

PRMT1 通过促进 RRM2 表达抑制鼻咽癌细胞凋亡

周兰柱, 吴俊, 张明洁, 赵报, 马士崧

蚌埠医学院第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 安徽 蚌埠 233000

摘要:目的 探讨PRMT1能否通过促进RRM2抑制鼻咽癌细胞凋亡。方法 免疫组化和Western blot共同检测鼻咽癌和癌旁组织中PRMT1及RRM2的相对表达量;以人正常鼻黏膜上皮细胞系(HNEpC)作为对照,Western blot实验检测不同鼻咽癌细胞系中PRMT1和RRM2蛋白的相对表达量;对CNE-2细胞中PRMT1分别进行过表达和下调,过表达实验设阴性对照组(oe NC:CNE-2细胞中转染pcDNA3.1质粒)、过表达PRMT1组(oe PRMT1:CNE-2细胞中转染pcDNA3.1 PRMT1质粒)、下调实验设阴性对照组(si-NC:CNE-2细胞中转染NC无关序列)及PRMT1小干扰RNA组(si-PRMT1:CNE-2细胞中转染PRMT1小干扰RNA),对CNE-2细胞中RRM2分别进行过表达和下调,过表达实验设阴性对照组(oe NC:CNE-2细胞中转染pcDNA3.1质粒)、过表达RRM2组(oe RRM2:CNE-2细胞中转染pcDNA3.1 RRM2质粒)、下调实验设阴性对照组(si-NC:CNE-2细胞中转染NC无关序列)及RRM2小干扰RNA组(si-RRM2:CNE-2细胞中转染RRM2小干扰RNA)。Western blot验证PRMT1和RRM2的表达关系;AnnexinV-FITC/PI凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡;活性氧试剂盒检测细胞活性氧。结果 与癌旁组织和HNEpC细胞相比,鼻咽癌组织和CNE-2细胞中的PRMT1和RRM2相对表达量均显著增加($P<0.05$);Western blot证明PRMT1可促进RRM2表达,过表达PRMT1或RRM2,CNE-2细胞活性氧产生量与凋亡率均降低($P<0.05$),下调PRMT1或RRM2表达,CNE-2细胞活性氧产生量与凋亡率均增加($P<0.05$)。Western blot显示,过表达PRMT1或RRM2表达,Cleaved caspase-3和Cleaved caspase-8蛋白表达减少($P<0.05$),下调PRMT1或RRM2表达,Cleaved caspase-3和Cleaved caspase-8蛋白表达增加($P<0.05$);当同时下调PRMT1和过表达RRM2表达,与单独下调PRMT1组比,CNE-2细胞活性氧产生量与凋亡率均显著降低($P<0.05$),Cleaved caspase-3和Cleaved caspase-8蛋白表达均减少(P 均 <0.05)。结论 PRMT1通过促进RRM2表达影响CNE-2细胞凋亡。

关键词:鼻咽癌;PRMT1;RRM2;凋亡

PRMT1 inhibits apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells by promoting RRM2 expression

ZHOU Lanzhu, WU Jun, ZHANG Mingjie, ZHAO Bao, MA Shiyin

Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China

Abstract: Objective To verify whether PRMT1 inhibits apoptosis of nasopharyngeal carcinoma (NPC) cells by promoting RRM2 expression. **Methods** Immunohistochemistry and Western blotting were performed to detect the relative expression of PRMT1 and RRM2 in NPC and adjacent tissues and in different NPC cell lines and a normal nasal mucosal epithelial cell line (HNEpC). Experiments of PRMT1 or RRM2 overexpression or siRNA-mediated PRMT1 or RRM2 knockdown were carried out in CNE-2 cells to investigate the relationship between PRMT1 and RRM2 expressions using Western blotting. Apoptosis of the transfected cells was detected using Annexin V-FITC/PI apoptosis detection kit, and the production of intracellular reactive oxygen species (ROS) was determined using a ROS detection kit. **Results** Compared with adjacent tissues and HNEpC cells, NPC tissues and cell lines expressed significantly higher levels of PRMT1 and RRM2 ($P<0.05$). In CNE-2 cells with PRMT1 or RRM2 overexpression or knockdown, Western blotting demonstrated that PRMT1 could positively regulate the expression of RRM2 ($P<0.05$). Overexpression of PRMT1 or RRM2 significantly reduced intracellular ROS production and apoptosis rate of CNE-2 cells ($P<0.05$), and PRMT1 or RRM2 knockdown strongly increased ROS production and cell apoptosis ($P<0.05$). Overexpression of either PRMT1 or RRM2 significantly decreased the expressions of cleaved caspase-3 and cleaved caspase-8 proteins ($P<0.05$), and PRMT1 or RRM2 knockdown obviously promoted their expressions ($P<0.05$). PRMT1 knockdown combined with RRM2 overexpression, as compared with PRMT1 knockdown only, significantly decreased ROS production and cell apoptosis ($P<0.05$) as well as the protein expressions of cleaved caspase-3 and cleaved caspase-8 in CNE-2 cells ($P<0.05$). **Conclusion** The high expression of PRMT1 in NPC inhibits apoptosis of NPC cells by promoting the expression of RRM2.

Keywords: nasopharyngeal carcinoma; PRMT1; RRM2; apoptosis

收稿日期:2022-05-22

基金项目:安徽省高校自然科学基金研究重点项目(KJ2020A0590, KJ2020A0568, KJ2019A0293, KJ2019A0376)

作者简介:周兰柱,硕士,E-mail:lanzhu-07@163.com

通信作者:马士崧,主任医师,教授,博士生导师,E-mail:mashiyinent@sina.com

鼻咽癌(NPC)是具有高发病率类型的耳鼻喉恶性肿瘤,在中国南方、东南亚、北非和北极地区尤为普遍,具有独特的地理分布。已经确定了导致鼻咽癌的三个主要原因,包括爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)、人乳头瘤病毒感染和遗传易感性^[1-3]。与其他头颈部上皮癌不同,NPC位于颈部淋巴结附近,增加了身体其他部位转移的

风险。目前,放疗和顺铂同步放疗是标准鼻咽癌的治疗方案,然而,10%~36%的鼻咽癌患者在标准治疗后仍有局部复发,这是鼻咽癌患者治疗失败和生存率低的主要原因^[4,5]。因此,NPC靶向治疗对抑制远处转移、早期发现、预测预后和监测复发具有重要意义。

蛋白质精氨酸甲基转移酶(PRMT)是甲基化精氨酸残基的主要酶组,在基因转录调控、RNA加工、DNA损伤修复、信号转导、蛋白质易位和肿瘤发生等多种生理和病理过程中起关键作用^[6,7]。PRMT1是PRMT家族成员中最重要的蛋白质类型之一,研究证实PRMT1参与了多种肿瘤的恶性进展,表明PRMT1在人类肿瘤发生发展中具有重要作用^[8-11]。目前PRMT1在鼻咽癌中的作用尚无研究报道,因而,探究PRMT1在鼻咽癌中的生物学功能具有重要意义。核糖核苷酸还原酶亚单位M2(RRM2)是核糖核苷酸还原酶家族中的一员^[12]。前期课题组使用转录组测序对PRMT1表达干扰的NPC细胞进行下游基因变化分析,搜寻PRMT1相关或影响的细胞信号通路,选择相关度较高的基因或通路,通过分析发现,RRM2可作为PRMT1的候选靶基因,查阅文献发现RRM2在鼻咽癌预后中发挥重要价值,RRM2除参与DNA合成外,还在肿瘤增殖、转移、凋亡等生物学过程中能发挥重要作用^[13-18],本实验拟通过检验PRMT1与RRM2对鼻咽癌凋亡的影响及二者的关系,为鼻咽癌的治疗或诊断提供一定实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 人HNEpC细胞(正常鼻黏膜上皮细胞)和人鼻咽癌细胞5-8F、CNE-2、HNE1均购自上海细胞库。

1.1.2 药品与试剂 Lipofectamin 2000(赛默飞);结晶紫、蛋白质浓度检测试剂、二氨基联苯胺(DAB)、AnnexinV-FITC/PI凋亡检测试剂盒、活性氧检测试剂盒(上海碧云天生物);兔抗蛋白质PRMT1抗体、兔抗RRM2抗体、兔抗Cleaved caspase-3抗体、兔抗Cleaved caspase-8抗体、兔抗 β -actin抗体及辣根过氧化物酶标记山羊抗兔(上海艾博抗)。

1.2 方法

1.2.1 患者样本收集 收集10对接受肿瘤手术切除患者的鼻咽癌标本及相应的邻近非肿瘤组织。手术切除的组织样本在液氮中快速冷冻,并在-80℃保存。本研究不包括在手术治疗前或手术治疗后接受放疗和/或免疫治疗的患者。该研究方案符合1975年《赫尔辛基宣言》的伦理准则,并得到医院临床研究伦理委员会的批准。参与本研究的每位患者均获得书面知情同意。

1.2.2 细胞培养 HNEpC和5-8F、HNE1、CNE-2细胞培养在含有10% FBS并加入抗生素(100 U/mL青霉素和

100 mg/mL链霉素)的DMEM培养基中培养。

1.2.3 细胞转染分组 CNE-2细胞培养于六孔板,每孔细胞数融合度为六孔板的70%时对CNE-2细胞中PRMT1和RRM2分别进行过表达和下调,PRMT1和RRM2 siRNA及质粒(上海吉玛生物科技有限公司)使用Lipo2000将PRMT1和RRM2 siRNA及质粒转染到CNE-2细胞中。PRMT1过表达实验设阴性对照组(oe NC)、PRMT1组(oe PRMT1)、下调实验设阴性对照组(si-NC)及PRMT1小干扰RNA组(si-PRMT1),RRM2过表达实验设阴性对照组(oe NC)、RRM2组(oe RRM2)、下调实验设阴性对照组(si-NC)及RRM2小干扰RNA组(si-RRM2),转染步骤按照说明书进行。实验重复进行3次。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡 各组细胞转染24 h后,根据制造商的协议,使用AnnexinV-FITC/PI凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡。收集细胞及其上清液,用PBS洗涤2次。将AnnexinV-FITC加入悬浮细胞中,4℃黑暗孵育15 min。然后加入PI,在黑暗中孵育10 min。流式细胞仪对染色细胞进行分析。实验重复进行3次。

1.2.5 活性氧生成量的测定 荧光探针2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH)检测细胞内ROS水平,DCFH为一种细胞渗透性非荧光探针,在细胞内ROS的存在下,在细胞内脱酯化,转化为高荧光分子2',7'-二氯荧光素(DCF)。细胞与5 μ mol/L DCFH在37℃下孵育1 h,活细胞工作站对每组细胞拍照,分析各组结果。实验重复进行3次。

1.2.6 免疫组化法检测鼻咽癌与癌旁组织PRMT1和RRM2蛋白相对表达量 将组织固定、石蜡包埋、切片脱蜡,水化,在柠檬酸盐中孵育缓冲液20 min获得抗原修复。将组织用3% H₂O₂培养15 min,阻断内源性过氧化物酶活性。此后,组织切片被培养与兔抗PRMT1抗体(1:200)在4℃下过夜,切片用PBS洗涤,次日加辣根过氧化物酶标记的IgG孵育15 min;兔抗RRM2抗体(1:200)在4℃下过夜,切片用PBS洗涤,次日加辣根过氧化物酶标记的IgG孵育15 min,并用DAB显影。1%苏木精对细胞核进行二次染色,以胞质染色呈棕褐色为阳性并使用光学显微镜拍照。免疫反应(IRS)评分:由2位病理学专家评分;染色强度0~3分:依次为阴性、浅黄色、浅褐色、深褐色;阳性范围0~4分:依次为0~25%、26%~50%、51%~75%、76%~100%。免疫反应评分=染色强度评分×阳性范围。实验重复进行3次。

1.2.7 Western blot法检测蛋白相对表达量 使用含有蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液从组织和转染的CNE-2细胞中提取蛋白质,使用BCA检测试剂盒进行定量,将等量的各组蛋白在凝胶上进行电泳分离,分离的蛋白转移到PVDF膜上;4℃下5%脱脂牛奶在摇床上封闭膜2 h,

TBST洗涤后,分别加兔抗PRMT1(1:1000)抗体、兔抗RRM2(1:1000)抗体、兔抗Cleaved caspase-3(1:1000)抗体、兔抗Cleaved caspase-8(1:1000)抗体、兔抗 β -actin(1:1000)抗体,4℃冰箱过夜;TBST溶液漂洗3次并孵育2h;辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(1:5000)在室温下放置2h,ECL化学发光液进行显影,ImageJ软件检测条带的灰度值进行蛋白定量。实验重复进行3次。

1.2.8 统计学分析 收集的所有统计数据均表示为均值 \pm 标准差。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鼻咽癌和癌旁组织中PRMT1和RRM2的相对表达量

评估PRMT1和RRM2在鼻咽癌组织中的表达情况,采用Western blot法对鼻咽癌组织和癌旁组织中PRMT1和RRM2蛋白进行检测,与癌旁组织相比,鼻咽癌组织中PRMT1和RRM2蛋白的表达均显著增加($P<0.05$,图1A~C)。此外,免疫组化同样证实与正常癌旁组织相比,鼻咽癌组织中,PRMT1和RRM2蛋白相对表达量均显著增加($P<0.05$,图1D~F)。

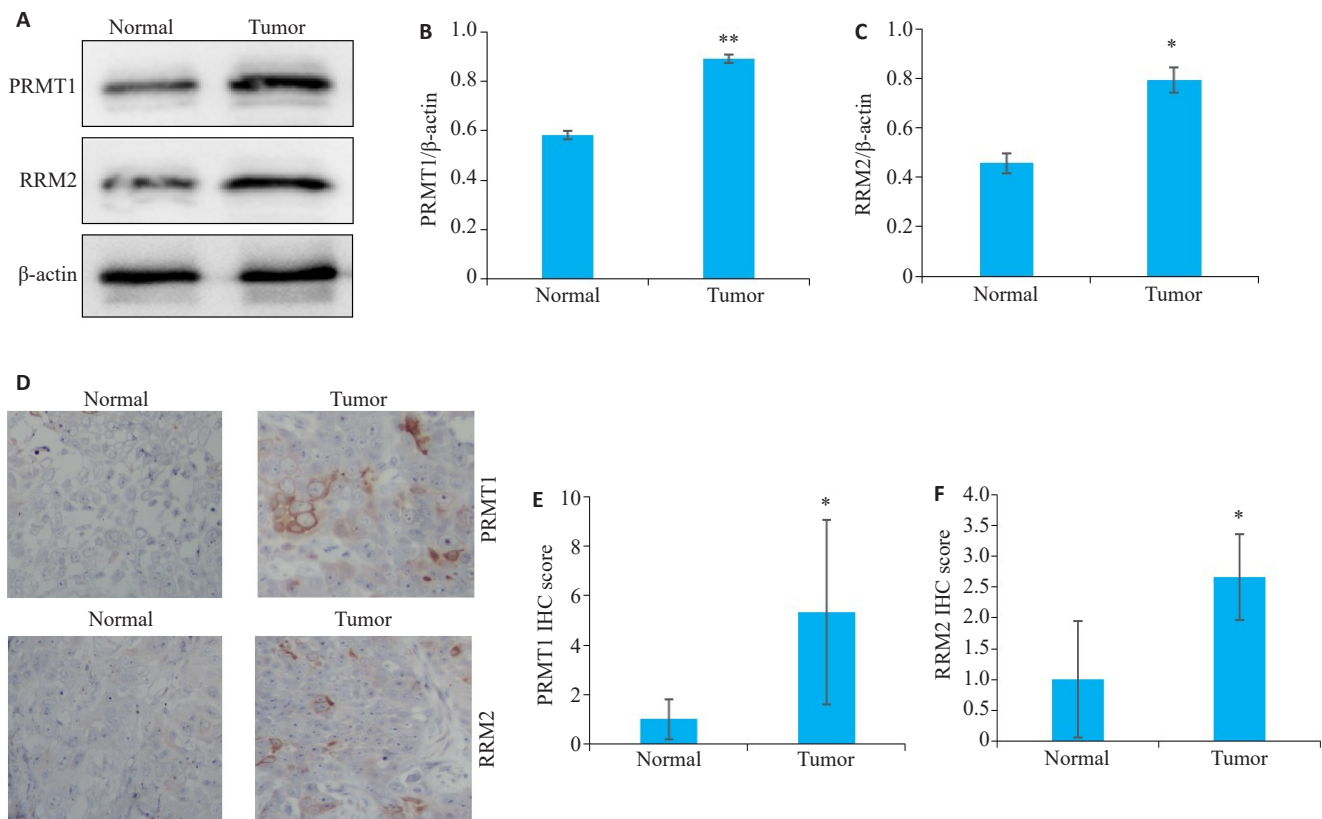


图1 鼻咽癌和癌旁组织中PRMT1和RRM2的相对表达量

Fig.1 Relative expression levels of PRMT1 and RRM2 in nasopharyngeal carcinoma and adjacent tissues. A: Western blotting for detecting the expression of PRMT1 and RRM2 proteins in nasopharyngeal carcinoma and adjacent tissues. B, C: Gray value of PRMT1 and RRM2 proteins. D-F: Expression of PRMT1 and RRM2 detected by immunohistochemical staining (Original magnification: $\times 200$). * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs normal tissue ($n=10$).

2.2 CNE-2细胞中PRMT1和RRM2表达量最高

与癌旁组织相比,PRMT1和RRM2在鼻咽癌组织中高表达。为了评估PRMT1和RRM2在鼻咽癌细胞中的表达,用Western blot法对3种鼻咽癌细胞系5-8F、CNE-2、HNE1,以及HNEpC作为对照组检测PRMT1和RRM2蛋白表达量,与HNEpC细胞相比,PRMT1和RRM2在3种鼻咽癌细胞中表达均增加且CNE-2细胞表达水平最高,因此选择CNE-2细胞进行后续实验($P<0.05$,图2A~C)。

2.3 PRMT1对CNE-2细胞凋亡的影响

进一步研究PRMT1在NPC中的作用,分别过表达与下调PRMT1转染CNE-2细胞,通过Western blot法检测来评估过表达效率,在转染了PRMT1模拟物的CNE-2细胞中,PRMT1蛋白表达显著增加,敲低PRMT1的CNE-2细胞中,PRMT1蛋白表达显著减少,表明敲低成功($P<0.05$,图3D、E),检测过表达与敲低PRMT1在调节细胞凋亡中的活性氧结果,结果显示,与对照组相比,下调PRMT1表达,si-PRMT1组CNE-2细

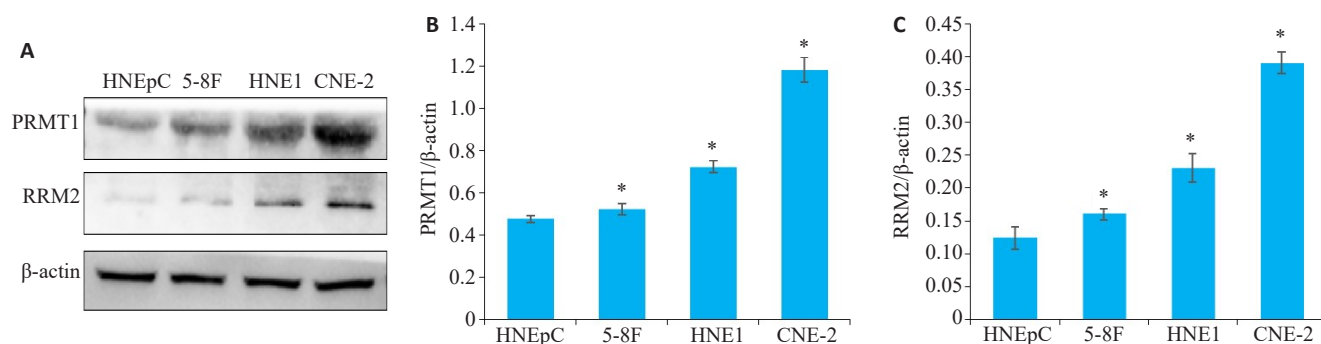


图2 PRMT1和RRM2在鼻咽癌细胞株中的相对表达量

Fig.2 Relative expression levels of PRMT1 and RRM2 in nasopharyngeal carcinoma cell lines. A: Western blotting for detecting relative protein expressions of PRMT1 and RRM2 in nasopharyngeal carcinoma cells. B, C: Gray value of PRMT1 and RRM2 protein bands. * $P < 0.05$ vs HNEpC cells ($n=3$).

胞中细胞活性氧增加(绿色荧光显著),ROS可以调节细胞色素c的释放,从而介导细胞凋亡,凋亡试剂盒进一步定量证明了细胞凋亡增加,而在过表达PRMT1表达后,这些作用被抑制(图3A~C)。此外,研究PRMT1影响CNE-2细胞凋亡的机制,Western blot分析检测凋亡相关蛋白Cleaved caspase-3与Cleaved caspase-8的表达水平,过表达PRMT1导致CNE-2细胞中Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-8的表达显著降低,而敲低PRMT1后CNE-2细胞中Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-8的表达显著增加($P < 0.05$,图3D、E)。

2.4 PRMT1促进RRM2的表达

PRMT1敲低引起多种基因表达下调,其中RRM2变化最为显著。为了验证PRMT1与RRM2的表达关系,当过表达CNE-2细胞中PRMT1表达后RRM2蛋白的表达显著增加,下调PRMT1表达后RRM2蛋白的表达显著降低($P < 0.05$,图4A~C)。

2.5 RRM2对CNE-2细胞凋亡的影响

为了探究RRM2在NPC中的作用,分别过表达与下调CNE-2细胞中RRM2的表达,成功过表达与敲低RRM2后($P < 0.05$,图5D、E),检测过表达与敲低RRM2在调节CNE-2细胞凋亡中的活性氧结果,结果显示,与对照组相比,下调RRM2表达,si-RRM2组CNE-2细胞中细胞活性氧增加(绿色荧光显著),凋亡试剂盒进一步定量证明了细胞凋亡增加,而在过表达RRM2表达后,这些作用被抑制(图5A~C)。过表达RRM2导致CNE-2细胞中Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-8的表达显著降低,而敲低RRM2后CNE-2细胞中Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-8的表达显著增加($P < 0.05$,图5D、E)。

2.6 PRMT1通过促进RRM2表达影响CNE-2凋亡

当下调PRMT1后同时过表达RRM2,CNE-2细胞活性氧与凋亡率较单独下调PRMT1降低($P < 0.05$,图

6A~C),Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-8蛋白表达显著减少($P < 0.05$,图6D、E),过表达RRM2能够逆转下调PRMT1对CNE-2的凋亡的促进作用。

3 讨论

先前研究已经确定,PRMT1表达在非小细胞肺癌、胰腺癌、乳腺癌中过表达,表明PRMT1表达升高是致癌过程^[19]。PRMT1具有重要临床意义,总体生存结果表明,PRMT1高的肝癌患者生存时间明显减少。在其他消化道癌症中,包括食道癌、胰腺癌和结肠腺癌中,PRMT1的表达也与患者的生存时间具有非常高的相关性^[20,21]。所有这些数据表明,PRMT1可能在癌症中发挥非常特殊的作用,并且可能成为未来癌症治疗的潜在新型药物靶点。由此,猜测其在是否在鼻咽癌的发生发展中同样发挥促癌作用。研究首次发现,PRMT1在鼻咽癌组织和鼻咽癌细胞CNE-2中高表达。先前研究表明,PRMT1与多种癌细胞的凋亡密切相关^[22-24],PRMT1甲基化p14的C末端核/核仁定位序列(NLS/NoLS)中的几个精氨酸残基,随后导致p53非依赖性胰腺腺癌细胞凋亡^[25];此外,宫颈癌细胞中PRMT1表达的下调细胞凋亡增加显著提高了它们对顺铂的敏感性,PRMT1表达有可能作为局部晚期宫颈癌患者的预测标志物^[26]。这一发现有助于改善这些患者的预后。为了进一步研究PRMT1对CNE-2细胞凋亡的作用,分别过表达与下调PRMT1转染CNE-2细胞,结果显示,与对照组相比,下调PRMT1表达,si-PRMT1组CNE-2细胞中细胞活性氧增加,表明诱导了细胞凋亡,凋亡试剂盒进一步定量证明了细胞凋亡增加,而在过表达PRMT1表达后,这些作用被抑制。此外,研究PRMT1影响CNE-2细胞凋亡的机制,检测凋亡相关蛋白Cleaved caspase-3与Cleaved caspase-8的表达水平,结果表明,PRMT1导致CNE-2细胞中Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-8的表达

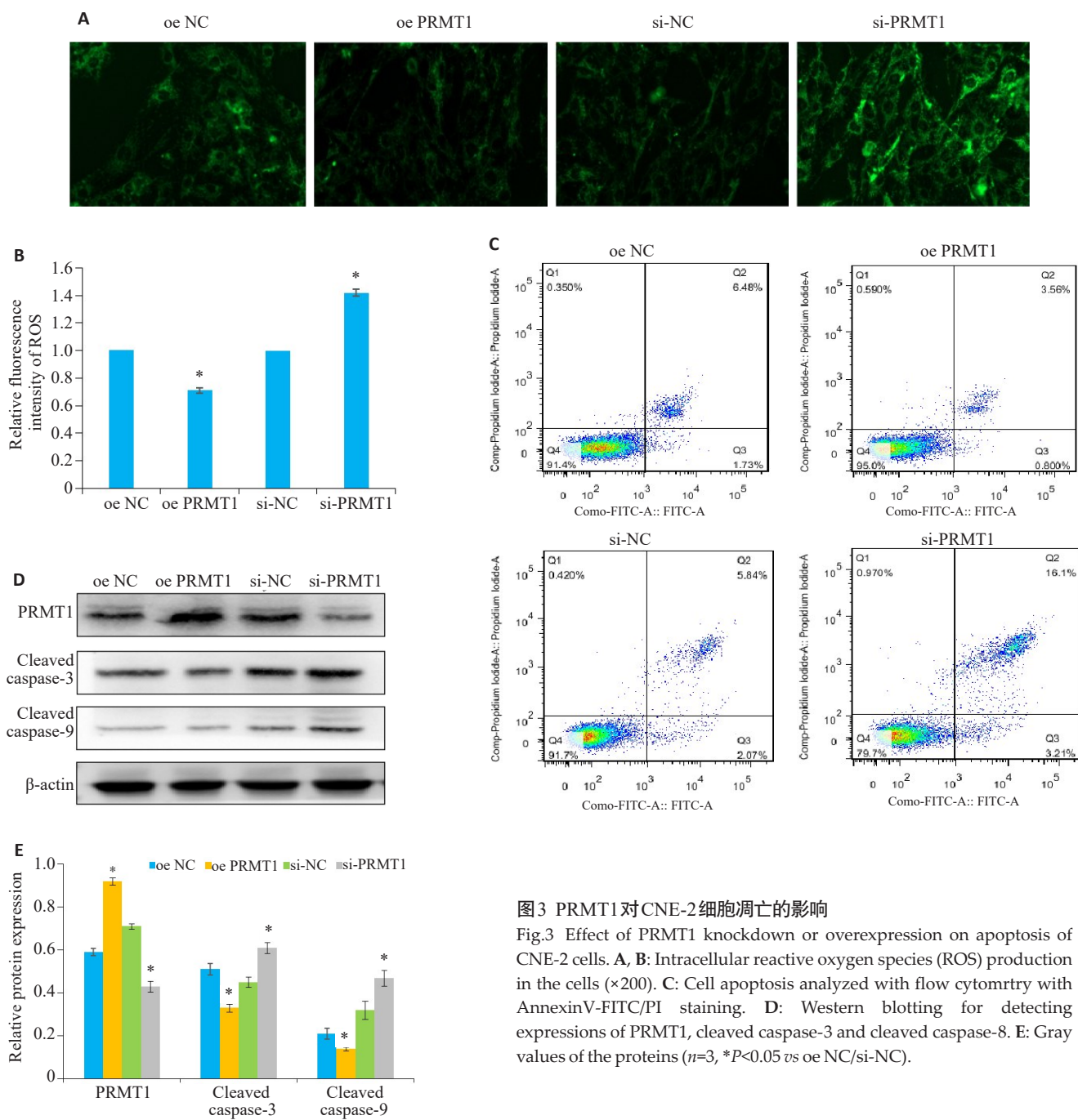


图3 PRMT1对CNE-2细胞凋亡的影响

Fig.3 Effect of PRMT1 knockdown or overexpression on apoptosis of CNE-2 cells. **A, B:** Intracellular reactive oxygen species (ROS) production in the cells (×200). **C:** Cell apoptosis analyzed with flow cytometry with AnnexinV-FITC/PI staining. **D:** Western blotting for detecting expressions of PRMT1, cleaved caspase-3 and cleaved caspase-8. **E:** Gray values of the proteins ($n=3$, $*P<0.05$ vs oe NC/si-NC).

显著降低,而敲低 PRMT1 后 CNE-2 细胞中 Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-8 的表达显著增加,这些数据表明,PRMT1 能够抑制 CNE-2 细胞凋亡,凋亡机制可能与 Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-8 相关。

核糖核苷酸还原酶 M2 亚基(RRM2)调节核糖核苷酸还原酶的酶活性,并且在癌症研究中受到了极大的关注,因其在多种癌症类型中表达失调^[27],研究中发现 RRM2 在鼻咽癌细胞系和组织样本中的表达高于非癌性鼻咽上皮细胞系和非癌性组织。最近的文献表明,具有高 RRM2 的癌症患者通常会在多种癌症中出现不良预后和抑制癌细胞凋亡作用,例如视网膜母细胞瘤、宫

颈癌、乳腺癌和食管癌,表明 RRM2 的表达与癌细胞凋亡有重要作用^[28-31]。PRMT1 作为鼻咽癌的促癌基因能够抑制 CNE-2 细胞凋亡,通过 Western blot 证明了 PRMT1 能够促进 RRM2 表达,因此,本研究检测了 RRM2 对鼻咽癌细胞凋亡的影响。研究结果同样证实了 RRM2 能够促进 CNE-2 细胞凋亡,当过表达 RRM2 表达, Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-8 蛋白相对表达减少, CNE-2 细胞凋亡率减少;下调 RRM2 表达, Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-8 蛋白相对表达增加, CNE-2 细胞的凋亡率增加。

为了研究 PRMT1 促进鼻咽癌凋亡是否与 RRM2

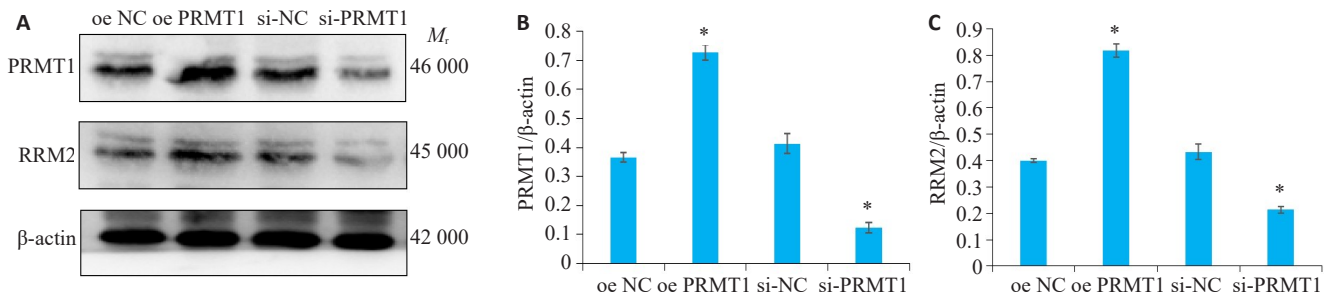


图4 PRMT1与RRM2的表达关系

Fig.4 Relationship between PRMT1 and RRM2 expression. **A:** Western blotting for detection of expressions of PRMT1 and RRM2 proteins in CNE-2 cells after PRMT1 knockdown. **B, C:** Gray value of PRMT1 and RRM2 protein bands ($n=3$, $*P<0.05$ vs oe NC/si-NC).

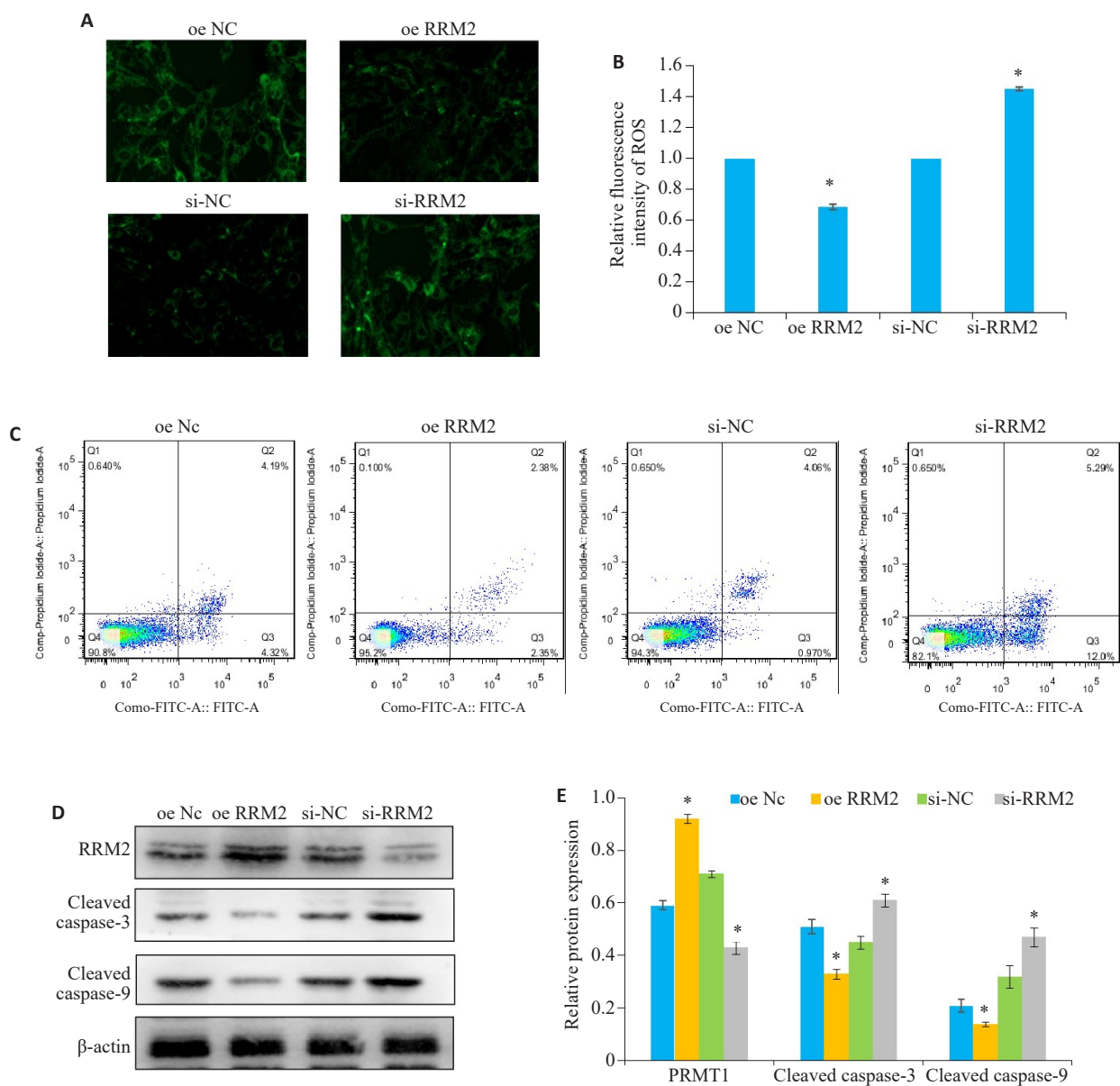


图5 RRM2对CNE-2细胞凋亡的影响

Fig.5 Effect of RRM2 after down-regulation of PRMT1 on apoptosis of CNE-2 cells. **A, B:** Intracellular ROS production in the cells ($\times 200$). **C:** Cell apoptosis detected by flow cytometry with AnnexinV-FITC/PI staining. **D:** Western blotting for detecting relative expressions of RRM2, cleaved caspase-3 and cleaved caspase-8. **E:** Protein gray values ($n=3$, $*P<0.05$ vs oe NC/si-NC).

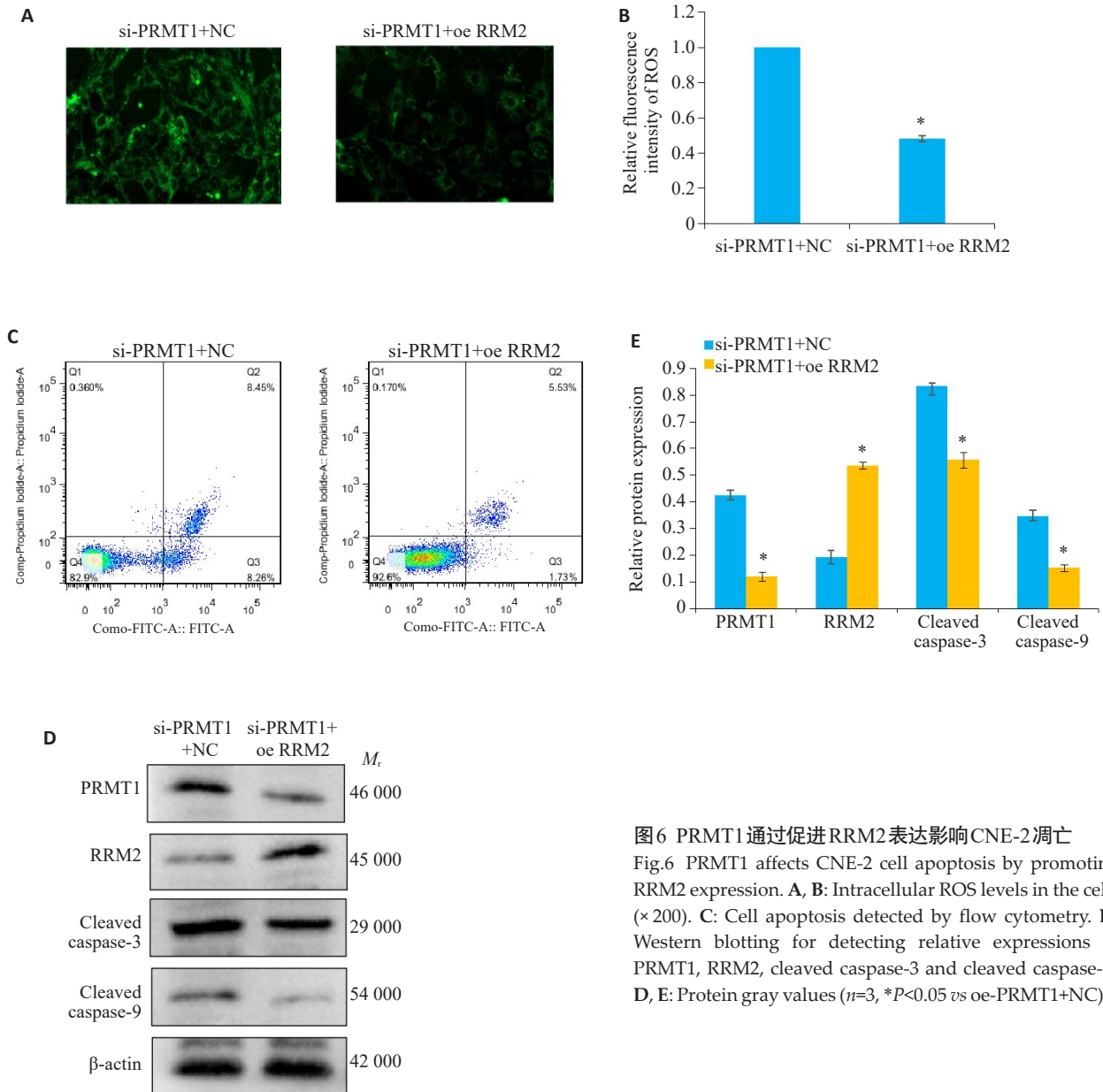


图6 PRMT1通过促进RRM2表达影响CNE-2凋亡

Fig.6 PRMT1 affects CNE-2 cell apoptosis by promoting RRM2 expression. **A, B:** Intracellular ROS levels in the cells ($\times 200$). **C:** Cell apoptosis detected by flow cytometry. **D:** Western blotting for detecting relative expressions of PRMT1, RRM2, cleaved caspase-3 and cleaved caspase-8. **D, E:** Protein gray values ($n=3$, $*P<0.05$ vs oe-PRMT1+NC)

有关,当下调PRMT1后同时过表达RRM2,CNE-2细胞活性氧与凋亡率较单独下调PRMT1降低,同时Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-8蛋白表达显著减少,表明过表达RRM2能够逆转下调PRMT1对CNE-2的凋亡的促进作用。

综上所述,PRMT1与RRM2在CNE-2细胞中均高表达,PRMT1通过促进RRM2的表达来抑制CNE-2细胞凋亡。本研究有助于探究PRMT1在鼻咽癌中的作用机制,并可能为改善鼻咽癌的临床治疗提供实验依据。

参考文献:

[1] Li W, Chen J, Liang B, et al. Long-term monitoring of dynamic changes in plasma EBV DNA for improved prognosis prediction of nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Med, 2021, 10(3): 883-94.
 [2] Simon J, Schroeder L, Ingarfield K, et al. Epstein-Barr virus and

human papillomavirus serum antibodies define the viral status of nasopharyngeal carcinoma in a low endemic country [J]. Int J Cancer, 2020, 147(2): 461-71.
 [3] Zuo XY, Feng QS, Sun J, et al. X-chromosome association study reveals genetic susceptibility loci of nasopharyngeal carcinoma[J]. Biol Sex Differ, 2019, 10(1): 13.
 [4] Chen X, Ren L, Qiu G, et al. Long-term recurrence and brain metastasis of nasopharyngeal carcinoma mimicking cystic radiation encephalopathy relapse: a case report [J]. BMC Neurol, 2021, 21(1): 59.
 [5] Araoi S, Daitoku H, Yokoyama A, et al. The GATA transcription factor ELT-2 modulates both the expression and methyltransferase activity of PRMT-1 in Caenorhabditis elegans[J]. J Biochem, 2018, 163(5): 433-40.
 [6] Al-Hamashi AA, Diaz K, Huang R. Non-histone arginine methylation by protein arginine methyltransferases [J]. Curr Protein Pept Sci, 2020, 21(7): 699-712.

- [7] Liu LM, Tang Q, Hu X, et al. Arginine methyltransferase PRMT1 regulates p53 activity in breast cancer[J]. *Life*: Basel, 2021, 11(8): 789.
- [8] Li Z, Wang D, Wang W, et al. Macrophages-stimulated PRMT1-mediated EZH2 methylation promotes breast cancer metastasis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 533(4): 679-84.
- [9] Li M, An W, Xu L, et al. The arginine methyltransferase PRMT5 and PRMT1 distinctly regulate the degradation of anti-apoptotic protein CFLARL in human lung cancer cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 64.
- [10] Plotnikov A, Kozer N, Cohen G, et al. PRMT1 inhibition induces differentiation of colon cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 20030.
- [11] Deng X, Von Keudell G, Suzuki T, et al. PRMT1 promotes mitosis of cancer cells through arginine methylation of INCENP [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(34): 35173-82.
- [12] Du SM. The SNHG16/miR-30a axis promotes breast cancer cell proliferation and invasion by regulating RRM2 [J]. *Neoplasma*, 2020, 67(3): 567-75.
- [13] Han P, Lin ZR, Xu LH, et al. Ribonucleotide reductase M2 subunit expression and prognostic value in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 401-9.
- [14] Chen WX, Yang LG, Xu LY, et al. Bioinformatics analysis revealing prognostic significance of RRM2 gene in breast cancer [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(4): BSR20182062.
- [15] Yang Y, Lin J, Guo S, et al. RRM2 protects against ferroptosis and is a tumor biomarker for liver cancer[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20(1): 587.
- [16] Ma J, Zhang F, Sun P. miR-140-3p impedes the proliferation of human cervical cancer cells by targeting RRM2 to induce cell-cycle arrest and early apoptosis [J]. *Bioorg Med Chem*, 2020, 28(3): 115283.
- [17] Han J, Hu J, Sun F, et al. microRNA-20a-5p suppresses tumor angiogenesis of non-small cell lung cancer through RRM2-mediated PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(2): 689-98.
- [18] Zhong Z, Cao Y, Yang S, et al. Overexpression of RRM2 in gastric cancer cell promotes their invasiveness via AKT/NF- κ B signaling pathway[J]. *Pharmazie*, 2016, 71(5): 280-4.
- [19] Lin Z, Chen Y, Lin Z, et al. Overexpressing PRMT1 inhibits proliferation and invasion in pancreatic cancer by inverse correlation of ZEB1[J]. *IUBMB Life*, 2018, 70(10): 1032-9.
- [20] Altan B, Yokobori T, Ide M, et al. Nuclear PRMT1 expression is associated with poor prognosis and chemosensitivity in gastric cancer patients[J]. *Gastric Cancer*, 2016, 19(3): 789-97.
- [21] Tikhanovich I, Zhao J, Olson J, et al. Protein arginine methyltransferase 1 modulates innate immune responses through regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ -dependent macrophage differentiation [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(17): 6882-94.
- [22] Jiang L, Liao J, Liu J, et al. Geranylgeranylacetone promotes human osteosarcoma cell apoptosis by inducing the degradation of PRMT1 through the E3 ubiquitin ligase CHIP [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(16): 7961-72.
- [23] Hua ZY, Hansen JN, He M, et al. PRMT1 promotes neuroblastoma cell survival through ATF5. *Oncogenesis*. 2020, 9(5): 50.
- [24] Ryu TY, Kim K, Son MY, et al. Downregulation of PRMT1, a histone arginine methyltransferase, by sodium propionate induces cell apoptosis in colon cancer[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(3): 1691-9.
- [25] Repenning A, Happel D, Bouchard C, et al. PRMT1 promotes the tumor suppressor function of p14ARF and is indicative for pancreatic cancer prognosis[J]. *EMBO J*, 2021, 40(13): e106777.
- [26] Shimomura M, Fukuda T, Awazu Y, et al. PRMT1 expression predicts response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced uterine cervical cancer[J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(2): 150.
- [27] Chen CW, Li YM, Hu SY, et al. DHS (trans-4, 4'-dihydroxystilbene) suppresses DNA replication and tumor growth by inhibiting RRM2 (ribonucleotide reductase regulatory subunit M2) [J]. *Oncogene*, 2019, 38(13): 2364-79.
- [28] Fu K, Zhang K, Zhang X. LncRNA HOTAIR facilitates proliferation and represses apoptosis of retinoblastoma cells through the miR-20b-5p/RRM2/PI3K/AKT axis[J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2022, 17(1): 119.
- [29] Wang S, Wang XL, Wu ZZ, et al. Overexpression of RRM2 is related to poor prognosis in oral squamous cell carcinoma [J]. *Oral Dis*, 2021, 27(2): 204-14.
- [30] Liang WH, Li N, Yuan ZQ, et al. DSCAM-AS1 promotes tumor growth of breast cancer by reducing miR-204-5p and up-regulating RRM2[J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58(4): 461-73.
- [31] Tang Q, Wu L, Xu M, et al. Osalmid, a Novel Identified RRM2 Inhibitor, Enhances Radiosensitivity of Esophageal Cancer[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2020, 108(5): 1368-79.

(编辑:余诗诗)