冰上裂解细胞 30 min, 离心并提取总蛋白, 用二辛可宁酸法 (bicinchoninic acid assay, BCA) 试剂盒检测蛋白浓度。经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 分离后, 将蛋白转移至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上, 用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h。加入一抗在 4°C 下孵育过夜; 洗膜 3 次, 加入二抗室温孵育 2 h; 洗膜 3 次, 化学发光显色。以 GAPDH 为内参, 计算各蛋白的相对表达水平。

3 统计学处理

用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用独立样本 t 检验。

结 果

1 miR-425-5p 和 FGF9 mRNA 在 IOSE80 和 SK-OV3 细胞中的表达

IOSE80 细胞和 SKOV3 细胞 miR-425-5p 的相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 和 3.28 ± 0.55 , FGF9 mRNA 的相对表达分别为 1.00 ± 0.15 和 0.43 ± 0.09 , SKOV3 细胞与 IOSE80 细胞比较, miR-425-5p 的表达水平显著升高, FGF9 mRNA 相对表达水平显著降低 (均 $P < 0.001$)。

2 miR-425-5p 和 FGF9 的靶向关系验证

通过 Targetscan 预测发现 miR-425-5p 和 FGF9 存在结合位点, 见图 1。用双荧光素酶报告基因实验验证其靶向关系, 结果显示, NC mimic 组和 miR-425-5p mimic 组的 WT-FGF9 活性分别为 1.00 ± 0.14 和 0.53 ± 0.07 , MUT-FGF9 活性分别为 1.00 ± 0.16 和 1.02 ± 0.15 , miR-425-5p mimic 组与 NC mimic 组比较, 与 WT-FGF9 共转染的荧光素酶活性明显降低 ($P < 0.05$), 与 MUT-FGF9 共转染的荧光素酶活性

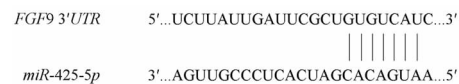


图1 微小RNA(miR)-425-5p和成纤维细胞生长因子9(FGF9)的结合位点预测

Figure 1 Prediction of binding sites of microRNA(miR)-425-5p and fibroblast growth factor 9(FGF9)

没有显著变化($P>0.05$)。qRT-PCR结果显示,NC mimic组和miR-425-5p mimic组的FGF9 mRNA相对表达水平分别为 1.00 ± 0.17 和 0.49 ± 0.06 ,miR-425-5p mimic组与NC mimic组比较,FGF9 mRNA的相对表达水平显著降低($P<0.001$)。

3 miR-425-5p靶向FGF9对卵巢癌细胞增殖的影响

对照组细胞正常培养不转染,NC inhibitor组细胞转染miR-NC,miR-425-5p inhibitor组细胞转染miR-425-5p抑制剂,si-NC组细胞在miR-425-5p inhibitor组基础上转染si-NC,si-FGF9组细胞在miR-425-5p inhibitor组基础上转染si-FGF9。

对照组、NC inhibitor组、miR-425-5p inhibitor组、si-NC组和si-FGF9组的细胞增殖率分别为(86.23 ± 15.04)%、(84.11 ± 14.76)%、(36.12 ± 6.95)%、(34.32 ± 6.62)%和(77.37 ± 12.83)%,miR-425-5p inhibitor组与NC inhibitor组比较,细胞增殖率显著降低($P<0.001$);si-FGF9组与si-NC组比较,细胞的增殖率显著升高($P<0.001$)。

4 miR-425-5p靶向FGF9对卵巢癌细胞葡萄糖代谢的影响

试剂盒检测各组细胞乳酸生成量和葡萄糖吸收量,结果显示,对照组、NC inhibitor组、miR-425-5p inhibitor组、si-NC组和si-FGF9组的相对乳酸生成量分别为 1.00 ± 0.12 、 1.02 ± 0.13 、 0.71 ± 0.09 、

0.74 ± 0.09 和 0.89 ± 0.10 ,相对葡萄糖吸收值分别为 1.00 ± 0.13 、 0.99 ± 0.14 、 0.68 ± 0.08 、 0.70 ± 0.09 和 0.91 ± 0.11 ,miR-425-5p inhibitor组与NC inhibitor组比较,细胞的相对乳酸生成量和相对葡萄糖吸收值均显著降低(均 $P<0.001$);si-FGF9组与si-NC组比较,细胞的相对乳酸生成量和相对葡萄糖吸收值均显著升高($P<0.01$, $P<0.001$)。

5 miR-425-5p靶向FGF9对卵巢癌细胞奥拉帕利耐药性的影响

miR-425-5p inhibitor组与NC inhibitor组比较,20~80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度奥拉帕利处理下的存活率均显著降低($P<0.05$, $P<0.001$),见表1。miR-425-5p inhibitor组的 IC_{50} 值($28.61\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)显著低于NC inhibitor组的 IC_{50} 值($57.00\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $P<0.001$);si-FGF9组与si-NC组比较,20~80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度奥拉帕利处理下的存活率显著升高($P<0.05$, $P<0.001$),且si-FGF9组的 IC_{50} 值($43.40\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)显著高于si-NC组的 IC_{50} 值($26.32\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $P<0.001$)。

6 miR-425-5p靶向FGF9卵巢癌细胞STAT3/SIRT3信号通路相关蛋白的影响

对照组、NC inhibitor组、miR-425-5p inhibitor组、si-NC组和si-FGF9组的STAT3蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18 、 1.01 ± 0.17 、 0.68 ± 0.10 、 0.66 ± 0.09 和 0.88 ± 0.12 ,SIRT3蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.17 、 0.98 ± 0.17 、 1.84 ± 0.28 、 1.85 ± 0.29 和 1.23 ± 0.20 ,miR-425-5p inhibitor组与NC inhibitor组比较,STAT3蛋白相对表达水平显著降低,SIRT3蛋白相对表达水平显著升高(均 $P<0.001$);si-FGF9组与si-NC组比较,STAT3蛋白相对表达水平显著升高,SIRT3蛋白相对表达水平显著降低($P<0.01$, $P<0.001$)。

表1 各组细胞存活率的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of cell survival rate in each group ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Cell survival rate (%)					
		0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
Control	8	100.00 $\pm$ 3.56	96.51 $\pm$ 6.72	88.27 $\pm$ 8.26	74.30 $\pm$ 9.42	63.12 $\pm$ 8.08	44.22 $\pm$ 7.64
NC inhibitor	8	100.00 $\pm$ 4.87	94.36 $\pm$ 6.04	85.64 $\pm$ 9.60	71.11 $\pm$ 9.52	59.86 $\pm$ 9.55	42.40 $\pm$ 7.05
miR-425-5p inhibitor	8	100.00 $\pm$ 4.62	89.69 $\pm$ 8.33	75.91 $\pm$ 9.23	60.85 $\pm$ 8.24*	41.08 $\pm$ 7.72***	22.87 $\pm$ 4.38***
si-NC	8	100.00 $\pm$ 5.44	86.21 $\pm$ 8.02	74.32 $\pm$ 9.89	58.94 $\pm$ 8.57	40.25 $\pm$ 7.02	20.77 $\pm$ 4.03
si-FGF9	8	100.00 $\pm$ 4.71	93.26 $\pm$ 7.99	83.63 $\pm$ 8.06	69.41 $\pm$ 8.32 Δ	55.71 $\pm$ 7.68 $\Delta\Delta\Delta$	31.80 $\pm$ 5.90 $\Delta\Delta\Delta$

Control group: Normal culture; NC inhibitor group: miR-NC was transfected; miR-425-5p inhibitor group: Transfected with miR-425-5p inhibitor; si-NC group: si-NC was transfected with miR-425-5p inhibitor group; si-FGF9 group: si-FGF9 was transfected with miR-425-5p inhibitor group; Compared with NC inhibitor group, * $P<0.05$, *** $P<0.001$; Compared with si-NC group, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta\Delta P<0.01$.

讨 论

miR-425-5p 位于人染色体,广泛表达于心、肝、肺及免疫系统。已有研究证实,*miR-425-5p* 在胰腺癌、肺癌中呈高表达状态^[9]。后爽等^[10]研究发现,*miR-425-5p*是导致子宫内膜癌患者疗效不良的危险因素,*miR-425-5p*表达上调能促进癌细胞增殖、迁移及侵袭。FGF9 是成纤维细胞生长因子家族成员之一,与肿瘤发生、增殖、侵袭及肿瘤细胞浸润密切相关。本研究发现,卵巢癌细胞与正常卵巢上皮细胞相比,*miR-425-5p*表达水平显著升高,FGF9 的表达水平显著降低,*miR-425-5p*靶向负调控 FGF9 的表达,下调 *miR-425-5p* 水平会抑制卵巢癌细胞增殖,在此基础上敲低 FGF9 则会得到相反的结果,提示 *miR-425-5p* 可能通过抑制 FGF9 表达进而促进卵巢癌细胞增殖。

细胞代谢重编程是重要的“癌症特征”之一,在肿瘤细胞中,为适应微环境、无限增殖,其代谢模式会发生系统性的调整和转变。葡萄糖和乳酸是肿瘤细胞进行糖酵解的原料和代谢产物。肿瘤细胞无论在常氧或低氧状态下,都以糖酵解作为主要能量代谢途径,乳酸的累积形成酸性微环境,有利于肿瘤发生发展、免疫逃逸等。STAT3 参与多种生物学过程,对细胞增殖、分化和血管生成起到重要调节作用。研究表明,缺氧条件下 STAT3 调节甲状腺癌的糖酵解、生长和转移^[11]。Sirtuins 家族是高度保守的蛋白,参与多种生物功能如代谢酶的调控。有研究发现,SIRT3 在乳腺癌、肝癌及卵巢癌中具有显著的抑制肿瘤细胞的作用^[12]。本研究发现,下调 *miR-425-5p* 水平会减少细胞乳酸生成量和葡萄糖吸收量、STAT3 的表达水平降低、SIRT3 的表达水平升高,在此基础上敲低 FGF9 则得到相反的结果,提示 STAT3 与 SIRT3 可能存在负向调控,*miR-425-5p* 可能通过抑制 FGF9 表达进而促进 SKOV3 细胞糖酵解。

多腺苷二磷酸核糖聚合酶失活会导致脱氧核糖核酸断裂增多,促进癌细胞凋亡。奥拉帕利耐药机制包括基因突变、同源重组修复和非同源重组修复的失衡和恢复停滞的复制叉的稳定性,临床通过联合血管生成药物、细胞周期检查点抑制药、信号传导通路抑制药等方法改善耐药性^[13]。本研究通过浓度递增诱导法构建耐药细胞株,检测细胞系的 IC₅₀ 评估耐药情

况。结果显示,下调 *miR-425-5p* 水平能降低细胞在 20~80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的奥拉帕利处理下的存活率,且 IC₅₀ 值降低,在此基础上敲低 FGF9 则得到相反的结果,提示降低 *miR-425-5p* 水平能逆转卵巢癌细胞奥拉帕利耐药性。

本研究提示:*miR-425-5p* 会促进卵巢癌细胞的增殖、葡萄糖代谢,降低细胞对奥拉帕利的敏感性,可能与抑制 FGF9 表达,进而促进 STAT3/SIRT3 信号通路有关。

参考文献:

- [1] 李洁,姜洁. 卵巢癌靶向治疗应用及进展[J]. 中国妇产科临床杂志,2024,25(4): 289—291.
- [2] 单国梅. 奥拉帕利联合 TP 化疗治疗晚期卵巢癌患者的疗效及毒副反应分析[J]. 医学信息,2024,37(8): 140—143.
- [3] 宋玉芳,张前,刘英杰,等. *miR-425-5p* 调节 PTEN/PI3K/AKT 轴对卵巢癌细胞顺铂敏感性的影响[J]. 中国细胞生物学学报,2023,45(8): 1182—1192.
- [4] 王悦,苏荣健,张蕴莉. 黄芩素下调 NF- κ B/Bcl-2 通路诱导卵巢癌 Skov3 细胞凋亡[J]. 中国妇产科临床杂志,2023,24(5): 460—463.
- [5] 刘海忠,韩玉花,任灵,等. *miR-129-5p* 靶向 KLK7 对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖和侵袭的影响及分子机制[J]. 解剖科学进展,2024,30(2): 186—189.
- [6] 舒美玲,吴悦,叶映泉,等. 华蟾素调控 PI3K/AKT 通路逆转卵巢癌 A2780/DDP 细胞顺铂耐药的作用机制[J]. 安徽医科大学学报,2024,59(4): 671—677,741.
- [7] 孙小单,赵沛妍,刘旭莹,等. SIRT5 调控卵巢癌细胞侵袭转移及糖酵解的机制研究[J]. 肿瘤预防与治疗,2024,37(5): 385—392.
- [8] 姚慧欣,高丹,李化敏,等. *miR-628-3p* 靶向结合 STK17B 基因对卵巢癌进展的抑制作用[J]. 中国生物制品学杂志,2024,37(4): 409—419.
- [9] 刘毅力,郭冲,尹恒,等. 环状 RNA *circ-TAGLN* 在卵巢癌细胞中的表达及对卵巢癌细胞增殖和侵袭的影响[J]. 陕西医学杂志,2024,53(2): 147—151.
- [10] 后爽,张欣萍,董蕾,等. 子宫内膜癌患者血清 *miR-425-5p* 与 *miR-155* 表达水平[J]. 河南医学高等专科学校学报,2024,36(2): 197—202.
- [11] HUO N, CONG R, SUN Z J, et al. STAT3/LINC00671 axis regulates papillary thyroid tumor growth and metastasis via LDHA-mediated glycolysis [J]. *Cell Death Dis*,2021,12(9):799.
- [12] 董德录. HSP90/SIRT3/SOD2 途径调控线粒体蛋白输入参与卵巢癌细胞耐药的机制研究[D]. 吉林 长春:吉林大学,2021.
- [13] 梁美侨,左瑜芳,官成浓. 卵巢癌中 PARP 抑制剂耐药机制及耐药后再次使用 PARP 抑制剂的研究进展[J]. 中国肿瘤,2024,33(8): 683—692.

(收稿日期 2024-08-19)