

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.12.003

lncRNA ZNF674-AS1 通过 miR-510-5p/REPS2 轴调控宫颈癌细胞 HCC94 的增殖和迁移

曾友玲, 曾洁, 张清, 陈洁, 程春, 马元学, 宋晓婕 [华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院(武汉市妇幼保健院)妇科, 湖北 武汉 433015]

[摘要] **目的:** 探讨 lncRNA ZNF674-AS1 在宫颈癌中的作用及其分子机制。**方法:** 用 qPCR 法检测 ZNF674-AS1 在 31 例 2019 年 1 月至 2020 年 7 月在武汉儿童医院接受手术患者的宫颈癌组织和对应的癌旁组织、宫颈癌细胞系(SiHa、HeLa、C33A 和 HCC94)和永生化宫颈上皮细胞系中的表达。转染过表达 ZNF674-AS1 质粒及其阴性对照质粒至 ZNF674-AS1 表达最少的 HCC94 细胞, CCK-8 法和 Transwell 实验检测过表达 ZNF674-AS1 对 HCC94 细胞增殖活性和迁移能力的影响。生物信息学方法预测和双荧光素酶报告基因实验验证 ZNF674-AS1 和 miR-510-5p、REPS2 三者间的互补结合关系。qPCR 检测过表达 ZNF674-AS1 对 miR-510-5p 与 REPS2 表达的影响, WB 法检测过表达 ZNF674-AS1 对细胞增殖和迁移相关因子表达的影响。**结果:** 与癌旁组织相比, ZNF674-AS1 在宫颈癌组织中呈明显低表达($P<0.01$); 与永生化宫颈上皮细胞相比, ZNF674-AS1 在宫颈癌细胞系中也呈明显低表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 以 HCC94 细胞中表达最低($P<0.01$)。过表达 ZNF674-AS1 能明显抑制 HCC94 细胞的增殖($P<0.05$)和迁移($P<0.01$)。与 ZNF674-AS1 相互作用的 miRNA 是 miR-510-5p, 与 miR-510-5p 相互作用的基因是 REPS2。过表达 ZNF674-AS1 导致 HCC94 细胞中 miR-510-5p 的表达水平降低($P<0.01$)而 REPS2 基因的表达水平升高($P<0.01$), 同时引起细胞增殖和迁移相关的多种因子(CDK2、cyclin D3、vimentin 和 twist)上调或下调。**结论:** lncRNA ZNF674-AS1 在宫颈癌组织和细胞中呈低表达, 可能通过竞争性结合 miR-510-5p 而上调 REPS2 的表达, 从而抑制宫颈癌 HCC94 细胞的增殖和迁移。

[关键词] ZNF674-AS1; 宫颈癌; miR-510-5p; REPS2; HCC94 细胞; 增殖; 迁移

[中图分类号] R737.33; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)12-1168-06

lncRNA ZNF674-AS1 regulates the proliferation and migration of cervical cancer HCC94 cells via miR-510-5p/REPS2 axis

ZENG Youling, ZENG Jie, ZHANG Qing, CHEN Jie, CHENG Chun, MA Yuanxue, SONG Xiaojie (Department of Gynecology, Wuhan Children's Hospital [Wuhan Maternal and Child Healthcare Hospital], Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 433015, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the role of lncRNA ZNF674-AS1 in cervical cancer and its molecular mechanism. **Methods:** qPCR was used to detect the expression of ZNF674-AS1 in 31 pairs of cervical cancer tissues and corresponding para-cancerous tissues that obtained from patients who had received surgical treatment during January 2019 and July 2020 in Wuhan Children's Hospital, as well as in cervical cancer cell lines (SiHa, HeLa, C33A and HCC94) and immortalized cervical epithelial cell lines. The NF674-AS1 over-expression plasmids or the negative control plasmids were transfected into the HCC94 cell line with the least expression of ZNF674-AS1. CCK-8 method and Transwell assay were used to detect the effect of ZNF674-AS1 over-expression on the proliferation and migration of HCC94 cells. Bioinformatics methods and Dual luciferase reporter gene experiment were respectively used to predict and verify the complementary binding relationship among ZNF674-AS1, miR-510-5p and REPS2 (RALBP1 associated Eps domain containing 2). qPCR was conducted to examine the effect of ZNF674-AS1 over-expression on the levels of miR-510-5p and REPS2, and WB assay was used to detect the effect of ZNF674-AS1 over-expression on the level of molecules that related with cell proliferation and migration. **Results:** Compared with para-cancerous tissues, ZNF674-AS1 was significantly down-regulated in cervical cancer tissues ($P<0.01$). Compared with immortalized cervical epithelial cells, ZNF674-AS1 was also obviously down-regulated in cervical cancer cell lines ($P<0.05$ or $P<0.01$), with the lowest expression in HCC94 cells ($P<0.01$). Over-expression of ZNF674-AS1 could significantly inhibit the proliferation ($P<0.05$) and migration ($P<0.01$) of HCC94

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81702561)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81702561)

[作者简介] 曾友玲(1976—), 女, 硕士, 副主任医师, 主要从事宫颈癌发生发展的机制及治疗研究, E-mail: youlingzeng2021@163.com

[通信作者] 宋晓婕 (SONG Xiaojie, corresponding author), 博士, 主任医师, 主要从事宫颈癌发生发展的机制及治疗研究, E-mail: 594518753@qq.com

cells. miR-510-5p was proved to interact with ZNF674-AS1, and REPS2 was proved to interact with miR-510-5p. Over-expression of ZNF674-AS1 caused a decrease in the expression level of miR-510-5p ($P<0.01$). but an increase in the expression level of REPS2 gene ($P<0.01$) in HCC94 cells, as well as the up- or down- regulation of multiple molecules (CDK2, cyclinD3, vimentin and twist) that related with cell proliferation and migration. **Conclusions:** lncRNA ZNF674-AS1 is low-expressed in cervical cancer tissues and cell lines and may up-regulate the expression of REPS2 gene by competitively binding miR-510-5p, thereby inhibiting the proliferation and migration of cervical cancer HCC94 cells.

[Key words] ZNF674-AS1; cervical cancer; miR-510-5p; REPS2; HCC94 cell; proliferation; migration

[Chin J Cancer Biother, 2021, 27(12): 1168-1173. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.12.003]

宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,发病机制尚未完全明确,可能与人乳头状病毒感染、吸烟等有关^[1]。宫颈癌在发展中国家的发病率和病死率明显高于发达国家,呈现明显的地域差异^[2]。宫颈癌早期症状较隐匿,患者确诊时往往已发生转移,导致手术效果较差或者失去手术机会^[3]。研究宫颈癌发生与发展的分子机制,寻找新的分子治疗靶点,对于改善宫颈癌患者的预后至关重要。人类基因组中 98% 的序列被转录为非编码 RNA,长链非编码 RNA (lncRNA) 是非编码 RNA 家族重要的成员之一^[4]。lncRNA 广泛参与调控分化、凋亡、免疫应答、衰老等细胞活动^[5]。近年的研究结果^[6]表明,lncRNA 表达异常与多种肿瘤的进展相关,lncRNA 可能发挥抑癌基因或癌基因的作用。lncRNA ZNF674-AS1 已被证实胶质瘤、肝癌、卵巢癌的发生和转移起到重要作用^[7-8]。目前,尚不明确 ZNF674-AS1 在宫颈癌中是否存在异常表达及其可能的调控机制。本研究旨在检测宫颈癌组织和细胞系中 ZNF674-AS1 的表达水平,观察 ZNF674-AS1 对宫颈癌 HCC94 细胞增殖和迁移的影响,通过生物信息学预测并验证 ZNF674-AS1 作用的分子机制,为以 ZNF674-AS1 为靶点的基因治疗提供一定的实验基础。

1 材料与方法

1.1 组织标本

收集于 2019 年 1 月至 2020 年 7 月在华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院接受手术治疗的 31 例宫颈癌患者的癌组织和癌旁组织。本组患者年龄 ≥ 50 岁者 16 例, < 50 岁者 15 例。组织类型均为鳞状细胞癌。高分化 6 例,中分化 15 例,低分化 10 例。按国际妇产科联盟 (International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO) 标准分期, I B 期 16 例、II 期 9 例、III 期及以上 6 例。本研究经华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院医学伦理委员会审核通过,患者均签署知情同意书。所有组织标本均由医院病理科医生确诊为宫颈癌,组织标本于液氮罐中保存。

1.2 细胞与试剂

永生化子宫颈上皮细胞 H8 及人宫颈癌细胞

SiHa、HeLa、C33A、HCC94 均购自中国科学院上海细胞库。RPMI 1640 培养基、DMEM/F12 培养基和胎牛血清 (FBS) 均购自美国 Hyclone 公司, ZNF674-AS1 过表达质粒、阴性对照质粒、miR-510-5p、miR-NC、ZNF674-AS1-WildType-Reporter (WT) 载体、ZNF674-AS1-MUT-Reporter (MUT) 载体、抗 RALBP1 相关 Eps 域 2 (RALBP1 associated Eps domain containing 2, REPS2) WildType-Reporter (WT) 载体、REPS2-MUT-Reporter (MUT) 载体均购自上海吉玛公司, Lipofectamine 3000 转染试剂盒、TRIzol 试剂盒均购自美国 Invitrogen 公司。RNA 逆转录试剂盒及 qPCR 试剂盒均购自美国 Roche 公司, Transwell 小室购自美国康宁公司, 细胞计数 (cell count kit-8, CCK-8) 试剂盒购自大连美仑生物技术有限公司, REPS2、 β -tubulin、CDK2、cyclin D3、vimentin、twist 抗体及双荧光素酶报告基因试剂盒均购自美国 Abcam 公司。

1.3 细胞培养和转染

H8、C33A 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中, SiHa、HeLa、HCC94 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基中, 置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中培养。取对数生长期的 HCC94 细胞接种于 6 孔板, 采用 Lipofectamine 3000 脂质体转染试剂盒转染过表达 ZNF674-AS1 质粒或阴性对照质粒至 HCC94 细胞中, 分别为实验组和对照组, 转染质粒质量浓度为 1 μ g/L, 转染 8 h 后更换为含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基培养, 转染后以 qPCR 法检测并鉴定其转染效率。

1.4 qPCR 法检测宫颈癌组织和细胞中 ZNF674-AS1 表达水平

采用 TRIzol 试剂盒从组织或细胞中提取总 RNA, NanoDrop 2000 超微量分光光度计检测 RNA 纯度和浓度, 反转录 RNA 为 cDNA。建立 20 μ l qPCR 反应体系, 反应程序设定为 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 10 s, 64 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共 40 个循环。GAPDH 上游引物为 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3', 下游引物为 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'; ZNF674-AS1 上游引物为 5'-CAAAGCCTGTGG CCGATGTG-3', 下游引物为 5'-ATGGTCACA CATTCTTCTCCCC-3'; REPS2

上游引物为5'-CTGAAGACCAGCAGACACCA-3',下游引物为5'-TTTAGGATCTGGCCCTGTTG-3';U6上游引物为5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物为5'-ACGCTTCACGAATTTGCGT-3';miR-510-5p上游引物为5'-TAGCAGCACGTAAATATTGGCG-3',下游引物为5'-CAGTGC GTGTCGTGGAGT-3'。以GAPDH为内参分析ZNF674-AS1和REPS2 mRNA基因表达量,以U6为内参分析miR-510-5p基因表达量以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因表达量。

1.5 CCK-8法检测过表达ZNF674-AS1对HCC94细胞增殖活性的影响

转染后每组取3 000个HCC94细胞接种于96孔板,分别于第1、2、3、4、5 d进行CCK-8法检测,每孔加18 μ l CCK-8试剂,暗箱中放置2 h,采用酶标仪测定每孔在450 nm波长处的光密度(D)值。

1.6 Transwell实验检测过表达ZNF674-AS1对HCC94细胞迁移能力的影响

收集转染后的HCC94细胞,采用无血清培养基重悬,约 2×10^4 个细胞接种到Transwell小室上层,体积为200 μ l,Transwell小室下层加入500 μ l含血清的完全培养基。培养24 h后,取出Transwell小室上层,棉签轻轻擦去未穿膜的HCC94细胞,采用4%多聚甲醛固定,采用0.1%结晶紫溶液染色,在光学显微镜下对迁移细胞数进行计数。实验重复4次。

1.7 生物信息学方法预测靶向ZNF674-AS1的miRNA

采用StarBase v2.0网站数据预测ZNF674-AS1靶向作用的miRNA。采用DIANA-microT网站预测与miRNA相互作用的基因。

1.8 双荧光素酶报告基因实验检测miR-510-5p与ZNF674-AS1和REPS2的靶向结合及相互调控关系

将miR-510-5p、miR-NC分别与ZNF674-AS1-WT或ZNF674-AS1-MUT共转染至HCC94细胞中,双荧光素酶报告基因试剂处理,48 h后采用化学发光技术检测相对荧光素酶活性,验证miR-510-5p是否靶向结合并受ZNF674-AS1调控。将miR-510-5p、miR-NC分别与REPS2-WT或REPS2-MUT共转染至HCC94细胞中,双荧光素酶报告基因试剂处理,48 h后采用化学发光技术检测相对荧光素酶活性,验证REPS2是否靶向结合并受miR-510-5p调控。

1.9 WB法检测REPS2等相关蛋白的表达

加入1 ml RIPA裂解液至6孔板,冰浴裂解转染后HCC94细胞30 min,离心后留取上清,BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度后,每个上样孔加等量蛋白,行10%聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳结束后转移蛋白至聚偏氟乙烯膜,室温下封闭后,分别加入一抗及二抗处理,一抗稀释比例是 β -tubulin为1:2 000、

CDK2为1:1 000、REPS2为1:3 000、cyclin D3为1:2 000、vimentin为1:3 000、twist为1:1 000,二抗稀释比例是羊抗兔IgG(1:9 000)。滴加ECL显影液,在化学发光成像系统内曝光、显影,以 β -tubulin为内参蛋白。实验重复3次。

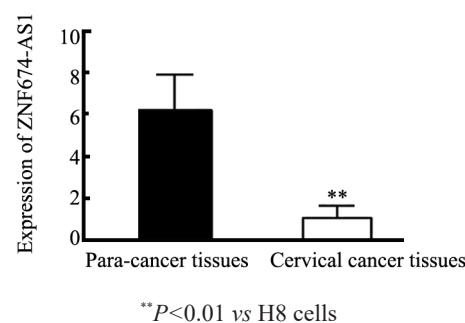
1.10 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件进行分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

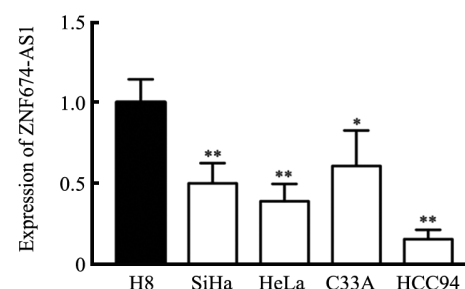
2.1 ZNF674-AS1在宫颈癌组织和细胞中呈低表达

qPCR结果(图1)显示,ZNF674-AS1在宫颈癌组织相对表达量(1.13 ± 0.29)明显少于癌旁组织相对表达量(6.23 ± 0.86),差异有统计学意义($t = 15.62$, $P < 0.01$)。与永生子宫颈上皮H8细胞相比,ZNF674-AS1在人宫颈癌细胞(SiHa、HeLa、C33A、HCC94)中均呈低表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图2)。



** $P < 0.01$ vs H8 cells

图1 ZNF674-AS1在宫颈癌组织和癌旁组织中的表达
Fig.1 The expression of ZNF674-AS1 in cervical cancer and para-cancer tissues



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs normal cervical epithelial cell

图2 ZNF674-AS1在永生子宫颈上皮细胞和宫颈癌细胞中的表达

Fig.2 The expression of ZNF674-AS1 in immortalized cervical epithelial cells and cervical cancer cells

2.2 ZNF674-AS1在转染后HCC94细胞中呈过表达

qPCR结果显示,ZNF674-AS1在转染对照组和

实验组 HCC94 细胞中相对表达量差异有统计学意义 $[(1.02 \pm 0.10) \text{ vs } (9.75 \pm 1.02), P < 0.01]$, ZNF674-AS1 过表达质粒可有效上调 HCC94 细胞中 ZNF674-AS1 的表达。

2.3 过表达 ZNF674-AS1 能抑制 HCC94 细胞的增殖

CCK-8 法检测结果(图3)显示,在转染后 2 d 开始,对照组 HCC94 细胞 *D* 值明显高于实验组 HCC94 细胞,表明过表达 ZNF674-AS1 能抑制 HCC94 细胞增殖活性。

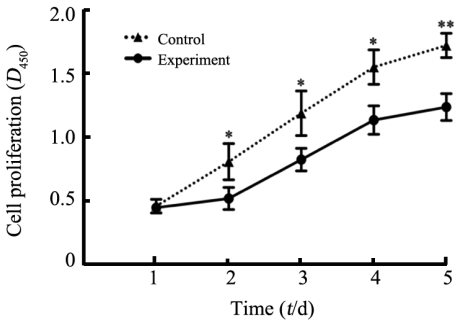
2.4 过表达 ZNF674-AS1 能抑制 HCC94 细胞的迁移

Transwell 实验检测发现(图4),对照组穿膜细胞数 $[(165.20 \pm 25.17) \text{ 个/视野}]$ 明显多于实验组穿膜细胞数 $[(66.88 \pm 15.57) \text{ 个/视野}]$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明过表达 ZNF674-AS1 表达能抑制 HCC94 细胞的迁移能力。

2.5 miR-510-5p 可与 ZNF674-AS 和 REPS2 mRNA 互补结合

采用 StarBase v2.0 网站预测 ZNF674-AS1 相互

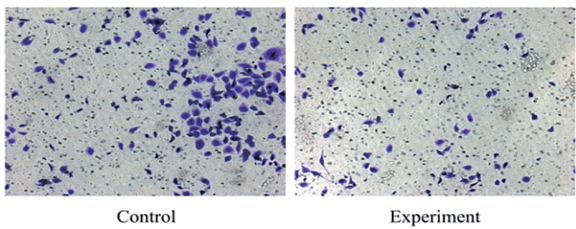
作用的 miRNA,发现 ZNF674-AS1 可以与 miR-510-5p 中的互补序列结合(图5)。采用 DIANA-microT 网站预测 miRNA 相互作用的基因,发现 miR-510-5p 可以与 REPS2 mRNA 中互补序列结合。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control group

图3 过表达 ZNF674-AS1 对 HCC94 细胞增殖活性的影响

Fig.3 Effect of ZNF674-AS1 over-expression on the proliferation of HCC94 cells



** $P < 0.01$ vs Control group

图4 过表达 ZNF674-AS1 对 HCC94 细胞迁移能力的影响($\times 40$)

Fig.4 Effect of ZNF674-AS1 over-expression on the migration of HCC94 cells ($\times 40$)

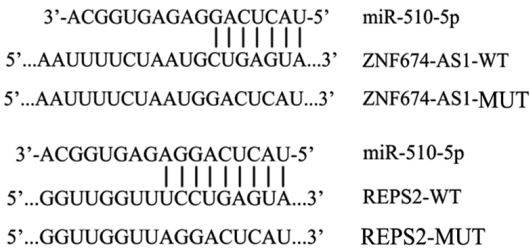
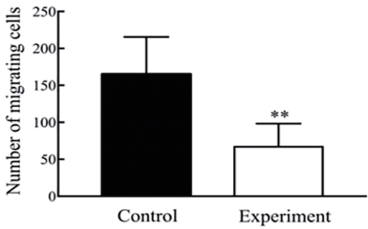


图5 miR-510-5p 与 ZNF674-AS 和 REPS2 mRNA 互补结合的序列区域

Fig.5 The complementary sequence between ZNF674-AS1 and miR-510-5p, as well as between miR-510-5p and REPS2 mRNA

2.6 双荧光素酶报告基因实验证实 miR-510-5p 和 ZNF674-AS1 与 EPS2 mRNA 互补结合

结果(图6)显示,共转染 ZNF674-AS1-WT 与 miR-510-5p 后相对荧光素酶强度较 ZNF674-AS1-WT 与 miR-NC 显著减弱($P < 0.01$);定点突变后,共转染 ZNF674-AS1-MUT 与 miR-510-5p 较 ZNF674-AS1-MUT 与 miR-NC 相对荧光素酶活性无明显差异,表

明 ZNF674-AS1 能够靶向结合 miR-510-5p。共转染 REPS2-WT 与 miR-510-5p 后相对荧光素酶强度较 REPS2-WT 与 miR-NC 显著减弱($P < 0.01$);定点突变后,共转染 REPS2-MUT 与 miR-510-5p 较 REPS2-MUT 与 miR-NC 相对荧光素酶活性无明显差异,表明 miR-510-5p 能够靶向结合 REPS2。

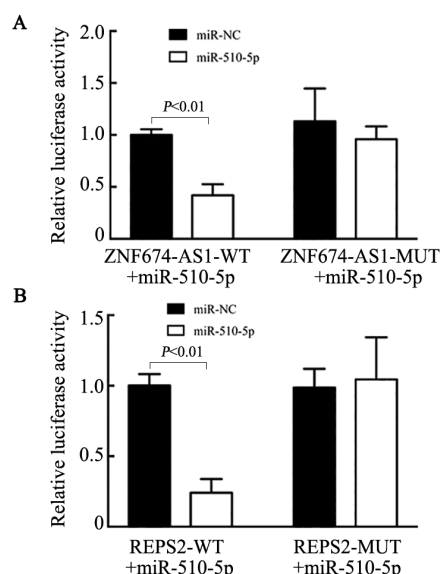
2.7 过表达 ZNF674-AS1 在 HCC94 细胞中下调 miR-510-5p 而上调 REPS2 mRNA 的表达量

qPCR 检测结果显示,转染对照组 HCC94 细胞中 miR-510-5p 相对表达量明显高于实验组相对表达量 $[(1.04 \pm 0.07) \text{ vs } (0.41 \pm 0.07), P < 0.01]$;对照组 HCC94 细胞中 REPS2 mRNA 相对表达量明显低于实验组相对表达量 $[(1.01 \pm 0.16) \text{ vs } (4.99 \pm 0.61), P < 0.01]$,表明过表达 ZNF674-AS1 能够下调 miR-510-5p 的表达而上调 REPS2 mRNA 的表达。

2.8 过表达 ZNF674-AS1 对 HCC94 细胞中 REPS2 等相关蛋白表达的影响

WB 法检测发现(图7),过表达 ZNF674-AS1 后,REPS2 蛋白表达升高,细胞增殖相关蛋白 CDK2、Cyclin

D3 表达降低, 细胞迁移相关 vimentin、twist 表达降低, 间接提示宫颈癌细胞的增殖和迁移被抑制。



A: Binding of miR-510-5p to ZNF674-AS1 verified by dual-luciferase reporter gene assay; B: Binding of miR-510-5p to REPS2 mRNA verified by dual-luciferase reporter gene

图6 双荧光素酶报告基因实验验证 ZNF674-AS1 作用的分子机制

Fig.6 Dual luciferase reporter gene experiment verified the molecular mechanism of ZNF674-AS1

3 讨论

研究^[9]证实, lncRNA 可能参与各种分子信号通路的调控, 是基因表达调控网络的重要组成部分。越来越多的证据表明, lncRNA 在各种类型肿瘤的发生和发展中发挥关键作用, 不同的肿瘤组织存在不同的 lncRNA 表达谱, 对特定 lncRNA 表达水平和功能的研究有助于阐明肿瘤的发病机制^[10]。TP73-AS1^[11]、PTCSC3^[12]、FTH1P3^[13]等众多 lncRNA 已被证明参与调控宫颈癌的发生和进展, 可能成为宫颈癌的诊断标志物或分子治疗靶点。ZHANG 等^[14]发现 ZNF674-AS1 在肝癌细胞系和组织中表达下调, ZNF674-AS1 表达水平与肝癌转移、临床分期和组织病理学分级显著相关; Kaplan-Meier 生存曲线显示 ZNF674-AS1 低表达与肝癌患者预后差有关。ZNF674-AS1 在宫颈癌中的表达和作用尚不明确。本研究结果表明, 与癌旁组织和永生化子宫颈上皮细胞系相比, ZNF674-AS1 在宫颈癌组织和细胞系中的均降低, 表明 ZNF674-AS1 可能参与调控宫颈癌的发生和发展。本研究通过体外细胞实验如 CCK-8、Transwell 实验证实, ZNF674-AS1 对宫颈癌 HCC94 细胞增殖和迁移具有抑制作用, 表明 ZNF674-AS1 是宫颈癌的抑癌因子。

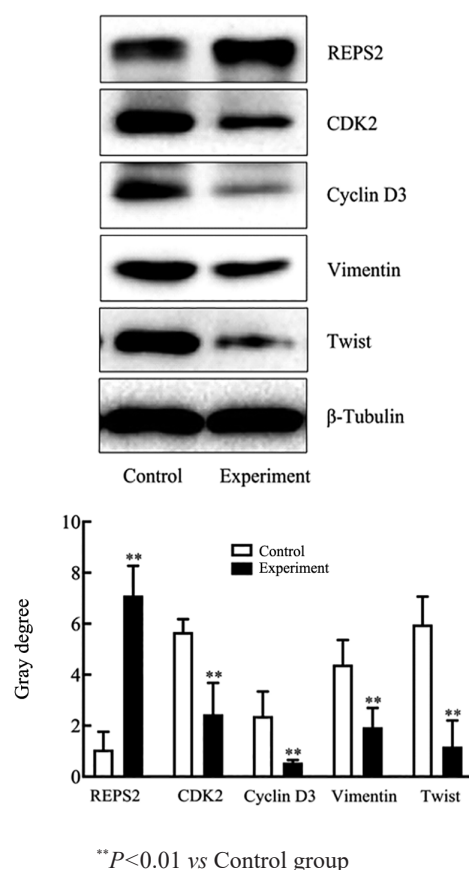


图7 过表达 ZNF674-AS1 对 HCC94 细胞中 REPS2 表达以及增殖和迁移相关蛋白表达的影响

Fig.7 Effect of over-expressing ZNF674-AS1 on the expression of REPS2 and proteins associated with cell proliferation and migration in HCC94 cells

miRNA 是一种长度约为 22 个核苷酸的内源性单链 RNA, 能够在转录后水平调控靶基因信使 RNA (mRNA) 的表达, 是靶基因表达水平的负调控因子^[15]。lncRNA 竞争性结合 miRNA 而影响靶基因 mRNA 的表达, lncRNA-miRNA-靶基因 mRNA 调控模式已得到广泛证实^[16]。本研究通过 StarBase v2.0 网站的数据库进行预测, 结果显示, ZNF674-AS1 可互补结合 miR-510-5p。有报道^[17]称 miR-510-5p 在甲状腺癌组织和细胞系表达水平升高, 其表达水平与患者的临床分期和淋巴结转移正相关, miR-510-5p 能够促进甲状腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。本研究发现 ZNF674-AS1 可抑制 miR-510-5p 的表达, ZNF674-AS1 可能在宫颈癌细胞中竞争性结合 miR-510-5p。双荧光素酶报告基因实验表明 ZNF674-AS1 能够靶向结合 miR-510-5p。DIANA-microT 网站预测显示, miR-510-5p 可互补结合 REPS2 mRNA。REPS2 蛋白富含脯氨酸结构域、卷曲螺旋结构域等, 可与多种蛋白质相互作用, 参与调控受体介导的内吞作用^[18]。REPS2 在乳腺癌、前列腺癌、食管癌等多种肿瘤中低表达, REPS2 的低表达与

肿瘤患者的 TNM 分期、淋巴结转移、总体生存期及复发显著相关, 发挥明显的抑癌因子作用^[19-20]。双荧光素酶报告基因实验表明 miR-510-5p 能够靶向结合 REPS2 mRNA。本研究发现宫颈癌 HCC94 细胞中下调 miR-510-5p 表达的同时 REPS2 蛋白表达升高, 细胞增殖相关的蛋白 CDK2、cyclin D3 及细胞迁移相关蛋白 vimentin、twist 表达降低, 间接提示宫颈癌细胞的增殖和迁移被抑制的机制与这些细胞增殖和迁移相关因子有关。

综上所述, ZNF674-AS1 在宫颈癌组织及细胞系中呈低表达, 上调的 ZNF674-AS1 可通过竞争性结合 miR-510-5p 促进 REPS2 的表达, 进而抑制宫颈癌 HCC94 细胞的增殖活性和迁移能力。

参考文献

- [1] BAI X X, WANG W D, ZHAO P, et al. lncRNA CRNDE acts as an oncogene in cervical cancer through sponging miR-183 to regulate CCNB1 expression[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(1): 111-121. DOI: 10.1093/carcin/bgz166.
- [2] ROYCHOWDHURY A, SAMADDER S, DAS P, et al. Deregulation of H19 is associated with cervical carcinoma[J]. *Genomics*, 2020, 112(1): 961-970. DOI:10.1016/j.ygeno.2019.06.012.
- [3] WEI H, QIU Y Q, ZENG Q S, et al. lncRNA UCA1 regulates proliferation, migration and invasion of cervical cancer cells by targeting miR-145[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(7): 3555-3564. DOI:10.26355/eurrev_202004_20816.
- [4] LUO W M, WANG M, LIU J, et al. Identification of a six lncRNAs signature as novel diagnostic biomarkers for cervical cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(2): 993-1000. DOI:10.1002/jcp.29015.
- [5] TAO L, WANG X Y, ZHOU Q. Long non-coding RNA SNHG16 promotes the tumorigenicity of cervical cancer cells by recruiting transcriptional factor SPI1 to upregulate PARP9[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(3): 773-784. DOI:10.1002/cbin.11272.
- [6] WANG L F, ZHONG Y B, YANG B H, et al. LINC00958 facilitates cervical cancer cell proliferation and metastasis by sponging miR-625-5p to upregulate LRRC8E expression[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(3): 2500-2509. DOI:10.1002/jcb.29472.
- [7] LI N, ZHAN X Q. Anti-parasite drug ivermectin can suppress ovarian cancer by regulating lncRNA-EIF4A3-mRNA axes[J]. *EPMA J*, 2020, 11(2): 289-309. DOI:10.1007/s13167-020-00209-y.
- [8] LUAN F K, CHEN W J, CHEN M, et al. An autophagy-related long non-coding RNA signature for glioma[J/OL]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(4): 653-667[2021-07-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6443865/>. DOI:10.1002/2211-5463.12601.
- [9] FAN Y R, SHENG W W, MENG Y, et al. lncRNA PTENP1 inhibits cervical cancer progression by suppressing miR-106b[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2020, 48(1): 393-407. DOI:10.1080/21691401.2019.1709852.
- [10] GONG J L, FAN H Y, DENG J, et al. lncRNA HAND2-AS1 represses cervical cancer progression by interaction with transcription factor E2F4 at the promoter of C16orf74[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(11): 6015-6027. DOI:10.1111/jcmm.15117.
- [11] XU J N, ZHANG J M. lncRNA TP73-AS1 is a novel regulator in cervical cancer via miR-329-3p/ARF1 axis[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(1): 344-352. DOI:10.1002/jcb.29181.
- [12] TONG R, ZHANG J R, WANG C Y, et al. lncRNA PTCSC3 inhibits the proliferation, invasion and migration of cervical cancer cells via sponging miR-574-5p[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2020, 47(3): 439-448. DOI:10.1111/1440-1681.13186.
- [13] LV R, ZHANG Q W. The long noncoding RNA FTH1P3 promotes the proliferation and metastasis of cervical cancer through microRNA-145[J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(1): 31-40. DOI: 10.3892/or.2019.7413.
- [14] ZHANG L F, HE T Y, YAN Y C, et al. Expression and clinical significance of the novel long noncoding RNA ZNF674-AS1 in human hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 3608914[2021-07-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5118518/>. DOI:10.1155/2016/3608914.
- [15] GE Q Q, LU M X, JU L G, et al. miR-4324-RACGAP1-STAT3-ESR1 feedback loop inhibits proliferation and metastasis of bladder cancer[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(12): 3043-3055. DOI: 10.1002/ijc.32036.
- [16] ZHOU Q Y, XIE Y, WANG L, et al. lncRNA EWSAT1 upregulates CPEB4 via miR-330-5p to promote cervical cancer development[J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 471(1/2): 177-188. DOI:10.1007/s11010-020-03778-8.
- [17] LIU Y C, LI J L, LI M, et al. MicroRNA-510-5p promotes thyroid cancer cell proliferation, migration, and invasion through suppressing SNHG15[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120 (7): 11738-11744. DOI:10.1002/jcb.28454.
- [18] LI F, JI J P, XU Y, et al. Identification a novel set of 6 differential expressed genes in prostate cancer that can potentially predict biochemical recurrence after curative surgery[J]. *Clin Transl Oncol*, 2019, 21(8): 1067-1075. DOI:10.1007/s12094-018-02029-z.
- [19] AGUILERA Ó, GONZÁLEZ-SANCHO J M, ZAZO S, et al. Nuclear DICKKOPF-1 as a biomarker of chemoresistance and poor clinical outcome in colorectal cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2015, 6(8): 5903-5917[2021-07-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4467410/>. DOI:10.18632/oncotarget.3464.
- [20] ZHOU Y W, ZHANG H, DUAN C J, et al. miR-675-5p enhances tumorigenesis and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma by targeting REPS2[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(21): 30730-30747[2021-07-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5058713/>. DOI:10.18632/oncotarget.8950.

[收稿日期] 2021-08-27

[修回日期] 2021-12-26

[本文编辑] 王润蓓, 沈志超