

非编码 RNA 对胰腺癌发生进展及耐药的影响

吴念平, 周策凡*, 唐景峰*

(湖北工业大学 科技部/教育部细胞调控与分子药理学“111”引智基地 发酵工程教育部重点实验室 工业发酵省部共建协同创新中心 工业微生物湖北省重点实验室, 中国湖北 武汉 430068)

摘要: 非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 作为近几年研究的热点, 它们大量存在于生物体内。大多数非编码 RNA 不具备编码蛋白质的能力, 但是能够调控基因表达及蛋白质功能, 在各种疾病中参与复杂的信号网络并发挥着重要的功能。胰腺癌由于早期症状不明显, 一旦被发现就是晚期, 并且治疗和预后效果极差, 因此被称为癌症之王, 目前科研上也难以攻克。本文阐述了非编码 RNA 在胰腺癌发生、进展及耐药过程中的作用机理, 以为科研人员寻找检测和治疗胰腺癌的靶点提供一定的思路。

关键词: 非编码 RNA (ncRNA); 胰腺癌; 耐药

中图分类号: Q752, R735.9

文献标志码: A

文章编号: 1007-7847(2023)06-0488-10

Effects of Non-coding RNAs on Occurrence, Progression and Drug Resistance of Pancreatic Cancer

WU Nianping, ZHOU Cefan*, TANG Jingfeng*

(National “111” Center for Cellular Regulation and Molecular Pharmaceutics, Key Laboratory of Fermentation Engineering (Ministry of Education), Cooperative Innovation Center of Industrial Fermentation (Ministry of Education & Hubei Province), Hubei Key Laboratory of Industrial Microbiology, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, Hubei, China)

Abstract: Non-coding RNAs (ncRNAs), which are abundant in organisms, have been of special concern in recent years. Most ncRNAs do not encode proteins, but they play a significant role in participating complex signaling cascades in various diseases by regulating gene expression and protein functions. Pancreatic cancer is known as the king of cancer because its early symptoms are not obvious, diagnosis often occurs at an advanced stage of the disease and its treatment effect and prognosis are extremely poor. There is still a long way to go in scientific research of pancreatic cancer. This article describes the mechanism of ncRNAs in the occurrence, progression and drug resistance of pancreatic cancer, hoping to provide some ideas for researchers to find targets for the tumor detection and treatment.

Key words: non-coding RNA (ncRNA); pancreatic cancer; drug resistance

(Life Science Research, 2023, 27(6): 488-497)

大多数非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 是不具备蛋白质编码但具有其他生物学功能的 RNA 转录本, 其包括长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)、微 RNA (microRNA, miRNA)、干扰小 RNA (small interfering RNA, siRNA) 以及环状 RNA (circular RNA, circRNA) 等^[1-2]。mi-

RNA 和 siRNA 会组装成对应的 RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC), 如 miRISC 和 siRISC, 从而靶向特定的 mRNA 进行切割或者抑制蛋白质翻译^[3]。lncRNA 会参与一些信号通路, 如 Wnt/ β -catenin 和 P53 等信号通路, 从而参与调节细胞凋亡、代谢以及细胞增殖等^[4]。

收稿日期: 2022-11-21; 修回日期: 2023-03-21; 网络首发日期: 2023-05-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31871176, 32070726)

作者简介: 吴念平(1998—), 男, 湖北孝感人, 硕士研究生; * 通信作者: 周策凡(1987—), 男, 江西鹰潭人, 博士, 副教授, 主要从事细胞自噬与信号转导及多肽药物研发等方面的研究, E-mail: cefan@whu.edu.cn; 唐景峰(1982—), 男, 安徽砀山人, 博士, 教授, 博导, 主要从事细胞自噬与离子通道、细胞信号与网络调控、蛋白质功能与分子药物等方面的基础应用研究, E-mail: tangjingfeng@hbut.edu.cn。

除此以外, lncRNA 还能够介导蛋白质的翻译后修饰以及改变癌细胞的代谢网络^[5]。circRNA 是通过反向剪接形成的环状 RNA, 它能作为 miRNA 海绵阻断 miRNA 调控下游基因的表达^[6]。这些非编码 RNA 调控失常会导致神经、心血管疾病以及癌症的发生^[7]。因此, 研究清楚非编码 RNA 在癌症中的作用对肿瘤治疗至关重要。

胰腺癌是一种致死率极高并且 5 年生存率很低的癌症, 其年龄标准化发病率与死亡率为每 10 万人 4.8 例和 4.4 例^[8]。胰腺癌与不良的生活习惯有关, Huang 等^[9]对 48 个国家的胰腺癌数据进行了分析, 发现胰腺癌的高发病率和死亡与吸烟、饮酒、肥胖、高血压等息息相关。有研究表明, 肥胖患者[身体质量指数(body mass index, BMI) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$]与 BMI 正常范围内的患者相比, 其发生胰腺癌的概率增加(风险比为 1.15~1.53)^[10]。从病理上分析, 肥胖导致的胰腺脂肪浸润与胰腺上皮内肿瘤的发展相关, 这可能使病变区域发展为胰腺导管癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)^[11]。PDAC 是最常见的胰腺癌, 其大多数是由胰腺上皮内瘤变导致的, 少数存在于导管内乳头状黏液性肿瘤(intraductal papillary mucinous neoplasm, IP-MN)和黏液性囊性肿瘤(mucinous cystic neoplasm, MCN)这类囊性病变中^[12]。在胰腺上皮内肿瘤早期, 癌基因 *KRAS* 突变导致 Ras/Raf 和 PI3K/Akt 通路激活, 进而影响细胞周期。此外, 周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A (*cyclin-dependent kinase inhibitor 1A*, *CDKN1A*)的过表达以及周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A (*cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*, *CDKN2A*)的突变失活会促进细胞从 G1 期向 S 期转变。当肿瘤进展到胰腺癌晚期时, 抑癌基因 *TP53* 和 *SMAD4* 会突变失活, 导致转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)通路失活, 同时促进细胞周期^[13]。

目前, 胰腺癌在发展为晚期之前很少出现症状, 并且上腹部肿胀和大便形态改变经常会被归因于其他良性病因, 从而耽误胰腺癌的诊断, 最终使病情恶化^[14]。虽然经手术切除的患者 5 年生存率仅 10%~25%并且仍可能出现局部复发和远端转移, 但手术治疗是可能治愈胰腺癌的唯一方法^[15]。此外, 尽管吉西他滨和 5-氟尿嘧啶等药物化疗会显著改变胰腺癌晚期患者的不良预后, 但是耐药性的发展往往使最终结果不佳。因此, 早期诊断和晚期化疗耐药性强是困扰胰腺癌治疗的主要

问题。现有研究显示, 许多非编码 RNA 在胰腺癌组织与正常组织中存在差异表达, 它们参与胰腺癌的发生进展与耐药^[16-17]。因此, 深入了解非编码 RNA 影响肿瘤发生进展和耐药的机制, 或许能为早期诊断胰腺癌以及提高药物对胰腺癌耐药细胞的药效提供一定思路。

1 非编码 RNA 与胰腺癌的发生进展

胰腺癌组织富含大量非编码 RNA, 这些 RNA 参与肿瘤的发生与进展, 影响 Wnt 信号通路、自噬、上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)等。这些因素的调节失衡都会导致肿瘤的发生以及转移。了解非编码 RNA 与这些信号通路的复杂网络对临床上高效药物的研究十分重要。

1.1 Wnt/ β -catenin 信号通路

Wnt/ β -catenin 信号通路是以 β 联蛋白(β -catenin)为核心的对生物发育特别重要的通路。在 Wnt 信号未被激活时, 细胞质中的轴抑制因子 AXIN1 和 APC (adenomatous polyposis coli)会捕获 β -catenin、酪蛋白激酶 1 (casein kinase 1, CK1)和糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β), 随后 CK1 和 GSK3 β 会依次磷酸化 β -catenin 的 S45、S33/S37/T41 位点, p- β -catenin 会在 β -TrCP (β -transducin repeat-containing protein)的作用下结合泛素分子, 最终蛋白酶体会降解这些泛素化的 β -catenin, 使细胞质中的 β -catenin 维持在一定数量。Wnt 蛋白脂化后, 会被分选受体 Wls (Wntless)从高尔基体带到质膜, 与 Wnt 受体蛋白 Frizzled 和低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6)互作, 从而激活 Wnt 信号通路。此时 AXIN1 会被募集到 LRP5/6 尾部, 无法形成降解复合体, 因此 β -catenin 在细胞质中的表达量增加到一定值时会穿过核膜, 与转录因子 4 (transcription factor 4, TCF4)结合, 促进 AXIN2 和 *Cmyc* 等基因表达, 进而促进细胞增殖与分化^[18]。Wnt 信号通路的持续激活会加快胰腺癌进展以及耐药^[19]。有研究表明, Wnt 信号通路可促进肿瘤细胞抗凋亡以及不断分裂新的肿瘤细胞, 最终使病变组织演变为胰腺癌^[20]。

胰腺癌组织存在许多与 Wnt 信号通路相关的非编码 RNA, 它们的异常表达会调控 Wnt 信号转导, 促进癌细胞生长, 并且使其对药物的抵抗

能力增强^[21-29](表 1, 图 1)。例如, 在胰腺癌中低表达的 miR-337 可以靶向降低信号转导及转录活化因子 3 (*signal transducer and activator of transcription 3*, *STAT3*)的表达, 并通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路来抑制 AsPC-1 和 SW1990 胰腺癌细胞的生长能力^[23]。同样, 在胰腺癌中含量低的 LINC-01197 可通过破坏 β -catenin 与 TCF4 之间的互作来抑制 PDAC 细胞中 *AXIN2*、*Cmyc* 等基因的表达, 最终抑制癌细胞增殖^[24]。此外, 胰腺癌中还存在一些高表达且促进 Wnt 信号通路的非编码 RNA, 如: lncRNA FAM83H-AS1 可以稳定 FAM83H (family with sequence similarity 83 member H) mRNA 水平, 并通过 FAM83H 降低 β -catenin 泛素化, 从而激活 Wnt 信号通路, 提高 PDAC 细胞的侵袭能力^[28]; LINC01614 则可以结合 GSK3 β 并抑制 β -catenin 降解复合物的形成, 其通过减少 β -catenin 的降解来加快胰腺癌的进展^[29]。

胰腺癌中的 Wnt/ β -catenin 信号通路比较活跃, 在一定程度上与这些非编码 RNA 有关。因此, 了解这些抑制或促进 Wnt 信号转导的非编码 RNA 可以为癌症的检测筛选指标, 提前检测失调的非编码 RNA 可以让患者尽早地接受治疗, 同时对于癌症晚期的患者可以特异性设计药物靶点以达到对症下药的效果。

1.2 自噬

自噬(autophagy)是真核生物进化上保守的、由自噬体和溶酶体主导的、将破损的细胞器或代谢废物分解并重新加以利用的生物过程。真核生物依赖良好的基础自噬水平以及在应激条件下启动的自噬来维持细胞内稳态和应对环境变化。巨自噬是研究中比较常见的一种降解大分子以及破损

细胞器的途径, 同泛素蛋白酶体降解过程的区别是, 它需要在蛋白激酶复合体(ULK1/2、FIP200、ATG13 和 ATG101)的启动下形成一个双层的隔离膜包裹待降解的蛋白质和细胞器等, 随后在自噬相关蛋白 3 (autophagy-related 3, ATG3)、ATG7、ATG5 和 ATG12 泛素样系统的作用下将 ATG8 家族脂化, 以促进膜的延伸, 然后该膜在内体分选复合物的作用下闭合, 最终可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子(N-ethylmaleimide-sensitive factor, NSF)附着蛋白受体(soluble NSF attachment protein receptor, SNARE) 复合体介导的相互作用将自噬体与溶酶体融合为自噬溶酶体^[30]。

尽管自噬可以帮助细胞清理垃圾, 使细胞能够更好地存活下来, 但是自噬水平的失衡往往会造成肿瘤、神经退行性疾病等难治愈疾病的发生。自噬在肿瘤的发展中类似双刃剑: 自噬可以抑制癌细胞的生长, 但是在癌症晚期, 癌细胞依赖高水平的自噬为其提供生长代谢所需的能量^[31]。正确理解自噬在癌细胞不同阶段的功能针对特定靶点设计开发药物十分重要。PDAC 细胞具有比较高的基础自噬水平, 其通过调控 MIT/TFE (microphthalmia/transcription factor E)促进自噬相关基因的表达, 从而维持高水平的自噬和溶酶体活性, 此外它还可通过蛋白磷酸酶 2A 激活因子/蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A phosphatase activator/protein phosphatase 2A, PTPA/PP2A)去除 unc-51 样激酶 1 (unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1)的抑制型磷酸化, 进而启动自噬^[32]。在胰腺癌细胞中, 自噬通过调节增殖、侵袭和转移、物质能量代谢、细胞免疫与死亡来促进或抑制肿瘤发生发展^[33]。非编码 RNA 在调节自噬进而影

表 1 胰腺癌中影响 Wnt 信号通路的非编码 RNA
Table 1 ncRNAs affecting Wnt signaling pathway in pancreatic cancer

ncRNA	Expression in pancreatic cancer	Mechanism	Impact on Wnt signaling pathways	Effect on pancreatic cancer
miR-137 ^[21]	↓	Inhibit the expression of <i>KLF12</i> and <i>DVL2</i>	↓	Reduce stemness features of pancreatic cancer cells
miR-519d-3p ^[22]	↓	Inhibit the expression of <i>RPS15A</i>	↓	Inhibit proliferation
miR-337 ^[23]	↓	Inhibit the expression of <i>STAT3</i>	↓	Inhibit proliferation
LINC01197 ^[24]	↓	Destroy the interaction between β -catenin and TCF4	↓	Inhibit proliferation
lncRNA BANCR ^[25]	↑	Sponge miR-195-5p	↑	Promote proliferation and invasion
lncRNA DGCR5 ^[26]	↑	Increase the expression of <i>TOP2A</i>	↑	Promote the occurrence of cancer
OIP5-AS1 ^[27]	↑	Increase the expression of <i>FOXM1</i>	↑	Promote proliferation
lncRNA FAM83H-AS1 ^[28]	↑	Reduce the ubiquitination of β -catenin	↑	Enhance invasion ability
LINC01614 ^[29]	↑	Inhibit the formation of β -catenin degradation complex	↑	Accelerate cancer progress

响肿瘤进展方面也具有重要作用(图1)。

在胰腺癌中,下调的 miR-454-5P 可以靶向降低 *FAM83A* (*family with sequence similarity 83 member A*)和 *TSPAN1* (*tetraspanin 1*)的表达,抑制自噬通量和异种移植肿瘤的增殖率^[34]。这项研究还发现, *FAM83A* 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路促进 *TSPAN1* 的表达,进而促进自噬体与溶酶体的融合^[34]。同样,在 PDAC 细胞中下调的 miR-506 可降低 *STAT3* 表达,其通过 Bcl-2/BECN1 (beclin 1) 启动自噬相关的细胞死亡并抑制肿瘤生长^[35]。这表明在胰腺癌中 Wnt 信号通路与自噬可能协同调控肿瘤的发生。既然自噬能够影响肿瘤的发展进程,那么直接靶向参与调控自噬过程因子的非编码 RNA 应该也能调控肿瘤的发生。有研究报道, miR-7 可以靶向肝激酶 B1 (*liver kinase B1, LKB1*)、*ULK2*、*ATG4A* 和 *ATG7* 等自噬相关基因,并通过 AMP 活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (AMP-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin, AMPK/mTOR) 信号通路等抑制自噬,减少自噬提供的葡萄糖,从而抑制 SW1990 胰腺癌细胞生长^[36]。

非编码 RNA 也可以通过增加自噬水平来促进肿瘤发展。例如:在 PDAC 中高表达的 circRH-OBTB3 可以作为 miR-600 的海绵,通过 NACC1/Akt/mTOR 通路来促进自噬以加快肿瘤细胞增殖^[37]。直接调控自噬相关基因的 circRNA 也在癌细胞增殖中起作用。例如:在细胞质中, circATG7 可以结合 miR-766-5p, 进而增加其靶标 *ATG7* 的表达;在细胞核中, circATG7 可以充当支架增强 HuR (human antigen R) 蛋白与 *ATG7* mRNA 的相互作用,以提高 *ATG7* mRNA 的稳定性;核质部分的 circATG7 共同发挥增强自噬通量的功能,从而促进体内胰腺癌细胞的增殖和转移^[38]。

1.3 上皮间质转化

EMT 是上皮细胞转变为间充质细胞的生物学过程,会使细胞具有转移与侵袭的能力。发生 EMT 的癌细胞其上皮标记物 E 钙黏合素(E-cadherin)、紧密连接蛋白 1 (zonula occludens 1, ZO-1) 和闭合蛋白的含量会减少,而波形蛋白、N-cadherin、成纤维细胞特异性蛋白 1 等间质标记物的表达水平会增加。此外,调控该过程的因素还包括锌指 E 盒结合同源框 1 (zinc finger E-box binding homeobox 1, ZEB1)、Snail、Twist 等 EMT 相关转录因子,表观遗传学以及非编码 RNA^[39]。在胰

腺癌中,一些具有肿瘤抑制或促进作用的非编码 RNA 失调,可通过 EMT 途径影响肿瘤进展。

circRTN4 可以与 RAB11 家族互作蛋白 1 (RAB11 family interacting protein 1, RAB11FIP1) 相互作用来增强其稳定性,从而促进 PDAC 细胞中的 EMT,增加肿瘤细胞的迁移和侵袭能力^[40]。与之相反,胰腺癌中低表达的 circ0092367 能通过 miR-1206/ESRP1 轴抑制 EMT^[41]。敲低 lncRNA AL161431.1 可以增加 E-cadherin,降低波形蛋白和 N-cadherin 表达,从而抑制 EMT,导致 SW1990 和 BxPC-3 胰腺癌细胞周期停滞及死亡^[42]。此外,一些 lncRNA 也可直接靶向 EMT 相关转录因子并通过 EMT 途径来调控胰腺癌进展,如: lncRNA XIST 通过海绵化 miR-429,增加 ZEB1 表达,进而通过 EMT 途径来促进胰腺癌细胞的增殖与侵袭; lncRNA ADPGK-AS1 靶向 miR-205-5p,同样通过调控 ZEB1 表达达到类似的效果^[43]。

EMT 也可被 Wnt/ β -catenin 信号通路激活,如: lncRNA LINC01133 可与 zeste 增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2) 结合,促进 H3-K27 发生甲基化,导致 *AXIN2* 沉默并抑制 GSK3 活性,最终激活 β -catenin,促进胰腺癌细胞 EMT 途径^[44]。EMT 还受 TGF- β 的调节,如 lncRNA MI-R31HG 能在 TGF- β 刺激下调控 EMT 进而影响 PDAC 细胞迁移^[45]。

1.4 肿瘤微环境

肿瘤微环境是癌细胞生长增殖时所处的复杂环境,包括免疫淋巴网络、免疫细胞、肿瘤相关巨噬细胞、基质细胞、细胞外基质以及分泌因子,如外泌体、生长因子等^[46]。这种复杂的微环境很大程度上影响着肿瘤的进展。研究肿瘤微环境对胰腺癌的早期筛查和诊断以及有针对性的药物开发也很关键。癌细胞能够上调自身程序性死亡受体配体 1 (programmed death ligand 1, PD-L1)、PD-L2 的蛋白质水平,激活 T 细胞中的程序性死亡受体 1 (programmed death 1, PD-1),抑制 T 细胞的免疫功能,从而实现免疫逃逸^[47]。有研究发现, m⁶A 甲基转移酶 METTL3h 会上调 lncRNA MALAT1 的表达,使 BxPC-3 和 PANC-1 胰腺癌细胞中 PD-L1 的表达增加^[48]。同样调控 PD-L1 的有 lncRNA PSMB8-AS1,它可以作为 miR-382-3p 的竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA),上调 *STAT1* 基因表达,并通过上调 PD-L1 转录来加快胰腺癌进展^[49]。

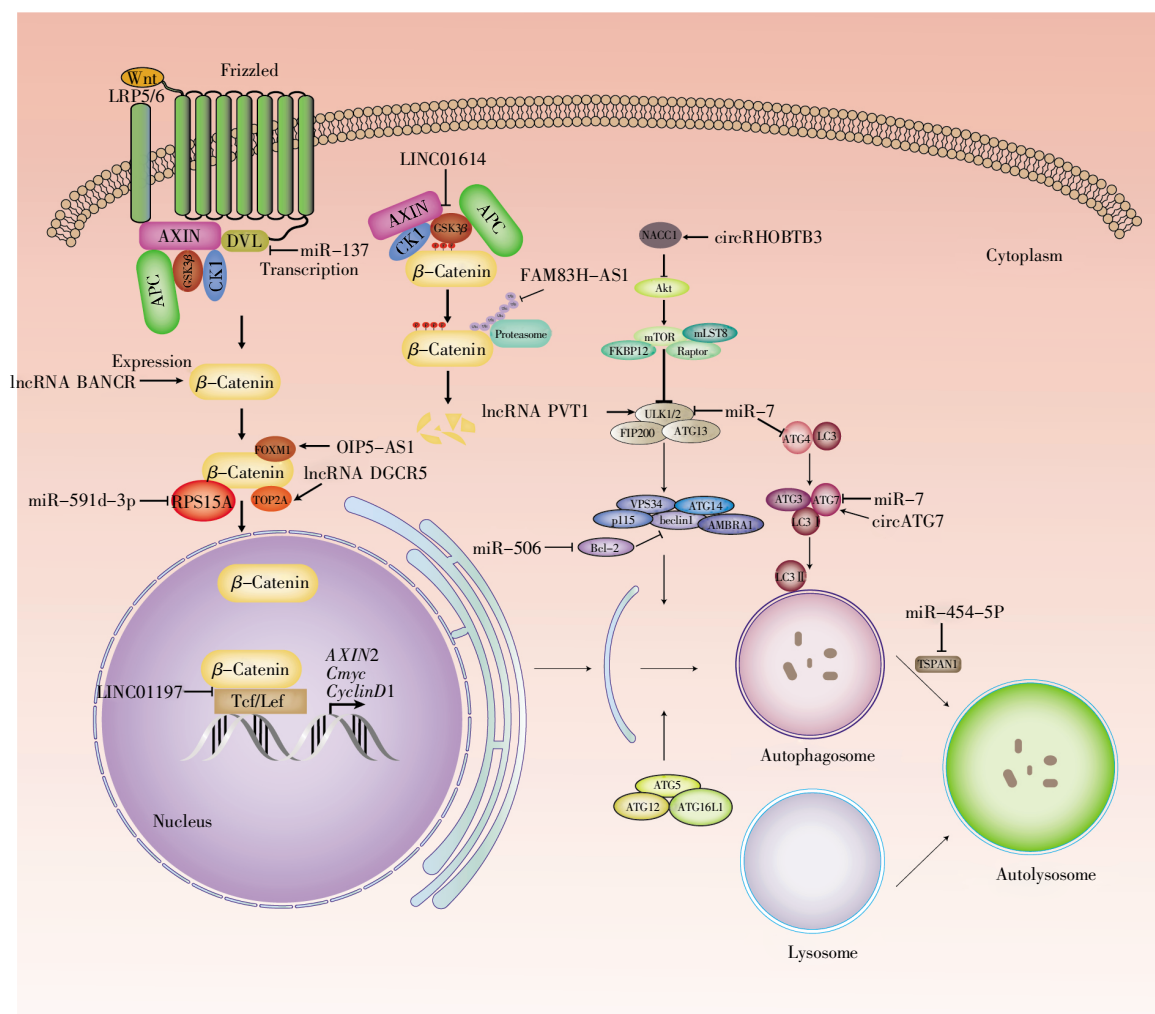


图1 胰腺癌中非编码 RNA 与 Wnt/β-catenin 信号通路和自噬(参照文献[18]、[21-38]绘制)

Fig.1 Effect of ncRNAs on Wnt/β-catenin signaling pathway and autophagy in pancreatic cancer (drawn according to References [18], [21-38])

外泌体可以通过装载各种 RNA 结合蛋白、非编码 RNA 等在细胞间传递信号,而血管生成能为肿瘤生长供给所需的物质与能量,两者可以相互作用来影响肿瘤的发展。据报道, M2 巨噬细胞分泌的外泌体将 miR-155-5p 和 miR-221-5p 转运至内皮细胞,靶向降低 *E2F* 转录因子 2 (*E2F* transcription factor 2, *E2F2*) 的表达,从而促进血管生成以及胰腺癌的生长^[50]。当肿瘤长到一定的体积时,它会向其他部位扩散,这种扩散性肿瘤往往是切除原位肿瘤后预后不良的原因。淋巴结转移在胰腺癌细胞扩散转移到其他器官的过程中发挥着重要的作用,并且淋巴管的生成对癌细胞转移很重要。circNFIB1 是一种在胰腺癌中负调控淋巴结转移的非编码 RNA,在胰腺癌中低表达。有研究表明, circNFIB1 可作为 miR-486-5p 的海绵,上调磷脂酰肌醇 3 激酶调节亚基 1 (*phosphoinosi-*

tide-3-kinase regulatory subunit 1, *PIK3R1*) 的表达,并通过抑制 PI3K/Akt 通路下调血管内皮生长因子 *C* (*vascular endothelial growth factor-C*, *VEGF-C*) 的表达,进而抑制 PDAC 的淋巴管生成和转移^[51]。

2 非编码 RNA 与胰腺癌耐药

对于癌症患者而言,化疗是常用的一种治疗手段。但在治疗过程中,癌细胞往往会对化疗及分子靶向治疗产生耐药性,这将导致治疗效率降低。目前,治疗胰腺癌常用的药物有奥沙利铂、亚叶酸钙、5-氟尿嘧啶、伊立替康、吉西他滨、顺铂和白蛋白紫杉醇。吉西他滨作为治疗晚期胰腺癌的标准药物,它可以抑制胰腺癌细胞的 DNA 合成。与 5-氟尿嘧啶相比,吉西他滨的不良反应较少并且治疗效果更好,可为患者提供更高的生存率^[52]。然而,最初对吉西他滨敏感的癌细胞经几周治疗

后会产生耐药性, 这将影响患者的 5 年生存期^[53]。顺铂作为一种金属络合物也能抑制癌细胞 DNA 合成, 它与吉西他滨联用适用于 *BRCA* 1/2 或其他 DNA 损伤修复基因突变的胰腺癌患者^[54]。与吉西他滨一样, 在化疗中癌细胞也会对顺铂产生耐药从而会影响治疗效果。近些年许多研究发现, 非编码 RNA 参与顺铂和吉西他滨的耐药过程^[55-69](表 2)。下文就胰腺癌治疗中非编码 RNA 在吉西他滨和顺铂耐药中发挥的功能进行阐述, 为科研人员解决化疗耐药, 提高患者生存率提供参考。

2.1 吉西他滨

吉西他滨是一种继阿糖胞苷之后发展起来的最重要的胞嘧啶核苷类化合物, 在肿瘤临床治疗上具有一定效果。在细胞中, 吉西他滨会代谢成吉西他滨磷酸盐(difluorodeoxycytidine monophosphate, dFdCMP)、吉西他滨二磷酸盐(difluorodeoxycytidine diphosphate, dFdCDP)和吉西他滨三磷酸盐(difluorodeoxycytidine triphosphate, dFdCTP)。dFdCTP 可以抑制 DNA 聚合酶, 并且能和脱氧胞苷三磷酸(deoxycytidine triphosphate, dCTP)竞争性掺入 DNA 链, 使 DNA 链延伸受阻, 从而通过抑制 DNA 复制来杀死细胞^[70]。dFdCDP 则可以有效地使核糖核苷还原酶失活, 导致 DNA 合成所需的脱氧核糖核酸库耗尽, 其与 dFdCTP 协同抑制吉西他滨的效果。在手术切除后的化疗辅助治疗过程中, 癌细胞往往会产生耐药, 导致患者的临床预后较差。肿瘤微环境、细胞凋亡、EMT、抑癌基因失活所导致的 DNA 损伤修复、自噬、增殖、细胞周期进程和信号转导等失衡都会影响肿瘤细胞对

抗癌药的反应敏感度^[71]。

2.1.1 miRNA 与吉西他滨耐药

miR-127 在胰腺癌组织的表达量远远低于正常胰腺组织, 有研究发现在胰腺癌细胞中转染 miR-127 可以使吉西他滨处理过的细胞的 S 期停滞, 促进细胞凋亡并且降低细胞存活率, 即 miR-127 可减弱胰腺癌细胞的耐药性^[55]。肿瘤代谢也参与调控胰腺癌耐药, miR-3662 能够靶向缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor 1 alpha, HIF-1 α), 并且损害 PDAC 细胞的有氧糖酵解以及抑制癌细胞对吉西他滨的耐药性^[56]。三磷酸腺苷结合盒转运体也称 ABC 转运蛋白, 负责物质在细胞膜内外的运输, 调节许多药物的代谢, 常与化疗多药耐药有关^[72]。研究报道, hsa-miR-3178 能靶向降低 *Ras* 同源框家族成员 *B* (*Ras* homolog family member *B*, *RhoB*)基因表达, 然后通过 PI3K/Akt 通路上调 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)和多药耐药相关蛋白 1 (multidrug resistance-associated protein 1, MRP1)的蛋白质水平, 最终导致胰腺癌对吉西他滨产生抗性^[57]。在吉西他滨耐药的 PDAC 细胞中 miR-146a-5p 含量降低, 相关研究显示, 其通过肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6)来减少 P-gp 和核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) p65 亚基的蛋白质水平, 其中 P-gp 可以与 ATP 结合将药物泵出胞外从而使细胞耐药, 这表明 miR-146a-5p 最终通过调节 P-gp 表达量来影响 PDAC 耐药^[58]。同样在吉西他滨耐药的胰腺癌细胞

表 2 参与吉西他滨和顺铂耐药性的非编码 RNA
Table 2 ncRNAs involved in gemcitabine and cisplatin resistance

ncRNA	Expression in pancreatic cancer	Related protein or signaling pathway	Drug resistance	Drug name
miR-127 ^[55]	↓		↓	Gemcitabine
miR-3662 ^[56]	↓	HIF-1 α	↓	Gemcitabine
hsa-miR-3178 ^[57]	↑	RhoB/PI3K/Akt signaling pathway	↑	Gemcitabine
miR-146a-5p ^[58]	↓	TRAF6/NF- κ B p65/P-gp	↓	Gemcitabine
miR-7 ^[59]	↓	PARP1/NF- κ B	↓	Gemcitabine
miR-365 ^[60]	↑	Cytidine deaminase	↑	Gemcitabine
miR-106b ^[61]		TP53INP1	↑	Gemcitabine
SNHG14 ^[62]		Autophagy	↑	Gemcitabine
lncRNA PVT1 ^[63]	↑	Wnt signaling pathway and autophagy	↑	Gemcitabine
lncRNA HIF1A-AS1 ^[64]	↑	Glycolysis	↑	Gemcitabine
circFARP1 ^[65]	↑	CAV1/LIF/STAT3	↑	Gemcitabine
circMTHFD1L ^[66]	↑	RPN6	↑	Gemcitabine
miR-203 ^[67]	↓	DJ-1/PI3K/Akt	↓	Cisplatin
miR-223 ^[68]	↑	FoxO3a	↑	Cisplatin
miR-1180 ^[69]	↑	TNIP2/NF- κ B	↑	Cisplatin

中低表达的 miR-7, 则通过靶向胰腺癌细胞中的 PARP1/NF- κ B 轴来调节细胞衰老并减轻其对吉西他滨的耐药性^[59]。

外泌体作为细胞间一种传递信息的囊泡, 能够将 RNA 等物质传输给受体细胞, 也参与细胞耐药的复杂过程。据报道, 巨噬细胞可以分泌含有 miR-365 的外泌体, miR-365 通过增加三磷酸核苷酸含量和核酸代谢使吉西他滨作用靶点失效, 从而促进 PDAC 耐药^[60]。源自吉西他滨抗性胰腺癌干细胞的外泌体, 通过传递 miR-210 可以使对吉西他滨敏感的胰腺癌细胞产生耐药性^[73]。与此类似, 具有天然吉西他滨抗性的癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)也可以将包含 miR-106b 的外泌体传递给胰腺癌细胞, 并通过减少 TP53INP1 表达来提高癌细胞对吉西他滨的抗性^[61]。此外, miR-21、miR-181a、miR-221、miR-222 和 miR-92a 也被鉴定出在 CAF 分泌的外泌体中上调, 并通过靶向抑制磷酸酶和张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)促进胰腺癌细胞增殖和化疗抗性^[74]。这说明 CAF 分泌的含有 miRNA 的外泌体在肿瘤微环境中起着重要的作用。

2.1.2 lncRNA 与吉西他滨耐药

lncRNA 作为一类长度不小于 200 nt 的非编码 RNA, 它可以作为 ceRNA 竞争性结合 miRNA 从而使其抑制靶基因表达的功能丧失, 可以结合染色体 DNA 从而调控转录, 同时还可以与一些蛋白质结合来调控某些蛋白质的翻译。自噬是真核生物为维持体内稳态降解错误折叠的蛋白质或细胞器的一种生理活动, 它能为癌细胞供给所需的能量, 但是自噬激活反而会提高肿瘤细胞耐药性, 并且过度激活时会导致细胞死亡^[75]。研究报道, 小核仁 RNA 宿主基因 14 (small nucleolar RNA host gene 14, SNHG14)可以海绵化 miR-101, 从而促进自噬, 提高 PDAC 细胞耐药性^[62]。浆细胞瘤变异体易位 1 (plasmacytoma variant translocation 1, PVT1)是在吉西他滨耐药的胰腺癌中上调的 lncRNA, 它会增加 ATG14 和 Pygo2 (pygopus family PHD finger 2)的蛋白质水平, 并通过海绵化 miR-619-5p 激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 促进自噬特异性复合体 PtdIns3K-C1 的组装以及 ATG14 依赖的 III 类 PtdIns3K 活性, 从而增强自噬通量, 降低吉西他滨对胰腺癌细胞的治疗效率^[63]; 同时, 其还可以海绵化 miR-143, 并通过增加 HIF1A 和囊泡相关膜蛋白 1

(vesicle-associated membrane protein 1, VAMP1)表达来促进自噬, 从而提高耐药性^[76]。另有研究发现, 组蛋白乙酰转移酶 HAT1 可以增强溴结构域 4 (bromodomain-containing protein 4, BRD4)与 PVT1 启动子的结合, 增强 PVT1 转录水平, 从而提高胰腺癌细胞对吉西他滨的耐药性^[77]。此外, 姜黄中提取的黄姜素可以抑制 PVT1 的表达, 从而恢复胰腺癌细胞的药物敏感性^[78]。

糖酵解也会影响胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性。研究报道, lncRNA HIF1A-AS1 可增强丝氨酸/苏氨酸激酶 Akt 与 Y-box 结合蛋白 1 (Y-box-binding protein 1, YB-1)的相互作用, 从而增强 YB-1 的磷酸化水平, 并且它可以将 pYB-1 招募到 HIF-1 α mRNA 处, 促进 HIF-1 α 翻译; 有趣的是, HIF-1 α 能够促进 HIF1A-AS1 转录, 形成正反馈循环^[64]。这种正反馈循环最终可提高胰腺癌细胞的糖酵解水平, 提高它对吉西他滨的抵抗能力^[64]。

2.1.3 circRNA 与吉西他滨耐药

circRNA 能够影响亲本基因的表达量, 并与 miRNA 以及蛋白质形成复合体调节其功能, 此外它还可以以 5'帽子非依赖的方式进行翻译, 其编码的肽在调控全长蛋白质的功能以及信号转导中发挥一定的功能^[79]。circFARP1 是 CAF 特有的 circRNA, 它可以结合窖蛋白 CAV1 并抑制其泛素化, 从而增加 CAV1 蛋白质水平, 激活 STAT3 通路, 导致癌细胞耐药^[65]。此外, circRNA 也能使 miRNA 功能失调, 上调靶基因表达。例如, circMTHFD1L 能充当 miR-615-3p 底物, 使 RPN6 (regulatory particle non-ATPase 6)的表达量增加, 最终导致胰腺癌细胞对吉西他滨的耐药性增强^[66]。

2.2 顺铂

顺铂是一类广泛适用于临床治疗的铂类化合物, 其抗癌作用很强, 主要与 DNA 形成链内或链间复合物, 使细胞因基因无法复制而死亡^[80]。尽管在治疗早期效果不错, 但是随着治疗时长的增加, 患者体内的癌细胞会通过不同的机制来增强其对顺铂的耐药性, 从而使治疗效果显著下降, 患者的死亡率提高^[81]。顺铂耐药胰腺癌细胞的 miR-203 水平显著低于非耐药胰腺癌细胞, 过表达 miR-203 能下调 DJ-1 的蛋白质水平, 降低 DJ-1 对 PTEN 的抑制, 导致 PI3K/Akt 通路被抑制, 从而抑制胰腺癌细胞的增殖, 诱导细胞凋亡, 提高胰腺癌细胞对顺铂的敏感性^[67]。而在 BXPC3 胰腺癌顺铂耐药细胞中高表达的 miR-223 则可以靶向下调肿

瘤抑制因子 FoxO3a 的表达,促进胰腺癌细胞的增殖和对顺铂的耐药性^[68]。与之类似,胰腺癌组织高表达的 miR-1180 能降低肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 3 相互作用蛋白 2 (tumor necrosis factor α -induced protein 3-interacting protein 2, TNIP2) 的表达,解除其对 NF- κ B 通路的抑制,调节下游靶基因基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-9、Bax、Bcl 的表达,从而促进肿瘤发生;抑制 miR-1180 表达可以增加顺铂诱导的 PANC 细胞凋亡,减弱其对顺铂的抗性^[69]。

3 总结与展望

非编码 RNA 是调控基因表达和蛋白质功能的关键分子,它们对 Wnt 信号通路、自噬、EMT 和肿瘤微环境的影响类似双刃剑。当它们在正常胰腺细胞中表达异常时将会促进胰腺癌的发展。除了影响胰腺癌进展外,非编码 RNA 还能影响癌细胞的耐药性。在早期阶段,吉西他滨对肿瘤的杀伤效果不错。然而,在包括非编码 RNA 在内的各种复杂因素作用下,胰腺癌细胞逐渐对吉西他滨等药物产生耐药性,最终使治疗效果不尽人意。因此,熟悉胰腺癌中表达失衡的非编码 RNA 及其在胰腺癌进展和耐药中发挥的功能,对药物研发人员开发高效抗胰腺癌药物必不可少。直接在胰腺癌组织中靶向非编码 RNA 是一种治疗策略。常规药物递送往往存在稳定性不足、缺乏跨膜运输以及滞留时间短等缺点,而纳米药物则由于增强的渗透性和滞留效应(enhanced permeability and retention effect, EPR effect)能更好地滞留在肿瘤中^[82]。但是,由于胰腺癌组织血管密度低、促纤维化基质致密,滞留效应在胰腺癌中容易失效。有研究发现,携带抗 miR-210 分子(以灭活产生基质的胰腺星状细胞)和 siKRAS^{G12D}(杀死胰腺癌细胞)的经胆固醇修饰的聚合 CXCR4 拮抗剂纳米颗粒(阻断肿瘤与基质相互作用),通过腹腔注射后可显著提高小鼠的生存率^[83]。外泌体是生物体内装载蛋白质和 RNA 等物质的细胞外囊泡,因而能够作为媒介携带药物治疗胰腺癌,如:通过外泌体装载 CRISPR/Cas9 靶向 KRAS^{G12D} 可以抑制皮下和原位肿瘤的生长^[84];利用骨髓间充质干细胞分泌的外泌体(特异性靶向胰腺癌)装载 gal-9 siRNA 和奥沙利铂能引发抗肿瘤免疫,对 PANC-02 肿瘤有良好的治疗效果^[85]。通常,在胰腺癌治疗中靶向表达失衡的非编码 RNA 需要考虑众多

因素,如:选择何种载体可以更好地突破胰腺癌所处的微环境,从而将药物递送至胰腺癌;由于非编码 RNA 存在多个靶点,递送的药量不合适是否会产生其他反应以及是否会存在新的耐药;等等。总的来讲,非编码 RNA 参与各种复杂的信号通路,在癌症进展的过程发挥不同功能,因此将胰腺癌发展的不同阶段与非编码 RNA 相对应,并使用非编码 RNA 所参与的信号通路相应药物,或许对于胰腺癌的早期筛查及不同分期的靶向治疗具有一定意义。

参考文献(References):

- [1] CECH T R, STEITZ J A. The noncoding RNA revolution—trashing old rules to forge new ones[J]. Cell, 2014, 157(1): 77–94.
- [2] PATOP I L, WUST S, KADENER S. Past, present, and future of circRNAs[J]. The EMBO Journal, 2019, 38(16): e100836.
- [3] TANG G L. siRNA and miRNA: an insight into RISCs[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2005, 30(2): 106–114.
- [4] ZHAI H, ZHAO J T, PU J, et al. LncRNA-DUXAP8 regulation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway to inhibit glycolysis and induced apoptosis in acute myeloid leukemia[J]. Turkish Journal of Hematology, 2021, 38(4): 264–272.
- [5] TAN Y T, LIN J F, LI T, et al. LncRNA-mediated posttranslational modifications and reprogramming of energy metabolism in cancer[J]. Cancer Communications, 2021, 41(2): 109–120.
- [6] YE Y L, ZHANG L P, HU T, et al. circRNA_103765 acts as a proinflammatory factor via sponging miR-30 family in Crohn's disease[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 565.
- [7] ESTELLER M. Non-coding RNAs in human disease[J]. Nature Reviews Genetics, 2011, 12(12): 861–874.
- [8] KHALAF N, EL-SERAG H B, ABRAMS H R, et al. Burden of pancreatic cancer: from epidemiology to practice[J]. Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2021, 19(5): 876–884.
- [9] HUANG J J, LOK V, NGAI C H, et al. Worldwide burden of, risk factors for, and trends in pancreatic cancer[J]. Gastroenterology, 2021, 160(3): 744–754.
- [10] STOLZENBERG-SOLOMON R Z, SCHAIRER C, MOORE S, et al. Lifetime adiposity and risk of pancreatic cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study cohort[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2013, 98(4): 1057–1065.
- [11] SHINODA S, NAKAMURA N, ROACH B, et al. Obesity and pancreatic cancer: recent progress in epidemiology, mechanisms and bariatric surgery[J]. Biomedicine, 2022, 10(6): 1284.
- [12] BASTURK O, HONG S M, WOOD L D, et al. A revised classification system and recommendations from the Baltimore consensus meeting for neoplastic precursor lesions in the pancreas[J]. The American Journal of Surgical Pathology, 2015, 39(12): 1730–1741.
- [13] MIZRAHI J D, SURANA R, VALLE J W, et al. Pancreatic cancer[J]. The Lancet, 2020, 395(10242): 2008–2020.
- [14] WALTER F M, MILLS K, MENDONCA S C, et al. Symptoms and patient factors associated with diagnostic intervals for pancreatic cancer (SYMPTOM pancreatic study): a prospective cohort study[J]. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, 2016, 1(4): 298–306.
- [15] WOOD L D, CANTO M I, JAFFEE E M, et al. Pancreatic cancer: pathogenesis, screening, diagnosis, and treatment[J]. Gastroenterology, 2022, 163(2): 386–402.e1.

- [16] SHARMA G G, OKADA Y, VON HOFF D, *et al.* Non-coding RNA biomarkers in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2021, 75: 153–168.
- [17] WANG Y, WANG Y Y, QIN Z Y, *et al.* The role of non-coding RNAs in ABC transporters regulation and their clinical implications of multidrug resistance in cancer[J]. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2021, 17(3): 291–306.
- [18] NUSSE R, CLEVERS H. Wnt/ β -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities[J]. *Cell*, 2017, 169(6): 985–999.
- [19] RAM MAKENA M, GATLA H, VERLEKAR D, *et al.* Wnt/ β -catenin signaling: the culprit in pancreatic carcinogenesis and therapeutic resistance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(17): 4242.
- [20] MODI S, KIR D, BANERJEE S, *et al.* Control of apoptosis in treatment and biology of pancreatic cancer[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2016, 117(2): 279–288.
- [21] HE Z W, GUO X J, TIAN S, *et al.* MicroRNA-137 reduces stemness features of pancreatic cancer cells by targeting KLF12[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2019, 38: 126.
- [22] LIANG J, LIU Y C, ZHANG L, *et al.* Overexpression of microRNA-519d-3p suppressed the growth of pancreatic cancer cells by inhibiting ribosomal protein S15A-mediated Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2019, 304: 1–9.
- [23] SHI J, SU Q L, HAN F, *et al.* miR-337 suppresses pancreatic cancer development via STAT3/Wnt/ β -catenin axis[J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2021, 32(7): 681–692.
- [24] LING J, WANG F, LIU C, *et al.* FOXO1-regulated lncRNA LINC01197 inhibits pancreatic adenocarcinoma cell proliferation by restraining Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2019, 38: 179.
- [25] WU X Q, XIA T F, CAO M, *et al.* lncRNA BANCR promotes pancreatic cancer tumorigenesis via modulating miR-195-5p/Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 2019, 18: 1533033819887962.
- [26] LIU S L, CAI C, YANG Z Y, *et al.* DGCR5 is activated by PAX5 and promotes pancreatic cancer via targeting miR-3163/TOP2A and activating Wnt/ β -catenin pathway[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2021, 17(2): 498–513.
- [27] SHI C J, ZHANG H, WANG M, *et al.* OPA interacting protein 5 antisense RNA 1 expedites cell migration and invasion through FOXM1/Wnt/ β -catenin pathway in pancreatic cancer[J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2022, 67(3): 915–924.
- [28] ZHOU M, PAN S T, QIN T T, *et al.* lncRNA FAM83H-AS1 promotes the malignant progression of pancreatic ductal adenocarcinoma by stabilizing FAM83H mRNA to protect β -catenin from degradation[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2022, 41: 288.
- [29] CHEN L J, WU L, WANG W, *et al.* Long non-coding RNA 01614 hyperactivates Wnt/ β -catenin signaling to promote pancreatic cancer progression by suppressing GSK-3 β [J]. *International Journal of Oncology*, 2022, 61(4): 116.
- [30] MIZUSHIMA N, LEVINE B. Autophagy in human diseases[J]. *New England Journal of Medicine*, 2020, 383(16): 1564–1576.
- [31] LEVY J M M, TOWERS C G, THORBURN A. Targeting autophagy in cancer[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2017, 17(9): 528–542.
- [32] PERERA R M, STOYKOVA S, NICOLAY B N, *et al.* Transcriptional control of autophagy-lysosome function drives pancreatic cancer metabolism[J]. *Nature*, 2015, 524(7565): 361–365.
- [33] LI J B, CHEN X, KANG R, *et al.* Regulation and function of autophagy in pancreatic cancer[J]. *Autophagy*, 2021, 17(11): 3275–3296.
- [34] ZHOU C F, LIANG Y Y, ZHOU L, *et al.* TSPAN1 promotes autophagy flux and mediates cooperation between WNT-CTNNB1 signaling and autophagy via the MIR454-FAM83A-TSPAN1 axis in pancreatic cancer[J]. *Autophagy*, 2021, 17(10): 3175–3195.
- [35] SUN L H, HU L M, COGDELL D, *et al.* miR506 induces autophagy-related cell death in pancreatic cancer cells by targeting the STAT3 pathway[J]. *Autophagy*, 2017, 13(4): 703–714.
- [36] GU D N, JIANG M J, MEI Z, *et al.* MicroRNA-7 impairs autophagy-derived pools of glucose to suppress pancreatic cancer progression[J]. *Cancer Letters*, 2017, 400: 69–78.
- [37] YANG T Y, SHEN P, CHEN Q, *et al.* FUS-induced circRH-OBTB3 facilitates cell proliferation via miR-600/NACC1 mediated autophagy response in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2021, 40: 261.
- [38] HE Z W, CAI K, ZENG Z R, *et al.* Autophagy-associated circRNA circATG7 facilitates autophagy and promotes pancreatic cancer progression[J]. *Cell Death & Disease*, 2022, 13(3): 233.
- [39] MITTAL V. Epithelial mesenchymal transition in tumor metastasis[J]. *Annual Review of Pathology*, 2018, 13: 395–412.
- [40] WONG C H, LOU U K, FUNG F K C, *et al.* circRTN4 promotes pancreatic cancer progression through a novel circRNA-miRNA-lncRNA pathway and stabilizing epithelial-mesenchymal transition protein[J]. *Molecular Cancer*, 2022, 21: 10.
- [41] YU S, WANG M, ZHANG H, *et al.* circ_0092367 inhibits EMT and gemcitabine resistance in pancreatic cancer via regulating the miR-1206/ESRP1 axis[J]. *Genes*, 2021, 12(11): 1701.
- [42] MA G, LI G C, FAN W F, *et al.* The role of long noncoding RNA AL161431.1 in the development and progression of pancreatic cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 666313.
- [43] SHEN J, HONG L, YU D, *et al.* lncRNA XIST promotes pancreatic cancer migration, invasion and EMT by sponging miR-429 to modulate ZEB1 expression[J]. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2019, 113: 17–26.
- [44] LIU Y, TANG T C, YANG X S, *et al.* Tumor-derived exosomal long noncoding RNA LINC01133, regulated by periostin, contributes to pancreatic ductal adenocarcinoma epithelial-mesenchymal transition through the Wnt/ β -catenin pathway by silencing AXIN2[J]. *Oncogene*, 2021, 40(17): 3164–3179.
- [45] KO C C, HSIEH Y Y, YANG P M. Long noncoding RNA MIR-31HG promotes the transforming growth factor β -induced epithelial-mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma cells[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(12): 6559.
- [46] BEJARANO L, JORDAO M J C, JOYCE J A. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment[J]. *Cancer Discovery*, 2021, 11(4): 933–959.
- [47] JIANG X J, WANG J, DENG X Y, *et al.* Role of the tumor microenvironment in PD-L1/PD-1-mediated tumor immune escape[J]. *Molecular Cancer*, 2019, 18: 10.
- [48] SONG Z W, WANG X G, CHEN F, *et al.* lncRNA MALAT1 regulates METTL3-mediated PD-L1 expression and immune infiltrates in pancreatic cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 1004212.
- [49] ZHANG H, ZHU C H, HE Z W, *et al.* lncRNA PSMB8-AS1 contributes to pancreatic cancer progression via modulating miR-382-3p/STAT1/PD-L1 axis[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2020, 39: 179.
- [50] YANG Y H, GUO Z Y, CHEN W W, *et al.* M2 macrophage-derived exosomes promote angiogenesis and growth of pancreatic ductal adenocarcinoma by targeting E2F2[J]. *Molecular Therapy*, 2021, 29(3): 1226–1238.

- [51] KONG Y, LI Y T, LUO Y M, *et al.* circNFIB1 inhibits lymphangiogenesis and lymphatic metastasis via the miR-486-5p/PIK3R1/VEGF-C axis in pancreatic cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2020, 19: 82.
- [52] GOESS R, FRIESS H. A look at the progress of treating pancreatic cancer over the past 20 years[J]. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 2018, 18(3): 295-304.
- [53] CHIN V, NAGRIAL A, SJOQUIST K, *et al.* Chemotherapy and radiotherapy for advanced pancreatic cancer[J]. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018, 3(3): CD011044.
- [54] SARDAR M, RECIO-BOILES A, MODY K, *et al.* Pharmacotherapeutic options for pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2022, 23(18): 2079-2089.
- [55] PANEBIANCO C, TRIVIERI N, VILLANI A, *et al.* Improving gemcitabine sensitivity in pancreatic cancer cells by restoring miRNA-217 levels[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(5): 639.
- [56] LIU A, ZHOU Y G, ZHAO T, *et al.* miRNA-3662 reverses the gemcitabine resistance in pancreatic cancer through regulating the tumor metabolism[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2021, 88(2): 343-357.
- [57] GU J Y, HUANG W J, WANG X X, *et al.* hsa-miR-3178/RhoB/PI3K/Akt, a novel signaling pathway regulates ABC transporters to reverse gemcitabine resistance in pancreatic cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2022, 21: 112.
- [58] MENG Q C, LIANG C, HUA J, *et al.* A miR-146a-5p/TRAFF6/NF- κ B p65 axis regulates pancreatic cancer chemoresistance: functional validation and clinical significance[J]. *Theranostics*, 2020, 10(9): 3967-3979.
- [59] YE Z Q, CHEN H B, ZHANG T Y, *et al.* MicroRNA-7 modulates cellular senescence to relieve gemcitabine resistance by targeting PARP1/NF- κ B signaling in pancreatic cancer cells[J]. *Oncology Letters*, 2021, 21(2): 139.
- [60] BINENBAUM Y, FRIDMAN E, YAARI Z, *et al.* Transfer of miRNA in macrophage-derived exosomes induces drug resistance in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Cancer Research*, 2018, 78(18): 5287-5299.
- [61] FANG Y, ZHOU W T, RONG Y F, *et al.* Exosomal miRNA-106b from cancer-associated fibroblast promotes gemcitabine resistance in pancreatic cancer[J]. *Experimental Cell Research*, 2019, 383(1): 111543.
- [62] ZHANG X F, ZHAO P, WANG C H, *et al.* SNHG14 enhances gemcitabine resistance by sponging miR-101 to stimulate cell autophagy in pancreatic cancer[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 510(4): 508-514.
- [63] ZHOU C F, YI C H, YI Y X, *et al.* lncRNA PVT1 promotes gemcitabine resistance of pancreatic cancer via activating Wnt/ β -catenin and autophagy pathway through modulating the miR-619-5p/Pygo2 and miR-619-5p/ATG14 axes[J]. *Molecular Cancer*, 2020, 19: 118.
- [64] XU F Y, HUANG M Q, CHEN Q Y, *et al.* lncRNA HIF1A-AS1 promotes gemcitabine resistance of pancreatic cancer by enhancing glycolysis through modulating the AKT/YB1/HIF1 α pathway[J]. *Cancer Research*, 2021, 81(22): 5678-5691.
- [65] HU C H, XIA R P, ZHANG X, *et al.* circFARP1 enables cancer-associated fibroblasts to promote gemcitabine resistance in pancreatic cancer via the LIF/STAT3 axis[J]. *Molecular Cancer*, 2022, 21: 24.
- [66] CHEN Z W, HU J F, WANG Z W, *et al.* Circular RNA circ-MTHFD1L induces HR repair to promote gemcitabine resistance via the miR-615-3p/RPN6 axis in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2022, 41: 153.
- [67] DU S L, XU L Y, GAO P, *et al.* miR-203 regulates DJ-1 expression and affects proliferation, apoptosis and DDP resistance of pancreatic cancer cells[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(20): 8833-8840.
- [68] HUANG R, SONG X, WANG C M. miR-223 regulates CDDP resistance in pancreatic cancer via targeting FoxO3a[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(18): 7892-7898.
- [69] GU L, ZHANG J Q, SHI M M, *et al.* The effects of miRNA-1180 on suppression of pancreatic cancer[J]. *American Journal of Translational Research*, 2017, 9(6): 2798-2806.
- [70] MINI E, NOBILI S, CACIAGLI B, *et al.* Cellular pharmacology of gemcitabine[J]. *Annals of Oncology*, 2006, 17(Suppl. 5): v7-v12.
- [71] GAO L Y, WU Z X, ASSARAF Y G, *et al.* Overcoming anti-cancer drug resistance via restoration of tumor suppressor gene function[J]. *Drug Resistance Updates*, 2021, 57: 100770.
- [72] AMAWI H, SIM H M, TIWARI A K, *et al.* ABC transporter-mediated multidrug-resistant cancer[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2019, 1141: 549-580.
- [73] YANG Z Y, ZHAO N, CUI J, *et al.* Exosomes derived from cancer stem cells of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells enhance drug resistance by delivering miR-210[J]. *Cellular Oncology*, 2020, 43(1): 123-136.
- [74] RICHARDS K E, XIAO W K, HILL R, *et al.* Cancer-associated fibroblasts confer gemcitabine resistance to pancreatic cancer cells through PTEN-targeting miRNAs in exosomes[J]. *Cancers*, 2022, 14(11): 2812.
- [75] CHANG H C, ZOU Z Z. Targeting autophagy to overcome drug resistance: further developments[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2020, 13: 159.
- [76] LIU Y F, LUO D, LI X, *et al.* PVT1 knockdown inhibits autophagy and improves gemcitabine sensitivity by regulating the miR-143/HIF-1 α /VAMP1 axis in pancreatic cancer[J]. *Pancreas*, 2021, 50(2): 227-234.
- [77] SUN Y, REN D Y, ZHOU Y K, *et al.* Histone acetyltransferase 1 promotes gemcitabine resistance by regulating the PVT1/EZH2 complex in pancreatic cancer[J]. *Cell Death & Disease*, 2021, 12(10): 878.
- [78] YOSHIDA K, TODEN S, RAVINDRANATHAN P, *et al.* Curcumin sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine by attenuating PRC2 subunit EZH2, and the lncRNA PVT1 expression[J]. *Carcinogenesis*, 2017, 38(10): 1036-1046.
- [79] SHI Y, JIA X, XU J. The new function of circRNA: translation[J]. *Clinical & Translational Oncology*, 2020, 22(12): 2162-2169.
- [80] TRIMMER E E, ESSIGMANN J M. Cisplatin[J]. *Essays in Biochemistry*, 1999, 34: 191-211.
- [81] SONG M D, CUI M X, LIU K H. Therapeutic strategies to overcome cisplatin resistance in ovarian cancer[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2022, 232: 114205.
- [82] CHENG X X, XIE Q R, SUN Y. Advances in nanomaterial-based targeted drug delivery systems[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1177151.
- [83] XIE Y, HANG Y, WANG Y Z, *et al.* Stromal modulation and treatment of metastatic pancreatic cancer with local intraperitoneal triple miRNA/siRNA nanotherapy[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(1): 255-271.
- [84] MCANDREWS K M, XIAO F, CHRONOPOULOS A, *et al.* Exosome-mediated delivery of CRISPR/Cas9 for targeting of oncogenic Kras^{G12P} in pancreatic cancer[J]. *Life Science Alliance*, 2021, 4(9): e202000875.
- [85] ZHOU W X, ZHOU Y, CHEN X L, *et al.* Pancreatic cancer-targeting exosomes for enhancing immunotherapy and reprogramming tumor microenvironment[J]. *Biomaterials*, 2021, 268: 120546.