

• 论 著 •

MAPKAPK5-AS1 在肝癌中的临床意义及通过 AKT/mTOR 通路
调控增殖和转移的机制研究*

周 健¹, 韩龙江^{2△}

1. 重庆市荣昌区人民医院肝胆外科, 重庆 402460; 2. 重庆市万盛经开区
人民医院消化内科, 重庆 400800

摘 要:**目的** 探究长链非编码 RNA (lncRNA) MAPKAPK5-AS1 在肝癌中的临床意义及通过 AKT/mTOR 通路调控增殖和转移的机制。**方法** 通过生物信息学方法分析癌症基因组图谱 (TCGA) 数据库中 MAPKAPK5-AS1 在肝癌中的表达水平及其与预后的关系。临床收集 90 例肝癌组织和癌旁组织, 分析 MAPKAPK5-AS1 的表达水平及其与预后的关系。通过 RT-qPCR 检测人正常肝细胞 MIHA 和 4 株肝癌细胞系中 MAPKAPK5-AS1 的水平。LM3 细胞分为 shNC 组和 shMAPKAPK5-AS1 组, HepG2 细胞分为 vector-NC 组和 MAPKAPK5-AS1 组, 检测沉默和过表达 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞生物学行为的影响, 并分析 AKT/mTOR 通路的水平。**结果** 生物信息学分析结果显示, MAPKAPK5-AS1 水平与高的 TNM 分期、更低的生存率和低的无进展生存期有关 ($P < 0.05$)。临床检测结果显示, MAPKAPK5-AS1 高表达与较高的 TNM 分期、血管侵犯和更低的生存率有关 ($P < 0.05$)。shMAPKAPK5-AS1 组的增殖、迁移、侵袭能力及 AKT/mTOR 通路中蛋白水平明显低于 shNC 组, 而凋亡率明显高于 shNC 组 ($P < 0.05$)。MAPKAPK5-AS1 组的增殖、迁移、侵袭能力及 AKT/mTOR 通路中蛋白水平明显高于 vector-NC 组, 而凋亡率明显低于 vector-NC 组 ($P < 0.05$)。**结论** MAPKAPK5-AS1 高表达与肝癌患者较高的 TNM 分期、血管侵犯和不良预后有关, 并且 MAPKAPK5-AS1 可能通过促进 AKT/mTOR 通路促进肝癌增殖、转移和抑制凋亡。

关键词: 肝癌; 长链非编码 RNA; MAPKAPK5-AS1; AKT/mTOR

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.19.021 **中图法分类号:** R735.7

文章编号: 1673-4130(2021)19-2394-06 **文献标志码:** A

The clinical significance of MAPKAPK5-AS1 in liver cancer and the mechanism
of regulating proliferation and metastasis through the AKT/mTOR pathway*

ZHOU Jian¹, HAN Longjiang^{2△}

1. Department of Hepatobiliary Surgery, Chongqing Rongchang District People's Hospital, Chongqing 402460, China; 2. Department of Gastroenterology, Chongqing Wansheng Economic Development Zone People's Hospital, Chongqing 400800, China

Abstract:**Objective** To explore the clinical significance of long non-coding RNA (lncRNA) MAPKAPK5-AS1 in liver cancer and the mechanism of regulating proliferation and metastasis through the AKT/mTOR pathway. **Methods** The expression level of MAPKAPK5-AS1 in the TCGA database and its relationship with the prognosis were analyzed by bioinformatics methods. A total of 90 cases of liver cancer tissues and adjacent tissues were collected. The relationship of MAPKAPK5-AS1 and prognosis was analyzed. RT-qPCR was used to detect the levels of MAPKAPK5-AS1 in human normal liver cells MIHA and four liver cancer cell lines. LM3 cells were divided into shNC group and shMAPKAPK5-AS1 group. HepG2 cells were divided into vector-NC group and MAPKAPK5-AS1 group. The effects of silencing and overexpression of MAPKAPK5-AS1 on the biological behavior and AKT/mTOR pathway were detected. **Results** The results of bioinformatics analysis showed that the level of MAPKAPK5-AS1 was related to high TNM staging, lower survival rate and low free progression survival ($P < 0.05$). The clinical results showed that the high expression of MAPKAPK5-AS1 was related to higher TNM staging, vascular invasion and lower survival rate ($P <$

* 基金项目: 重庆市科技创新与应用发展专项重点项目 (cstc2020jscx-sbqwX0022)。

作者简介: 周健, 男, 主治医师, 主要从事肝癌的早期诊断和治疗相关研究。△ 通信作者, E-mail: 279261156@qq.com。

本文引用格式: 周健, 韩龙江. MAPKAPK5-AS1 在肝癌中的临床意义及通过 AKT/mTOR 通路调控增殖和转移的机制研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(19): 2394-2399.

0.05)。The proliferation, migration and invasion abilities and the protein levels in the AKT/mTOR pathway of shMAPKAPK5-AS1 group were significantly lower than those of the shNC group, and the apoptosis rate was significantly higher than that of the shNC group ($P < 0.05$)。The proliferation, migration, invasion abilities and the protein levels in the AKT/mTOR pathway of MAPKAPK5-AS1 group were significantly higher than that of the vector-NC group, and the apoptosis rate was significantly lower than that of the vector-NC group ($P < 0.05$)。 **Conclusion** The high expression of MAPKAPK5-AS1 is associated with higher TNM staging, vascular invasion and poor prognosis in patients with liver cancer, and MAPKAPK5-AS1 may promote liver cancer proliferation, metastasis and inhibit apoptosis by promoting the AKT/mTOR pathway。

Key words: liver cancer; long non-coding RNA; MAPKAPK5-AS1; AKT/mTOR

一项全球性统计报告显示,2018 年有 841 080 例新发肝癌患者, 占所有肿瘤的 4.7%, 排名第 7 位; 2018 年死于肝癌的患者为 782 685 例, 占所有死于肿瘤患者的 8.2%, 排名第 2 位^[1]。手术切除和化学疗法是治疗原发性肝癌的主要方法, 但是由于肝组织中的血管丰富, 极易发生复发和转移^[2]。研究显示, 肝癌的复发率高达 80%^[3]。寻找新的生物标志物、探索肝癌复发转移的机制具有重要的现实意义。

长链非编码 RNA (lncRNA) 是一系列不具有编码功能的单链 RNA, 长度为 200 nt 至 100 000 nt。lncRNA 可以通过调节表观遗传、激活或干扰转录的作用调控基因表达^[4]。此外, lncRNA 可以像“海绵”一样吸收微小 RNA (miRNA) 并抑制 miRNA 的功能, 从而在转录后水平上调控基因的表达水平^[5]。MAPKAPK5-AS1 是新发现的一种与肿瘤有关的 lncRNA, 国内有研究显示, 过表达 MAPKAPK5-AS1 后肺癌细胞的侵袭能力降低而凋亡率升高, 说明了 MAPKAPK5-AS1 在肺癌中的调控作用^[6]。也有研究显示 MAPKAPK5-AS1 可以通过调控 p21 蛋白的表达水平诱导结肠癌细胞的增殖^[7]。一项关于癌症基因组图谱 (TCGA) 数据库和 NCBI (GSE65485) 数据库的生物信息学分析构建了肝癌中的 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络, 其中 6 个关键的 lncRNA 包括 MAPKAPK5-AS1^[8], 然而, MAPKAPK5-AS1 与肝癌预后的关系及对肝癌细胞的调控作用和机制鲜见报道。本研究旨在探讨 MAPKAPK5-AS1 在肝癌中的表达特点, 并分析 MAPKAPK5-AS1 与肝癌临床病理参数之间的关系, 通过细胞实验分析 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞生物学行为的影响, 并初步分析作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料来源 收集 2013 年 1 月至 2015 年 1 月的肝癌组织和对应的距离肿瘤边缘 3 cm 以上的癌旁正常组织标本各 90 份, 其中男 70 例, 女 20 例; 年龄 32~77 岁, 平均 (52.64±5.94) 岁。纳入标准: (1) 经过病理学活检确诊为肝癌; (2) 年龄 20~80 岁; (3) 首次确诊, 无其他原发性肿瘤, 标本收集前未接受化疗、放疗、靶向疗法等治疗; (4) 知情同意。排除标准: (1)

肿瘤性质、分期等临床病理等无法确定; (2) 基本资料缺失。所有标本保存在 -80℃ 环境下。通过 RT-qPCR 检测各组织中 MAPKAPK5-AS1 的表达水平。本研究符合《赫尔辛基宣言》, 并得到医院伦理委员会的批准。

1.2 仪器与试剂 人正常肝细胞 MIHA 和 4 株肝癌细胞系 Huh7、LM3、7721 和 HepG2 (ATCC, 美国); DMEM 培养基血清和抗体 (Invitrogen 公司, 美国); MAPKAPK5-AS1 pcDNA3.1、shMAPKAPK5-AS1 及相应的阴性对照 (GenePharma 公司, 中国); Lipofectamine™ 2000 (Invitrogen 公司, 美国); TRIzol (Sigma 公司, 美国); PrimeScript-RT 和 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒 (Takara 公司, 日本); CCK-8 试剂盒 (Beyotime 研究所, 中国); Transwell 小室购自 Becton Dickinson 公司 (美国); FACSCanto II 流式细胞仪和 Annexin V-FITC/碘化丙锭 (PI) 试剂盒 (BD Biosciences 公司, 加拿大); 光学显微镜 (奥林巴斯公司, 日本); 抗体 AKT、mTOR 和山羊抗兔 IgG H&L 二抗 (Abcam 公司, 美国); PVDF 膜 (Bio-Rad 公司, 美国); 化学发光显色试剂盒 (Thermo Fisher 公司, 美国)。

1.3 细胞培养、分组和转染 将 DMEM 培养基中 (37℃, 5% 的 CO₂) 处于对数生长期的 LM3 细胞分为 shNC 组和 shMAPKAPK5-AS1 组, HepG2 细胞分为 vector-NC 组和 MAPKAPK5-AS1 组。shMAPKAPK5-AS1 组首先通过转染 100 pmol 的 3 种不同的 shMAPKAPK5-AS1 (分别为 sh1、sh2 和 sh3) 沉默 MAPKAPK5-AS1; MAPKAPK5-AS1 组转染 100 pmol 的 MAPKAPK5-AS1 pcDNA3.1 来过表达 MAPKAPK5-AS1, 利用 Lipofectamine™ 2000 进行转染, shNC 和 vector-NC 组分别转染等量的空载质粒作为对照, 转染条件为 7℃, 5% CO₂, 48 h。

1.4 生物信息学分析 利用工具网站 GEPIA 分析 TCGA 数据库中 MAPKAPK5-AS1 在肝癌组织中的表达特点及其与 TNM 分期的关系, 通过 Kaplan-Meier 分析不同 MAPKAPK5-AS1 表达水平与肝癌患者总生存率和无进展生存期之间的关系。

1.5 检测指标和方法

1.5.1 RT-qPCR 将肝癌组织或细胞系通过 TR-Izol 获得总 RNA, 分别通过 PrimeScript-RT 和 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒进行反转录(37 ℃, 15 min; 85 ℃, 5 s)和 qPCR(95 ℃ 10 min, 94 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min, 40 个循环; 65 ℃ 45 s)。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)用作内参, 通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 分析肝癌组织和细胞系中 MAPKAPK5-AS1 的相对表达水平。MAPKAPK5-AS1 上游引物: 5'-GGC GTC GTG AGG TAT GGA TGT TC-3', 下游引物 5'-GCT TGA CCA CTT CTC GGC TGT G-3'; GAPDH 上游引物: 5'-CAA GGT CAT CCA TGA CAA CTT TG-3', 下游引物: 5'-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TAG-3'。

1.5.2 CCK-8 检测增殖 将总体积为 100 μ L、总数量 1×10^4 的细胞接种在 96 孔板中。培养 1、2、3、4、5 d 后, 添加 10 μ L 的 CCK-8, 并在 37 ℃ 下培养 2 h 染色。用酶标仪测量 450 nm 处的吸光度(A)。

1.5.3 流式细胞术检测凋亡 使用 Annexin V-FITC/PI 试剂盒检测细胞凋亡率。根据说明书, 细胞经消化、洗涤后, 分别加入 5 μ L 的 Annexin V-FITC 和 PI, 并在黑暗中孵育 15 min, 然后通过流式细胞仪分析细胞凋亡率。

1.5.4 划痕愈合试验检测迁移 将接种于 6 孔板中的 1×10^6 个细胞培养至达到约 90% 的融合, 然后使用 200 μ L 的移液器枪头垂直、均匀地做一道划痕, 洗去被划掉的细胞并在相同条件下继续培养 48 h。通过光学显微镜观察并拍照, 计算划痕前缘移动距离百分比=前缘移动距离/划痕宽度 $\times 100\%$ 。

1.5.5 Transwell 检测侵袭 将基质胶和完全培养基分别添加到 Transwell 的上部和下部腔室中。将

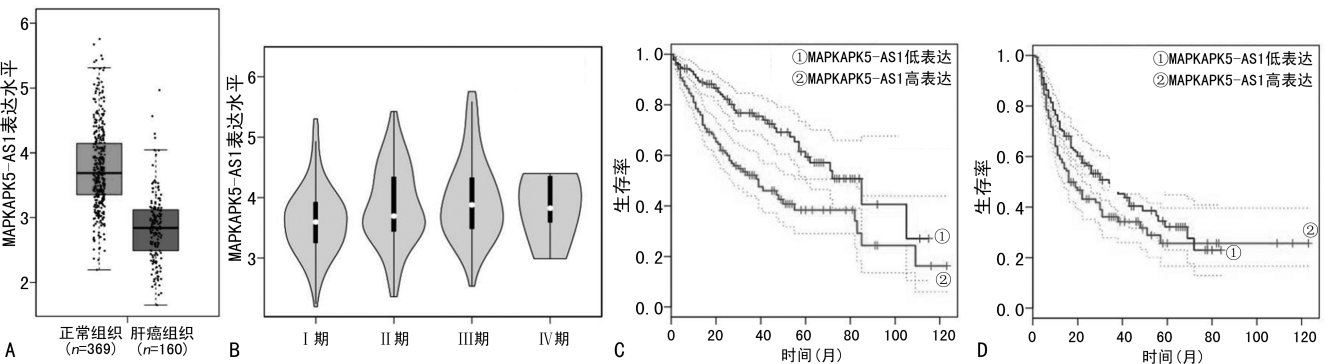
1×10^4 个细胞添加在上室中并孵育 48 h。将入侵进入下室的细胞用 20% 甲醇固定并用 0.1% 结晶紫染色, 计数进入 5 个视野中每个视野细胞数的平均值。

1.5.6 Western blot 检测蛋白 通过细胞裂解液提取细胞或组织中的总蛋白, 并通过 BCA 试剂盒检测浓度。通过 SDS-PAGE(120 V, 90 min)分离出 30 μ g 的总蛋白。将分离的蛋白质转移至 PVDF 膜上(90 V, 90 min), 并加入 5% 的脱脂牛奶孵育 1 h 进行封闭。然后分别加入 1:500 稀释的 anti-AKT 和 anti-mTOR 并分别在 4 ℃ 下孵育过夜。然后将 HRP 标记的山羊抗兔二抗以 1:5000 稀释并加入到 PVDF 膜中并在室温下添加 2 h。GAPDH 作为内参, 使用 Image J 1.8.0 软件分析目标蛋白条带的灰度值计算相对表达水平。

1.6 统计学处理 使用 GraphPad Prism7.0 进行统计分析。通过 Kaplan-Meier 分析临床肝癌标本中 MAPKAPK5-AS1 表达水平与预后的关系。采用 χ^2 检验比较 MAPKAPK5-AS1 高表达和低表达的差异。组间的比较使用单因素方差析和 Tukey 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 生物信息学分析结果 在 TCGA 数据库中, MAPKAPK5-AS1 在肝癌中的表达水平高于正常肝组织, 并且不同 TNM 分期的肝癌组织中 MAPKAPK5-AS1 表达水平比较差异有统计学意义($F=7.28, P<0.001$), 随着分期的升高, MAPKAPK5-AS1 水平也随之升高。并且 MAPKAPK5-AS1 高表达的肝癌患者的生存率和无进展生存期均明显低于 MAPKAPK5-AS1 低表达患者($P<0.001, P=0.037$)。见图 1。



注: A 为在 TCGA 数据库中, MAPKAPK5-AS1 在肝癌组织和正常组织中的表达水平比较; B 为 MAPKAPK5-AS1 在 TNM 分期为 I、II、III、IV 期肿瘤组织中的表达水平比较; C 为通过 Kaplan-Meier 分析肝癌组织中 MAPKAPK5-AS1 表达水平与生存率之间的关系; D 为通过 Kaplan-Meier 分析肝癌组织中 MAPKAPK5-AS1 表达水平与无进展生存期之间的关系。

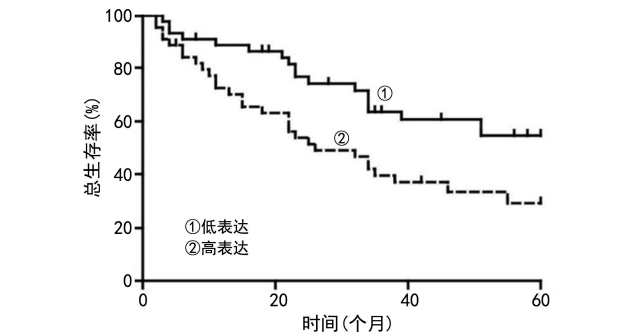
图 1 生物信息学分析 MAPKAPK5-AS1 与肝癌的关系

2.2 MAPKAPK5-AS1 与肝癌患者的 TNM 分期、血管侵犯和不良预后有关 为了分析 MAPKAPK5-AS1 在肝癌中的临床意义, 收集了 90 份肝癌组织和癌旁正常组织标本。RT-qPCR 结果显示, MAP-

KAPK5-AS1 在肝癌组织中的相对表达水平(2.47 ± 0.62), 明显高于癌旁组织(1.00 ± 0.29), 差异有统计学意义($P<0.05$)。根据 MAPKAPK5-AS1 表达水平将 90 份标本分为低表达组和高表达组, 结果表明,

MAPKAPK5-AS1 高表达与较高的 TNM 分期和血管侵犯有关($P<0.05$),见表 1。生存分析结果还显示,MAPKAPK5-AS1 高表达的肝癌患者的生存率明显低于 MAPKAPK5-AS1 低表达患者($P<0.05$),见图 2。

表 1 MAPKAPK5-AS1 与肝癌患者的临床病理特征的关系(n)				
临床特征	n	MAPKAPK5-AS1 表达		P
		低表达 (n=45)	高表达 (n=45)	
年龄(岁)				0.371
≤55	30	13	17	
>55	60	32	28	
性别				0.310
男	70	37	33	
女	20	8	12	
肝硬化				0.371
有	60	28	32	
无	30	17	13	
AFP(ng/mL)				0.280
≥20	55	25	30	
<20	35	20	15	
肿瘤最大径(cm)				0.393
<5	38	17	21	
≥5	52	28	24	
肿瘤数目				0.128
单发	70	38	32	
多发	20	7	13	
TNM 分期				0.001
I~II	40	28	12	
III~IV	50	17	33	
微血管侵犯				0.001
有	52	18	34	
无	38	27	11	



注:通过 Kaplan-Meier 分析肝癌组织中 MAPKAPK5-AS1 表达水平与生存率之间的关系, $P=0.0096$ 。

图 2 MAPKAPK5-AS1 与 90 例肝癌患者预后的关系

2.3 MAPKAPK5-AS1 沉默和过表达肝癌细胞模型

的构建 通过 RT-qPCR 检测人正常肝细胞 MIHA 和 4 株肝癌细胞系 Huh7、LM3、7721 和 HepG2 中 MAPKAPK5-AS1 表达水平,发现 4 株肝癌细胞系中 MAPKAPK5-AS1 表达水平明显高于人正常肝细胞($P<0.05$)。其中 LM3 中 MAPKAPK5-AS1 表达水平最高,是 MIHA 的 (4.06 ± 0.58) 倍;HepG2 中 MAPKAPK5-AS1 表达水平相对最低,为 MIHA 的 (2.25 ± 0.24) 倍。利用 LM3 细胞构建 MAPKAPK5-AS1 沉默的细胞模型,转染后细胞中 MAPKAPK5-AS1 的表达水平降低至 shNC 组的 (0.24 ± 0.04)。利用 HepG2 细胞构建 MAPKAPK5-AS1 过表达的细胞模型,转染后细胞中的 MAPKAPK5-AS1 的表达水平升高至 vector-NC 组的 (2.64 ± 0.31) 倍。

2.4 沉默 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响 为分析 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞的影响,将 LM3 细胞分为 shNC 组和 shMAPKAPK5-AS1 组(转染 sh1 质粒),结果显示,shMAPKAPK5-AS1 组细胞的增殖、迁移和侵袭能力明显低于 shNC 组($P<0.05$),而 shMAPKAPK5-AS1 组的凋亡率明显高于 shNC 组($P<0.05$),见图 3、表 2。

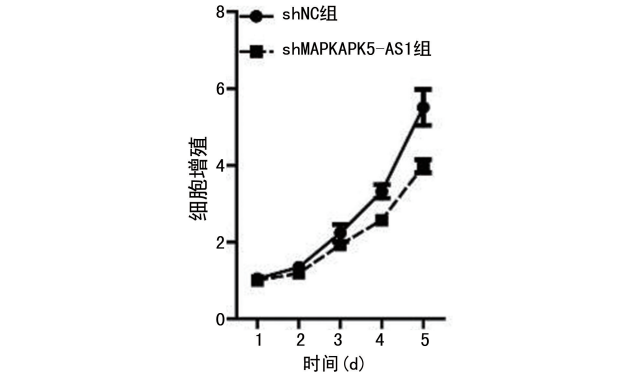


图 3 沉默 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞 LM3 增殖能力的影响

表 2 沉默 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞 LM3 凋亡、迁移和侵袭的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	凋亡率 (%)	侵袭细胞数目 (n)	迁移百分比 (%)
shNC 组	5.40 ± 1.04	72.15 ± 2.44	43.67 ± 2.87
shMAPKAPK5-AS1 组	12.40 ± 3.14	35.86 ± 2.21	22.08 ± 5.13
P	<0.05	<0.05	<0.05

2.5 过表达 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响 为分析 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞的影响,将 HepG2 细胞分为 vector-NC 组和 MAPKAPK5-AS1 组。结果显示,MAPKAPK5-AS1 组细胞的增殖、迁移和侵袭能力明显高于 vector-NC 组($P<0.05$),而 MAPKAPK5-AS1 组的凋亡率明显低于 vector-NC 组($P<0.05$),见图 4、表 3。

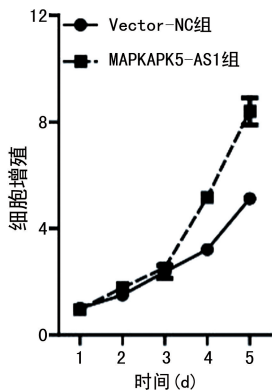
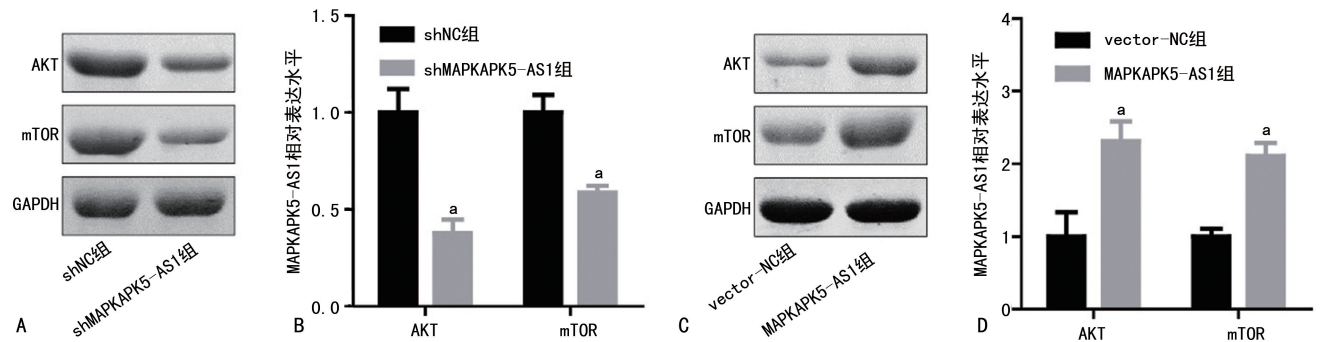


图 4 过表达 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞 HepG2 增殖能力的影响

2.6 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞中 AKT/mTOR



注:A为 Western blot 检测沉默 MAPKAPK5-AS1 对 AKT/mTOR 通路中蛋白表达水平的影响;B为 Western blot 检测过表达 MAPKAPK5-AS1 对 AKT/mTOR 通路中蛋白表达水平的影响;与 shNC 组或与 vector-NC 组比较,^a $P<0.05$ 。

图 5 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞中 AKT/mTOR 通路的影响

3 讨 论

由于肝癌发病隐匿,缺乏早期特异性临床指征,并且体检在我国覆盖范围有限,导致大多数患者在确诊时已经处于晚期或发生了转移,失去了手术根治的机会。复发和转移是导致肝癌患者死亡的重要因素,但是关于肝癌转移的机制仍不明确^[9]。分析肝癌发生和进展的分子机制是发现诊断和治疗肝癌新的靶标的重要手段。

lncRNA 在肝癌中的作用已经被较多研究进行了验证,如 MCM3AP-AS1 可以通过靶向 miR-194-5p 诱导肝癌进展^[10]。lncRNA AY 可以通过调控 IT-GAV 基因的转录促进肝癌的转移^[11]。MAPKAPK5-AS1(Ensembl:ENSG00000234608)位于 12 号染色体(NC_000012.12),LUAN 等^[12]的研究显示,MAPKAPK5-AS1 与胶质瘤患者预后有关,并且基因集富集分析结果显示,该基因参与调控自噬。也有体外研究显示,MAPKAPK5-AS1 可以通过靶向 let-7f-1-3p 促进结肠癌细胞的增殖和转移^[13]。在本研究中,笔者首先进行生物信息学分析并发现了在肝癌组织中 MAPKAPK5-AS1 的表达水平明显上调,并且高 MAPKAPK5-AS1 表达水平与较高的 TNM 分期、更低的生存率和低的无进展生存期有关,提示了 MAP-

通路的影响 进一步研究结果显示,shMAPKAPK5-AS1 组的 AKT 和 mTOR 蛋白水平明显低于 shNC 组($P<0.05$);MAPKAPK5-AS1 组的 AKT 和 mTOR 蛋白水平明显高于 vector-NC 组($P<0.05$),见图 5。

表 3 过表达 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞 HepG2 凋亡、迁移和侵袭的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	凋亡率 (%)	侵袭细胞数目 (n)	迁移百分比 (%)
Vector-NC 组	5.69±0.59	64.75±3.13	46.12±3.38
MAPKAPK5-AS1 组	3.58±0.72	91.48±4.25	69.36±6.51
P	<0.05	<0.05	<0.05

KAPK5-AS1 的促癌作用。为了进一步分析 MAPKAPK5-AS1 的临床意义,本研究收集了 90 份肝癌标本和对应癌旁正常组织标本,RT-qPCR 结果也显示,MAPKAPK5-AS1 在肝癌组织中明显升高。此外,MAPKAPK5-AS1 高表达与较高的 TNM 分期、血管侵犯和更低的生存率有关。这提示 MAPKAPK5-AS1 与肝癌的发生和发展有关,并且可能成为诊断和预测肝癌的生物标志物。

为进一步分析 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞的影响,本研究首先分析了人正常肝细胞 MIHA 和 4 株肝癌细胞系中 MAPKAPK5-AS1 的水平,与临床研究结果和生物信息学的分析结果一致,MAPKAPK5-AS1 在肝癌细胞系中过表达。然后分别利用 LM3 细胞和 HepG2 细胞构建 MAPKAPK5-AS1 沉默和过表达的肝癌细胞模型,结果显示,MAPKAPK5-AS1 升高后,细胞的增殖、迁移和侵袭的能力也随之升高,并且凋亡率降低;而沉默 MAPKAPK5-AS1 对肝癌细胞的影响与之相反。此外,本研究结果还发现,过表达 MAPKAPK5-AS1 可以使细胞中 AKT 和 mTOR 蛋白的水平升高。AKT/mTOR 通路是肝癌发生和进展的关键通路之一^[14],并且最近研究显示 AKT 的表达会受到 lncRNA 的调控,KOIRALA 等^[15]的研究结

果显示 lncRNA AK023948 可以通过促进 AKT 的转录并最终引起 AKT 蛋白的升高,参与乳腺癌进展。也有研究显示, lncRNA MEG3 可以诱导 AKT/mTOR 通路的抑制,从而缓解类风湿性关节炎的炎症反应^[16]。lncRNA SNHG14 可以通过使 miR-21 海绵化抑制 miR-21 对 AKT 的促进作用,从而在转录后水平上诱导 AKT 的表达^[17]。这提示 MAPKAPK5-AS1 对肝癌的促进作用可能与 AKT/mTOR 通路有关, MAPKAPK5-AS1 可能通过与 AKT 和 mTOR 的基因的启动子结合,促进其转录上调其表达水平; MAPKAPK5-AS1 也可能通过对应的 miRNA 在转录后的水平上诱导 AKT 和 mTOR 的过表达,从而发挥促进肝癌增殖和转移以及抑制凋亡的作用。

综上所述,本研究发现 MAPKAPK5-AS1 高表达与肝癌患者较高的 TNM 分期、血管侵犯和更低的生存率有关,并且 MAPKAPK5-AS1 可能通过促进 AKT/mTOR 通路促进肝癌增殖、转移和抑制凋亡。关于 MAPKAPK5-AS1 在肝癌诊断和预后预测中的作用值得进一步扩大标本分析, MAPKAPK5-AS1 对肝癌的促进作用仍需要进一步的体内试验验证,此外, MAPKAPK5-AS1 调控 AKT/mTOR 通路的分子机制也需要深入研究。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] AL-JUDAIBI B, DOKUS M K. Surgical resection vs radiofrequency ablation in older adults with early stage hepatocellular carcinoma: where do we stand? [J]. Saudi J Gastroenterol, 2018, 24(6): 309-310.
- [3] KONDO H, TOMIMARU Y, IWAZAWA T, et al. Pulmonary metastases of hepatocellular carcinoma created with repeated pulmonary resection-a case report[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2019, 46(13): 2527-2529.
- [4] QUINN J J, CHANG H Y. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function[J]. Nat Rev Genet, 2016, 17(1): 47-62.
- [5] PANOUTSOPOULOU K, AVGERIS M, SCORILAS A. miRNA and long non-coding RNA: molecular function and clinical value in breast and ovarian cancers[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2018, 18(11): 963-979.
- [6] 孙一奎, 赵枫, 吕绮, 等. 长链非编码 RNA MAPKAPK5-AS1 对肺癌细胞的侵袭和凋亡的影响[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(9): 1025-1028.

- [7] JI H, HUI B, WANG J, et al. Long noncoding RNA MAPKAPK5-AS1 promotes colorectal cancer proliferation by partly silencing p21 expression[J]. Cancer Sci, 2019, 110(1): 72-85.
- [8] ZHANG J, FAN D, JIAN Z, et al. Cancer specific long noncoding RNAs show differential expression patterns and competing endogenous RNA potential in hepatocellular carcinoma[J]. PLoS One, 2015, 10(1): e0141042-e0141045.
- [9] DONG J, TENG F, GUO W, et al. lncRNA SNHG8 promotes the tumorigenesis and metastasis by sponging miR-149-5p and predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 51(5): 2262-2274.
- [10] WANG Y, YANG L, CHEN T, et al. A novel lncRNA MCM3AP-AS1 promotes the growth of hepatocellular carcinoma by targeting miR-194-5p/FOXA1 axis [J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 28-31.
- [11] KANG C L, QI B, CAI Q Q, et al. LncRNA AY promotes hepatocellular carcinoma metastasis by stimulating ITGAV transcription[J]. Theranostics, 2019, 9(15): 4421-4436.
- [12] LUAN F, CHEN W, CHEN M, et al. An autophagy-related long non-coding RNA signature for glioma [J]. FEBS Open Bio, 2019, 9(4): 653-667.
- [13] YANG T, CHEN W C, SHI P C, et al. Long noncoding RNA MAPKAPK5-AS1 promotes colorectal cancer progression by cis-regulating the nearby gene MK5 and acting as a let-7f-1-3p sponge[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 139-141.
- [14] KAHRAMAN D C, KAHRAMAN T, CETIN-ATALAY R. Targeting PI3K/Akt/mTOR pathway identifies differential expression and functional role of IL8 in liver cancer stem cell enrichment[J]. Mol Cancer Ther, 2019, 18(11): 2146-2157.
- [15] KOIRALA P, HUANG J, HO T T, et al. LncRNA AK023948 is a positive regulator of AKT[J]. Nat Commun, 2017, 8(8): 14422-14425.
- [16] LI G, LIU Y, MENG F, et al. LncRNA MEG3 inhibits rheumatoid arthritis through miR-141 and inactivation of AKT/mTOR signalling pathway[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(10): 7116-7120.
- [17] LI W, DONG X, HE C, et al. LncRNA SNHG1 contributes to sorafenib resistance by activating the Akt pathway and is positively regulated by miR-21 in hepatocellular carcinoma cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 183-185.

(收稿日期: 2021-03-18 修回日期: 2021-06-07)