基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003576

SF3B1/FOXM1信号通路调控细胞周期干预宫颈癌进展的机制研究

杨美平，邓　颂，陈明倩，袁超燕
（湖北民族大学附属民大医院妇科，恩施　445000）

【摘　要】目的：基于剪接因子3B亚单位1（splicing-factor-3B-subunit-1，SF3B1）/叉头框蛋白M1（Forkhead Box M1，FOXM1）轴探讨调控细胞周期宫颈癌进展的作用机制。**方法：**通过转染SF3B1过表达质粒（SF3B1 overexpression plasmid，pSF3B1）和2个SF3B1特异性短发夹RNA（short hairpin RNA）（shSF3B1-1、shSF3B1-2）过表达HeLa细胞或敲低SiHa细胞SF3B1。通过试验和乙炔基-2′-脱氧尿苷分析细胞的增殖活力和增殖率。流式细胞术分析细胞周期分布。应用细胞周期聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）阵列分析、流式细胞术、染色质免疫共沉淀-定量聚合酶链式反应（chromatin immunoprecipitation-quantitative polymerase chain reaction，ChIP-qPCR）和荧光素酶实验明确SF3B1和FOXM1的靶向关系。**结果：**SF3B1过表达后，HeLa细胞的生长率和增殖能力均显著增加（$P<0.05$）。此外，SF3B1敲低后，SiHa细胞的生长率和增殖能力均显著降低（$P<0.05$）。在HeLa细胞中，与pENTER组相比，pSF3B1组细胞在细胞周期的G_0/G_1期降低。然而，在SiHa细胞系中，敲低SF3B1提高了G_0/G_1期比率。此外，SF3B1过表达促进了HeLa细胞中G_1期相关蛋白细胞周期蛋白D1表达，而敲低SF3B1抑制了SiHa细胞中周期蛋白D1表达。上调SF3B1表达明显增强FOXM1的表达，而下调SF3B1导致FOXM1的明显抑制。ChIP-qPCR分析进一步显示SF3B1在HeLa细胞系中与FOXM1启动子位点结合。在野生型FOXM1启动子中，与shNC组相比，荧光素酶活性在SF3B1敲低组中受到抑制（1.30 ± 0.08 vs. 0.73 ± 0.02、0.70 ± 0.04，均$P<0.01$），突变型FOXM1启动子不能在SiHa细胞中引发对shSF3B1的应答。HeLa细胞的增殖能力通过SF3B1过表达而增强（shNC+pENTER vs. shNC+pSF3B1：25.1 ± 1.9 vs. 61.2 ± 3.8，$P<0.01$），并被shFOXM1降低（shNC+pSF3B1 vs. shFOXM1+pSF3B1：61.2 ± 3.8 vs. 18.5 ± 1.9，$P<0.001$），并且SF3B1过表达诱导的细胞G0/G1周期降低通过敲低FOXM1而部分逆转（shNC+pSF3B1 vs. shFOXM1+pSF3B1：35.0 ± 1.5 vs. 58.0 ± 1.8，$P<0.05$）。**结论：**SF3B1可以作为宫颈癌中的潜在肿瘤促进基因，其可能通过上调FOXM1的表达来促进宫颈癌细胞增殖并扰乱细胞周期。

【关键词】剪接因子3B亚单位1；叉头框蛋白M1；细胞周期；宫颈癌
【中图分类号】R737.33　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2023-09-20

Mechanism of the splicing factor 3B subunit 1/forkhead box protein M1 signaling pathway regulating cell cycle and intervening against the progression of cervical cancer

Yang Meiping, *Deng Song*, *Chen Mingqian*, *Yuan Chaoyan*
(*Department of Gynecology*, *Minda Hospital Affiliated to Hubei University for Nationalities*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the mechanism of cell cycle regulation in intervening against the progression of cervical cancer based on the splicing factor 3B subunit 1 (SF3B1)/forkhead box protein M1 (FOXM1) axis. ***Methods*:** SF3B1 overexpression in HeLa cells or SF3B1 knockdown in SiHa cells was achieved by transfection of SF3B1 overexpression plasmid (pSF3B1) and two SF3B1-specific short hairpin RNA (shSF3B1-1 and shSF3B1-2). CCK-8 test and ethynyl-2′-deoxyuridine (EdU) were used to measure cell proliferation activity and proliferation rate; flow cytometry was used to observe cell cycle distribution; cell cycle PCR array, flow cytometry, chromatin co-immunoprecipitation-quantitative polymerase chain reaction (ChIP-qPCR), and luciferase experiments were used to clarify the targeting relationship between SF3B1 and FOXM1. ***Results*:** After SF3B1 overexpression, there were significant increases in the growth rate and proliferation ability of HeLa cells ($P<0.05$). In addition, there were significant reductions in the growth rate and proliferation ability of SiHa cells after SF3B1 knockdown ($P<0.05$). In HeLa cells, compared with the pENTER group, the pSF3B1 group had a significant reduction in the G_0/G_1 ratio, while in SiHa cells, SF3B1 knockdown significantly increased the G_0/G_1 ratio. Furthermore, SF3B1 overexpression significantly promoted the expres-

作者介绍：杨美平，Email：overtake899@163.com，研究方向：妇科肿瘤。
通信作者：袁超燕，Email：yuanchaoyan@126.com。
基金项目：湖北省卫生健康委员会科研资助项目（编号：WJ2023M117）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.r.20240925.1741.008（2024-09-27）

sion of the G_1 phase-related protein cyclin D1 in HeLa cells, while SF3B1 knockdown significantly inhibited the expression of cyclin D1 in SiHa cells. Upregulation of SF3B1 significantly enhanced the expression of FOXM1, while downregulation of SF3B1 significantly inhibited FOXM1. ChIP-qPCR analysis showed the binding of SF3B1 to FOXM1 promoter site in HeLa cells. In the wild-type FOXM1 promoter, compared with the shNC group, the SF3B1 knockdown group had inhibition of luciferase activity (1.30 ± 0.08 vs. 0.73 ± 0.02 and 0.70 ± 0.04, P<0.01), and the mutant FOXM1 promoter could not trigger a response to shSF3B1 in SiHa cells. The proliferation ability of HeLa cells was enhanced by SF3B1 overexpression (shNC+pENTER vs. shNC+pSF3B1: 25.1 ± 1.9 vs. 61.2 ± 3.8, P<0.01) and was reduced by shFOXM1 (shNC+pSF3B1 vs. shFOXM1+pSF3B1: 61.2 ± 3.8 vs. 18.5 ± 1.9, P<0.001), and the reduction in G0/G1 cycle induced by SF3B1 overexpression was partially reversed by FOXM1 knockdown (shNC+pSF3B1 vs. shFOXM1+pSF3B1: 35.0 ± 1.5 vs. 58.0 ± 1.8, P<0.05). ***Conclusion***: SF3B1 can be used as a tumor-promoting gene in cervical cancer, and it can promote the proliferation of cervical cancer cells and disrupt the cell cycle by upregulating the expression of FOXM1.

【Key words】splicing factor 3B subunit 1; forkhead box protein M1; cell cycle; cervical cancer

目前，宫颈癌是发展中国家女性癌症死亡的第二大原因[1]。与大多数癌症类似，宫颈癌的发生的一个复杂、随机但高度协调的多步骤过程[2]。随着对人类癌症的研究进入高通量测序时代，已证实逃避抗生长信号是致癌过程必不可少的核心标志[3]。最近的证据表明，选择性剪接模式的变化在癌症中起着重要作用[4]。通过前mRNA剪接，单个前mRNA转录物可能产生内含子和外显子的多种不同组合，导致转录物多样性增加和替代蛋白的合成[5]。对于许多真核内含子，剪接是在剪接体催化的一系列反应中进行的，剪接体是一种小核糖核蛋白的复合物[6]。大量研究表明，关键剪接体成分的过度表达和突变导致异常剪接活性和标志性癌症表型的出现。剪接因子3B亚单位1（splicing-factor-3B-subunit-1，SF3B1）是剪接功能所必需的核心剪接体成分，参与RNA剪接中分支点序列的识别和选择[7]。最近的研究集中于SF3B1的致癌作用，包括但不限于其在肝细胞癌、乳腺癌、骨髓瘤和宫颈癌免疫治疗抗性中的作用[8]。此外，SF3B1的靶向小分子化合物抑制剂普拉地内酯B已显示通过抑制SF3B1表达诱导宫颈癌细胞凋亡[9]。然而，目前尚不清楚SF3B1对宫颈癌进展的作用机制。因此，本研究拟通过生物信息学分析和体外实验进一步探讨SF3B1在宫颈中致癌的确切功能机制。

1 材料与方法

1.1 生物信息学分析

为了探索SF3B1在宫颈癌中的水平，通过基因表达谱交互式分析（gene expression profiling interactive analysis，GEPIA）（http://gepia.cancer-pku.cn/index.html）网站的在线工具分析了来自癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas，TCGA）的宫颈鳞状细胞癌和宫颈腺癌（cervical squamous cell carcinoma，CESC）的RNA-seq数据。

1.2 细胞培养、转染和稳定细胞系的建立

人乳头瘤病毒阳性宫颈癌细胞系（SiHa和HeLa）获自美国典型培养物保藏中心。2种细胞系都在含有10%胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）、1%青霉素/链霉素的杜氏改良Eagle培养基（Dulbecco's modified Eagle's medium，DMEM）中培养。在获得细胞系后的6个月内进行实验。选择HeLa细胞用于过表达SF3B1，和SiHa细胞用于敲低SF3B1。将2种细胞系以3×10^5细胞/孔的浓度接种在6孔板中。用Lipofectamine 2000转染试剂（美国Thermo Fisher Scientific公司）转染质粒（上海佰畔生物科技中心）。空的pENTER质粒和shRNA对照用作阴性对照。转染48 h后，收获细胞用于进一步的实验。

将SF3B1序列克隆到pLent-Puro慢病毒载体（上海佰畔生物科技中心）中以构建过表达SF3B1质粒（pSF3B1）。此后，慢病毒载体用于包装病毒颗粒。接下来，用嘌呤霉素（1 μg/mL，美国Sigma-Aldrich公司）选择感染病毒48 h的HeLa细胞系1周。

人重组shSF3B1-1、shSF3B1-2、shFOXM1慢病毒和阴性对照（shNC）慢病毒由上海佰畔生物科技中心构建。用shRNA慢病毒感染细胞48 h后，用嘌呤霉素（1 μg/mL）选择稳定表达shSF3B1-1、shSF3B1-2、叉头框蛋白M1（Forkhead Box M1，FOXM1）shRNA和NC shRNA的SiHa细胞。NC shRNA的序列为5'-CCGGCATTTCTCGAACGTGTCACGTCTCGAGACGGTGACACGTTCGGAGAATTTTT-3'；shSF3B1-1的序列为5'-GATCCCCCTTCAATTTGTAGACTCTTTTCAAGAGAAAGAGTCTACAAATTGAAGGGTTTTTTA-3'；shSF3B1-2的序列为5'-AGCTTAAAAAACTC CTCAATCTGAGTGAGAGATCTCTTGAATCTCTCACTCAGATTGAGGAGG-3'；shFOXM1的序列为5'-CCGGCAGCTGGGATCAAGATTATTATTACTGAGTTAATAATTCTTGATCCC AGCTGTTTTG-3'。

1.3 细胞增殖试验

在细胞增殖试验中，用shRNA（shNC）、SF3B1 shRNA（shSF3B1）或过表达的SF3B1（pSF3B1）质粒转染宫颈癌细胞，并以1 000细胞/孔的密度将它们铺在96孔板中。每隔24 h，向每个孔中加入10 μL细胞计数试剂盒-8（cell counting kit-8，CCK-8）试剂（南京凯基生物科技发展有限公司）孵育1 h。使用微量滴定板读数器在450 nm处测量吸光度

（absorbance，A）值。

在 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷（5-Ethynyl-2'-deoxyuridine，EdU）试验中，将细胞铺在 12 孔板中并转染。48 h 后，进行 EdU 分析（上海 Beyotime 公司）以分析细胞增殖。细胞用 10 μmol/L EdU 溶液孵育 2 h，用 4% 多聚甲醛固定，用 0.5% TritonX-100 洗涤 1 次。接下来，用 100 μL 1 × DAPI 溶液对细胞进行染色。用 PBS 洗涤 3 次后，从荧光显微镜获得图像并计算增殖率。

1.4 细胞周期的流式细胞术分析

培养细胞并用相应的质粒转染 48 h，然后转移到收集管中。将细胞固定在 1 mL 70% 冷乙醇中 2 h，用冰冷的 PBS 洗涤细胞 3 次，并在室温下将它们悬浮在含有 0.5 mL PI/RNase 染色缓冲液（美国 BD 公司）的 100 μL PBS 中，避光 15 min。PI 染色后 24 h 内进行流式细胞术分析。最后，使用流式细胞仪（美国 Beckman Coulter 公司）测定细胞周期分布。

1.5 蛋白质印迹法

从培养的细胞中收获总蛋白质。用冰冷的 PBS 洗涤细胞，并用放射免疫沉淀检测缓冲液裂解细胞。与十二烷基硫酸钠缓冲液混合后，将蛋白质加热至 100 ℃ 10 min，在 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶上分离，转移至聚偏二氟乙烯膜（polyvinylidene fluoride，PVDF）。之后，将膜与针对 SF3B1（1:1 000，英国 Abcam 公司）、GAPDH（1:5 000，美国 Santa Cruz Biotechnology 公司）、FOXM1（1:1 000，英国 Abcam 公司）、细胞周期蛋白 D1（1:1 000，美国 Santa Cruz Biotechnology 公司）的第一抗体在 4 ℃孵育过夜，随后与辣根过氧化物酶缀合的第二抗体（1:5 000，武汉三鹰生物技术有限公司）孵育。使用化学发光溶液（美国 Thermo fisher Scientific 公司）检测免疫反应性蛋白质。

1.6 实时定量聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）

用 Trizol 试剂（美国 Thermo fisher Scientific 公司）提取总 RNA，用 M-MLV 逆转录酶试剂盒（美国 Invitrogen 公司）进行逆转录反应。使用标准 SYBR Green PCR 试剂盒（东洋纺（上海）生物科技有限公司）进行 RT-qPCR。引物序列如下：GADPH：5'-ACGTAGCTCAGGCCTCAAGA-3'，R：5'-GCGGGCTCAATTTATAGAAAC-3'；FOXM1：F：5'-ATAATTTATTTTCGATATGGAGTGC-3'，R：5'-AATAATTAATCAAAATTTTTCCGAC-3'；SF3B1：F：5'-AATTTATTTTTGATATGGAGTGTGG-3'，R：5'-AATAATTAATCAAAATTTTTCC AAC-3′。

1.7 染色质免疫共沉淀-定量聚合酶链式反应（chromatin immunoprecipitation -quantitative polymerase chain reaction，ChIP-qPCR）

将 HeLa 细胞（3 × 10^6）接种在 100 mm 培养皿中，在 1% 甲醛处理后，用 RIPA 裂解缓冲液裂解细胞。基因组 DNA 被超声仪分离并剪切成 200 ~ 600 BP 的片段。离心后，取上清液，将染色质与 SF3B1 识别抗体（1:50，美国 Santa Cruz 公司）或 IgG（上海 Beyotime 公司）在 4 ℃孵育过夜并沉淀。然后使用蛋白 A/G-琼脂糖珠（美国 GE Healthcare 公司）沉淀免疫复合物 4 h。接下来，用不同的洗涤缓冲液洗涤免疫复合物，随后使用 500 μL 洗脱缓冲液洗脱免疫沉淀物，并在 65 ℃下逆转交联过夜，使用 FOXM1 启动子引物扩增 SF3B1 的结合位点。最终按照制造商的方案洗脱 DNA，并通过 RT-qPCR 进行分析。FOXM1 启动子引物序列：F：5'-GTTCCAGCAATTCTCCT-3'，R：5'-CTTGGGAGACTGAGGTG-3'。

1.8 双荧光素酶报告基因分析

构建含有 SF3B1 结合位点的野生型 FOXM1 报告基因（WT），以及不含结合位点的突变型 FOXM1 报告基因（MUT）。将上述报告基因与人重组 shSF3B1-1、shSF3B1-2 或 shNC 共转染到 SiHa 细胞中。用荧光素酶检测试剂盒（美国 Promega 公司）检测荧光素酶活性。

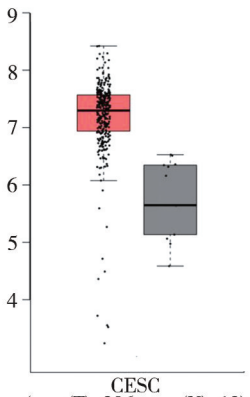
1.9 统计学方法

使用 SPSS 25.0 分析数据。所有测量数据均呈正态分布，并描述为均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）。使用 t 检验评估两组之间的差异；并使用单因素方差分析比较多组之间的差异，然后使用 Tukey 的多重比较检验。检验水准 α=0.05。

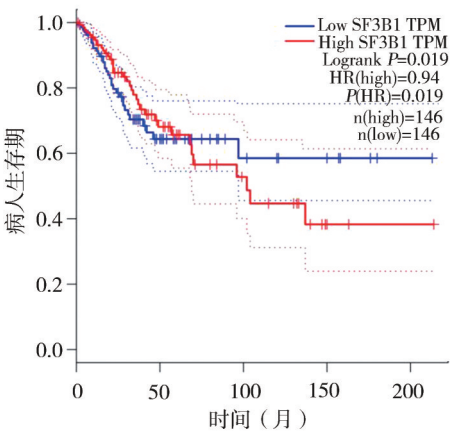
2 结 果

2.1 人宫颈癌中 SF3B1 表达上调

对来自 TCGA 数据库的基因组数据集的分析证实，与正常宫颈组织相比，SF3B1 在人宫颈癌中确实是上调（图 1A），并且 SF3B1 高表达与宫颈癌患者不良预后密切相关（图 1B）。



A. GEPIA在正常和宫颈癌组织中SF3B1 mRNA水平



B. SF3B1表达与宫颈癌患者的预后分析

图 1 人宫颈癌中 SF3B1 表达上调

2.2　SF3B1 在体外抑制宫颈癌细胞增殖

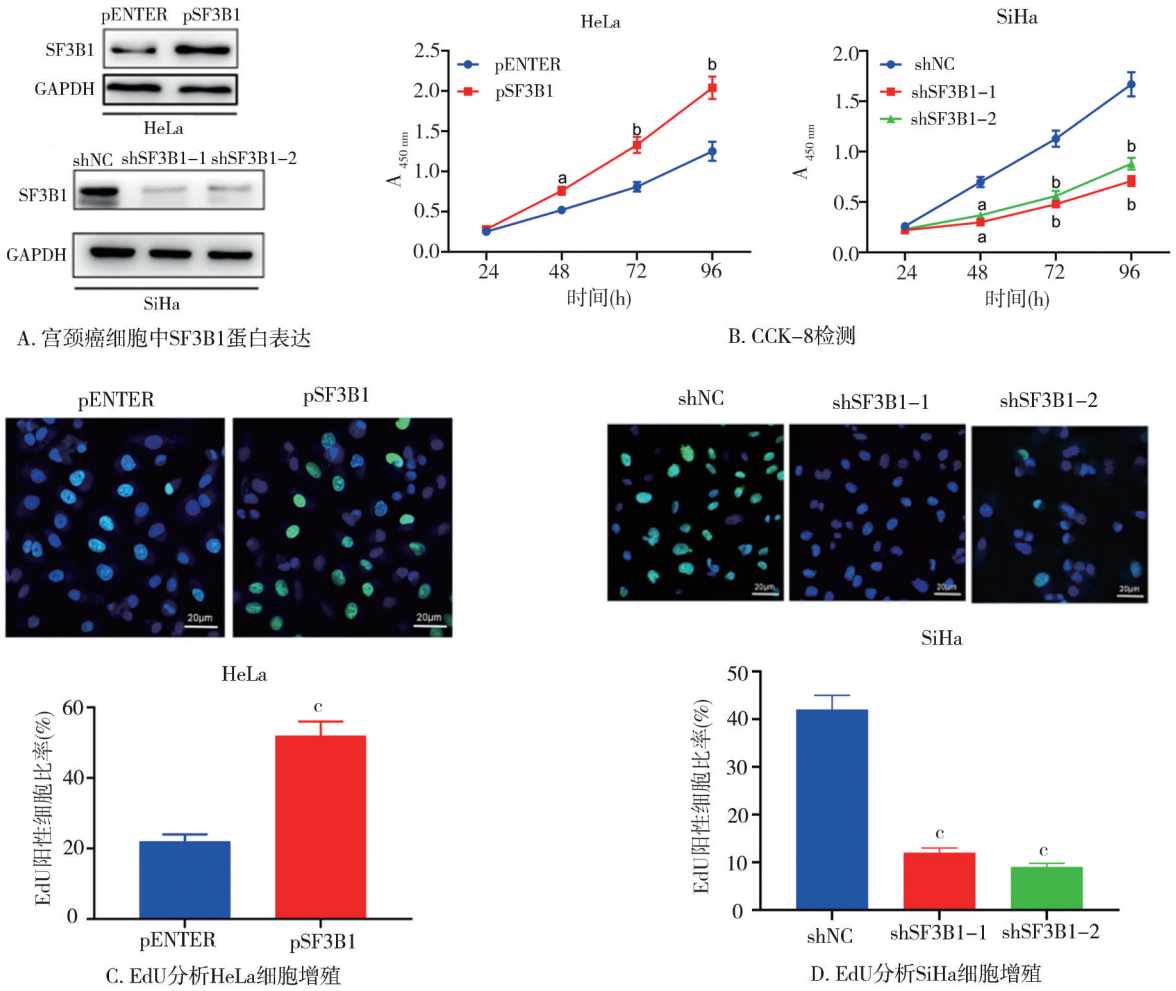
通过转染 SF3B1 过表达质粒（pSF3B1）和 2 个 SF3B1 特异性短发夹 RNA（shSF3B1-1、shSF3B1-2）来过表达或敲低 SF3B1（图 2A）。随后通过 CCK8 和 EdU 试验监测宫颈癌细胞增殖。结果表明，SF3B1 过表达后，HeLa 细胞的生长率和增殖能力均明显增加（$P<0.05$）。此外，SF3B1 敲低后，SiHa 细胞的生长率和增殖能力均明显降低（$P<0.05$）（图 2B~D）。这些结果表明 SF3B1 在体外可以抑制宫颈癌细胞的增殖。

2.3　SF3B1 通过阻断细胞周期抑制宫颈癌细胞生长

为了阐明 SF3B1 如何调节宫颈癌的恶性进展，本课题组使用 Linkedomics 在线平台系统地分析了 SF3B1 在宫颈癌患者中的作用（图 3A）。如热图所示，在宫颈癌有 3 327 个基因与 SF3B1 的表达正相关。基因组富集分析（Gene Set Enrichment Analysis，GSEA）用于 SF3B1 功能富集分析。结果显示，SF3B1 基因与细胞周期和 G_1 至 S 细胞周期控制显著相关（图 3B~C）。为了评估 SF3B1 对宫颈癌细胞增殖的影响是否是通过阻滞细胞周期来介导，进行了流式细胞术分析来研究宫颈癌细胞系中细胞周期特定时相的分布。在 HeLa 细胞中，与 pENTER 组相比，pSF3B1 组细胞在细胞周期的 G_0/G_1 期显著降低（50.0 ± 2.0 vs. 36.0 ± 1.5，$P<0.05$）（图 3D）。然而，在 SiHa 细胞系中，敲低 SF3B1 显著提高了 G_0/G_1 期比率（51.0 ± 1.9 vs. 67.2 ± 2.1、65.3 ± 1.7，均 $P<0.05$）（图 3E）。此外，SF3B1 过表达促进了 HeLa 细胞中 G1 期相关蛋白细胞周期蛋白 D1 表达，而敲低 SF3B1 抑制了 SiHa 细胞中周期蛋白 D1 表达（图 3F）。

2.4　SF3B1 上调 FOXM1 水平

为了找到 SF3B1 的靶基因，课题组进行了细胞周期 PCR-阵列分析。在 HeLa 细胞系中，当 SF3B1 过表达时，FOXM1 水平稳定上调（图 4A），WB 和 RT-qPCR 测定证明上调的 SF3B1 表达显著增强 FOXM1 的表达，而下调的 SF3B1 导致 FOXM1 的显著抑制（图 4B~C）。本研究测试了 SF3B1 是否在转录水平靶向 FOXM1。FOXM1 启动子的 DNA 序列分析揭示了一个潜在的 SF3B1 结合位点。结合位点位于转录起始位点上游的核苷酸 2242-2235 BP（GTCTTAAA）（图 4D）。ChIP-qPCR 分析进一步显示 SF3B1 在 HeLa 细胞系中



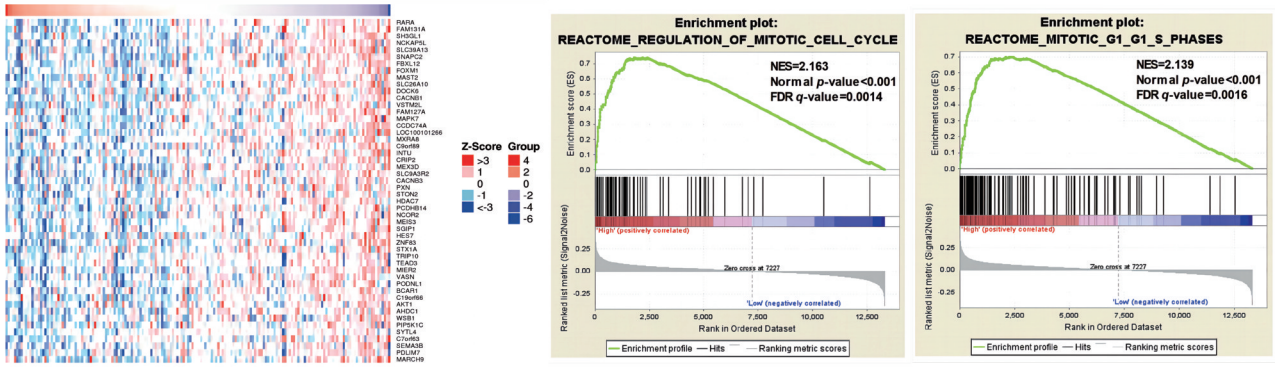
注：a，与 pENTER 或 sh-NC 组相比，$P<0.05$；b，与 pENTER 或 sh-NC 组相比，$P<0.01$；c，与 pENTER 或 sh-NC 组相比，$P<0.001$

图 2　SF3B1 在体外促进宫颈癌细胞的增殖

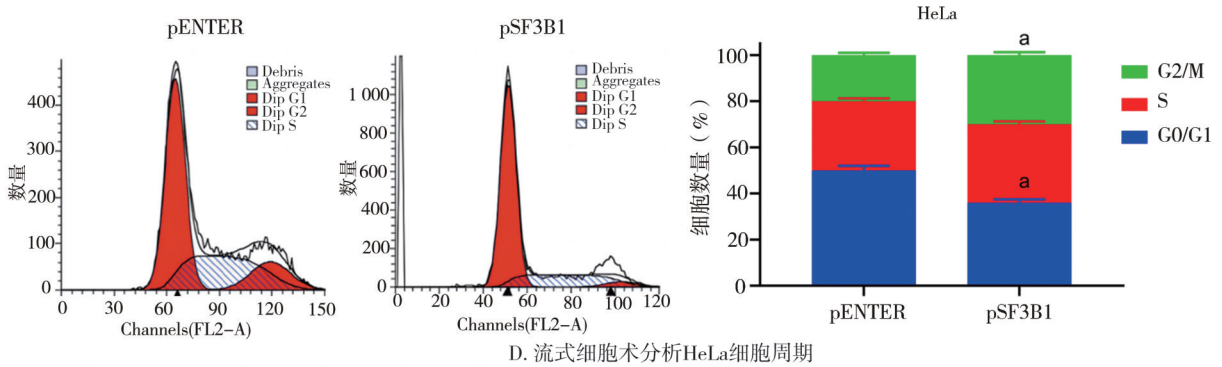
与该位点结合（图4E）。为了进一步确定FOXM1启动子活性对SF3B1位点的需求，研究了携带野生型（Site-WT）或突变型（Site-Mut）SF3B1结合位点的FOXM1启动子荧光素酶报告基因的作用（图4F）。在野生型FOXM1启动子中，与shNC组相比，荧光素酶活性在SF3B1敲低组中受到抑制（1.30 ± 0.08 vs. 0.73 ± 0.02、0.70 ± 0.04，均 $P<0.01$），突变型FOXM1启动子不能在SiHa细胞中引发对shSF3B1的应答（图4G）。

2.5 FOXM1是SF3B1促进宫颈癌细胞增殖所必需的功能靶点

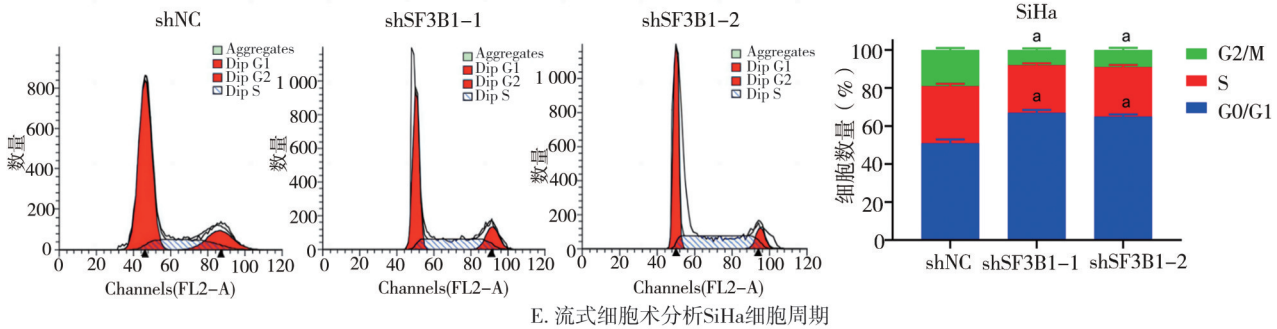
为了进一步探索FOXM1对SF3B1影响宫颈癌增殖和扰乱细胞周期的作用，课题组进行了挽救实验。shFOXM1（FOXM1特异性短发夹RNA）的敲低效率由WB证实（图5A）。EdU分析显示HeLa细胞的增殖能力通过SF3B1过表



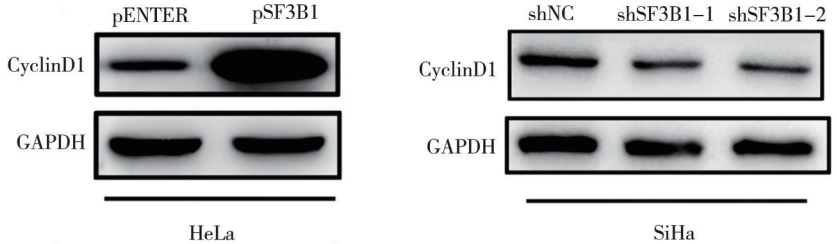
A. TCGA宫颈癌中与SF3B1表达正相关的一组基因　B. SF3B1与细胞周期相关　C. SF3B1与G1至S细胞周期调控相关



D. 流式细胞术分析HeLa细胞周期



E. 流式细胞术分析SiHa细胞周期

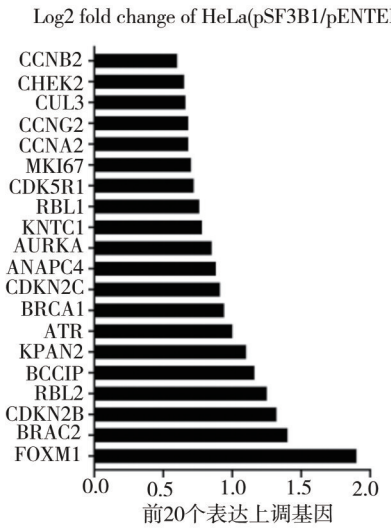


F. 细胞周期蛋白D1表达

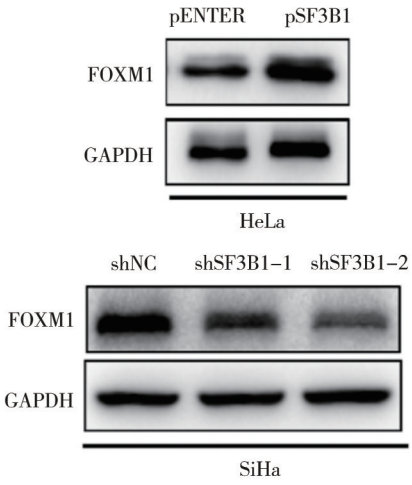
注：a，与pENTER或sh-NC组相比，$P<0.05$

图3　SF3B1通过阻断细胞周期抑制宫颈癌细胞生长

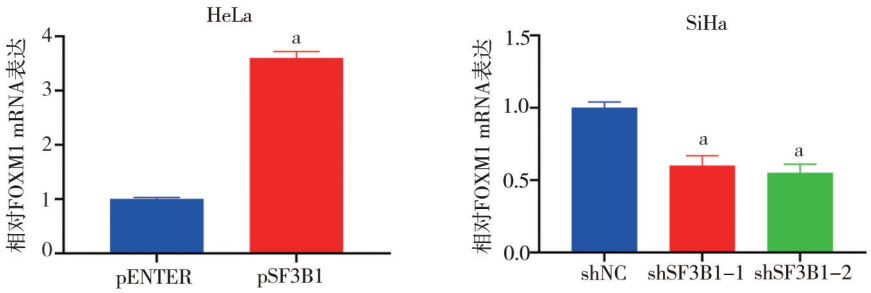
达而增强（shNC+pENTER vs. shNC+pSF3B1：25.1 ± 1.9 vs. 61.2 ± 3.8，P<0.01），并被 shFOXM1 降低（shNC+pSF3B1 vs. shFOXM1+pSF3B1:61.2 ± 3.8 vs. 18.5 ± 1.9，P<0.001）（图5B），并且 SF3B1 过表达诱导的细胞 G0/G1 周期降低通过敲低 FOXM1 而部分逆转（shNC+pSF3B1 vs. shFOXM1+pSF3B1：35.0 ± 1.5 vs. 58.0 ± 1.8，P<0.05）（图5C）。



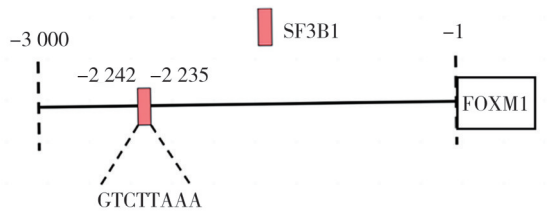
A. 细胞周期相关基因的差异表达



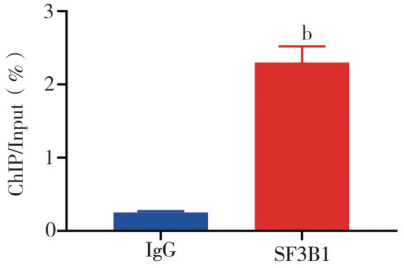
B. 宫颈癌细胞中FOXM1蛋白表达



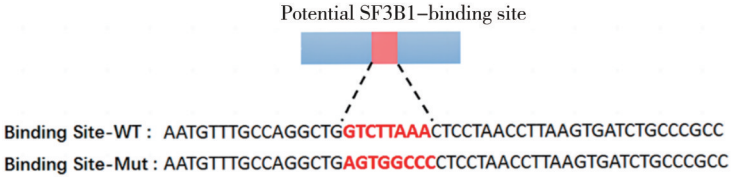
C. 宫颈癌细胞中FOXM1 mRNA表达



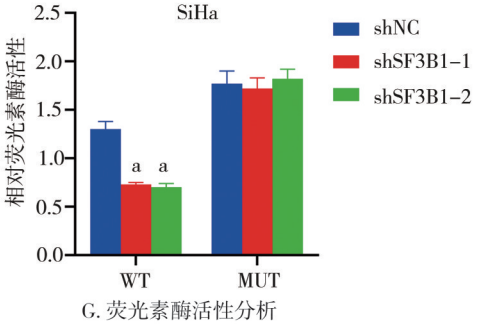
D. FOXM1启动子中预测的SF3B1结合位点



E. ChIP-qPCR测定SF3B1与FOXM1启动子结合



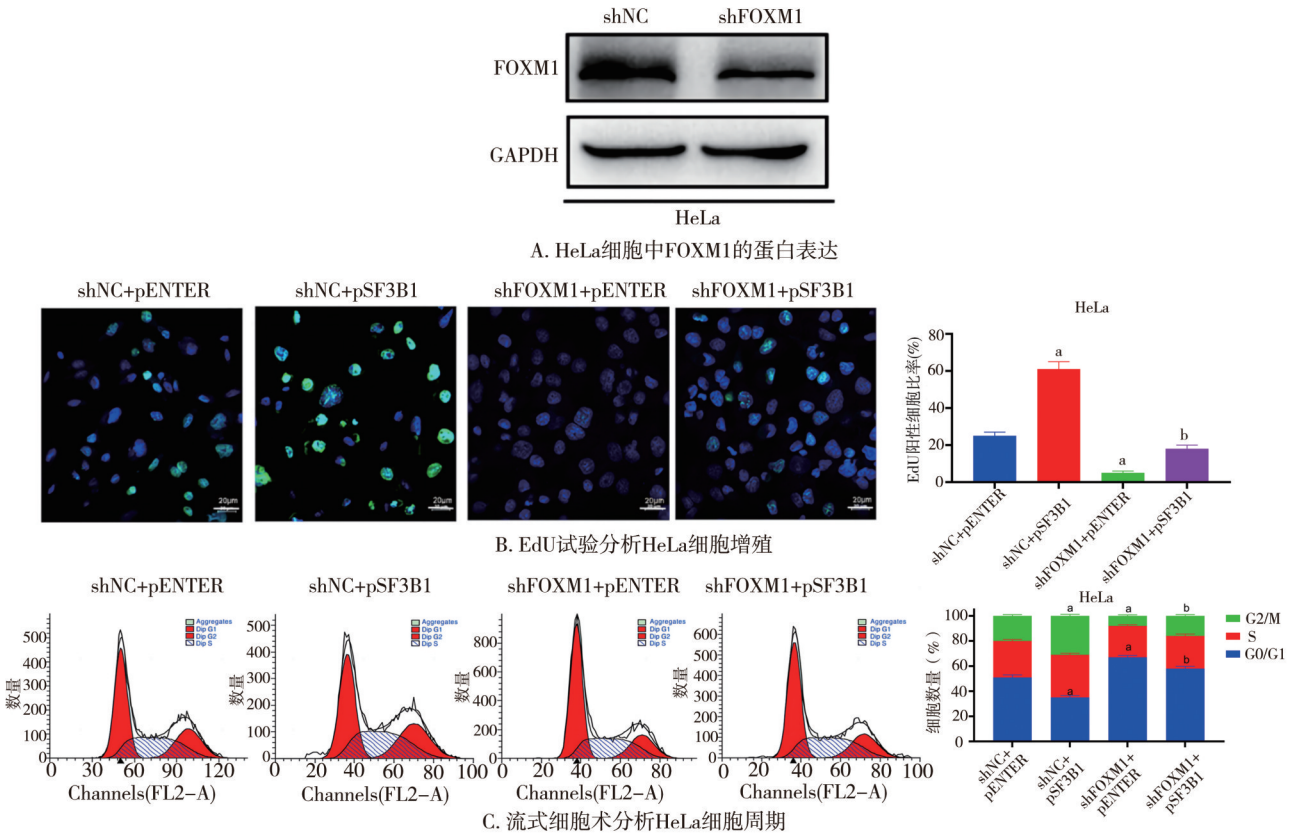
F. FOXM1启动子萤光素酶报告基因的示意图



G. 荧光素酶活性分析

注：a，与 pENTER 或 sh-NC 组相比，P<0.01；b，与 IgG 相比，P<0.01。WT，野生型 FOXM1-Luc 报告基因；MUT：突变型 FOXM1-Luc 具有突变的 SF3B1 结合位点

图4　SF3B1 上调 FOXM1 水平



注：a，与 shNC+pENTER 组相比，$P<0.05$；
b，与 shNC+pSF3B1 组相比，$P<0.05$

图 5　FOXM1 的敲低削弱了 SF3B1 促进宫颈癌细胞增殖的能力

3　讨　论

超过 90% 的人类基因经历选择性剪接，以组织特异性方式产生多种 mRNA 变体，并且相应的蛋白质亚型具有不同的，甚至是拮抗的性质[10]。这些变体与各种疾病状态有关，包括癌症。大量研究表明，关键剪接体成分的过度表达和突变导致异常剪接活性和标志性癌症表型的出现[11]。SF3B1 是组成剪接体的蛋白质之一，调节前 mRNA 内含子的切除[12]。本研究对来自 TCGA 数据库的基因组数据集的分析证实，SF3B1 在人宫颈癌中上调，并且 SF3B1 高表达与宫颈癌患者不良预后密切相关。随后通过体外实验分析发现上调 SF3B1 的表达可以显著促进宫颈癌细胞的增殖，而敲低 SF3B1 的表达可以抑制细胞的增殖。因此，这些结果表明 SF3B1 可以影响宫颈癌细胞的增殖，针对剪接体机制可能成为治疗宫颈癌等不可治愈癌症的创新和成功的治疗方法。

近年来，已经设计了各种药物来靶向 SF3B1（剪接体的中心/必需核心成分），使这种剪接体元件成为研究其翻译致癌性含义和在没有成功治疗或治愈的癌症中的治疗能力的最佳候选[7-8]。然而，到目前为止，已发表的关于通过药理学方法调节关键剪接体成分的潜在致癌作用和治疗效果的数据非常有限。据本研究所知，SF3B1 的致癌机制在宫颈癌中尚未被表征。为了阐明 SF3B1 如何调节宫颈癌的恶性进展，本研究使用 Linkedomics 在线平台系统地分析了 SF3B1 在宫颈癌患者中的作用，并发现 SF3B1 基因与细胞周期和 G_1 至 S 细胞周期控制显著相关。细胞周期调节细胞的命运，并在癌症进展中发挥关键作用[4]。本研究中，SF3B1 过表达降低对宫颈癌细胞中 G_0/G_1 细胞周期阻滞，并促进了 HeLa 细胞中 G_1 期相关蛋白细胞周期蛋白 D1 表达。细胞周期蛋白 D1 作为 G_1 阶段的重要介质，决定了细胞的方向，活或死[13]。作为一种原癌蛋白，细胞周期蛋白 D1 在多种人类癌症中过度表达，如乳腺癌、尿路上皮性膀胱和结肠直肠癌[14]。因此，细胞周期蛋白 D1 的调节被认为是癌症预防和治疗的有用策略[15]。细胞周期蛋白 D1 下调与一组抗癌药物的抗癌机制有关[16]。在从 G_1 向 S 期转变的过程中，激活的细胞周

期蛋白 D1 可以磷酸化肿瘤抑制因子 Rb，释放转录因子 E2F，并介导一些细胞周期相关基因的转录[17]。在本研究中，SF3B1 敲低诱导 G_1 细胞周期停滞，并显著降低宫颈癌细胞中细胞周期蛋白 D1 的表达。因此，这些结果表明 SF3B1 可以通过影响细胞周期蛋白 D1 表达来促进宫颈癌细胞的增殖。

平衡良好的细胞周期进程是细胞增殖所必需的，而细胞周期成分的失调可能导致肿瘤的形成[18]。FOXM1 是叉头/翼螺旋家族的成员，在许多肿瘤中过度表达，包括宫颈癌[19]。目前的研究工作表明，FOXM1 在 DNA 修复的细胞周期进程中调节 G_1/S 和 G_2/M 的转变。FOXM1 转录调节细胞周期蛋白 B1、细胞分裂周期 25A、细胞分裂周期 25B 和其他参与细胞周期进程的因子的表达和活性[20]。同时，细胞通过上调 FOXM1 的表达用于 DNA 修复[21]。本研究表明，SF3B1 通过上调 FOXM1 信号通路诱导细胞增殖，而 FOXM1 敲低逆转了 SF3B1 促进宫颈癌增殖和扰乱细胞周期的作用。总的来说，这些数据强调了 FOXM1 是 SF3B1 的重要功能靶点，并支持 FOXM1 对 SF3B1 促进宫颈癌细胞增殖和细胞周期控制至关重要的观点。

总之，本研究表明 SF3B1 可以作为宫颈癌中的肿瘤促进基因，其通过上调 FOXM1 的表达来促进宫颈癌细胞增殖并扰乱细胞周期。这些结果为 SF3B1 的促癌作用和机制提供了新的见解，并可作为宫颈癌的潜在治疗靶点。然而，本研究并没有通过体内实验证实体外发现，这在一定程度上影响了本研究结论的准确性。因此，在未来的研究中，旨在构建原位移植和异位移植肿瘤模型探讨 SF3B1/FOXM1 信号通路调控细胞周期干预宫颈癌进展的机制。

参 考 文 献

[1] 姜玮奇，王 静，贺海威，等. 基于生物信息学筛选与鉴定宫颈癌的生物标志物微小染色体维持蛋白 2[J]. 第二军医大学学报，2021，42(4)：399-410.
Jiang WQ，Wang J，He HW，et al. Screening and verifying biomarker mini-chromosome maintenance protein 2 for cervical cancer based on bioinformatics[J]. Acad J Second Mil Med Univ，2021，42(4)：399-410.

[2] Pappa KI，Daskalakis G，Anagnou NP. Metabolic rewiring is associated with HPV-specific profiles in cervical cancer cell lines[J]. Sci Rep，2021，11：17718.

[3] Liu JJ，Ho JY，Lee JE，et al. Genomic，transcriptomic，and viral integration profiles associated with recurrent/metastatic progression in high-risk human papillomavirus cervical carcinomas[J]. Cancer Med，2020，9(21)：8243-8257.

[4] Monteleone S，Fedorov DG，Townsend-Nicholson A，et al. Hotspot identification and drug design of protein-protein interaction modulators using the fragment molecular orbital method[J]. J Chem Inf Model，2022，62(16)：3784-3799.

[5] Lau E，Han Y，Williams DR，et al. Splice-junction-based mapping of alternative isoforms in the human proteome[J]. Cell Rep，2019，29(11)：3751-3765.

[6] Gumińska N，Zakryś B，Milanowski R. A new type of circular RNA derived from nonconventional introns in nuclear genes of euglenids[J]. J Mol Biol，2021，433(3)：166758.

[7] Kim Guisbert KS，Mossiah I，Guisbert E. Titration of SF3B1 activity reveals distinct effects on the transcriptome and cell physiology[J]. Int J Mol Sci，2020，21(24)：9641.

[8] Zhao B，Li Z，Qian R，et al. Cancer-associated mutations in SF3B1 disrupt the interaction between SF3B1 and DDX42[J]. J Biochem，2022，172(2)：117-126.

[9] Zhang QJ，Di CX，Yan JF，et al. Inhibition of SF3b1 by pladienolide B evokes cycle arrest，apoptosis induction and p73 splicing in human cervical carcinoma cells[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol，2019，47(1)：1273-1280.

[10] Park E，Jiang Y，Hao LL，et al. Genetic variation and microRNA targeting of A-to-I RNA editing fine tune human tissue transcriptomes [J]. Genome Biol，2021，22(1)：77.

[11] Putowski M，Giannopoulos K. Perspectives on precision medicine in chronic lymphocytic leukemia：targeting recurrent mutations-NOTCH1，SF3B1，MYD88，BIRC3[J]. J Clin Med，2021，10(16)：3735.

[12] López-Cánovas JL，Del Rio-Moreno M，García-Fernandez H，et al. Splicing factor SF3B1 is overexpressed and implicated in the aggressiveness and survival of hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Lett，2021，496：72-83.

[13] Wang ZX. Regulation of cell cycle progression by growth factor-induced cell signaling[J]. Cells，2021，10(12)：3327.

[14] Wang Q，Wu SQ，Gu YN，et al. RASAL2 regulates the cell cycle and cyclin D1 expression through PI3K/AKT signalling in prostate tumorigenesis[J]. Cell Death Discov，2022，8(1)：275.

[15] Liu ZQ，Li YF，Li XG，et al. Overexpression of YBX1 promotes pancreatic ductal adenocarcinoma growth via the GSK3B/cyclin D1/cyclin E1 pathway[J]. Mol Ther Oncolytics，2020，17：21-30.

[16] Hasanvand A. The role of AMPK-dependent pathways in cellular and molecular mechanisms of metformin：a new perspective for treatment and prevention of diseases[J]. Inflammopharmacology，2022，30(3)：775-788.

[17] Dang FB，Nie L，Zhou J，et al. Inhibition of CK1ε potentiates the therapeutic efficacy of CDK4/6 inhibitor in breast cancer[J]. Nat Commun，2021，12(1)：5386.

[18] 刘彦军，姚四清，李 毅. miR-20b-5p 靶向调控 Cyclin D1 对 NSCLC 细胞生物学行为的影响[J]. 山东医药，2021，61(25)：36-40，45.
Liu YJ，Yao SQ，Li Y. Effect of miR-20b-5p regulating Cyclin D1 on biological function of NSCLC cells[J]. Shandong Med J，2021，61(25)：36-40，45.

[19] Li ZL，Liu XJ，Yu HZ，et al. USP21 regulates Hippo signaling to promote radioresistance by deubiquitinating FOXM1 in cervical cancer [J]. Hum Cell，2022，35(1)：333-347.

[20] Hong HQ，Zhu H，Zhao SJ，et al. The novel circCLK3/miR-320a/FoxM1 axis promotes cervical cancer progression[J]. Cell Death Dis，2019，10(12)：950.

[21] Ji F，Lu Y，Chen SY，et al. IGF_2BP_2-modified circular RNA circARHGAP12 promotes cervical cancer progression by interacting m^6A/FOXM1 manner[J]. Cell Death Discov，2021，7(1)：215.

（责任编辑：周一青）