

lncRNA HIF1A-AS1 对长春新碱耐药视网膜母细胞瘤细胞化疗敏感性的影响

何道侗, 高 玉

引用: 何道侗, 高玉. lncRNA HIF1A-AS1 对长春新碱耐药视网膜母细胞瘤细胞化疗敏感性的影响. 国际眼科杂志, 2024, 24(3): 345-350.

基金项目: 上海市科学技术委员会科研项目 (No. 19ZR1456300)

作者单位: (200433) 中国上海市, 海军军医大学第一附属医院眼科

作者简介: 何道侗, 在读硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 玻璃体视网膜疾病。

通讯作者: 高玉, 博士, 硕士研究生导师, 主任医师, 研究方向: 玻璃体视网膜疾病. gaoyu@smmu.edu.cn

收稿日期: 2023-07-14 修回日期: 2024-01-31

摘要

目的: 探讨长链非编码 RNA-HIF1A-AS1 (lncRNA HIF1A-AS1) 调节缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 表达对长春新碱 (VCR) 耐药视网膜母细胞瘤 (RB) 细胞化疗敏感性的影响。

方法: 建立人 RB VCR 耐药细胞株 SO-RB50/VCR, 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测 SO-RB50 与 SO-RB50/VCR 细胞 lncRNA HIF1A-AS1 表达; 在 SO-RB50/VCR 细胞中抑制 lncRNA HIF1A-AS1 表达或同时过表达 HIF-1 α , 检测 SO-RB50/VCR 细胞对 VCR 的半数抑制浓度 (IC₅₀) 及细胞增殖、凋亡情况; Western blot 检测 HIF-1 α 、多药耐药相关蛋白 (MRP)、P-糖蛋白 (P-gp) 蛋白表达。

结果: 与 SO-RB50 细胞相比, SO-RB50/VCR 细胞中 lncRNA HIF1A-AS1 与 HIF-1 α 蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$); 在 SO-RB50/VCR 细胞中抑制 lncRNA HIF1A-AS1 表达后, 细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$), 细胞吸光度 (OD₄₅₀) 值显著降低, VCR 对细胞的 IC₅₀ 值及 HIF-1 α 、MRP、P-gp 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$); 过表达 HIF-1 α 可减弱下调 lncRNA HIF1A-AS1 表达对 SO-RB50/VCR 细胞耐药性的抑制作用。

结论: lncRNA HIF1A-AS1 在 SO-RB50/VCR 细胞中高表达, 抑制 lncRNA HIF1A-AS1 表达可通过下调 HIF-1 α 表达, 降低 SO-RB50/VCR 细胞对 VCR 的耐药性。

关键词: 长链非编码 RNA-HIF1A-AS1 (lncRNA HIF1A-AS1); 缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α); 视网膜母细胞瘤; 长春新碱耐药

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2024.3.03

Effect of lncRNA HIF1A - AS1 on chemotherapy sensitivity of vincristine - resistant in retinoblastoma cells

He Daotong, Gao Yu

Foundation item: Project Supported by the Shanghai Committee of Science and Technology (No.19ZR1456300)

Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Correspondence to: Gao Yu. Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200433, China. gaoyu@smmu.edu.cn

Received: 2023-07-14 Accepted: 2024-01-31

Abstract

• **AIM:** To investigate the effect of long non-coding RNA-HIF1A-AS1 (lncRNA HIF1A-AS1) on the chemotherapy sensitivity of vincristine (VCR) - resistant in retinoblastoma (RB) cells by regulating the expression of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α).

• **METHODS:** The human RB VCR-resistant cell line SO-RB50/VCR was established, expression of lncRNA HIF1A-AS1 in SO-RB50 and SO-RB50/VCR cells were detected by reverse transcription-quantitative real-time PCR (RT-qPCR); inhibition of lncRNA HIF1A-AS1 expression or simultaneous overexpression of HIF-1 α in SO-RB50/VCR cells, and then median inhibitory concentration (IC₅₀) of VCR and cell proliferation and apoptosis were detected in SO-RB50/VCR cells; the protein expressions of HIF-1 α , multidrug resistance associate protein (MRP) and P-glycoprotein (P-gp) were measured by Western blot.

• **RESULTS:** Compared with SO-RB50 cells, the expression levels of lncRNA HIF1A-AS1 and HIF-1 α protein in SO-RB50/VCR cells were increased ($P < 0.05$); after inhibiting the expression of lncRNA HIF1A-AS1 in SO-RB50/VCR cells, the apoptosis rate was significantly increased ($P < 0.05$), optical density (OD₄₅₀), the IC₅₀ value of VCR on cells and the expression levels of HIF-1 α , MRP and P-gp proteins were significantly reduced ($P < 0.05$); overexpression of HIF-1 α attenuates the inhibitory effect of down-regulated lncRNA HIF1A-AS1 expression on drug resistance in SO-RB50/VCR cells.

• **CONCLUSION:** The lncRNA HIF1A-AS1 was highly expressed in SO-RB50/VCR cells, and inhibition of lncRNA HIF1A-AS1 expression reduced VCR resistance in SO-RB50/VCR cells by down-regulating HIF-1 α expression.

• **KEYWORDS:** long non-coding RNA-HIF1A-AS1 (lncRNA HIF1A-AS1); hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α); retinoblastoma; vincristine resistance

Citation: He DT, Gao Y. Effect of lncRNA HIF1A-AS1 on chemotherapy sensitivity of vincristine-resistant in retinoblastoma cells. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2024, 24(3): 345-350.

0 引言

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB) 是一种主要发生于儿童的视网膜恶性肿瘤, 占所有儿科恶性肿瘤的4%, 严重影响儿童的视力和生命健康^[1]。RB 的临床治疗主要包括化疗、放疗、手术等局部治疗, 其中化疗为最常见的治疗方法, 化疗可以避免患者眼球摘除, 提高患者的生存率和生活质量。长春新碱 (vincristine, VCR) 是临床常用于 RB 治疗的一线化疗药物, 具有良好的疗效。但是, 长期应用会产生耐药性及多药耐药反应, 极大减弱化疗效果甚至造成化疗失败^[2]。因此, 减轻 RB 的 VCR 耐药性对提升化疗效果具有重大价值。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 在 RB 的发生发展中起着重要的调控作用。报道显示, ZF-PM2 反义 RNA 1 (ZFPM2-AS1)、肺腺癌转移相关转录因子 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcrip, MALAT1) 等多种 lncRNAs 与 RB 的进展有关^[3-4]。lncRNA HIF1A-AS1 位于人类第 14 号染色体缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 的反义链上, Hong 等^[5] 研究显示, 抑制 lncRNA HIF1A-AS1 表达可通过降低 HIF-1 α /哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 介导的自噬, 促进肝癌细胞凋亡。HIF-1 α 是细胞低氧应激的主要调节因子, 可参与肿瘤血管生成, 能量代谢, 促进肿瘤恶性进展及抗放化疗等^[6]。已有研究报道显示^[7], HIF-1 α 在 RB 组织中表达水平升高, HIF-1 α 信号通路可介导低氧诱导的 RB 细胞侵袭, 上调 HIF-1 α 表达可增加 RB 细胞对 VCR 的耐药性。但 lncRNA HIF1A-AS1 是否通过调控 HIF-1 α 表达参与 RB 对 VCR 的耐药性在国内尚未见报道。本研究探索 lncRNA HIF1A-AS1 对 VCR 耐药的人 RB 细胞化疗敏感性的影响及可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料

人视网膜母细胞瘤细胞 SO-RB50 购于中国科学院细胞库; VCR (B20157) 购自上海源叶生物科技有限公司; 抑制 lncRNA HIF1A-AS1 表达质粒 (si-lncRNA HIF1A-AS1, 序列 5'-GUCAAUUGGUUGAUCACCCG-3') 及对照 si-NC (序列: 5'-UUCUCCGAACGUCACGUTT-3')、HIF-1 α 过表达质粒 (HIF-1 α , 序列: 5'-ATCTCATCCAAGAAGCCCT-3')、对照 pcDNA 质粒 (序列: 5'-AAGTAATCAC TCGGTTAGAA-3') 以及 lncRNA HIF1A-AS1、HIF-1 α 、内参 GAPDH 引物购自广州锐博生物科技有限公司; Trizol 试剂 (15596018) 购自 Invitrogen; SYBR Green Master (4913914001) 购自 Roche; LipofectamineTM 2000 Transfection Reagent (11668030) 购自 Thermo Scientific; 高效 RIPA 裂解液 (R0010)、CCK-8 (cell counting kit-8) 试剂盒 (CA1210) 购自索莱宝生物科技有限公司; Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒 (40302ES20) 购自上海翌圣生物科技有限公司; 兔抗人 HIF-1 α (AF7087)、多药耐药相关蛋白 (multidrug resistance associate protein, MRP) (AF7503)、P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) (AF2245)、 β -肌动蛋白 (β -actin) (AF5003) 抗体以及辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 二抗 (A0208) 购自上海碧云天生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 RB VCR 耐药细胞株 SO-RB50/VCR 的建立

SO-RB50 细胞在含有 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基中培养, 加入起始浓度为 75 ng/mL VCR 连续培养 2 wk, 采用浓度递增法^[8]建立 SO-RB50/VCR, 直至 SO-RB50 细胞可在 600 ng/mL 的 VCR 中稳定生长。

1.2.2 细胞转染

将对数期的 SO-RB50/VCR 细胞接种于 6 孔板中, 当细胞达到 70% 融合时, 对细胞进行转染, 根据转染质粒, 将细胞分为对照组 (正常培养的 SO-RB50/VCR 细胞, 不进行转染)、si-NC 组 (将 si-NC 转染至 SO-RB50/VCR 细胞)、si-HIF1A-AS1 组 (将 si-HIF1A-AS1 转染至 SO-RB50/VCR 细胞)、si-HIF1A-AS1+pcDNA 组 (将 si-HIF1A-AS1 和 pcDNA 共转染至 SO-RB50/VCR 细胞)、si-HIF1A-AS1+HIF-1 α 组 (将 si-HIF1A-AS1 和 HIF-1 α 过表达质粒共转染至 SO-RB50/VCR 细胞), 转染 48 h 后, 使用荧光素同工异构体 (FITC) 进行标记, 并与转染物结合后通过流式细胞仪检测转染效率。流式细胞术检测显示转染效率达 60% 进行后续实验。

1.2.3 CCK-8 法检测细胞增殖和对 VCR 的半抑制浓度

取对数生长期的各组 SO-RB50/VCR 细胞, 按照每孔 5×10^4 个细胞接种至 96 孔板中培养 48h, 然后每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 溶液, 孵育 2 h 后, 测定各组细胞酶标仪 450 nm 处吸光度值 (optical density, OD₄₅₀)。

取对数生长期的各组 SO-RB50/VCR 细胞, 按照每孔 5×10^4 个细胞接种至 96 孔板中, 每孔分别加入终浓度为 0.005、0.010、0.050、0.100、0.500、1.000 μ g/mL 的 VCR, 各组对照孔加入二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 溶液, 培养 48 h 后每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 溶液, 孵育 2 h 后, 测定各组细胞酶标仪 450 nm 处吸光度值。计算各 VCR 浓度组的生长抑制率 (%) = (1 - 实验孔平均 OD 值 / 对照孔平均 OD 值) \times 100%, 其中实验孔为对照组、si-NC 组、si-HIF1A-AS1 组、si-HIF1A-AS1+pcDNA 组及 si-HIF1A-AS1+HIF-1 α 组给药浓度 > 0 的含细胞孔, 对照孔为各组给药浓度为 0 的含细胞孔, 调零孔为无细胞的孔。计算时首先将实验孔或对照孔的值减去调零孔值, 再取每个剂量组各孔的平均值。根据抑制率及对应浓度使用 SPSS 25.0 计算出各组细胞的半抑制浓度 (median inhibitory concentration, IC₅₀)。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 检测 lncRNA HIF1A-AS1 和 HIF-1 α mRNA 相对表达

Trizol 试剂提取细胞中总 RNA, NanoDrop 分光光度计检测 RNA 浓度和纯度, 使用逆转录试剂盒将 RNA 合成 cDNA 后, 通过使用 ETC811PCR 扩增仪进行 PCR 扩增, qPCR 引物如下: lncRNA HIF1A-AS1 上游引物 5'-TTCGGTACTTTACGCACCCT-3'; 下游引物 5'-TTTTCTCTCTTTTCGCCAGC-3'; HIF-1 α 上游引物: 5'-TCAAGTCAGCAACGTGGAAG-3'; 下游引物: 5'-ATCGAGGCTGTGTCGACTG-3'; 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 上游引物: 5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTT-3'; 下游引物: 5'-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3'。以 GAPDH 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。

1.2.5 细胞凋亡实验 转染后的各组 SO-RB50/VCR 细胞接种于 96 孔板中培养 24 h 后,胰酶消化后用 binding buffer 制备成 1×10^5 cell/mL 的细胞悬液,再加入 $5 \mu\text{L}$ Annexin V-FITC 与 $10 \mu\text{L}$ 的 PI,避光孵育 20 min,通过使用 BD FACSCanto™ II 流式细胞仪检测细胞凋亡,并使用 flowjo 10 软件对数据进行分析。

1.2.6 Western blot 检测 HIF-1 α 和 MRP 及 P-gp 蛋白表达 收集各组细胞,加入 RIPA 蛋白裂解液冰上裂解 1 h,离心收集上清,BCA 法检测蛋白浓度,取 $30 \mu\text{g}$ 蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳并转膜,5%脱脂奶粉封闭 2 h,加入按照说明书进行稀释的抗 HIF-1 α (1:1 000 稀释)、MRP (1:500 稀释)、P-gp (1:1 000 稀释)、 β -actin (1:1 000 稀释)一抗稀释液,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,次日加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (1:2 000 稀释),室温孵育 60 min,TBST 洗涤后加 ECL 发光液显影,以 β -actin 为内参,Image J 软件分析蛋白相对表达。

统计学分析:采用 SPSS 25.0 统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较使用两独立样本 t 检验,多组间比较使用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用 SNK- q 检验。当 $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA HIF1A-AS1 和 HIF-1 α 蛋白在 SO-RB50 和 SO-RB50/VCR 细胞表达情况 与 SO-RB50 细胞相比,SO-RB50/VCR 细胞中 lncRNA HIF1A-AS1 和 HIF-1 α 蛋白表达水平明显升高,差异均有统计学意义 ($t = 7.497, 13.717, P < 0.001$),见图 1。

2.2 lncRNA HIF1A-AS1 表达对 SO-RB50/VCR 细胞 VCR 耐药性的影响 与 si-NC 组相比,si-HIF1A-AS1 组 SO-RB50/VCR 细胞中 lncRNA HIF1A-AS1 表达水平、 OD_{450} 及细胞对 VCR 的 IC_{50} 值均显著降低,差异均有统计学意义 ($F = 92.336, 62.111, 15.545$, 均 $P < 0.001$),si-HIF1A-AS1 组 SO-RB50/VCR 细胞凋亡率显著升高,差异有统计学意义 ($F = 182.048, P < 0.001$),MRP 及 P-gp 蛋白表达水平均显著降低,差异均有统计学意义 ($F = 108.953, 93.964$, 均 $P < 0.001$),见图 2。

2.3 lncRNA HIF1A-AS1 对 SO-RB50/VCR 细胞中 HIF-1 α mRNA 和蛋白表达的影响 与 si-NC 组相比,si-HIF1A-AS1 组 SO-RB50/VCR 细胞 HIF-1 α 蛋白表达水平显著降低,差异有统计学意义 ($F = 188.188, P < 0.001$),HIF-1 α mRNA 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 3。

2.4 lncRNA HIF1A-AS1 对 SO-RB50/VCR 细胞 VCR 耐药性影响 与 si-HIF1A-AS1+pcDNA 相比,si-HIF1A-AS1+HIF-1 α 组 SO-RB50/VCR 细胞 OD_{450} 、对 VCR 的 IC_{50} 值均显著升高,差异均有统计学意义 ($F = 35.586, 7.412, P < 0.001$),SO-RB50/VCR 细胞凋亡率显著降低,差异有统计学意义 ($F = 21.629, P < 0.001$),HIF-1 α 、MRP、P-gp 蛋白表达水平均显著升高,差异均有统计学意义 ($F = 209.638, 105.085, 90.196$, 均 $P < 0.001$),si-HIF1A-AS1 组与 si-HIF1A-AS1+pcDNA 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 4。

3 讨论

化疗是目前治疗 RB 的主要方法,联合使用长春新碱、依托泊苷和卡铂的 VEC 方案是最常用的全身静脉化疗方案^[8]。然而 RB 对 VCR 耐药是导致患者化疗失败的原因之一^[9]。耐药性 RB 会引起肿瘤转移,并增加复发的可能性。而有关 RB 对 VCR 耐药的机制尚不完全清楚。因此研究其耐药机制,降低 RB 对 VCR 耐药性对提高 RB 治疗的疗效有重要意义^[10-11]。

lncRNA 对人类多种疾病具有调控作用,已有研究显示,lncRNA 可通过调控肿瘤细胞增殖、凋亡、自噬等影响肿瘤细胞对放化疗的敏感性^[12]。研究显示^[13],lncRNA X 染色体失活基因 (X chromosome inactivation, XIST) 在 RB 组织和细胞系中高表达,抑制 lncRNA XIST 表达可减弱 RB 细胞的增殖和自噬,增强 VCR 敏感性。另外,也有研究显示 lncRNA DLGAP1-AS2 在 RB 组织中的表达高于正常视网膜组织,沉默 lncRNA DLGAP1-AS2 可抑制 RB 细胞增殖、迁移和侵袭,可作为视网膜母细胞瘤治疗的潜在靶点^[14]。lncRNA HIF1A-AS1 可通过调控肿瘤细胞增殖、凋亡、自噬等生物学行为参与肿瘤的发生发展,研究显示,

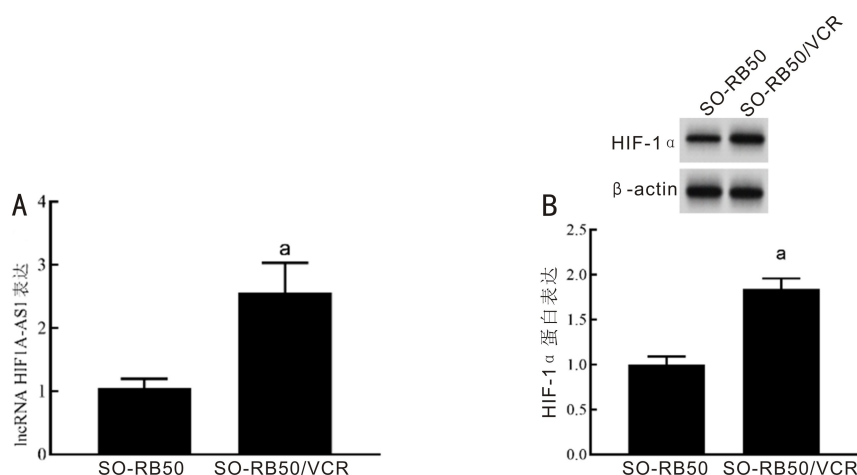


图 1 lncRNA HIF1A-AS1 和 HIF-1 α 蛋白在 SO-RB50 和 SO-RB50/VCR 细胞表达情况 A:SO-RB50 和 SO-RB50/VCR 细胞 lncRNA HIF1A-AS1 表达;B:SO-RB50 和 SO-RB50/VCR 细胞 HIF-1 α 蛋白表达;^a $P < 0.05$ vs SO-RB50 细胞。

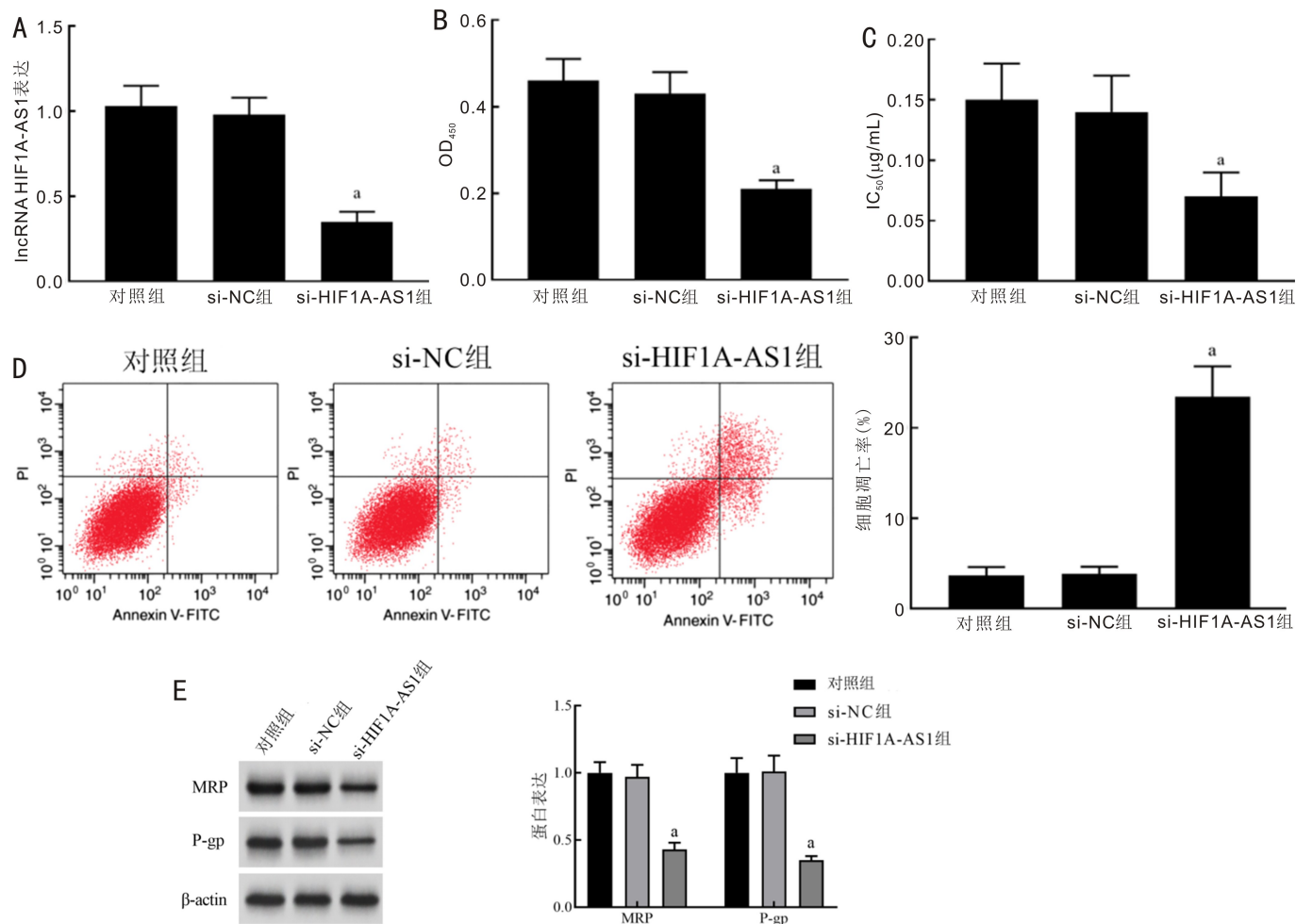


图2 lncRNA HIF1A-AS1 表达对 SO-RB50/VCR 细胞 VCR 耐药性的影响 A: 各组细胞 lncRNA HIF1A-AS1 表达比较; B: 各组细胞 OD₄₅₀ 值比较; C: 各组细胞对 VCR 的 IC₅₀ 值比较; D: 各组细胞凋亡率比较; E: 各组细胞 MRP、P-gp 蛋白表达比较; ^aP<0.05 vs si-NC 组。

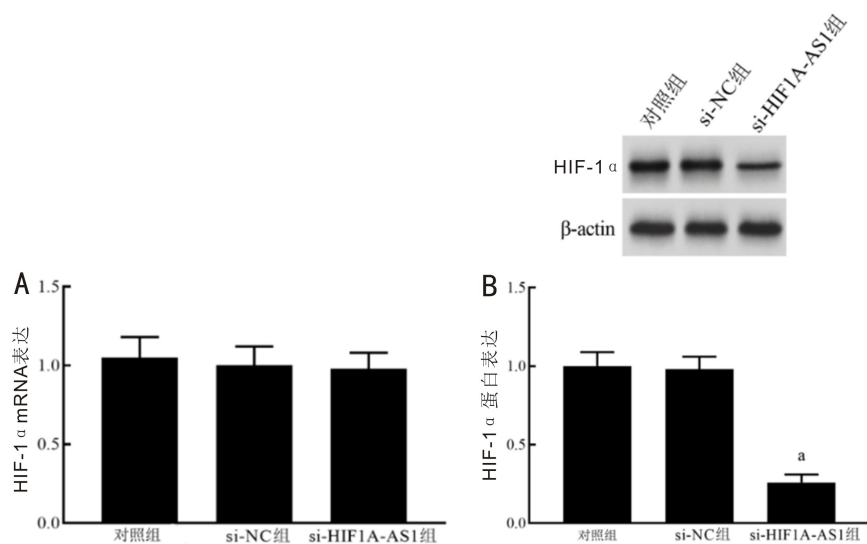


图3 lncRNA HIF1A-AS1 对 SO-RB50/VCR 细胞中 HIF-1α mRNA 和蛋白表达的影响 A: 各组细胞 HIF-1α mRNA 表达比较; B: 各组细胞 HIF-1α 蛋白表达比较; ^aP<0.05 vs si-NC 组。

lncRNA HIF1A-AS1 在肺癌、肝癌、结直肠癌等肿瘤中表达上调,与肿瘤进展和患者预后相关^[15-16]。另外,有研究表明 lncRNA HIF1A-AS1 还可参与调节血管平滑肌细胞增殖,可能与动脉瘤的发病机制有关^[17]。lncRNA HIF1A-AS1 与 RB 化疗耐药性的关系及其机制尚不完全明确。

本研究发现耐药 SO-RB50/VCR 细胞中 lncRNA HIF1A-AS1 表达水平高于 SO-RB50 细胞,初步证实了的高表达状态与 RB 细胞呈现化疗耐药性有关。为探究 lncRNA HIF1A-AS1 对 SO-RB50/VCR 细胞的作用,在 SO-RB50/VCR 细胞中转染 si-lncRNA HIF1A-AS1,结果显示,抑制

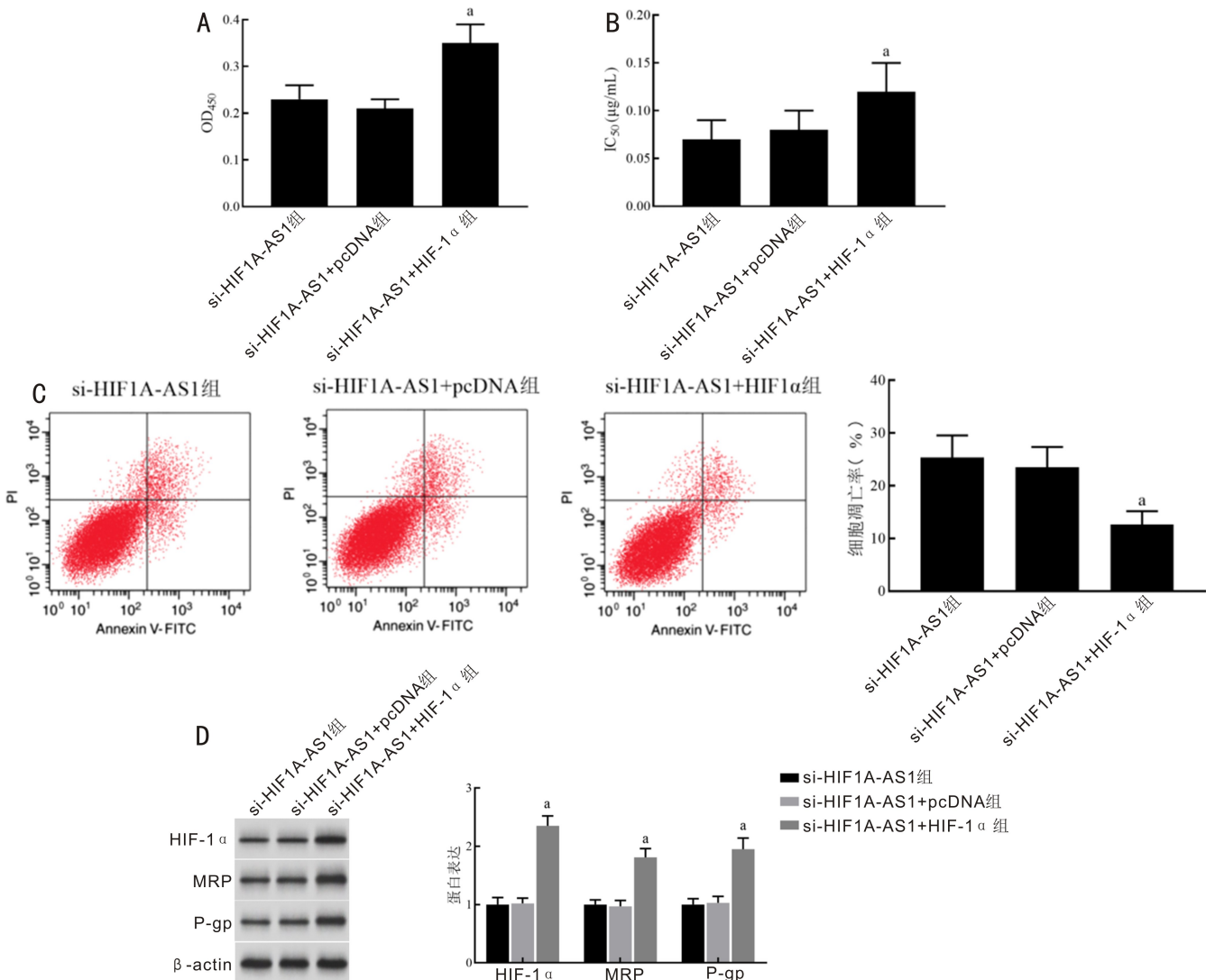


图4 lncRNA HIF1A-AS1对SO-RB50/VCR细胞VCR耐药性影响 A: 各组细胞OD₄₅₀值比较; B: 各组细胞对VCR的IC₅₀值比较; C: 各组细胞凋亡率比较; D: 各组细胞HIF-1 α 、MRP、P-gp蛋白表达比较; ^aP<0.05 vs si-HIF1A-AS1+pcDNA组。

lncRNA HIF1A-AS1表达可显著降低SO-RB50/VCR细胞增殖水平,诱导细胞凋亡,表明抑制lncRNA HIF1A-AS1可以显著降低SO-RB50/VCR的生物学功能,提高其对VCR药物的敏感性。MRP是细胞耐药形成机制调节蛋白之一,P-gp是膜转运蛋白,单一药物的长期治疗激活P-gp是肿瘤细胞耐药的主要原因^[18]。本研究抑制lncRNA HIF1A-AS1表达后,SO-RB50/VCR中耐药相关蛋白MRP、P-gp蛋白表达水平显著降低,细胞对VCR的IC₅₀值降低,进一步证明,抑制lncRNA HIF1A-AS1表达则可显著抑制RB细胞化疗耐药性的产生。

HIF-1 α 是一种转录因子,在低氧环境下,通过低氧反应原件与靶基因结合,调控转录过程,可参与调节肿瘤血管形成、肿瘤转移与侵袭、糖酵解、癌细胞干性等生物学功能。研究显示,HIF-1 α 在肝癌、肺癌等肿瘤中高表达,并在缺氧条件下促进肿瘤恶性发展^[19-20],而抑制HIF-1 α 表达可增强结直肠癌细胞的放射敏感性^[21]。另外,也有研究显示下调HIF-1 α 表达后可促进缺氧损伤的视网膜神经胶质细胞活力,并能抑制视网膜新生血管^[22]。本研究结果显示,HIF-1 α 在SO-RB50耐药细胞SO-RB50/VCR中表达水平升高,抑制lncRNA HIF1A-AS1表达后

HIF-1 α 蛋白表达水平降低,而HIF-1 α mRNA表达水平不变,提示HIF-1 α 参与SO-RB50/VCR耐药,且lncRNA HIF1A-AS1可能调控HIF-1 α 转录后水平。在SO-RB50/VCR细胞中同时抑制lncRNA HIF1A-AS1表达和过表达HIF-1 α ,发现SO-RB50/VCR细胞凋亡率较单抑制lncRNA HIF1A-AS1表达显著降低,OD₄₅₀、VCR对细胞的IC₅₀值及HIF-1 α 、MRP、P-gp蛋白表达水平显著升高,提示过表达HIF-1 α 可部分抵消抑制lncRNA HIF1A-AS1表达对SO-RB50/VCR细胞耐药性的抑制作用。以上结果表明,抑制lncRNA HIF1A-AS1表达可以通过抑制HIF-1 α 表达,降低SO-RB50/VCR细胞对VCR的耐药性。但本研究仅测试一种RB细胞株,缺乏实验全面性,对于RB常用化疗药物还有卡铂、依托泊苷等临床用药,因此,后续本研究将使用不同的RB细胞株,并建立不同的耐化疗药物细胞株,深入探究lncRNA HIF1A-AS1与HIF-1 α 对RB的耐药性影响。

综上所述,lncRNA HIF1A-AS1在SO-RB50/VCR细胞中高表达,抑制lncRNA HIF1A-AS1表达可通过下调HIF-1 α 表达抑制SO-RB50/VCR细胞增殖,并降低SO-RB50/VCR细胞对VCR的耐药性,从而提高VCR耐

药 RB 细胞对 VCR 的化疗敏感性,可作为耐 VCR 视网膜母细胞瘤化学药物治疗的新的潜在靶点。

参考文献

[1] 周宇晨, 赵军阳, 张成玥, 等. 单眼眼内期视网膜母细胞瘤 168 例疗效及生存质量分析. 中国循证儿科杂志, 2021,16(2):104-108.

[2] Zhao BW, Li B, Liu Q, et al. Effects of matrine on the proliferation and apoptosis of vincristine-resistant retinoblastoma cells. *Exp Ther Med*, 2020,20(3):2838-2844.

[3] Ni WC, Li Z, Ai K. lncRNA ZFPM2-AS1 promotes retinoblastoma progression by targeting microRNA miR-511-3p/paired box protein 6 (PAX6) axis. *Bioengineered*, 2022,13(1):1637-1649.

[4] Zhao YX, Wang ZX, Gao ML, et al. lncRNA MALAT1 regulated ATAD2 to facilitate retinoblastoma progression via miR-655-3p. *Open Med*, 2021,16(1):931-943.

[5] Hong FF, Gao Y, Li Y, et al. Inhibition of HIF1A-AS1 promoted starvation-induced hepatocellular carcinoma cell apoptosis by reducing HIF-1 α /mTOR-mediated autophagy. *World J Surg Oncol*, 2020,18(1):113.

[6] Xu K, Zhan YP, Yuan ZT, et al. Hypoxia induces drug resistance in colorectal cancer through the HIF-1 α /miR-338-5p/IL-6 feedback loop. *Mol Ther*, 2019,27(10):1810-1824.

[7] Li CZ, Zhao J, Sun WY. MicroRNA-222-mediated VHL downregulation facilitates retinoblastoma chemoresistance by increasing HIF-1 α expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020,61(10):9.

[8] 俞依琳, 葛盛芳, 范佳燕. 视网膜母细胞瘤化疗耐药的研究进展. 国际眼科杂志, 2023,23(10):1653-1657.

[9] Jiang Y, Zhang L. Mechanism of all-transretinoic acid increasing retinoblastoma sensitivity to vincristine. *Asian Pac J Trop Med*, 2016,9(3):278-282.

[10] 喻一心, 邓娅青, 江海波. 干扰 Netrin-1 促进视网膜母细胞瘤对顺铂的敏感性. 肿瘤药学, 2021,11(1):31-35.

[11] Wang Y, Xin DL, Zhou L. lncRNA LINC00152 increases the aggressiveness of human retinoblastoma and enhances carboplatin and adriamycin resistance by regulating miR-613/yes-associated protein 1 (YAP1) axis. *Med Sci Monit*, 2020,26:e920886.

[12] 袁金金, 刘宗文, 宋锐, 等. 沉默 lncRNA UCA1 通过上调 miR-873-5p 表达对胶质瘤细胞放射敏感性影响. 中华放射肿瘤学杂志, 2021,30(8):846-852.

[13] Yao L, Yang L, Song H, et al. Silencing of lncRNA XIST suppresses proliferation and autophagy and enhances vincristine sensitivity in retinoblastoma cells by sponging miR-204-5p. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020,24(7):3526-3537.

[14] 李晖, 汪明红, 廖凤玲, 等. 沉默 lncRNA DLGAP1-AS2 对人视网膜母细胞瘤增殖和迁移及侵袭的影响. 国际眼科杂志, 2022,22(6):904-910.

[15] Qiu JJ, Lin XJ, Zheng TT, et al. Natural antisense transcript of hypoxia-inducible factor 1 regulates hypoxic cell apoptosis in epithelial ovarian cancer. *Onco Targets Ther*, 2018,11:9101-9110.

[16] 郑凤萍, 罗巨利, 王爱华. 血清 lncRNA HIF1A-AS1 在结直肠癌诊断中临床意义. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019,33(2):143-146.

[17] Xu JM, Zhang Y, Chu LS, et al. Long non-coding RNA HIF1A-AS1 is upregulated in intracranial aneurysms and participates in the regulation of proliferation of vascular smooth muscle cells by upregulating TGF- β 1. *Exp Ther Med*, 2019,17(3):1797-1801.

[18] Huang W, Zhang J, Dong B, et al. A novel miR-98 negatively regulates the resistance of endometrial cancer cells to paclitaxel by suppressing ABCC10/MRP-7. *Front Oncol*, 2021,11:809410.

[19] 杨淑慧, 周琳, 李银珍, 等. MTA1 通过 HIF-1 α 上调 MTDH 基因表达促进肺癌细胞增殖与活力. 重庆医学, 2021,50(9):1451-1455,1460.

[20] Zhang XD, Li Y, Ma YB, et al. Yes-associated protein (YAP) binds to HIF-1 α and sustains HIF-1 α protein stability to promote hepatocellular carcinoma cell glycolysis under hypoxic stress. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018,37(1):216.

[21] 刘黎, 杨帆, 张匠, 等. 下调 miR-155 通过抑制 HIF-1 α /VEGF 通路增强人结直肠癌细胞的放射敏感性. 广西医科大学学报, 2021,38(7):1356-1362.

[22] 孔令春, 邹红, 李景景, 等. 加味桃红四物汤对视网膜 Müller 细胞缺氧损伤的保护作用. 国际眼科杂志, 2023,23(1):17-22.