

# LncRNA SOX2OT 靶向 SIRT1/自噬通路增强胆管癌细胞 5-FU 耐药

辛辰<sup>1</sup>, 王笑影<sup>2</sup>, 李响<sup>1</sup>, 陈宇<sup>1</sup>, 王雪<sup>1</sup>, 宁佳曦<sup>1</sup>, 杨适<sup>1</sup>, 王忠琼<sup>1</sup>  
西南医科大学附属医院<sup>1</sup>消化内科,<sup>2</sup>麻醉科, 四川 泸州 646000

**摘要:**目的 探讨 LncRNA SOX2OT 靶向 SIRT1/自噬通路调节胆管癌细胞 5-FU 耐药的机制。方法 将未用 5-FU 处理 HCCC-9810 细胞和不同浓度 (50、100、150、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 5-FU 处理的 HCCC-9810 细胞分为对照组和模型组, qRT-PCR 检测 LncRNA SOX2OT、SIRT1 mRNA 表达水平, Western blot 检测 SIRT1、Beclin1、LC3 和 p62 蛋白表达。pcDNA3.1-SOX2OT 和 pcDNA3.1-NC 转染 HCCC-9810/5-FU 耐药细胞, CCK-8 检测细胞耐药性, 划痕实验检测细胞迁移能力, qRT-PCR 检测 LncRNA SOX2OT、SIRT1 mRNA 表达水平, Western blot 检测 SIRT1、Beclin1、LC3 和 p62 蛋白表达。在以上基础上做了 Rescue 实验, 将 OV-SOX2OT (2  $\mu\text{g}/\text{孔}$ ) 和 si-NC (75 pmol/孔)、OV-SOX2OT (2  $\mu\text{g}/\text{孔}$ ) 和 si-SIRT1 (75 pmol/孔) 分别共转染 HCCC-9810/5-FU 耐药细胞, 分组为 OV-SOX2OT+si-NC 组和 OV-SOX2OT+si-SIRT1 组, 以证明 LncRNA SOX2OT 通过 SIRT1 影响自噬, 并由此影响胆管癌细胞对 5-FU 的耐药性。RNA Pulldown 验证 SOX2OT 与 SIRT1 的靶向结合关系。**结果** 不同浓度的 5-FU 均能抑制 HCCC-9810 细胞增殖 ( $P<0.05$ )。与对照组相比, 模型组 SIRT1、Beclin1 ( $P<0.001$ ) 和 p62 ( $P<0.01$ ) 蛋白表达、LC3 II/LC3 I 比值 ( $P<0.001$ )、SIRT1 和 LncRNA SOX2OT mRNA 水平 ( $P<0.05$ ) 均明显增加。与 OV-NC 组相比, OV-SOX2OT 组细胞迁移能力、SIRT1、Beclin1 ( $P<0.001$ ) 和 p62 ( $P<0.05$ ) 蛋白表达、LC3 II/LC3 I 比值 ( $P<0.001$ )、SIRT1 和 LncRNA SOX2OT mRNA ( $P<0.05$ ) 水平均明显增加。沉默 SIRT1 表达导致 LncRNA SOX2OT 过表达的 HCCC-9810 细胞对 5-FU 的耐药性显著降低。与 OV-SOX2OT+si-NC 组相比, OV-SOX2OT+si-SIRT1 组 SIRT1 ( $P<0.001$ )、p62 和 Beclin1 ( $P<0.01$ ) 蛋白表达、LC3 II/LC3 I 比值 ( $P<0.01$ )、SIRT1 mRNA ( $P<0.05$ ) 水平均明显降低。RNA Pulldown 检测结果显示 SOX2OT 能够直接与 SIRT1 结合。**结论** LncRNA SOX2OT 通过上调 SIRT1 表达促进自噬来增强胆管癌 HCCC-9810 细胞 5-FU 耐药性。

**关键词:** LncRNA SOX2OT; SIRT1; 自噬; 胆管癌细胞; 5-FU 耐药

## LncRNA SOX2OT enhances 5-fluorouracil resistance of cholangiocarcinoma cells by promoting autophagy via up-regulating SIRT1 expression

XIN Chen<sup>1</sup>, WANG Xiaoying<sup>2</sup>, LI Xiang<sup>1</sup>, CHEN Yu<sup>1</sup>, WANG Xue<sup>1</sup>, NING Jiayi<sup>1</sup>, YANG Shi<sup>1</sup>, WANG Zhongqiong<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Gastroenterology, <sup>2</sup>Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

**Abstract: Objective** To investigate the role of SIRT1/autophagy pathway in mediating the regulatory effect of LncRNA SOX2OT on 5-fluorouracil (5-FU) resistance in cholangiocarcinoma cells. **Methods** HCCC-9810 cells were used to construct a 5-FU-resistant cell model (HCCC-9810/5-FU cells), and the expression levels of LncRNA SOX2OT and SIRT1 mRNA and the protein expressions of SIRT1, Beclin1, LC3 and P62 were detected with qRT-PCR and Western blotting. The effects of transfection with a SOX2OT mimic on drug resistance and cell migration of HCCC-9810/5-FU cells were detected using CCK-8 assay and wound healing assay, and the changes in expressions of SOX2OT, SIRT1, Beclin1, LC3 and P62 were detected. Rescue experiment was performed by co-transfection of HCCC-9810/5-FU cells with both a SOX2OT-overexpressing plasmid and si-SIRT1 to confirm the role of SIRT1 in SOX2OT-mediated regulation of 5-FU resistance. A RNA pulldown assay was used to verify the targeted binding between SOX2OT and SIRT1. **Results** The proliferation of HCCC-9810 cells was significantly inhibited after treatment with different concentrations of 5-FU ( $P<0.05$ ). The 5-FU-resistant cells showed significantly increased protein expressions of SIRT1, Beclin1 and p62, an increased LC3 II/LC3 I ratio, and enhanced expressions of SIRT1 mRNA and SOX2OT ( $P<0.05$ ). Transfection of the resistant cells with SOX2OT mimic significantly enhanced cell migration and increased the protein expressions of SIRT1, Beclin1 and p62, the LC3 II/LC3 I ratio, and expression levels of SIRT1 mRNA and SOX2OT ( $P<0.05$ ), and these changes were obviously attenuated by SIRT1 knockdown, which also resulted in lowered 5-FU resistance of the cells without significantly affecting the expression level of SOX2OT ( $P>0.05$ ). RNA pulldown assay suggested that SOX2OT could directly bind to SIRT1. **Conclusion** LncRNA SOX2OT enhances 5-FU resistance in HCCC-9810 cells by promoting autophagy through up-regulating SIRT1 expression.

**Keywords:** LncRNA SOX2OT; SIRT1; autophagy; cholangiocarcinoma cells; 5-FU resistant

胆管癌(CCA)是一种起源于胆管细胞的侵袭性、转移性肿瘤,在世界范围内发病率不断上升,是继肝细

胞癌之后第二常见的肝胆恶性肿瘤<sup>[1,2]</sup>。CCA可分为肝内型和肝外型。CCA的主要治疗策略包括手术切除、化疗、放疗和靶向治疗。其中,以5-氟尿嘧啶(5-FU)为主的化疗是治疗CCA的主要手段。然而,其容易产生耐药性,从而制约了该疗法的有效性。5-FU耐药性的产生与其细胞靶标胸苷酸合成酶(TYMS)的表达升

收稿日期:2022-08-17

基金项目:西南医科大学校级课题(2020ZRQNB054)

作者简介:辛辰,硕士,E-mail: 644765240@qq.com

通信作者:王忠琼,副教授,E-mail: xcwyyx20220712@163.com

高有关<sup>[3,4]</sup>。因此,深入了解CCA的多重耐药分子机制是克服当前治疗限制的关键,有助于发现新的治疗靶点并改善CCA患者的预后。自噬是一种与癌症进展和耐药性有关的生物过程。Beclin-1、HMGB1、p53等自噬相关基因被证明参与了5-FU耐药过程<sup>[5,6]</sup>。研究表明,自噬的过度激活可能与CCA的恶性表型有关<sup>[7]</sup>。此外,自噬还可能通过调节肿瘤细胞的死亡和免疫细胞的激活来影响CCA的预后。因此,调节自噬可能是克服化疗药物耐药性的一种新的治疗策略。SIRT1是沉默信息调节因子(SIRT)家族成员,通过令组蛋白乙酰化调节基因的转录,并诱导靶蛋白去乙酰化以降解,已被证明参与了肿瘤的发生发展及耐药的过程<sup>[8,9]</sup>。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞株

此细胞在含有特定成分的DMEM培养基中进行常规培养,包括每毫升100 μg/mL链霉素、100 U青霉素,以及10%的胎牛血清。细胞被放置在温度为37 °C、CO<sub>2</sub>浓度为5%的专用细胞培养箱中进行培养。当细胞生长并融合至80%~90%的密度时,会使用胰蛋白酶来进行消化处理,以便将细胞从培养板上分离下来并进行传代。

### 1.2 试剂

BCA蛋白定量试剂盒、超敏化学发光试剂、RIPA Lysis Buffer(成都里来生物科技有限公司),LC3一抗(成都妍恩生物科技有限公司),Beclin 1一抗(成都睿琪生物科技有限公司),SIRT1一抗、p62一抗、山羊抗小鼠IgG H&L二抗(abcam),Trizol(上海研卉生物科技有限公司),胎牛血清(上海碧云天生物技术股份有限公司),DMEM培养基(上海广锐生物科技有限公司),5-FU(Sigma-Aldrich),反转录试剂盒(Takara),CCK-8试剂盒(北京索莱宝公司),pcDNA3.1-SOX2OT、pcDNA3.1-NC、si-SIRT1和si-NC(广州锐博公司)。

### 1.3 HCCC-9810/5-FU耐药细胞模型

参考之前的方法进行耐药细胞株的构建<sup>[9]</sup>。具体方法如下:将对数生长期的HCCC-9810细胞接种于96孔板。设置不同的5-FU浓度(0、50、100、150、200 μg/mL)处理细胞,每孔设3个复孔,每孔加入含有FBS胎牛血清的DMEM培养基。将96孔板置于温度为37 °C、CO<sub>2</sub>浓度为5%的培养箱中培养。经过24 h的培养后,使用CCK-8法检测细胞的IC<sub>50</sub>值及癌细胞耐药指数。通过耐药指数来判断模型是否建立成功。如果耐药指数≥2,则表明耐药细胞模型建立成功。将未处理过的细胞标记为对照组(HCCC-9810细胞,Control),处理过的细胞标记为模型组(HCCC-9810/5-FU耐药细胞,Model)。

### 1.4 基因沉默/过表达

以2×10<sup>5</sup>孔的密度,接种HCCC-9810/5-FU细胞。

分别将pcDNA3.1-SOX2OT(OV-SOX2OT)和pcDNA3.1-NC(OV-NC)质粒运用脂质体转染进入细胞中,培养6 h后换液,24 h后收集细胞进行检测。在后续的Rescue实验中,将OV-SOX2OT和si-NC、OV-SOX2OT和si-SIRT1分别共同转染到HCCC-9810/5-FU耐药细胞中,再经过24 h的培养后,转染的细胞被分为:OV-SOX2OT+si-NC组和OV-SOX2OT+si-SIRT1组。通过CCK8评估细胞耐药性。

### 1.5 划痕实验

在六孔板中接种细胞,待长至90%融合后,用移液枪枪头在六孔板中央创建一个一致宽度的细胞划痕。PBS冲洗以清除划痕产生的细胞碎片。加入完全培养基,并进行拍照记录,记为0 h。培养24 h后取出,拍照记录,记为24 h,记录迁移情况。通过比较不同时间点的照片,可以观察到细胞在划痕处的迁移和生长情况。

### 1.6 Western blotting

根据实验要求对细胞进行处理,24 h后收集细胞,运用RIPA Lysis Buffer裂解细胞以提取总蛋白,BCA试剂盒对蛋白进行定量。通过SDS-PAGE分离蛋白并转移到PVDF膜上,然后用5%脱脂奶粉封闭2 h,加入抗Beclin1、LC3、p62和SIRT1的一抗,4 °C下孵育过夜。第2天,PBS洗涤,加入二抗室温下孵育1 h。最后,使用ECL使条带显影,蛋白分析系统分析各个条带灰度值并进行定量分析。以β-actin的灰度值为内参进行均一化处理。

### 1.7 实时定量PCR法

将HCCC-9810细胞接种于六孔板中,经过24 h的实验分组处理后,收集细胞。参考说明书,运用Trizol法提取细胞总RNA。分光光度计进行RNA的质量检测和定量分析。随后,反转录试剂盒将总RNA反转录为cDNA。然后以cDNA为模板进行RT-qPCR程序。程序如下:95 °C变性20 s,58 °C~60 °C退火30 s,72 °C延伸45 s,持续40个循环。最后读取循环值(Ct),以2<sup>-ΔΔCt</sup>计算相对表达量,GAPDH作为内参。引物信息见表1。

### 1.8 RNA Pulldown实验

将1 mg蛋白液及已经预处理的生物素RNA一同加入EP管,在4 °C环境下置于摇床中混合作用1 h。随后,在新的、已经经过DEPC处理的EP管中,放入30 μL链霉亲和素磁珠混悬液并将其放在磁力架上。用RIPA裂解缓冲液对这个磁珠混悬液进行2次洗涤,以去除未结合的蛋白。接着,将之前制备的RNA蛋白混合液加入含有磁珠的EP管中,让其在室温下孵育1 h,使RNA与蛋白特异性结合。使用磁力架吸附这些磁珠,并通过洗涤3次去除未特异结合的蛋白。样品进行10%SDS-PAGE电泳分离,转膜后进行Western blot检测。

### 1.9 统计学分析

进行实验数据的统计分析时,使用了SPSS 20.0统

表1 引物序列  
Tab.1 Sequence of primers

Primer	Sequence
SIRT1	Forward Primer 5'-CTACTGGTCTTACTTTGAGGG-3'
	Reverse Primer 5'-CAAGGGATGGTATTTATGCT-3'
LncRNA SOX2OT	Forward Primer 5'-GCTCGTGGCTTAGGAGATTG-3'
	Reverse Primer 5'-CTGGCAAAGCATGAGGAACT-3'
$\beta$ -actin	Forward Primer 5'-ACAGAGCCTCGCCTTTGC-3'
	Reverse Primer 5'-CCACCATCACGCCCTGG-3'

计软件和GraphPad Prism 5软件进行实验数据分析。所有数据均以均数 $\pm$ 标准差描述。对多组间的差异进行单因素方差分析。事后检验采用LSD-*t*检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CCK-8检测HCCC-9810细胞增殖抑制率和耐药指数

5-FU对细胞的抑制率呈剂量依赖性上升。HCCC-9810/5-FU细胞的 $IC_{50}$ 为400.028  $\mu$ g/mL,而HCCC-9810细胞 $IC_{50}$ 为153.673  $\mu$ g/mL,耐药指数高于2,表明耐药细胞模型构建成功(图1)。

### 2.2 5-FU耐药对SIRT1自噬通路及LncRNA SOX2OT的影响

Western blot显示,与对照组相比,模型组SIRT1、Beclin1( $P<0.001$ )和p62( $P<0.01$ )蛋白表达明显增加,LC3 II/LC3 I比值明显增加( $P<0.001$ ,图2A)。qRT-PCR显示,耐药细胞株中LncRNA SOX2OT和SIRT1表达水平显著高于正常细胞( $P<0.05$ ,图2B)。

### 2.3 LncRNA SOX2OT过表达促进SIRT1介导的自噬及5-FU耐药

过表达SOX2OT组的迁移距离显著高于OV-NC组(图3A)。进一步检测自噬相关蛋白发现,OV-SOX2OT组SIRT1、Beclin1( $P<0.001$ )和p62( $P<0.05$ )蛋白水平显著高于OV-NC组(图3B),LncRNA SOX2OT和SIRT1的mRNA水平也显著高于OV-NC组( $P<0.05$ ,图3C)。

### 2.4 LncRNA SOX2OT通过调控SIRT1自噬对HCCC-9810细胞5-FU耐药性的影响

CCK-8结果显示,OV-SOX2OT+si-SIRT1组细胞对5-FU的 $IC_{50}$ 值是245.79  $\mu$ g/mL,耐药指数是1.71;OV-SOX2OT+si-NC组细胞对5-FU的 $IC_{50}$ 值是393.07  $\mu$ g/mL,耐药指数是2.75;与对照细胞相比,沉默SIRT1表达导致LncRNA SOX2OT过表达的HCCC-9810细胞对5-FU的耐药性显著降低。Western blot显示(图4A),与Control组相比,OV-SOX2OT+si-NC组

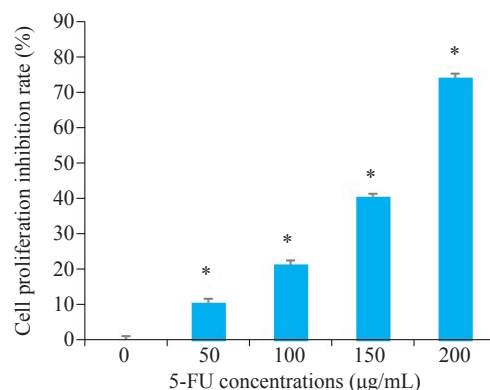


图1 CCK-8检测HCCC-9810细胞增殖抑制率

Fig.1 CCK-8 assay for assessing proliferation inhibition rate of HCCC-9810 cells. \* $P<0.05$  vs 0  $\mu$ g/mL.

SIRT1( $P<0.05$ )、p62( $P<0.01$ )和Beclin1( $P<0.01$ )蛋白表达显著增加,LC3 II/LC3 I比值明显增加( $P<0.05$ );与OV-SOX2OT+si-NC组相比,OV-SOX2OT+si-SIRT1组SIRT1( $P<0.001$ )、p62( $P<0.01$ )和Beclin1( $P<0.01$ )蛋白表达显著降低,LC3 II/LC3 I比值明显降低( $P<0.01$ )。qRT-PCR显示(图4B),与Control组相比,LncRNA SOX2OT过表达的HCCC-9810细胞中LncRNA SOX2OT和SIRT1 mRNA( $P<0.05$ )水平显著增加;与对照细胞相比,沉默SIRT1表达导致LncRNA SOX2OT过表达的HCCC-9810细胞中SIRT1 mRNA水平显著降低( $P<0.05$ )。

### 2.5 验证LncRNA SOX2OT在耐药细胞HCCC-9810/5-FU中对SIRT1的靶向调控作用

RNA Pulldown实验结果显示,LncRNA SOX2OT能与SIRT1结合(图5)。

## 3 讨论

CCA被普遍认为是一种难以诊断和治疗的疾病,这主要是由于其缺乏早期诊断特异性指标,大多数患者确诊时往往已是中晚期,已发生远处转移,且具有化疗药物不敏感导致预后很差<sup>[11]</sup>。尽管治疗方法有所改进,但患者的生存率仍然很低。所以,了解5-FU耐药性发展的机制对于预测和提高CCA患者的治疗效果十分必

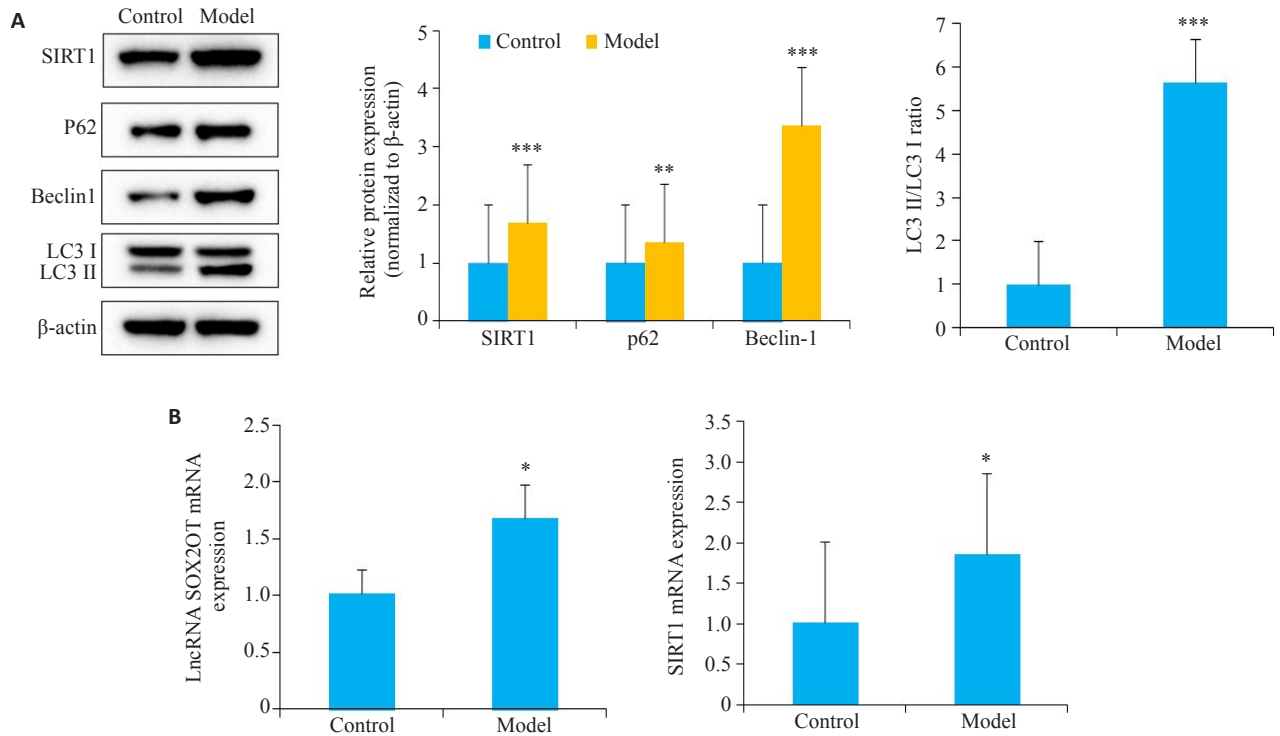


图2 5-FU耐药对SIRT1自噬通路及LncRNA SOX2OT的影响

Fig.2 Effect of 5-FU resistance on the SIRT1 autophagy pathway and LncRNA SOX2OT. **A:** Protein expression of SIRT1, Beclin1, LC3, and p62 and the LC3 II/LC3 I ratio determined by Western blotting. **B:** The mRNA levels of LncRNA SOX2OT and SIRT1 determined by qRT-PCR. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs control group.

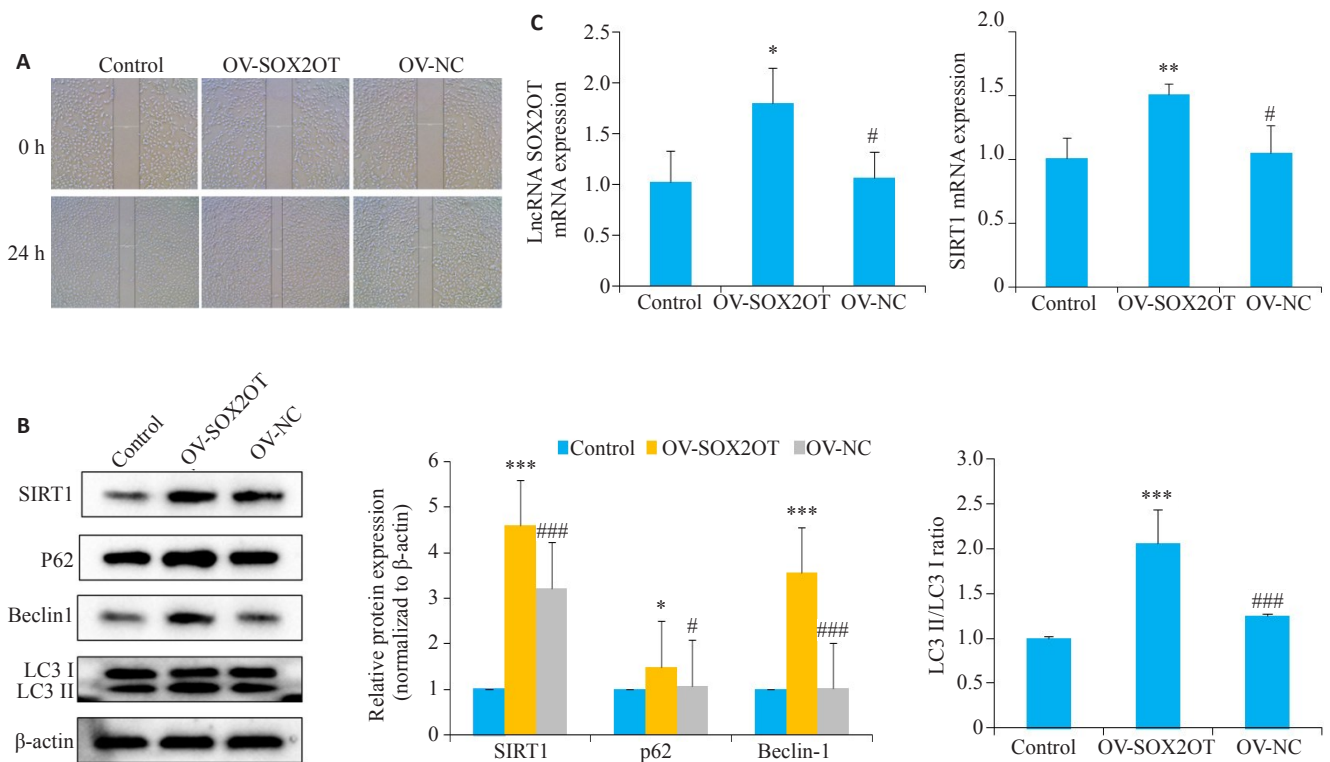


图3 LncRNA SOX2OT过表达促进SIRT1介导的自噬及5-FU耐药

Fig.3 LncRNA SOX2OT overexpression promoted SIRT1-mediated autophagy and 5-FU drug resistance. **A:** Wound-healing assay for assessing migration ability of the drug-resistant cells. **B:** Protein expressions of SIRT1, Beclin1, LC3, and p62 and the LC3 II/LC3 I ratio determined by Western blotting. **C:** SIRT1 and LncRNA SOX2OT mRNA levels measured by RT-qPCR. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs control group; # $P < 0.05$ , ### $P < 0.001$  vs OV-SOX2OT group.

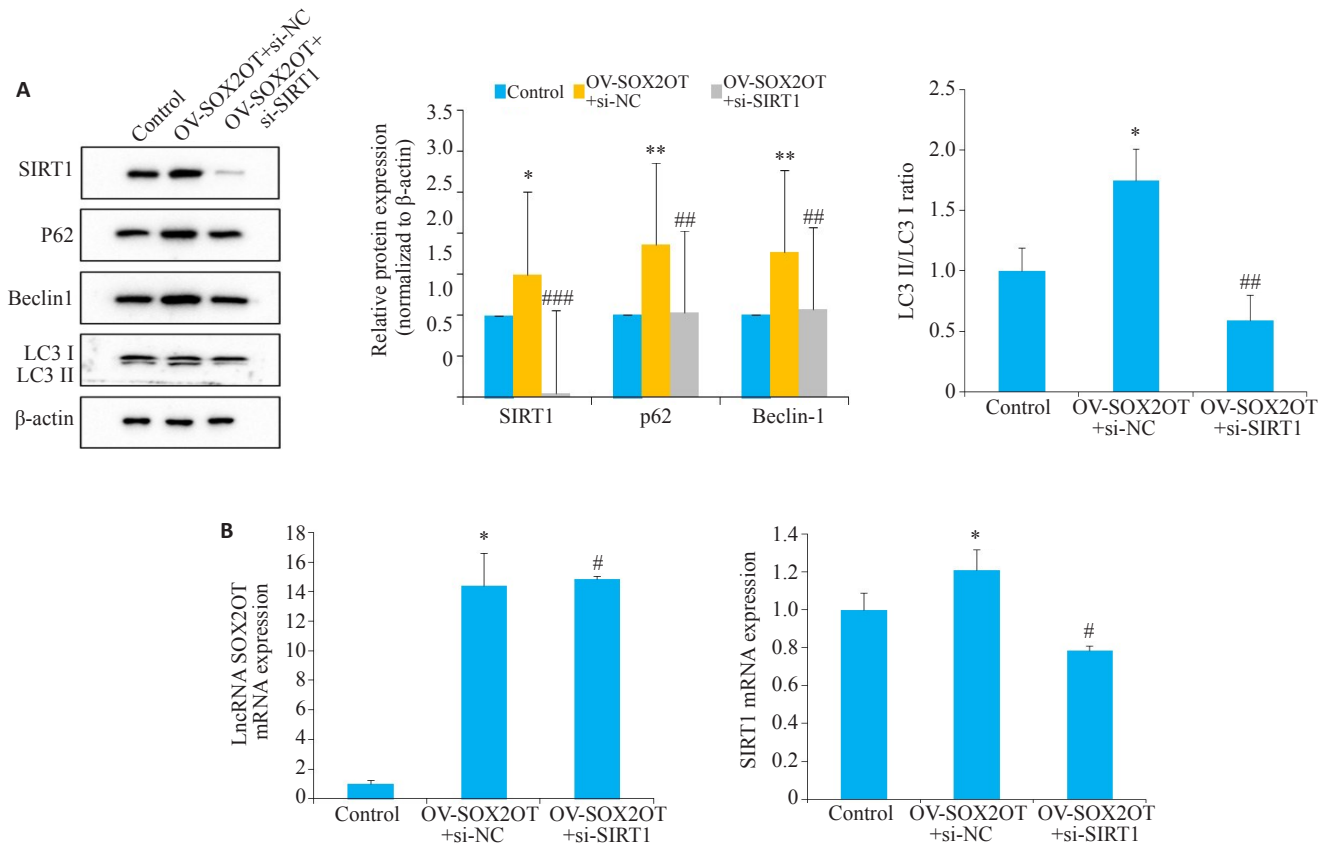


图4 LncRNA SOX2OT通过调控SIRT1自噬对HCCC-9810细胞5-FU耐药性的影响  
 Fig.4 LncRNA SOX2OT modulates 5-FU resistance of HCCC-9810 cells by regulating autophagy via SIRT1. **A:** Protein expressions of SIRT1, Beclin1, LC3, and p62 and the LC3 II/LC3 I ratio determined by Western blotting. **B:** The mRNA levels of SIRT1 and LncRNA SOX2OT determined by qRT-PCR. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$  vs OV-SOX2OT+si-NC group.

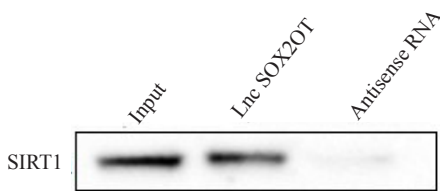


图5 利用RNA Pull-down实验验证SOX2OT与SIRT1的靶向结合关系  
 Fig.5 RNA Pull-down experiments for verifying the targeted binding of SOX2OT and SIRT1.

要。已有报道发现,自噬在其中扮演重要作用<sup>[12-15]</sup>。已有证据表明,5-FU耐药的CCA细胞株处于高度自噬的状态,进一步激活自噬可加剧耐药的发生<sup>[16]</sup>。相反,通过自噬抑制剂抑制自噬可以增加CCA细胞的5-FU敏感性<sup>[17,18]</sup>。综上,阻断自噬有望成为提高CCA细胞5-FU敏感性的潜在有效手段<sup>[19]</sup>。在本研究中,以CCA细胞系HCCC-9810为研究对象,构建了耐5-FU的HCCC-9810/5-FU细胞系,探讨了自噬在5-FU耐药中

的分子机制,为治疗CCA提供理论支撑。

SIRT1作为一种自噬激活剂与参与多种疾病有关<sup>[20]</sup>。SIRT1已被证明参与了肿瘤的发生、发展和耐药,但其具体作用取决于致病过程<sup>[21]</sup>。过往的研究已经表明,在细胞中沉默SIRT1能够抑制胃癌细胞的增殖并增加对5-FU的响应<sup>[22]</sup>。在CCA化疗过程中,自噬被显著激活,这已被多项研究所证实<sup>[23,24]</sup>。其中,Beclin 1是调控自噬的关键蛋白,参与自噬体膜形成过程<sup>[25-27]</sup>。此外,LC3 II与LC3 I之间的比值可以作为一个有效的指标,用于评估自噬的活跃程度<sup>[28,29]</sup>。p62则是一种关键的泛素结合蛋白,通过调控自噬维持细胞稳态<sup>[30,31]</sup>。本研究中,5-FU诱导的HCCC-9810耐药细胞中,SIRT1、Beclin 1和p62表达上调,LC3 II/LC3 I比值增加,这表明细胞中自噬过程被激活。

SOX2OT基因是定位于人类染色体3q26.33的一种LncRNA<sup>[32]</sup>。LncRNA SOX2OT在多种恶性肿瘤组织中异常表达,且通过不同途径调控恶性肿瘤的生物学过程<sup>[33]</sup>。研究表明LncRNA SOX2OT在结直肠癌组织

和细胞中表达上调,SOX2OT沉默抑制结直肠癌在体外的细胞增殖,迁移和侵袭,以及小鼠异种移植瘤中的肿瘤发生<sup>[34]</sup>。本研究也证实5-FU诱导的HCCC-9810耐药细胞中,LncRNA SOX2OT表达上调。研究表明LncRNA SOX2OT海绵吸附miR-34a促进SOX2表达增强大肠癌多药耐药<sup>[35]</sup>。本研究中过表达SOX2OT增强胆管癌HCCC-9810细胞对5-FU的耐药性,上调SIRT1、Beclin 1和p62表达,增加LC3 II/LC3 I比值。在此基础上,还做了Rescue实验,过表达SOX2OT和沉默SIRT1一起转染HCCC-9810/5-FU耐药细胞,结果表明,SIRT1、p62和Beclin1蛋白表达、LC3 II/LC3 I比值,SIRT1 mRNA水平均明显降低。RNA Pulldown实验证实SOX2OT与SIRT1存在靶向结合关系。以上实验充分证实在胆管癌细胞HCCC-9810中,LncRNA SOX2OT通过上调SIRT1表达来促进自噬进而增强胆管癌HCCC-9810细胞的5-FU耐药性。

综上所述,本研究揭示了SOX2OT增强胆管癌HCCC-9810细胞5-FU耐药,其作用机制上调SIRT1表达和促进自噬有关。SOX2OT可能作为抗癌药物的作用靶点。

#### 参考文献:

- [1] Rizvi S, Khan SA, Hallemeier CL, et al. Cholangiocarcinoma-evolving concepts and therapeutic strategies[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(2): 95-111.
- [2] Banales JM, Marin JJG, Lamarca A, et al. Cholangiocarcinoma 2020: the next horizon in mechanisms and management [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(9): 557-88.
- [3] Chen MZ, Li YY, Ma NF, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes loaded with 5-Fu against cholangiocarcinoma invitro [J]. *Mol Med Rep*, 2022, 25(6): 213.
- [4] 刘小方, 于绍平, 张翠生, 等. 5-氮-2-脱氧胞苷调控胆管癌p53-Bax线粒体凋亡通路DNA甲基化诱导化疗敏感性的研究[J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2011, 5(21): 6266-72.
- [5] Usman RM, Razzaq F, Akbar A, et al. Role and mechanism of autophagy-regulating factors in tumorigenesis and drug resistance [J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2021, 17(3): 193-208.
- [6] Bai ZS, Peng YL, Ye XY, et al. Autophagy and cancer treatment: four functional forms of autophagy and their therapeutic applications[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2022, 23(2): 89-101.
- [7] Nitta T, Sato Y, Ren XS, et al. Autophagy may promote carcinoma cell invasion and correlate with poor prognosis in cholangiocarcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(8): 4913-21.
- [8] 李玉杰, 李宏远, 刘冬雪, 等. SIRT1对肿瘤细胞的研究进展[J]. *中国科技纵横*, 2018(19): 194-5.
- [9] 辛辰, 王笑影, 李响, 等. 沉默SIRT1降低胆管癌细胞对5-氟尿嘧啶的耐药: 基于抑制FOXO1/Rab7自噬通路[J]. *南方医科大学学报*, 2023, 43(3): 454-459.
- [10] Lu M, Qin XL, Zhou YJ, et al. LncRNA HOTAIR suppresses cell apoptosis, autophagy and induces cell proliferation in cholangiocarcinoma by modulating the miR-204-5p/HMGB1 axis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130: 110566.
- [11] Peng F, Jiang J, Yu Y, et al. Direct targeting of SUZ12/ROCK2 by miR-200b/c inhibits cholangiocarcinoma tumorigenesis and metastasis[J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(12): 3092-104.
- [12] Naveed S, Aslam M, Ahmad A. Starvation based differential chemotherapy: a novel approach for cancer treatment[J]. *Oman Med J*, 2014, 29(6): 391-8.
- [13] Li X, Zhou Y, Li Y, et al. Autophagy: a novel mechanism of chemoresistance in cancers [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 119: 109415.
- [14] 聂旭阳, 高笑男, 高敬林, 等. 小檗碱逆转肿瘤多药耐药的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(2): 219-24.
- [15] Hu X, Wen L, Li XF, et al. Relationship between autophagy and drug resistance in tumors[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2023, 23(10): 1072-8.
- [16] 辛辰. 5-FU通过上调自噬水平介导胆管癌化疗不敏感的机制研究 [D]. 泸州: 西南医科大学.
- [17] Hong ZF, Zhao WX, Yin ZY, et al. Capsaicin enhances the drug sensitivity of cholangiocarcinoma through the inhibition of chemotherapeutic-induced autophagy [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0121538.
- [18] 郑启忠, 申九妹, 熊共鹏, 等. 辣椒素提高胆管癌细胞对5-氟尿嘧啶的敏感性[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(22): 3714-8.
- [19] 何宇. 白杨素通过促进ROS介导的Akt/mTOR通路失活在子宫内癌细胞中诱导自噬[D]. 合肥: 安徽医科大学.
- [20] Garcia-Peterson LM, Li XL. Trending topics of SIRT1 in tumorigenicity [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2021, 1865(9): 129952.
- [21] Chen JY, Chen HZ, Pan LY. SIRT1 and gynecological malignancies (review)[J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(4): 43.
- [22] 邓晓晶, 郑海伦, 燕善军, 等. SIRT1在5-FU耐药胃癌细胞中的表达及其对细胞化疗耐药的影响[J]. *河北北方学院学报: 自然科学版*, 2020, 36(10): 1-7, 11.
- [23] Koustas E, Trifylli EM, Sarantis P, et al. Role of autophagy in cholangiocarcinoma: an autophagy-based treatment strategy [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2021, 13(10): 1229-43.
- [24] Ninfolo E, Pinto C, Benedetti A, et al. Role of autophagy in cholangiocarcinoma: Pathophysiology and implications for therapy [J]. *World J Clin Cases*, 2021, 9(22): 6234-43.
- [25] Xu HD, Qin ZH. Beclin 1, bcl-2 and autophagy [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206: 109-26.
- [26] Li X, Yang KB, Chen W, et al. CUL3 (cullin 3)-mediated ubiquitination and degradation of BECN1 (beclin 1) inhibit autophagy and promote tumor progression[J]. *Autophagy*, 2021, 17(12): 4323-40.
- [27] Vega-Rubín-de-Celis S, Kinch L, Peña-Llópiz S. Regulation of beclin 1-mediated autophagy by oncogenic tyrosine kinases[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23): 9210.
- [28] Marafon BB, Pinto AP, Da Rocha AL, et al. Hepatic LC3 II/I ratio is not modulated in exercised mice[J]. *Physiol Res*, 2020: 1103-11.
- [29] Wang SL, Shao BZ, Zhao SB, et al. Intestinal autophagy links psychosocial stress with gut microbiota to promote inflammatory bowel disease[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(6): 391.
- [30] Lamark T, Svenning S, Johansen T. Regulation of selective

- autophagy: the p62/SQSTM1 paradigm[J]. *Essays Biochem*, 2017, 61(6): 609-24.
- [31] Zhang H, Zhang YQ, Zhu XY, et al. DEAD box protein 5 inhibits liver tumorigenesis by stimulating autophagy *via* interaction with p62/SQSTM1[J]. *Hepatology*, 2019, 69(3): 1046-63.
- [32] Zhan YH, Chen ZC, He SM, et al. Long non-coding RNA SOX2OT promotes the stemness phenotype of bladder cancer cells by modulating SOX2[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 25.
- [33] 严春红, 杨玮丽, 李学和. lncRNA SOX2OT在卵巢癌细胞系中的表达及其对卵巢癌生物学行为的影响[J]. *中华全科医学*, 2020, 18(6): 930-3.
- [34] Feng Y, Xu Y, Gao YJ, et al. A novel lncRNA SOX2OT promotes the malignancy of human colorectal cancer by interacting with miR-194-5p/SOX5 axis[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(5): 499.
- [35] 郭飘婷, 邹阳. lncRNA SOX2OT海绵吸附miR-34a促进SOX2表达增强大肠癌多药耐药[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2020, 34(5): 398-403.

(编辑:吴锦雅)