

## 前列腺癌

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003314

# miR-520a-5p 通过调控有氧糖酵解诱导前列腺癌细胞多西他赛耐药

谢剑云,陈伟东

(福建中医药大学附属人民医院泌尿外科,福州 350004)

**【摘要】**目的:探索 miR-520a-5p 对前列腺癌增殖能力和多西他赛耐药性的影响及其作用机制。方法:使用 RT-qPCR 检测 PC-3/DU145 前列腺癌细胞及 RWPE-1 前列腺正常上皮细胞中 miR-520a-5p 表达水平;使用免疫印迹检测 miR-520a-5p 是否调控糖酵解关键酶己糖激酶 2(hexokinase 2, HK2)和磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFKM)表达水平;使用 CCK-8 实验检测 miR-520a-5p 对前列腺癌细胞增殖能力和多西他赛耐药性的影响;使用 ELISA 评估培养上清中葡萄糖消耗水平和乳酸生成水平。依据转染物的不同,将所有细胞分成 4 组:minic 组,minic NC 组,inhibitor 组,inhibitor NC 组。结果:miR-520a-5p 在前列腺癌细胞中表达下调( $P<0.001$ )。与 minic NC 组比较,minic 组可显著降低 PC-3 和 DU145 前列腺癌细胞的增殖能力( $P<0.001$ )、多西他赛半抑制浓度( $IC_{50}$ )、葡萄糖消耗水平和乳酸生成水平( $P<0.001$ );与 inhibitor NC 组比较,inhibitor 组可明显增强 PC-3 和 DU145 前列腺癌细胞的增殖能力( $P<0.001$ )、葡萄糖消耗水平和乳酸生成水平( $P<0.001$ )。Starbase 数据库提示 miR-520a-5p 与 HK2 和 PFKM 存在结合位点;免疫印迹结果显示,miR-520a-5p 对 HK2 和 PFKM 的表达存在负调控关系。使用 2-DG 抑制前列腺癌细胞糖酵解可恢复 miR-520a-5p 对前列腺癌增殖能力的影响。结论:前列腺癌中 miR-520a-5p 可能通过上调糖酵解关键酶 HK2 和 PFKM 表达水平增强前列腺癌细胞有氧糖酵解诱导多西他赛化疗耐药。

**【关键词】**前列腺癌;有氧糖酵解;多西他赛;化疗耐药

【中图分类号】R737.25

【文献标志码】A

【收稿日期】2023-05-30

## miR-520a-5p induces docetaxel resistance in prostate cancer cells by regulating aerobic glycolysis

Xie Jianyun, Chen Weidong

(Department of Urology, The People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine)

**【Abstract】****Objective:** To explore the effects of miR-520a-5p on the proliferation and docetaxel resistance of prostate cancer cells and the potential mechanisms. **Methods:** The expression levels of miR-520a-5p in prostate cancer cells (PC-3/DU145) and normal prostate epithelial cells (RWPE-1) were measured by RT-qPCR. Western blot was used to determine whether miR-520a-5p regulated the expression of the key glycolytic enzymes hexokinase 2 (HK2) and phosphofructokinase (PFKM). The effects of miR-520a-5p on the proliferation and docetaxel resistance of prostate cancer cells were determined using cell counting kit-8. Glucose consumption and lactic acid production in the culture supernatant were assessed by enzyme-linked immunosorbent assay. According to the transfection, all cells were divided into 4 groups: minic group, minic NC group, inhibitor group and inhibitor NC group. **Results:** miR-520a-5p was significantly down-regulated in prostate cancer cells ( $P<0.001$ ). Compared with the mimetic NC group, the mimetic group showed significant decreases in the proliferative ability ( $P<0.001$ ), half-maximal inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) of docetaxel, glucose consumption level, and lactic acid production level ( $P<0.001$ ) of PC-3 and DU145 prostate cancer cells. Compared with the inhibitor NC group, the inhibitor group showed significantly increased proliferative ability ( $P<0.001$ ) and glucose consumption and lactic acid production levels ( $P<0.001$ ) of PC-3 and DU145 prostate cancer cells. Starbase database analysis indicated that there were binding sites between miR-520a-5p and HK2 and PFKM. Western blot results showed that miR-520a-5p negatively regulated the expression of HK2 and PFKM. Inhibiting the glycolysis of prostate cancer cells by 2-DG could recover the effect of miR-520a-5p on the proliferative ability of prostate cancer. **Conclusion:** The low expression of miR-520a-5p in prostate cancer may up-regulate the key glycolytic enzymes HK2 and

作者介绍:谢剑云,Email:18677129@qq.com,

研究方向:泌尿系统疾病。

通信作者:陈伟东,Email:13305018298@189.cn。

优先出版:https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20230823.1703.004

(2023-08-24)

PFKM to enhance aerobic glycolysis, thereby inducing resistance to docetaxel in prostate cancer cells.

**【Key words】**prostate cancer; aerobic glycolysis; docetaxel; chemotherapy resistance

前列腺癌(prostate cancer, PCA)是男性泌尿生殖系统最常见的恶性肿瘤之一,其发病率在我国呈逐步上升趋势<sup>[1-2]</sup>。雄激素剥夺治疗(androgen deprivation therapy, ADT)是前列腺癌的基础治疗方式,但绝大多数激素敏感性前列腺癌患者在经过一段时间ADT治疗之后不可避免会发展为去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC)<sup>[3]</sup>。近年来,以多西他赛为代表的化疗药物对晚期前列腺癌(包括转移性激素敏感性前列腺癌和CRPC)显示出较好的效果,但前列腺癌的固有耐药性或继发性耐药严重限制了多西他赛在晚期前列腺癌中的应用<sup>[4-5]</sup>。目前,前列腺癌对多西他赛化疗耐药的具体机制尚未被完全阐明。

微小 RNA(microRNA, miRNA)是一类长度为18~24个核苷酸的非编码RNA,可通过靶向作用于mRNA的3'端非编码区(3' untranslated regions, 3' UTR)负向调控mRNA表达,在肿瘤化疗耐药进展过程中发挥重要功能<sup>[6]</sup>。在既往研究中,miR-520a-5p已被证实参与调控胰腺癌吉西他滨耐药<sup>[7]</sup>和非小细胞肺癌顺铂耐药<sup>[8]</sup>,但miR-520a-5p对前列腺癌多西他赛化疗耐药性的影响尚未被探索,本研究旨在探究miR-520a-5p对前列腺癌增殖能力和多西他赛耐药性的影响及其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

PC-3和DU145前列腺癌细胞和RWPE-1正常前列腺癌上皮细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司,STR鉴定结果正确。细胞/组织RNA柱式提取试剂盒、荧光定量聚合酶链反应试剂及反转录试剂盒购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。miR-520a-5p minic、minic NC、inhibitor、inhibitor NC委托上海吉玛制药技术有限公司进行设计与合成。己糖激酶2(hexokinase 2, HK2)和肌肉磷酸果糖激酶(phosphofructokinase-muscle, PFKM)抗体购自Abcam公司。细胞培养所需青链霉素混合液、胰蛋白酶、胎牛血清、MEM基础培养基、F12K基础培养基、RPMI1640基础培养基均购自大连美仑生物技术有限公司。葡萄糖检测试剂盒购自AbbKine公司,乳酸检测试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

PC-3细胞使用F12K基础培养基+10%胎

牛血清+0.5 mL 1%青链霉素混合液进行培养,DU145细胞使用MEM基础培养基+10%胎牛血清+0.5 mL 1%青链霉素混合液进行培养,RWPE-1细胞使用RPMI1640基础培养基+10%胎牛血清+0.5 mL 1%青链霉素混合液进行培养。

**1.2.2 细胞转染** 取对数生长期的PC-3和DU145细胞接种于6孔细胞培养板,待细胞生长至50%~70%,使用碧云天Lipo8000转染试剂按说明书进行转染,6 h后更换为完全培养基培养,24~48 h后观察转染效率。依据转染物的不同,将所有细胞分成4组:minic组、minic NC组、inhibitor组、inhibitor NC组。

**1.2.3 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, RT-qPCR)** 和免疫印迹 使用RNA柱式提取试剂盒提取细胞及组织中的总RNA,按照诺唯赞反转录试剂盒说明书将RNA反转录成cDNA,随后采用荧光定量PCR方法检测RNA表达水平,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析miR-520a-5p相对表达量。加入蛋白裂解液后提取总蛋白,应用BCA蛋白检测试剂盒检测蛋白浓度,每组蛋白取20 μg进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,应用伯乐湿转装置进行转膜,将蛋白转移至PVDF膜,转膜结束后使用10%脱脂奶粉进行封闭1 h,加一抗4 °C孵育过夜,TBST洗涤3次后加二抗室温孵育1 h,洗涤3次后进行ECL发光显色。

**1.2.4 CCK-8实验** 将转染后的各组细胞分别接种于96孔板培养0、24、48、72、96 h,吸除培养基并加入CCK-8悬液(完全培养基:CCK-8=10:1),放回细胞培养箱中避光继续孵育1~2 h后,分别用酶标仪检测450 nm处的吸光度(absorbance, A)值。细胞存活率计算公式:细胞存活率=[(实验孔-空白孔)/(对照孔-空白孔)]×100%。

**1.2.5 葡萄糖消耗实验** 收取转染后的各组细胞培养基上清,按照说明书配置空白管、标准管、测定管,于检测630 nm处A值。空白孔记为 $A_{\text{空}}$ ,标准孔记为 $A_{\text{标}}$ ,测定孔记为 $A_{\text{测}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测}}=A_{\text{测}}-A_{\text{空}}$ , $\Delta A_{\text{标}}=A_{\text{标}}-A_{\text{空}}$ ,葡萄糖相对消耗量根据实验前细胞计数结果归一化处理。

**1.2.6 乳酸生成实验** 收取转染后的各组细胞培养基上清,按照说明书配置空白管、标准管、测定管,依次加入酶工作液、显色剂混匀,37 °C准确反应10 min后加入终止液,于530 nm波长测定各管A值。乳酸相对生成量根据实验前细胞计数结果归一化处理。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 26.0软件进行统计学分析。服从正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,非正态分布的计量资料以 $M_d(P_{25}, P_{75})$ 表示,连续变量的两组间比较采用独立样本t检验;3组间比较采用方差分析,采用Tukey检验进行两两比较;使用重复测量方差分析比较随时间变化的细胞增殖活力,采用Tukey检验进行两两比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结 果

### 2.1 miR-520a-5p 在前列腺癌细胞中表达下调

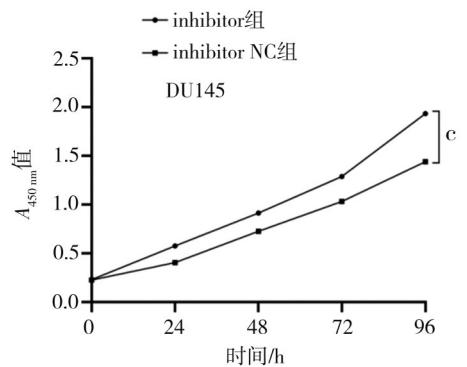
通过检测不同前列腺癌细胞系中 miR-520a-5p 表达水平发现,与正常前列腺上皮细胞(RWPE-1 细胞)比较,前列腺癌细胞系(PC-3 和 DU145 细胞)中 miR-520a-5p 表达明显下调(3 组间比较:  $F=643.600, P<0.001$ ; 两两比较: RWPE-1 vs. PC3,  $P<0.001$ , RWPE-1 vs. DU145,  $P<0.001$ ), RWPE1 细胞、DU145 细胞、PC-3 细胞的相对表达量分别为  $1.00 \pm 0.06$ ,  $0.12 \pm 0.01$ ,  $0.27 \pm 0.02$ 。

### 2.2 低表达 miR-520a-5p 增强前列腺癌增殖能力和多西他赛耐药

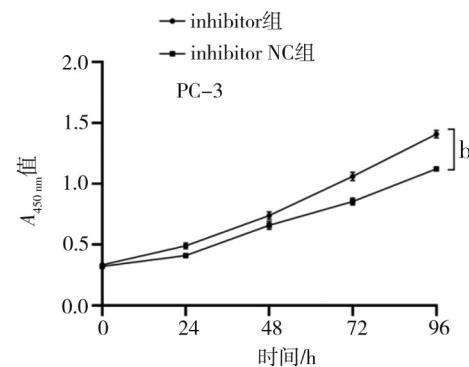
对于 DU145 细胞, RT-qPCR 结果显示, 与 inhibitor NC 组比较, inhibitor 组可显著下调 DU145 前列腺癌细胞 miR-520a-5p 表达水平, inhibitor NC 组、inhibitor 组的相对表达量分别为  $1.19 \pm 0.10$ 、 $0.13 \pm 0.01$  ( $t=35.630, P<0.001$ )。对于 PC-3 细胞, RT-qPCR 结果显示, 与 inhibitor NC 组比较, inhibitor 组可显著下调 PC-3 前列腺癌细胞 miR-520a-5p 表达水平, inhibitor NC 组、inhibitor 组的相对表达量分别为  $0.95 \pm 0.08$ 、 $0.16 \pm 0.02$  ( $t=22.710, P<0.001$ )。对于 DU145 细胞, RT-qPCR 结果显示, 与 minic NC 组比较, minic 组可显著上调 DU145 前列腺癌细胞 miR-520a-5p 表达水平, minic NC

组、minic 组的相对表达量分别为  $0.88 \pm 0.04$ 、 $4.67 \pm 0.02$  ( $t=44.770, P<0.001$ )。对于 PC-3 细胞, RT-qPCR 结果显示, 与 minic NC 组比较, minic 组可显著上调 PC-3 前列腺癌细胞 miR-520a-5p 表达水平, minic NC 组、minic 组的相对表达量分别为  $0.88 \pm 0.06$ 、 $5.83 \pm 1.20$  ( $t=9.384, P<0.001$ )。

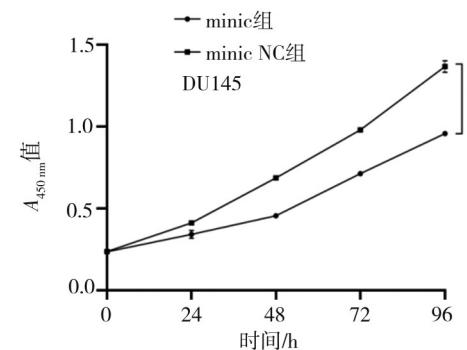
CCK-8 增殖实验显示, 与 minic NC 组比较, minic 组可显著降低 DU145(图 1A)(时间:  $F=3213.000, P<0.001$ ; 组别:  $F=1618.000, P<0.001$ ; 时间组别交互:  $F=153.000, P<0.001$ ) 和 PC-3(图 1B)(时间:  $F=1295.000, P<0.001$ ; 组别:  $F=3097.000, P<0.001$ ; 时间组别交互:  $F=55.140, P<0.001$ ) 前列腺癌细胞的增殖能力; 与 inhibitor NC 组比较, inhibitor 组可明显增强(图 1C)(时间:  $F=5637.000, P<0.001$ ; 组别:  $F=4201.000, P<0.001$ ; 时间组别交互:  $F=135.300, P<0.001$ ) 和 PC-3(图 1D)(时间:  $F=1467.000, P<0.001$ ; 组别:  $F=219.100, P<0.001$ ; 时间组别交互:  $F=30.930, P<0.001$ ) 前列腺癌细胞的增殖能力。细胞毒性实验显示, 与空白对照组和 minic NC 组比较, minic 组可降低 PC-3 和 DU145 前列腺癌细胞对多西他赛的药物半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration,  $IC_{50}$ ), minic NC 组 DU145 细胞的  $IC_{50}$  为  $8.114 \mu\text{mol/L}$ , minic 组 DU145 细胞的  $IC_{50}$  为  $4.806 \mu\text{mol/L}$ ; minic NC 组 PC-3 细胞的  $IC_{50}$  为  $10.540 \mu\text{mol/L}$ , minic 组 PC-3 细胞的  $IC_{50}$  为  $8.319 \mu\text{mol/L}$ 。提示过表达 miR-520a-5p 可显著增敏 PC-3 和 DU145 前列腺癌细胞的多西他赛化疗敏感性(图 2)。



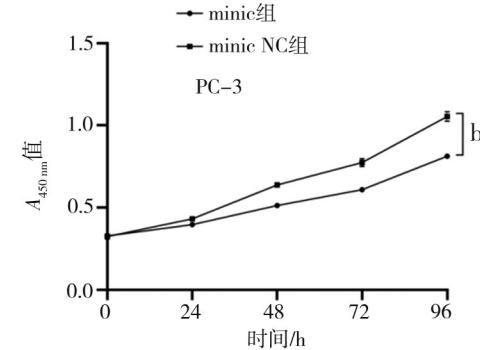
A. CCK-8 检测 miR-520a-5p 敲低对 DU145 细胞增殖能力的影响



B. CCK-8 检测 miR-520a-5p 敲低对 PC-3 细胞增殖能力的影响



C. CCK-8 检测 miR-520a-5p 过表达对 DU145 细胞增殖能力的影响



D. CCK-8 检测 miR-520a-5p 过表达对 PC-3 细胞增殖能力的影响

注: a,  $P<0.05$ ; b,  $P<0.01$ ; c,  $P<0.001$

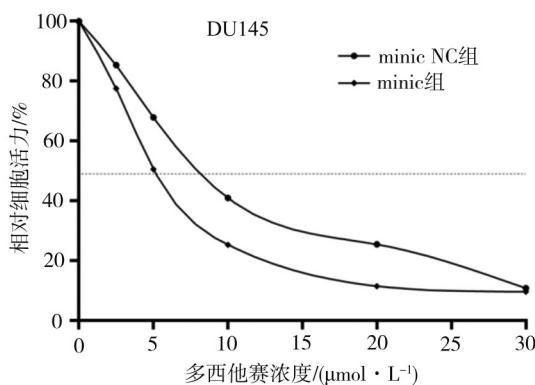
图 1 过表达或敲低 miR-520a-5p 对前列腺癌细胞增殖能力的影响

### 2.3 低表达 miR-520a-5p 通过靶向 HK2 和 PFKM 增强前列腺癌有氧糖酵解

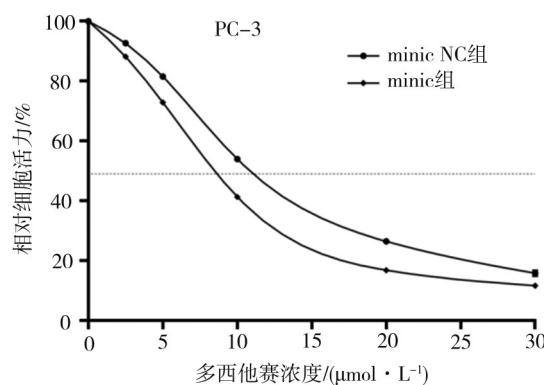
通过 Starbase 数据库 (<https://starbase.sysu.edu.cn/>) 检索发现, miR-520a-5p 与糖酵解关键酶 HK2 和 PFKM 存在结合位点。Western blot 结果显示, 与 minic NC 组相比, miR-520a-5p minic 可下调糖酵解关键酶 HK2 和 PFKM 的表达, 与 inhibitor NC 组相比, miR-520a-5p inhibitor 可上调糖酵解关键酶 HK2 和 PFKM 的表达, 提示 miR-520a-5p 对糖酵解关键酶 HK2 和 PFKM 可能存在靶向负调控作用(图3)。

为探究 miR-520a-5p 是否影响前列腺细胞糖酵解, 本研究使用 ELISA 测定 PC-3 和 DU145 细胞的葡萄糖消耗水平,

结果显示, 与 minic NC 组比较, minic 组可降低 PC-3 和 DU145 细胞葡萄糖消耗水平, PC-3 细胞中 minic NC 组、minic 组的相对葡萄糖消耗水平分别为  $1.00 \pm 0.03$ 、 $0.55 \pm 0.05$  ( $t=13.370, P<0.001$ ), DU145 细胞中 minic NC 组、minic 组的相对葡萄糖消耗水平分别为  $1.00 \pm 0.02$ 、 $0.51 \pm 0.02$  ( $t=30.010, P<0.001$ ); 与 inhibitor NC 组比较, inhibitor 组可升高 PC-3 和 DU145 细胞葡萄糖消耗水平, PC-3 细胞中 inhibitor NC 组、inhibitor 组的相对葡萄糖消耗水平分别为  $1.00 \pm 0.03$ 、 $2.55 \pm 0.05$  ( $t=46.040, P<0.001$ ), DU145 细胞中 inhibitor NC 组、inhibitor 组的相对葡萄糖消耗水平分别为  $1.00 \pm 0.01$ 、 $1.99 \pm 0.02$  ( $t=76.690, P<0.001$ )。

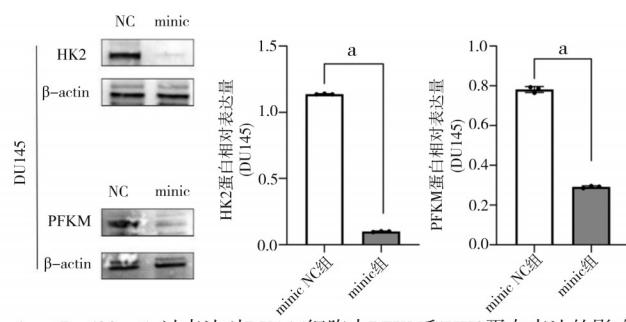


A. miR-520a-5p 过表达对 DU145 细胞多西他赛耐药性的影响

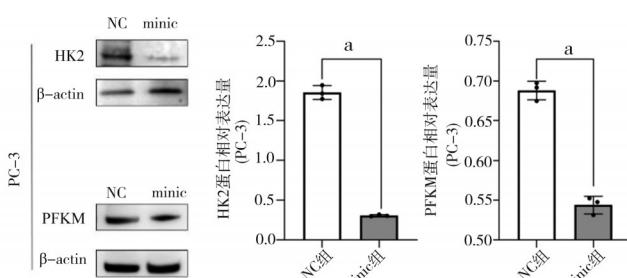


B. miR-520a-5p 过表达对 PC-3 细胞多西他赛耐药性的影响

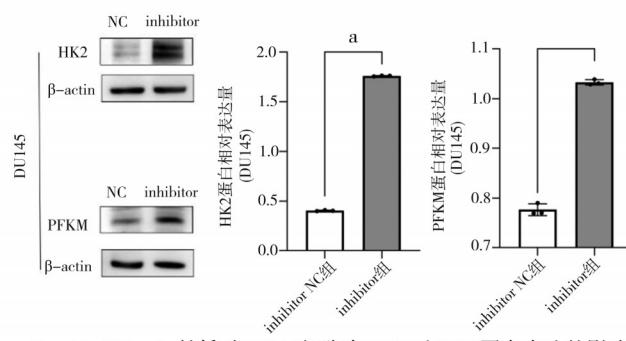
图 2 miR-520a-5p 对前列腺癌细胞多西他赛耐药性的影响



A. miR-520a-5p 过表达对 DU145 细胞中 PFKM 和 HK2 蛋白表达的影响

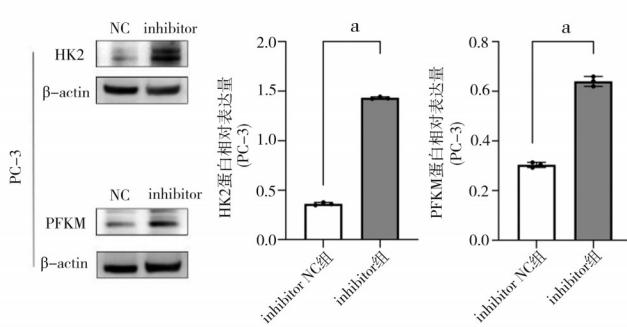


B. miR-520a-5p 过表达对 PC-3 细胞中 PFKM 和 HK2 蛋白表达的影响



C. miR-520a-5p 敲低对 DU145 细胞中 PFKM 和 HK2 蛋白表达的影响

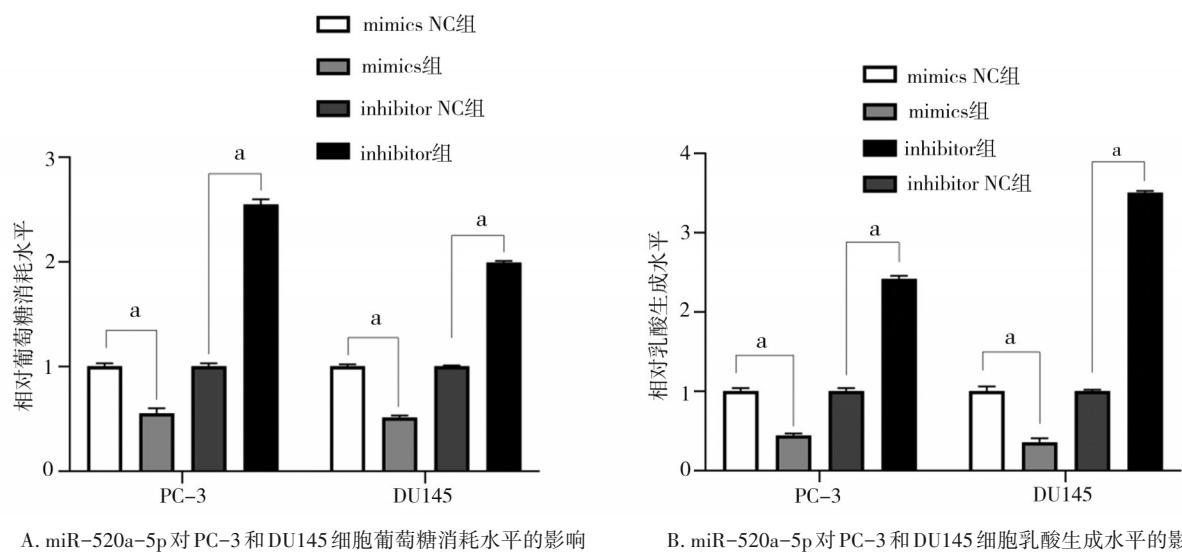
注: a,  $P<0.001$ ; 柱状图数据  $n=3$



D. miR-520a-5p 敲低对 PC-3 细胞中 PFKM 和 HK2 蛋白表达的影响

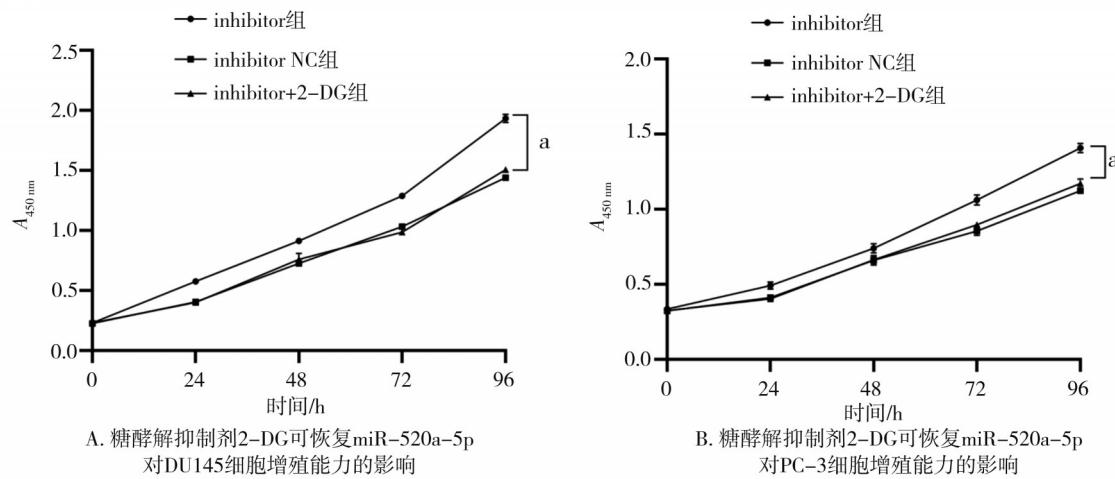
图 3 miR-520a-5p 对前列腺癌细胞中 PFKM 和 HK2 蛋白表达水平的影响

此外,本研究使用 ELISA 测定 PC-3 和 DU145 细胞的乳酸生成水平,结果显示,与 mimics NC 组比较,mimics 组可降低 PC-3 和 DU145 细胞乳酸生成水平,PC3 细胞中 mimics NC 组、mimics 组的相对乳酸生成水平分别为  $1.00 \pm 0.04$ 、 $0.44 \pm 0.03$  ( $t=19.400, P<0.001$ ), DU145 细胞中 mimics NC 组、mimics 组的相对乳酸生成水平分别为  $1.00 \pm 0.06$ 、 $0.36 \pm 0.05$  ( $t=14.190, P<0.001$ );与 inhibitor NC 组比较,inhibitor 组可升高 PC-3 和 DU145 细胞乳酸生成水平,PC3 细胞中 inhibitor NC 组、inhibitor 组的相对乳酸生成水平分别为  $1.00 \pm 0.04$ 、 $2.42 \pm 0.04$  ( $t=43.480, P<0.001$ ), DU145 细胞中 inhibitor NC 组、inhibitor 组的相对葡萄糖消耗水平分别为  $1.00 \pm 0.02$ 、 $3.51 \pm 0.02$  ( $t=153.700, P<0.001$ )。以上结果提示,miR-145 通过靶向 HK2 和 PFKM 负调控前列腺癌有氧糖酵解(图 4)。



A. miR-520a-5p 对 PC-3 和 DU145 细胞葡萄糖消耗水平的影响  
注: a,  $P<0.001$ ; 柱状图数据  $n=3$

图 4 miR-520a-5p 对前列腺癌细胞葡萄糖消耗和乳酸生成的影响



注: a,  $P<0.01$

图 5 糖酵解抑制剂 2-DG 对前列腺癌增殖能力的影响

#### 2.4 抑制糖酵解可恢复 miR-520a-5p 对前列腺癌增殖能力的影响

为进一步探索 miR-520a-5p 是否通过影响有氧糖酵解调控前列腺癌细胞增殖和多西他赛化疗耐药,本研究使用 2-脱氧-D-葡萄糖(2-Deoxy-D-glucose, 2-DG)抑制 PC-3 和 DU145 细胞的糖酵解。结果表明,与 inhibitor 组比较,inhibitor+2-DG 组 DU145(图 5A)(时间:  $F=6.107.000, P<0.001$ ; 组别:  $F=1.439.000, P<0.001$ ; 时间组别交互:  $F=66.460, P<0.001$ ) 和 PC-3(图 5B)(时间:  $F=2.381.000, P<0.001$ ; 组别:  $F=162.200, P<0.001$ ; 时间组别交互:  $F=19.690, P<0.001$ ) 和前列腺癌细胞增殖能力显著降低。以上结果提示,使用 2-DG 抑制前列腺癌细胞糖酵解可恢复 miR-520a-5p 对前列腺癌增殖能力的影响。因此,miR-520a-5p 通过影响有氧糖酵解调控前列腺癌细胞增殖和多西他赛化疗耐药(图 5)。

### 3 讨 论

多西他赛化疗耐药是晚期前列腺癌临床治疗的一个棘手问题<sup>[9]</sup>。既往研究发现,微管结构功能改变、诱导化疗药物外排、肿瘤微环境改变、抗凋亡机制变化等多种因素均与前列腺癌多西他赛化疗耐药有关,但具体分子机制仍未被完全阐明<sup>[10-11]</sup>。近年来,miRNA 在肿瘤中的作用被广泛研究,多种 miRNA 被发现在肿瘤中表达上调或下调,通过抑制 mRNA 翻译和降低 mRNA 的稳定性来调节基因的表达,发挥抑癌或促癌作用<sup>[12]</sup>。miRNA 在前列腺癌发生发展和治疗耐药过程中亦发挥了重要作用<sup>[13]</sup>。Nagesh PKB 等<sup>[14]</sup>研究发现,使用纳米载体搭载 miR-205 可诱导前列腺癌细胞凋亡并增强化疗效果。Zhu ZR 等<sup>[15]</sup>研究结果显示,前列腺癌中 miR-122 表达上调,通过结合 PKM2 的 3'UTR 来调节 PKM2 的表达,从而增强前列腺癌细胞的多西紫杉醇敏感性,抑制细胞增殖和促进细胞凋亡。Armstrong CM 等<sup>[16]</sup>研究表明,前列腺癌细胞中 miR-181a 过表达有助于增强前列腺癌对多西他赛和卡巴他赛的耐药性,抑制 miR-181a 表达可以恢复其治疗反应。本研究发现 miR-520a-5p 模拟物可抑制前列腺癌细胞增殖能力、降低前列腺细胞多西他赛耐药性,而 miR-520a-5p 抑制物则起到相反效果,提示 miR-520a-5p 可能是一种前列腺癌抑癌 miRNA,在前列腺癌治疗耐药过程中起到重要作用,可能作为前列腺癌多西他赛治疗增敏的潜在靶点。

代谢重编程是肿瘤细胞为满足能量需求通过改变代谢模式促进细胞存活和生长的机制<sup>[17]</sup>。恶性肿瘤的葡萄糖代谢方式倾向于从氧化磷酸化转变为有氧糖酵解,称之为 Warburg 效应,是恶性肿瘤最重要的代谢特征<sup>[18]</sup>。近年研究发现,有氧糖酵解参与了前列腺癌化疗耐药发生发展过程。Song CZ 等<sup>[18]</sup>研究结果显示,PTEN 基因缺失通过诱导 FBP1 降解促进 Warburg 效应和前列腺癌细胞生长,抑制 FBP1 蛋白降解可能是 PTEN 缺陷性前列腺癌的潜在治疗方式。Jiang XK 等<sup>[19]</sup>研究发现, circARHGAP29

通过增加乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDHA)表达和稳定 LDHA mRNA 增强前列腺癌糖酵解和多西他赛化疗耐药性。Yi Q 等<sup>[20]</sup>研究表明,上调 miR-103a-3p 和干扰 TRIM66 表达可抑制前列腺癌细胞的糖酵解和对多西他赛的耐药性,靶向 TRIM66 可能在前列腺癌分子治疗中具有潜在的应用价值。但是 Warburg 效应参与前列腺癌多西他赛耐药的具体机制仍不明确。本研究发现,miR-520a-5p 模拟物可降低前列腺癌细胞葡萄糖消耗水平和乳酸生成水平,而 miR-520a-5p 抑制物则起到相反效果,进一步研究发现,miR-520a-5p 可与糖酵解关键酶 HK2 和 PFKM 结合并对 HK2 和 PFKM 表达起到负调控作用,因此,提高 miR-520a-5p 表达可抑制前列腺癌细胞有氧糖酵解。为探究有氧糖酵解与前列腺癌多西他赛耐药的关系,本研究还使用 2-DG 抑制前列腺癌细胞糖酵解,结果发现,使用 2-DG 抑制前列腺癌细胞糖酵解可回复 miR-520a-5p 对前列腺癌增殖能力的影响,表明 miR-520a-5p 通过调控前列腺癌细胞糖酵解诱导多西他赛化疗耐药,使用糖酵解抑制剂 2-DG 可能增敏前列腺癌多西他赛敏感性。

本研究仍然存在一些局限性。首先,未使用双荧光素酶报告基因实验证实 miR-520a-5p 对 HK2 和 PFKM 的直接结合;其次,本研究仅探索 miR-520a-5p 对前列腺癌增殖能力的影响,未探索 miR-520a-5p 是否影响前列腺癌的侵袭性;再者,前列腺癌多西他赛耐药机制相当复杂,单个基因或信号通路不足以解释多西他赛耐药的发生发展机制;最后,仍需进一步构建前列腺癌多西他赛耐药细胞株探索前列腺癌多西他赛化疗耐药机制。

miR-520a-5p 是一种前列腺癌抑癌 miRNA,在前列腺癌中表达下调。前列腺癌中 miR-520a-5p 的低表达通过上调糖酵解关键酶 HK2 和 PFKM 表达水平增强前列腺癌细胞有氧糖酵解,从而诱导前列腺癌多西他赛化疗耐药。miR-520a-5p 可能作为前列腺癌多西他赛化疗增敏的潜在靶点,使用糖酵解抑制剂 2-DG 或 miR-520a-5p 模拟物可能增敏前列腺癌多西他赛敏感性。

## 参 考 文 献

- [1] Chang AJ, Autio KA, Roach M, et al. High-risk prostate cancer classification and therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11 (6) : 308–323.
- [2] Liu JZ, Dong L, Zhu YJ, et al. Prostate cancer treatment – China's perspective[J]. *Cancer Lett*, 2022, 550:215927.
- [3] Desai K, McManus JM, Sharifi N. Hormonal therapy for prostate cancer[J]. *Endocr Rev*, 2021, 42(3):354–373.
- [4] Ma ZH, Zhang WW, Dong BJ, et al. Docetaxel remodels prostate cancer immune microenvironment and enhances checkpoint inhibitor-based immunotherapy[J]. *Theranostics*, 2022, 12(11):4965–4979.
- [5] Barata PC, Sartor AO. Metastatic castration-sensitive prostate cancer: Abiraterone, docetaxel, or...[J]. *Cancer*, 2019, 125 (11) : 1777–1788.
- [6] Fabris L, Ceder Y, Chinnaian AM, et al. The potential of microRNAs as prostate cancer biomarkers[J]. *Eur Urol*, 2016, 70(2):312–322.
- [7] Fu RB, Shao Q, Yang B, et al. MiR-520a-5p/PPP5C regulation pattern is identified as the key to gemcitabine resistance in pancreatic cancer[J]. *Front Oncol*, 2022, 12:903484.
- [8] Xu XL, Tao R, Sun LY, et al. Exosome-transferred hsa\_circ\_0014235 promotes DDP chemoresistance and deteriorates the development of non-small cell lung cancer by mediating the miR-520a-5p/CDK4 pathway[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20(1):552.
- [9] Mori K, Mostafaei H, Sari Motlagh R, et al. Systemic therapies for metastatic hormone-sensitive prostate cancer: network Meta-analysis[J]. *BJU Int*, 2022, 129(4):423–433.
- [10] 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.
- [11] Nader R, Amm JE, Aragon-Ching JB. Role of chemotherapy in prostate cancer[J]. *Asian J Androl*, 2018, 20(3):221–229.
- [12] He BX, Zhao ZY, Cai QD, et al. miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in Cancer[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(14) : 2628–2647.
- [13] Vazquez-Urrutia JR, Torres-Bustamante MI, Cerdá-Cruz CR, et al. The role of miRNA in prostate cancer diagnosis, prognosis and treatment response: a narrative review[J]. *Future Oncol*, 2023, 19(1):77–93.
- [14] Nagesh PKB, Chowdhury P, Hatami E, et al. miRNA-205 nanoformulation sensitizes prostate cancer cells to chemotherapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10(9):289.
- [15] Zhu ZR, Tang GL, Yan JJ. MicroRNA-122 regulates docetaxel resistance of prostate cancer cells by regulating PKM2[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(6):247.
- [16] Armstrong CM, Liu CF, Lou W, et al. MicroRNA-181a promotes docetaxel resistance in prostate cancer cells[J]. *Prostate*, 2017, 77(9) : 1020–1028.
- [17] Ahmad F, Cherukuri MK, Choyke PL. Metabolic reprogramming in prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2021, 125(9):1185–1196.
- [18] Song CZ, Zhang JN, Liu X, et al. PTEN loss promotes Warburg effect and prostate cancer cell growth by inducing FBP1 degradation[J]. *Front Oncol*, 2022, 12:911466.
- [19] Jiang XK, Guo SQ, Wang S, et al. EIF4A3-induced circARHGAP29 promotes aerobic glycolysis in docetaxel-resistant prostate cancer through IGF2BP2/c-Myc/LDHA signaling[J]. *Cancer Res*, 2022, 82 (5):831–845.
- [20] Yi Q, Wei JF, Li YZ. Effects of miR-103a-3p targeted regulation of TRIM66 axis on docetaxel resistance and glycolysis in prostate cancer cells[J]. *Front Genet*, 2021, 12:813793.

(责任编辑:冉明会,曾玲)