

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.11.003

miRNA-496通过mTOR影响宫颈癌HeLa细胞的恶性生物学行为及裸鼠移植瘤的生长

方艳惠¹, 马彩娟², 张纯丽¹, 翟嘉威¹, 朱巧英¹, 刘茵¹ (1. 河北医科大学第四医院 妇科, 河北 石家庄 050011; 2. 晋州同济医院 妇科, 河北 石家庄 052260)

[摘要] **目的:** 探讨miR-496是否通过靶向mTOR影响宫颈癌HeLa细胞的周期、增殖、迁移、侵袭以及裸鼠移植瘤的生长。**方法:** 选取2020年12月至2021年12月期间于河北医科大学第四医院接受手术的74例宫颈癌患者的肿瘤标本和癌旁组织标本, qPCR、WB法和免疫荧光法检测宫颈癌组织中miR-496和mTOR在mRNA和蛋白水平的表达。利用TargetScan数据库预测miR-496的靶基因并用双荧光素酶报告基因实验进行验证。将HeLa细胞按转染物不同分为对照组、miR-496 mimic组和miR-496 mimic+pMIR-mTOR组, CCK-8法、流式细胞术和Transwell实验分别检测miR-496和mTOR对HeLa细胞增殖、周期、迁移和侵袭的影响。将对照组、miR-496 mimic组HeLa细胞接种至BALB/c裸鼠皮下构建宫颈癌裸鼠移植瘤模型, 21 d后处死小鼠, 剥离小鼠肿瘤组织并称取瘤质量, 免疫荧光法和WB法检测miR-496过表达对移植瘤组织中mTOR和Ki67表达的影响。**结果:** 在宫颈癌组织中, miR-496呈低表达, 而mTOR mRNA和蛋白呈高表达。miR-496能够靶向结合mTOR mRNA的3'-UTR。与对照组和miR-496 mimic+pMIR-mTOR组相比, miR-496 mimic组HeLa细胞的miR-496水平和S期细胞比例均显著升高, 而增殖水平、迁移和侵袭细胞数均显著降低(均 $P<0.01$)。成功构建宫颈癌裸鼠移植瘤模型, 接种21 d后, miR-496 mimic组移植瘤质量、移植瘤组织中mTOR和Ki67的表达水平均显著低于对照组(均 $P<0.01$)。**结论:** miR-496在宫颈癌组织中呈低表达, miR-496过表达可通过靶向调控mTOR抑制HeLa细胞的恶性生物学行为和裸鼠移植瘤的生长。

[关键词] miR-496; 宫颈癌; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; HeLa细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R737.33; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)11-1068-07

miRNA-496 influences the malignant biological behaviors of cervical cancer HeLa cells and the growth of transplanted tumors in nude mice through mTOR

FANG Yanhui¹, MA Caijuan², ZHANG Chunli¹, ZHAI Jawei¹, ZHU Qiaoying¹, LIU Yin¹ (1. Department of Gynecology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Department of Gynecology, Jinzhou Tongji Hospital, Shijiazhuang 052260, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To explore whether miR-496 affects the cycle, proliferation, migration, and invasion of cervical cancer HeLa cells and the growth of transplanted tumors in nude mice by targeting mTOR. **Methods:** The tumor specimens and para-cancerous tissue specimens of 74 patients with cervical cancer who underwent surgery at the Fourth Hospital of Hebei Medical University from December 2020 to December 2021 were selected. qPCR, WB, and immunofluorescence methods were used to detect the expression of miR-496 and mTOR at mRNA and protein levels in cervical cancer tissues. The TargetScan database was used to predict the target genes of miR-496, and the Dual-luciferase reporter gene experiment was further adopted to verify the targeting relationship. According to different transfectants, HeLa cells were divided into the control group, miR-496 mimic group, and miR-496 mimic+pMIR-mTOR group. CCK-8 assay, Flow cytometry, and Transwell experiment were used to detect the effects of miR-496 and mTOR on the proliferation, cell cycle, migration, and invasion of HeLa cells. The HeLa cells of the control group and miR-496 mimic group were inoculated subcutaneously into BALB/c nude mice to construct a transplanted tumor model of cervical cancer. After 21 d, the mice were sacrificed, and the tumor tissues of the mice were stripped and the tumor mass was weighed. Immunofluorescence and WB methods were used to detect the effect of miR-496 overexpression on the expression of mTOR and Ki67 in transplanted tumor tissues. **Results:** In cervical cancer tissues, miR-496 was lowly expressed, while mTOR was highly expressed at both mRNA and protein levels. miR-

[基金项目] 河北省医学科学研究重点课题资助项目(No. 20210082)。Project supported by the Key Projects of Medical Scientific Research Project of Hebei Province (No. 20210082)

[作者简介] 方艳惠(1981—),女,硕士,主治医师,主要从事妇科肿瘤发生发展机制以及治疗相关研究, E-mail: fangyanhui81@163.com

[通信作者] 方艳惠(FANG Yanhui, corresponding author), E-mail: fangyanhui81@163.com

496 could bind to the 3'-UTR sequence of mTOR mRNA. Compared with the control group and the miR-496 mimic+pMIR-mTOR group, the miR-496 level and S-phase cell ratio of HeLa cells in the miR-496 mimic group were significantly increased, while the proliferation level, the numbers of migrated cells and invaded cells were significantly reduced (all $P<0.01$). Nude mice transplanted tumor model of cervical cancer was successfully constructed. After 21 d of inoculation, the mass of transplanted tumors and the expression of mTOR and Ki67 in the transplanted tumor tissues in the miR-496 mimic group were significantly lower than those in the control group (all $P<0.01$). **Conclusion:** miR-496 is lowly expressed in cervical cancer tissues. Overexpression of miR-496 can inhibit the malignant biological behaviors of HeLa cells and the growth of transplanted tumors in nude mice through targeted regulation of mTOR.

[Key words] miR-496; cervical cancer; mammalian target of rapamycin (mTOR); HeLa cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(11): 1068-1074. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.11.003]

宫颈癌是世界范围内女性常见癌症^[1-2]。近年来,随着早期筛查、手术、化疗等技术手段和治疗方法的发展,一定程度上降低了宫颈癌患者的病死率,但肿瘤复发和转移仍是影响整体预后的主要原因^[3-4]。因此,充分了解宫颈癌发生发展的分子机制对于开发宫颈癌的新治疗策略是必要的。mTOR主要定位在细胞质和细胞膜、线粒体膜、高尔基体膜等膜结构,其在多种肿瘤中表达失调^[5-6]。在宫颈癌中,mTOR信号通路被异常激活^[7]。本课题组前期利用TargetScan数据库(<http://www.targetscan.org/>)筛选发现,mTOR是miR-496的潜在靶基因。miRNA是一类重要的转录调节因子,许多证据^[8-10]表明miRNA的表达异常与宫颈癌病理进程相关,但miR-496在宫颈癌中的作用机制尚鲜有报道。本研究将分析宫颈癌组织中miR-496的表达水平并通过体外细胞实验观察miR-496对宫颈癌细胞恶性生物学行为的影响,进一步探讨其与mTOR的相互关系,以期揭示miR-496在宫颈癌中的作用及其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 临床标本、细胞系及主要试剂

本研究所用临床样本选自2020年12月至2021年12月期间于河北医科大学第四医院接受手术的74例宫颈癌患者的肿瘤标本和癌旁组织标本,所有患者均为女性,平均年龄(50.16±14.31)岁。采用国际妇产科联盟(FIGO)的分期标准对患者进行临床分期:I期17例、II期16例、IIIa期12例、IIIb期14例、IV期15例。排除标准:妊娠及哺乳期者,服用性激素者,此次入院前已行放、化疗或应用免疫抑制剂及经常全身使用激素者,2周内全身使用抗生素者,身体其余部位有感染性或系统性重大疾病者。患者均签署的知情同意书,研究方案获得本院伦理委员会审查、批准。

人宫颈癌HeLa细胞购自中国科学院上海细胞库,RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司,胎牛血清(FBS)购自美国Gemini公司,RNA提取试剂TRIzol、逆转录试剂盒以及转染试剂Lipofectamine™

2000均购自美国Thermo公司,Transwell小室、matrigel胶均购自美国Corning公司,qPCR试剂盒购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司,流式细胞仪购自美国BD公司,研究所用抗体均购自Abcam公司,mTOR过表达质粒pMIR-mTOR由本课题组构建,miR-496模拟物(mimic)及其阴性对照(miR-NC)由上海吉玛制药技术有限公司合成。

1.2 细胞培养和转染

HeLa细胞用含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的RPMI 1640培养基于含有5%CO₂、温度为37℃的培养箱中常规培养。转染前24 h将细胞接种于6孔板,随机分为对照组(miR-NC)、miR-496 mimic组和miR-496 mimic+pMIR-mTOR组,随后按照转染试剂说明书向HeLa细胞中分别转染miR-NC、miR-496 mimic或共转染miR-496 mimic和pMIR-mTOR。

1.3 qPCR检测miR-496和mTOR在宫颈癌组织和细胞中的表达

使用TRIzol试剂从宫颈癌组织、癌旁组织和各组细胞中提取总RNA,按照两步法qPCR试剂盒说明书进行PCR扩增,引物序列见表1。反应条件为94℃预变性30 s,随后94℃10 s、60℃30 s,共40个循环。采用2^{-ΔΔCT}法计算目的基因的相对表达量(miR-496的表达以U6为内参,mTOR表达以GAPDH为内参),每个样本重复3次。

表1 引物序列

Tab.1 Primer sequences

Target	Primer sequence
mTOR	F: 5'-GCTAGGTGCATTGACATACAACA-3' R: 5'-AGTGCTAGTTCACAGATAATGGC-3'
GAPDH	F: 5'-TGTGGGCATCAATGGATTGG-3' R: 5'-ACACCATGTATTCCGGGTCAAT-3'
miR-496	F: 5'-CGCTGAGTATTACATGGCCAATCTC-3' R: 5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAA TTCAGTTGAGGAGTACCG-3'
U6	F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3' R: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'

1.4 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-496 与 mTOR mRNA 的靶向关系

通过 TargetScan 数据库 (<http://www.targetscan.org/>) 预测发现, miR-496 在 mTOR 的 3'-UTR 上存在潜在结合位点, 构建携带野生型 mTOR 3'-UTR 序列的质粒 pMIR-mTOR-WT 和携带突变型 mTOR 3'-UTR 序列的质粒 pMIR-mTOR-MUT, 随后将 pMIR-mTOR-WT 或 pMIR-mTOR-MUT 与 miR-496 模拟物或 miR-NC 共转染 HeLa 细胞, 48 h 后按照荧光素酶报告基因系统说明书对细胞样品进行检测, 计算海肾荧光素酶与萤火虫荧光素酶的比值, 以此代表细胞内荧光素酶的活性水平。

1.5 WB 法检测 mTOR 蛋白在宫颈癌组织和细胞中的表达

抽提宫颈癌组织、癌旁组织和各组细胞的总蛋白, 测定蛋白浓度, 蛋白经 12% SDS-PAGE 分离后转至 PVDF 膜, 将膜用 5% 脱脂奶粉在 37 °C 下封闭, 洗去封闭液, 加入一抗 mTOR 单克隆抗体 (1:500 稀释), 洗膜后加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:1 000 稀释), 洗膜后加入 ECL 液, 于暗室中发光、显影、定影, 观察蛋白条带, 采用 Image J 软件进行蛋白表达的半定量分析。

1.6 免疫荧光法检测 mTOR 在宫颈癌组织中的表达

将组织切片脱蜡、水化, 微波加热法修复抗原 (94 °C, 10~15 min), 加入 5% 的正常羊血清封闭, 37 °C 放置 60 min, 弃去血清, 滴加 1:500 比例稀释的 mTOR 抗体, 4 °C 过夜, 弃去未结合的一抗, PBS 冲洗 3 次, 滴加荧光素标记的二抗, 37 °C 避光处理 60 min, 洗膜, 4 °C 避光保存。荧光显微镜下观察并拍照。

1.7 CCK-8 法检测 miR-496 对 HeLa 细胞增殖的影响

将对数生长期的 HeLa 细胞接种于 96 孔板, 每孔 200 μ l 细胞悬液, 按 1.2 节所述步骤转染 72 h 后向每孔中加入 10 μ l CCK-8 溶液, 于 37 °C 培养箱中放置 1 h, 用酶标仪测定每孔在 450 nm 波长处的光密度 (D) 值, 以 D 值代表细胞增殖水平。

1.8 流式细胞术检测 miR-496 对 HeLa 细胞周期的影响

将转染成功的各组细胞收集至 10 cm 培养皿中, 70% 乙醇固定, 4 °C 过夜, 细胞经消化、离心、重悬后加 PI 溶液染色, 37 °C 孵育 15 min, 流式细胞仪测定细胞周期, 用 FACSuite™ 软件分析数据。

1.9 Transwell 实验检测 miR-496 对 HeLa 细胞迁移和侵袭能力的影响

迁移实验: 收集各组转染后细胞, 调整细胞密度至 1×10^6 个/ml, 取 200 μ l 细胞悬液接种于上室, 在下室加入 600 μ l 含 10% FBS 的培养基, 培养 24 h 后取出小室, 用棉签轻拭去小室滤膜上层的细胞, 将滤膜置

于 95% 乙醇中固定 5 min, 0.5% 结晶紫染色液染色 10 min, PBS 漂洗去除未结合细胞的染色液, 在显微镜下观察滤膜下层细胞并计数。

侵袭实验: 预先将 matrigel 胶于 4 °C 条件下静置过夜, 次日取 matrigel 胶对 Transwell 小室进行预包被, 其余步骤与迁移实验相同。

1.10 构建 HeLa 细胞裸鼠移植瘤模型

选取 BALB/c 裸鼠 12 只 (6~8 周龄, 体重 20~22 g), 随机分为对照组 (6 只) 和 miR-496 mimic 组 (6 只)。向 HeLa 细胞转染 miR-NC 或 miR-496 mimic 后注射到裸鼠的右后肢腋部皮下, 每只裸鼠接种细胞数为 5×10^7 个, 接种 21 d 后处死小鼠, 剥离小鼠肿瘤组织并称重。

1.11 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行分析, 符合正态分布的计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组数据间的比较采用 t 检验, 3 组或 3 组以上的比较采用 One-way ANOVA, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-496 在宫颈癌组织中呈低表达及其过表达对 HeLa 细胞裸鼠移植瘤生长的影响

qPCR 检测结果显示, miR-496 在宫颈癌组织中的表达显著低于癌旁组织 ($P < 0.01$, 图 1A); miR-496 mimic 转染 HeLa 细胞后, 细胞中 miR-496 的表达水平较对照组明显升高 ($P < 0.01$, 图 1B), 说明 miR-496 过表达的 HeLa 细胞构建成功。将 miR-496 过表达的 HeLa 细胞接种于裸鼠皮下构建宫颈癌裸鼠移植瘤模型, 接种 21 d 后, miR-496 mimic 组裸鼠中移植瘤质量明显低于对照组 ($P < 0.01$, 图 1C)。

2.2 miR-496 靶向调控 mTOR 表达

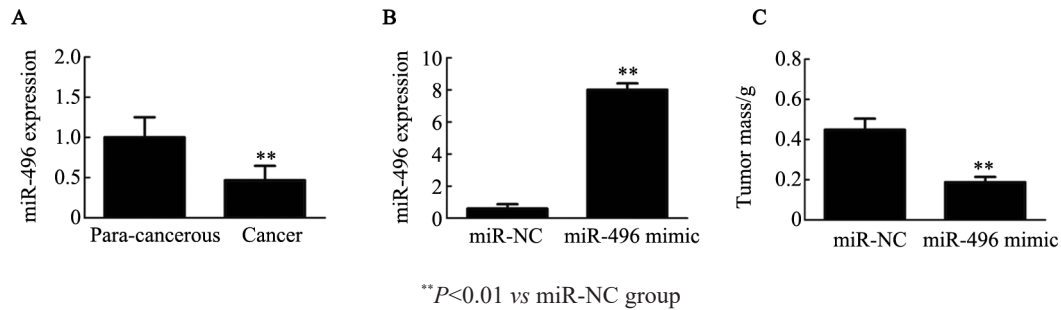
采用 TargetScan 数据库筛选 miR-496 的潜在靶基因, 结果 (图 2) 显示, mTOR 的 3'-UTR 上具有潜在的结合位点, 可与 miR-496 形成互补结合。双荧光素酶报告基因实验结果 (图 3A) 显示, 与 miR-NC+pMIR-mTOR-WT 共转染组相比, miR-496 mimic+pMIR-mTOR-WT 共转染组 HeLa 细胞中荧光素酶活性明显降低 ($P < 0.01$); 与 miR-NC+pMIR-mTOR-MUT 共转染组相比, miR-496 mimic+pMIR-mTOR-MUT 共转染组 HeLa 细胞中荧光素酶活性无明显变化 ($P > 0.05$)。qPCR 和 WB 法检测结果 (图 3B、C) 显示, 相比 miR-NC 组, miR-496 mimic 组 HeLa 细胞中 mTOR 的蛋白和 mRNA 表达均明显降低 (均 $P < 0.01$)。

2.3 mTOR 在宫颈癌组织中呈高表达

qPCR 检测结果 (图 4A) 显示, 相比癌旁组织, 宫颈癌组织中 mTOR mRNA 表达水平明显升高

($P < 0.01$)。免疫荧光法检测结果(图4B)显示, 癌组织中mTOR阳性信号增强(绿色荧光区域); WB法检

测结果(图4C)也显示, mTOR蛋白在宫颈癌组织中的相对表达量明显升高($P < 0.01$)。



** $P < 0.01$ vs miR-NC group

A: The expression of miR-496 in cervical cancer tissues was significantly lower than that in para-cancerous tissues (detected by qPCR); B: The expression level of miR-496 in HeLa cells was significantly increased after transfection of miR-496 mimic (detected by qPCR); C: Overexpression of miR-496 inhibited the growth of transplanted tumors in nude mice

图1 miR-496在宫颈癌组织中的表达及其过表达对HeLa细胞裸鼠移植瘤生长的影响

Fig.1 Expression of miR-496 in cervical cancer tissues and the effect of miR-496 overexpression on the growth of HeLa cell transplanted tumors in nude mice

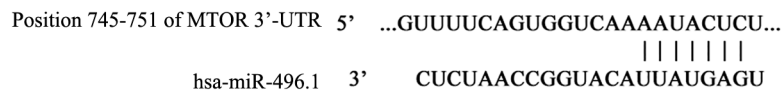
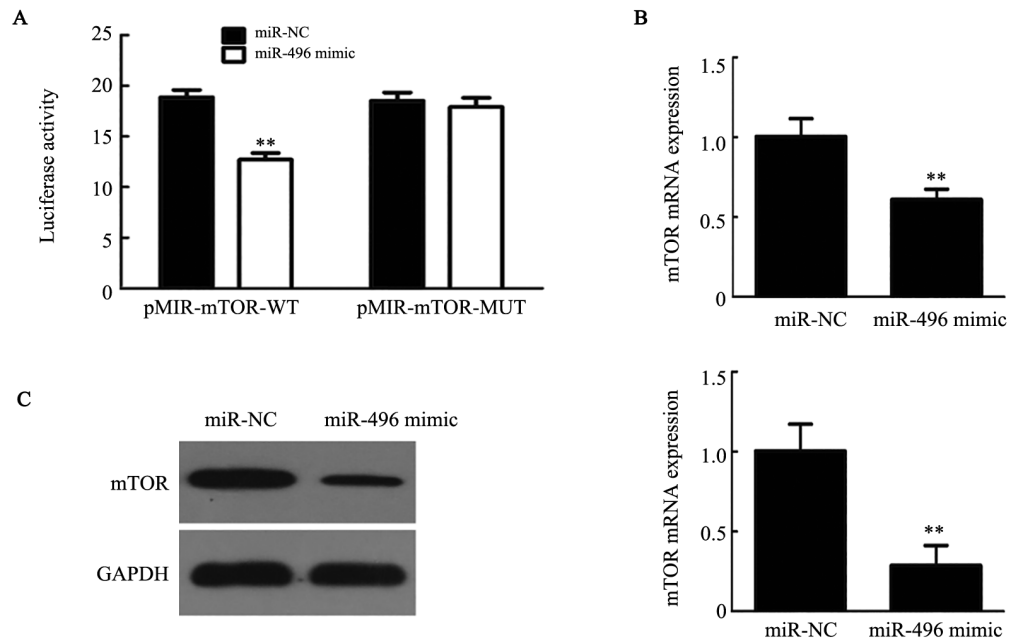


图2 miR-496在mTOR的3'-UTR上具有潜在的结合位点(TargetScan数据库预测)

Fig.2 miR-496 has a potential binding site on the 3'-UTR of mTOR (predicted by TargetScan database)



** $P < 0.01$ vs miR-NC group

A: The targeting relationship between miR-496 and mTOR gene was verified by Dual luciferase reporter gene experiment;

B: Overexpression of miR-496 inhibited the mRNA expression of mTOR in HeLa cells (detected by qPCR);

C: Overexpression of miR-496 inhibited the protein expression of mTOR in HeLa cells (detected by WB assay)

图3 miR-496对mTOR的靶向调控

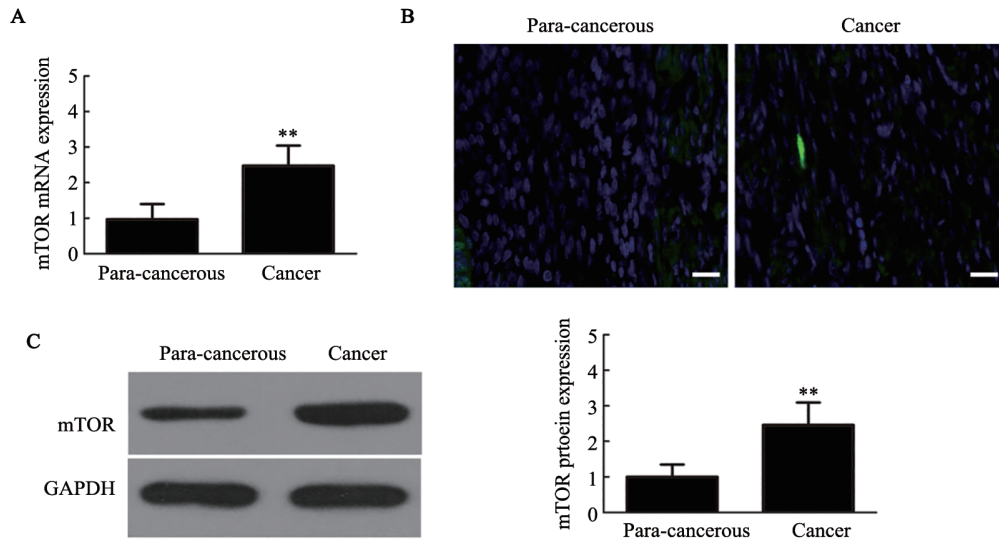
Fig.3 Targeted regulation of miR-496 on mTOR

2.4 过表达miR-496和mTOR对HeLa细胞增殖、周期、迁移和侵袭的影响

CCK-8法检测结果显示, miR-496 mimic组HeLa细胞的增殖水平显著低于对照组和miR-496 mimic+

pMIR-mTOR 组 (1.37 ± 0.12 vs 2.45 ± 0.21 、 3.16 ± 0.29 , 均 $P < 0.01$)。流式细胞术检测结果显示, miR-496 mimic 组 S 期细胞比例显著低于对照组和 miR-496 mimic+pMIR-mTOR 组 [$(11.7 \pm 1.13)\%$ vs $(14.9 \pm$

$1.38)\%$ 、 $(19.85 \pm 1.93)\%$, 均 $P < 0.01$]。Transwell 实验检测结果(图 5)显示, miR-496 组中迁移和侵袭细胞数均明显低于对照组和 miR-496 mimic+pMIR-mTOR 组(均 $P < 0.01$)。



** $P < 0.01$ vs Para-cancerous tissue group

A: The mRNA expression of mTOR in cervical cancer tissues and para-cancerous tissues was detected by qPCR; B: Positive mTOR signal in cervical cancer tissues was detected by immunofluorescence (Green fluorescence), Scale bar= 20 μm ; C: The protein expression of mTOR was detected by WB assay

图4 mTOR mRNA(A)和蛋白(B、C)在宫颈癌组织中均呈高表达

Fig.4 mTOR was highly expressed in cervical cancer tissues at both mRNA (A) and protein (B, C) levels

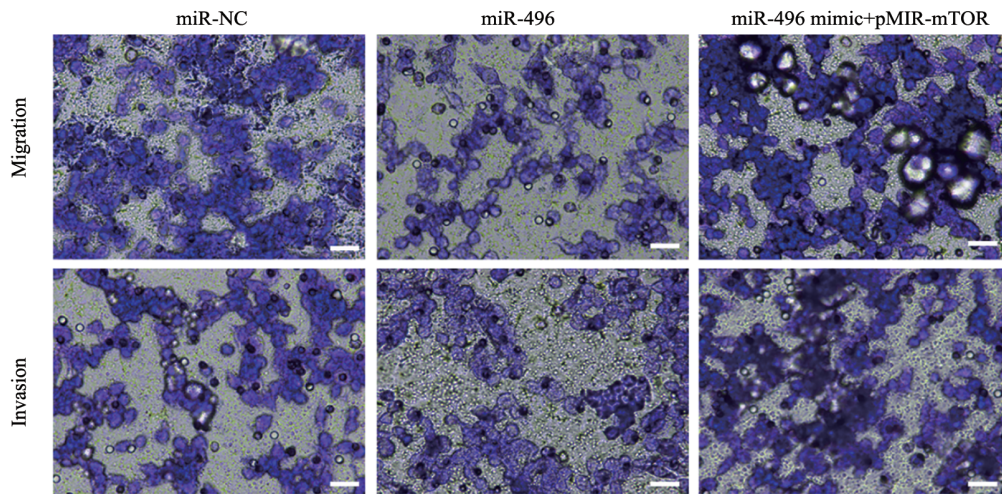


图5 miR-496和mTOR对HeLa细胞迁移和侵袭的影响(标尺长度为25 μm)

Fig.5 Effects of miR-496 and mTOR on migration and invasion of HeLa cells (Scale bar=25 μm)

2.5 miR-496 过表达抑制移植瘤组织中Ki67的增殖及mTOR的表达

免疫荧光法检测结果(图 6A)显示, miR-496 mimic 组移植瘤组织中 mTOR(红色荧光区域)和 Ki67(绿色荧光区域)阳性信号明显低于对照组。WB法检测结果(图 6B)显示, miR-496 mimic 组移植

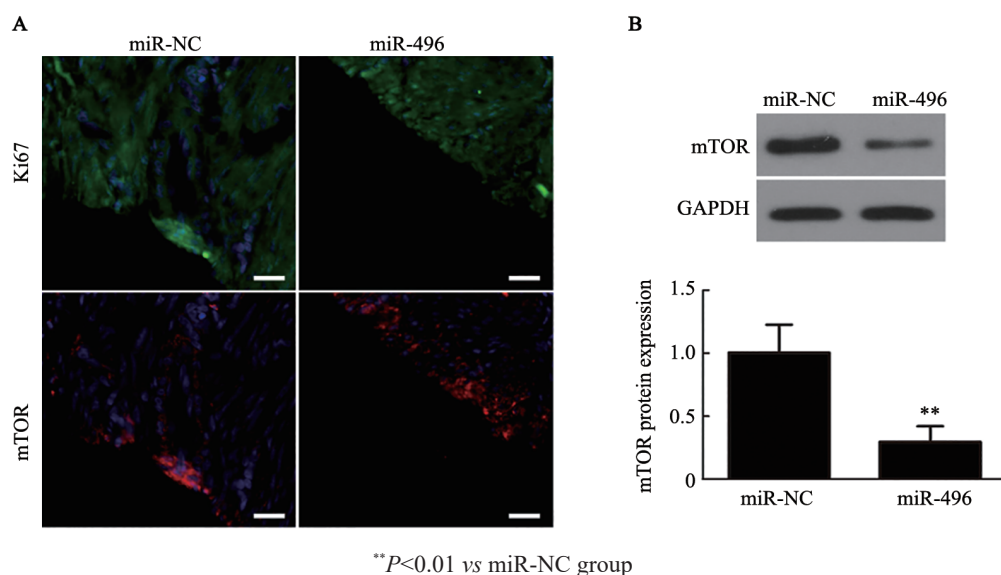
瘤组织中 mTOR 的表达较对照组显著降低($P < 0.01$)。

3 讨论

越来越多的研究^[11-13]显示, miRNA 能通过靶基因调控宫颈癌细胞的生物学行为, 在宫颈癌的发病中发挥重要作用。如 miRNA-155 在宫颈癌患者外周血

和宫颈癌组织中异常高表达,过表达 miRNA-155 可抑制靶基因细胞因子信号转导抑制子 1 (suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1) 的表达,诱导 Th17/Treg 失衡,从而参与宫颈癌的发生和发展^[14]; miR-1284 在宫颈癌组织和细胞中表达下调,并且 miR-1284 水平较低的患者总生存率较低^[15]。以往研究发现,miR-496 过表达可明显抑制非小细胞肺癌细胞的

增殖^[16];在肺腺癌中敲低 miR-496 表达可以促进肿瘤细胞的增殖^[17]。然而 miR-496 在宫颈癌中的作用尚不清楚。本研究发现 miR-496 在宫颈癌组织中呈低表达,进一步构建宫颈癌裸鼠移植瘤模型,发现 miR-496 过表达细胞裸鼠移植瘤重量明显低于对照组,表明过表达 miR-496 抑制了裸鼠移植瘤的生长。



A: The levels of mTOR and Ki67 in transplanted tumor tissues in the miR-496 group were significantly reduced (detected by immunofluorescence, Scale bar=20 μ m); B: Overexpression of miR-496 inhibited the expression of mTOR in transplanted tumor tissues (detected by WB assay)

图6 miR-496过表达抑制移植瘤组织中Ki67及mTOR表达

Fig.6 Overexpression of miR-496 inhibited the Ki67 and mTOR expression in transplanted tumor tissues

miRNA 主要通过与其靶 mRNA 分子的 3'-UTR 互补结合从而发挥调控作用^[18-19],因此,研究 miRNA 的首要关键是寻找其靶基因。有研究^[20]发现,miR-496 可能通过调控 mTOR 参与人类寿命的调节。本研究利用 TargetScan 数据库预测发现,miR-496 在 mTOR 的 3'-UTR 上具有潜在的结合位点,表明 mTOR 是 miR-496 的潜在靶基因,进一步通过双荧光素酶报告基因实验验证了这一设想。同时本研究发现,在 HeLa 细胞中过表达 miR-496 能下调 mTOR 的 mRNA 和蛋白的表达,表明 miR-496 的确能与 mTOR 的 3'-UTR 特异性结合并抑制其表达。作为 PI3K-Akt-mTOR 通路的下游基因,mTOR 在宫颈癌组织、细胞中过表达,进而影响肿瘤形成^[21-22]。本研究发现,mTOR 在宫颈癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织,表明其与宫颈癌发生发展有关。体外实验分析 miR-496 与 mTOR 对宫颈癌细胞生物学行为的影响发现,miR-496 过表达抑制 HeLa 细胞的增殖、迁移和侵袭,诱导 S 期阻滞,但在细胞中同时过表达 mTOR 则能逆转上述影响,表明 miR-496 是通过靶向调控

mTOR 从而抑制宫颈癌细胞的生物学行为。在裸鼠移植瘤模型中,miR-496 过表达也能下调 mTOR 的表达水平,并抑制细胞的增殖及肿瘤生长,进一步验证了 miR-496 在宫颈癌中的抗肿瘤功能。

综上所述,本研究实验结果表明 miR-496 在宫颈癌组织中呈低表达,并且 miR-496 过表达能通过靶向调控 mTOR 抑制宫颈癌 HeLa 细胞的增殖、迁移和侵袭,使细胞周期阻滞于 S 期,抑制 HeLa 细胞裸鼠移植瘤的生长。

[参考文献]

- [1] FONTHAM E T H, WOLF A M D, CHURCH T R, et al. Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society[J]. CA A Cancer J Clin, 2020, 70(5): 321-346. DOI:10.3322/caac.21628.
- [2] LEATH C A III, MONK B J III. Twenty-first century cervical cancer management: a historical perspective of the gynecologic oncology group/NRG oncology over the past twenty years[J]. Gynecol Oncol, 2018, 150(3): 391-397. DOI:10.1016/j.ygyno.2018.06.023.
- [3] DI J, RUTHERFORD S, CHU C. Review of the cervical cancer

- burden and population-based cervical cancer screening in China[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(17): 7401-7407. DOI:10.7314/apjcp.2015.16.17.7401.
- [4] XU L J, DUAN Y, WANG P, et al. miR-199b-5p promotes tumor growth and metastasis in cervical cancer by down-regulating KLK10[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(2): 556-563. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.05.165.
- [5] YUAN L Y, QIN X, LI L, et al. Overexpression of LINC00037 represses cervical cancer progression by activating mTOR signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 13353-13360. DOI: 10.1002/jcp.28012.
- [6] LIAO S, LIANG L, YUE C X, et al. CD38 is involved in cell energy metabolism via activating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cervical cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2020, 57(1): 338-354. DOI: 10.3892/ijo.2020.5040.
- [7] YUAN L Y, QIN X M, LI L, et al. Overexpression of LINC00037 represses cervical cancer progression by activating mTOR signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 13353-13360. DOI: 10.1002/jcp.28012.
- [8] LUO C, QIU J. miR-181a inhibits cervical cancer development via downregulating GRP78[J]. *Oncol Res*, 2017, 25(8): 1341-1348. DOI:10.3727/096504017x14867268787969.
- [9] HEMMAT N, MOKHTARZADEH A, AGHAZADEH M, et al. Role of microRNAs in epidermal growth factor receptor signaling pathway in cervical cancer[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(6): 4553-4568. DOI:10.1007/s11033-020-05494-4.
- [10] NAHAND J S, VANDCHALI N R, DARABI H, et al. Exosomal microRNAs: novel players in cervical cancer[J]. *Epigenomics*, 2020, 12(18): 1651-1660. DOI:10.2217/epi-2020-0026.
- [11] JUAN C, HUA Q, RUPING Z, et al. miRNA-489 as a biomarker in diagnosis and treatment of cervical cancer[J]. *Bratisl Lek Listy*, 2018, 119(5): 278-283. DOI:10.4149/blil_2018_052.
- [12] PARDINI B, DE MARIA D, FRANCAVILLA A, et al. MicroRNAs as markers of progression in cervical cancer: a systematic review [J/OL]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 696 [2021-04-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29945565/>. DOI: 10.1186/s12885-018-4590-4.
- [13] ZENG Y, WANG K X, XU H, et al. Integrative miRNA analysis identifies hsa-miR-3154, hsa-miR-7-3, and hsa-miR-600 as potential prognostic biomarker for cervical cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(2): 1558-1566. DOI:10.1002/jcb.26315.
- [14] ZHANG Y, WANG Z C, ZHANG Z S, et al. MicroRNA-155 regulates cervical cancer via inducing Th17/Treg imbalance[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(12): 3719-3726. DOI:10.26355/eurev_201806_15251.
- [15] CHEN J, LI G. miR-1284 enhances sensitivity of cervical cancer cells to cisplatin via downregulating HMGB1[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 997-1003. DOI:10.1016/j.biopha.2018.08.059.
- [16] MA R, ZHU P, LIU S, et al. miR-496 suppress tumorigenesis via targeting BDNF-mediated PI3K/Akt signaling pathway in non-small cell lung cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 518(2): 273-277. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.08.046.
- [17] LU Q C, RUI Z H, GUO Z L, et al. lncRNA-DANCR contributes to lung adenocarcinoma progression by sponging miR-496 to modulate mTOR expression[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(3): 1527-1537. DOI:10.1111/jcmm.13420.
- [18] YAO X, YAO R, YI J, et al. Upregulation of miR-496 decreases cerebral ischemia/reperfusion injury by negatively regulating BCL2L14[J]. *Neurosci Lett*, 2019, 696: 197-205. DOI: 10.1016/j.neulet.2018.12.039.
- [19] MEI Y, JIANG P P, SHEN N M, et al. Identification of miRNA-mRNA regulatory network and construction of prognostic signature in cervical cancer[J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(6): 1023-1040. DOI: 10.1089/dna.2020.5452.
- [20] RUBIE C, KÖLSCH K, HALAJDA B, et al. MicroRNA-496-A new, potentially aging-relevant regulator of mTOR[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(8): 1108-1116. DOI:10.1080/15384101.2016.1158360.
- [21] MOSSMANN D, PARK S, HALL M N. mTOR signalling and cellular metabolism are mutual determinants in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(12): 744-757. DOI:10.1038/s41568-018-0074-8.
- [22] LI X, ZHAO J, YAN T, et al. Cyanidin-3-O-glucoside and cisplatin inhibit proliferation and downregulate the PI3K/Akt/mTOR pathway in cervical cancer cells[J]. *J Food Sci*, 2021, 86(6): 2700-2712. DOI:10.1111/1750-3841.15740.

[收稿日期] 2021-07-02

[修回日期] 2021-11-10

[本文编辑] 黄静怡