DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2026.09.006

·临床研究·

hsa_circ_0084927促进宫颈癌恶性生物学行为的作用机制

张楠[1],郭依琳[1,2],王璐[1,2],高一盈[1],宰露荧[1],徐臻[1][1.郑州大学第二附属医院 妇产科,河南 郑州 450014;2.河南省妇产疾病(妇科肿瘤)临床医学研究中心,河南 郑州 450014]

[摘 要] **目的:**探讨hsa_circ_0084927促进宫颈癌恶性生物学行为的作用机制。**方法:**通过高通量测序在宫颈癌组织中筛选获得高表达的hsa_circ_0084927,经生物信息学预测其互作miRNA,即miR-874-3p和下游靶基因真核翻译起始因子4E结合蛋白1(EIF4EBP1)。采用RT-qPCR检测hsa_circ_0084927、miR-874-3p及EIF4EBP1在宫颈癌组织和细胞系中的表达,并分析hsa_circ_0084927表达水平与宫颈癌患者临床病理特征之间的关系。通过CCK-8实验、划痕愈合实验、Transwell侵袭实验及流式细胞术,评估敲低hsa_circ_0084927对HeLa和SiHa细胞增殖、迁移、侵袭能力及凋亡的影响。双萤光素酶报告基因实验、挽救实验检测hsa_circ_0084927与miR-874-3p,以及miR-874-3p与EIF4EBP1之间的靶向调控关系。**结果:**hsa_circ_0084927在宫颈癌组织中的表达显著高于配对的癌旁组织($P<0.000\ 1$)。与宫颈上皮永生化细胞H8相比,宫颈癌HeLa和SiHa细胞中hsa_circ_0084927表达上调(均$P<0.000\ 1$)。hsa_circ_0084927高表达组与低表达组在国际妇产科联盟(FIGO)分期方面差异具有统计学意义($P<0.001$)。敲低hsa_circ_0084927可显著抑制HeLa和SiHa细胞的增殖(均$P<0.000\ 1$)、迁移(均$P<0.000\ 1$)和侵袭能力(均$P<0.05$),并促进细胞凋亡(均$P<0.001$)。双萤光素酶报告基因实验支持hsa_circ_0084927与miR-874-3p,以及miR-874-3p与EIF4EBP1之间存在靶向结合关系,挽救实验进一步提示该调控轴参与宫颈癌细胞增殖(均$P<0.05$)。**结论:**hsa_circ_0084927可能通过miR-874-3p/EIF4EBP1轴促进宫颈癌细胞增殖,并参与宫颈癌恶性进展。

[关键词] 宫颈癌;环状RNA;hsa_circ_0084927;miR-874-3p;EIF4EBP1
[中图分类号] R737.33;R730.53 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2026)09-0975-09

Mechanism by which hsa_circ_0084927 promotes malignant biological behaviors in cervical cancer

Zhang Nan[1], Guo Yilin[1,2], Wang Lu[1,2], Gao Yiying[1], Zai Luying[1], Xu Zhen[1] (1. Department of Obstetrics and Gynecology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, Henan, China; 2. Henan Clinical Research Center for Obstetric and Gynecologic Diseases [Gynecologic Oncology], Zhengzhou 450014, Henan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism by which hsa_circ_0084927 promotes the malignant biological behaviors of cervical cancer. **Methods:** hsa_circ_0084927 was identified through high-throughput sequencing in cervical cancer tissues. Bioinformatics analysis was performed to predict its interacting miRNA, miR-874-3p, and the downstream target gene eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1 (EIF4EBP1). RT-qPCR was employed to measure the expression levels of hsa_circ_0084927, miR-874-3p, and EIF4EBP1 in cervical cancer tissues and cell lines, and the association between hsa_circ_0084927 expression and clinicopathological features was analyzed. Functional effects of hsa_circ_0084927 knockdown on proliferation, migration, invasion, and apoptosis in HeLa and SiHa cells were assessed using CCK-8, wound healing, Transwell invasion, and flow cytometry assays. The targeted regulatory relationships between hsa_circ_0084927 and miR-874-3p, as well as between miR-874-3p and EIF4EBP1, were validated by dual-luciferase reporter assays and rescue experiments. **Results:** hsa_circ_0084927 was significantly upregulated in cervical cancer tissues compared with paired adjacent non-tumor tissues ($P<0.000\ 1$). Furthermore, compared with the immortalized cervical epithelial cell line H8, the expression of hsa_circ_0084927 was significantly upregulated in both HeLa and SiHa cervical cancer cell lines (all $P<0.000\ 1$). The distribution of International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stage ($P<0.001$) between the hsa_circ_0084927 high-expression group and low-expression group was statistically significant. Knockdown of hsa_circ_0084927 markedly inhibited proliferation (all $P<0.000\ 1$), migration (all $P<0.000\ 1$), and invasion (all $P<0.05$), while promoting apoptosis (all $P<0.001$) compared with controls. Dual-luciferase reporter assays supported direct interactions between hsa_circ_0084927 and miR-874-3p and between miR-874-3p and EIF4EBP1; rescue experiments further indicated that this regulatory

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20240310)
[作者简介] 张楠(2001—),女,硕士,住院医师
[通信作者] 徐臻(扫码获取作者通信方式)

axis contributes to cervical cancer cell proliferation (all $P < 0.05$). **Conclusion:** hsa_circ_0084927 may promote cervical cancer cell proliferation through the miR-874-3p/EIF4EBP1 axis and thereby contribute to malignant progression.

[Key words] cervical cancer; circular RNA; hsa_circ_0084927; miR-874-3p; EIF4EBP1

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(9): 975-983. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2026.09.006]

2022年全球癌症统计报告表明，宫颈癌新发病例约66万，死亡病例近35万，发病率和死亡率在女性恶性肿瘤中均位居第四位，疾病负担沉重[1]。高危型人乳头瘤病毒（high-risk human papillomavirus, HR-HPV）的持续感染是宫颈上皮内瘤变及宫颈癌发生的关键因素，其中约70%的宫颈癌病例与HPV-16和HPV-18型感染相关[2]。病毒在宫颈上皮中长期存留可诱导细胞异常增殖，进而驱动癌前病变向浸润性癌进展[3]。尽管现有治疗策略（包括手术、放疗、化疗及其联合方案）已获得较好的临床获益，但晚期患者的预后仍不理想[4]。因此，深入研究宫颈癌的分子机制，探寻有效的诊断和治疗靶点具有重要的临床意义。环状RNA（circular RNA, circRNA）是一类包含共价闭合环状结构的非编码RNA，与宫颈癌进展紧密相关[5]。circRNA存在多个微小RNA（microRNA, miRNA）的结合位点，通常作为miRNA海绵来吸附miRNA，调控靶基因的表达[6]。本课题组前期通过高通量测序技术对5对宫颈癌及癌旁组织中的circRNA表达谱进行测序分析。结合GSE102686数据集筛选出115个差异表达的circRNA，并与测序结果取交集，最终确定hsa_circ_0084927为研究目标[7]。然而，hsa_circ_0084927在宫颈癌中的具体作用机制尚不清楚。已有研究[8]表明，circESRP1可通过miR-874-3p/CPEB4轴促进子宫内膜癌细胞增殖、转移及上皮-间充质转化，提示miR-874-3p相关circRNA调控可能参与妇科恶性肿瘤进展。此外，哺乳动物西罗莫司靶蛋白复合物1（mechanistic target of rapamycin complex 1, mTORC1）信号通路在宫颈癌的发生发展中发挥重要作用，其关键下游效应分子真核翻译起始因子4E结合蛋白1（eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1, 4E-BP1，由EIF4EBP1编码）磷酸化后可解除对真核翻译起始因子4E（eukaryotic translation initiation factor 4E, eIF4E）的抑制，从而促进帽依赖性翻译，其异常高表达在乳腺癌和髓母细胞瘤等恶性肿瘤中已有报道，并与不良预后相关[9-10]。基于上述研究背景，本研究通过生物信息学分析预测hsa_circ_0084927与miR-874-3p之间存在潜在结合位点，且EIF4EBP1是miR-874-3p的潜在靶基因。本研究拟通过分析hsa_circ_0084927、miR-874-3p与靶基因EIF4EBP1之间的相互作用，阐述该调控轴在促进宫颈癌恶性生物学行为中的分子机制，为开发新的诊断标志物和治疗靶点提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　临床对象和样本

选取2020年1月至2023年12月于郑州大学第二附属医院行手术治疗的35例宫颈癌患者作为研究对象。所有标本离体后于液氮中速冻，随后转移至−80 ℃冰箱保存。纳入标准：经病理学确诊为宫颈癌，且术中可获取配对的癌旁组织（经病理学证实无肿瘤细胞浸润）；临床病理资料完整；术前未接受过化疗和放疗。排除标准：复发性宫颈癌；临床病理资料不完整；曾接受放疗、化疗、靶向治疗、免疫治疗或其他生物治疗；伴有其他未治愈的恶性肿瘤；合并精神类疾病。所有参与者均自愿签署知情同意书，且研究方案已获郑州大学第二附属医院伦理审查委员会的批准（审批号：KY2025074）。

采用RT-qPCR检测35例宫颈癌组织中hsa_circ_0084927的表达水平，并分析其与临床病理特征的关系。另从中选取15例配对完整且质控合格的癌及癌旁组织，用于验证hsa_circ_0084927、miR-874-3p及EIF4EBP1在肿瘤及癌旁组织中的差异表达及相关性。

1.2　细胞、试剂和引物

人宫颈鳞癌细胞系SiHa、人宫颈腺癌细胞系HeLa及人胚肾细胞系HEK293T均购自武汉普诺赛生命科技有限公司，人宫颈上皮永生化细胞系H8购自中国典型培养物保藏中心。

小干扰RNA（small interfering RNA, siRNA）及其阴性对照（negative control small interfering RNA, si-NC）、miR-874-3p模拟物（mimics）、miR-874-3p抑制剂（inhibitor）、hsa_circ_0084927的野生型（wild type, WT）序列和突变型（mutant, MUT）序列及EIF4EBP1的WT序列和MUT序列由北京擎科生物科技股份有限公司合成，pGL3-Basic和pmirGLO载体购自美国Promega公司。

TRIzol购自武汉赛维尔生物科技有限公司，HiScript Ⅲ RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)、miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Kit、ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix试剂盒购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司，DMEM培养基、MEM培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司，Opti-MEM培养基购自美国Thermo Fisher Scientific公司，Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒和CCK-8细

胞增殖检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司，4%多聚甲醛购自上海国药集团化学试剂有限公司，基质胶购自美国Corning公司，结晶紫染液、双萤光素酶报告基因检测试剂盒、Lipo8000转染试剂购自上海碧云天生物技术股份有限公司。

1.3 细胞培养、转染和分组

HeLa、H8及HEK293T细胞均采用含1%青-链霉素和10%胎牛血清的DMEM培养基培养，SiHa细胞采用1%青-链霉素和10%胎牛血清的MEM培养基培养。所有细胞置于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养。取对数生长期的细胞，经胰酶消化后接种于6孔板，按照Lipo8000说明书分别转染HeLa和SiHa细胞。实验分为si-NC组、si-hsa_circ_0084927组、miR-874-3p inhibitor组、si-hsa_circ_0084927 + miR-874-3p inhibitor组及miR-874-3p inhibitor + si-EIF4EBP1组。转染24 h后收集细胞，用于后续实验分析。

1.4 hsa_circ_0084927/miR-874-3p/EIF4EBP1轴的生物信息学分析

课题组前期利用StarBase、CircInteractome、CircBank及miRDB等数据库预测hsa_circ_0084927潜在的互作miRNA，筛选出miR-874-3p作为候选分子[7]。随后，利用miRDB、TargetScan及StarBase数据库预测miR-874-3p下游靶基因，并取三个数据库预测结果的交集。进一步筛选，最终确定EIF4EBP1作为潜在靶基因。筛选标准如下：(1)靶基因在宫颈癌中呈高表达，且与miR-874-3p水平呈负相关；(2)miRDB评分≥80分且TargetScan context^{++}评分为显著负值；(3)miRNA-mRNA杂交自由能绝对值较高，提示结合稳定。

为进一步验证靶向关系，利用RNAhybrid(https://bibiserv. cebitec. uni-bielefeld. de/rnahybrid)及CircInteractome(https://circinteractome.nia.nih.gov/)预测发现，hsa_circ_0084927序列含与miR-874-3p种子区(3'-GUCCCGU-5')互补的位点(5'-CAGGGCA-3')。同时，TargetScan(https://www.targetscan.org/)预测显示EIF4EBP1 3' UTR区也含有一段与miR-874-3p种子区互补的结合位点(5'-CAGGGCA-3')。

1.5 RT-qPCR检测宫颈癌患者hsa_circ_0084927、miR-874-3p及EIF4EBP1的表达情况

按照TRIzol说明书提取宫颈癌及配对癌旁组织的总RNA，经NanoDrop定量后，取1 μg总RNA用于逆转录。其中，circRNA和mRNA采用HiScript Ⅲ RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)试剂盒去除基因组DNA并合成第一链cDNA(37 ℃ 15 min，85 ℃ 5 s)；miRNA采用miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Kit经茎环引物法完成逆转录(25 ℃ 5 min，50 ℃ 15 min，85 ℃ 5 min)。按照ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix说明书进行qPCR，扩增程序如下：95 ℃预变性30 s；95 ℃ 5 s、60 ℃ 30 s，共40个循环；扩增结束后进行熔解曲线分析。每个样本设置3个复孔，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算各基因的相对表达水平。引物序列见表1，siRNA和miRNA模拟物、抑制物序列见表2。

表1 引物序列

名称	正向引物(5′-3′)	反向引物(5′-3′)
hsa_circ_0084927	GTGCAGCAAGATGGAAC	AGTCCTTTGAAGAATCTTGC
miR-874-3p	CTGCCCTGGCCCGAGG	GTGCAGGGTCCGAGGT
EIF4EBP1	CGGAACTCACCTGTGACCAAA	ATGTCCATCTCAAACTGTGACTCTT
U6	CTCGCTTCGGCAGCACA	AACGCTTCACGAATTTGCGT
内参GAPDH	GGAAGCTTGTCATCAATGGAAATC	TGATGACCCTTTTGGCTCCC

表2 RNA寡核苷酸序列

RNA寡核苷酸	序列(5'-3')
si-hsa_circ_0084927-1	UGGUGCAGCAAGAUGGAACUUUU
si-hsa_circ_0084927-2	UUAAAAUUGCUGGUGCAGCAAUU
si-hsa_circ_0084927-3	AAUUGCUGGUGCAGCAAGAUGUU
miR-874-3p inhibitor	UCGGUCCCUCGGGCCAGGGCAG
miR-874-3p mimics	CUGCCCUGGCCCGAGGGACCGA
si-EIF4EBP1	GAUCAUCUAUGACCGGAAAUU
si-NC	UUCUCCGAACGUGUCACGU

1.6 CCK-8实验检测宫颈癌细胞增殖能力

细胞以约4 000个/孔的密度接种于96孔板，同时设置不含细胞的空白对照孔。培养6 h待细胞贴壁后作为0 h基线，分别于0、24、48、72 h向各孔加入

10 μL CCK-8溶液，避光培养2 h后使用酶标仪检测450 nm处光密度（D_{450}）值。公式如下：相对增殖能力=（各时间点实验组D_{450}均值−空白孔D_{450}均值）÷（同组0 h D_{450}均值−空白孔D_{450}均值）×100%。

1.7　细胞划痕愈合试验检测宫颈癌细胞迁移能力

细胞以约2 × 10^5个/孔的密度接种于6孔板，24 h后，用10 μL移液器吸头在孔底垂直划线。PBS轻轻润洗后换用无血清培养基。分别于划痕后0、24及48 h，使用ImageJ软件测量0、24、48 h的划痕宽度，按公式计算划痕愈合率：划痕愈合率=（W_0-W_t）/W_0×100%（W_0为0 h宽度，W_t为24 h或48 h宽度）。

1.8　细胞侵袭实验检测宫颈癌细胞侵袭能力

于冰上使用Opti-MEM培养基按1∶8（v/v）的比例稀释基质胶。取80 μL稀释液加入24孔Transwell小室的上层，于培养箱中反应1 h。将HeLa细胞（约5 × 10^4个/200 μL）或SiHa细胞（1 × 10^5个/200 μL）接种至上室，下室加入600 μL含10%胎牛血清的完全培养基。于37 ℃、5% CO_2条件下培养24 h后，擦除上室未穿膜细胞，经4%多聚甲醛固定细胞15 min，结晶紫染色20 min。显微镜下观察并拍照，随机选择5个视野以统计穿膜细胞的数量。

1.9　流式细胞术检测宫颈癌细胞凋亡能力

采用1 × Binding Buffer重悬细胞并调整密度至1 × 10^6个/mL。取200 μL细胞悬液置于流式管中，依次加入5 μL Annexin V-FITC与5 μL PI染色液，轻柔混匀，室温避光反应约15 min。反应结束后加入400 μL 1 × Binding Buffer混匀，于1 h内上机检测。设置分组如下：空白对照组；Annexin V-FITC单染组；PI单染组，以及双染组，以区分不同凋亡阶段。总细胞凋亡率按早期凋亡率（Annexin V^+/PI^-）与晚期凋亡率（Annexin V^+/PI^+）之和进行计算。

1.10　双荧光素酶报告基因实验检测hsa_circ_0084927与miR-874-3p、miR-874-3p与EIF4EBP1的靶向结合关系

为验证hsa_circ_0084927与miR-874-3p、miR-874-3p与EIF4EBP1之间的靶向结合关系，分别构建了野生型（WT）及突变型（MUT）双荧光素酶报告质粒。其中，hsa_circ_0084927的WT序列为5'-CAGGGCA-3'，MUT序列突变为5'-CAGUUUA-3'；EIF4EBP1的WT序列为5'-CAGGGCA-3'，MUT序列突变为5'-CUUGGUA-3'。随后，将上述WT及MUT片段分别克隆至pGL3-Basic载体和pmirGLO载体中。各组报告质粒分别与阴性对照模拟物（negative control mimics, NC mimics）或miR-874-3p mimics共转染至HEK293T细胞。其中，pGL3-Basic组需同时转染海肾萤光素酶内参质粒pRL-TK以校正转染效率，而pmirGLO组因自身携带Renilla基因无需额外内参。转染48 h后，用双萤光素酶报告基因检测试剂盒检测Firefly和Renilla萤光素酶活性，以Firefly/Renilla比值反映相对萤光素酶活性。

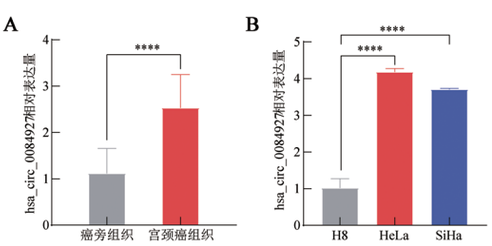
1.11　统计学处理

本研究应用GraphPad Prism 8.0及SPSS 27.0软件进行数据分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，计数资料以n（%）表示。组间比较采用Fisher精确检验，两组间比较采用独立样本t检验（方差齐）或Welch校正t检验（方差不齐），多组间比较采用单因素或双因素方差分析（ANOVA）。通过Pearson相关性分析评估hsa_circ_0084927、miR-874-3p与EIF4EBP1表达水平之间的相关性。以$P<0.05$或$P<0.01$表示差异具有统计学意义。所有细胞实验均独立重复3次。

2　结　果

2.1　hsa_circ_0084927在宫颈癌组织中高表达及与临床病理特征之间的相关性

RT-qPCR结果（图1A）显示，hsa_circ_0084927在宫颈癌组织中的表达显著高于配对癌旁组织（$P<0.000\ 1$）。与H8细胞相比，hsa_circ_0084927在HeLa和SiHa细胞中均显著上调（图1B，$P<0.000\ 1$）。此外，在35例宫颈癌患者中，根据hsa_circ_0084927表达水平的中位数，划分为高表达组（$n=18$）和低表达组（$n=17$），分析其与临床病理特征的相关性。结果显示，hsa_circ_0084927高、低表达组的国际妇产科联盟（International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO）分期（2018）分布差异具有统计学意义（$P<0.001$），而在年龄、肿瘤直径、组织学类型、分化程度、间质浸润深度、脉管间隙浸润方面差异无统计学意义（均$P>0.05$），见表3。以上结果表明，hsa_circ_0084927可能在宫颈癌的发生发展过程中发挥促癌作用。



A：hsa_circ_0084927在宫颈癌及配对癌旁组织中的表达水平；B：hsa_circ_0084927在H8、HeLa和SiHa细胞中的表达水平。$n=15$（宫颈癌组织*vs*癌旁组织），$^{****}P<0.000\ 1$。

图1　RT-qPCR检测hsa_circ_0084927在宫颈癌组织及细胞系中的表达

表3 宫颈癌组织中hsa_circ_0084927的表达水平与临床病理特征的相关性

病理特征	hsa_circ_0084927高表达（$n=18$）	hsa_circ_0084927低表达（$n=17$）	P
年龄/岁			1.000
> 50	12（66.7%）	12（70.6%）	
≤ 50	6（33.3%）	5（29.4%）	
FIGO 分期（2018）			< 0.001
Ⅰ期	4（22.2%）	16（94.1%）	
Ⅱ期	14（77.8%）	1（5.9%）	
肿瘤直径/cm			0.443
≤ 4	12（66.7%）	14（82.4%）	
> 4	6（33.3%）	3（17.6%）	
组织学类型			0.603
鳞癌	17（94.4%）	15（88.2%）	
腺癌	1（5.6%）	2（11.8%）	
分化程度			0.725
中/高	11（61.1%）	12（70.6%）	
低	7（38.9%）	5（29.4%）	
间质浸润深度			0.305
≤ 2/3	5（27.8%）	8（47.1%）	
> 2/3	13（72.2%）	9（52.9%）	
脉管间隙浸润			0.176
阴性	5（27.8%）	9（52.9%）	
阳性	13（72.2%）	8（47.1%）	

2.2 敲低hsa_circ_0084927能够抑制宫颈癌细胞增殖、迁移、侵袭，促进凋亡

RT-qPCR结果（图2A）显示，转染3种si-hsa_circ_0084927后，HeLa和SiHa细胞中的hsa_circ_0084927表达均下调，其中si-1组细胞下调最为显著（均$P<0.01$）。因此，选用si-1组细胞用于后续功能研究，命名为si-hsa_circ_0084927组。CCK-8实验结果（图2B）显示，敲低hsa_circ_0084927后，HeLa和SiHa细胞增殖能力均显著降低（均$P<0.000\ 1$）。划痕愈合实验结果（图2C）显示，敲低hsa_circ_0084927后，两种细胞的划痕愈合率下降（均$P<0.000\ 1$）。Transwell侵袭实验进一步证实，敲低hsa_circ_0084927后，与si-NC组相比，穿膜细胞数量显著减少（图2D，均$P<0.05$）。此外，流式细胞术结果（图2E）显示，si-hsa_circ_0084927组的细胞凋亡率较对照组显著升高（均$P<0.001$）。综上，下调hsa_circ_0084927的表达抑制了宫颈癌细胞增殖、迁移及侵袭能力，并促进凋亡。

2.3 hsa_circ_0084927与miR-874-3p存在特异性结合关系

综合生物信息学预测结果、课题组前期测序数据及文献证据[7-8]，本研究最终选择miR-874-3p作为后续实验的研究对象。RT-qPCR结果（图3A）显示，宫颈癌组织中miR-874-3p表达显著低于癌旁组织（$P<0.01$）。在HeLa和SiHa细胞中，敲低hsa_circ_0084927后miR-874-3p的表达水平显著上调（图3B、C，均$P<0.001$）。Pearson相关性分析（图3D）显示，hsa_circ_0084927的表达与miR-874-3p呈显著负相关（$r=-0.57$，$P<0.05$）。通过RNAhybrid及CircInteractome数据库预测发现，hsa_circ_0084927序列中含有与miR-874-3p种子区（3'-GUCCCGU-5'）互补的结合位点（5'-CAGGGCA-3'）（图3E）。双萤光素酶实验（图3F）结果显示，miR-874-3p可特异性降低hsa_circ_0084927萤光素酶活性（$P<0.01$），而对hsa_circ_0084927-MUT无明显影响。上述结果提示，hsa_circ_0084927与miR-874-3p存在特异性结合关系。

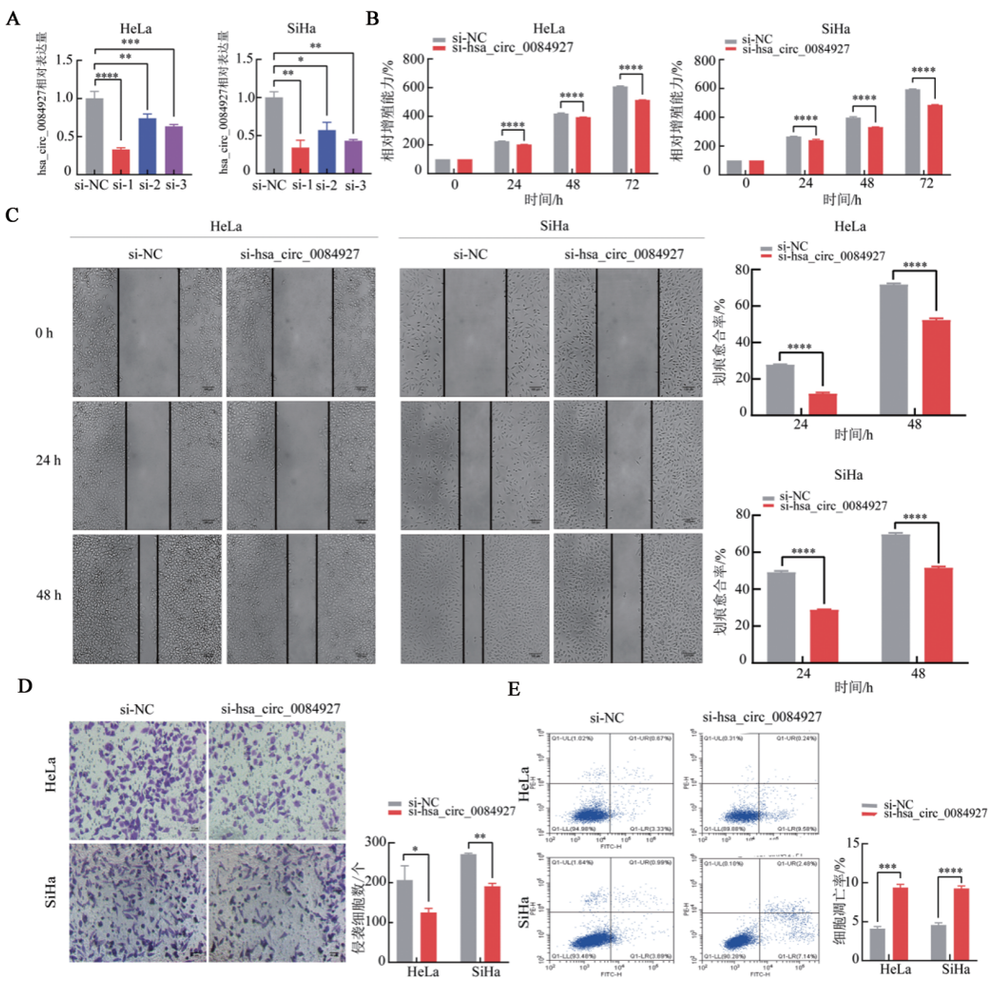
2.4 EIF4EBP1是miR-874-3p的下游靶基因

利用miRDB、TargetScan和StarBase数据库分析miR-874-3p的潜在靶mRNA，取三者交集共筛选出36个靶基因，基于宫颈癌组织中基因表达上调，靶向结合评分较高和自由能绝对值高等标准，最终选择EIF4EBP1作为重点研究的下游靶基因（图4A）。RT-qPCR结果（图4B）显示，EIF4EBP1在宫颈癌组织中的表达显著高于其配对癌旁组织（$P<0.000\ 1$）。Pearson相关性分析（图4C）表明，EIF4EBP1与miR-874-3p表达呈显著负相关（$r=-0.55$，$P<0.05$）。在HeLa和SiHa细胞中转染miR-874-3p inhibitor后，EIF4EBP1 mRNA表达水平显著升高（图4D、E，均$P<0.01$）。双萤光素酶报告基因实验（图4F）表明，miR-874-3p能够显著降低EIF4EBP1-WT组萤光素酶活性（$P<0.000\ 1$），而对EIF4EBP1-MUT组无明显影响。综上，EIF4EBP1是miR-874-3p的直接靶基因，后者通过与其3'-UTR区结合调控其表达。

2.5 hsa_circ_0084927/miR-874-3p/EIF4EBP1轴促进宫颈癌细胞增殖

RT-qPCR结果（图5A、B）显示，与si-NC组相比，si-hsa_circ_0084927组能够显著下调HeLa和SiHa细胞中EIF4EBP1表达（均$P<0.000\ 1$）；与si-hsa_circ_0084927组相比，同时转染si-hsa_circ_0084927和miR-874-3p inhibitor后，EIF4EBP1的表达水平部分恢复（均$P<0.05$）。CCK-8实验结果（图5C-F）显示，单独敲低hsa_circ_0084927可抑制HeLa和SiHa细胞

增殖能力（均 $P < 0.05$），同时转染 miR-874-3p inhibitor 后细胞增殖能力部分恢复（均 $P < 0.000\ 1$）。此外，单独转染 miR-874-3p inhibitor 能够促进细胞增殖（均 $P < 0.01$），在此基础上，同时敲低 EIF4EBP1 后细胞增殖能力降低（均 $P < 0.001$）。以上结果表明，hsa_circ_0084927 通过 miR-874-3p/EIF4EBP1 轴促进宫颈癌细胞增殖。



A：RT-qPCR 检测 si-NC、si-1、si-2、si-3 组细胞中 hsa_circ_0084927 的表达水平；B：CCK-8 实验检测敲低 hsa_circ_0084927 对 HeLa、SiHa 细胞增殖能力的影响；C：划痕愈合实验检测敲低 hsa_circ_0084927 对 HeLa、SiHa 细胞迁移能力的影响（× 100）；D：Transwell 侵袭实验检测敲低 hsa_circ_0084927 对 HeLa、SiHa 细胞侵袭能力的影响（× 200）；E：流式细胞术检测敲低 hsa_circ_0084927 对 HeLa 和 SiHa 细胞凋亡能力的影响。$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$，$^{****}P < 0.000\ 1$。

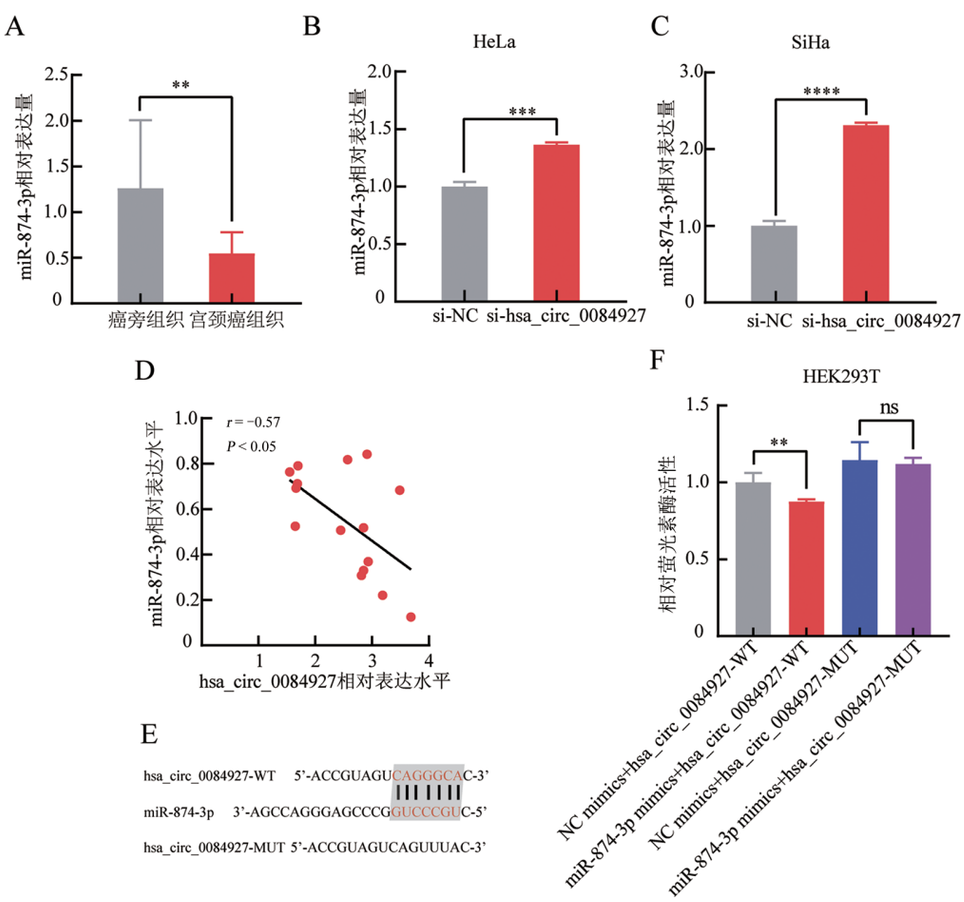
图 2　敲低 hsa_circ_0084927 能够抑制宫颈癌细胞的恶性生物学行为

3　讨　论

circRNA 是一类具有共价闭合结构的单链非编码 RNA 分子，最先由 Sanger 等[11]在病原体中发现。circRNA 通过多种机制调控基因表达，包括作为 miRNA 海绵、参与转录与剪接调节、充当蛋白质支架，以及进行翻译等功能[12-14]。由于其在时间、空间及组织类型上表现出高度稳定性和保守性，同时具有显著的细胞特异性，circRNA 已成为肿瘤诊断和治疗中潜在的重要生物标志物[15]。

本研究通过 RT-qPCR 检测发现，hsa_circ_0084927 在宫颈癌组织及 HeLa 和 SiHa 细胞中的表达显著高于配对癌旁组织及 H8 细胞。功能实验进一步显示，在 HeLa 和 SiHa 细胞中敲低 hsa_circ_0084927 后，细胞增殖、侵袭和迁移能力受到明显抑制，且细胞凋亡率升高。这些结果表明，hsa_circ_0084927 可能作为促癌 circRNA 参与宫颈癌的恶性进展。Chen 等[16]研究也证实了 hsa_circ_0084927 在宫颈癌组织中呈高表达，并通过体外和体内实验验证其对细胞增殖、迁移和侵袭能力的促进作用。此外，已有研究报道 miR-874-3p 在多种肿瘤中发挥调控作用。例如，miR-874-3p 通过靶向甘油磷酸二酯酶结构域蛋白 5

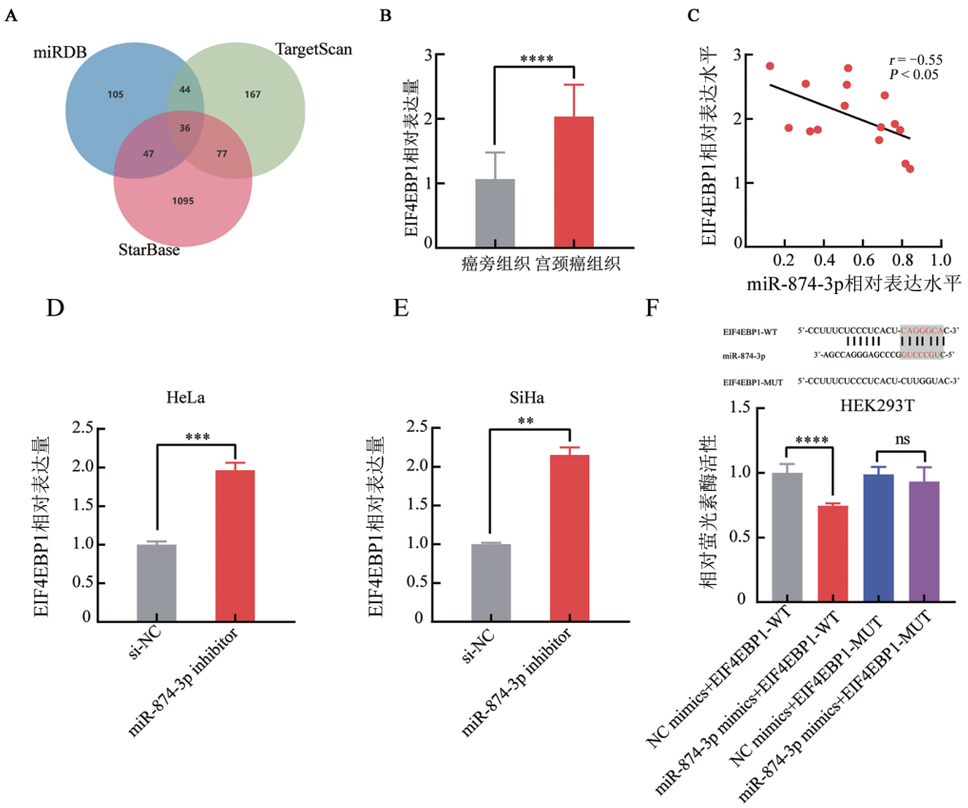
（glycerophosphodiester phosphodiesterase domain containing 5, GDPD5）抑制胃癌细胞迁移和侵袭，同时增强其对顺铂的敏感性[17]；还可靶向电压依赖性阴离子通道1（voltage-dependent anion channel 1, VDAC1）的表达，抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭，发挥肿瘤抑制作用[18]。在子宫内膜癌研究中发现，circESRP1可与miR-874-3p相互作用，通过miR-874-3p/胞质多聚腺苷酸化元件结合蛋白4（cytoplasmic polyadenylation element-binding protein 4, CPEB4）轴影响上皮-间充质转化，从而调控肿瘤进展[8]。哺乳动物西罗莫司靶蛋白（mechanistic target of rapamycin, mTOR）是一种进化上高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶，调控细胞生长、代谢、存活及蛋白质合成等关键生物学过程[19]。作为mTOR信号通路的关键下游效应因子，EIF4EBP1参与调控蛋白质合成与细胞增殖，在肾细胞癌[20]、乳腺癌[9]、神经母细胞瘤[21]、卵巢癌[22]等多种恶性肿瘤中异常表达，并与肿瘤发生、发展及患者预后密切相关。



A：miR-874-3p在宫颈癌组织及配对癌旁组织中表达水平；B、C：敲低hsa_circ_0084927后，HeLa、SiHa细胞中miR-874-3p的表达；D：miR-874-3p和hsa_circ_0084927在宫颈癌组织中表达的相关性；E：hsa_circ_0084927与miR-874-3p之间的结合位点；F：双萤光素酶报告基因实验。$n = 15$（宫颈癌组织*vs*癌旁组织），$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$，$^{****}P < 0.000\ 1$，ns：差异无统计学意义。

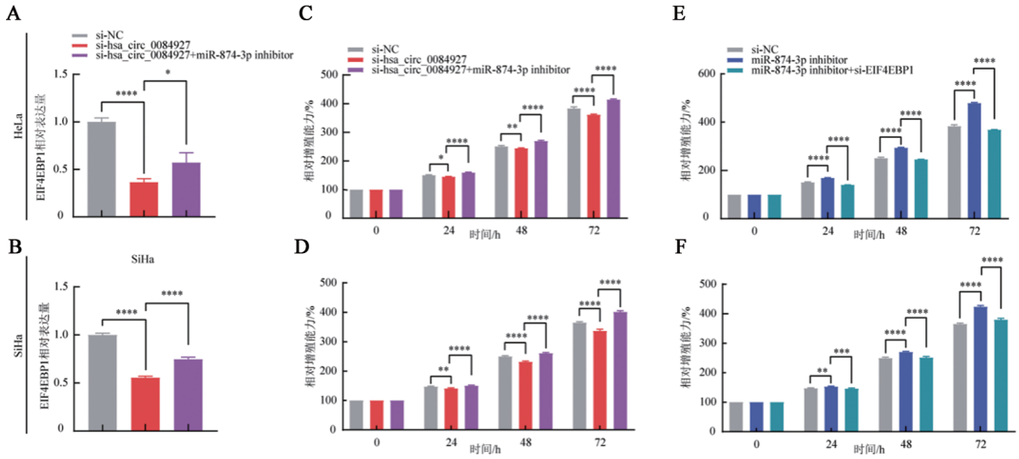
图3　hsa_circ_0084927靶向调控miR-874-3p

基于上述研究结果，本研究假设hsa_circ_0084927可能通过调控miR-874-3p/EIF4EBP1轴来影响宫颈癌细胞的增殖能力。双萤光素酶报告基因实验及挽救实验结果进一步支持这一观点：hsa_circ_0084927可以通过靶向miR-874-3p发挥其功能，同时miR-874-3p下游靶基因为EIF4EBP1。此外，hsa_circ_0084927/miR-874-3p/EIF4EBP1轴对于宫颈癌细胞的增殖具有促进作用。本研究仍存在一定局限性。首先，目前主要从RNA水平验证了EIF4EBP1的表达变化，尚未在蛋白水平进一步验证EIF4EBP1的表达，也未检测mTOR信号通路的活性，因此hsa_circ_0084927/miR-874-3p/EIF4EBP1轴与mTOR信号通路之间的关系仍需进一步研究。其次，本研究临床样本量有限，且缺乏体内实验验证，后续需通过扩大临床样本量及动物实验进一步验证上述调控机制。综上，hsa_circ_0084927在宫颈癌中高表达，并与FIGO分期相关，提示其可能参与宫颈癌进展，并具有作为潜在分子标志物和治疗靶点的进一步研究价值。



A：miRDB、TargetScan 和 StarBase 数据库预测可与 miR-874-3p 结合的 mRNA；B：EIF4EBP1 在宫颈癌组织和配对癌旁组织中的表达；C：miR-874-3p 与 EIF4EBP1 在宫颈癌组织中表达的相关性；D、E：在 HeLa（D）和 SiHa（E）细胞中转染 miR-874-3p inhibitor 后 EIF4EBP1 的表达情况；F：miR-874-3p 与 EIF4EBP1 之间的结合位点及双萤光素酶报告基因实验。$n = 15$，$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$，$^{****}P < 0.000\ 1$，ns：差异无统计学意义。

图 4　EIF4EBP1 是 miR-874-3p 的下游靶基因



A、B：单独转染 si-hsa_circ_0084927 或联合转染 si-hsa_circ_0084927 与 miR-874-3p inhibitor 后 HeLa（A）和 SiHa（B）细胞中 EIF4EBP1 的表达水平；C、D：CCK-8 实验评估转染 si-hsa_circ_0084927、联合转染 si-hsa_circ_0084927 与 miR-874-3p inhibitor 时 HeLa（C）和 SiHa（D）细胞增殖能力；E、F：CCK-8 实验评估转染 miR-874-3p inhibitor、联合转染 miR-874-3p inhibitor 与 si-EIF4EBP1 时 HeLa（E）和 SiHa（F）细胞的增殖能力。$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$，$^{****}P < 0.000\ 1$，ns：差异无统计学意义。

图 5　hsa_circ_0084927/miR-874-3p/EIF4EBP1 轴促进宫颈癌细胞增殖

[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] Yu L L, Majerciak V, Zheng Z M. HPV16 and HPV18 genome structure, expression, and post-transcriptional regulation[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(9): 4943. DOI:10.3390/ijms23094943.

[3] Ye J T, Zheng L, He Y D, et al. Human papillomavirus associated cervical lesion: pathogenesis and therapeutic interventions[J]. MedComm, 2023, 4(5): e368. DOI:10.1002/mco2.368.

[4] Mayadev J S, Ke G H, Mahantshetty U, et al. Global challenges of radiotherapy for the treatment of locally advanced cervical cancer [J]. Int J Gynecol Cancer, 2022, 32(3): 436-445. DOI:10.1136/ijgc-2021-003001.

[5] Heydarnia E, Dorostgou Z, Hedayati N, et al. Circular RNAs and cervical cancer: friends or foes? A landscape on circRNA-mediated regulation of key signaling pathways involved in the onset and progression of HPV-related cervical neoplasms[J]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 107. DOI:10.1186/s12964-024-01494-0.

[6] Yuan W T, Zhang X L, Cong H. Advances in the protein-encoding functions of circular RNAs associated with cancer (Review) [J]. Oncol Rep, 2023, 50(2): 160. DOI:10.3892/or.2023.8597.

[7] 郭依琳, 王璐, 徐臻, 等. 子宫颈癌组织中环状RNA的表达谱及功能分析[J]. 中华妇产科杂志, 2022, 57(12): 938-945. DOI:10.3760/cma.j.cn112141-20221021-00646.

[8] Shi R, Zhang W, Zhang J, et al. CircESRP1 enhances metastasis and epithelial–mesenchymal transition in endometrial cancer *via* the miR-874-3p/CPEB4 axis[J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 139. DOI: 10.1186/s12967-022-03334-6.

[9] Nelson E D, Benesch M G K, Wu R, et al. High EIF4EBP1 expression reflects mTOR pathway activity and cancer cell proliferation and is a biomarker for poor breast cancer prognosis[J]. Am J Cancer Res, 2024, 14(1): 227-242. DOI:10.62347/mtsd6746.

[10] Hruby L, Schaal K, Delaidelli A, et al. The EIF4EBP1 gene encoding 4EBP1 is transcriptionally upregulated by MYC and linked to shorter survival in medulloblastoma[J]. Cell Death Discov, 2025, 11: 330. DOI:10.1038/s41420-025-02601-x.

[11] Sanger H L, Klotz G, Riesner D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1976, 73 (11): 3852-3856. DOI:10.1073/pnas.73.11.3852.

[12] Kundu I, Varshney S, Karnati S, et al. The multifaceted roles of circular RNAs in cancer hallmarks: from mechanisms to clinical implications[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2024, 35(3): 102286. DOI: 10.1016/j.omtn.2024.102286.

[13] Yuan H M, Liao X Z, Hu D, et al. Back to the origin: mechanisms of circRNA-directed regulation of host genes in human disease[J]. Noncoding RNA, 2024, 10(5): 49. DOI:10.3390/ncrna10050049.

[14] Hwang H J, Kim Y K. Molecular mechanisms of circular RNA translation[J]. Exp Mol Med, 2024, 56(6): 1272-1280. DOI:10.1038/s12276-024-01220-3.

[15] Li J, Sun D, Pu W C, et al. Circular RNAs in cancer: biogenesis, function, and clinical significance[J]. Trends Cancer, 2020, 6(4): 319-336. DOI:10.1016/j.trecan.2020.01.012.

[16] Chen L Q, Zhang X W, Wang S, et al. Circ_0084927 facilitates cervical cancer development *via* sponging miR-142-3p and upregulating ARL2[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 9271-9283. DOI:10.2147/CMAR.S263596.

[17] Zhang X Y, Dai X D, Zhao X, et al. miR-874-3p represses the migration and invasion yet promotes the apoptosis and cisplatin sensitivity *via* being sponged by long intergenic non-coding RNA 00922 (LINC00922) and targeting glycerophosphodiester phosphodiesterase domain containing 5 (GDPD5) in gastric cancer cells[J]. Bioengineered, 2022, 13(3): 7082-7104. DOI: 10.1080/21655979.2022.2045831.

[18] Yang H S, Wang Z W, Hu S, et al. miRNA-874-3p inhibits the migration, invasion and proliferation of breast cancer cells by targeting VDAC1[J]. Aging, 2023, 15(3): 705-717. DOI:10.18632/aging.204474.

[19] Danesh Pazhooh R, Rahnamay Farnood P, Asemi Z, et al. mTOR pathway and DNA damage response: a therapeutic strategy in cancer therapy[J]. DNA Repair, 2021, 104: 103142. DOI:10.1016/j.dnarep.2021.103142.

[20] Gui C P, Liao B, Luo C G, et al. circCHST15 is a novel prognostic biomarker that promotes clear cell renal cell carcinoma cell proliferation and metastasis through the miR-125a-5p/EIF4EBP1 axis[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 169. DOI: 10.1186/s12943-021-01449-w.

[21] Voeltzke K, Scharov K, Funk C M, et al. EIF4EBP1 is transcriptionally upregulated by MYCN and associates with poor prognosis in neuroblastoma[J]. Cell Death Discov, 2022, 8: 157. DOI:10.1038/s41420-022-00963-0.

[22] Lee M, Kim E J, Jeon M J. microRNAs 125a and 125b inhibit ovarian cancer cells through post-transcriptional inactivation of EIF4EBP1[J]. Oncotarget, 2016, 7(8): 8726-8742. DOI: 10.18632/oncotarget.6474.

［收稿日期］ 2026-02-20 ［修回日期］ 2026-07-29
［本文编辑］ 邢一凡