

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.02.005

· 基础研究 ·

SNORA71A通过TLR3/PD-L1通路调控食管鳞状细胞癌TE-1细胞的恶性生物学行为

沈素朋^a, 梁佳^a, 曹诗茹^a, 赵彦^b, 董稚明^a, 刘磊^c (河北医科大学第四医院 a. 生物标本库, b. 放射治疗科, c. 胸外科, 河北 石家庄 050000)

[摘要] **目的:**探讨核仁小RNA(snoRNA)71A通过TLR3/PD-L1通路对食管鳞状细胞癌(ESCC)细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响。**方法:**qPCR检测52例ESCC患者的配对肿瘤组织、癌旁组织,以及人ESCC细胞中SNORA71A的表达情况。将反义寡核苷酸(SNORA71A-ASO-29、SNORA71A-ASO-102和NC-ASO)或小干扰RNA(siTLR3、siTLR3-NC)分别转染至人ESCC TE-1细胞,分别记为SNORA71A-ASO1组、SNORA71A-ASO2组、NC-ASO组及siTLR3组、siNC组。另外将过表达质粒pcDNA3.1-SNORA71A和pcDNA3.1空载体质粒分别转染至TE-1细胞,分别记为SNORA71A组和Vector组。细胞功能学实验(MTS实验、划痕愈合实验,以及Transwell侵袭实验)评估各组细胞在敲低或过表达SNORA71A后增殖、迁移和侵袭能力的变化。高通量转录组测序筛选SNORA71A下游作用靶基因,基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)功能富集分析预测SNORA71A下游作用靶基因可能参与的生物学过程和信号通路。qPCR检测测序筛选出的下游作用靶基因TLR3在ESCC组织以及细胞中的表达。同时,qPCR和WB检测TE-1细胞在敲低或过表达TLR3后PD-L1 mRNA和蛋白质表达变化。细胞功能学实验检测TLR3敲低对SNORA71A所促进的TE-1细胞恶性生物学行为(增殖、迁移、侵袭)的影响。**结果:**在52例ESCC患者的肿瘤组织以及ESCC细胞中SNORA71A表达均呈高水平($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。敲低SNORA71A抑制TE-1细胞增殖、迁移和侵袭($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),过表达SNORA71A则促进TE-1细胞增殖、迁移和侵袭($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。高通量转录组测序筛选到TLR3为SNORA71A下游作用靶基因。TLR3在ESCC组织以及TE-1细胞中呈低表达($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。TLR3正向调控PD-L1 mRNA和蛋白质表达($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。细胞功能学实验中,TLR3可以部分削弱SNORA71A对PD-L1表达的调控($P < 0.01$)。**结论:**SNORA71A通过调控TLR3/PD-L1通路调节TE-1细胞增殖、迁移和侵袭。

[关键词] 食管鳞状细胞癌;核仁小RNA;PD-L1;TLR3基因

[中图分类号] R735.1;R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2026)02-0147-08

SNORA71A regulates the malignant biological behaviors of esophageal squamous cell carcinoma TE-1 cells via the TLR3/PD-L1 expression

SHEN Supeng^a, LIANG Jia^a, CAO Shiru^a, ZHAO Yan^b, DONG Zhiming^a, LIU Lei^c (a. Biological Specimen Bank; b. Department of Radiation Oncology; c. Department of Thoracic Surgery, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of small nucleolar RNA SNORA71A on the proliferation, migration, and invasion of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) cells via TLR3/PD-L1 expression. **Methods:** qPCR was used to detect SNORA71A expression in tumor tissues, adjacent non-tumor tissues from 52 ESCC patients and human ESCC cell lines. Human ESCC TE-1 cells were transfected with antisense oligonucleotides (SNORA71A-ASO-29, SNORA71A-ASO-102, NC-ASO) or small interfering RNAs (siTLR3, siTLR3-NC), designated as SNORA71A-ASO1 group, SNORA71A-ASO2 group, NC-ASO group, and siTLR3 group, respectively. Additionally, the overexpression plasmid pcDNA3.1SNORA71A and the empty vector pcDNA3.1 were transfected into TE-1 cells, referred to as the SNORA71A group and Vector group, respectively. Cell proliferation, migration, and invasion capabilities after SNORA71A knockdown or overexpression were evaluated using cell functional assays, namely MTS, scratch wound-healing, and Transwell invasion assays. High-throughput transcriptome sequencing was performed to identify downstream target genes of SNORA71A, and Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) functional enrichment analyses were employed to predict associated biological processes and signaling pathways. qPCR was used to detect the expression of the downstream target gene TLR3 in ESCC tissues and cells. Additionally, the mRNA and protein expression levels of PD-L1 in TE-1 cells after TLR3

[基金项目] 河北省自然科学基金项目(H2022206326)

[作者简介] 沈素朋,副研究员

[通信作者] 刘磊(扫码获取作者通信方式)



knockdown or overexpression were measured using qPCR and WB. Cell functional assays were performed to examine the impact of TLR3 knockdown on the malignant biological behaviors (proliferation, migration, and invasion) of TE-1 cells promoted by SNORA71A. **Results:** SNORA71A expression was significantly upregulated in tumor tissues from 52 ESCC patients and in ESCC cell lines ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Knockdown of SNORA71A inhibited TE-1 cell proliferation, migration, and invasion ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), whereas SNORA71A overexpression promoted these malignant behaviors ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). High-throughput transcriptome sequencing identified TLR3 as a downstream target gene of SNORA71A. TLR3 expression was significantly downregulated in ESCC tissues and TE-1 cells ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). In addition, TLR3 positively regulated the mRNA and protein expression of PD-L1 ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). In the cell functional assays, TLR3 partially attenuated the regulatory effect of SNORA71A on PD-L1 expression ($P < 0.01$).

Conclusion: SNORA71A regulates the proliferation, migration and invasion of TE-1 cells by modulating the TLR3/PD-L1 pathway.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma (ESCC); small nucleolar RNA (snoRNA); PD-L1; TLR3

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(2): 147-154. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.02.005]

食管癌是全球第七大常见恶性肿瘤, 2022年新发病例 50 多万, 病亡例数 40 多万^[1]。食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是中国食管癌主要的病理类型。ESCC 在中国发病率较高, 具有显著的地域性^[2]。尽管综合治疗改善了 ESCC 患者的预后, 但 5 年生存率仍然较低^[3]。因此, 为提高 ESCC 患者生存率, 寻找 ESCC 新的生物标志物和治疗靶点至关重要。

核仁小 RNA (small nucleolar RNA, snoRNA) 是一类保守的非编码 RNA, 长度为 60~300 个核苷酸, 主要来源于宿主基因的内含子。根据其结构元件, snoRNA 分为 C/D 盒 snoRNA 和 H/ACA 盒 snoRNA, 它们分别与进化上保守的核糖核蛋白相互作用, 通过 2'-O-甲基化和假尿苷化来调控核糖体 RNA 的加工, 从而调节核糖体亚基的成熟和翻译^[4]。多项研究^[5-7]表明, snoRNA 在多种肿瘤中表达异常, 并通过多种机制参与肿瘤的发生发展。例如, 在非小细胞肺癌中, SNORA38B 通过与 E2F1 结合调节 GAB2/AKT/mTOR 通路, 降低患者对肿瘤免疫治疗的敏感性^[8]。在结直肠癌中, SNORD12C/78 促进原癌基因翻译, 参与肿瘤发生^[9]。通过抑制脂质过氧化作用来抑制铁死亡, 促进肿瘤增殖^[10]。

SNORA71A 由长链非编码 RNA SNHG17 第 3 个内含子区域加工成熟, 主要调控 18S rRNA 的假尿苷化修饰^[11]。目前关于 SNORA71A 在 ESCC 中的功能和作用尚无报道。本研究检测 ESCC 组织以及人 ESCC 细胞中 SNORA71A 表达情况, 并通过体外实验检测 SNORA71A 通过 TLR3/PD-L1 通路对 ESCC 细胞增殖、迁移和侵袭能力的调控。由于 snoRNA 在体液中稳定存在^[12], 本研究结果将为评估 SNORA71A 作为 ESCC 潜在非侵入性生物标志物的价值提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 ESCC 组织、细胞及主要试剂

收集 2018 年 5 月至 2021 年 12 月期间在河北医科大学第四医院行手术切除的 52 例 ESCC 患者肿瘤组织和相应的癌旁组织(肿瘤病变远端至少 5 cm)。患者术前均未接受治疗。本研究方案获得河北医科大学第四医院伦理委员会批准(批准号:2022KY257), 所有患者或家属均签署知情同意书。

人 ESCC 细胞(TE-1、Eca-109、Kyse-150、Kyse-170 和 Yes-2)保藏于河北医科大学第四医院生物样本库。人正常食管鳞状上皮细胞 Het-1A 购自上海亿泽丰科技有限公司。

RPMI 1640 培养基及胰蛋白酶均购自美国 Gibco 公司, FBS 购自美国 BI 公司, 逆转录试剂盒购自瑞士 Roche 公司, TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司, 基质胶购自美国 Corning 公司, qPCR 定量试剂盒 SYBR qPCR Master Mix 购自美国 Life Technologies 公司, 转染试剂 HighGene Transfection Reagent 购自爱博泰克生物科技有限公司, SNORA71A-ASO-29(SNORA71A-1)、SNORA71A-ASO-102(SNORA71A-2)、NC-ASO、siTLR3、siTLR3-NC 均由苏州吉玛基因有限公司合成, pcDNA3.1-SNORA71A 由上海生工工程有限公司合成, 兔抗人 TLR3、山羊抗兔二抗或山羊抗鼠二抗购自成都正能有限公司, 鼠抗人 PD-L1(CD274) 抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司。酶标仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。转录组测序(Illumina NovaSeq 测序平台)、基因本体论(Gene Ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析由上海联川生物有限公司完成。

1.2 细胞培养、转染与分组

人 ESCC 细胞均常规培养在含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基中, 置于含有 5% CO₂ 的 37 °C 恒温培养箱中培养。按照转染试剂说明书将反义寡核苷酸序列(SNORA71A-ASO-29、SNORA71A-ASO-102、NC-ASO)或小干扰 RNA (siTLR3、siTLR3-NC) 分别转染至 TE-1 细胞, 分别记为 SNORA71A-ASO1

组、SNORA71A-ASO2 组、siTLR3 组和 siNC 组; 过表达质粒 pcDNA3.1-SNORA71A 和对照组 pcDNA3.1 空载体质粒转染至 TE-1 细胞, 分别记为 SNORA71A 组和 Vector 组。同时转染 SNORA71A-ASO1 和 siTLR3 至 TE-1 细胞, 记为 SNORA71A-ASO + siTLR3 组。

1.3 qPCR 检测 ESCC 组织、癌旁组织及人 ESCC 细胞中 SNORA71A 及 TLR3、PD-L1 mRNA 的表达情况

按照 TRIzol 试剂说明书从组织和细胞系中提取总 RNA。依照 Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit 说明书将 1 μ g 总 RNA 逆转录成 cDNA。采用 SYBR qPCR Master Mix 进行 qPCR 检测。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。引物序列: SNORA71A 正向引物为 5'-CCGAAAGTGATCATA GGCTGC-3', 反向引物为 5'-TTCGGATGGGAT AGGGTGGA-3'; TLR3 正向引物为 5'-AGTGCCGTC TATTTGCCACACA-3', 反向引物为 5'-AACAGTGCA CTTGGTGGTGGAG-3'; PD-L1 正向引物为 5'-GGC ATTTGCTGAACGCATTT-3', 反向引物为 5'-TGC AGCCAGGTCTAATTGTTTT-3'。以 GAPDH 或者 U6 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法对基因表达进行定量检测。

1.4 MTS 实验检测 SNORA71A 敲低/过表达对 TE-1 细胞增殖能力的影响

将各组细胞转染后培养 24 h, 以 1×10^3 个/孔接种到 96 孔板中, 每孔加入 100 μ L 含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基常规培养。分别在培养 0、24、48、72、96 h 时在相对应孔中加入 20 μ L CellTiter 96[®] Aqueous One Solution Reagent, 继续培养 4 h, 用酶标仪在 490 nm 处检测各孔的光密度 (*D*) 值。

1.5 划痕愈合实验检测 SNORA71A 敲低/过表达对 TE-1 细胞迁移能力的影响

将各组细胞转染后培养 24 h, 以 5×10^5 个/孔接种到 6 孔板中。培养过夜后, 用 200 μ L 移液管尖端划痕, 在无血清培养基中培养细胞 24 h。测量细胞迁移到划痕区域的相对距离, 并计算相对迁移率。相对迁移率 = [(初始划痕宽度 - 终末宽度)/初始宽度] \times 100%。

1.6 Transwell 侵袭实验检测 SNORA71A 敲低/过表达对 TE-1 细胞侵袭能力的影响

将各组细胞转染后培养 24 h, 细胞以 1×10^5 个/孔的密度接种在含有 Matrigel 的上室中, 随后在上室加入无血清 RPMI 1640 培养基 (基质胶: 无血清培养基比例为 1:7) 补齐至 200 μ L, 下室中加入 600 μ L 含 20% FBS 的 RPMI 1640 培养基。培养 24 h 后取出小室, 用无菌棉签轻轻擦去上室的未穿膜细胞, 穿膜细胞经 4% 多聚甲醛固定后用 0.1% 结晶紫染色, 显微镜

下观察、计数穿膜细胞数。

1.7 WB 法检测敲减 TLR3 对 TE-1 细胞中 PD-L1 蛋白表达的影响

用含有磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液裂解细胞提取总蛋白。BCA 法检测总蛋白浓度, 通过 10% SDS-PAGE 分离蛋白, 随后转移到 PVDF 膜上。用 5% 脱脂牛奶封闭后, 将 PVDF 膜与一抗 (兔抗人 TLR3 单抗, 1:1 000 稀释; 鼠抗人 CD274/PD-L1 单抗, 1:1 000 稀释) 4 $^{\circ}$ C 下反应过夜, TBST 缓冲液洗涤后加入 HRP 标记的山羊抗兔二抗或山羊抗鼠二抗 (1:10 000 稀释) 在室温下作用 45 min。使用 ECL 发光试剂曝光, Bio-Rad 化学发光系统成像。采用 Image J 软件对蛋白条带进行分析, 以目的蛋白和内参条带的灰度比值表示目的蛋白的相对表达量。

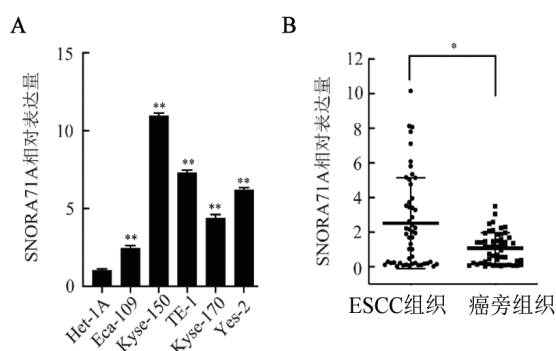
1.8 统计学处理

使用 SPSS 25.0 软件进行数据分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验进行分析, 多组间比较采用单因素方差分析; 不符合正态分布的计量资料, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。Pearson 相关性检测分析两指标间的相关性。所有统计检验均为双侧检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。所有实验均独立重复 3 次。

2 结果

2.1 SNORA71A 在人 ESCC 细胞及 ESCC 组织中呈高表达

qPCR 检测结果 (图 1) 显示, 与正常食管鳞状上皮细胞 Het-1A 相比, SNORA71A 在 ESCC 细胞中均呈高表达 (均 $P < 0.01$), 在后续体外功能实验中选择 SNORA71A 中等表达的 TE-1 细胞为研究对象, 进行 SNORA71A 的过表达和敲低实验。在 52 例 ESCC 患者 ESCC 组织及配对癌旁组织中, SNORA71A 在 ESCC 组织中表达显著高于癌旁组织 ($P < 0.05$)。



A: qPCR 检测 SNORA71A 在人 ESCC 细胞中的表达, 与 Het-1A 细胞相比; B: qPCR 检测 SNORA71A 在 ESCC 组织及癌旁组织中的表达。* $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。

图 1 SNORA71A 在人 ESCC 细胞和 ESCC 组织中的表达

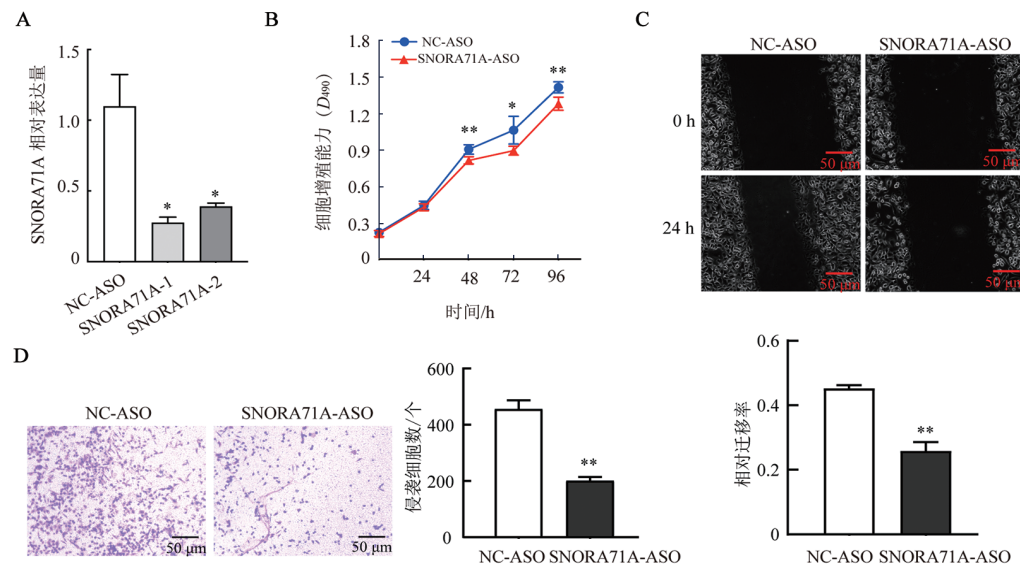
2.2 敲低SNORA71A抑制TE-1细胞的增殖、迁移及侵袭能力

qPCR检测结果(图2A)显示,与NC-ASO组相比,SNORA71A-ASO1和SNORA71A-ASO2组细胞中SNORA71A mRNA表达均显著降低(均 $P < 0.05$),其中SNORA71A-ASO1敲低效率更高,将其用于后续功能实验(后续实验SNORA71A-ASO1均标注为SNORA71A-ASO)。MTS、划痕愈合实验和Transwell小室侵袭实验结果(图2B~D)显示,与NC-ASO组相比,敲低SNORA71A表达后,TE-1细胞的增殖、迁移、侵袭

能力显著减弱($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

2.3 SNORA71A过表达促进TE-1细胞的增殖、迁移和侵袭能力

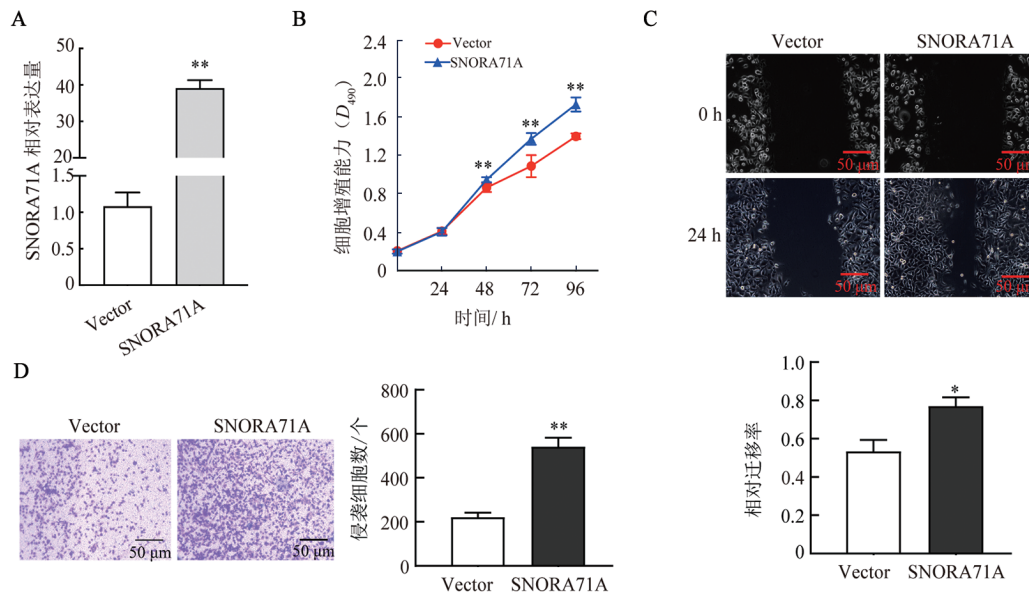
qPCR检测结果(图3A)显示,与Vector组相比,SNORA71A组TE-1细胞中SNORA71A的表达水平显著升高($P < 0.01$)。MTS、划痕愈合实验和Transwell小室侵袭实验结果(图3B~D)显示,与Vector组相比,SNORA71A组TE-1细胞的增殖、迁移、侵袭能力均显著增强($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



A: qPCR检测SNORA71A的敲低效率; B: MTS检测SNORA71A敲低后TE-1细胞的增殖能力; C: 划痕愈合实验检测SNORA71A敲低后TE-1细胞的迁移能力; D: Transwell侵袭实验检测SNORA71A敲低后TE-1细胞的侵袭能力。

与NC-ASO组相比, ** $P < 0.01$ 或* $P < 0.05$ 。

图2 敲低SNORA71A对TE-1细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响



A: qPCR检测SNORA71A过表达效率; B: MTS检测过表达SNORA71A后TE-1细胞的增殖能力; C: 划痕愈合实验检测过表达SNORA71A后TE-1细胞的迁移能力; D: Transwell侵袭实验检测过表达SNORA71A后TE-1细胞的侵袭能力。与Vector组相比,

** $P < 0.01$ 或* $P < 0.05$ 。

图3 过表达SNORA71A对TE-1细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响

2.4 SNORA71A 调控的差异表达基因转录组分析

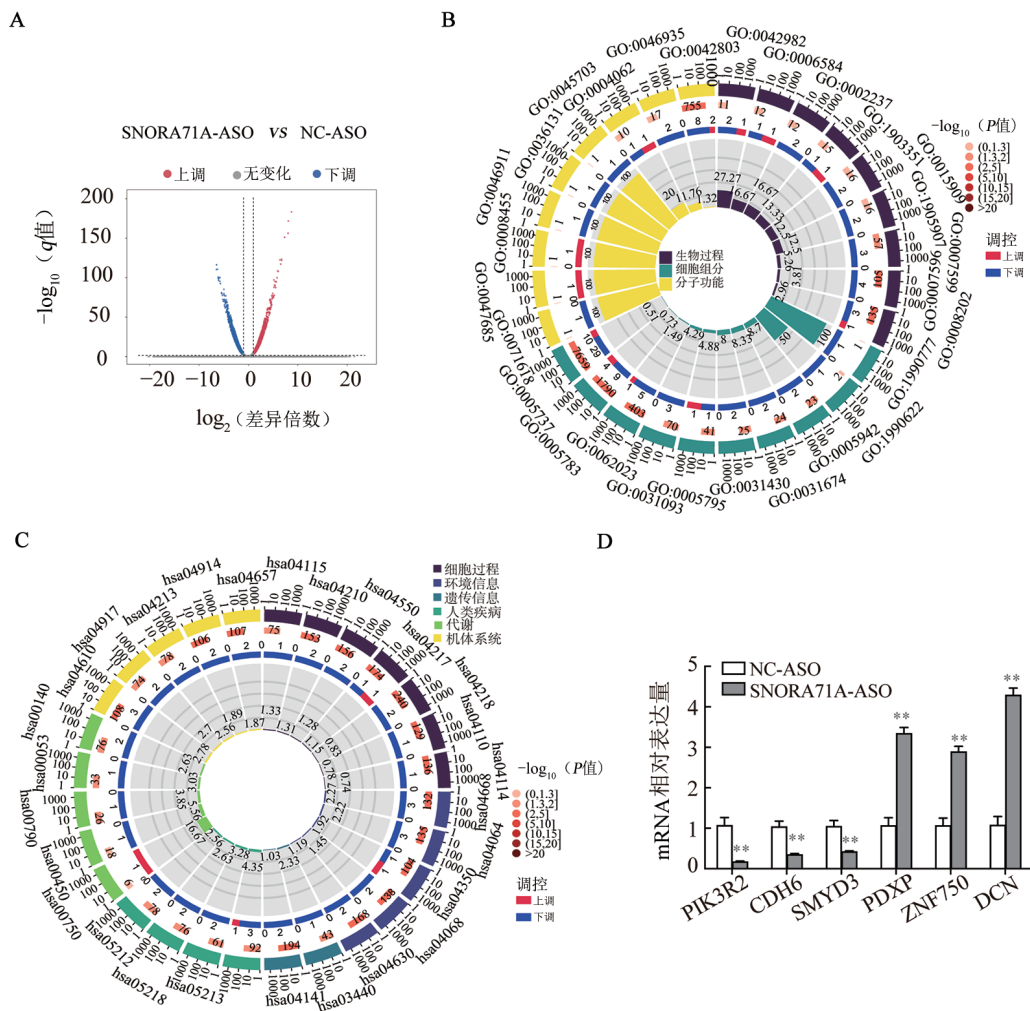
高通量转录组测序结果(图4A)显示,与TE-1细胞样本相比,SNORA71A-ASO组细胞中有3 026个转录本表达下调,2 408个转录本表达上调。同时,进行GO和KEGG功能富集分析,显示差异表达基因可能参与的生物学过程和信号通路(图4B、C)。在差异表达基因中随机选取6个参与肿瘤发生发展的基因,通过qPCR进一步验证测序结果的准确性,结果(图4D)显示,与测序结果一致,SNORA71A-ASO组细胞中磷脂酰肌醇-3-激酶调节亚基2(phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 2, PIK3R2)、钙黏蛋白6(cadherin 6, CDH6)、含有SET和MYND结构域蛋白3(SET and MYND domain containing 3, SMYD3)表达下降,吡哆醛磷酸酶(pyridoxal phosphatase, PDXP)、锌指蛋白750(zinc finger protein 750, ZNF750)、核心蛋

白聚糖(decorin, DCN)表达上调(均 $P < 0.01$)。

2.5 TLR3 正向调控PD-L1 表达

与NC-ASO对照组细胞相比,SNORA71A-ASO组细胞中TLR3表达上调2.58倍。由于TLR3参与恶性肿瘤发生发展,并通过NF- κ B通路调控PD-L1表达^[13],因此选择TLR3基因进一步研究。

qPCR结果(图5A)显示,与正常人食管鳞状上皮细胞相比,TLR3在ESCC细胞中呈低表达(均 $P < 0.01$)。在52例配对癌组织以及癌旁组织中,TLR3在癌组织中表达显著低于癌旁组织($P < 0.05$,图5B)。相关性分析(图5C)显示,SNORA71A与TLR3在ESCC组织中表达具有显著负相关性($r = -0.28, P < 0.05$)。在TE-1细胞中,敲低或过表达TLR3后,可分别导致CD274 mRNA(图5D)及其编码蛋白PD-L1(图5E)的表达下调或上调($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。



A: 敲低SNORA71A后差异表达转录本火山图,横坐标: \log_2 差异倍数;纵坐标: $-\log_{10}$ q值;红色点:上调基因;蓝色点:下调基因;灰色点:无显著差异;两条虚线分别表示差异倍数阈值和显著性阈值;B:GO功能富集分析;C:KEGG通路分析;D:qPCR验证测序下游靶基因表达。与NC-ASO组相比,** $P < 0.01$ 。

图4 SNORA71A 下游作用靶基因测序分析

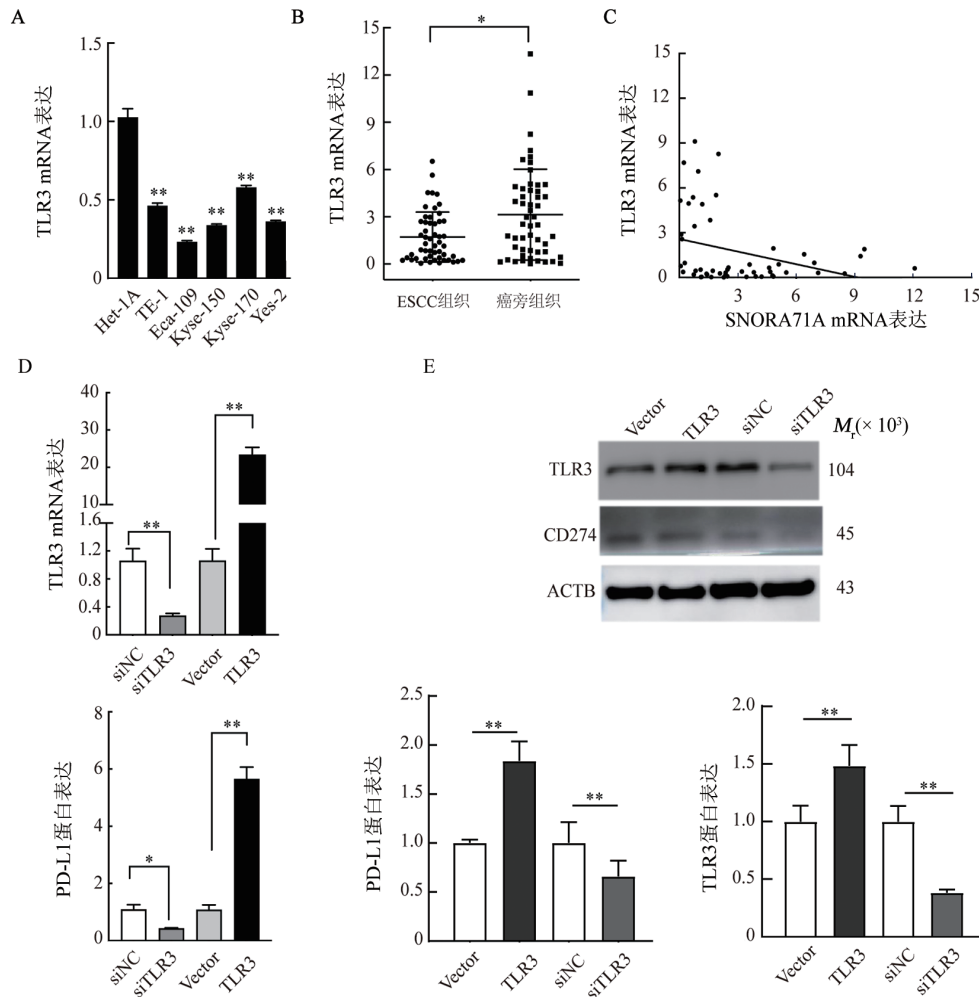
2.6 SNORA71A 通过 TLR3 影响 PD-L1 表达

敲低SNORA71A显著提升了CD274 mRNA及其

编码蛋白PD-L1的表达水平(均 $P < 0.01$,图6A、B);而共转染siTLR3则能够逆转SNORA71A对CD274 mRNA和PD-L1蛋白的这种上调作用($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$,图6D、E)。

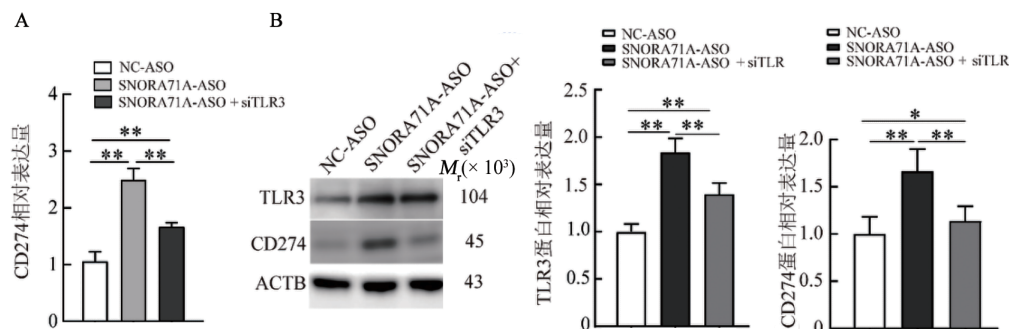
2.7 SNORA71A通过TLR3影响TE-1细胞的恶性生物学行为

单独转染SNORA71A-ASO,敲低TE-1细胞中SNORA71A表达,细胞的增殖、迁移和侵袭能力显著降低。而同时转染SNORA71A-ASO和siTLR3,同时敲低TE-1细胞中SNORA71A和TLR3表达,细胞增殖、迁移和侵袭能力升高(均 $P < 0.01$,图7)。



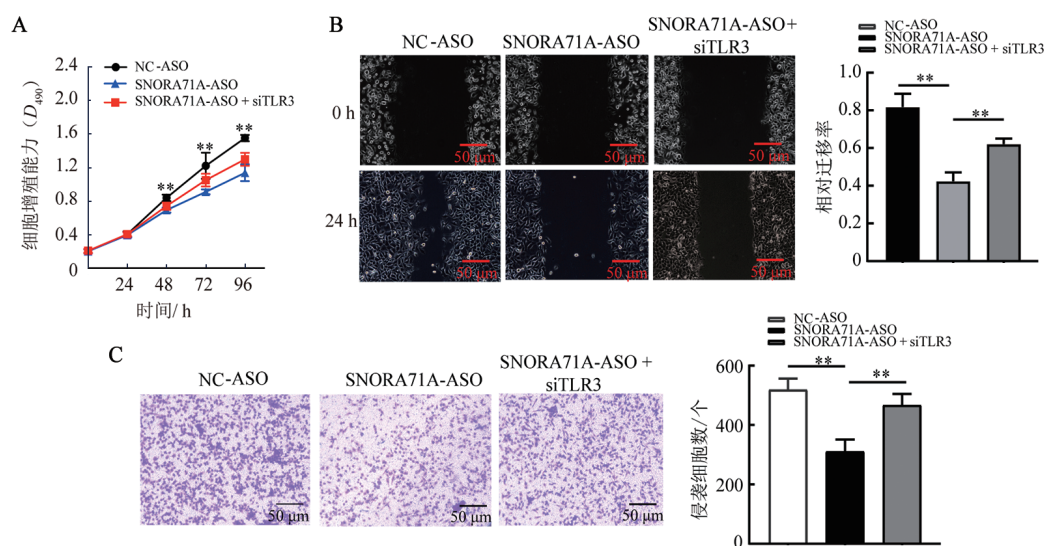
A:qPCR检测TLR3 mRNA在ESCC细胞中的表达,与Het-A细胞相比;B:qPCR检测TLR3 mRNA在ESCC组织中的表达;C:qPCR检测SNORA71A与TLR3 mRNA在ESCC组织中表达的相关性;D: qPCR检测敲低或者过表达TLR3对CD274 mRNA表达的调控;E: WB法检测敲低或者过表达TLR3对PD-L1表达的调控。 $**P < 0.01$ 或 $*P < 0.05$ 。

图5 TLR3调控PD-L1表达



A:qPCR检测共转染SNORA71A-ASO与siTLR3对CD274 mRNA表达的影响;B: WB检测共转染SNORA71A-ASO与siTLR3对PD-L1蛋白表达的影响。 $**P < 0.01$ 或 $*P < 0.05$ 。

图6 SNORA71A通过TLR3影响PD-L1表达



A: MTS 检测 SNORA71A 通过 TLR3 调控 TE-1 细胞的增殖能力, 与 NC-ASO 组相比; B: 划痕愈合实验检测 SNORA71A 通过 TLR3 调控 TE-1 细胞的迁移能力; C: Transwell 侵袭实验检测 SNORA71A 通过 TLR3 调控 TE-1 细胞的侵袭能力。* $P < 0.01$ 。

图7 SNORA71A 和 TLR3 共敲低对 TE-1 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响

3 讨论

近年来的研究证据日益表明, 异常表达的 snoRNA 在人类疾病, 尤其是肿瘤的发生发展中发挥着重要作用。一些 snoRNA 的功能失调可导致肿瘤形成^[4]。本研究前期通过在线数据库分析发现, SNORA71A 在食管癌呈现高表达。文献^[14]报道 SNORA71A 在多种实体肿瘤中呈现高表达, 与肿瘤发生发展存在密切关系: 生物信息学分析发现 SNORA71A 是影响小细胞肺癌预后的独立因素; 在结直肠癌中, SNORA71A 表达情况与 TNM 分期、淋巴结转移显著相关, 并促进结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[15]。进一步分析发现, SNORA71A 结合 mRNA 稳定性调节蛋白 G3BP1, 稳定 ROCK2 表达进而促进乳腺癌转移^[16]。在非小细胞肺癌中, SNORA71A 高表达与患者不良预后相关, SNORA71A 通过调控 MAPK/ERK 信号通路中 MEK 和 ERK1/2 的磷酸化发挥促癌作用^[17]。SNORA71A 通过 AKT/NRF2/GPX4 信号通路抑制铁死亡, 从而增强胆囊癌细胞对吉西他滨的耐药性^[18]。目前, SNORA71A 在 ESCC 中的表达以及作用机制尚少见报道, 本研究发现 SNORA71A 在 ESCC 组织中呈高表达。通过细胞实验证实 SNORA71A 可促进 TE-1 细胞增殖、迁移和侵袭。同时, 本研究对 SNORA71A 在 ESCC 中的作用机制进行了初步的探索, 通过高通量转录组测序寻找作用靶基因, 发现 SNORA71A 通过调控 TLR3 通路发挥促癌作用。

TLR3 是固有免疫和适应性免疫的重要组成部分, 识别具有 RNA 病毒分子特征的病毒双链 RNA。

当 TLR3 被激活时, 可以启动一系列信号转导通路, 包括髓系分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MYD88) 衔接蛋白依赖性通路和 MYD88 非依赖性通路, 最终分泌促炎细胞因子和趋化因子, 启动对感染的固有免疫反应和对恶性细胞的炎症、适应性免疫反应免疫。近年来研究^[19]发现, TLR3 在多种肿瘤组织中异常表达, 并与肿瘤患者的治疗和预后密切相关, 如在胃癌、前列腺癌、乳腺癌中 TLR3 低表达的患者预后良好。相比之下, 肝细胞癌和神经母细胞瘤中 TLR3 低表达的患者预后较差, 说明 TLR3 在肿瘤类型中具有双重作用。在 ESCC 中, TLR3 高表达较低表达患者预后更好, 存在更多免疫活性细胞浸润和凋亡途径的激活^[20]。本研究结果与上述文献报道一致, TLR3 在 ESCC 组织和细胞中呈低表达。在本研究中, 通过高通量转录组测序发现, 敲低 SNORA71A 后, TLR3 表达升高, 与 SNORA71A 表达呈现负相关性, 通过 qPCR 也进一步验证了敲低或过表达 SNORA71A 后, TLR3 表达也相应上调或下调, 因此我们认为 TLR3 是 SNORA71A 下游作用靶基因。

PD-1/PD-L1 信号通路参与肿瘤细胞免疫逃逸, 目前针对 PD-1/PD-L1 的免疫检查点抑制剂在临床中广泛应用, 显著改善了患者总体生存情况。近期研究表明, 肿瘤 PD-L1 表达水平是评估应用 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂临床反应的决定因素和常用生物标志物^[21]。因此, 了解肿瘤 PD-L1 调控的分子机制至关重要, 这对提高临床效果具有重要意义。既往研究表明, PD-L1 水平可以在转录水平和翻译后水平上受到调节, TLR3 通过 NF- κ B 信号通路转录激活 PD-L1 表达^[13]。本研究发现, ESCC 细胞中 TLR3 可以调控

PD-L1 mRNA 和蛋白质表达。回复实验证实 SNORA71A 通过 TLR3 调节 PD-L1 表达, 并且干扰 TLR3 表达可以部分逆转 SNORA71A 对 ESCC 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响。因此, 推测 SNORA71A/TLR3/PD-L1 轴可能在肿瘤免疫微环境中形成级联调控途径, 靶向抑制 SNORA71A 增加内源性 TLR3 表达, 增强肿瘤对免疫治疗的敏感性, 特别是与 PD-1/PD-L1 抑制剂联用时可能效果更显著。

综上, 本研究明确了在 ESCC 中 SNORA71A 通过 TLR3 调控 PD-L1 的表达, 参与 ESCC 细胞恶性生物学行为。后期研究中还应在动物模型中进一步验证联合靶向 SNORA71A 的反义寡核苷酸是否增强肿瘤对 TLR3 激动剂的敏感性及联合免疫治疗的疗效, 深入探讨 TLR3 激动剂联合 PD-1/PD-L1 阻断的治疗策略在 SNORA71A 高表达的 ESCC 的免疫应答情况。

[参考文献]

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263. DOI: 10.3322/caac.21834.
- [2] YANG J Y, LEI X Y, HE K Y, et al. HMGA1 drives chemoresistance in esophageal squamous cell carcinoma by suppressing ferroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(2): 158. DOI: 10.1038/s41419-024-06467-2.
- [3] WATERS J K, REZNIK S I. Update on management of squamous cell esophageal cancer[J]. *Curr Oncol Rep*, 2022, 24(3): 375-385. DOI: 10.1007/s11912-021-01153-4.
- [4] WILLIAMS G T, FARZANEH F. Are snoRNAs and snoRNA host genes new players in cancer?[J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(2): 84-88. DOI: 10.1038/nrc3195.
- [5] WANG K Y, WANG S W, ZHANG Y, et al. SNORD88C guided 2'-O-methylation of 28S rRNA regulates SCD1 translation to inhibit autophagy and promote growth and metastasis in non-small cell lung cancer[J]. *Cell Death Differ*, 2023, 30(2): 341-355. DOI: 10.1038/s41418-022-01087-9.
- [6] ZHU J B, MAO S W, ZHEN N, et al. SNORA14A inhibits hepatoblastoma cell proliferation by regulating SDHB-mediated succinate metabolism[J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 36. DOI: 10.1038/s41420-023-01325-0.
- [7] LIU Z Y, PANG Y N, JIA Y, et al. SNORA23 inhibits HCC tumorigenesis by impairing the 2'-O-ribose methylation level of 28S rRNA[J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 19(1): 104-119. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0343.
- [8] ZHUO Y, LI S J, HU W, et al. Targeting SNORA38B attenuates tumorigenesis and sensitizes immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer by remodeling the tumor microenvironment *via* regulation of GAB2/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(5): e004113 DOI: 10.1136/jitc-2021-004113.
- [9] WU H Z, QIN W Y, LU S X, et al. Long noncoding RNA ZFAS1 promoting small nucleolar RNA-mediated 2'-O-methylation *via* NOP58 recruitment in colorectal cancer[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 9. DOI: 10.1186/s12943-020-01201-w.
- [10] XU C, BIAN Z X, WANG X Y, et al. SNORA56-mediated pseudouridylation of 28 S rRNA inhibits ferroptosis and promotes colorectal cancer proliferation by enhancing GCLC translation[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 331. DOI: 10.1186/s13046-023-02906-8.
- [11] HU T, LU C, XIA Y, WU L, et al. Small nucleolar RNA SNORA71A promotes epithelial-mesenchymal transition by maintaining ROCK2 mRNA stability in breast cancer[J]. *Mol Oncol*, 2022, 16(9):1947-1965. DOI: 10.1002/1878-0261.13186.
- [12] LIAO J P, YU L, MEI Y P, et al. Small nucleolar RNA signatures as biomarkers for non-small-cell lung cancer[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 198. DOI: 10.1186/1476-4598-9-198.
- [13] LI A, LUO M, LIU X Y, et al. Toll-like receptor 3 activation enhances antitumor immune response in lung adenocarcinoma through NF- κ B signaling pathway[J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1585747 DOI: 10.3389/fimmu.2025.1585747.
- [14] FENG S C, ZHANG X X, GU X Y, et al. Identification of six novel prognostic gene signatures as potential biomarkers in small cell lung cancer[J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2023, 26(5): 938-949. DOI: 10.2174/1386207325666220427121619.
- [15] ZHANG Z X, TAO Y X, HUA Q L, et al. SNORA71A promotes colorectal cancer cell proliferation, migration, and invasion[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 8284576. DOI: 10.1155/2020/8284576.
- [16] HU T, LU C, XIA Y, et al. Small nucleolar RNA SNORA71A promotes epithelial-mesenchymal transition by maintaining ROCK2 mRNA stability in breast cancer[J]. *Mol Oncol*, 2022, 16(9): 1947-1965. DOI: 10.1002/1878-0261.13186.
- [17] TANG G L, ZENG Z H, SUN W J, et al. Small nucleolar RNA 71A promotes lung cancer cell proliferation, migration and invasion *via* MAPK/ERK pathway[J]. *J Cancer*, 2019, 10(10): 2261-2275. DOI: 10.7150/jca.31077.
- [18] QIN Y Y, ZHOU Y, WU H Y, et al. SNORA71A downregulation enhances gemcitabine sensitivity in gallbladder cancer cells by inducing ferroptosis through inhibiting the AKT/NRF2/GPX4 pathway[J]. *DNA Cell Biol*, 2024, 43(11): 559-569. DOI: 10.1089/dna.2024.0107.
- [19] MURESAN X M, BOUCHAL J, CULIG Z, et al. Toll-like receptor 3 in solid cancer and therapy resistance[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(11): 3227 DOI: 10.3390/cancers12113227.
- [20] SU R B, CAI L J, XIONG P, et al. TLR3 expression is a potential prognosis biomarker and shapes the immune-active tumor microenvironment in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 1437-1456. DOI: 10.2147/JIR.S348786.
- [21] CHEN Y H, LIU Q X, CHEN Z M, et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden status for prediction of response to chemotherapy and targeted therapy in non-small cell lung cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 193. DOI: 10.1186/s13046-019-1192-1.

[收稿日期] 2025-09-07

[修回日期] 2026-01-07

[本文编辑] 邢一凡