肿瘤精准医学与转化研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.004035

miR-874-3p/CPEB4信号轴对宫颈癌细胞恶性生物学行为的影响

范文玲[1],齐子钰[2],邢景娜[3],任亚男[4],郝淑维[1]
（1.河北医科大学第四医院妇科,石家庄 050000;2.河北医科大学研究生学院,石家庄 050017;
3.河北省第七人民医院妇科,定州 073000;4.河北省人民医院妇科,石家庄 050057）

【摘 要】目的:探究长链非编码RNA(long non-coding ribonucleic acid,lncRNA)MCF2L-AS1调节微小RNA(micro ribonucleic acid,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)信号轴对宫颈癌(cervical cancer,CC)细胞恶性生物学行为的影响。**方法:**定量逆转录聚合酶链式反应(quantitative reverse transcription polymerase chain reaction,qRT-PCR)实验检测人正常宫颈上皮细胞(H8 cell line,H8)和CC细胞Hela、siha、HCC94中lncRNA MCF2L-AS1、miR-874-3p、CPEB4 mRNA表达水平;体外培养人CC细胞Hela,将其随机分成CC组(正常培养)、sh-NC组、sh-lncRNA MCF2L-AS1组、sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组、sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组。qRT-PCR实验检测各组Hela细胞lncRNA MCF2L-AS1、miR-874-3p、CPEB4 mRNA表达;双荧光素酶报告基因实验检测lncRNA MCF2L-AS1与miR-874-3p、miR-874-3p与CPEB4 mRNA之间的调控关系;平板克隆实验检测各组细胞增殖能力;划痕、Transwell和流式细胞仪实验检测各组细胞迁移、侵袭和凋亡能力;Western blot检测各组细胞增殖、迁移侵袭、凋亡、上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition,EMT)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)及CPEB4蛋白表达。**结果:**与H8细胞相比,Hela、siha、HCC94细胞中lncRNA MCF2L-AS1、CPEB4 mRNA表达升高($P<0.05$),miR-874-3p表达降低($P<0.05$),其中Hela变化最明显,以此为研究对象;sh-lncRNA MCF2L-AS1组Hela细胞lncRNA MCF2L-AS1、CPEB4 mRNA和蛋白、克隆数、迁移率、侵袭数量、Ki67、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)、基质金属蛋白酶9(matrix metallopeptidase 9,MMP-9)、N-cadherin、B淋巴细胞瘤-2(b-cell lymphoma-2,Bcl-2)、VEGF表达明显低于CC组、sh-NC组($P<0.05$),miR-874-3p、凋亡率、E-cadherin、BCL2相关X蛋白(bcl2 associated X protein,Bax)表达明显高于CC组、sh-NC组($P<0.05$);sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组Hela细胞lncRNA MCF2L-AS1表达无明显变化,CPEB4 mRNA和蛋白、克隆数、迁移率、侵袭数量、Ki67、PCNA、MMP-9、N-cadherin、Bcl-2、VEGF表达明显高于sh-lncRNA MCF2L-AS1组、sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组($P<0.05$),miR-874-3p、凋亡率、E-cadherin、Bax表达明显低于sh-lncRNA MCF2L-AS1组、inhibitor-NC组($P<0.05$)。双荧光素酶报告基因实验结果显示,miR-874-3p mimic组Hela细胞荧光素酶活性明显低于mimic-NC组。**结论:**抑制lncRNA MCF2L-AS1表达通过上调miR-874-3p,进而减少CPEB4表达,明显抑制CC细胞恶性生物学行为。

【关键词】长链非编码RNA MCF2L-AS1;微小RNA-874-3p/胞质多聚腺苷酸化元件结合蛋白4;宫颈癌;恶性生物学行为
【中图分类号】R737.33 **【文献标志码】**A

Effect of the microRNA-874-3p/cytoplasmic polyadenylation element binding protein 4 signaling axis on the malignant biological behavior of cervical cancer cells

Fan Wenling[1], Qi Ziyu[2], Xing Jingna[3], Ren Yanan[4], Hao Shuwei[1]
(1.Department of Gynecology, Hebei Medical University Fourth Hospital; 2.Graduate School of Hebei Medical University; 3.Department of Gynecology, The Seventh People's Hospital of Hebei Province; 4.Department of Gynecology, Hebei General Hospital)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effect of the long non-coding RNA(lncRNA) MCF2L-AS1 on the malignant biological behavior of cervical cancer(CC) cells by regulating the microRNA-874-3p(miR-874-3p)/cytoplasmic polyadenylation element binding protein 4(CPEB4) signaling axis. ***Methods*:** The qRT-PCR experiment was used to measure the mRNA expression levels of ln-

作者介绍:范文玲,Email:xnnhhz@163.com,
研究方向:宫颈癌的治疗。
通信作者:郝淑维,Email:haoshuwei@sina.com。
基金项目:河北省中医药管理局科研课题资助项目(编号:2023002)。
优先出版:https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20260122.1927.004
(2026-01-23)

cRNA MCF2L-AS1, miR-874-3p, and CPEB4 mRNA in normal human cervical epithelial cells H8 and CC cell lines HeLa, siha, and HCC94. Human CC HeLa cells were cultured *in vitro* and were then randomly divided into CC group (normal culture), sh-NC group, sh-lncRNA MCF2L-AS1 group, sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC group, and sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor group. The qRT-PCR experiment was used to measure the mRNA expression levels of lncRNA MCF2L-AS1, miR-874-3p, and CPEB4 in HeLa cells; dual-luciferase reporter assay was used to investigate the regulatory relationship between lncRNA MCF2L-AS1 and miR-874-3p and between miR-874-3p and CPEB4; plate colony formation assay was used to observe the proliferative capacity of cells; scratch assay, Transwell assay, and flow cytometry were used to measure the migration, invasion, and apoptosis abilities of cells; Western blot was used to measure the expression levels of the proteins associated with cell proliferation, migration, invasion, apoptosis, and epithelial mesenchymal transition (EMT), as well as the protein expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and CPEB4. ***Results***: Compared with H8 cells, HeLa, siha, and HCC94 cells showed significant increases in the mRNA expression levels of lncRNA MCF2L-AS1 and CPEB4 ($P<0.05$) and a significant reduction in the expression level of miR-874-3p ($P<0.05$), among which HeLa cells showed the greatest changes and were selected as the research object. Compared with the CC group and the sh-NC group, the sh-lncRNA MCF2L-AS1 group had significantly lower mRNA and protein expression levels of lncRNA MCF2L-AS1 and CPEB4 in HeLa cells, number of clones, migration rate, number of invasive cells, and expression levels of Ki67, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), matrix metallopeptidase 9 (MMP-9), N-cadherin, B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), and VEGF ($P<0.05$), as well as significantly higher expression level of miR-874-3p, apoptosis rate, and expression levels of E-cadherin and Bcl-2 related X gene (Bax) ($P<0.05$). There was no significant change in the expression level of lncRNA MCF2L-AS1 in HeLa cells in the sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor group, and compared with the sh-lncRNA MCF2L-AS1 group and the sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC group, the sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor group had significantly higher mRNA and protein expression levels of CPEB4, number of clones, migration rate, number of invasive cells, and expression levels of Ki67, PCNA, MMP-9, N-cadherin, Bcl-2, and VEGF ($P<0.05$), as well as significantly lower expression level of miR-874-3p, apoptosis rate, and expression levels of E-cadherin and Bax ($P<0.05$). Dual-luciferase reporter assay showed that compared with the mimic-NC group, the miR-874-3p mimic group had a significantly lower luciferase activity of HeLa. ***Conclusion***: Inhibiting the expression of lncRNA MCF2L-AS1 can significantly inhibit the malignant biological behaviors of CC cells by upregulating the expression of miR-874-3p and reducing the expression of CPEB4.

【Key words】long non-coding RNA MCF2L-AS1; microRNA-874-3p/cytoplasmic polyadenylation element binding protein 4; cervical cancer; malignant biological behaviors

宫颈癌（cervical cancer，CC）是女性中最常见的癌症之一，发病率和病死率较高[1]。CC主要起源于宫颈上皮细胞的恶性肿瘤，其病理机制与人乳头瘤病毒的持续感染密切相关[2]。人乳头瘤病毒长期感染导致正常宫颈细胞异常增殖，进而发展为癌前病变。然而，由于早期症状往往不明显，大多数患者在病情进展至中晚期才被确诊，严重影响患者治疗效果和生存预后[3]。因此，探索新的治疗靶点已成为改善CC患者生存预后的关键任务。MCF2L-AS1属于长链非编码RNA（long non-coding ribonucleic acid，lncRNA），其在基因表达和癌症发生发展中发挥重要作用[4]。已有研究表明，抑制lncRNA MCF2L-AS1通过调节miR-873-5p，进而延缓非小细胞肺癌进展[5]。微小RNA（micro ribonucleic acid，miR）-874-3p在调节肿瘤进展方面起关键作用[6]。研究表明，过表达miR-873-5p抑制骨肉瘤细胞的增殖和迁移[7]。lncRNA MCF2L-AS1可能参与CC的病理进程。但迄今为止少见有文献报道其在CC中的具体作用机制。胞质多聚腺苷酸化元件结合蛋白4（cytoplasmic polyadenylation element binding protein 4，CPEB4）属于RNA结合蛋白的重要成员，对信使核糖核酸（messenger ribonucleic acid，mRNA）稳定性和翻译调控过程具有重要意义[8]。其参与细胞应激、肿瘤发生发展等生物学过程[9]。已有研究发现，CPEB4过表达能够促进肠道炎症反应，加快结直肠癌进展[10]。前期基于Starbase数据库的分析发现，lncRNA MCF2L-AS1与miR-874-3p、miR-874-3p与CPEB4之间存在潜在的互补结合位点。因此，本研究探讨了lncRNA MCF2L-AS1是否可以通过调控miR-874-3p/CPEB4信号轴来影响CC细胞恶性生物学行为，为治疗CC提供坚实的理论基础和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂、仪器

人正常宫颈上皮细胞(H8 cell line,H8)和CC细胞Hela、siha、HCC94(货号:BFN607200572、BFN60700443、BFN60700394、BFN60700377)购自bluefcell公司;双荧光素酶报告基因检测试剂盒(货号:KGE3308)购自江苏凯基生物技术公司;RNA提取试剂盒(货号:R4801-01)购自迈跟生物科技;反转录试剂盒(货号:RR037Q)购自TaKaRa公司;细胞凋亡试剂盒(货号:BB-4101)购自贝博生物科技公司;蛋白定量试剂盒(货号:FD2001)购自费德生物科技公司;Lipofectamine 3000转染试剂(货号:TR002)购自兰博利德商贸公司;抗体山羊抗兔辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase,HRP)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,GAPDH)、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)、Ki67、基质金属蛋白酶9(matrix metallopeptidase 9,MMP-9)、N-cadherin、B淋巴细胞瘤-2(b-cell lymphoma-2,Bcl-2)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)、E-cadherin、BCL2相关X蛋白(bcl2 associated X protein,Bax)(货号:S0001、AF0911、AF0239、AF6665、AF5228、AF6710、AF0769、AF5131、AF7718、AF6614)购自Affinity Biosciences公司;全自动酶标仪(型号:PRESA-96)购自启前电子科技公司;流式细胞仪(型号:FACSCanto Ⅱ)购自德利卡生物技术;倒置显微镜(货号:WMS-3690)购自无陌光学仪器公司;聚合酶链式反应(polymerase chain reaction instrument,PCR)仪(型号:YT-PCR2)购自云唐智能科技公司。

1.2 方法

1.2.1 实验细胞转染及分组处理 人正常宫颈上皮细胞H8和CC细胞Hela、siha、HCC94均采用含10%血清和1%青霉素-链霉素的杜氏改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified Eagle medium,DMEM)完全培养基在恒温培养箱中进行培养。

将Hela细胞随机分成CC组、sh-NC组、sh-lncRNA MCF2L-AS1组、sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组、sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组。CC组细胞使用正常DMEM完全培养基培养,不作其他任何处理;sh-NC组细胞转染sh-lncRNA MCF2L-AS1阴性对照序列;sh-lncRNA MCF2L-AS1组细胞转染lncRNA MCF2L-AS1的shRNA;sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组在转染sh-lncRNA MCF2L-AS1同时转染miR-874-3p inhibitor阴性对照序列;sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组在转染sh-lncRNA MCF2L-AS1同时转染miR-874-3p inhibitor。

1.2.2 qRT-PCR检测lncRNA MCF2L-AS1、miR-874-3p、CPEB4 mRNA表达 将细胞通过RNA提取试剂盒进行总RNA的提取,然后使用反转录试剂盒将总RNA通过PCR仪逆转录成cDNA。在实时定量PCR系统上进行定量逆转录聚合酶链式反应(quantitative reverse transcription polymerase chain reaction,qRT-PCR),使用U6和GAPDH作为内参,通过$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算lncRNA MCF2L-AS1、miR-874-3p、CPEB4相对表达量。引物序列见表1。

1.2.3 双荧光素酶报告基因检测验证lncRNA MCF2L-AS1/miR-874-3p/CPEB4调控轴 ①分别构建lncRNA MCF2L-AS1和CPEB4野生型质粒(WT-lncRNA MCF2L-AS1、WT-CPEB4)和突变型质粒(MUT-lncRNA MCF2L-AS1、MUT-CPEB4),其中WT-lncRNA MCF2L-AS1、WT-CPEB4是通过PCR扩增其对应的lncRNA MCF2L-AS1和CPEB4全长序列,克隆至pmir GLO载体中。而MUT-lncRNA MCF2L-AS1、MUT-CPEB4主要通过前期生物信息学预测关键结合位点,使用点突变试剂盒进行特异性突变。②将构建好的质粒分别与mimic-NC或mimic-miR-874-3p共转染至Hela细胞。转染后,继续培养细胞48 h。利用双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测各组细胞的荧光素酶活性。

1.2.4 平板克隆形成检测各组细胞增殖能力的检测 各组细胞分别接种于12孔板中,继续培养细胞,定期观察细胞生长状态,观察到菌落形成后,停止培养,用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline,PBS)清洗,并通过多聚甲醛进行固定。固定完成后,使用结晶紫染液对菌落进行染色。然后,在显微镜下观察并计数。

1.2.5 划痕实验检测各组细胞迁移能力 细胞接种在培养皿中,使用无菌移液枪头垂直于培养皿底部进行划痕,用PBS清洗脱落的细胞,更换新培养基,继续在恒温培养箱培养细胞。在显微镜下观察并拍摄0 h、24 h的图像,通过图像分析仪测量划痕的宽度,计算各组Hela细胞迁移率。

1.2.6 Transwell检测各组细胞侵袭能力 ①Transwell小室的上室被基质胶包被并加入无血清培养基。各组细胞先进行饥饿处理,然后将各组细胞制成细胞悬液,均匀铺至Transwell上室,下室加入含10%血清的培养基,继续培养48 h。取出Transwell小室,并使用多聚甲醛进行固定。②使用结晶紫染液处理细胞,在显微镜下随机选取5个视野进行观察,并记录细胞侵袭数量。

表1 qRT-PCR引物序列

基因	上游引物(5′~3′)	下游引物(5′~3′)
lncRNA MCF2L-AS1	TCCAGCTCGTGTCTATGCAG	CTGCTTCTGCCTCAGCTTCT
miR-874-3p	GAACTCCACTGTAGCAGAGATGGT	CATTTTTTCCACTCCTCTTCTCTC
CPEB4	TGCTATCCATTCTCGTGCTG	AGCGTGAAGAGGTTGAGGAA
GAPDH	CATCATCCCTGCCTCTACTGG	GTGGGTGTCGCTGTTGAAGTC
U6	GGAGAGTGTTTCCTCGTCCC	TTACTCCTTGGAGGCCATGTAG

1.2.7 流式细胞术检测各组细胞凋亡能力 收集各组细胞悬液，分别加入5 μL的FITC-Annexin V溶液并轻轻混匀，室温避光处理15 min。然后，向细胞悬液中继续加入5 μL的碘化丙啶染色，混匀后，继续室温避光处理15 min，通过流式细胞仪分析各组细胞凋亡情况，并计算凋亡率。

1.2.8 Western blot检测细胞表型相关蛋白及CPEB4表达水平 使用放射免疫沉淀分析（radioimmunoprecipitation assay lysis buffer，RIPA）裂解液并混合蛋白酶抑制剂对各组细胞进行裂解，在4 ℃转速12 000 r/min条件下进行10 min离心，用离心管收集上清液即总蛋白。各组细胞总蛋白通过二喹啉甲酸（bicinchoninic acid assay，BCA）法测定浓度，计算出上样量并进行变性。采用电泳对蛋白进行分离，通过湿转法将蛋白转移至聚偏二氟乙烯（polyvinylidene fluoride membrane，PVDF）膜。Tris缓冲盐水（Tris-buffered saline with Tween-20，TBST）清洗PVDF膜后，使用封闭液封闭1 h。然后，将蛋白条带与一抗Ki67、PCNA、MMP-9、N-cadherin、Bcl-2、VEGF、E-cadherin、Bax（均为1∶2 000稀释比例）、GAPDH（1∶3 000）4 ℃过夜孵育。孵育完成后，加入二抗（1∶5 000）室温下孵育2 h，最后，向蛋白条带滴加显色液进行拍照。使用图像软件对目的蛋白条带的灰度值进行定量分析。以GAPDH为内参，计算各组细胞不同蛋白表达量。

1.3 统计学方法

所有数据的处理均采用SPSS 26.0软件。计量资料采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。对于多组间的比较，使用单因素方差分析。为了进一步分析，采用*SNK-q*检验进行两两比较。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 人正常宫颈上皮细胞H8和CC细胞Hela、siha、HCC94中lncRNA MCF2L-AS1、miR-874-3p、CPEB4 mRNA表达水平

与H8细胞相比，Hela、siha、HCC94细胞中lncRNA MCF2L-AS1、CPEB4 mRNA表达升高（t=-8.621、-8.908，P<0.05；t=-7.185、-7.233，P<0.05；t=-4.682、-7.247，P<0.05；），miR-874-3p表达降低（t=3.389，P<0.05；t=5.800，P<0.05；t=7.493，P<0.05）；其中Hela细胞中lncRNA MCF2L-AS1、CPEB4表达水平高于siha、HCC94细胞，后续实验对象均为Hela细胞。见表2。

2.2 各组Hela细胞lncRNA MCF2L-AS1、miR-874-3p、CPEB4 mRNA和蛋白表达水平

表2 不同细胞lncRNA MCF2L-AS1、miR-874-3p、CPEB4 mRNA表达比较（n=6，$\bar{x}\pm s$）

细胞系	lncRNA MCF2L-AS1	miR-874-3p	CPEB4 mRNA
H8	0.98±0.12	1.01±0.15	0.46±0.06
Hela	2.15±0.31[a]	0.38±0.43[a]	1.15±0.18[a]
siha	1.82±0.26[a]	0.54±0.13[a]	0.83±0.11[a]
HCC94	1.76±0.39[a]	0.49±0.08[a]	0.78±0.09[a]

注：a，与H8细胞比较，P<0.05

sh-lncRNA MCF2L-AS1组Hela细胞lncRNA MCF2L-AS1、CPEB4 mRNA和蛋白明显低于CC组、sh-NC组（F=27.585、11.706、13.386，均P<0.05），miR-874-3p明显高于NC组、sh-NC组（F=50.374，P<0.05）；sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组Hela细胞lncRNA MCF2L-AS1表达无明显变化，CPEB4 mRNA和蛋白表达明显高于sh-lncRNA MCF2L-AS1组、sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组（F=16.917、35.269，均P<0.05），miR-874-3p明显低于sh-lncRNA MCF2L-AS1组、inhibitor-NC组（F=37.139，P<0.05）。见图1、表3。

2.3 lncRNA MCF2L-AS1与miR-874-3p、miR-874-3p与CPEB4 mRNA之间的调控关系

基于Starbase数据库分析发现，lncRNA MCF2L-AS1与miR-874-3p以及miR-874-3p与CPEB4 mRNA之间存在明显的相互作用位点。为进一步验证两者之间的关系，进行双荧光素酶报告实验。实验结果表明，在转染miR-874-3p mimic组中，转染WT-lncRNA MCF2L-AS1和WT-CPEB4细胞的荧光素酶活性明显低于转染mimic-NC组（t=6.507，P<0.05；t=7.204，P<0.05）。见表4。

2.4 lncRNA MCF2L-AS1下调对细胞增殖能力的影响

sh-lncRNA MCF2L-AS1组Hela细胞克隆数、Ki67、PCNA明显低于CC组、sh-NC组（F=42.852、28.582、17.791，均P<0.05）；sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组Hela细胞克隆数、Ki67、PCNA明显高于sh-lncRNA MCF2L-AS1组、sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组（F=33.960、29.621、15.066，均P<0.05）。见图2、图3、表5。

2.5 lncRNA MCF2L-AS1下调对细胞迁移、侵袭能力及EMT的影响

sh-lncRNA MCF2L-AS1组Hela细胞迁移率、侵袭数量、MMP-9、VEGF、N-cadherin表达明显低于CC组、sh-NC组

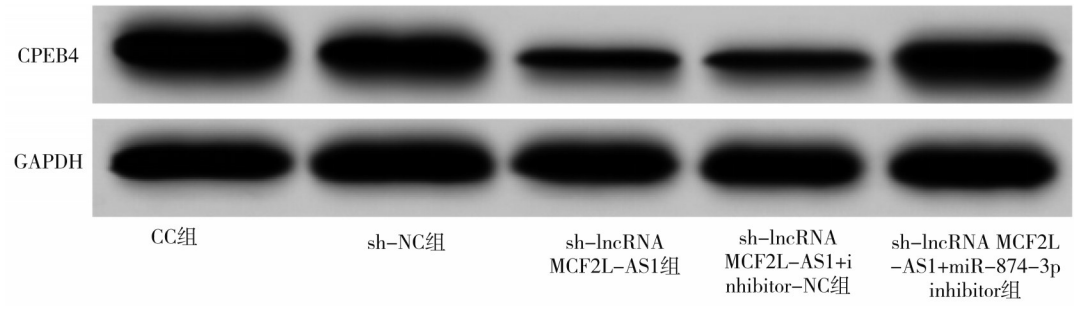


图1 Western blot检测各组细胞CPEB4的蛋白表达

表3 各组细胞lncRNA MCF2L-AS1、miR-874-3p、CPEB4 mRNA和蛋白表达水平比较（$n=6, \bar{x} \pm s$）

组别	lncRNA MCF2L-AS1	miR-874-3p	CPEB4 mRNA	CPEB4蛋白
CC组	0.99 ± 0.23	1.02 ± 0.14	1.00 ± 0.21	1.01 ± 0.29
sh-NC组	1.01 ± 0.16	0.98 ± 0.15	0.99 ± 0.27	0.98 ± 0.18
sh-lncRNA MCF2L-AS1组	0.39 ± 0.05^{ab}	1.85 ± 0.21^{ab}	0.51 ± 0.06^{ab}	0.46 ± 0.11^{ab}
sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组	0.42 ± 0.08	1.82 ± 0.26	0.53 ± 0.12	0.43 ± 0.05
sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组	0.41 ± 0.13	0.96 ± 0.11^{cd}	0.98 ± 0.24^{cd}	0.95 ± 0.17^{cd}
F值	30.426	39.146	10.338	16.206
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，与CC组比较，$P<0.05$；b，与sh-NC组比较，$P<0.05$；c与sh-lncRNA MCF2L-AS1组比较，$P<0.05$；d，与sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组比较，$P<0.05$

表4 各组细胞双荧光素酶活性比较（$n=6, \bar{x} \pm s$）

组别	WT-lncRNA MCF2L-AS1	MUT-lncRNA MCF2L-AS1	WT-CPEB4	MUT-CPEB4
mimic-NC组	0.99 ± 0.13	1.00 ± 0.21	1.01 ± 0.15	0.98 ± 0.26
miR-874-3p mimic组	0.52 ± 0.12^{a}	0.98 ± 0.19	0.51 ± 0.08^{a}	1.02 ± 0.14
t值	6.507	0.173	7.204	−0.332
P值	<0.001	0.866	<0.001	0.747

注：a，与mimic-NC组比较，$P<0.05$

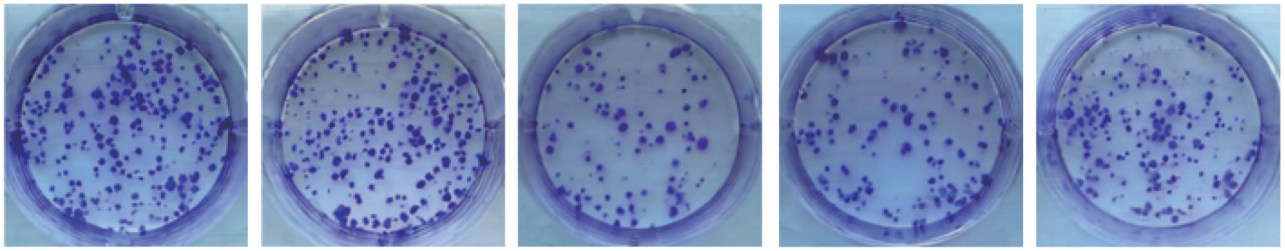


图2 平板克隆形成实验检测各组细胞增殖情况

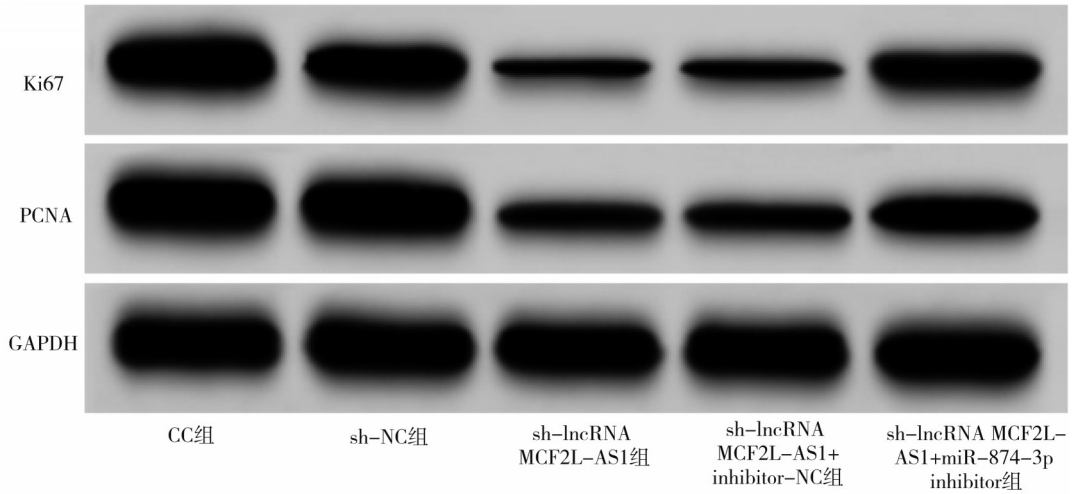


图3 Western blot检测各组细胞增殖相关蛋白表达

（F=20.352、17.531、13.741、55.361、26.756，均 $P<0.05$），E-cadherin表达明显高于CC组、sh-NC组（F=77.891，$P<0.05$）；sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组Hela细胞迁移率、侵袭数量、MMP-9、VEGF、N-cadherin表达明显高于sh-lncRNA MCF2L-AS1组、sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组（F=41.814、8.584、14.691、15.704、38.384，均 $P<0.05$），E-cadherin明显低于sh-lncRNA MCF2L-AS1组、sh-lncRNA MCF2L-AS+inhibitor-NC组（F=9.107，$P<0.05$）。

见图4~6、表6、7。

2.6 lncRNA MCF2L-AS1下调对细胞凋亡的影响

sh-lncRNA MCF2L-AS1组Hela细胞Bcl-2表达明显低于CC组、sh-NC组（F=11.467，P<0.05），凋亡率、Bax表达明显高于CC组、sh-NC组（F=81.213、41.324，均P<0.05）；sh-lncRNA MCF2L-AS+miR-874-3p inhibitor组Hela细胞Bcl-2明显高于sh-lncRNA MCF2L-AS1组、sh-lncRNA MCF2L-AS+inhibitor-NC组（F=16.109，P<0.05），凋亡率、Bax明显低于sh-lncRNA MCF2L-AS1组、sh-lncRNA MCF2L-AS+inhibitor-NC组（F=4.106、15.696，均P<0.05）。见图7、图8、表8。

表5 各组细胞克隆数、Ki67、PCNA表达水平比较（n=6，$\bar{x}\pm s$）

组别	克隆数	Ki67	PCNA
CC组	118.27 ± 15.43	1.02 ± 0.23	0.99 ± 0.11
sh-NC组	109.62 ± 16.58	0.97 ± 0.12	1.01 ± 0.24
sh-lncRNA MCF2L-AS1组	48.15 ± 10.05[ab]	0.42 ± 0.05[ab]	0.53 ± 0.07[ab]
sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组	52.81 ± 7.64	0.41 ± 0.08	0.55 ± 0.06
sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组	95.36 ± 14.12[cd]	0.79 ± 0.14[cd]	0.86 ± 0.18[cd]
F值	36.259	26.890	14.812
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，与CC组比较，P<0.05；b，与sh-NC组比较，P<0.05；c与sh-lncRNA MCF2L-AS1组比较，P<0.05；d，与sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组比较，P<0.05

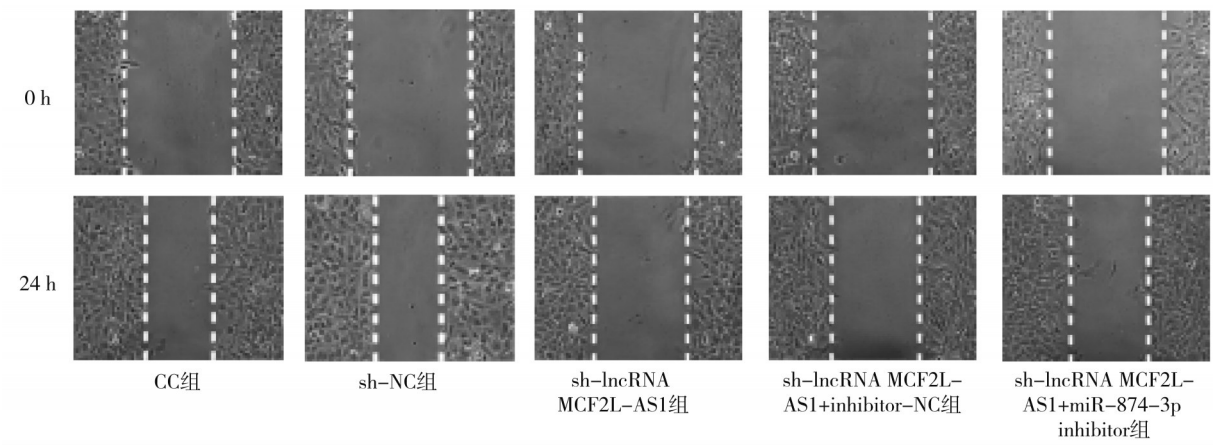


图4 划痕实验检测细胞迁移能力

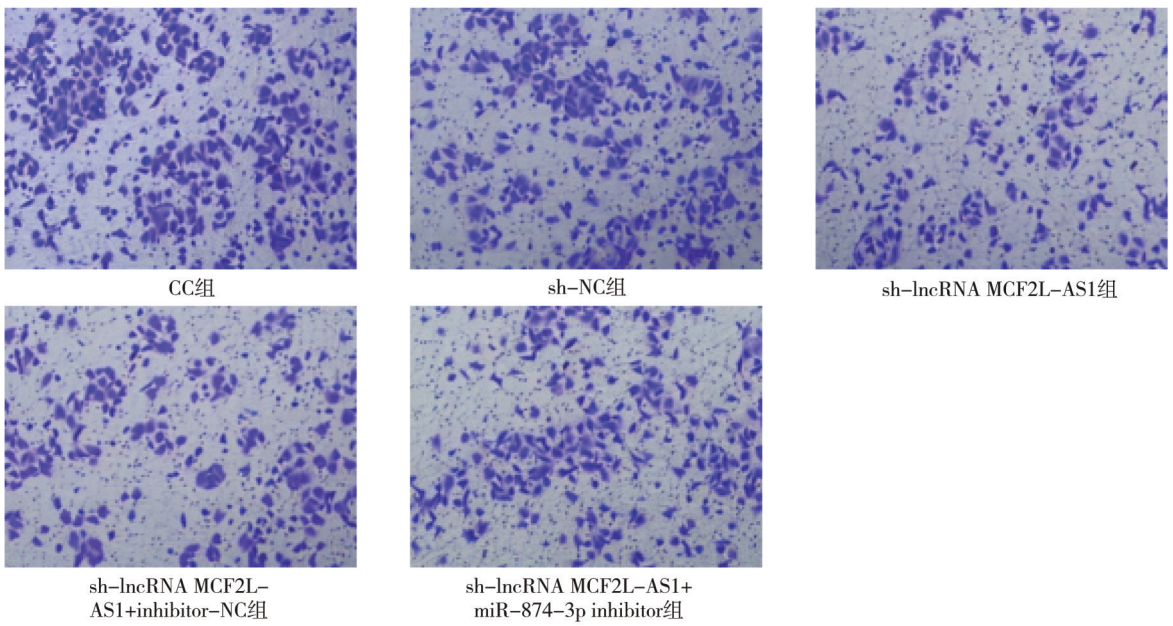


图5 Transwell检测各组细胞侵袭能力

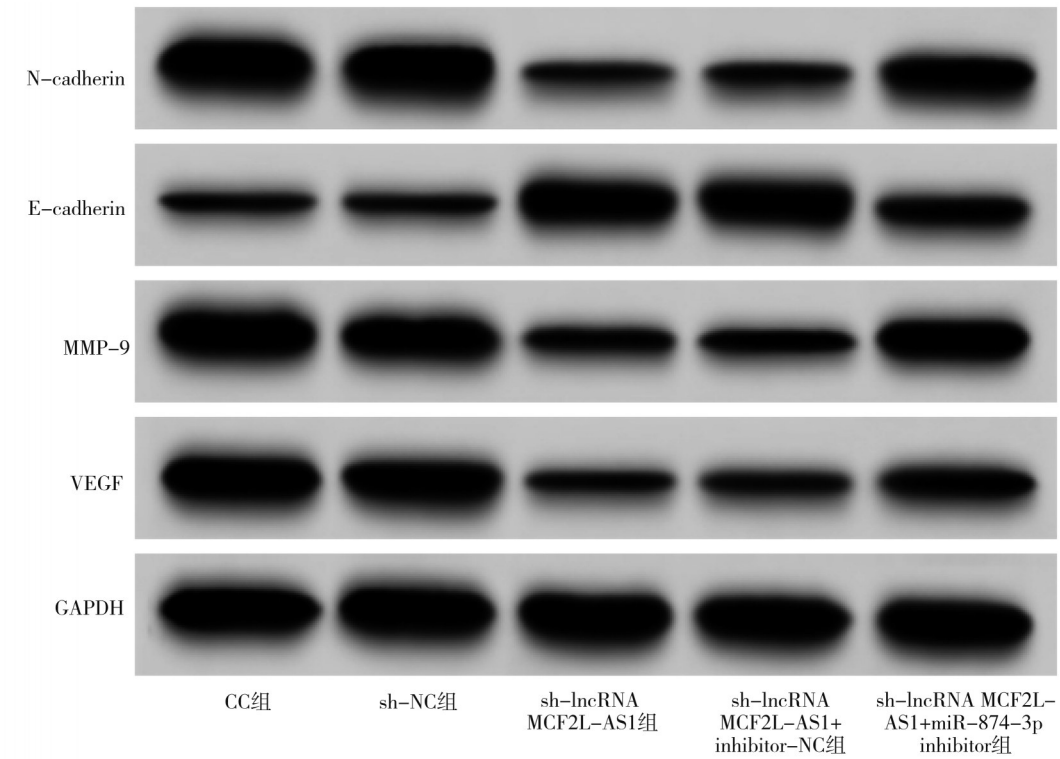


图6 Western blot检测各组细胞MMP-9、VEGF蛋白表达

表6 各组细胞迁移率、侵袭数量比较（$n=6, \bar{x} \pm s$）

组别	迁移率（%）	侵袭数量（个）
CC组	41.58 ± 8.86	132.71 ± 28.45
sh-NC组	43.82 ± 10.62	128.53 ± 18.13
sh-lncRNA MCF2L-AS1组	16.35 ± 3.81^{ab}	67.29 ± 15.46^{ab}
sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组	17.93 ± 2.97	70.18 ± 8.39
sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组	34.66 ± 4.58^{cd}	105.32 ± 25.11^{cd}
*F*值	21.489	13.961
*P*值	<0.001	<0.001

注：a，与CC组比较，$P<0.05$；b，与sh-NC组比较，$P<0.05$；c与sh-lncRNA MCF2L-AS1组比较，$P<0.05$；d，与sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组比较，$P<0.05$

表7 各组细胞N-cadherin、E-cadherin、MMP-9、VEGF表达蛋白比较（$n=6, \bar{x} \pm s$）

组别	N-cadherin	E-cadherin	MMP-9	VEGF
CC组	1.01 ± 0.23	0.35 ± 0.06	1.02 ± 0.31	0.99 ± 0.11
sh-NC组	0.97 ± 0.16	0.32 ± 0.04	0.98 ± 0.12	0.98 ± 0.15
sh-lncRNA MCF2L-AS1组	0.39 ± 0.05^{ab}	0.87 ± 0.13^{ab}	0.49 ± 0.06^{ab}	0.37 ± 0.08^{ab}
sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组	0.42 ± 0.08	0.92 ± 0.15	0.51 ± 0.11	0.39 ± 0.05
sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组	0.79 ± 0.12^{cd}	0.63 ± 0.09^{cd}	0.83 ± 0.17^{cd}	0.68 ± 0.16^{cd}
*F*值	25.809	44.898	12.385	39.755
*P*值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，与CC组比较，$P<0.05$；b，与sh-NC组比较，$P<0.05$；c与sh-lncRNA MCF2L-AS1组比较，$P<0.05$；d，与sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组比较，$P<0.05$

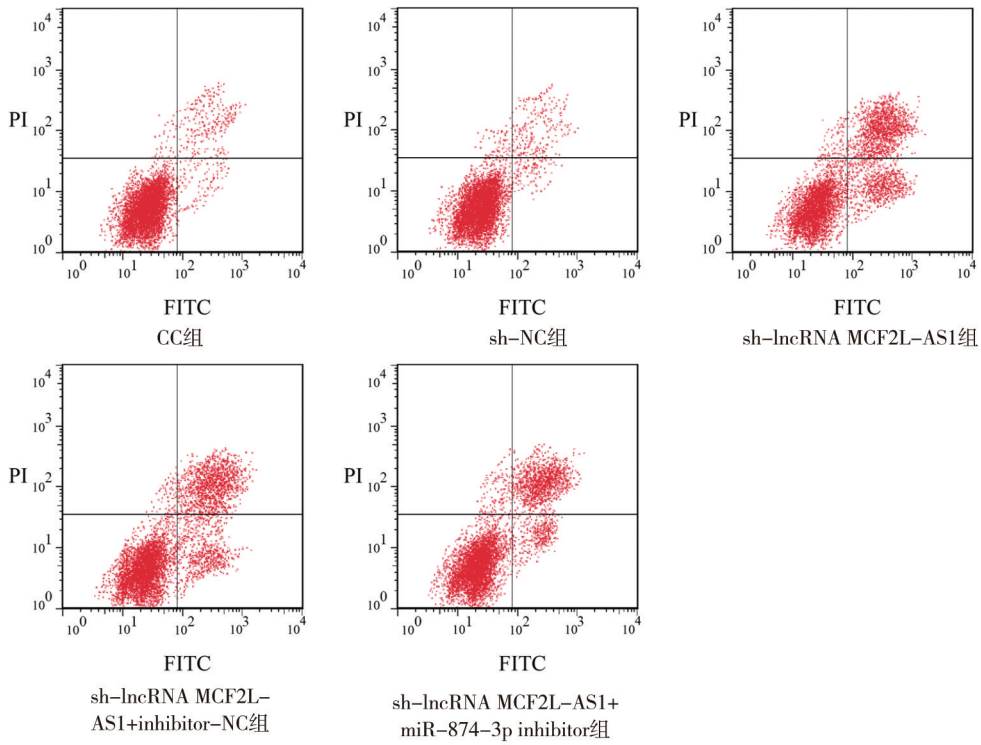


图7　流式细胞术检测各组细胞凋亡情况

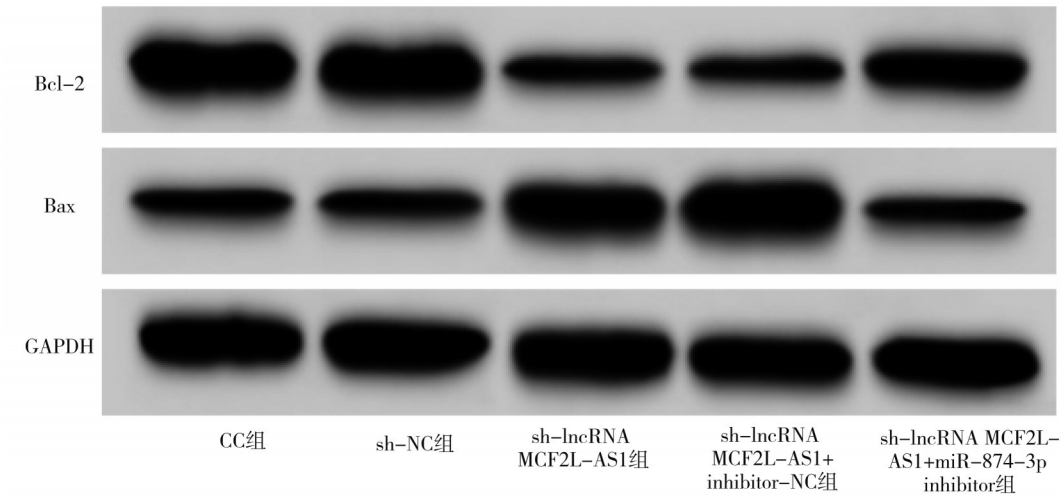


图8　Western blot检测各组细胞Bcl-2、Bax蛋白表达

表8　各组细胞Bcl-2、Bax蛋白表达比较（$n=6, \bar{x} \pm s$）

组别	凋亡率（%）	Bcl-2	Bax
CC组	1.08 ± 0.23	1.02 ± 0.28	0.41 ± 0.05
sh-NC组	1.25 ± 0.16	1.01 ± 0.19	0.38 ± 0.07
sh-lncRNA MCF2L-AS1组	43.56 ± 11.52^{ab}	0.54 ± 0.06^{ab}	0.99 ± 0.21^{ab}
sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组	41.73 ± 9.91	0.51 ± 0.12	1.02 ± 0.24
sh-lncRNA MCF2L-AS1+miR-874-3p inhibitor组	28.95 ± 6.84^{cd}	0.83 ± 0.13^{cd}	0.46 ± 0.11^{cd}
*F*值	47.573	12.223	25.933
*P*值	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，与CC组比较，$P<0.05$；b，与sh-NC组比较，$P<0.05$；c，与sh-lncRNA MCF2L-AS1组比较，$P<0.05$；d，与sh-lncRNA MCF2L-AS1+inhibitor-NC组比较，$P<0.05$

3 讨 论

CC在全球女性癌症中占据明显比例，是癌症发病率和死亡率的重要原因。对于局部晚期CC患者，治疗方案主要包括手术切除、化疗以及放疗，其中外照射放射治疗与近距离放射治疗是治疗的关键部分[11]。目前已研发出针对人乳头瘤病毒的疫苗，但只有少数人接种，无法充分发挥其预防潜力。即使在早期阶段通过手术能够有效缓解CC进展，但转移性CC也无法根治且死亡率很高[12]。因此，探索并开发新型治疗策略迫在眉睫。

近年来，lncRNA在癌症研究中逐渐成为热点。越来越多的研究表明lncRNA在细胞功能调控中起至关重要的作用，其不仅能够在转录水平影响基因表达，还在转录后调控中发挥作用。lncRNA能够通过调控血管生成、细胞迁移侵袭、EMT以及细胞增殖等过程，直接或间接参与癌症的进展[13]。lncRNA MCF2L-AS1作为一种新型的长链非编码RNA，其生物学功能和潜在的临床应用价值引起广泛关注。Kong WC等[14]研究发现，lncRNA MCF2L-AS1下调，通过调控miR-105-5p/Ras相关蛋白Rab-22A轴，抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移侵袭和EMT过程，延缓结直肠癌细胞的恶性发展。Ou HL等[15]研究显示，lncRNA MCF2L-AS1通过调节miR-33a-5p/成纤维细胞生长因子2轴，促进肝细胞癌细胞增殖、生长，减少细胞凋亡，进而促进肝细胞癌细胞的恶性行为。以上研究说明，lncRNA MCF2L-AS1与恶性肿瘤的发生和发展密切相关。本研究发现，lncRNA MCF2L-AS1在CC细胞中表达升高，提示其可能在CC的病理机制调控中扮演重要的角色。Hela细胞中lncRNA MCF2L-AS1表达升高明显，所以本研究选取其作为实验研究对象。继续通过功能试验进行验证，结果显示，当抑制lncRNA MCF2L-AS1表达时，Hela细胞的克隆数、Ki67、PCNA蛋白表达降低，凋亡增多，提示lncRNA MCF2L-AS1可能促进CC细胞的增殖。敲低lncRNA MCF2L-AS1表达后，细胞迁移侵袭以及EMT能力明显抑制，侵袭迁移相关蛋白表达改善，与前人研究结果中lncRNA MCF2L-AS1可促进乳腺癌细胞的迁移、侵袭变化一致[16]。这些研究结果均说明lncRNA MCF2L-AS1可能对CC细胞恶性生物学行为的调控至关重要。

目前，miRNA和lncRNA之间的相互作用一直被研究。通过Starbase数据库分析发现lncRNA MCF2L-AS1与miR-874-3p之间存在互补碱基配对序列。为了验证预测结果，通过设计双荧光素酶报告实验，进一步证实两者之间存在负调控关系。Luo SD等[6]研究表明，过表达miR-874-3p能够抑制鼻咽癌细胞的生长、运动、葡萄糖消耗以及乳酸生成，改善鼻咽癌的进展。Liu JL等[17]研究发现抑制lncRNA DCST1-AS1表达，能够增加miR-874-3p表达，从而抑制CC细胞的迁移、侵袭和增殖。以上研究均显示miR-874-3p的高表达具有明显的抗肿瘤作用。本研究发现，miR-874-3p在Hela细胞中低表达。lncRNA MCF2L-AS1表达下调后，增加miR-874-3p的表达，抑制Hela细胞恶性生物学行为发生，提示miR-874-3p可能参与抑制CC细胞恶性进展过程。为进一步验证lncRNA DCST1-AS1与miR-874-3p之间的作用关系，继续使用miR-874-3p inhibitor进行回复实验验证，结果发现lncRNA MCF2L-AS1低表达对Hela细胞恶性生物学行为的抑制作用被miR-874-3p inhibitor明显减弱，提示沉默lncRNA MCF2L-AS1可能通过上调miR-874-3p抑制CC细胞的恶性生物学行为。

通过深入生物信息学分析发现，miR-874-3p与CPEB4之间存在互补的结合位点。双荧光素酶报告实验结果也进一步证实。CPEB4作为CPEB家族的应激调节成员，在细胞周期、增殖和凋亡的调控中起关键作用[18]。Li C等[19]研究显示，lncRNA MSC-AS1敲除通过调节miR-373-3p，抑制CPEB表达，减少神经胶质瘤细胞的生长，促进细胞凋亡。Zhou QY等[20]研究发现，lncRNA尤文肉瘤相关转录本1通过靶向miR-330-5p，明显增加CPEB4表达，从而促进CC的进展。以上研究均表明，CPEB4在癌症发生和发展过程中扮演重要角色。本研究发现，CPEB4在CC细胞中表达升高。然而，当下调lncRNA DCST1-AS1后，miR-874-3p上调，CPEB4下调，说明lncRNA DCST1-AS1可能通过调控miR-874-3p表达间接影响CPEB4表达水平。进一步回补实验证明，当miR-874-3p表达受到抑制时，CPEB4表达水平上调，部分逆转lncRNA DCST1-AS1下调对CC细胞增殖、迁移侵袭、凋亡以及EMT的作用，提示lncRNA MCF2L-AS1可能通过调节miR-874-3p/CPEB4信号轴对CC细胞恶性生物学行为产生影响。

综上所述，lncRNA MCF2L-AS1表达下调通过

调控 miR-874-3p/CPEB4 轴，增加 miR-874-3p 表达，抑制 CPEB4 表达，进而抑制 CC 细胞恶性生物学行为，为 CC 的分子机制研究提供新的视角。本研究首次发现 lncRNA MCF2L-AS1 在 CC 发生发展中的关键调控作用，这一发现可能为 CC 的早期诊断提供潜在的新型生物分子标志物，同时为开发靶向治疗策略开辟新途径。然而，本研究的结论仅基于 Hela 细胞的体外实验结果，存在一定的局限性，缺乏更广泛的细胞系验证（如 SiHa、CaSki）等其他 CC 细胞模型，未建立动物模型进行体内功能验证，以及缺乏临床样本验证。因此，为进一步确证 lncRNA MCF2L-AS1 的临床应用价值，未来将扩展不同来源的 CC 癌细胞并建立动物模型进行体内试验以及收集 CC 临床样本进行回顾性分析，开展前瞻性队列研究验证其诊断效能。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 范文玲：研究方案设计、实施研究、分析数据、论文撰写；齐子钰：数据收集；邢景娜、任亚男：实验技术指导；郝淑维：研究方案设计、论文修改

参 考 文 献

[1] Revathidevi S, Murugan AK, Nakaoka H, et al. APOBEC: A molecular driver in cervical cancer pathogenesis[J]. Cancer Lett, 2021, 496: 104-116.

[2] Chen YF, Shen M-R. The important role of ion transport system in cervical cancer[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(1): 333.

[3] Gutiérrez-Hoya A, Soto-Cruz I. NK cell regulation in cervical cancer and strategies for immunotherapy[J]. Cells, 2021, 10(11): 3104.

[4] Huang FK, Zheng CY, Huang LK, et al. Long non-coding RNA MCF2L-AS1 promotes the aggressiveness of colorectal cancer by sponging miR-874-3p and thereby up-regulating CCNE1[J]. J Gene Med, 2021, 23: e3285.

[5] Li SG, Lin LC. Long non-coding RNA MCF2L-AS1promotes the cancer stem cell-like traits in non-small cell lung cancer cells through regulatingmiR-873-5p level[J]. Environ Toxicol, 2021, 36(7): 1457-1465.

[6] Luo SD, Tsai HT, Hwang CF, et al. Aberrant miR-874-3p/leptin/EGFR/c-Myc signaling contributes to nasopharyngeal carcinoma pathogenesis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 215.

[7] Liu WG, Zhuo L, Lu Y, et al. MiR-874-3p inhibits cell migration through targeting RGS4 in osteosarcoma[J]. J Gene Med, 2020, 22(9): e3213.

[8] Zhang YQ, Gan HY, Zhao F, et al. CPEB4-promoted paclitaxel resistance in ovarian cancer in vitro relies on translational regulation of CSAG2[J]. Front Pharmacol, 2021, 11: 600994.

[9] Delgado ME, Naranjo-Suarez S, Ramírez-Pedraza M, et al. CPEB4 modulates liver cancer progression by translationally regulating hepcidin expression and sensitivity to ferroptosis[J]. JHEP Rep, 2025, 7(3): 101296.

[10] Sibilio A, Suñer C, Fernández-Alfara M, et al. Immune translational control by CPEB4 regulates intestinal inflammation resolution and colorectal cancer development[J]. iScience, 2022, 25(2): 103790.

[11] Voelker RA. Cervical cancer screening[J]. Jama, 2023, 330(20): 2030.

[12] Shen SN, Zhang SB, Liu P, et al. Potential role of microRNAs in the treatment and diagnosis of cervical cancer[J]. Cancer Genet, 2020, 248/249: 25-30.

[13] Aswathy R, Sumathi S. Defining new biomarkers for overcoming therapeutical resistance in cervical cancer using lncRNA[J]. Mol Biol Rep, 2023, 50(12): 10445-10460.

[14] Kong WC, Li H, Xie LS, et al. LncRNA MCF2L-AS1 aggravates the malignant development of colorectal cancer via targeting miR-105-5p/RAB22A axis[J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 1069.

[15] Ou HL, Qian YS, Ma L. MCF2L-AS1 promotes the biological behaviors of hepatocellular carcinoma cells by regulating the miR-33a-5p/FGF2 axis[J]. Aging, 2023, 15(13): 6100-6116.

[16] 王金礼，陈登峰. 沉默 lncRNA MCF2L-AS1 通过 miR-138-5p/AnxA2 轴抑制乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 现代肿瘤医学，2024, 32(2): 240-248.

Wang JL, Chen DF. Silent lncRNA MCF2L-AS1 inhibits the proliferation, migration and invasion of breast cancer cells through the miR-138-5p/AnxA2 axis [J]. Mod Oncol Med, 2024, 32(2): 240-248.

[17] Liu JL, Zhang J, Hu Y, et al. Inhibition of lncRNA DCST1-AS1 suppresses proliferation, migration and invasion of cervical cancer cells by increasing miR-874-3p expression[J]. J Gene Med, 2021, 23: e3281.

[18] Li F, Wei YY, Chen T, et al. Molecular network analysis of CPEB4 translational control and targeting CPEB4/β-catenin to modulate invasion and migration of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Int J Med Sci, 2025, 22(6): 1329-1343.

[19] Li C, Feng SY, Chen L. MSC-AS1 knockdown inhibits cell growth and temozolomide resistance by regulating miR-373-3p/CPEB4 axis in glioma through PI3K/Akt pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2021, 476(2): 699-713.

[20] Zhou QY, 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): 177-188.

（收稿：2025-10-30；修回：2025-12-17；录用：2026-01-05）

（责任编辑：曾 玲）

本文引用格式：

范文玲，齐子钰，邢景娜，等. miR-874-3p/CPEB4 信号轴对宫颈癌细胞恶性生物学行为的影响[J]. 重庆医科大学学报，2026, 51(10): 1452-1461.