

本文引用:赵文玺,张晶晶,王鹏,等. 微RNA-205与人食管癌放射治疗抵抗细胞株Eca-109R放射抗性的相关性[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(5):411-415. DOI: 10. 7683/xyxyxb. 2023. 05. 002.

【基础研究】

微RNA-205与人食管癌放射治疗抵抗细胞株Eca-109R放射抗性的相关性

赵文玺¹, 张晶晶², 王鹏¹, 徐广峰³, 吴德平¹

(1. 淮安八十二医院[原东部战区总医院淮安医疗区]检验科, 江苏 淮安 223001; 2. 淮安鼎卫医学检验所, 江苏 淮安 223001; 3. 淮安市第三人民医院检验科, 江苏 淮安 223001)

摘要: **目的** 探讨人食管癌放射治疗抵抗细胞株Eca-109R中微RNA(miR)-205的表达水平与放射抗性的相关性。**方法** 取人食管鳞状细胞癌细胞株Eca-109,采用多次逐渐递增剂量的射线照射建立人食管癌放射治疗抵抗细胞株Eca-109R;另取Eca-109细胞,待细胞培养至融合度达到50%~70%时将miR-205 mimics转染入Eca-109细胞,形成Eca-109 miR-205过表达细胞。根据照射剂量将Eca-109细胞、Eca-109R细胞和Eca-109 miR-205过表达细胞分别分为0 Gy组、2 Gy组、4 Gy组、6 Gy组、8 Gy组、10 Gy组。用倒置显微镜观察Eca-109和Eca-109R细胞的形态,细胞计数试剂盒-8实验检测Eca-109细胞、Eca-109R细胞和Eca-109 miR-205过表达细胞的存活率;细胞克隆形成实验检测Eca-109细胞、Eca-109R细胞和Eca-109 miR-205过表达细胞的增殖情况;反转录聚合酶链式反应检测Eca-109细胞、Eca-109R细胞和Eca-109 miR-205过表达细胞中miR-205的表达水平。**结果** Eca-109细胞形态均一,大小一致,大多呈片状或梭状,折光性良好;Eca-109R细胞可见少量多角形细胞,伴有颗粒感,折光性差。在0 Gy组,Eca-109R细胞、Eca-109 miR-205过表达细胞与Eca-109细胞的存活率和细胞增殖能力比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。在2、4、6 Gy组,Eca-109R细胞、Eca-109 miR-205过表达细胞的存活率和细胞增殖能力显著高于Eca-109细胞($P < 0.05$)。在8 Gy组,Eca-109R细胞的存活率和细胞增殖能力显著高于Eca-109细胞($P < 0.05$);Eca-109 miR-205过表达细胞与Eca-109细胞的存活率和细胞增殖能力比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。在10 Gy组,Eca-109R细胞、Eca-109 miR-205过表达细胞与Eca-109细胞的存活率和细胞增殖能力比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。在0 Gy组,Eca-109R细胞、Eca-109 miR-205过表达细胞中miR-205的相对表达量显著高于Eca-109细胞($P < 0.05$)。在4 Gy组,Eca-109R细胞中miR-205的相对表达量显著高于Eca-109细胞($P < 0.05$)。4 Gy组的Eca-109R细胞中miR-205的相对表达量显著高于0 Gy组的Eca-109R细胞($P < 0.05$)。**结论** miR-205的表达与人食管癌放射治疗抵抗细胞株Eca-109R的放射抗性具有相关性,过表达miR-205可提高食管癌细胞的放射抗性。

关键词: 食管癌;Eca-109R细胞株;放射抗性;微RNA-205

中图分类号: R735.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2023)05-0411-05

Relationship between microRNA-205 and radiation resistance of human esophageal carcinoma radiation resistant cell line Eca-109R

ZHAO Wenxi¹, ZHANG Jingjing², WANG Peng¹, XU Guangfeng³, WU Deping¹

(1. Clinical Laboratory, the 82nd Hospital of Huai'an [the Huai'an Medical Area of the Former Eastern Theater General Hospital], Huai'an 223001, Jiangsu Province, China; 2. the Dingwei Medical Laboratory of Huai'an, Huai'an 223001, Jiangsu Province, China; 3. Clinical Laboratory, Huai'an No. 3 People's Hospital, Huai'an 223001, Jiangsu Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between the expression of microRNA (miR)-205 and radiation resistance in human esophageal carcinoma radiation resistant cell line Eca-109R. **Methods** Human esophageal carcinoma cell lines Eca-109 were taken and irradiated by multiple increasing doses of radiation to establish the human esophageal carcinoma radiation resistant cell line Eca-109R. Another Eca-109 cells were taken and cultured, when the fusion degree of Eca-109 cells reached 50% - 70%, the miR-205 mimics were transfected into Eca-109 cells to form the Eca-109 miR-205 overexpression

DOI: 10. 7683/xyxyxb. 2023. 05. 002

收稿日期: 2022-07-16

基金项目: 淮安市自然科学基金资助项目(编号: HAB202133)。

作者简介: 赵文玺(1987-), 男, 河南新乡人, 硕士, 主管技师, 研究方向: 食管癌的分子机制。

通信作者: 吴德平(1980-), 男, 福建建瓯人, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 分子微生物学; E-mail: wudeping520@yahoo.com.cn。

cells. The Eca-109 cells, Eca-109R cells and Eca-109 miR-205 overexpression cells were divided into 0 Gy group, 2 Gy group, 4 Gy group, 6 Gy group, 8 Gy group and 10 Gy group according to irradiation doses. The morphology of Eca-109 and Eca-109R cells was observed by inverted microscope; the viability of Eca-109 cells, Eca-109R cells and Eca-109 miR-205 overexpression cells was detected by cell counting kit-8 assay; the proliferation ability of Eca-109 cells, Eca-109R cells and Eca-109 miR-205 overexpression cells was detected by colony formation assay; the expression levels of miR-205 in Eca-109 cells, Eca-109R cells and Eca-109 miR-205 overexpression cells were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction. **Results** Eca-109 cells had uniform morphology and consistent size, and were mostly sheet or spindle shape; Eca-109 cells had good refractive index. In the Eca-109R cells, there were small amounts of polygonal cells with a granular sensation and poor refractive index. In the 0 Gy group, there was no significant difference in the survival rates and proliferation ability between Eca-109R cells, Eca-109 miR-205 overexpression cells and Eca-109 cells ($P > 0.05$). In the 2, 4, 6 Gy groups, the survival rates and proliferation ability of Eca-109R cells and Eca-109 miR-205 overexpression cells were significantly higher than those of Eca-109 cells ($P < 0.05$). In the 8 Gy group, the survival rate and proliferation ability of Eca-109R cells were significantly higher than those of Eca-109 cells ($P < 0.05$); there was no significant difference in the survival rate and proliferation ability between Eca-109 miR-205 overexpression cells and Eca-109 cells ($P > 0.05$). In the 10 Gy group, there was no significant difference in the survival rate and proliferation ability between Eca-109R cells, Eca-109 miR-205 overexpression cells and Eca-109 cells ($P > 0.05$). In the 0 Gy group, the relative expression of miR-205 in Eca-109R cells and Eca-109 miR-205 overexpression cells was significantly higher than that in Eca-109 cells ($P < 0.05$). In the 4 Gy group, the relative expression of miR-205 in Eca-109R cells was significantly higher than that in Eca-109 cells ($P < 0.05$). The relative expression of miR-205 in Eca-109 cells in the 4 Gy group was significantly higher than that in Eca-109 cells in the 0 Gy group ($P < 0.05$); the relative expression of miR-205 in Eca-109R cells in the 4 Gy group was significantly higher than that in Eca-109R cells in the 0 Gy group ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of miR-205 is correlated with the radiation resistance of human esophageal carcinoma radiation resistant cell line Eca-109R, and the overexpression of miR-205 can improve the radiation resistance of esophageal cancer cells.

Key words: esophageal cancer; Eca-109R cell line; radiation resistance; microRNA-205

食管癌是一种对人类健康有严重危害的恶性肿瘤,其发病率在全部肿瘤中居第8位,在肿瘤相关性死亡率排名中居第6位^[1-2]。中国是食管癌高发地区,每年发病人数占全球总人数50%以上^[3]。食管癌是一种预后较差的恶性肿瘤^[4],转移和复发是导致其预后差的主要原因^[5]。许多采用根治性放疗的患者在1~2 a复发,5 a生存率仅10%左右^[6]。导致复发或转移的原因较多,如肿瘤组织乏氧、对辐射效应的个体差异、放射治疗抵抗等均会导致病灶内残留有活性的癌细胞。如何提高放射治疗敏感性或者降低放射治疗抗性,达到预期效果,是亟待解决的问题。当前,微RNA(microRNA, miRNA)成为研究热点之一,其越来越多的作用和功能被研究人员发现。有研究表明,食管癌患者的癌组织和血液中miRNA的表达水平与健康人群有显著差异^[7]。PAN等^[8]研究发现,miR-205过表达可以提高食管癌细胞KYSE-30对放射治疗的抵抗性。FEBER等^[9]研究发现,miR-205在鳞状细胞癌和腺癌中表达较低。以上研究结果提示,癌细胞中miR-205过表达后可能会导致细胞对放射治疗的抵抗。基于此,本研究通过建立Eca-109放射治疗抵抗细胞株,检测miR-205在放射治疗前后的表达水平,同时检测miR-205过表达后细胞的增殖变化情况,探讨miR-205与食管癌细胞Eca-109放射治疗抵抗性的相关性。

1 材料与方 法

1.1 细胞、主要试剂与仪器 人食管鳞状细胞癌细胞株Eca-109购自上海细胞生物研究所;RPMI-1640培养基购自美国Hyclone公司,胎牛血清购自加拿大Wisent公司,RNA提取试剂盒购自德国Qiagen公司,miR-205 mimics和Lipofectamine 2000转染试剂盒购自广州锐博生物科技有限公司,miRNA反转录试剂盒和反转录聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)试剂盒购自美国ABI公司,细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)购自上海碧云天生物技术有限公司;VARIAN 2300C/D型医用电子直线加速器购自美国Varian Medical Systems公司,OLYMPUS CK40型倒置显微镜购自日本奥林巴斯公司,KHB ST-360生物酶标仪购自上海科华生物工程股份有限公司,微量分光光度计购自南京五义科技有限公司,荧光定量PCR仪购自美国ABI公司,MDF-382E(CN)医用低温冰箱购自大连三洋冷链有限公司。

1.2 细胞培养及放射治疗抵抗模型的建立 将Eca-109细胞株复苏后接种于含体积分数10%胎牛血清的RPMI-1640培养基,置于37℃、含体积分数5%CO₂的培养箱中培养,每2 d换液1次,待细胞铺满培养瓶底90%后扩大培养备用。取部分培养好的Eca-109细胞用直线加速器进行照射,剂量率

为 $200 \text{ cGy} \cdot \text{min}^{-1}$, 辐射源到细胞的距离 100 cm , 照射面积 $10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$, 照射剂量依次为 2 Gy 照射 3 次, 3 Gy 照射 3 次, 4 Gy 照射 5 次^[10], 照射时间 = 照射剂量/剂量率。每次射线照射后次日更换培养液, 清除死亡细胞, 传代培养后至细胞铺满培养瓶底 90% 再进行下一次照射, 总剂量达到 35 Gy 后, 存活下来的细胞即为放射治疗抵抗细胞模型, 命名为 Eca-109R 细胞。

1.3 细胞转染 取部分培养的 Eca-109 细胞消化后稀释为 $1 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ 的单细胞悬液, 每孔 3 mL 接种到 6 孔板中培养, 待细胞融合度达到 $50\% \sim 70\%$, 按照 Lipofectamine 2000 转染试剂盒说明书操作步骤, 将 miR-205 mimics 转染入 Eca-109 细胞 (Eca-109 miR-205 过表达细胞), 继续培养 48 h 后将细胞消化备用。

1.4 细胞形态观察 用倒置显微镜观察 Eca-109 细胞和 Eca-109R 细胞贴壁生长状态下的形态。

1.5 CCK-8 法检测细胞存活率 根据照射剂量将 Eca-109 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞和 Eca-109R 细胞分别分为 0 Gy 组、 2 Gy 组、 4 Gy 组、 6 Gy 组、 8 Gy 组、 10 Gy 组, 共 18 组。将 3 种细胞消化后稀释为 $2 \times 10^4 \text{ L}^{-1}$ 的单细胞悬液, 每孔 $100 \mu\text{L}$ 接种到 96 孔板中, 放置于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 、含体积分数 $5\% \text{ CO}_2$ 的培养箱中培养 24 h 后, 按照分组分别给予 0 、 2 、 4 、 6 、 8 、 10 Gy 的剂量进行照射, 培养 48 h 后吸去上清液, 并加入 $90 \mu\text{L}$ 含血清培养液, 再加入 $10 \mu\text{L}$ 的 CCK-8 试剂, 之后继续培养 4 h, 使用酶标仪测定每个反应孔在 450 nm 处的吸光度值, 并计算细胞存活率。细胞存活率 = (实验孔吸光度值 - 空白孔吸光度值) / (对照孔吸光度值 - 空白孔吸光度值)。

1.6 克隆形成实验检测细胞增殖情况 Eca-109 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞和 Eca-109R 细胞的分组同“1.5”。将 3 种细胞消化后稀释为 $1 \times 10^6 \text{ L}^{-1}$ 的单细胞悬液, 每孔 1 mL 接种到 6 孔板中, 再补充 2 mL 含血清培养基, 培养 24 h 后按照分组分别给予 0 、 2 、 4 、 6 、 8 、 10 Gy 的剂量进行照射, 继续培养 14 d, 期间每 3 d 更换 1 次培养液, 最后吸走培养液, 甲醇固定 30 min, 吉姆萨染液进行染色, 计数 > 50 个细胞的克隆数, 并计算克隆形成率。克隆形成率 = 细胞克隆数/接种细胞数。

1.7 RT-PCR 法检测细胞中 miR-205 相对表达量

采用 RNA 提取试剂盒提取 0 Gy 剂量照射的 Eca-109 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞和 Eca-109R 细胞中的总 RNA, 以及用单次 4 Gy 剂量照射后继续培养 48 h 的 Eca-109 细胞和 Eca-109R 细胞中的总 RNA, 用微量分光光度计测定 RNA 浓度和纯度, $\text{OD}_{260/280}$ 处于 $1.8 \sim 2.0$ 最佳, 如果 $\text{OD}_{260/280} < 1.8$, 可能有蛋白质污染; $\text{OD}_{260/280} > 2.0$, 可能有试剂残存。使用反转录试剂盒, 以提取到的 RNA 为模

板, 反转录出互补的单链 DNA, 以 U6 为内参基因, 应用 RT-PCR 技术检测 miR-205 的 Ct 值, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 miR-205 的相对表达量。

1.8 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用两独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Eca-109 细胞和 Eca-109R 细胞的形态 结果见图 1。Eca-109 细胞形态均一, 大小一致, 大多呈片状或梭状, 折光性良好; Eca-109R 细胞出现少量多角形细胞, 伴有颗粒感, 折光性差。异常形态的细胞在后续传代培养过程中逐渐消失, 最终获得均一性良好的细胞株 Eca-109R。

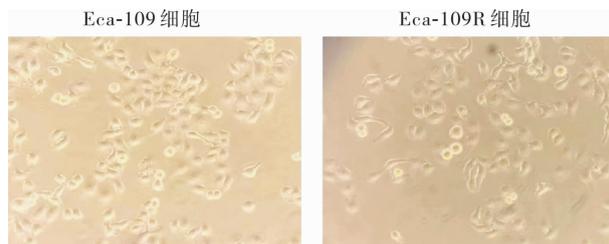


图 1 Eca-109 和 Eca-109R 细胞的形态 ($\times 100$)

Fig.1 Morphology of Eca-109 and Eca-109R cells ($\times 100$)

2.2 Eca-109 细胞、Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞存活率比较 结果见表 1。在 0 Gy 组, Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞与 Eca-109 细胞的存活率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在 2 、 4 、 6 Gy 组, Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞的存活率显著高于 Eca-109 细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 8 Gy 组, Eca-109R 细胞的存活率显著高于 Eca-109 细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); Eca-109 miR-205 过表达细胞与 Eca-109 细胞的存活率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在 10 Gy 组, Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞与 Eca-109 细胞的存活率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 Eca-109 细胞、Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞存活率比较

Tab.1 Comparison of cell survival rates among Eca-109 cells, Eca-109R cells and Eca-109 miR-205 overexpression cells ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	细胞存活率		
		Eca-109 细胞	Eca-109R 细胞	Eca-109 miR-205 过表达细胞
0 Gy 组	5	0.845 \pm 0.020	0.853 \pm 0.028	0.796 \pm 0.054
2 Gy 组	5	0.537 \pm 0.024	0.651 \pm 0.030 ^a	0.666 \pm 0.025 ^a
4 Gy 组	5	0.464 \pm 0.024	0.546 \pm 0.014 ^a	0.520 \pm 0.049 ^a
6 Gy 组	5	0.345 \pm 0.014	0.385 \pm 0.007 ^a	0.381 \pm 0.030 ^a
8 Gy 组	5	0.263 \pm 0.013	0.306 \pm 0.013 ^a	0.260 \pm 0.013
10 Gy 组	5	0.235 \pm 0.013	0.249 \pm 0.011	0.245 \pm 0.013

注: 与 Eca-109 细胞比较^a $P < 0.05$ 。

2.3 Eca-109 细胞、Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞增殖能力比较 结果见表 2 和图 2。在 0 Gy 组, Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞与 Eca-109 细胞的增殖能力比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在 2、4、6 Gy 组, Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞的增殖能力显著高于 Eca-109 细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 8 Gy 组, Eca-109R 细胞的增殖能力显著高于 Eca-109 细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); Eca-109 miR-205 过表达细胞与 Eca-109 细胞的增殖能力比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在 10 Gy 组, Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞与 Eca-109 细胞的增殖能力比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 Eca-109 细胞、Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞增殖能力比较

Tab.2 Comparison of cell proliferation ability among Eca-109 cells, Eca-109R cells and Eca-109 miR-205 overexpression cells

组别	n	细胞增殖能力(克隆形成率)		
		Eca-109 细胞	Eca-109R 细胞	Eca-109 miR-205 过表达细胞
0 Gy 组	5	0.657 7 ± 0.117 8	0.634 3 ± 0.051 8	0.613 0 ± 0.079 7
2 Gy 组	5	0.364 7 ± 0.021 9	0.472 0 ± 0.037 0 ^a	0.503 7 ± 0.026 1 ^a
4 Gy 组	5	0.151 7 ± 0.036 5	0.289 7 ± 0.065 8 ^a	0.262 7 ± 0.039 9 ^a
6 Gy 组	5	0.068 3 ± 0.032 5	0.185 3 ± 0.045 1 ^a	0.196 7 ± 0.071 0 ^a
8 Gy 组	5	0.003 3 ± 0.001 5	0.028 3 ± 0.009 3 ^a	0.003 0 ± 0.001 0
10 Gy 组	5	0.000 2 ± 0.000 2	0.007 7 ± 0.002 5	0.000 3 ± 0.000 1

注:与 Eca-109 细胞比较^a $P < 0.05$ 。

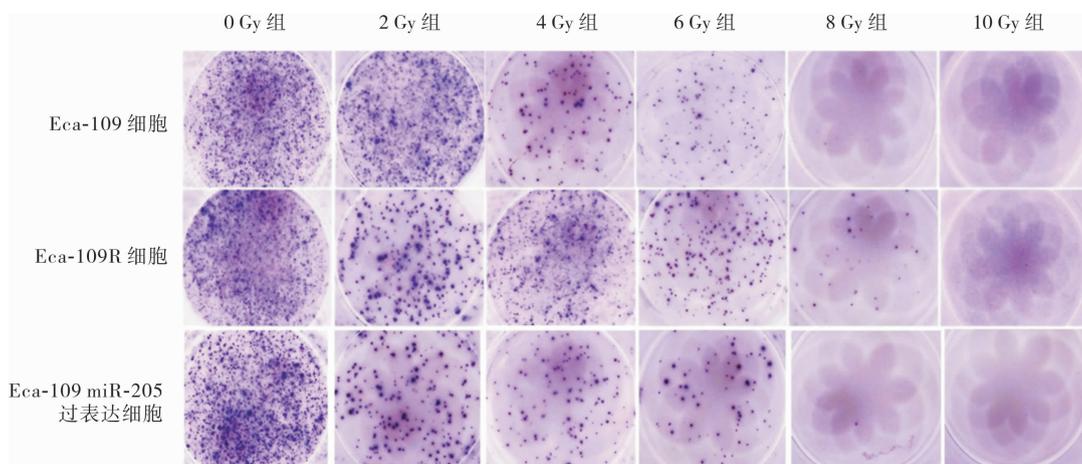


图 2 不同剂量组 Eca-109 细胞、Eca-109R 细胞和 Eca-109 miR-205 过表达细胞克隆形成情况

Fig.2 Clone formation of Eca-109 cells, Eca-109R cells and Eca-109 miR-205 overexpression cells in different dose groups

2.4 Eca-109 细胞、Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞中 miR-205 相对表达量比较 在 0 Gy 组, Eca-109 细胞、Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞中 miR-205 的相对表达量分别为 0.73 ± 0.04 、 1.24 ± 0.06 、 3.91 ± 0.22 , Eca-109R 细胞、Eca-109 miR-205 过表达细胞中 miR-205 的相对表达量显著高于 Eca-109 细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 4 Gy 组, Eca-109 细胞、Eca-109R 细胞中 miR-205 的相对表达量分别为 1.33 ± 0.04 、 3.26 ± 0.06 , Eca-109R 细胞中 miR-205 的相对表达量显著高于 Eca-109 细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。4 Gy 组的 Eca-109 细胞中 miR-205 的相对表达量显著高于 0 Gy 组的 Eca-109 细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 4 Gy 组的 Eca-109R 细胞中 miR-205 的相对表达量显著高于 0 Gy 组的 Eca-109R 细胞, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

鳞状细胞癌, 而欧美地区的食管癌以腺癌为主^[11]。因此, 需要建立符合我国食管癌特征的诊疗流程, 制定有效可行的治疗方案和预后评估手段, 不断探索食管鳞状细胞癌的病因、病程, 为该病的检测、诊断和治疗提供更充分的依据。当前, 食管癌的治疗以手术为主, 由于各种原因无法进行手术的患者会选择放射治疗和化学治疗, 随着放射治疗技术的精进, 食管癌患者放射治疗后 5 a 生存率也从最初的低于 20% 提高到 44% 左右。但是较高的复发率依然困扰着医生和患者^[12], 复发的主要原因是癌组织范围难以精准测定, 使放射治疗剂量的设定难度加大, 以及癌细胞对放射治疗的抵抗性等。对此, 多数学者选择使用恶性程度更高的低分化食管癌细胞株来建立放射治疗抵抗模型^[13-14]; 但也有研究表明, 无论食管癌分化程度高低, 都存在放射治疗抵抗的现象^[9]。本研究在查阅大量文献, 并进行预实验验证后, 最终选择高分化细胞株 Eca-109 进行造模, 该细胞株来源于人食管鳞状细胞癌, 细胞特征明显, 易于传代培养。本研究采用多次分阶段递增剂量照射的方法建立放射治疗抵抗模型, 结果显示, 造模完成后, 常规培养条件下, Eca-109R 细胞的形态特征

3 讨论

在中国, 食管癌的发病率居高不下, 近年来随着人们健康意识的提升和医疗技术的进步, 越来越多的食管癌患者被确诊, 其中超过 90% 的患者为食管

与 Eca-109 细胞无明显区别,可以正常传代、贴壁生长。在给予 Eca-109、Eca-109R 细胞相同剂量射线照射后,Eca-109R 细胞的存活率显著高于 Eca-109 细胞,细胞增殖能力也显著高于 Eca-109 细胞,与陈鑫等^[15]的研究结果一致。

miRNA 是存在于真核生物体内的一类长度不超过 25 个核苷酸的非编码 RNA,在机体内几乎所有的代谢活动和疾病过程都有 miRNA 的参与^[16]。王智^[17]研究发现,血清中 miRNA 水平的改变可以预测化学治疗的效果和预后情况。也有研究表明,在非小细胞肺癌中沉默 miR-205 后,可以抑制肿瘤细胞的增殖及体外血管的形成^[18]。miR-205 的主要功能是调控肿瘤细胞的增殖、侵袭及凋亡,但是其在不同的肿瘤组织或细胞中的表达水平却不尽相同。有研究证实,miR-205 参与肿瘤细胞增殖和凋亡的过程^[8]。本研究对比了 miR-205 在 Eca-109R 与 Eca-109 细胞中的表达水平,以及在接受射线照射后 miR-205 的表达水平变化情况,结果发现,miR-205 在 Eca-109R 细胞中的相对表达量显著高于 Eca-109 细胞,且细胞的存活率和克隆形成率也高于 Eca-109 细胞,说明细胞的存活和增殖能力的提高与 miR-205 高表达有关,miR-205 可能参与了细胞的放射治疗抵抗。本研究还发现,Eca-109 miR-205 过表达细胞的存活率和克隆形成率均显著高于 Eca-109 细胞,进一步说明 miR-205 可以提高 Eca-109 细胞的增殖能力,达到抵抗射线照射的作用,与细胞的放射治疗抵抗有关,从而推测可以通过抑制 miR-205 的表达水平来降低 Eca-109R 细胞的放射治疗抗性。

综上所述,本研究通过建立放射治疗抵抗细胞模型,证实了 miR-205 与人食管鳞状细胞癌细胞株 Eca-109 的放射治疗抗性有相关性,为下一步验证调节 miR-205 表达水平来改变 Eca-109 和 Eca-109R 细胞的放射治疗抗性提供了依据,为食管癌放射治疗方法的改进和优化提供了新的理论依据。

参考文献:

- [1] ADLAKHA Y K, SAINI N. MicroRNA-128 downregulates Bax and induces apoptosis in human embryonic kidney cells[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(8):1415-1428.
- [2] BOSETTI C, LEVI F, FERLAY J, et al. Trends in oesophageal cancer incidence and mortality in Europe[J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(5):1118-1129.
- [3] ARNOLD M, SOERJOMATARAM I, FERLAY J, et al. Global incidence of oesophageal cancer by histological subtype in 2012[J]. *Gut*, 2015, 64(3):381-387.
- [4] LV Y J, HANG J D, QIAO L L. Quality of life in patients with esophageal cancer receiving definitive chemoradiotherapy or esophagectomy[J]. *Mol Clin Oncol*, 2014, 2(5):870-874.
- [5] BERTERO T, GASTALDI C, BOURGET-PONZIO I, et al. CDC25A targeting by miR-483-3p decreases CCND-CDK4/6 assembly and contributes to cell cycle arrest[J]. *Cell Death Differ*, 2013, 20(6):800-811.
- [6] MOHAMMADI M, ISLAMIAN J P, KARAMI H, et al. Role of HDM2 gene in radio-sensitivity of esophageal cancer cell lines to irradiation[J]. *Int J Cancer Manag*, 2017, 10(6):8950-8956.
- [7] MAGHSUDLU M, YAZD E F, AMIRIANI T, et al. Expression analysis of microRNA-196a in esophageal cancer[J]. *JCBR*, 2019, 3(3):5-11.
- [8] PAN F, MAO H, BU F, et al. Sp1-mediated transcriptional activation of miR-205 promotes radioresistance in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(4):5735-5752.
- [9] FEBER A, XI L, LUKETICH J, et al. MicroRNA expression profiles of esophageal cancer[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2008, 135(2):255-260.
- [10] HUANG S, LI X Q, CHEN X, et al. Inhibition of microRNA-21 increases radiosensitivity of esophageal cancer cells through phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 activation[J]. *Dis Esophagus*, 2013, 26(8):823-831.
- [11] 樊冰雨, 鲍启德, 孙雷, 等. 食管癌高、低发区食管鳞癌相关多原发癌的临床特点[J]. 郑州大学学报(医学版), 2019, 53(2):160-164.
FAN B Y, BAO Q D, SUN L, et al. Clinical characteristics of multiple primary malignancies associated with esophageal squamous carcinoma from high-and low-incidence areas[J]. *J Zhengzhou Univ(Med Sci)*, 2019, 53(2):160-164.
- [12] 刘晓, 章文成, 于舒飞, 等. T₂₋₃N₀M₀ 期食管癌 R₀ 术后失败模式分析: 术后放疗潜在价值与意义[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2015, 24(1):19-24.
LIU X, ZHANG W C, YU S F, et al. Patterns of failure after radical surgery among patients with stage T₂₋₃N₀M₀ esophageal squamous cell carcinoma: potential value of postoperative radiotherapy[J]. *Chin J Radiat Oncol*, 2015, 24(1):19-24.
- [13] 方为扬, 李越, 盛蕾, 等. 蟾毒灵对食管癌细胞株 Kyse150 放疗敏感性影响的研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2018, 23(7):728-733.
FANG W Y, LI Y, SHENG L, et al. Effects of bufalin on radiosensitivity of esophageal cancer Kyse150 cell line[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2018, 23(7):728-733.
- [14] 李晓青, 陈鑫, 黄珊, 等. 下调 miR-21 可以增强食管癌 TE-1 细胞的放射敏感性[J]. 南方医科大学学报, 2012, 32(11):1559-1563.
LI X Q, CHEN X, HUANG S, et al. Down-regulation of miR-21 expression enhances the radiosensitivity of TE-1 cells *in vitro*[J]. *J South Med Univ*, 2012, 32(11):1559-1563.
- [15] 陈鑫, 车少敏, 惠蓓娜, 等. 食管鳞癌放射抗拒的相关 microRNA 筛选[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2013, 34(3):296-301.
CHEN X, CHE S M, HUI B N, et al. MicroRNA expression profiles in radioresistant esophageal squamous carcinoma cells[J]. *J Xi'an Jiaotong Univ(Med Sci)*, 2013, 34(3):296-301.
- [16] TRAN N, HUTVAGNER G. Biogenesis and the regulation of the maturation of miRNAs[J]. *Essays Biochem*, 2013, 54(1):17-28.
- [17] 王智. 食管癌根治术联合 TP 化疗对患者血清 p53 抗体、miR-21 和 miR-205 水平的影响[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(24):3627-3629.
WANG Z. Effects of radical resection with TP chemotherapy on serum p53 antibody, miR-21 and miR-205 levels in patients with esophagus cancer[J]. *Lab Med Clin*, 2019, 16(24):3627-3629.
- [18] CAI J, FANG L, HUANG Y, et al. MiR-205 targets PTEN and PHILPP2 to augment AKT signaling and drive malignant phenotypes in non-mall cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(17):5402-5415.