

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2022.08.006

· 临床研究 ·

过表达 lncRNA MIR17HG 促进宫颈癌 HeLa 细胞的恶性生物学行为与裸鼠移植瘤生长

邓幻苏¹, 刘元斌² (1. 天津医科大学中新生态城医院 妇产科, 天津 3000467; 2. 山东大学齐鲁医院 检验科, 山东 济南 250012)

[摘要] **目的:** 探究 lncRNA MIR17HG 在宫颈癌组织和细胞中的表达水平与临床意义, 分析其对宫颈癌 HeLa 细胞恶性生物学行为和裸鼠移植瘤生长的影响及其可能的作用机制。 **方法:** 采用 TCGA 数据库分析 MIR17HG 和 TRIM25 在宫颈癌中的表达水平, 并分析 MIR17HG 和 TRIM25 表达水平与患者的临床病理特征的相关性。收集 2019 年 8 月至 2020 年 12 月山东大学齐鲁医院收治的 30 例宫颈癌患者的肿瘤组织和癌旁组织, 体外培养人正常宫颈上皮 End1/E6E7 细胞、人乳腺癌细胞 HeLa、C33A、CasKi 和 SiHa, 采用 qPCR 技术检测宫颈癌组织和细胞中的 MIR17HG 表达水平。采用脂质体将 MIR17HG 过表达质粒或敲降质粒分别转染宫颈癌 HeLa 细胞, CCK-8 法、克隆形成实验和 Transwell 实验分别检测 MIR17HG 对 HeLa 细胞的增殖、集落形成、迁移和侵袭能力的影响。采用 ENCORI 预测并用 qPCR 和 WB 法验证 MIR17HG 对 TRIM25 的靶向调控作用。采用 Targetscan 和荧光报告系统验证 miR-377 与 TRIM25 之间的靶向关系。采用 WB 法检测 MIR17HG 对 HeLa 细胞中 AKT 信号通路相关蛋白表达的影响。构建 MIR17HG 过表达 HeLa 细胞裸鼠移植瘤模型, 观察移植的瘤生长。 **结果:** 宫颈癌组织中 MIR17HG 和 TRIM25 mRNA 均呈高表达 (均 $P < 0.05$), 宫颈癌细胞中 MIR17HG 表达水平高于人正常宫颈上皮细胞 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。MIR17HG 和 TRIM25 的高表达与宫颈癌的恶性程度有关 ($P < 0.05$)。与对照组相比, MIR17HG 过表达组 HeLa 细胞的增殖、克隆形成、迁移和侵袭能力均显著升高, 而 MIR17HG 敲降组则相反 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。MIR17HG 可能通过抑制 miR-377 来上调 TRIM25 的表达。MIR17HG 过表达组 HeLa 细胞中 AKT 信号通路相关蛋白表达水平升高。MIR17HG 过表达组裸鼠移植瘤的生长水平高于对照组 ($P < 0.01$)。 **结论:** MIR17HG 在宫颈癌组织和细胞中呈高表达, 过表达 MIR17HG 能够促进 HeLa 细胞的恶性生物学行为、加速裸鼠移植瘤的生长, 其可能是通过抑制 miR-377 上调 TRIM25 激活 AKT 通路来发挥其促癌的作用。

[关键词] 宫颈癌; HeLa 细胞; 长链非编码 RNA; MIR17HG; TRIM25; AKT; miR-377; 临床意义

[中图分类号] R737.33; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)08-0741-09

Overexpression of lncRNA MIR17HG promotes the malignant biological behaviors of cervical cancer HeLa cells and the growth of transplanted tumors in nude mice

DENG Huansu¹, LIU Yuanbin² (1. Department of Obstetrics and Gynecology, Sino-Singapore Eco-city Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 3000467, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression level and clinical significance of lncRNA MIR17HG in cervical cancer tissues and cells, and to analyze its effect on the malignant biological behaviors of cervical cancer HeLa cells and the growth of transplanted tumors in nude mice and its possible mechanism. **Methods:** The TCGA database was used to analyze the expression levels of MIR17HG and TRIM25 in cervical cancer tissues, and to analyze the correlation between their expression levels and the clinicopathological characteristics of patients. The tumor tissues and paracancerous tissues of 30 cervical cancer patients admitted to Qilu Hospital of Shandong University from August 2019 to December 2020 were collected. Human normal cervical epithelial End1/E6E7 cells and human breast cancer cells HeLa, C33A, CasKi and SiHa were cultured *in vitro*. qPCR was used to detect the expression level of MIR17HG in cervical cancer tissues and cells. The MIR17HG overexpression plasmid or knockdown plasmid was transfected into cervical cancer HeLa cells by liposomes respectively, and then the impact of MIR17HG on the proliferation, colony formation,

[基金项目] 山东省重点研发计划资助项目 (No. 2019GSF108121)

[作者简介] 邓幻苏 (1981—), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事宫颈癌发生发展的机制研究, E-mail: 4703251@qq.com

[通信作者] 刘元斌, E-mail: ybliu_301@163.com

migration, and invasion abilities on HeLa cells were detected by CCK-8 assay, colony formation assay and Transwell assay, respectively. The targeted regulation of MIR17HG on TRIM25 was predicted by ENCORI and verified by qPCR and WB methods. Targetscan and fluorescent reporter systems were used to verify the targeting relationship between miR-377 and TRIM25. WB method was used to detect the effect of MIR17HG on the expression of AKT signaling pathway-related proteins in HeLa cells. A nude mouse xenograft model of MIR17HG overexpressing HeLa cells was constructed, and the growth of the transplanted tumor was observed. **Results:** Both MIR17HG and TRIM25 mRNA were highly expressed in cervical cancer tissues (both $P<0.05$), and the expression level of MIR17HG in cervical cancer cells was higher than that in human normal cervical epithelial cells ($P<0.01$ or $P<0.001$). The high expression of MIR17HG and TRIM25 was associated with the malignancy of cervical cancer ($P<0.05$). Compared with the control group, the proliferation, colony formation, migration, and invasion abilities of HeLa cells in the MIR17HG overexpression group were significantly increased, while the opposite was true in the MIR17HG knockdown group ($P<0.05$ or $P<0.01$). MIR17HG may upregulate the expression of TRIM25 by inhibiting miR-377. The expression levels of AKT signaling pathway-related proteins in HeLa cells in the MIR17HG overexpression group were increased. The growth level of xenograft tumors in the MIR17HG overexpression group was higher than that in the control group ($P<0.01$). **Conclusion:** MIR17HG is highly expressed in cervical cancer tissues and cells. Overexpression of MIR17HG can promote the malignant biological behaviors of HeLa cells and accelerate the growth of transplanted tumors in nude mice. MIR17HG may exert its cancer-promoting effect by inhibiting miR-377 and upregulating TRIM25 to activate the AKT pathway.

[Key words] cervical cancer; HeLa cell; lnc RNA; MIR17HG; TRIM25; AKT; miR-377; clinical significance

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(8): 741-749. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.08.006]

宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率居女性肿瘤第四位^[1]。据统计,每年约有50万宫颈癌新发病例,主要发生在发展中国家^[2]。在中国,每年新增病例数约占世界总数的三分之一^[3]。虽然近年来人乳头瘤病毒(HPV)DNA检测的发展和放化疗技术的标准化应用在一定程度上降低了宫颈癌的发病率和病死率,但宫颈癌的复发率仍高达40%,病死率在发展中国家高达87%^[4-5]。因此,探索宫颈癌发生和发展的分子机制并寻找潜在的预后和靶向治疗指标是当务之急。长链非编码RNA(lncRNA)通常是指长度超过200个核苷酸的RNA转录物,不具有蛋白质编码功能^[6]。MIR17HG基因是MIR17-92簇的宿主基因,该基因簇至少包含6种可能参与细胞存活、增殖、分化和血管生成的微小RNA(miRNA)^[7-8]。MIR17HG在多种肿瘤组织中呈高表达,包括结直肠癌^[9]、胶质瘤^[10]、肝癌^[11]和食管癌^[12],起着促进肿瘤发生发展的作用。但MIR17HG基因在宫颈癌中的作用及分子机制尚不明确。因此,本研究主要探讨MIR17HG基因在宫颈癌中的表达水平、其对宫颈癌细胞的作用及其机制,分析其与临床资料的相关性,旨在为宫颈癌的诊断和治疗提供新的参考依据。

1 资料和方法

1.1 临床资料标本来源

选取2019年8月至2020年12月在山东大学齐鲁医院接受宫颈锥切术的30例宫颈癌患者的癌组织及其癌旁组织。所用样本均经组织病理学检查确诊。所有患者术前未接受放疗、化疗及生物治疗。

本次研究获得患者及其家属的知情同意,并报医院伦理委员会批准[审批号:KYLL-2022(ZM)-127]。

1.2 细胞株及主要试剂

人正常宫颈上皮End1/E6E7细胞、人乳腺癌细胞HeLa、C33A、CasKi和SiHa均购自天津中原公司(ATCC一级代理商),TRIM25、PTEN、p-AKT、AKT、p-S6K和GAPDH蛋白抗体均购自Abclonal公司。MIR17HG过表达质粒和敲降质粒shR-MIR17HG及各自的对照质粒均购自锐博生物科技有限公司,TRIzol试剂购自Thermo公司,逆转录试剂盒、qPCR相关缓冲液及CCK-8试剂盒均购自碧云天生物技术公司,PCR引物购自金唯智公司,RPMI 1640培养基购自Life公司,胎牛血清购自BI公司,Transwell小室购自密理博公司。

1.3 qPCR法检测宫颈癌组织和细胞中MIR17HG的表达水平

采用TRIzol法提取样本组织及细胞中总RNA,按照说明书使用逆转录试剂盒进行逆转录反应,然后进行qPCR实验,PCR反应条件:4℃预变性4 min,94℃30 s、58℃30 s、72℃30 s进行32次循环,72℃延伸5 min,最后4℃冷却。所用qPCR引物序列见表1。

1.4 CCK-8法检测MIR17HG对HeLa细胞增殖的影响

取接种有 3×10^3 个HeLa细胞(100 μL)的96孔细胞培养板,采用脂质体2000将过表达质粒MIR17HG或敲降质粒shR-MIR17HG及相应的对照质粒分别转染HeLa细胞,4 h后换为正常培养液,培养48、72 h后向每孔加入10 μL CCK-8溶液,37℃反应1 h,用酶联免疫检测仪读取每孔450 nm处光密度(D)值,以D值

代表细胞增殖水平并绘制细胞生长曲线。

1.5 克隆形成实验检测 MIR17HG 对 HeLa 细胞集落形成能力的影响

在接种有 HeLa 细胞的 12 孔板中,用脂质体 2000 转染 MIR17HG 或者 shR-MIR17HG 及对照质粒 24 h 后,用 0.05% 胰酶消化细胞,用移液器将细胞吹打成单个细胞悬液并计数,以适当的细胞密度接种于培养皿中,每孔 300 个细胞,使细胞均匀分布于板底,放入培养箱中连续培养,每 3 d 更换 1 次培养液。待两周左右至出现肉眼可见集落时,弃去原培养液,PBS 洗涤 1 次后加 10% 甲醛固定 30 min,用 PBS 洗 3 次后,用结晶紫染色 10 min,PBS 洗净后晾干、拍照并计数集落。

1.6 Transwell 实验检测 MIR17HG 对 HeLa 细胞迁移和侵袭能力的影响

将 MIR17HG 过表达或敲降质粒及对照载体转染 HeLa 细胞 24 h 后,用 0.05% 的胰酶消化细胞,于无血清培养基中重悬细胞后计数板计数,将含 4×10^5 /mL HeLa 细胞的 180 μ L 细胞悬液加入铺有人工基膜 (metrigel) (迁移实验不加人工基膜) 的上室中,下室中加入 600 μ L 含 20% 胎牛血清的培养基,每组设置 3 个复孔,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下培养 48 h。取出 Transwell 小室,用棉签擦掉人工基膜及上室未穿膜的 HeLa 细胞,4% 多聚甲醛固定 10 min,用 0.1% 结晶紫染色 10 min。用显微镜随机选取 5 个视野计数穿膜细胞,计算细胞迁移率、侵袭率。

1.7 WB 法检测 MIR17HG 对 HeLa 细胞中 TRIM25 及信号通路相关蛋白表达的影响

将转染了 MIR17HG 过表达质粒及对照 Control 质粒的 HeLa 细胞正常培养 48 h,用 1 ml PBS 清洗后,用 RIPA (购自碧云天公司) 裂解液裂解细胞。裂解后的细胞加入上样缓冲液煮沸,行 WB 实验检测 TRIM25、PTEN、p-AKT、AKT、p-S6K、GAPDH 蛋白表达水平。蛋白转膜、显影后进行拍照,GraphPad 作图并分析蛋白的相对表达量数据。

1.8 生物信息学分析

宫颈癌组织和癌旁组织中 MIR17HG 及 TRIM25 的表达水平及其在临床资料中的相关关系采用 UALCAN 在线工具 (<http://ualcan.path.uab.edu/>) 进行分析; MIR17HG 及 TRIM25 的相关关系采用 ENCORI 工具 (<http://starbase.sysu.edu.cn/>) 进行分析; 患者的预后分析采用 Kaplan-Meier Plotter 工具 (<http://kmplot.com/analysis/>) 进行分析。

1.9 EGFP 报告载体构建

退火:两条寡核苷酸片段在退火缓冲液中 95 $^{\circ}$ C 变性 5 min,每 min 下降 1 $^{\circ}$ C 直到温度达到 25 $^{\circ}$ C,作

为与 pMIR-REPORT 荧光素酶载体连接的插入片段。退火体系:互补寡核苷酸片段各 0.5 μ L, 11.5 μ L 退火 Buffer,寡核苷酸终浓度 2 ng/ μ L。目的基因片段保存于 4 $^{\circ}$ C 备用。pMIR-REPORT 荧光素酶连接载体制备:采用 *E.coli* DH5a 扩增 EGFP 质粒,抽提质粒后行限制性内切酶 *Hind*III 和 *Spe* I 双酶切。双酶切体系:质粒 30 μ L、DDW 4 μ L、*Hind*III 酶 1 μ L、*Spe* I 酶 1 μ L, 10 $\times$ 缓冲液 4 μ L,置于低温连接仪 37 $^{\circ}$ C 金属浴中反应 24 h;靶基因的连接体系:目的基因 4 μ L,连接载体 0.2 μ L, 2 $\times$ 连接缓冲液 5 μ L,双蒸水 0.8 μ L, 16 $^{\circ}$ C 金属浴中反应 16 h。

1.10 构建 HeLa 细胞裸鼠移植瘤

6-8 周龄的 BALB/c Nude 鼠 (以下简称裸鼠),雌性,体质量 8~12 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,饲养在无特异性病原菌 (specific pathogen free, SPF)、恒温 (20~26 $^{\circ}$ C)、恒湿 (45%~50%) 的洁净环境中。将裸鼠按照过表达 MIR17HG 和对照组 Control 2 个组。常规培养、传代的 MIR17HG 过表达组和对照组 (Control 组) HeLa 细胞悬液裸鼠腋窝皮下接种,每只注射 1×10^7 /ml 细胞 0.1 ml。肿瘤体积,肿瘤生长期每 3 天测量体积 1 次,瘤体积近似计算方法:短径² $\times$ 长径/2。

1.11 统计学处理

采用 SPSS18.0 统计学软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析及 SNK-*q* 检验,相关性分析采用 Pearson 相关性检验进行验证,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

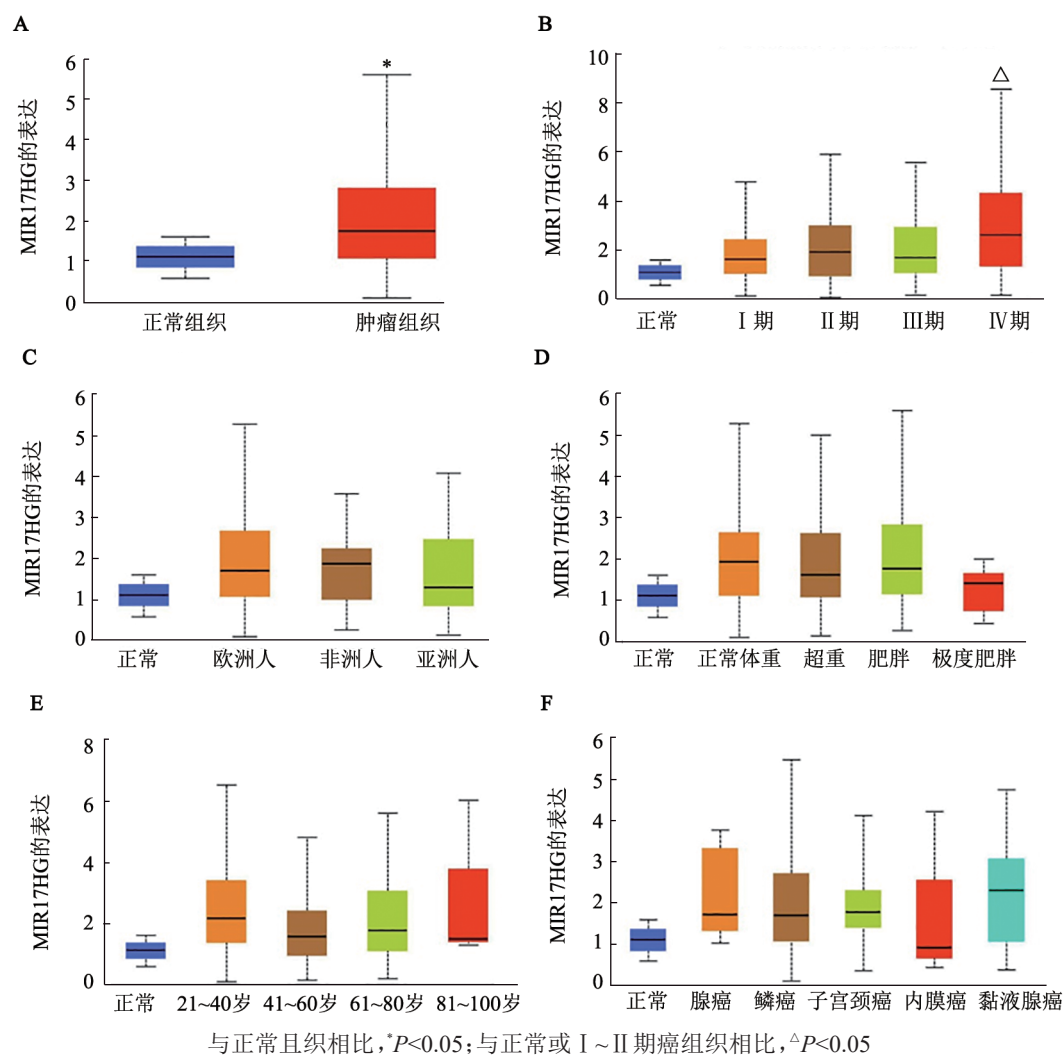
2 结果

2.1 TCGA 分析 MIR17HG 的表达水平及其临床意义

TCGA 数据库分析结果 (图 1A) 发现, MIR17HG 在宫颈癌组织中呈高表达 ($P < 0.05$)。TCGA 数据库分析结果 (图 1B) 发现,在宫颈癌组织中 MIR17HG 的表达水平随着分期的恶性程度增高而增高 ($P < 0.05$)。TCGA 数据库分析结果发现, MIR17HG 的表达水平与患者所在地域 (图 1C)、体重 (图 1D)、年龄 (图 1E) 和临床分型 (图 1F) 不存在相关关系。

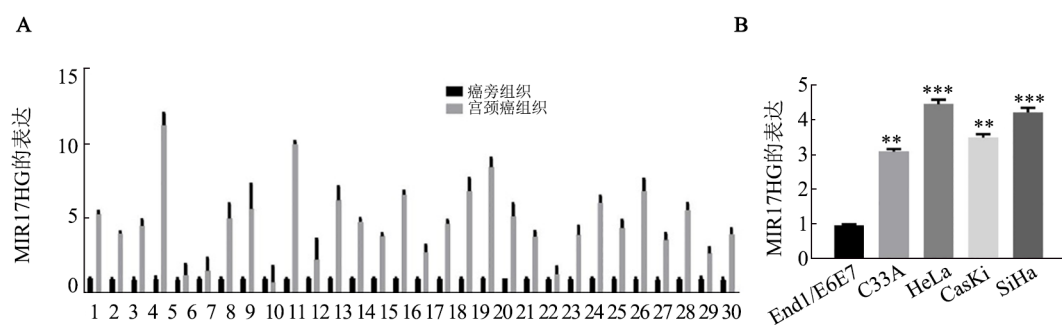
2.2 MIR17HG 在宫颈癌组织及细胞中呈高表达

qPCR 检测结果 (图 2A) 显示,宫颈癌组织中 MIR17HG 的表达水平明显高于其配对的癌旁组织 ($P < 0.05$)。qPCR 检测结果 (图 2B) 显示,与 End1/E6E7 细胞相比, MIR17HG 在宫颈癌细胞系 (CasKi、C33A、SiHa、HeLa) 中呈高表达 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$),且在 HeLa 细胞中具有最高的表达丰度。因此选取 HeLa 细胞作为后续实验的工具细胞。



A: TCGA 数据库显示 MIR17HG 在宫颈癌中的表达水平; B: TCGA 数据库显示 MIR17HG 在宫颈癌不同分期患者中的表达水平; C: TCGA 数据库显示 MIR17HG 在宫颈癌不同地域患者中的表达水平; D: TCGA 数据库显示 MIR17HG 在宫颈癌不同体重患者中的表达水平; E: TCGA 数据库显示 MIR17HG 在宫颈癌不同年龄患者中的表达水平; F: TCGA 数据库显示 MIR17HG 在宫颈癌不同亚类患者中的表达水平

图1 TCGA 数据库分析 MIR17HG 在宫颈癌组织中的表达水平及其与临床特征之间的相关性



与 End1/E6E7 细胞相比, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

A: qPCR 检测宫颈癌组织中 MIR17HG 的水平; B: qPCR 检测宫颈癌细胞中 MIR17HG 的水平

图2 MIR17HG 在宫颈癌组织及细胞中的表达水平

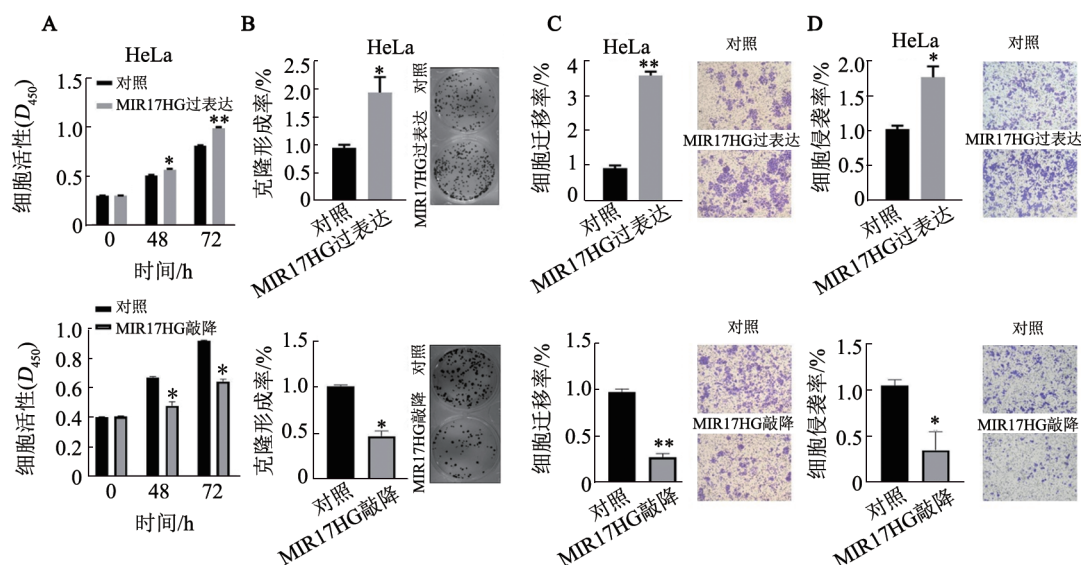
2.3 过表达 MIR17HG 促进 HeLa 细胞的增殖和迁移侵袭能力

CCK-8 实验和克隆形成实验结果(图 3A、B)显

示, MIR17HG 过表达组 HeLa 的细胞活性及克隆形成能力均显著高于对照组, 而 MIR17HG 敲降组细胞活性及克隆形成能力均显著低于对照组 ($P < 0.05$)

或 $P < 0.01$)。Transwell 迁移和侵袭实验结果(图 3C、D)显示,与相应的对照组相比,MIR17HG 过表达组 HeLa 细胞迁移和侵袭能力均显著升高,而 MIR17HG

敲降组细胞的迁移和侵袭能力则显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$)。



与对照组相比,* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

A: CCK-法8检测 MIR17HG 表达水平对 HeLa 细胞活性的影响;B: 克隆形成实验检测 MIR17HG 表达水平对 HeLa 细胞增殖能力的影响;C、D: Transwell 实验检测 MIR17HG 表达水平对 HeLa 细胞迁移(C)、侵袭(D)能力的影响

图3 MIR17HG 促进 HeLa 细胞的增殖、迁移和侵袭

2.4 MIR17HG 通过 miR-377 调控 HeLa 细胞中 TRIM25 的表达

ENCORI 生物信息学预测软件预测结果显示, MIR17HG 与很多个基因存在潜在的相互作用(图 4A),且 MIR17HG 的表达与 TRIM25 的表达呈正相关关系(图 4B)。qPCR 检测结果(图 4C)显示, MIR17HG 过表达组 HeLa 细胞中 TRIM25 mRNA 水平较对照组明显上调($P < 0.01$),而 MIR17HG 敲降组细胞 TRIM25 mRNA 水平较对照组明显下调($P < 0.001$)。WB 法检测结果(图 4D)显示,过表达 MIR17HG 后 TRIM25 蛋白水平上调,而敲降 MIR17HG 后 TRIM25 蛋白水平下调。已有文献^[10]报道 MIR17HG 能够在胶质瘤中结合并下调 miR-377 的表达,本课题组采用 Targetscan 预测 miR-377 的潜在靶基因是 TRIM25(图 4E)。EGFP 报告载体实验结果表明 miR-377 能够显著下调 EGFP 的荧光活性(图 4F)。过表达 MIR17HG 上调 TRIM25 mRNA 水平,而共表达 MIR17HG 和 miR-377 可以挽救 MIR17HG 介导的 TRIM25 mRNA 水平的上调(图 4G)。

2.5 TRIM25 在宫颈癌组织中高表达,且其表达水平与患者分期呈正相关

TCGA 数据库分析结果显示,TRIM25 在宫颈癌组织中呈高表达($P < 0.05$,图 5A),其表达水平在宫颈癌组织中有随着分期的恶性程度增高而增高的趋势

(图 5B),TRIM25 的表达水平与患者的地域(图 5C)、体重(图 5D)、年龄(图 5E)和临床分级(图 5F)不存在相关关系。

2.6 高表达 MIR17HG 及 TRIM25 的宫颈癌患者预后不良

Kaplan-Meier Plotter 分析发现, MIR17HG 高表达组的宫颈癌患者的生存期明显低于 MIR17HG 低表达组肿瘤患者($P < 0.05$,图 6A),TRIM25 高表达组的宫颈癌患者的生存期明显低于 TRIM25 低表达组肿瘤患者($P < 0.05$,图 6B)。

2.7 MIR17HG 调控 PTEN-AKT 信号通路及裸鼠移植瘤生长

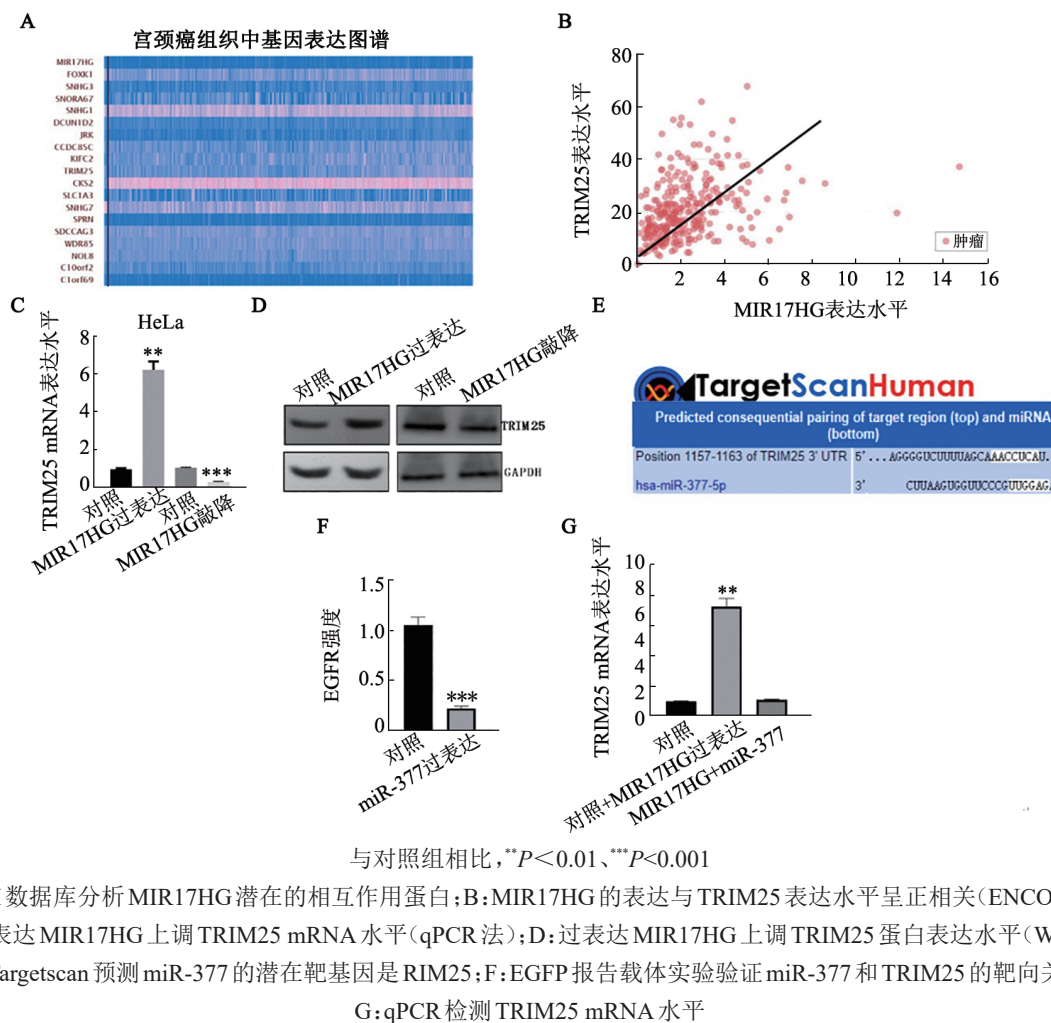
WB 检测结果(图 7A)显示,过表达 MIR17HG 组 HeLa 细胞中 PTEN 蛋白表达水平较对照组有所降低,而 AKT 和 S6K 蛋白的磷酸化水平有所上调;敲降 MIR17HG 组 PTEN 蛋白表达水平则高于对照组,而 AKT 和 S6K 蛋白的磷酸化水平下调。移植瘤实验结果显示, MIR17HG 过表达组裸鼠移植瘤的大小(7B)和生长能力(7C)均高于对照组($P < 0.05$)。

3 讨论

目前,很多研究^[13-15]报道,lncRNA 参与了宫颈癌的发生发展。MIR17HG 的表达水平在肝转移患者中显著升高,高 MIR17HG 表达预示着生存率低^[9]。

MIR17HG 作为 ceRNA 通过 miR-138-5p 调节 HK1 表达, 导致 CRC 细胞中的糖酵解并促进其侵袭和肝转移。有趣的是, 通过糖酵解积累的乳酸激活了 p38/Elk-1 信号通路, 促进了 CRC 细胞中 MIR17HG 的转录表达, 形成了一个正反馈回路, 最终导致了持续的糖酵解和 CRC 细胞的侵袭和肝转移^[9]。另外, MIR17HG 在胶质瘤中上调, 参与促进胶质瘤的增殖、

迁移和侵袭。MIR17HG 分别与 miR-153 和 miR-377 结合, 并负调控它们介导 FOXR2 表达的能力^[10]。MENG 等^[6]报道称 MIR17HG 在体外促进了骨肉瘤细胞的增殖、侵袭和顺铂耐药性, 而 MIR17HG 敲低抑制了体内骨肉瘤移植的生长。MIR17HG 通过 SP1/MIR17HG/miR-130a-3p/SP1 反馈回路在骨肉瘤进展中发挥促进作用。



A: ENCORI 数据库分析 MIR17HG 潜在的相互作用蛋白; B: MIR17HG 的表达与 TRIM25 表达水平呈正相关 (ENCORI 数据库);

C: 过表达 MIR17HG 上调 TRIM25 mRNA 水平 (qPCR 法); D: 过表达 MIR17HG 上调 TRIM25 蛋白表达水平 (WB 法);

E: Targetscan 预测 miR-377 的潜在靶基因是 TRIM25; F: EGFP 报告载体实验验证 miR-377 和 TRIM25 的靶向关系;

G: qPCR 检测 TRIM25 mRNA 水平

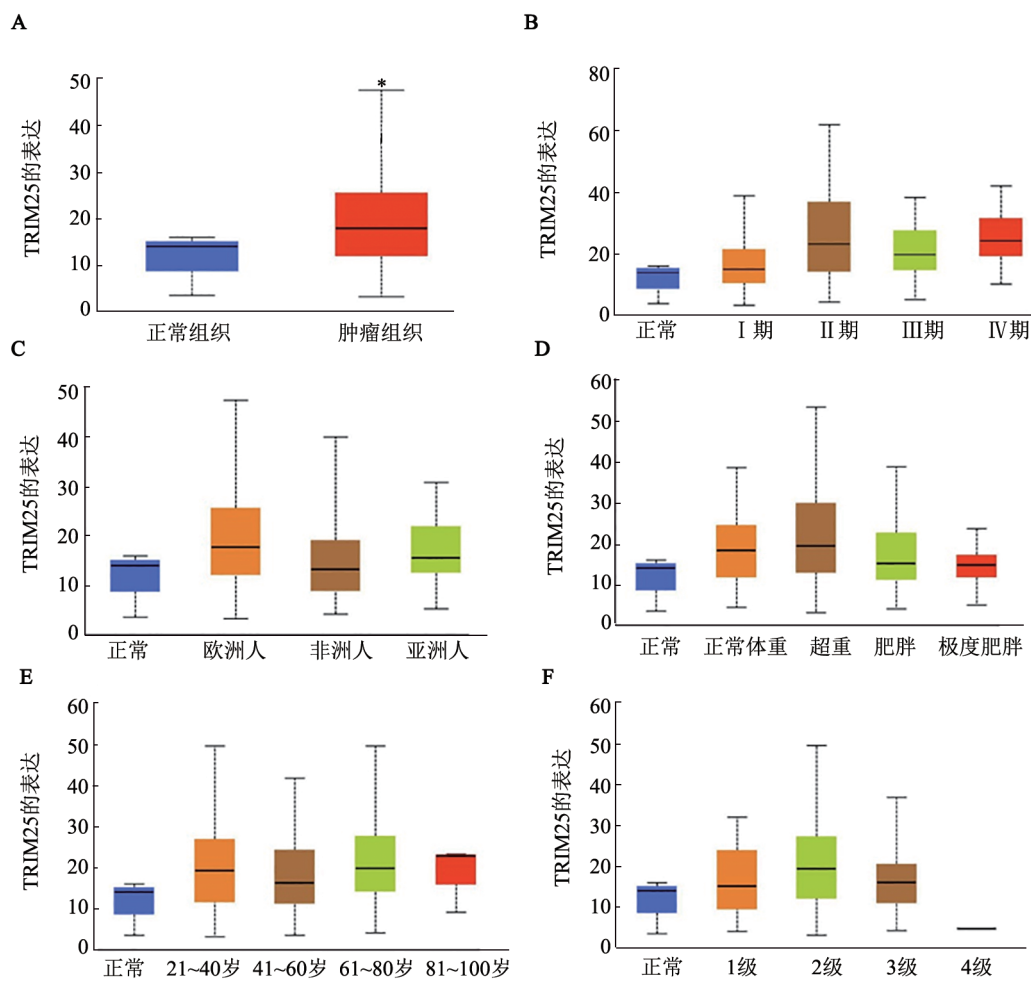
图4 MIR17HG 通过 miR-377 上调 TRIM25

但是, MIR17HG 的异常表达是否与宫颈癌的发生发展有关还未可知。本研究发现, MIR17HG 的表达水平在宫颈癌组织和细胞中都是上调的, 其表达水平与宫颈癌的恶性程度呈正相关; 并且 TCGA 数据库分析 MIR17HG 的表达水平发现, 其在宫颈癌中的表达水平也是上调的, 这与本研究的检测结果相一致。另外, 本研究发现, 过表达 MIR17HG 能够促进 HeLa 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。根据上述已经发表的文献内容并结合本实验结果, 推测 HOPX 基因能够作为促癌因子在很多肿瘤的发生发展中起重要的调控作用。

TRIM25 是 TRIM 家族的成员之一, 是由一个 N

末端三方基序 (或基序 RBCC) 和 C 端 SPRY 结构域构成, 在多个依赖于 RNA 的通路中起到非常重要的作用^[17]。TRIM25 在包含结直肠癌^[18], 肺癌^[19] 和乳腺癌^[20] 等在内的多种癌症中是高表达的。本研究发现, TRIM25 在宫颈癌组织中呈高表达, 且其表达水平与患者肿瘤分期呈正相关。MIR17HG 能够上调 TRIM25 表达, 高表达 MIR17HG 及 TRIM25 的宫颈癌患者预后不良。HE 等^[21] 报道, TRIM25 通过 K63 连接的多泛素化抑制非小细胞肺癌中的 PTEN 来激活 AKT/mTOR 信号通路。因此, 推测 MIR17HG 可能会调控 AKT 信号通路。实验结果显示, MIR17HG 能够显著抑制 PTEN 蛋白表达水平, 并显著上调 AKT 和

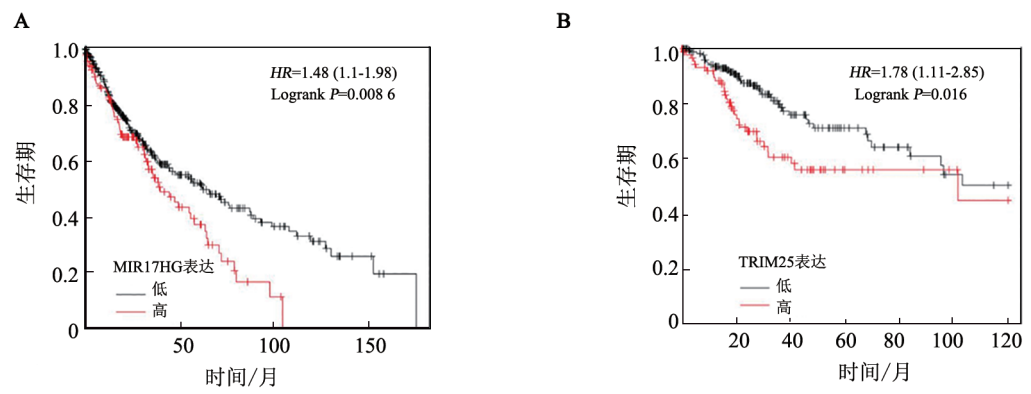
S6K 蛋白的磷酸化水平。
总之, MIR17HG 通过 miR-377 调控 TRIM25 表达发挥促癌基因的作用。MIR17HG 通过调控 PTEN-AKT 信号通路在宫颈癌的发生发展中发挥重要的作用。



与正常宫颈组织相比, * $P<0.05$

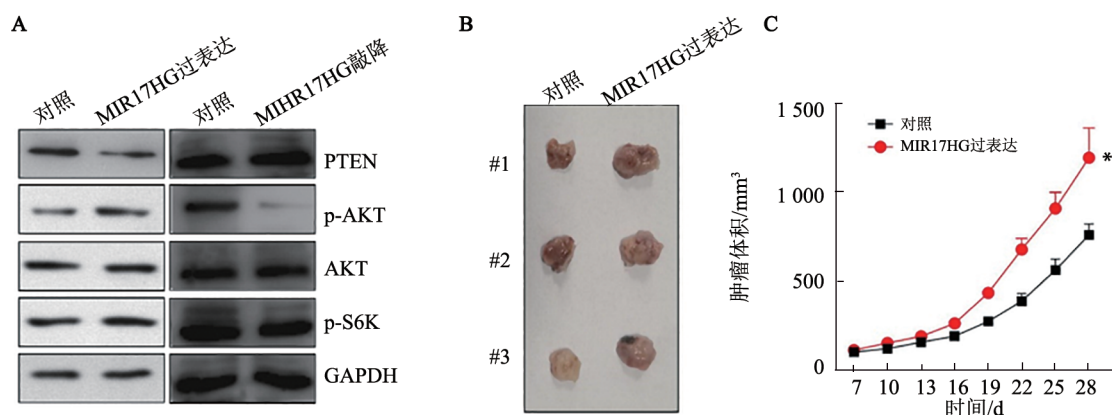
A: TCGA 数据库显示 TRIM25 在宫颈癌中的表达水平; B: TCGA 数据库显示 TRIM25 在宫颈癌不同分期患者中的表达水平; C: TCGA 数据库显示 TRIM25 在宫颈癌不同体重患者中的表达水平; D: TCGA 数据库显示 TRIM25 在宫颈癌不同地域患者中的表达水平; E: TCGA 数据库显示 TRIM25 在宫颈癌不同年龄患者中的表达水平; F: TCGA 数据库显示 TRIM25 在宫颈癌不同分级患者中的表达水平; 1 级: 分化良好; 2 级: 中等分化; 3 级: 低分化; 4 级: 未分化

图5 TCGA 数据库分析 TRIM25 的宫颈癌患者中的表达水平



A: 高表达 MIR17HG 的宫颈癌患者预后不良 (Kaplan-Meier Plotter 分析);
B: 高表达 TRIM25 的宫颈癌患者预后不良 (Kaplan-Meier Plotter 分析)

图6 Kaplan-Meier Plotter 分析 MIR17HG 和 TRIM25 表达水平与宫颈癌患者预后的关系



与对照组相比, * $P < 0.05$

A, B: WB法检测 MIR17HG 对 PTEN-AKT 信号通路相关蛋白的影响; C: MIR17HG 过表达促进移植瘤的生长;

D: MIR17HG 过表达 HeLa 细胞裸鼠移植瘤生长曲线

图 7 MIR17HG 可能通过调控 PTEN-AKT 信号通路促进 HeLa 细胞裸鼠移植瘤生长

[参考文献]

- [1] BARRA F, LORUSSO D, LEONE ROBERTI MAGGIORE U, *et al.* Investigational drugs for the treatment of cervical cancer[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2017, 26(4): 389-402. DOI: 10.1080/13543784.2017.1302427.
- [2] COHEN P A, JHINGRAN A, OAKNIN A, *et al.* Cervical cancer[J]. *Lancet*, 2019, 393(10167): 169-182. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32470-X.
- [3] DI J L, 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] EMERIBE A U, ABDULLAHI I N, ETUKUDO M H, *et al.* The pattern of human papillomavirus infection and genotypes among Nigerian women from 1999 to 2019: a systematic review[J]. *Ann Med*, 2021, 53(1): 944-959. DOI: 10.1080/07853890.2021.1938201.
- [5] MARQUINA G, MANZANO A, CASADO A. Targeted agents in cervical cancer: beyond bevacizumab[J/OL]. *Curr Oncol Rep*, 2018, 20(5): 40 [2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29611060/>. DOI: 10.1007/s11912-018-0680-3.
- [6] WINKLE M, EL-DALY S M, FABBRI M, *et al.* Noncoding RNA therapeutics - challenges and potential solutions[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(8): 629-651. DOI: 10.1038/s41573-021-00219-z.
- [7] BAI X D, HUA S Y, ZHANG J P, *et al.* The microRNA family both in normal development and in different diseases: the miR-17-92 cluster[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 9450240 [2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30854399/>. DOI: 10.1155/2019/9450240.
- [8] FAN B H, SHEN C F, WU M L, *et al.* miR-17-92 cluster is connected with disease progression and oxaliplatin/capecitabine chemotherapy efficacy in advanced gastric cancer patients: a preliminary study[J/OL]. *Medicine*, 2018, 97(35): e12007 [2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30170406/>. DOI: 10.1097/MD.00000000000012007.
- [9] ZHAO S L, GUAN B J, MI Y S, *et al.* LncRNA MIR17HG promotes colorectal cancer liver metastasis by mediating a glycolysis-associated positive feedback circuit[J]. *Oncogene*, 2021, 40(28): 4709-4724. DOI: 10.1038/s41388-021-01859-6.
- [10] LENG X, MA J, LIU Y H, *et al.* Mechanism of piR-DQ590027/MIR17HG regulating the permeability of glioma conditioned normal BBB[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 246 [2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30305135/>. DOI: 10.1186/s13046-018-0886-0.
- [11] CHAO X, FENG X S, SHI H L, *et al.* MIR17HG polymorphism (rs7318578) is associated with liver cancer risk in the Chinese Han population[J/OL]. *Biosci Rep*, 2020, 40(8): BSR20193312 [2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32748943/>. DOI: 10.1042/BSR20193312.
- [12] PLUM P S, WARNECKE-EBERZ U, DREBBER U, *et al.* Upregulation of miR-17-92 cluster is associated with progression and lymph node metastasis in oesophageal adenocarcinoma[J/OL]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12113 [2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31431687/>. DOI: 10.1038/s41598-019-48624-0.
- [13] CHENG T C, HUANG S G. Roles of non-coding RNAs in cervical cancer metastasis[J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 646192 [2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33777808/>. DOI: 10.3389/fonc.2021.646192.
- [14] CÁCERES-DURÁN M Á, RIBEIRO-DOS-SANTOS Â, VIDAL A F. Roles and mechanisms of the long noncoding RNAs in cervical cancer[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9742 [2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33371204/>. DOI: 10.3390/ijms21249742.
- [15] SALMERÓN-BÁRCENAS E G, MENDOZA-CATALÁN M A, ILLADES-AGUIAR B, *et al.* Long non-coding RNAs as new players in cervical carcinogenesis: an update[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(16): 8314-8328. DOI: 10.26355/eurrev_202008_22628.
- [16] MENG Y B, HAO D J, HUANG Y F, *et al.* Positive feedback loop SP1/MIR17HG/miR-130a-3p promotes osteosarcoma proliferation and cisplatin resistance[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(3): 739-745. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.10.180.
- [17] ZHENG X J, WANG X L, TU F, *et al.* TRIM25 is required for the antiviral activity of zinc finger antiviral protein[J/OL]. *J Virol*,

- 2017, 91(9): e00088-e00017[2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28202764/>. DOI:10.1128/JVI.00088-17.
- [18] QIN Y, CUI H, ZHANG H. Overexpression of TRIM25 in lung cancer regulates tumor cell progression[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2016, 15(5): 707-715. DOI:10.1177/1533034615595903.
- [19] ZHOU S, PENG J H, XIAO L N, *et al.* TRIM25 regulates oxaliplatin resistance in colorectal cancer by promoting EZH2 stability[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(5): 463[2022-05-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33966039/>. DOI:10.1038/s41419-021-03734-4.
- [20] WALSH L A, ALVAREZ M J, SABIO E Y, *et al.* An integrated systems biology approach identifies TRIM25 as a key determinant of breast cancer metastasis[J]. *Cell Rep*, 2017, 20(7): 1623-1640. DOI:10.1016/j.celrep.2017.07.052.
- [21] HE Y M, ZHOU X M, JIANG S Y, *et al.* TRIM25 activates AKT/mTOR by inhibiting PTEN via K63-linked polyubiquitination in non-small cell lung cancer[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(3): 681-691. DOI:10.1038/s41401-021-00662-z.
- [收稿日期] 2022-05-24 [修回日期] 2022-08-16
[本文编辑] 黄静怡