

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.08.004

· 基础研究 ·

GBX2 过表达促进人宫颈癌 SiHa 细胞增殖、迁移及侵袭

王玲^{1,2}, 林万松^{1,2}, 李洁羽^{1,2}, 陈明水^{1,2}, 叶韵斌^{1,2} (1. 福建省肿瘤医院, 福建医科大学附属肿瘤医院, 肿瘤免疫学研究室, 福建 福州 350014; 2. 福建省肿瘤转化医学重点实验室, 福建 福州 350014)

[摘要] **目的:** 探讨 GBX2 基因在人宫颈癌 SiHa 细胞增殖和侵袭转移中的作用及其机制。 **方法:** 应用质粒转染技术, 分别将过表达 GBX2 基因重组质粒 pCMV6-entry-GBX2 (实验组) 及空载体质粒 pCMV6-entry (阴性对照组) 转染到宫颈癌 SiHa 细胞中, 用 WST-1 法、集落形成实验、流式细胞术分别检测转染细胞的增殖、集落形成和细胞周期, 用划痕愈合实验、Transwell 实验检测细胞的迁移、侵袭能力, 用 ELISA 法检测细胞培养上清中 IL-6 的表达水平, 用 WB 检测 EMT 相关蛋白的表达变化并探讨其可能的作用机制。 **结果:** 与 SiHa/pCMV6 组相比, 上调 GBX2 表达后: (1) SiHa/GBX2 组细胞的增殖、集落形成、迁移和侵袭能力明显增强 (均 $P < 0.01$), G0/G1 期的细胞比例减少、S 期与 G2/M 期的细胞比例增加 (均 $P < 0.01$); (2) SiHa/GBX2 组细胞 EMT 相关蛋白上皮钙黏蛋白表达水平下降, 神经钙黏蛋白、波形蛋白和 snail 表达水平上调 (均 $P < 0.01$); (3) SiHa/GBX2 组细胞培养上清中 IL-6 的表达水平明显增高 ($P < 0.01$); (4) SiHa/GBX2 组细胞 STAT3 磷酸化水平增强, 并能被 STAT3 抑制剂 S31-201 抑制 ($P < 0.01$)。 **结论:** GBX2 可能通过 IL-6/STAT3 通路诱导宫颈癌 SiHa 细胞 EMT, 从而促进宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

[关键词] GBX2 基因; 宫颈癌; SiHa 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭; 上皮间质转化

[中图分类号] R737.33; R730.2; R730.59 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)08-0850-06

GBX2 over-expression promotes proliferation, migration and invasion of human cervical carcinoma SiHa cells

WANG Ling^{1,2}, LIN Wansong^{1,2}, LI Jieyu^{1,2}, CHEN Mingshui^{1,2}, YE Yunbin^{1,2} (1. Immuno-Oncology Laboratory, Fujian Cancer Hospital & Fujian Medical University Cancer Hospital, Fuzhou 350014, Fujian, China; 2. Fujian Key Laboratory of Translational Cancer Medicine, Fuzhou 350014, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of GBX2 gene on the proliferation, migration and invasion of human cervical carcinoma SiHa cells and to explore the mechanism. **Methods:** Recombinant plasmid over-expressing GBX2 gene (pCMV6-entry-GBX2, experimental group) and empty vector plasmid (pCMV6-entry, negative control group) were transfected into cervical cancer SiHa cells by plasmid transfection technique. The proliferation, colony formation and cell cycle of transfected cells were detected by WST-1 method, Colony formation assay and flow cytometry, respectively. The cell migration and invasion were detected by wound healing assay and Transwell assay. The expression level of IL-6 in cell culture supernatant was detected by ELISA. WB was used to detect the expression changes of EMT-related proteins and to explore its possible mechanism. **Results:** Compared with the SiHa/pCMV6 negative control group, after up-regulation of GBX2, (1) the proliferation, colony formation, migration and invasion of SiHa/GBX2 cells in the experimental group were significantly enhanced (all $P < 0.01$); The proportion of cells in G0/G1 phase decreased while the proportion of cells in S phase and G2/M phase increased (all $P < 0.01$); (2) the expression of E-cadherin decreased, and the expressions of N-cadherin, vimentin and snail increased (all $P < 0.01$); (3) the expression of IL-6 in the culture supernatant of SiHa/GBX2 cells was significantly up-regulated ($P < 0.01$); (4) STAT3 phosphorylation in SiHa/GBX2 cells was enhanced, and could be inhibited by STAT3 inhibitor S31-201 ($P < 0.01$). **Conclusion:** GBX2 may induce EMT of cervical cancer SiHa cells through IL-6/STAT3 pathway, thereby promoting the proliferation, migration and invasion of cervical cancer cells.

[Key words] GBX2 gene; cervical cancer; SiHa cell; proliferation; migration; invasion; epithelial-mesenchymal transition (EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(8):850-855. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.08.004]

[基金项目] 福建省卫生计生青年科研课题资助项目 (No. 2017-1-15) ; 福建省科技计划项目资助 (No. 2018Y2003) 。 Project supported by the Youth Research Foundation of the Health and Family Planning Department of Fujian Province (No. 2017-1-15), and the Science and Technology Program of Fujian Province (No 2018Y2003)

[作者简介] 王玲 (1987-), 女, 硕士, 主要从事肿瘤免疫学研究, E-mail: 690156426@qq.com

[通信作者] 叶韵斌 (YE Yunbin, corresponding author), 博士, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫学研究, E-mail: zjyunbin@189.cn

宫颈癌是妇女常见的恶性肿瘤之一,在发展中国家发病率和病死率仅次于乳腺癌,并且发病年龄趋于年轻化^[1-2]。宫颈癌患者的预后与肿瘤是否浸润转移密切相关,其中EMT的作用尤为重要,在肿瘤进展和转移发生中更为明显^[3]。原肠胚形成脑同源盒2(gastrulation brain homeobox 2, GBX2)是同源盒基因家族成员之一,编码螺旋-转角-螺旋结构的转录因子,GBX2在前列腺癌细胞系(TSU-pr1、PC3、DU145和LNCaP)中持续过表达,下调GBX2表达抑制前列腺癌细胞的克隆形成能力^[4-5]。GBX2通过上调IL-6的表达进而通过IL-6/JAK/STAT3信号通路促进前列腺癌细胞增殖^[6-7]。本课题组前期通过对3组宫颈癌组织及其相应的癌旁组织的转录组测序发现了236个显著差异表达基因(differentially expressed genes, DEG),并筛选部分DEG通过qPCR在27对宫颈癌组织及其癌旁组织中加以验证,发现GBX2在宫颈癌组织中显著高表达^[8]。在宫颈癌微环境中,GBX2是否可以通过IL-6诱导EMT发生从而促进宫颈癌的转移和侵袭,目前鲜见报道。本研究以宫颈癌SiHa细胞株为研究对象,通过质粒转染过表达GBX2,探讨GBX2对SiHa细胞增殖、侵袭、迁移的影响及可能机制,旨在从基础理论角度探究以GBX2为靶点治疗宫颈癌所具有的临床应用价值,为宫颈癌治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 细胞株与主要试剂

人宫颈癌细胞株SiHa购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。DMEM培养基购自Hyclone公司,胎牛血清购自Gemini公司,重组质粒pCMV6-entry-GBX2及空载体质粒pCMV6-entry购自OriGene公司,大肠杆菌DH5 α 、脂质体Lipofectamine 2000购自Roche公司,BCA蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天公司,兔抗人上皮钙黏蛋白(E-cadherin)、神经钙黏蛋白(N-cadherin)、锌指转录因子Snail、STAT3及pSTAT3(Tyr705)抗体均购自Cell Signaling公司,STAT3 inhibitor VI(S3I-201)购自Santa Cruz公司,兔抗人波形蛋白(vimentin)抗体、GAPDH抗体购自Abcam公司,抗兔二抗购自Santa Cruz公司,化学发光试剂盒购自Thermo公司,BD CyclesTM Plus DNA Reagent Kit购自BD公司,WST-1试剂购自Roche公司,纤连蛋白购自美国Millipore公司,Transwell侵袭小室购自美国Corning公司,Matrigel胶购自美国Bio-Rad公司,IL-6 ELISA试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 细胞培养及构建GBX2过表达的SiHa细胞株

SiHa细胞在含10%胎牛血清的DMEM培养基常规传代培养。按QIAGEN试剂盒说明书的方法进行质粒大量抽提。用质粒转染技术,分别将重组GBX2

基因过表达质粒pCMV6-entry-GBX2(实验组)及空载体质粒pCMV6-entry(阴性对照组)转染到宫颈癌SiHa细胞中,转染后72 h以WB鉴定转染效率。

1.3 WB检测GBX2过表达对宫颈癌SiHa细胞中GBX2蛋白表达的影响

常规收集细胞蛋白并定量,上样蛋白为30 μ g,8%、10% SDS-PAGE分别电泳分离后转移至PVDF膜。5%脱脂奶粉室温封闭1 h后,加入一抗(1:1 000~1:5 000稀释),4 $^{\circ}$ C摇床孵育过夜。次日,TBST洗膜5 min \times 3次。HRP标记的抗兔IgG二抗(1:3 000稀释),室温孵育2 h。TBST洗膜5 min \times 3次。按1:1配置化学发光显影剂,避光孵育3~5 min后,经Bio-Rad凝胶成像系统成像。GAPDH为内参。

1.4 WST-1法检测GBX2过表达对SiHa细胞增殖的影响

调整细胞密度至 $1\times 10^2/\mu$ l,接种于96孔板(100 μ l/孔),每组设置3个复孔。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂分别培养0、24、48和72 h,加入10 μ l WST-1孵育2 h后,于酶标仪在波长450 nm处检测细胞的光密度(D)值,根据D值绘制细胞增殖曲线。

1.5 集落形成实验检测GBX2过表达对SiHa细胞集落形成能力的影响

每孔接种 8×10^2 个细胞于6孔板中,每隔3~4 d换新鲜培养液。12~14 d后弃旧培养液,PBS洗涤2次,100%甲醇固定30 min。自然晾干后,每孔取600 μ l于0.1%结晶紫染色20 min,PBS再洗涤2次,计算集落数。

1.6 流式细胞术检测GBX2过表达对宫颈癌SiHa细胞周期的影响

收集转染后细胞,加入1 ml缓冲液吹打、混匀,吸取约 5×10^5 个细胞到新的离心管中,将上层缓冲液尽量吸干,根据CycleTESTTM PLUS DNA试剂盒说明书依次加入A、B、C试剂各250、200、200 μ l孵育10 min,用50 μ m的尼龙膜过滤后,上机流式仪检测各组细胞的增殖情况。

1.7 细胞划痕愈合实验检测GBX2过表达对宫颈癌SiHa细胞伤口愈合能力的影响

调整细胞密度至 5×10^5 个/孔接种到6孔板,每组设置3个复孔。待24 h细胞贴壁并铺满,用10 μ l枪头在孔中央划出一道均匀的痕,用PBS洗去悬浮的细胞,加入无血清培养基DMEM,37 $^{\circ}$ C、5%CO₂继续培养24 h,在划痕0、24 h显微镜下拍照观察划痕愈合情况。

1.8 Transwell实验检测GBX2过表达对宫颈癌SiHa细胞迁移及侵袭能力的影响

细胞迁移实验:吸取10 μ l纤连蛋白(1 μ g/ μ l)均匀涂抹在Transwell下室的膜上,37 $^{\circ}$ C培养箱放置4 h。用无血清培养基DMEM调整细胞密度至 $5\times 10^2/$

μl , 取 $100 \mu\text{l}$ 细胞悬液加至上室, 下室加入 $600 \mu\text{l}$ 含 20% FBS 的 DMEM 培养液, 各设 3 个复孔。37 °C、5% CO_2 孵育 48 h 后, 用棉签轻轻擦去上室膜上未迁移的细胞, PBS 洗 2 次, 甲醇固定 30 min。自然晾干后, 用 0.1% 结晶紫染色 20 min。弃染液, 双蒸水洗 2 次。光学显微镜($\times 200$)下计数上、下、左、右、中 5 个不同视野的总细胞数, 取其平均值。

细胞侵袭实验: 取 $200 \mu\text{l}$ Matrigel 胶原液用 $300 \mu\text{l}$ 无血清培养基 DMEM 稀释。取 $100 \mu\text{l}$ 稀释后的 Matrigel 胶加至 Transwell 小室的上室中, 置于 37 °C 孵箱中孵育 2 h 使 Matrigel 胶凝固。余下步骤与迁移实验相同。

1.9 ELISA 检测 GBX2 过表达对宫颈癌 SiHa 细胞的 IL-6 表达水平的影响

收集细胞培养液上清, ELISA 法步骤设置为标准品孔和样本孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品 $100 \mu\text{l}$, 样本孔加稀释好的待测样品 $100 \mu\text{l}$, 设置空白对照孔, 酶标板上加盖, 37 °C 反应 90 min。弃去液体, 吸水纸上拍干, 不洗。除空白对照外, 标准品孔和样本孔中每孔加入 IL-6 抗体 $100 \mu\text{l}$, 酶标板上加盖, 37 °C 反应 60 min。弃去液体, 吸水纸上拍干, 每孔加满洗涤液, 静置 1 min, 甩去洗涤液, 吸水纸上拍干, 重复洗板 3 次, 每孔加入 ABC 工作液各 $100 \mu\text{l}$ (空白对照孔除外), 37 °C 反应 30 min。按每孔 $90 \mu\text{l}$ 依次加入已在 37 °C 平衡 30 min 的 TMB 显色液, 37 °C 避光反应 10 min, 每孔加入 TMB 终止液 $100 \mu\text{l}$, 于酶标仪波长在 450 nm 处测定各孔的 D 值。

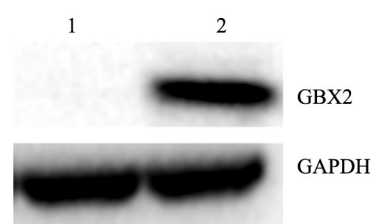
1.10 统计学处理

上述 WB、WST-1、集落形成、流式细胞术、划痕愈合实验、Transwell 及 ELISA 实验均重复 3 次。用 SPSS19.0 统计学软件进行分析数据。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 两组间比较采用 t 检验, 多组间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 成功构建 GBX2 基因过表达的 SiHa 细胞株

利用脂质体转染技术成功将携带 GBX2 的 pCMV6-entry-GBX2 重组质粒转染实验组 (SiHa/GBX2) SiHa 细胞、将 pCMV6-entry 空载体质粒转染到阴性对照组 (SiHa/pCMV6) SiHa 细胞, WB 实验检测结果 (图 1) 显示, SiHa/GBX2 组 SiHa 细胞中 GBX2 蛋白表达水平明显高于对照组 (0.88 ± 0.05 vs 0.06 ± 0.01 , $t = 29.50$, $P < 0.01$)。结果表明, 转染效率较高, GBX2 基因在 SiHa 细胞中过表达, 即成功建立 GBX2 过表达 SiHa 细胞株。



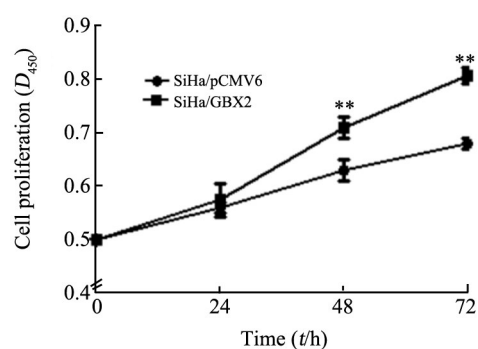
1: SiHa/pCMV6; 2: SiHa/GBX2

图 1 成功建立 GBX2 过表达的 SiHa 细胞株

Fig. 1 GBX2 over-expressed SiHa cell line was successfully established

2.2 GBX2 过表达促进 SiHa 细胞的增殖能力

WST-1 法检测结果 (图 2) 发现, 48 h 后, SiHa/GBX2 组细胞的增殖能力显著强于 SiHa/pCMV6 组细胞 (0.71 ± 0.02 vs 0.63 ± 0.02 , $t = 4.90$, $P < 0.01$)。



** $P < 0.01$ vs SiHa/pCMV6 group

图 2 GBX2 过表达提高 SiHa 细胞的增殖能力

Fig. 2 GBX2 over-expression promoted the proliferation ability of SiHa cells

集落形成实验结果显示, SiHa/GBX2 组细胞的集落形成能力明显强于 SiHa/pCMV6 组细胞, 克隆形成数量明显增加 [(358.67 ± 8.33) vs (56.00 ± 5.30) 个, $t = 53.14$, $P < 0.01$]。

流式细胞术检测结果 (图 3) 显示, 与 SiHa/pCMV6 组细胞比较, SiHa/GBX2 组细胞 G0/G1 期细胞所占比例降低 [$(49.80 \pm 2.08)\%$ vs $(75.00 \pm 2.56)\%$, $t = 13.23$, $P < 0.01$]、S 期细胞比例升高 [$(36.10 \pm 0.96)\%$ vs $(18.14 \pm 1.56)\%$, $t = 17.03$, $P < 0.01$]、G2/M 细胞比例升高 [$(14.35 \pm 0.90)\%$ vs $(7.15 \pm 1.41)\%$, $t = 7.44$, $P < 0.01$]。结果说明, GBX2 过表达是使 G0/G1 期 SiHa 细胞所占比例明显降低、S 期与 G2/M 期的细胞比例增加。

2.3 GBX2 过表达提高 SiHa 细胞的迁移和侵袭能力

划痕实验和 Transwell 实验结果 (图 4) 显示。细胞培养 24 h 后, 与 SiHa/pCMV6 组比较, SiHa/GBX2 组细胞的损伤修复能力明显增强 ($t = 53.20$, $P < 0.01$; 图 4A), 迁移细胞数明显增加 ($t = 17.75$, $P < 0.01$; 图 4B), 穿膜细胞数显著增加 ($t = 9.80$, $P < 0.01$; 图 4C)。

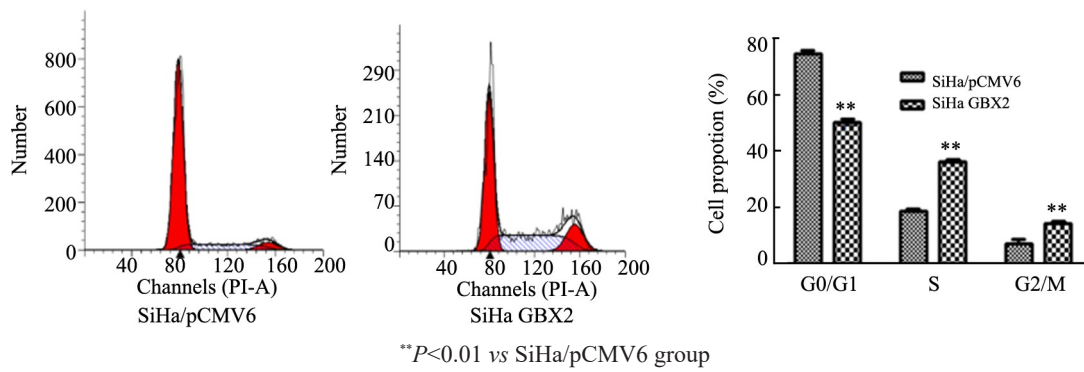
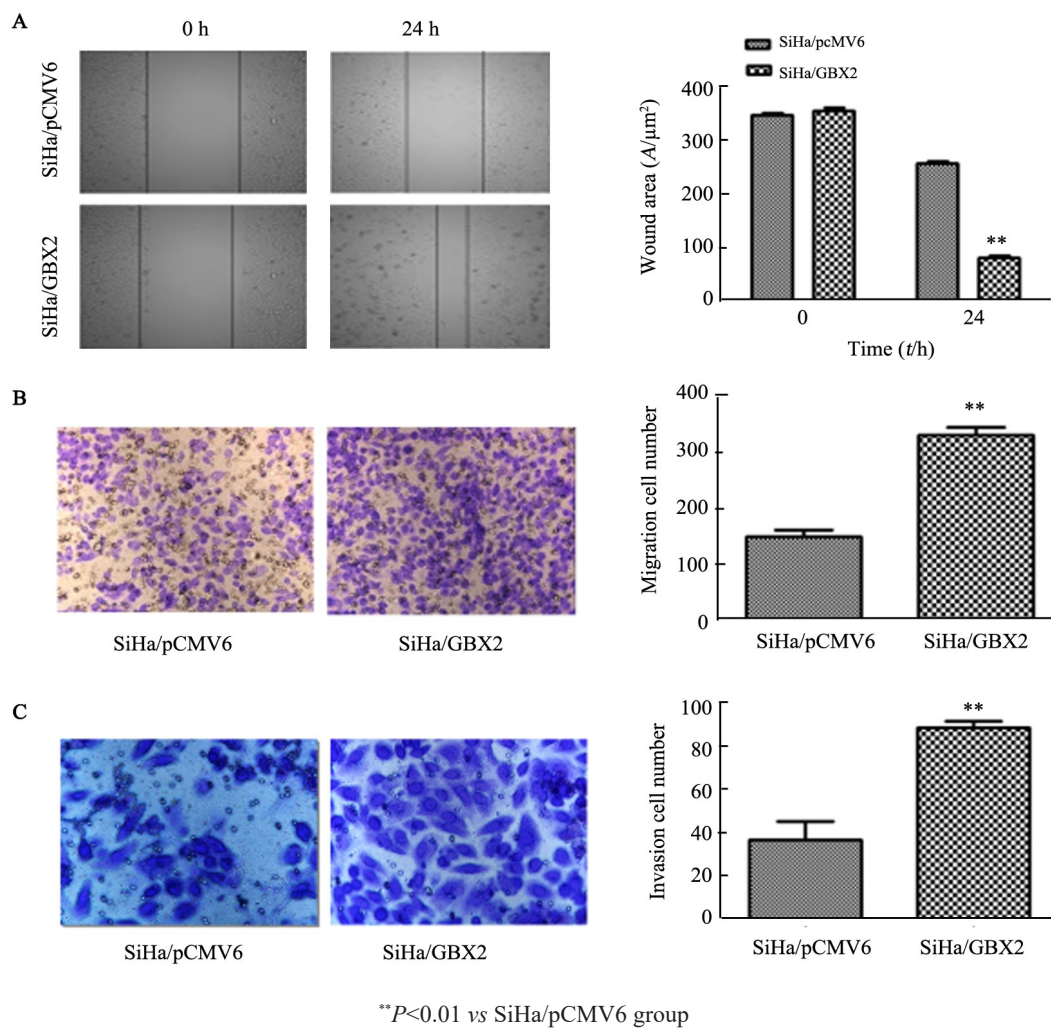


图3 GBX2 过表达对两组 SiHa 细胞周期的影响

Fig.3 Effect of GBX2 over-expression on cell cycle distribution of SiHa cells



A: Healing assay detected effect of GBX2 over-expression on the migration of SiHa cells (×100);

B: Transwell assay detected effect of GBX2 over-expression on the migration of SiHa cells (×200);

C: Transwell assay detected the effect of GBX2 over-expression on the invasion ability of SiHa cells (×400)

图4 GBX2 过表达提高 SiHa 细胞的迁移(A,B)和侵袭(C)能力(结晶紫染色)

Fig.4 GBX2 over-expression improved the migration (A,B) and invasion (C) ability of SiHa cells (crystal violet dyeing)

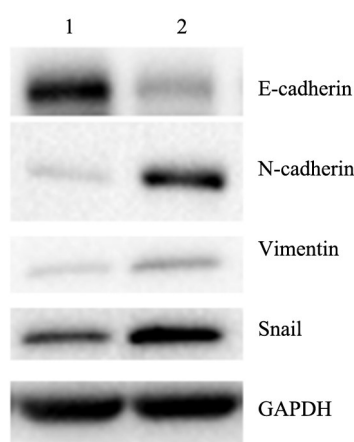
2.4 GBX2 过表达对 SiHa 细胞 EMT 相关蛋白的影响

WB 检测 EMT 相关蛋白表达结果(图5)发现,与对照组比较,实验组 SiHa 细胞上皮钙黏蛋白表达水平显著下降(0.20±0.07 vs 0.64±0.11, $t=6.16, P<0.01$),

神经钙黏蛋白、波形蛋白、Snail 表达水平上调(0.62±0.07 vs 0.17±0.03, $t=10.13; 0.15±0.03$ vs 0.05±0.01, $t=6.60; 0.42±0.06$ vs 0.17±0.02, $t=7.32$; 均 $P<0.01$)。结果提示,GBX2 过表达促进 SiHa 细胞 EMT。

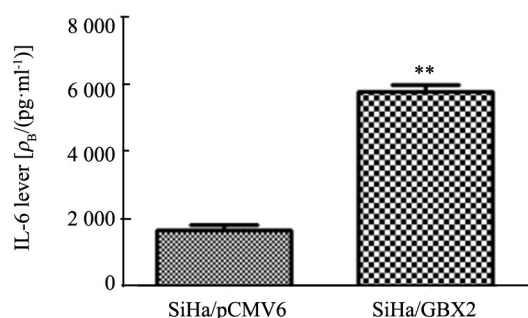
2.5 IL-6/STAT3 激活是 GBX2 诱导 SiHa 细胞 EMT 发生的重要因素

ELISA 检测结果(图 6)发现,与 SiHa/pCMV6 组比较, SiHa/GBX2 组细胞培养上清中分泌的 IL-6 水平显著增高[(5 803.33±155.67) vs (1 675.67±141.74), $t=33.96, P<0.01$]。WB 检测结果(图 7)发现, SiHa/GBX2 细胞 STAT3 磷酸化增强(0.39±0.04 vs 0.18±0.01, $t=9.81, P<0.01$),并能被 S31-201 所抑制(0.21±0.02 vs 0.39±0.04, $t=7.64, P<0.01$)。结果说明, STAT3 的磷酸化可能是 IL-6 诱导 SiHa/GBX2 细胞发生 EMT 的重要因素。



1: SiHa/pCMV6; 2: SiHa/GBX2

图 5 GBX2 过表达影响 SiHa 细胞 EMT 相关蛋白的表达
Fig.5 GBX2 over-expression affected the expression of EMT-related protein in SiHa cells



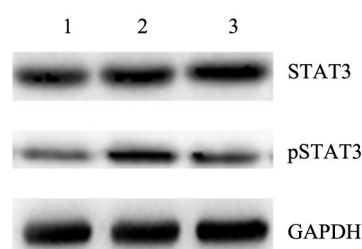
** $P<0.01$ vs SiHa/pCMV6 group

图 6 ELISA 测定 SiHa/GBX2 细胞培养上清中 IL-6 水平
Fig.6 The concentration of IL-6 in cell culture supernatant of SiHa/GBX2 cells was measured by ELISA

3 讨论

侵袭和转移是恶性肿瘤的基本生物学特征,宫颈癌患者的不良预后与其侵袭及转移直接相关,其转移以直接侵犯和淋巴转移为主,晚期可转移到肺、肾等^[9]。宫颈癌转移是制约其疗效、影响患者预后及

生存的重要因素,因此探讨其侵袭转移的机制对宫颈癌治疗及预后具有重要意义。非 I 类同源盒基因 GBX2 在生物进化中具有高度的保守性,能调控细胞分化、生长发育,主要通过其编码蛋白调控下游的靶基因^[10]。本课题组前期研究^[8]发现, GBX2 在宫颈癌组织中显著高表达,但 GBX2 表达与宫颈癌细胞增殖、侵袭、迁移的关系尚未见文献报道。本研究通过质粒转染技术构建过表达 GBX2 的 SiHa 细胞,发现 SiHa/GBX2 细胞的增殖、克隆形成、迁移和侵袭能力随之增强,说明 GBX2 促进宫颈癌细胞的侵袭和转移。



1: SiHa/pCMV6; 2: SiHa/GBX2; 3: SiHa/GBX2+S31-201

图 7 GBX2 促进 SiHa 细胞 STAT3 磷酸化

Fig.7 GBX2 promoted STAT3 phosphorylation in SiHa cells

EMT 作为上皮源性肿瘤发生发展过程中的重要步骤,与肿瘤浸润及转移密切相关,其主要标志是上皮源性特征的细胞黏附分子上皮钙黏蛋白表达水平降低,而具有间质源性的波形蛋白表达水平升高^[11-12]。过表达 GBX2 的 SiHa 细胞上皮钙黏蛋白表达水平下降,而神经钙黏蛋白、波形蛋白和 Snail 表达水平上调,提示 GBX2 可以促进 SiHa 细胞 EMT。EMT 作为肿瘤转移早期阶段的一个关键步骤,可受多种信号通路的共同调控,其中包括 TGF- β /Smad 及 JAK/STAT3 信号通路。TGF- β /Smad 是诱导 EMT 发生最经典的信号途径,但是 TGF- β 1 诱导的 Smad3 磷酸化需要 JAK/STAT3 信号通路的参与,激活 JAK/STAT3 信号通路可以增强 TGF- β /Smad 通路诱导的 EMT 以及细胞迁移和侵袭能力。JAK/STAT3 信号通路可能通过下调上皮钙黏蛋白和上调波形蛋白的表达来降低细胞间的黏附作用,从而诱导 EMT 的发生。STAT3 可以与 Snail 的启动子结合促进其蛋白表达, Snail 结合到上皮钙黏蛋白基因启动区 E-box 序列上抑制上皮钙黏蛋白的转录。STAT3 还能与波形蛋白基因上游的抗沉默序列结合,并与结合到沉默子上的抑制子 ZBP-89 发生相互作用促进波形蛋白的表达^[13]。IL-6 是一种多功能的细胞因子,在免疫和炎症反应、细胞生长、增殖以及凋亡过程中发挥重要的调节作用^[14]。JAK/STAT3 信号通路是 IL-6 发挥作用的

重要信号途径之一。IL-6 与其受体结合形成具有生物学活性的 IL-6/IL-6R/gp130 六聚体后,通过 JAK 家族蛋白激活 STAT3,活化的 STAT3 可以在细胞质中形成同源或者异源二聚体,转入细胞核内结合特定靶基因的 DNA 序列调节蛋白的表达^[15]。在胃癌和肺癌中,癌相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)分泌的 IL-6 通过 JAK/STAT3 信号通路诱导癌细胞 EMT 的发生^[16-17]。本实验 ELISA 检测 SiHa/GBX2 细胞培养上清发现,IL-6 水平明显高于对照组 SiHa/pCMV6 细胞,证实 GBX2 能促进宫颈癌 SiHa 细胞的增殖和克隆形成能力。结果表明,在宫颈癌中 GBX2 可通过 IL-6/STAT3 信号通路影响细胞的增殖、侵袭与转移,这是否也和其在前列腺癌细胞中的作用^[18]一样,通过 IL-6 基因启动子区域内的 ATTA 基序起作用,还需进一步的研究。

综上,过表达 GBX2 能提高宫颈癌 SiHa 细胞的增殖、克隆形成、迁移和侵袭能力,推测与其促进 IL-6 的分泌进而通过 IL-6/JAK/STAT3 信号通路诱导 EMT 发生相关,对宫颈癌转移的诊断、治疗提供一定的实验依据。

[参考文献]

- [1] WANG X, WANG T T, XU M, et al. B7-H4 overexpression impairs the immune response of T cells in human cervical carcinomas[J]. *Hum Immunol*, 2014, 75(12): 1203-1209. DOI: 10.1016/j.humimm.2014.10.002.
- [2] WANG J Q, WANG T, SHI F, et al. A randomized controlled trial comparing clinical outcomes and toxicity of lobaplatin-versus cisplatin-based concurrent chemotherapy plus radiotherapy and high-dose-rate brachytherapy for FIGO stage II and III cervical cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(14): 5957-5961.
- [3] SUN S H, LIU D, DENG Y T, et al. SIX1 coordinates with TGF β signals to induce epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer[J/OL]. *Oncol Lett*, 2016, 12(2): 1271-1278[2019-03-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4950046/>. DOI: 10.3892/ol.2016.4797.
- [4] GAO A C, ISAACS J T. Expression of homeobox gene-GBX2 in human prostatic cancer cells[J]. *Prostate*, 1996, 29(6): 395-398. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0045(199612)29: <395:: AID-PROS8>3.0. CO; 2-7.
- [5] TAI C I, YING Q L. Gbx2, a LIF/Stat3 target, promotes reprogramming to and retention of the pluripotent ground state[J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 5): 1093-1098. DOI: 10.1242/jcs.118273.
- [6] NI Z, LOU W, LEMAN E S, et al. Inhibition of constitutively activated stat3 signaling pathway suppresses growth of prostate cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(5): 1225-1228.
- [7] GAO A C, LOU W, ISAACS J T. Enhanced GBX2 expression stimulates growth of human prostate cancer cells via transcriptional up-regulation of the interleukin 6 gene[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(2): 493-497.
- [8] LIN W S, FENG M, LI X H, et al. Transcriptome profiling of cancer and normal tissues from cervical squamous cancer patients by deep sequencing[J/OL]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2): 2075-2088[2019-03-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5562054/>. DOI: 10.3892/mmr.2017.6855.
- [9] ZHANG Y, WANG T, HUANG H Q, et al. Human MALAT-1 long non-coding RNA is overexpressed in cervical metastasis and promotes cell proliferation, invasion and migration[J]. *J BUON*, 2015, 20(6): 1497-1503.
- [10] 伊世芹,刘秋玲. 同源盒基因与肿瘤发生发展的关系[J]. *武警医学*, 2013, 24(8): 715-717. DOI: 10.3969/j.issn.1004-3594.2013.08.027.
- [11] SONG F, WANG G, MA Z F, et al. Silencing of BAG3 inhibits the epithelial-mesenchymal transition in human cervical cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(56): 95392-95400[2019-03-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5707029/>. DOI: 10.18632/oncotarget.20726.
- [12] 王晓娟,管庆军,李新强等. AMPK α 过表达对膀胱癌 T24 细胞增殖、侵袭和 EMT 的抑制作用及其机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(4): 396-401. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.04.005.
- [13] 曾园园. IL-6/JAK/STAT3 与 TGF- β /Smad 通路介导肺癌细胞上皮-间充质转化过程的交互作用机制研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
- [14] SONG Z W, LIN Y, YE X J, et al. Expression of IL-1 α and IL-6 is associated with progression and prognosis of human cervical cancer [J/OL]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 4475-4481[2019-03-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5120643/>.
- [15] ZHANG J B, JIA J Q, ZHAO L J, et al. Down-regulation of microRNA-9 leads to activation of IL-6/Jak/STAT3 pathway through directly targeting IL-6 in HeLa cell[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(5): 732-742. DOI: 10.1002/mc.22317.
- [16] WU X Y, TAO P, ZHOU Q, et al. IL-6 secreted by cancer-associated fibroblasts promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis of gastric cancer via JAK2/STAT3 signaling pathway[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(13): 20741-20750[2019-03-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5400541/>. DOI: 10.18632/oncotarget.15119.
- [17] WANG L M, CAO L M, WANG H M, et al. Cancer-associated fibroblasts enhance metastatic potential of lung cancer cells through IL-6/STAT3 signaling pathway[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(44): 76116-76128[2019-03-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5652691/>. DOI: 10.18632/oncotarget.18814.
- [18] HANDLE F, PUHR M, SCHAEFER G, et al. The STAT3 inhibitor galiellalactone reduces IL6-mediated AR activity in benign and malignant prostate models[J]. *Mol Cancer Ther*, 2018, 17(12): 2722-2731. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-18-0508.

[收稿日期] 2019-03-26

[修回日期] 2019-05-21

[本文编辑] 党瑞山