

• 论 著 •

LncRNA HOTAIR 对宫颈癌 Hela 细胞增殖、凋亡和 EMT 的影响和作用机制^{*}

陈文婷, 黄丽珊, 曾带娣, 陈志萍, 吴志喜[△]

南方医科大学附属东莞医院/东莞市人民医院妇产科, 广东东莞 523000

摘要:目的 探讨长链非编码 RNA(LncRNA)HOTAIR 对宫颈癌 Hela 细胞增殖、凋亡和上皮细胞-间充质转化(EMT)的影响及潜在的作用机制。**方法** 收集培养的宫颈癌细胞(Hela 细胞)、人永生化宫颈上皮细胞(H8 细胞),同时收集宫颈癌组织、癌旁正常组织标本,利用实时荧光定量 PCR 检测 LncRNA HOTAIR、miR-20a-5p 和 KIF26B 的 mRNA 表达;分别下调 LncRNA HOTAIR、miR-20a-5p 和 KIF26B 的表达,MTT 试验检测 Hela 细胞增殖能力,Western blot 检测 Hela 细胞内凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 和 EMT 相关蛋白 E-cadherin、N-cadherin 的表达,流式细胞仪检测 Hela 细胞凋亡情况。miRanda 和双荧光素酶报告基因试验分析 LncRNA HOTAIR 和 miR-20a-5p 之间的作用靶点及相关性,TargetScan 和双荧光素酶报告基因试验分析 miR-20a-5p 与 KIF26B 之间的作用靶点及相关性;检测 LncRNA HOTAIR 通过 miR-20a-5p 对 Hela 细胞增殖、凋亡和 EMT 的影响。**结果** Hela 细胞内 LncRNA HOTAIR 和 KIF26B 表达明显高于 H8 细胞($P<0.01$),miR-20a-5p 表达明显低于 H8 细胞($P<0.01$)。宫颈癌组织中 LncRNA HOTAIR 和 KIF26B 表达明显升高($P<0.01$),miR-20a-5p 表达明显降低($P<0.01$)。LncRNA HOTAIR、KIF26B 表达降低后明显抑制了 Hela 细胞增殖与 EMT,促进 Hela 细胞凋亡;LncRNA HOTAIR 靶向 miR-20a-5p,miR-20a-5p 靶向 KIF26B;miR-20a-5p 表达降低后促进 Hela 细胞增殖与 EMT,抑制细胞凋亡;过表达 LncRNA HOTAIR 通过 miR-20a-5p 促进 Hela 细胞增殖与 EMT,抑制 Hela 细胞凋亡。**结论** LncRNA HOTAIR 通过 miR-20a-5p/KIF26B 轴抑制 Hela 细胞凋亡,促进了癌细胞增殖及 EMT。

关键词:长链非编码 RNA HOTAIR; miR-20a-5p; KIF26B; 宫颈癌; 上皮细胞-间充质转化

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.06.016 **中图法分类号:**R737.33

文章编号:1673-4130(2022)06-0710-07 **文献标志码:**A

Effects of LncRNA HOTAIR on proliferation, apoptosis and EMT of cervical cancer Hela cells and its potential mechanism^{*}

CHEN Wenting, HUANG Lishan, ZENG Daidi, CHEN Zhiping, WU Zhixi[△]

Department of Obstetrics and Gynecology, Dongguan Hospital Affiliated of Southern Medical University/Dongguan People's Hospital, Dongguan, Guangdong 523000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of long chain noncoding RNA (LncRNA) HOTAIR on the proliferation, apoptosis and epithelial mesenchymal transformation (EMT) of cervical cancer Hela cells and its potential mechanism. **Methods** The cultured Hela and H8 cells, cervical cancer tissues and adjacent normal tissue samples were collected and the mRNA expressions of LncRNA HOTAIR, miR-20a-5p and KIF26B were detected by real-time quantitative PCR. The expression of LncRNA HOTAIR, miR-20a-5p and KIF26B were down-regulated, respectively, the proliferation ability of Hela cells was detected by MTT assay. The expressions of apoptosis related proteins Bax and Bcl-2 and EMT-related proteins E-cadherin and N-cadherin in Hela cells were detected by Western blot, and the apoptosis of Hela cells was detected by flow cytometry. The target and correlation between LncRNA HOTAIR and miR-20a-5p were analyzed by miRanda and dual luciferase reporter gene assay. The target and correlation between miR-20a-5p and KIF26B were analyzed by TargetScan and dual luciferase reporter gene assay. The effects of LncRNA HOTAIR on the proliferation, apoptosis and

^{*} 基金项目:广东省医学科学技术研究基金项目(C2019097)。

作者简介:陈文婷,女,医师,主要从事妇产科疾病方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: seawavev@163.com。

本文引用格式:陈文婷,黄丽珊,曾带娣,等. LncRNA HOTAIR 对宫颈癌 Hela 细胞增殖、凋亡和 EMT 的影响和作用机制[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(6): 710-716.

EMT of Hela cells via miR-20a-5p were detected. **Results** The expressions of LncRNA HOTAIR and KIF26B in Hela cells were significantly higher than those in H8 cells ($P < 0.01$), the expression of miR-20a-5p was significantly lower than that of H8 cells ($P < 0.01$). The expressions of LncRNA HOTAIR and KIF26B were significantly increased in cervical cancer tissues ($P < 0.01$), the expression of miR-20a-5p was significantly decreased ($P < 0.01$). The decreased expression of LncRNA HOTAIR and KIF26b significantly inhibited the proliferation and EMT of Hela cells, and promoted the apoptosis of Hela cells. LncRNA HOTAIR targeted miR-20a-5p and miR-20a-5p targeted KIF26B. Downregulation of miR-20a-5p expression promoted Hela cell proliferation and EMT, and inhibited cell apoptosis. Overexpression of LncRNA HOTAIR promoted the proliferation and EMT of Hela cells through miR-20a-5p, and inhibited the apoptosis of Hela cells. **Conclusion** LncRNA HOTAIR inhibited apoptosis of Hela cells through miR-20a-5p/KIF26B axis, and promoted cell proliferation and EMT.

Key words: long chain noncoding RNA HOTAIR; miR-20a-5p; KIF26B; cervical cancer; epithelial mesenchymal transformation

宫颈癌是较常见的妇科癌症之一。据统计,全球每年有 30 多万人死亡,其中 85% 以上发生在发展中国家,尽管近年来宫颈癌的手术、化疗、放疗等治疗取得了很大的进展,但宫颈癌的临床疗效仍然较差^[1]。因此,寻找新的生物标志物和治疗靶点对提高宫颈癌的诊断和治疗至关重要。长链非编码 RNA (LncRNA) 是一种转录本超过 200 个核苷酸,没有蛋白编码功能的特殊 RNA 分子,LncRNA 与多种疾病及肿瘤的发生发展密切相关^[2]。有报道称,LncRNA 能够广泛参与生物体的各种生理及病理过程,如表观遗传学调控,以及神经系统功能的构建等^[3]。有研究证实,LncRNA MEG3 具有抗宫颈癌的作用^[4]; LncRNA PANDAR 表达上调预示宫颈癌预后不良并促进细胞增殖^[5]。LncRNA HOTAIR 是一种保守的 LncRNA,其在不同的癌症中发挥了重要的生物学功能。有学者发现,LncRNA HOTAIR 可增强雄激素受体介导的转录程序,驱动去势抗性前列腺癌^[6]。LncRNA HOTAIR 增强雌激素受体信号,并在乳腺癌中导致他莫昔芬耐药^[7]。然而,LncRNA HOTAIR 在宫颈癌细胞中的表达和生物学功能尚不清楚。本研究通过分析 LncRNA HOTAIR 在宫颈癌细胞中的表达模式,研究其生物学功能,探讨宫颈癌的发病机制,为该病的治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 宫颈癌细胞(Hela 细胞)和人永生化宫颈上皮细胞(H8 细胞)购自上海富衡生物科技有限公司。宫颈癌组织和癌旁正常组织(各 53 例)均来自本院 2020 年 2—12 月确诊的患者,经过患者、家属同意及伦理委员会批准后,进行采集和保存。DMEM 培养基购自北京索莱宝科技有限公司。PrimeScript™ IV 1st Strand cDNA Synthesis Mix, SYBR Premix Ex Taq 试剂盒购自武汉赛培生物科技有限公司。双荧光素酶活性检测试剂盒购自北京百奥莱博科技有限

公司。HOTAIR 小干扰 RNA (siRNA)、miR-20a-5p inhibitor、miR-20a-5p mimics、KIF26B siRNA 等质粒由 Genepharma 公司合成。Turbofect 购自美国 Invitrogen 公司。点突变试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司。Bax、Bcl-2 多克隆抗体购自美国圣克鲁斯公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 Hela 细胞和 H8 细胞在添加含 10% 胎牛血清和 1% 抗菌药物/抗真菌溶液中培养,放置于 37 °C, 5% CO₂ 湿润培养箱中,待达到 90% 浓度后收集细胞,用于后续试验。

1.2.2 细胞转染 用指数期 Hela 细胞进行转染。转染前,将细胞接种于 12 孔板,采用 2 mL 完全培养基培养 24 h,直至 90% 的融合。用 Turbofect 试剂将质粒转染到 Hela 细胞系中,并按说明用 Opti-MEM 无血清培养基培养,收集培养后细胞进行后续试验。培养的 Hela 细胞分为以下转染组:(1) siRNA NC 组、HOTAIR siRNA 组、KIF26B siRNA 组;(2) inhibitor NC 组、miR-20a-5p inhibitor 组;(3) pcDNA-3.1(+) + mimics NC 组、pcDNA-HOTAIR + mimics NC 组、pcDNA-3.1(+) + miR-20a-5p mimics 组、pcDNA-HOTAIR + miR-20a-5p mimics 组;(4) HOTAIR wt + mimics NC 组、HOTAIR wt + miR-20a-5p mimics 组、HOTAIR mut + mimics NC 组、HOTAIR mut + miR-20a-5p mimics 组;(5) KIF26B wt + mimics NC 组、KIF26B wt + miR-20a-5p mimics 组、KIF26B mut + mimics NC 组、KIF26B mut + miR-20a-5p mimics 组;(6) siRNA NC + inhibitor NC 组、HOTAIR siRNA + inhibitor NC 组、siRNA NC + miR-20a-5p inhibitor 组、HOTAIR siRNA + miR-20a-5p inhibitor 组。(1)组、(2)组、(6)组转染组细胞用于实时定量 PCR 检测;(1)组、(2)组、(3)组转染组细胞用于细胞活力、凋亡率和 Western blot 检测;(4)

组、(5)组转染组细胞用于双荧光素酶报告基因活性检测。

1.2.3 细胞活力测定 将各组细胞按照一定的密度比例分别接种于 96 孔板,培养 48 h 后,每孔加入 20 μ L MTT 溶液,继续培养 4 h,弃上清液后,再向孔内加入 DMSO 150 μ L,震荡 10 min,发现结晶充分溶解后,用酶标仪测定波长 570 nm 处的吸光度(A)值,检查细胞的存活率。

1.2.4 双荧光素酶报告基因试验 利用软件预测 LncRNA HOTAIR 及 miR-20a-5p 的结合点,将 HOTAIR 结合位点的野生序列(LncRNA HOTAIR wt)和突变序列(LncRNA HOTAIR mut)构建双荧光素酶报告载体,并分别与 miR-20a-5p mimics、mimics NC 共转染至 Hela 细胞;再将 KIF26B 结合位点的野生序列(KIF26B wt)和突变序列(KIF26B mut)分别与 miR-20a-5p mimics、mimics NC 共转染至 Hela 细胞;48 h 后,检测细胞中荧光素酶活性。

1.2.5 实时定量 PCR (RT-qPCR) 收集对数期的 Hela 细胞和组织,总 RNA 从细胞和组织中提取(Trizol 法),并检查 RNA 质量和水平(紫外分光光度法),按照制造商的说明,进行逆转录,转化为 cDNA,设置 3 个复孔,重复 3 次,内参为 GAPDH,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行分析。试验所用的引物见表 1。

1.2.6 Western blot 转染后,用 RIPA 裂解液裂解各组细胞,提取细胞蛋白,并测定所提取的蛋白水平。让蛋白变性成蛋白凝胶后进行电泳试验,再将蛋白转印到 PVDF 膜上,利用 TBST(含 5%脱脂奶粉)在 4 $^{\circ}$ C 下孵育 12 h,在 PVDF 膜上加入一抗,孵育 2 h,再在 PVDF 膜上加入二抗,孵育 1 h。采用 TBST 清洗 PVDF 膜 3 次,滴入 ECL 反应液进行 ECL 显影,进行蛋白灰度值分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计学软件分析数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LncRNA HOTAIR siRNA 抑制 Hela 细胞与 H8 细胞的作用 RT-qPCR 结果显示,Hela 细胞中的 LncRNA HOTAIR 表达量(1.89 ± 0.07)相比 H8 细胞(0.83 ± 0.08)明显上调($P < 0.01$),宫颈癌组织中的 LncRNA HOTAIR 表达量(2.37 ± 0.42)相比癌旁正常组织(1.15 ± 0.11)明显上调($P < 0.01$)。LncRNA HOTAIR siRNA 转染 Hela 细胞后 HOTAIR 表达量(0.35 ± 0.06)显著低于 siRNA NC 组(1.05 ± 0.08),差异有统计学意义($P < 0.01$)。由图 1 可知,LncRNA HOTAIR siRNA 转染 Hela 细胞后显著下调了细胞增殖能力($P < 0.05$)。HOTAIR siRNA 组

细胞凋亡率($9.73\% \pm 0.71\%$)明显高于 siRNA NC 组($4.25\% \pm 0.12\%$),差异有统计学意义($P < 0.01$);HOTAIR siRNA 组 Bax 和 E-cadherin 表达明显上升($P < 0.01$),Bcl-2 和 N-cadherin 表达量明显下降($P < 0.01$)。见图 1。

表 1 引物序列

引物	序列(5'→3')
LncRNA HOTAIR-F	GAGTGGGGAAGTCTGACTCG
LncRNA HOTAIR-R	GTGCCTGGTGTCTCTTACC
miR-20a-5p-F	UAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAG
miR-20a-5p-R	CUACCUGCACUAUAAGCACUUA
KIF26B-F	GCTGCGTGTCTGTTTCGG
KIF26B-R	TTCCTTGCGTTCGTTTATGAG
GAPDH-F	TCAAGGCTGAGAACGGGAAG
GAPDH-R	TGGACTCCACGACGTACTCA

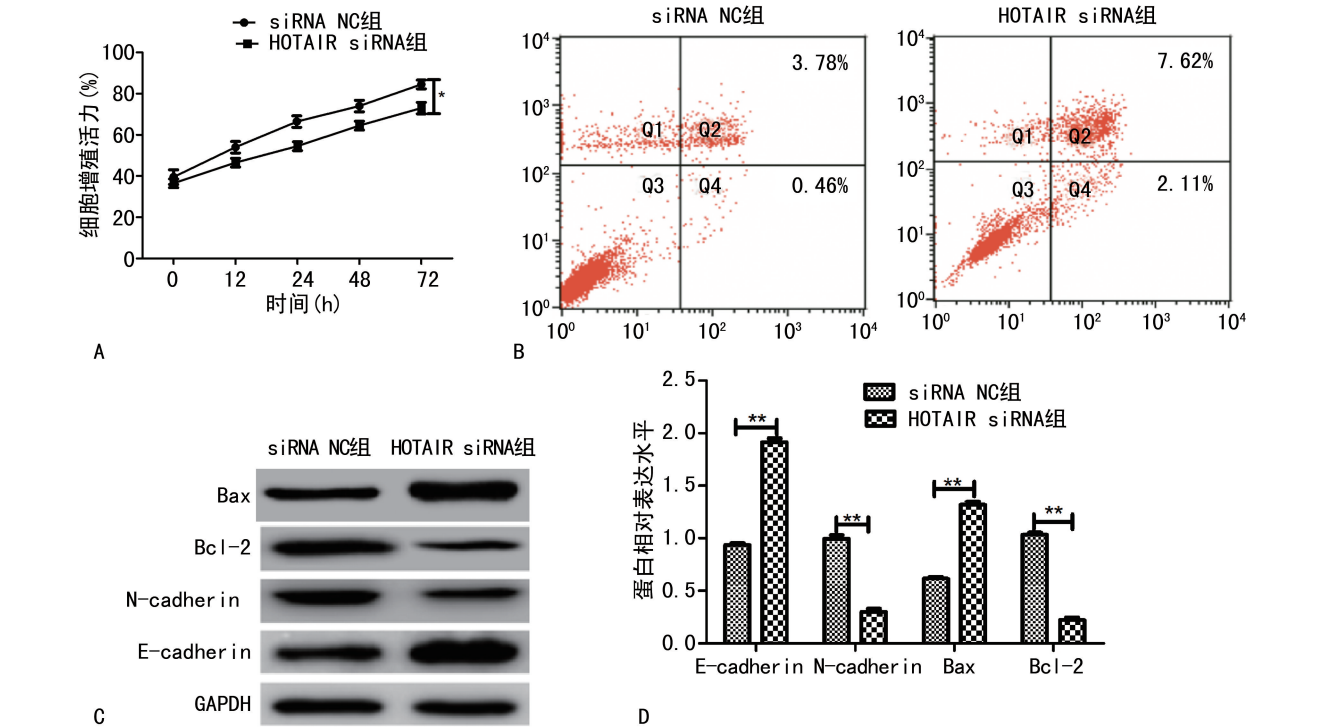
2.2 LncRNA HOTAIR 与 miR-20a-5p 的关系 HOTAIR 和 miR-20a-5p 之间具有结合位点,当质粒携带 LncRNA HOTAIR wt + miR-20a-5p mimics 时,荧光素酶活性显著低于 LncRNA HOTAIR wt + mimics NC($P < 0.01$),当质粒携带 LncRNA HOTAIR mut + miR-20a-5p mimics 时,荧光素酶活性无变化($P > 0.05$)。见图 2。

2.3 miR-20a-5p inhibitor 对 Hela 细胞的作用 分析 RT-qPCR 结果可知,Hela 细胞中的 miR-20a-5p 表达量(0.35 ± 0.09)相比 H8 细胞(1.06 ± 0.10)明显下调($P < 0.01$),宫颈癌组织中的 miR-20a-5p 表达量(0.47 ± 0.04)相比癌旁正常组织(1.16 ± 0.11)明显下调($P < 0.01$)。miR-20a-5p inhibitor 转染 Hela 细胞后 miR-20a-5p 表达量(0.19 ± 0.04)显著低于 inhibitor NC 组(0.87 ± 0.13),差异有统计学意义($P < 0.01$)。同时,miR-20a-5p inhibitor 转染 Hela 细胞后显著上调了细胞增殖能力($P < 0.05$)。miR-20a-5p inhibitor 组细胞凋亡率($2.86\% \pm 0.24\%$)明显低于 inhibitor NC 组($5.82\% \pm 0.49\%$)($P < 0.01$),miR-20a-5p inhibitor 组 Bax 和 E-cadherin 表达量明显下降($P < 0.01$),Bcl-2 和 N-cadherin 表达量明显上升($P < 0.01$)。见图 3。

2.4 LncRNA HOTAIR 通过 miR-20a-5p 对 Hela 细胞的调控作用 与 pcDNA-3.1(+) + mimics NC 组相比,pcDNA-HOTAIR + mimics NC 组 Hela 细胞增殖能力明显升高($P < 0.05$),细胞凋亡率明显降低($1.74\% \pm 0.11\%$),Bcl-2 和 N-cadherin 蛋白表达量明显上升($P < 0.01$),Bax 和 E-cadherin 蛋白表达量明显下降($P < 0.01$),pcDNA-3.1(+) + miR-20a-5p mimics 组 Hela 细胞增殖能力明显降低($P < 0.01$),细胞凋亡率明显上升($12.72\% \pm 1.46\%$),Bcl-2 和 N-

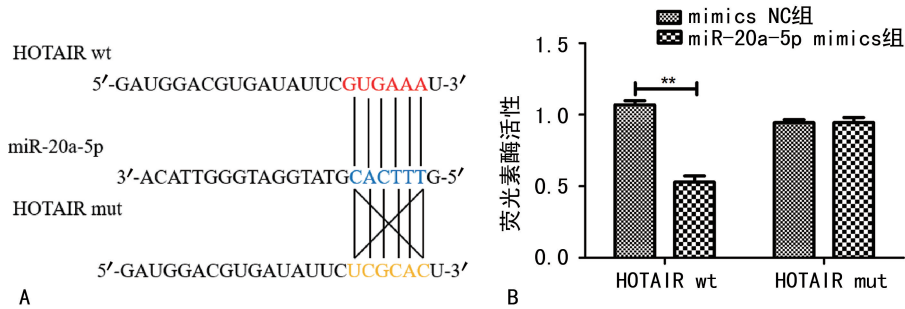
cadherin 蛋白表达量明显降低($P<0.01$), Bax 和 E-cadherin 蛋白表达量明显上升($P<0.01$); 与 pcDNA-NA-3.1(+)+miR-20a-5p mimics 组相比, pcDNA-HOTAIR+miR-20a-5p mimics 组 Hela 细胞增殖能

力明显升高($P<0.01$), 细胞凋亡率明显降低($5.27\%\pm0.31\%$), Bcl-2 和 N-cadherin 蛋白表达量明显上升($P<0.01$), Bax 和 E-cadherin 蛋白表达量明显下降($P<0.01$)。见图 4。



注:A为LncRNA HOTAIR siRNA 转染 Hela 细胞后 MTT 法检测细胞增殖活力;B为LncRNA HOTAIR siRNA 转染 Hela 细胞后流式细胞仪检测细胞凋亡情况;C为LncRNA HOTAIR siRNA 转染 Hela 细胞后 Western blot 检测细胞上皮细胞-间充质转化(EMT)及凋亡相关蛋白表达;D为 EMT 及凋亡相关蛋白表达; * $P<0.05$, * * $P<0.01$ 。

图 1 LncRNA HOTAIR siRNA 对 Hela 细胞的作用



注:A为预测 LncRNA HOTAIR 与 miR-20a-5p 之间的结合位点;B为双荧光素酶报告基因试验检测 LncRNA HOTAIR 与 miR-20a-5p 之间的相互作用; * * $P<0.01$ 。

图 2 LncRNA HOTAIR 与 miR-20a-5p 之间的靶向关系

2.5 miR-20a-5p 与 KIF26B 之间的关系 miR-20a-5p 与 KIF26B 之间具有结合位点,当质粒携带与 KIF26B wt+miR-20a-5p mimics 时,荧光素酶活性显著低于与 KIF26B wt+mimics NC 组($P<0.01$),当质粒携带 KIF26B mut+miR-20a-5p mimics 时,荧光素酶活性无变化($P>0.05$)。见图 5。

2.6 KIF26B 对 Hela 细胞的作用 分析 RT-qPCR 结果可知, Hela 细胞中的 KIF26B 表达量(2.35 ± 0.12)相比 H8 细胞(1.08 ± 0.11)明显上调($P<0.01$),宫颈癌组织中的 KIF26B 表达量(2.57 ± 0.13)

相比癌旁正常组织(1.15 ± 0.08)明显上调($P<0.01$)。KIF26B siRNA 转染 Hela 细胞后 KIF26B 表达量(0.49 ± 0.06)显著低于 siRNA NC 组(0.94 ± 0.05),差异有统计学意义($P<0.01$)。KIF26B siRNA 转染 Hela 细胞后显著下调了细胞增殖能力($P<0.05$)。KIF26B siRNA 组细胞凋亡率($7.26\%\pm0.61\%$)明显高于 siRNA NC 组($4.12\%\pm0.13\%$)($P<0.01$),KIF26B siRNA 组 Bax 和 E-cadherin 表达明显上升($P<0.01$), Bcl-2 和 N-cadherin 表达量明显下降($P<0.01$)。见图 6。

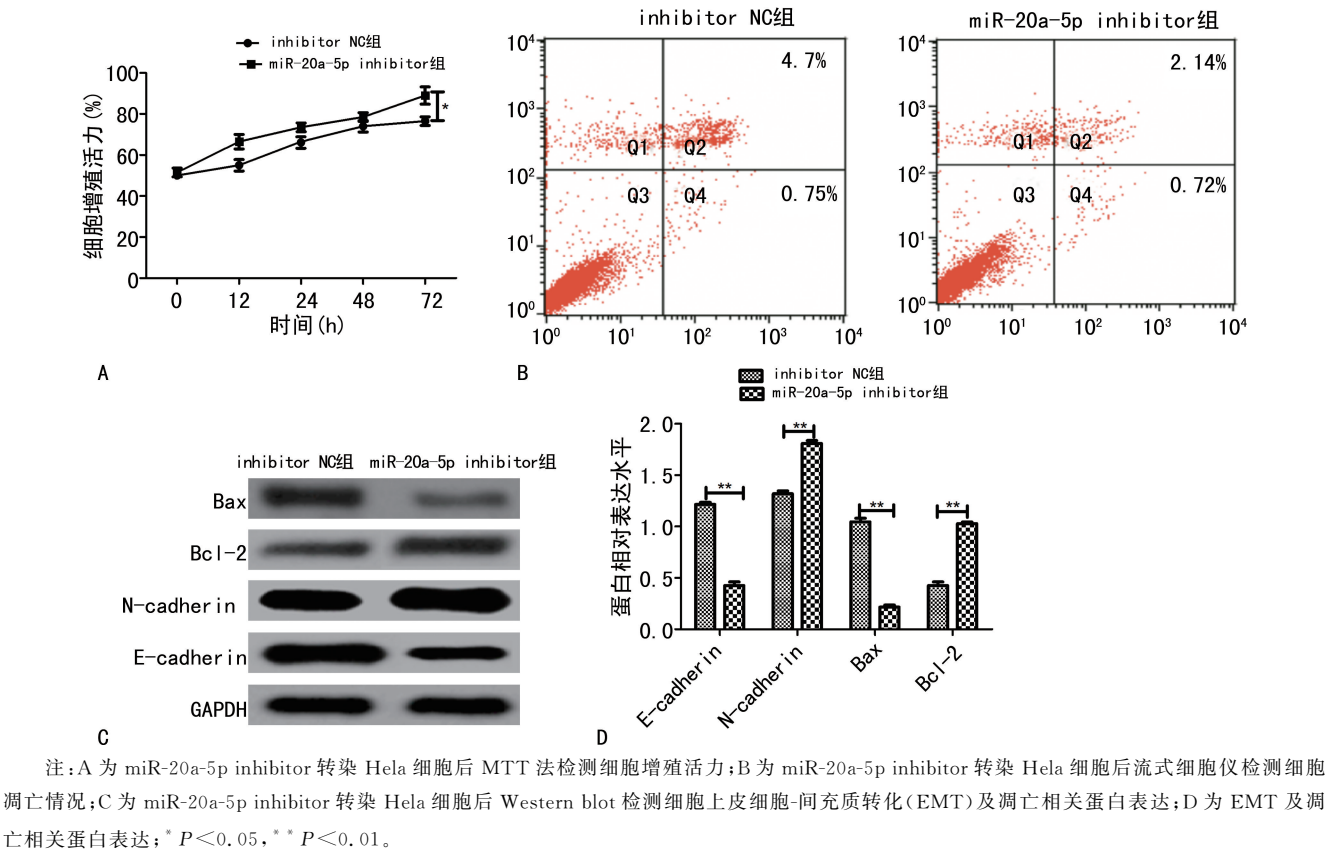


图 3 miR-20a-5p inhibitor 对 Hela 细胞的作用

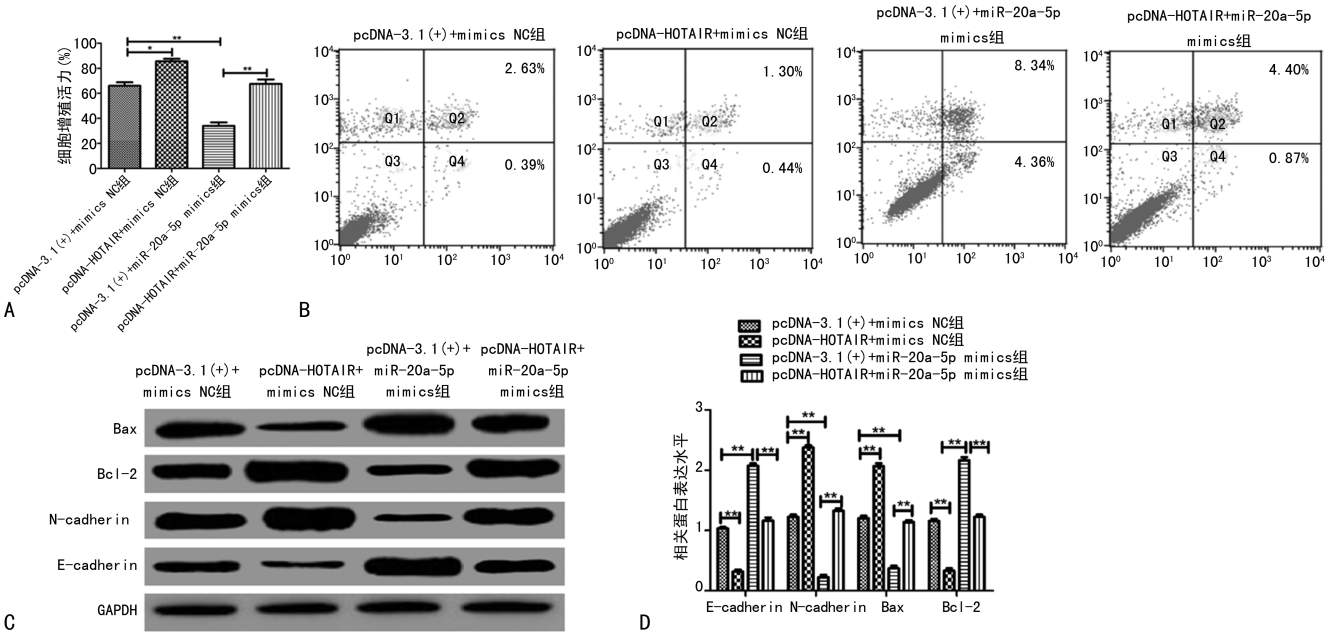
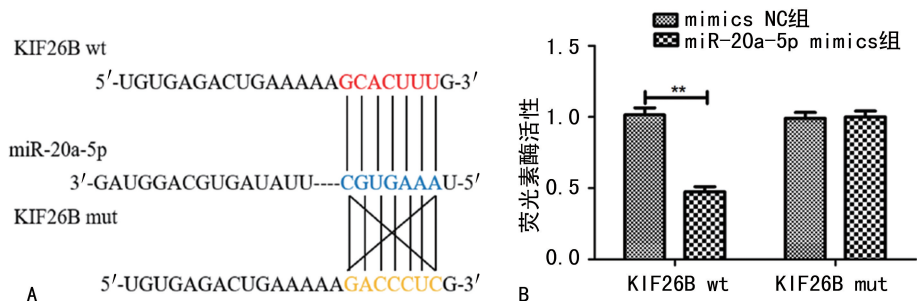


图 4 LncRNA HOTAIR 通过 miR-20a-5p 对 Hela 细胞的作用

2.7 LncRNA HOTAIR 通过 miR-20a-5p 对 KIF26B 表达的影响 RT-qPCR 结果显示, HOTAIR siRNA + inhibitor NC 组 KIF26B 表达量明显低于 siRNA NC + inhibitor NC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。siRNA

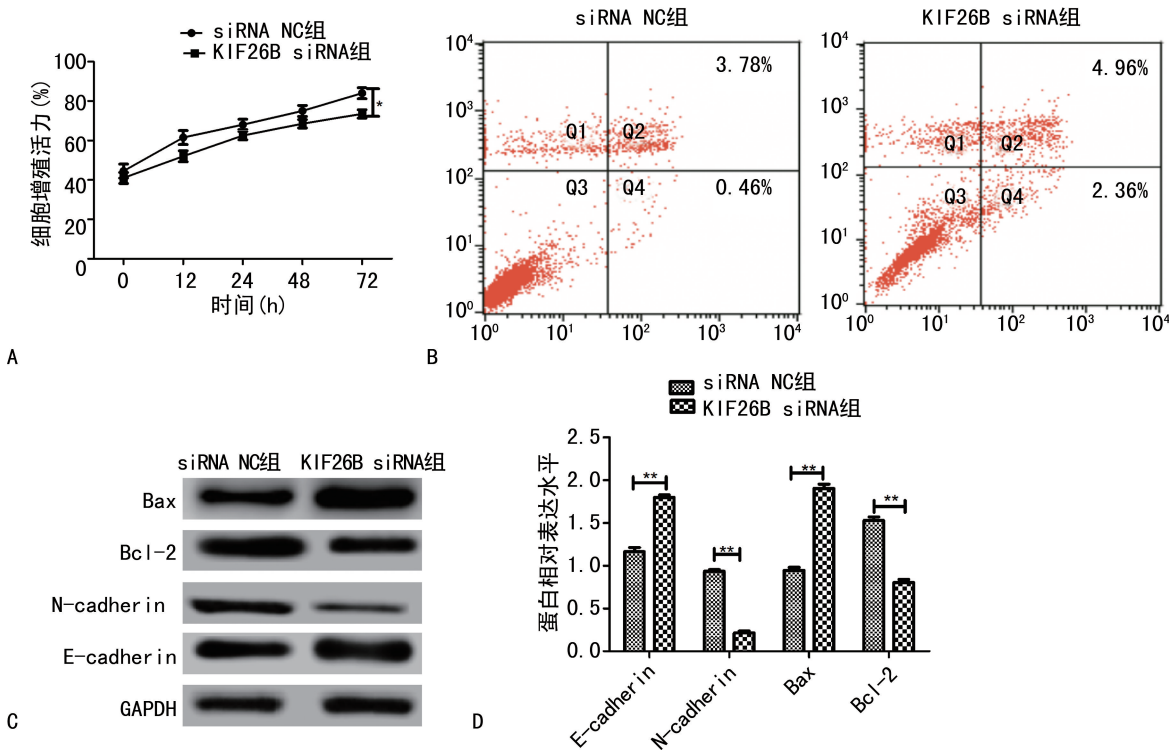
NC + miR-20a-5p inhibitor 组 KIF26B 表达量明显高于 siRNA NC + inhibitor NC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。HOTAIR siRNA + miR-20a-5p inhibitor 组 KIF26B 表达量明显低于 siRNA NC + miR-20a-5p

inhibitor 组,差异有统计学意义($P<0.01$)。



注:A 为预测 miR-20a-5p 与 KIF26B 之间的结合位点;B 为双荧光素酶报告基因检测 miR-20a-5p 与 KIF26B 之间的相互作用; ** $P<0.01$ 。

图 5 miR-20a-5p 与 KIF26B 之间的关系



注:A 为 KIF26B siRNA 转染 HeLa 细胞后 MTT 法检测细胞增殖活力;B 为 KIF26B siRNA 转染 HeLa 细胞后流式细胞仪检测细胞凋亡率;C 为 KIF26B siRNA 转染 HeLa 细胞后 Western blot 检测细胞上皮细胞-间充质转化(EMT)及凋亡相关蛋白表达;D 为 EMT 及凋亡相关蛋白表达; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图 6 KIF26B siRNA 对 HeLa 细胞的作用

3 讨 论

LncRNA 可以在不同水平上调控基因表达,广泛参与核导入、选择性剪接和表观遗传学等多种生理过程。这些分子也可以作为结构成分,比如 mRNA 衰变的调节因子,或者小 RNA 的前体。此外,越来越多的证据表明,LncRNA 表达异常可能是宫颈癌发生过程中的一个重要组成部分,例如 LncRNA SNHG1 可促进宫颈癌细胞增殖、迁移和侵袭^[8]。另有研究表明,LncRNA RSU1P2 作为内源竞争 RNA(ccRNA)在宫颈癌细胞中对抗 let-7a,参与肿瘤发生^[9]。研究还发现,LncRNA MEG3 具有抗宫颈癌作用^[10]。LncRNA SNHG20 通过 miR-140-5p-ADAM10 轴促进宫颈癌细胞增殖和侵袭^[11]。HOTAIR 在 2007 年被识别^[12]。已

有研究表明,HOTAIR 参与了多种癌症的发展。如 LncRNA HOTAIR 通过下调 SETD2 促进人肝癌干细胞恶性生长^[13]。另有研究表明,LncRNA HOTAIR 通过 COX-2 调控胃癌细胞增殖与侵袭^[14]。靶向 LncRNA HOTAIR 通过调节 EMT 抑制口腔癌干细胞的癌干性和转移^[15]。尽管 HOTAIR 已被证明在胃癌、肝癌、口腔癌的进展中发挥关键作用,但有关调控宫颈癌发展的分子机制的研究较少。本研究检测了 HOTAIR 在宫颈癌发展中的生物学功能,结果表明,过表达 HOTAIR 显著加快了细胞增殖和上皮细胞-间充质转化(EMT),抑制了细胞凋亡;而下调 HOTAIR 则抑制了细胞增殖,减少了细胞 EMT,诱导了更多的细胞凋亡。由此得出,HOTAIR 可能是

宫颈癌的一个潜在的生物标志物和治疗靶点。

HOTAIR 作为内源竞争 RNA(ceRNA)在各类肿瘤中可以与不同的微小 RNA(miRNA)结合并发挥重要的调控作用。在卵巢癌中,HOTAIR 可以通过竞争结合 miR-148a 上调人类白细胞抗原-G(HLA-G)的表达促进卵巢癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[16]。在乳腺癌中,HOTAIR 可以通过与 miR-20a-5p 以及 HMGA2 形成的 ceRNA 调控网络影响乳腺癌的发生和发展^[17]。在肺癌中,LncRNA-HOTAIR 通过上调 miR-613 影响非小细胞肺癌的发生和转移^[18]。据此推测在宫颈癌中,HOTAIR 是否也通过 miRNA 发挥作用。本研究结果发现,HOTAIR 与 miR-20a-5p 之间存在靶向结合位点,HOTAIR 通过 miR-20a-5p 靶向调节宫颈癌进展。为了探讨 miR-20a-5p 的下游分子机制,本研究采用 TargetScan 软件进一步分析得出 miR-20a-5p 与 KIF26B 存在靶向结合关系。KIF26B 是驱动蛋白超家族的成员之一,在肾脏的发育过程中起到非常重要的作用^[19]。近年来有研究表明,KIF26B 的下调抑制了乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。KIF26B 通过 FGF2/ERK 信号通路促进乳腺癌细胞增殖和迁移。最后,本研究探讨了 KIF26B 在宫颈癌细胞中的表达量及发挥的关键作用,结果显示,KIF26B 在宫颈癌细胞中过表达,促进宫颈癌细胞增殖和 EMT,抑制癌细胞凋亡。

综上所述,本研究阐明了 HOTAIR 通过其直接靶基因 miR-20a-5p/KIF26B 轴抑制宫颈癌细胞凋亡,促进宫颈癌细胞增殖和 EMT。研究结果提示 HOTAIR 可能作为一种潜在的生物分子标志物在宫颈癌进展中发挥作用。

参考文献

[1] OU L,WANG D,ZHANG H,et al. Decreased Expression of miR-138-5p by lncRNA H19 in Cervical Cancer Promotes Tumor Proliferation[J]. *Oncol Res*, 2018, 26(3): 401-410.

[2] 周含,孙亚男. 肿瘤相关基因 LncRNA H19 的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(11): 1822-1826.

[3] 王婷梅,曲丽娜,李莹辉. LncRNA 的结构、功能及其与疾病的关系[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, 31(7): 659-666.

[4] WANG X,WANG Z,WANG J,et al. LncRNA MEG3 has anti-activity effects of cervical cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 636-643.

[5] HUANG H W,XIE H,MA X,et al. Upregulation of LncRNA PANDAR predicts poor prognosis and promotes cell proliferation in cervical cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(20): 4529-4535.

[6] ZHANG A,ZHAO J C,KIM J,et al. LncRNA HOTAIR Enhances the Androgen-Receptor-Mediated Transcriptional Program and Drives Castration-Resistant Prostate

Cancer[J]. *Cell Reports*, 2015, 13(1): 209-221.

[7] XUE X,YANG Y A,ZHANG A,et al. LncRNA HOTAIR enhances ER signaling and confers tamoxifen resistance in breast cancer[J]. *Oncogene*, 2015, 35(21): 2746-2755.

[8] LIU Y,YANG Y,LI L,et al. LncRNA SNHG1 enhances cell proliferation,migration,and invasion in cervical cancer[J]. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96(1): 38-43.

[9] LIU Q,GUO X,QUE S,et al. LncRNA RSU1P2 contributes to tumorigenesis by acting as a ceRNA against let-7a in cervical cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(27): 43768-43781.

[10] WANG X,WANG Z,WANG J,et al. LncRNA MEG3 has anti-activity effects of cervical cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 636-643.

[11] GUO H,YANG S,LI S,et al. LncRNA SNHG20 promotes cell proliferation and invasion via miR-140-5p-ADAM10 axis in cervical cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 102: 749-757.

[12] JING L,YUAN W,RUOFAN D,et al. HOTAIR enhanced aggressive biological behaviors and induced radioresistance via inhibiting p21 in cervical cancer[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(5): 3611-3619.

[13] LI H,AN J,WU M,et al. LncRNA HOTAIR promotes human liver cancer stem cell malignant growth through downregulation of SETD2[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 27847-27864.

[14] 金星星,徐伟,张文灵,等. LncRNA HOTAIR 通过 COX-2 调控胃癌细胞增殖与侵袭[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(6): 739-744.

[15] LU M Y,LIAO Y W,CHEN P Y,et al. Targeting LncRNA HOTAIR suppresses cancer stemness and metastasis in oral carcinomas stem cells through modulation of EMT[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(58): 98542-98552.

[16] SUN J,CHU H,JI J,et al. Long non-coding RNA HOTAIR modulates HLA-G expression by absorbing miR-148a in human cervical cancer[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(3): 943-952.

[17] ZHAO W,GENG D,LI S,et al. LncRNA HOTAIR influences cell growth, migration, invasion, and apoptosis via the miR-20a-5p/HMGA2 axis in breast cancer[J]. *Cancer Med*, 2018, 7(3): 842-855.

[18] JIANG C,YANG Y,YANG Y,et al. Long Noncoding RNA (lncRNA) HOTAIR Affects Tumorigenesis and Metastasis of Non-Small Cell Lung Cancer by Upregulating miR-613[J]. *Oncol Res*, 2018, 26(5): 725-734.

[19] UCHIYAMA Y,SAKAGUCHI M,TERABAYASHI T,et al. Kif26b, a kinesin family gene, regulates adhesion of the embryonic kidney mesenchyme[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(20): 9240-9245.