

PlncRNA-1 通过吸附 miR-141-3p 调控雄激素受体表达对前列腺癌细胞增殖的影响

杨 栋,赵鹏程,马 彦,马 静,任 乐,何朝宏
(郑州大学附属肿瘤医院(河南省肿瘤医院),河南 郑州 450008)

摘 要:[目的] 探讨前列腺癌组织长链非编码 RNA1(plncRNA-1)对雄激素受体(AR)的调控机制,以及对前列腺癌细胞 LNCaP 增殖能力的影响。[方法] 体外培养 LNCaP 细胞和 PC3 细胞,利用 RT-PCR 法和 Western blot 法检测 plncRNA-1、AR、miR-141-3p 在两种细胞中的表达差异。利用荧光原位杂交(FISH)确定 plncRNA-1 亚细胞定位和核质分离确定 plncRNA-1 在 LNCaP 细胞中的定位,并通过 RNA pull-down 实验验证 plncRNA-1 和 AR 是否结合。采用瞬时转染法分别将 sh plncRNA-1 和阴性对照序列(sh NC)转染至 LNCaP 细胞中,另外设置空白对照组(Blank)。利用 RT-PCR 法和 Western blot 法检测下调 plncRNA-1 表达后对 AR、miR-141-3p 的影响。MTT 法检测 Blank 组、sh NC 组、sh plncRNA-1 组细胞增殖能力的差异。采用双荧光素酶报告基因方法验证 plncRNA-1 和 miR-141-3p,以及 miR-141-3p 和 AR 的结合关系。[结果] LNCaP 细胞中 plncRNA-1 表达量和 AR 的转录水平高于 PC3 细胞,miR-141-3p 表达量却降低($P<0.05$)。FISH 和核质分离实验发现 plncRNA-1 主要定位于细胞质。RNA pull-down 实验证实 plncRNA-1 并不能直接与 AR 结合。而双荧光素酶报告基因分析显示 miR-141-3p 既有 plncRNA-1 的结合位点,也有 AR 的结合位点。下调 plncRNA-1 表达后,sh plncRNA-1 组 LNCaP 细胞中 plncRNA-1 表达量降低,增殖活性也相应降低,但是 miR-141-3p 的表达量却明显升高,且 AR 蛋白的表达量也较 Blank 组和 sh NC 组细胞明显降低($P<0.05$)。[结论] plncRNA-1 通过吸附 miR-141-3p 调控雄激素受体的表达,从而保护 AR 的表达和功能活性,下调 plncRNA-1 表达可降低 AR 的表达,抑制 LNCaP 细胞的增殖活性。

关键词:雄激素受体;前列腺癌;miR-141-3p;长链非编码 RNA;增殖

中图分类号:R737.25 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2020)02-0154-07

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2020.02.A012

PlncRNA-1 regulates Androgen Receptor by Sponging miR-141-3p and Its Effect on Proliferation of Prostate Cancer Cells

YANG Dong,ZHAO Peng-cheng,MA Yan,MA Jing,REN Le,HE Zhao-hong
(Henan Cancer Hospital,Zhengzhou 450008,China)

Abstract:[Purpose] To investigate the mechanism of prostate cancer long non-coding RNA1(plncRNA-1) in regulation of androgen receptor (AR) and its effect on the proliferation of prostate cancer cells.[Methods] The expression of plncRNA-1,AR,miR-141-3p in prostate cancer LNCaP and PC3 cells were detected by qRT-PCR and Western blot. The distribution of plncRNA-1 in LNCaP cells was observed by fluorescence in situ hybridization (FISH). Coimmunoprecipitation of plncRNA-1 and AR was detected by RNA pull-down method. The plncRNA-1 shRNA(sh plncRNA-1 group) and negative sequence(sh NC group) were designed,synthesized and transfected into LNCaP cells. LNCaP cells without any treatment was served as blank group. The plncRNA-1,AR,miR-141-3p levels in blank group,sh NC group and sh plncRNA-1 group were also detected. And the proliferation of LNCaP cells in each group was detected by MTT. The dual luciferase reporter gene system was used to confirm the correlation of miR-141-3p with plncRNA-1 and AR. [Results] The plncRNA-1 and AR levels in LNCaP cells were higher than those in PC3 cells,but miR-141-3p expression was lower ($P<0.05$). PlncRNA-1 was mainly expressed in the cytoplasm of LNCaP cells,and was not significantly enriched in RNAs coimmunoprecipitation with AR. The dual luciferase reporter gene system showed that there would be the binding sites in miR-141-3p with plncRNA-1 and AR mRNA respectively. After down-regulation of plncRNA-1,plncRNA-1 and AR levels in sh plncRNA-1 group were decreased and miR-141-3p level was increased compared to blank group and sh NC group ($P<0.05$). Moreover,the proliferation activity of LNCaP cells in sh plncRNA-1 group was also inhibited.[Conclusion] The study shows that plncRNA-1 protects AR expression and its activity. Down-regulation of plncRNA-1 could inhibit the proliferation of prostate cancer cells LNCaP by sponging miR-141-3p.

Key words:androgen receptor;prostate cancer;miR-141-3p;long non-coding RNA;proliferation

收稿日期:2019-06-11;修回日期:2019-08-22

基金项目:2018 年度河南省医学科技攻关计划项目(2018020506)

通信作者:何朝宏,E-mail:hechaohong11@hotmail.com

前列腺癌的发生、发展十分复杂,除了与编码蛋白质的 RNA 转录异常有关外,非编码 RNA(non-coding RNA,ncRNA)在其中也发挥着关键作用^[1]。到目前为止,发现的主要 ncRNA 包括长链非编码 RNA(long non-coding RNA,lncRNA),小分子 RNA(micro RNA,miRNA),假基因等,以 lncRNA 最多见,约占 ncRNA 的 80%左右^[2]。lncRNA 与 miRNA 相辅相成,相互影响。有研究显示,部分 lncRNA 具有内源性“miRNA 海绵吸附”的功能,通过与 mRNA 竞争性结合 miRNA,进而抑制 miRNA 的表达及下游靶基因的调控^[3]。2014 年, Lee 等^[4]学者首次采用微矩阵基因芯片的技术筛选出部分在前列腺癌组织中表达异常的 lncRNAs,其中前列腺癌组织中长链非编码 RNA1(plncRNA-1)表达较癌旁正常组织明显上调。不仅如此,Cui 等^[5]学者还发现,plncRNA-1 在雄激素依赖性前列腺癌细胞系中的表达明显高于其他前列腺癌细胞,推测 plncRNA-1 在雄激素依赖性前列腺癌向雄激素非依赖性转化过程中可能发挥着一定的生物学作用。但是其具体的调控机制尚未得到证实。在前期预实验中,我们通过 miRanda 靶点预测软件,筛选出 miR-141-3p 可能与 plncRNA-1 具有“竞争性内源 RNA”的调控关系,因此本研究假设 plncRNA-1 是通过吸附 miR-141-3p 机制影响雄激素受体(androgen receptor,AR)的表达,并通过一系列实验证实沉默 plncRNA-1 对 LNCaP 细胞增殖、侵袭、转移、AR 表达的影响,为前列腺癌靶向 AR 治疗提供潜在靶点和理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人雄激素依赖性前列腺癌细胞系 LNCaP、人去势抵抗前列腺癌细胞系 PC3 购自中国科学院上海生命科学研究细胞库,置于液氮中由本课题组保存。RPMI1640 培养基、特级胎牛血清(fetal bovine serum,FBS),青霉素/链霉素双抗(Gibco 公司);TRIzol 总 RNA 提取试剂、细胞转染试剂 LipofectamineTM 2000、四甲基偶氮唑盐(MTT)试剂(Invitrogen 公司);One Step PrimeScript cDNA Synthesis Kit 逆转录试剂盒和 SYBR Premix Ex TaqTM II 试剂盒(TAKARA 公司);采用生物素标记的 LNA 反义

plncRNA-1 探针、sh plncRNA-1 序列、阴性无序序列构建及序列鉴定委托上海 Genepharma 公司完成;RIPA 裂解液、BCA 蛋白测定试剂盒、TSATM 试剂盒(博士德生物公司);AR 兔抗人单克隆抗体和羊抗兔辣根过氧化物酶标二抗(GAR-IgG-HAR)(Abcam 公司)。RIP 试剂盒(Millipore 公司);荧光素酶报告基因检测试剂盒(碧云天公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

将 LNCaP、PC3 细胞分别培养在含有 10% FBS、100IU/ml 青-链霉素双抗的 RPMI1640 培养基中,培养条件如下:37℃,5% CO₂ 细胞培养箱,隔日更换新鲜培养液,待细胞融合率达到 70%~90%时传代。收集对数期生长细胞进行后续实验。

1.2.2 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测 plncRNA-1 和 miR-141-3p 表达量

TRIzol 法提取细胞总 RNA,质量检测如下:琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性,采用紫外分光光度计检测 RNA 溶液光密度(optical density,OD)值,若 OD_{260nm}/OD_{280nm} 比值为 1.8~2.0,则样品合格,可用于后续实验。将细胞总 RNA 逆转录为 cDNA。冰浴中配制 10μl PCR 反应体系:上、下游引物各 0.2μl+2×SYBR Green I Master 5μl+cDNA 模板 1μl+适量去离子水。参数设置如下:95℃预变性 5min,95℃变性 5s,60℃退火 30s,72℃延伸 30s,36 个循环后,从 60℃缓慢升至 97℃,充分延伸并收集荧光信号,绘制溶解曲线。PlncRNA-1 和 miR-141-3p 分别以 GAPDH 和小分子 U6 作为内参。以 2^{-ΔΔCt} 表示目的基因的相对表达量。

1.2.3 荧光原位杂交(FISH)确定 plncRNA-1 亚细胞定位

将细胞爬片(盖玻片)用 4%多聚甲醛固定,PBS 冲洗去除固定液后,依次进行如下操作:甘氨酸处理 5min,PBS 冲洗;0.4% TritonX-100 处理 15min,PBS 冲洗,蛋白酶 K 处理 15min,PBS 冲洗;4%多聚甲醛固定,PBS 冲洗;0.25%乙酸酐处理 10min,PBS 冲洗后晾干。将盖玻片置于载玻片上,滴加杂交液预处理 1h。滴加生物素标记的 plncRNA-1 探针杂交液孵育 16h,然后滴加碱性磷酸酶标记的抗生物素抗体(1:1000 稀释)继续杂交 16h。滴加荧光标记的二抗(1:2000 稀释),用 DAPI 染细胞核后在荧光显微镜下观察。

1.2.4 RNA pull-down 检测确定 plncRNA-1 和 AR 的关系

构建 T7-plncRNA-1 核酸探针,根据 RIP 试剂盒说明书进行操作。将得到的 pull-down 产物进行蛋白免疫印迹(western-blot)检测。

1.2.5 核质分离

将贴壁生长的 LNCaP 细胞置于冰浴中,加入细胞裂解液 10min,整个实验过程按照 Ambion PARIS™ 试剂盒进行。收集裂解液,3000r/min 离心 10min(离心半径为 10cm),上清为细胞质,沉淀部分主要为细胞核。将上清液置于冰浴中,对沉淀部分进一步裂解,置于冰浴中,提取 RNA 并进行 qRT-PCR。

1.2.6 Western blot 法检测 AR 蛋白表达

收集对数期生长的 LNCaP 细胞 ($1 \times 10^5/\text{ml}$),加入预冷的 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白样品。应用 Bradford 法对定量蛋白含量。进行 10% SDS-PAGE 电泳,将蛋白条带转移至 PVDF 膜上,滴加 AR 抗体(1:200 稀释)4℃摇床过夜。TBST 洗膜,加入二抗室温孵育,洗膜,取适量的 ECL 试剂显影 5min。以 GAPDH 作为内参,以 $\text{IOD}_{\text{目标蛋白}}/\text{IOD}_{\text{GAPDH}}$ 表示最终结果。

1.2.7 荧光素酶报告基因检测 plncRNA-1 野生型质粒的荧光素酶活性

通过生物学信息软件预测 plncRNA-1 和 miR-141-3p 的结合位点序列,采用 Xba I 和 Fse I ($10\text{U}/\mu\text{l}$)对 pGL3.0 荧光素酶报告载体进行双酶切,在 T4 DNA 连接酶作用下,将设计好的 plncRNA-1 序列连接至 pGL3.0 载体上,并进行扩增。利用基因突变技术将结合位点序列进行突变,构建 plncRNA-1 突变质粒。用 plncRNA-1 野生质粒、突变质粒分别与 miR-141-3p mimics 共转染细胞,后续操作按照试剂盒说明书进行,采用 Promega GloMax™ 20/20 发光检测仪检测荧光素酶活性。

1.2.8 细胞转染和分组

提前 24h 将对数期生长的 LNCaP 细胞 ($1 \times 10^5/\text{孔}$)接种到 6 孔板中,置于不含青-链霉素双抗的 RPMI1640 培养基中,将细胞分为空白对照组、阴性对照(sh NC)组、sh plncRNA-1 组,每组设置 6 个复孔。空白对照组 LNCaP 细胞不作任何处理。sh NC 和 shplncRNA-1 组 LNCaP 细胞按照 Lipofectamine™

2000 脂质体转染说明书进行转染处理,转染步骤如下:将脂质体分别与 sh NC(上游序列:5'-UUC UGG GUU AAA CUA GGG UCU UGG-3';下游序列:5'-UGA ACC CCC UGA UUU UCU CGC-3')或 sh-plncRNA-1(上游序列:5'-GGG CGA UCG TGU CUA UUU UGG CGG-3';下游序列:5'-UCC GGU GGG UCG AUU AAA CAU CGU UUG-3')混合后,加入至细胞中,培养箱中放置 6h;更换为含有 10% FBS 和青-链双抗的完全 RPMI1640 培养液继续培养。提取细胞 RNA,经 qRT-PCR 法验证转染效率。sh NC 和 sh plncRNA-1 委托上海吉玛公司构建。

1.2.9 MTT 法检测细胞增殖活性

将空白对照组、sh NC 组和 sh plncRNA-1 组中的 LNCaP 细胞 ($1 \times 10^3/\text{孔}$)单层接种至 96 孔板中,每组设置 8 个复孔,置于 37℃、5% CO_2 细胞培养箱中分别培养 12h、24h、48h、72h、96h,每孔加入 20μl MTT,孵育 4h,弃上清,加入 200μl DMSO,显微镜下观察紫色结晶物溶解情况。应用 iMake 酶标仪检测波长为 490nm 处的吸光度(A)值。以时间为横坐标, A490nm 值为纵坐标,绘制时间—效应曲线图。

1.3 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计学软件进行处理。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$)表示,进行 ANOVA 和 LSD-t 检验; $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

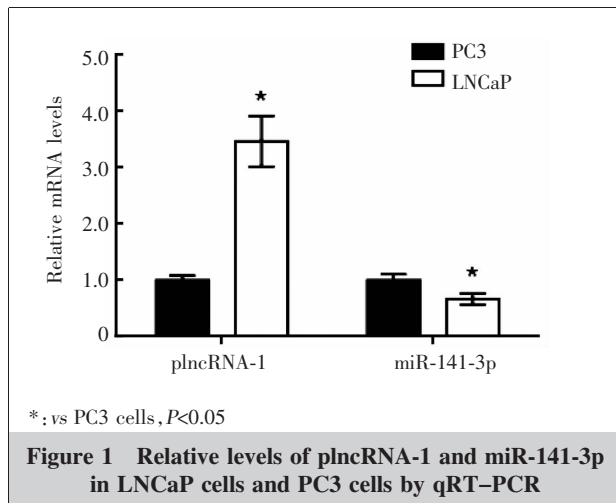
2 结 果

2.1 qRT-PCR 法检测 LNCaP、PC3 细胞中 plncRNA-1 和 miR-141-3p 表达差异

经 qRT-PCR 法检测,雄激素依赖性细胞 LNCaP 中 plncRNA-1 的表达量 (3.37 ± 0.74)明显高于去势抵抗(非 AR 依赖性)细胞 PC3 (1.00 ± 0.10),差异有统计学意义 ($t=8.977, P=0.000$)。但是与 PC3 细胞相比, LNCaP 细胞中 miR-141-3p 的表达量 (0.75 ± 0.13)却明显降低,差异有统计学意义 ($t=4.311, P=0.001$)(Figure 1)。

2.2 PlncRNA-1 对 AR 表达的影响

经 qRT-PCR 法检测,转染 LNCaP 细胞中 sh plncRNA-1 的表达后,sh plncRNA-1 组 LNCaP 细胞中 plncRNA-1 表达量 (0.45 ± 0.08)明显降低,但是 miR-141-3p 的表达量 (1.28 ± 0.14)明显升高,与空白



对照组和 sh NC 组细胞比较, 差异有统计学意义 (plncRNA-1: $F=80.527, P<0.000$; miR-141-3p: $F=14.038, P<0.000$) (Figure 2)。而且经 western-blot 法检测, 不仅 LNCaP 细胞中 AR 的表达量 (1.67 ± 0.23) 明显高于 PC3 细胞 (0.97 ± 0.18), 差异有统计学意义 ($t=6.779, P<0.000$); 而且 sh plncRNA-1 组 LNCaP 细胞中 AR 蛋白的表达量 (0.70 ± 0.15) 较 Blank 组和 sh NC 组也明显降低, 差异有统计学意义 ($F=17.291, P<0.000$) (Figure 3)。

2.3 PlncRNA-1 在 LNCaP 细胞中的定位

经 FISH 法检测, plncRNA-1 主要定位于 LNCaP 细胞的细胞质, 但是在胞核中也有少量分布 (Figure 4)。经核质分离后, 进行 qRT-PCR 法检测, LNCaP 细胞质中 plncRNA-1 表达量 ($12.58\% \pm 1.64\%$) 明显高于细胞核 ($1.72\% \pm 0.48\%$), 差异有统计学意义 ($t=17.982, P<0.000$) (Figure 5)。

2.4 PlncRNA-1 和 AR 在 LNCaP 细胞中共定位情况

在 LNCaP 细胞中通过 AR 抗体进行 RNA pull-down 实验, 并未发现 plncRNA-1 和 AR 有共定位现象。经 Western blot 法验证, 证实 plncRNA-1 并不直接与 AR 蛋白结合 (Figure 6)。

2.5 双荧光素酶报告基因分析

2.5.1 PlncRNA-1 和 miR-141-3p 的靶向关系

应用在线数据库 (www.microrna.org) 预测 plncRNA-1 和 miR-141-3p 可能的靶向关系。Figure 7 显示的是 plncRNA-1 序列与 miR-141-3p 互补的区域。通过构建含有靶基因野生型或突变型 plncRNA-1 3'-UTR 的荧光酶报告基因质粒来检测细胞内源性 miR-141-3p 与 plncRNA-1 的靶向调控

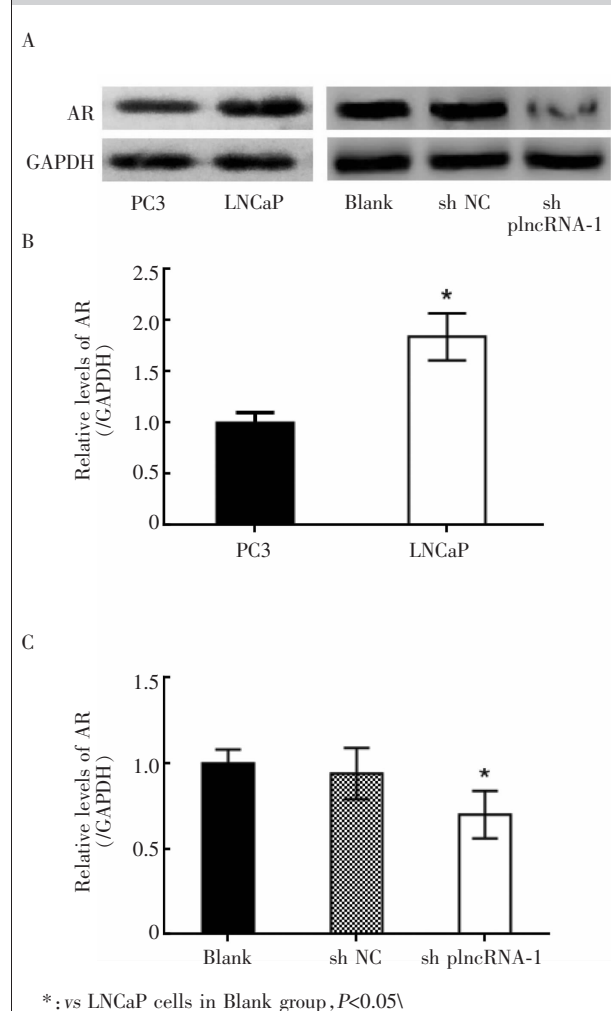
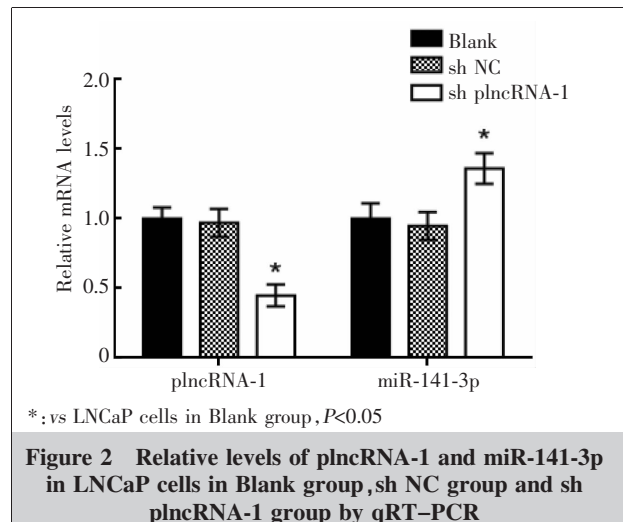
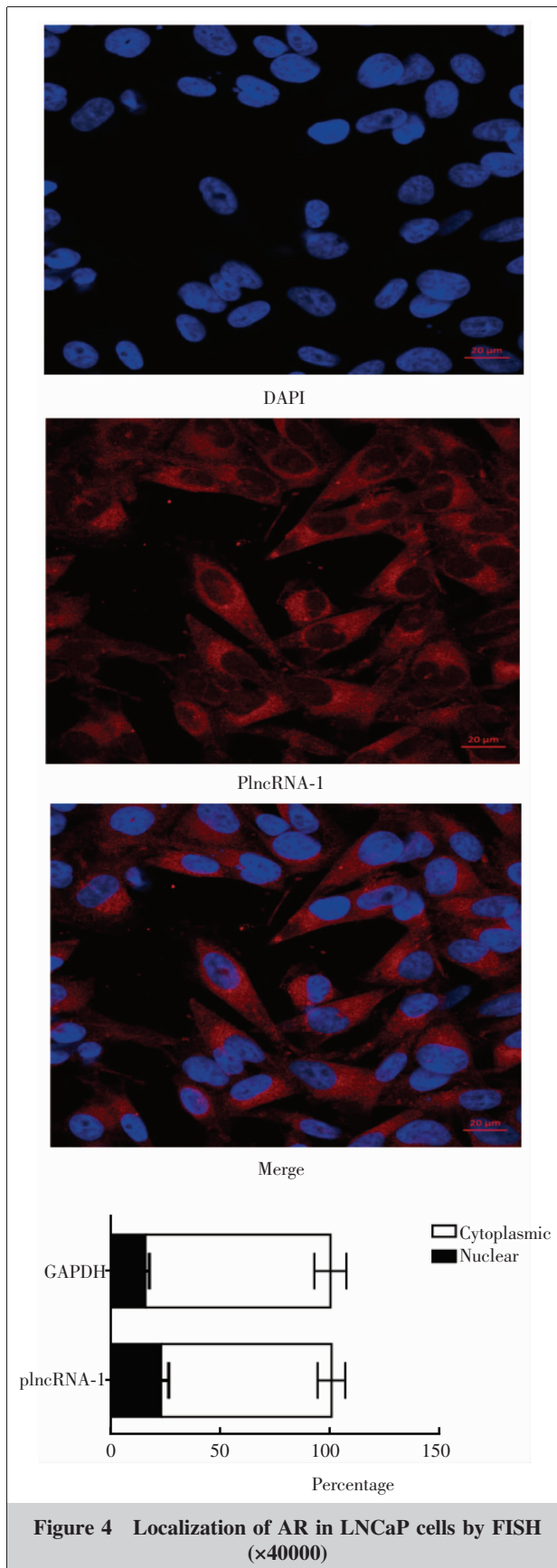


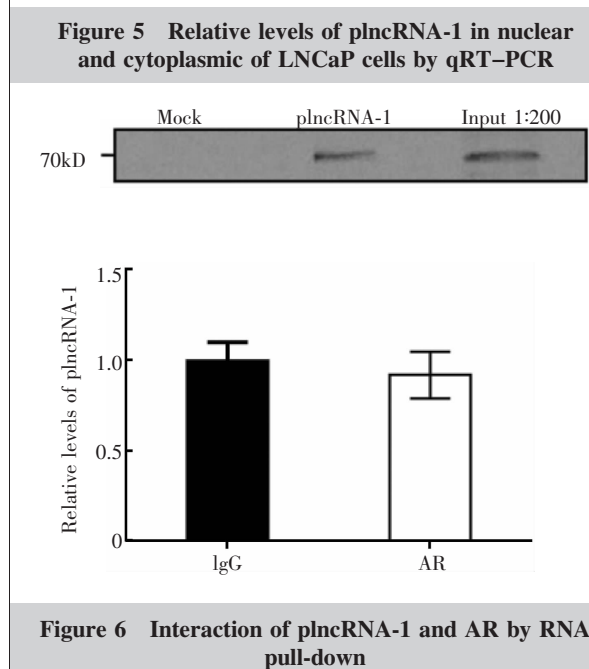
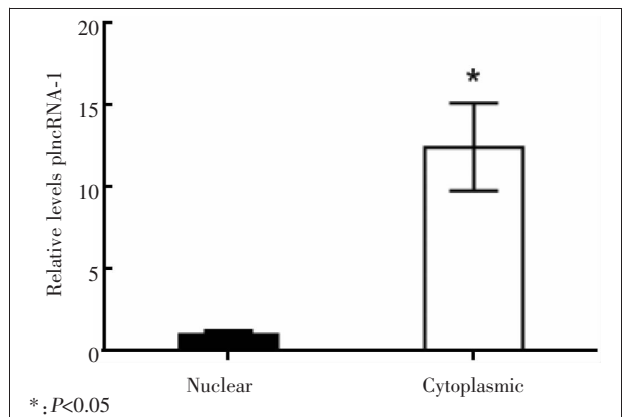
Figure 3 Relative levels of AR in PC3 cells and LNCaP cells in Blank group, sh NC group and sh plncRNA-1 group by Western blot (A), AR protein expressions in PC3 cell and LNCaP cell via Western blot (B), AR protein expressions of LNCaP cell in Blank group, sh NC group, sh plncRNA-1 group via Western blot (C)



关系。克隆了野生型 plncRNA-1 3'-UTR 的基因报告质粒同 miR-141-3p mimics 共转染之后, 荧光酶活性被明显减弱 (1.00 ± 0.12 vs 0.50 ± 0.10 , $t=9.054$, $P<0.000$), 其对荧光酶活性的抑制作用达到了 58.13%, 而将突变型 plncRNA-1 的基因报告质粒与 miR-141-3p mimics 共转染之后, 并没有对荧光素酶活性产生明显影响。

2.5.2 MiR-141-3p 和 AR 的靶向关系

通过构建含有靶基因野生型或突变型 AR 3'-UTR 的荧光酶报告基因质粒来检测细胞内源性 miR-141-3p 对 AR 的抑制作用。克隆了野生型 AR 3'-UTR 的基因报告质粒同 miR-141-3p mimics 共转染之后, 荧光酶活性被明显减弱 (1.00 ± 0.09 vs 0.38 ± 0.06 , $t=16.209$, $P<0.000$), 而将突变型 AR 3'-UTR 的基因报告质粒与 miR-141-3p mimics 共转染之后,



其并没有对荧光素酶活性产生明确影响(Figure 8)。

2.6 下调 plncRNA-1 表达对 LNCaP 细胞增殖活性的抑制作用

经 MTT 法检测, 转染 plncRNA-1 shRNA 12h、24h、48h、72h、96h 后, LNCaP 细胞 A_{490nm} 值分别为

(0.179 ± 0.040)、(0.356 ± 0.079)、(0.428 ± 0.084)、(0.693 ± 0.105)、(0.948 ± 0.167), sh plncRNA-1 组 LNCaP 细胞的增殖活性明显低于 Blank 组和 sh NC 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)(Figure 9)。

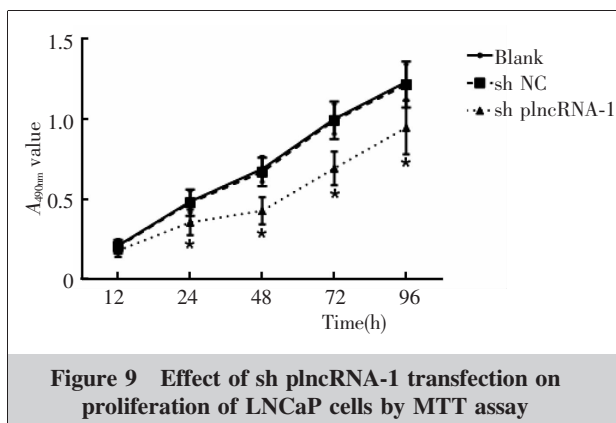
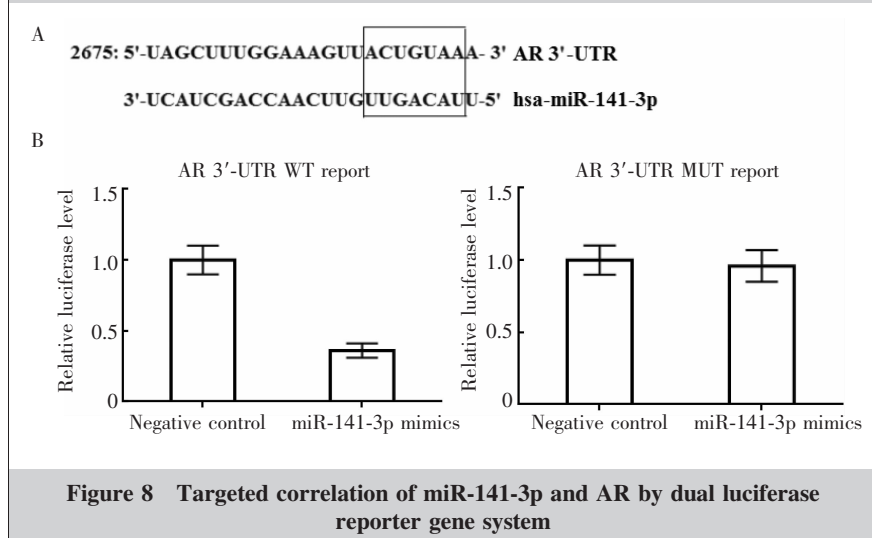
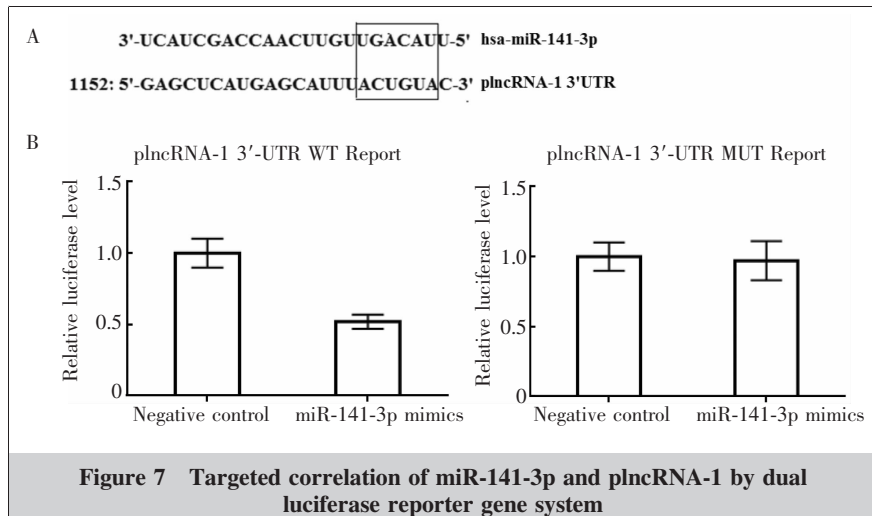
3 讨论

相较于西方国家,我国前列腺癌的发病率相对较低,但是据最新流行病学数据统计,在 60 岁以上男性人群中,前列腺癌的发病率逐年上升^[6]。前列腺癌发病早期,多数患者属于雄激素依赖型,可采用内分泌治疗或去势手术抑制雄激素的分泌^[7]。但是经过一段时间治疗后,患者往往会出现继发性耐药,这可能与肿瘤细胞多转化为雄激素非依赖性的去势抵抗型前列腺癌有关,临床实践证实这是导致患者临床治疗失败、复发转移、甚至死亡的主要原因^[8]。

近 10 年来,随着生物信息学技术的发展,ncRNA 的发现和深入研究为肿瘤的治疗提供了新的思路。其中 lncRNA 占 ncRNA 的 80%以上,在细胞的生物学行为中也发挥着重要作用。2013 年, Cui 等^[5]学者通过 RNA 测序技术发现 plncRNA-1 在前列腺癌细胞中的出现频率

明显升高,并且可能与 AR 相互调节。但是具体的调控机制尚不明确。在本研究中,我们首先证实 AR 依赖性细胞 LNCaP 中 plncRNA-1 的表达量明显高于去势抵抗(非 AR 依赖性)细胞 PC3,而且 LNCaP 细胞中 AR 表达量明显高于 PC3 细胞。为了证实两者之间是否有关联,我们下调了 LNCaP 细胞中 plncRNA-1 的表达,结果发现 sh plncRNA-1 组 LNCaP 细胞中 AR 的表达量明显降低,说明 plncRNA-1 对 AR 的表达有一定的调控作用。

LncRNA 由于在转录水平远远低于蛋白编码



RNA,结构保守性差,往往作为信号分子、诱饵、中间媒介等与其他 miRNA、mRNA、蛋白质等交流,参与肿瘤细胞的恶性生物学过程^[9]。目前关于 lncRNA 的研究尚处于起步阶段,众多学者提出 lncRNA 可能是 miRNA 的前体物质,而 miRNA 是 lncRNA 发挥作用最重要的环节^[10]。lncRNA 和 miRNA 的相互作用机制可归纳为三方面:①与 miRNA 竞争性结合下游 mRNA;②某些 lncRNA 可被降解为成熟的 miRNA;③部分 lncRNA 具有“miRNA 海绵吸附”作用^[11]。在本研究中,我们通过 FISH 和 RNA pull-down 实验,发现 plncRNA-1 主要表达于 LNCaP 细胞的细胞质中,胞核中也存在少量表达。但是与 AR 并不存在共定位,说明 plncRNA-1 并不能直接结合 AR,因此可能是通过作用于某些 miRNA,进而调控下游靶通路或靶蛋白的表达。本研究中,我们已证实 plncRNA-1 主要表达于 LNCaP 细胞的细胞质中,而 miRNA 主要成熟的场所同样也是细胞质^[12],这就为两者的相互作用提供了有利的空间基础。

考虑到 plncRNA-1 可能通过“海绵吸附”作用,抑制某些 miRNA 对 AR 受体的影响^[13],我们通过在数据库(www.microrna.org)筛选,发现 miR-141-3p 与 plncRNA-1 具有互补结合域,并经双荧光素酶基因报告分析 plncRNA-1 可靶向结合 miR-141-3p。不仅如此,在 LNCaP 细胞中,下调 plncRNA-1 的表达后,miR-141-3p 表达量相应增加,说明两者之间确实存在某种调控关系。而 miR-141-3p 与前列腺癌细胞 LNCaP 增殖、转移、AR 表达的关系早已得到普遍证实。MiR-141 属于 miR-200 家族成员之一,可分为 miR-141-3p 和 miR-141-5p 两种成熟的 miRNA^[14]。2015 年, Wang 等^[15]学者证实上调 LNCaP 细胞中 miR-141-3p 的表达后,AR 的 mRNA 和蛋白表达量明显降低。在本研究中,我们同样是在数据库发现,AR 基因的 3'-UTR 区域有 miR-141-3p 的结合位点。通过双荧光素酶基因报告分析也进一步证实,AR 是 miR-141-3p 直接作用的靶基因。AR 是前列腺癌的关键调节因子,在本研究中,我们通过下调 LNCaP 细胞中 plncRNA-1 的表达后,发现 AR 表达量降低,而且细胞增殖活性也受到明显抑制。说明 plncRNA-1 不仅与 AR 表达量有关,也可调控 AR 的生物学活性。

综上所述,plncRNA-1 在前列腺癌细胞 LNCaP

中表达量明显升高,并且可以通过吸附 miR-141-3p 降低 miR-141-3p 对 AR 表达和功能活性的抑制作用,进而起到保护 AR 的作用。提示 plncRNA-1 有望成为前列腺癌治疗的潜在靶点。

参考文献:

- [1] Bijnsdorp IV, van Royen ME, Verhaegh GW, et al. The non-coding transcriptome of prostate cancer: implications for clinical practice[J]. *Mol Diagn Ther*, 2017, 21(4): 385-400.
- [2] Anastasiadou E, Jacob LS, Slack FJ. Non-coding RNA networks in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(1): 5-18.
- [3] Zhang GL, Pian C, Chen Z, et al. Identification of cancer-related miRNA-lncRNA biomarkers using a basic miRNA-lncRNA network[J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0196681.
- [4] Lee B, Mazar J, Aftab MN, et al. Long noncoding RNAs as putative biomarkers for prostate cancer detection[J]. *J Mol Diagn*, 2014, 16(6): 615-626.
- [5] Cui Z, Ren S, Lu J, et al. The prostate cancer-up-regulated long noncoding RNA PlncRNA-1 modulates apoptosis and proliferation through reciprocal regulation of androgen receptor[J]. *Urol Oncol*, 2013, 31(7): 1117-1123.
- [6] Zhu Y, Wang HK, Qu YY, et al. Prostate cancer in East Asia: evolving trend over the last decade [J]. *Asian J Androl*, 2015, 17(1): 48-57.
- [7] Nevedomskaya E, Baumgart SJ, Haendler B. Recent advances in prostate cancer treatment and drug discovery[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5). pii: E1359.
- [8] Wade CA, Kyprianou N. Profiling prostate cancer therapeutic resistance[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3). pii: E904.
- [9] Wang G, Zhao D, Spring D, et al. Genetics and biology of prostate cancer[J]. *Genes Dev*, 2018, 32(17-18): 1105-1140.
- [10] Paul Y, Thomas S, Patil V, et al. Genetic landscape of long noncoding RNA(lncRNAs) in glioblastoma: identification of complex lncRNA regulatory networks and clinically relevant lncRNAs in glioblastoma[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(51): 29548-29564.
- [11] Zhang Y, Xu Y, Feng L, et al. Comprehensive characterization of lncRNA-mRNA related ceRNA network across 12 major cancers[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(39): 64148-64167.
- [12] Romero-Cordoba SL, Salido-Guadarrama I, Rodriguez-Dorantes M, et al. MiRNA biogenesis: biological impact in the development of cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15(11): 1444-1455.
- [13] Jin Y, Cui Z, Li X, et al. Upregulation of long non-coding RNA PlncRNA-1 promotes proliferation and induces epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(16): 26090-26099.
- [14] Porzycki P, Ciszewicz E, Semik M, et al. Combination of three miRNA(miR-141, miR-21, and miR-375) as potential diagnostic tool for prostate cancer recognition [J]. *Int Urol Nephrol*, 2018, 50(9): 1619-1626.
- [15] Wang C, Ouyang YR, Lu M, et al. MiR-141-3p regulates the expression of androgen receptor by targeting its 3'UTR in prostate cancer LNCaP cells[J]. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2015, 31(6): 736-739. [王琛, 欧阳永日, 路蔓, 等. miR-141-3p 靶向调控前列腺癌 LNCaP 细胞雄激素受体的表达[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31(6): 736-739.]