

# HPV-18 E7蛋白通过SIRT1对宫颈癌细胞增殖、 凋亡和自噬的影响

燕婧 杨瑞 汤晓莉\*

(复旦大学附属金山医院检验科, 上海 201508)

**摘要** 该研究旨在探究HPV-18 E7蛋白通过SIRT1在HPV感染的宫颈癌细胞增殖、凋亡、自噬中的作用。利用HPV-18 E7靶向小干扰RNA(E7-siRNA)抑制HPV-18 E7的表达, CCK-8法检测细胞增殖情况, 流式细胞仪测定细胞凋亡情况, Western blot检测细胞自噬相关蛋白Beclin1和LC3表达水平, qRT-PCR和Western blot分别检测SIRT1的mRNA和蛋白表达水平。利用表达载体在HaCaT细胞表达HPV-18 E7蛋白, 再分别通过qRT-PCR和Western blot检测SIRT1的mRNA和蛋白表达水平。最后, 利用SIRT1激动剂(SRT1720)预处理细胞, CCK-8法检测细胞增殖情况, 流式细胞仪测定细胞凋亡情况, Western blot检测细胞自噬相关蛋白 Beclin1 和 LC3 表达水平。结果发现, E7-siRNA沉默HPV-18 E7的表达后, 细胞增殖和自噬显著减弱, 凋亡水平升高, SIRT1的mRNA和蛋白表达水平显著降低。在HaCaT细胞表达HPV-18 E7蛋白后, 发现HPV-18 E7可促进SIRT1的表达。SIRT1激动剂处理可以促进HPV-18 E7基因沉默导致的低水平细胞增殖, 缓解HPV-18 E7基因沉默导致的细胞凋亡, 提高自噬相关蛋白Beclin1表达水平和LC3-II/LC3-I值。总之, HPV-18 E7可以促进HeLa细胞SIRT1的表达, 并通过SIRT1进而促进细胞的增殖和自噬, 抑制细胞凋亡。

**关键词** 宫颈癌; 人乳头状瘤病毒; SIRT1; 凋亡; 自噬

## Effect of HPV-18 E7 Protein on Proliferation, Apoptosis and Autophagy of Cervical Cancer Cells through SIRT1

YAN Jing, YANG Rui, TANG Xiaoli\*

(Department of Laboratory Medicine of Jinshan Hospital of Fudan University, Shanghai 201508, China)

**Abstract** This study aimed to investigate the role of HPV-18 E7 protein in proliferation, apoptosis and autophagy of cervical cancer cells infected with HPV through SIRT1. SiRNA targeting HPV-18E7 (E7-siRNA) was used to inhibit the expression of HPV-18 E7. Cell proliferation was detected by CCK-8 assay; cell apoptosis was detected by flow cytometry; the expression of Beclin1 and LC3 were detected by Western blot; the mRNA and protein expression of SIRT1 were detected by qRT-PCR and Western blot. HPV-18 E7 protein was expressed in HaCaT cells with the expression vector, and the expression level of SIRT1 was detected by qRT-PCR and Western blot respectively. Finally, the cells were pretreated with SIRT1 agonist (SRT1720); the cell apoptosis was detected by flow cytometry, and the expression of autophagy-related proteins Beclin1 and LC3 were detected by Western blot. The results showed that after inhibition of HPV-18 E7 expression by E7-siRNA, the cell proliferation and autophagy

收稿日期: 2022-07-15 接受日期: 2022-10-25

复旦大学附属金山医院青年科研启动基金项目(批准号: JYQN-LC-202006)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 18895655830, E-mail: txl18895655830@163.com

Received: July 15, 2022 Accepted: October 25, 2022

This work was supported by the Youth Scientific Research Foundation Jinshan Hospital of Fudan University (Grant No. JYQN-LC-202006)

\*Corresponding author. Tel: +86-18895655830, E-mail: txl18895655830@163.com

levels were significantly decreased; the apoptosis level was increased, and the mRNA and protein expression levels of SIRT1 were significantly decreased. HPV-18 E7 was expressed in HaCaT cells, it was found that HPV-18 E7 promoted the expression of SIRT1. SIRT1 agonist treatment can increase the low-level cell proliferation caused by HPV-18 E7 gene silencing, alleviating the apoptosis caused by HPV-18 E7 gene silencing, and increase the expression level of autophagy-related protein Beclin1 and the ratio of LC3-II/LC3-I. In conclusion, HPV-18 E7 can promote the expression of SIRT1, and then promote the cell proliferation and autophagy, inhibit apoptosis through SIRT1.

**Keywords** cervical cancer; HPV; SIRT1; apoptosis; autophagy

宫颈癌是一种常见的女性恶性肿瘤,研究表明,几乎所有宫颈癌与人乳头状瘤病毒(human papilloma virus, HPV)密切相关<sup>[1]</sup>。高危型HPV的E7蛋白在HPV感染的细胞中持续高表达,并在宫颈癌的发生发展中起重要作用,但其具体致病机制尚不明确<sup>[2]</sup>。

沉默信息调节因子1(silent information regulator1, SIRT1)是一种脱乙酰酶,其基因位于染色体10q21.3上,基因序列具有高度保守性,可去乙酰化组蛋白和多种非组蛋白<sup>[3]</sup>。SIRT1的抑制剂包括cambinol、sirtinol、烟酰胺等,激动剂包括槲皮素、白藜芦醇、SRT1720等<sup>[4]</sup>。SIRT1在肝癌、胃癌、肺癌、卵巢癌、皮肤癌、宫颈癌、胰腺癌、甲状腺癌、前列腺癌、白血病、脑胶质瘤和软组织肉瘤等多种恶性肿瘤中高表达,而在头颈部癌和人类口腔鳞状细胞癌中低表达<sup>[5]</sup>。SIRT1对肿瘤耐药也起到了重要作用,并且可通过去乙酰化作用对细胞的自噬、分化、增殖、凋亡等生理活动进行调控<sup>[6]</sup>。

自噬在真核细胞内普遍存在,是一种降解和回收细胞内大分子物质和受损细胞器的调控过程,对细胞的生长、发育和内环境稳态起重要作用,与多种疾病的发生发展密切相关。近年来,有研究发现内源性SIRT1能够调控细胞自噬水平,并且最终抑制肿瘤细胞的快速生长。但HPV E7蛋白是否与SIRT1相互作用并影响宫颈癌的发生发展还缺乏进一步研究。本研究利用HPV-18 E7靶向小干扰RNA抑制E7的表达,表达载体过表达HPV-18 E7蛋白, SIRT1激动剂(SRT1720)预处理细胞激活SIRT1,并检测细胞增殖、凋亡和自噬情况,探究SIRT1在HPV感染宫颈癌细胞增殖、凋亡和自噬中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人宫颈癌细胞HeLa和人永生角质形成细胞

HaCaT由本实验室保存。HPV-18 E7靶向E7-siRNA: 5'-AUG CAU GGA CCU AAG GCA ACA U-3', 无义序列NS-siRNA: 5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG UUU-3'由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。转染试剂Lipofectamine™ RNAiMAX购自Thermo Fisher Scientific公司。细胞增殖检测试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)、anti-β-actin抗体、辣根过氧化物酶标记二抗购自上海碧云天生物技术有限公司。anti-HPV-18 E7抗体、anti-SIRT1抗体购自Abcam公司。anti-Beclin1抗体、anti-LC3-I/II抗体购自CST(Cell Signaling Technology)公司。

### 1.2 方法

1.2.1 HPV-18 E7靶向siRNA转染HeLa细胞 HeLa细胞接种到6孔板中,当HeLa细胞生长至70%时进行转染,以只包含转染试剂的组别作为空白对照,无义siRNA作为阴性对照,实验组为HPV-18 E7靶向siRNA。最终转染每孔加入的siRNA量为25 pmol,转染72 h后观察细胞形态,收集细胞用于下一步实验。对于SIRT1参与HPV-18 E7影响HeLa细胞增殖、自噬和凋亡相关实验,HeLa细胞被分为四组,分别为:未经E7-siRNA和SIRT1激动剂(SRT1720)处理组、E7-siRNA处理SRT1720未处理组、E7-siRNA未处理SRT1720处理组、经E7-siRNA和SRT1720处理组。E7-siRNA处理方式为25 pmol HPV-18 E7靶向E7-siRNA处理72 h, SRT1720处理方式为7 μmol/L SRT1720作用E7-siRNA处理组和E7-siRNA未处理组细胞24 h,各组处理结束后进行下一步实验。

1.2.2 qRT-PCR检测HPV-18 E7、SIRT1 mRNA表达 对于收集的细胞,按照RNA提取试剂盒(QIAGEN)说明书提取总RNA,去除基因组DNA并反转录之后,进行荧光定量PCR。HPV-18 E7上游引物序列: 5'-TGC ATG GAC CTA AGG CAA CA-3', HPV-

18 E7下游物序列: 5'-CTC GTC GGG CTG GTA AAT GT-3'; *SIRT1*上游引物序列: 5'-TAG ACA CGC TGG AAC AGG TTG C-3', *SIRT1*下游引物序列: 5'-CTC CTC GTA CAG CTT CAC AGT C-3'; 内参 $\beta$ -actin上游引物序列: 5'-ATC AAG ATC ATT GCT CCT CCT GAG-3', 内参 $\beta$ -actin下游引物序列: 5'-CTG CTT GCT GAT CCA CAT CTG-3'。

**1.2.3 Western blot检测** 对于收集的细胞,按照蛋白提取试剂盒说明书提取总蛋白,BCA法测定蛋白浓度。在蛋白样品中加入上样缓冲液并煮沸5 min, SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后转PVDF膜,用含有5%牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)的封闭液室温封闭2 h,加入一抗( $\beta$ -actin、HPV-18 E7、*SIRT1*、Beclin1、LC3-I/II、caspase-3, 稀释比例为1:1 000) 4 °C孵育过夜, TBST洗涤3次,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5 000)室温避光孵育2 h, TBST洗涤3次后用化学发光显影液孵育,显影仪拍照并对图像进行灰度分析。

**1.2.4 CCK-8检测细胞增殖** 对于处理后收集的细胞,重新接种到96孔板中,于特定时间点每孔加入10%体积CCK-8溶液,设置空白对照,每个时间点每组设置3个重复,37 °C孵育1 h后测定 $D_{450}$ 。

**1.2.5 流式细胞技术检测细胞凋亡** 收集不同处理组的细胞,每组约 $5 \times 10^5$ 个细胞, PBS重悬, 1 000 r/min离心5 min去上清,加入100  $\mu$ L Annexin V结合缓冲液,再加入2.5  $\mu$ L Annexin V-FITC和PI,混匀后室温避光孵育20 min,再加入400  $\mu$ L Annexin V结合缓冲液,用流式细胞仪检测荧光值并分析结果。

**1.2.6 统计分析** 本文实验数据使用GraphPad Prism 8软件进行统计学分析,所有数据以平均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组比较间采用独立样本 $t$ 检验,对于两组以上比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HPV-18 E7促进HeLa细胞增殖

为了研究HPV-18 E7对宫颈癌细胞HeLa的影响,利用HPV-18 E7靶向小干扰RNA(E7-siRNA)抑制E7的表达,qRT-PCR结果显示,与对照组和NS-siRNA组相比,E7-siRNA转染组E7 mRNA水平显著降低(图1A);并且Western blot结果与qRT-PCR结果相一致,与空白对照组和NS-siRNA组相比,E7-

siRNA转染组E7蛋白表达水平明显降低(图1B和图1C)。CCK-8实验结果显示,与对照组和NS-siRNA组相比,E7-siRNA转染组对HeLa细胞增殖有显著抑制作用(图1D),这结果表明HPV-18 E7促进了HeLa细胞的增殖。

### 2.2 HPV-18 E7抑制HeLa细胞凋亡并促进自噬

流式细胞技术测定HeLa细胞凋亡情况,结果如图2A所示,对照组早期和晚期凋亡率分别为6.7%和5.2%,NS-siRNA转染组早期和晚期凋亡率为6.9%和5.6%,E7-siRNA转染组早期和晚期凋亡率为18.3%和10.5%,E7-siRNA转染组凋亡率明显高于另外两组;Western blot检测凋亡相关蛋白caspase-3表达情况,结果如图2B所示,与对照组和NS-siRNA组相比,E7-siRNA转染组活化的caspase-3蛋白水平显著升高(图2C),这些结果表明HPV-18 E7抑制HeLa细胞凋亡。

Western blot检测自噬相关蛋白Beclin1和LC3-I/II(图2B),结果显示,与对照组和NS-siRNA组相比,E7-siRNA转染组Beclin1表达水平显著降低(图2D),LC3-II/LC3-I值显著降低(图2E),结果表明HPV-18 E7促进HeLa细胞自噬。

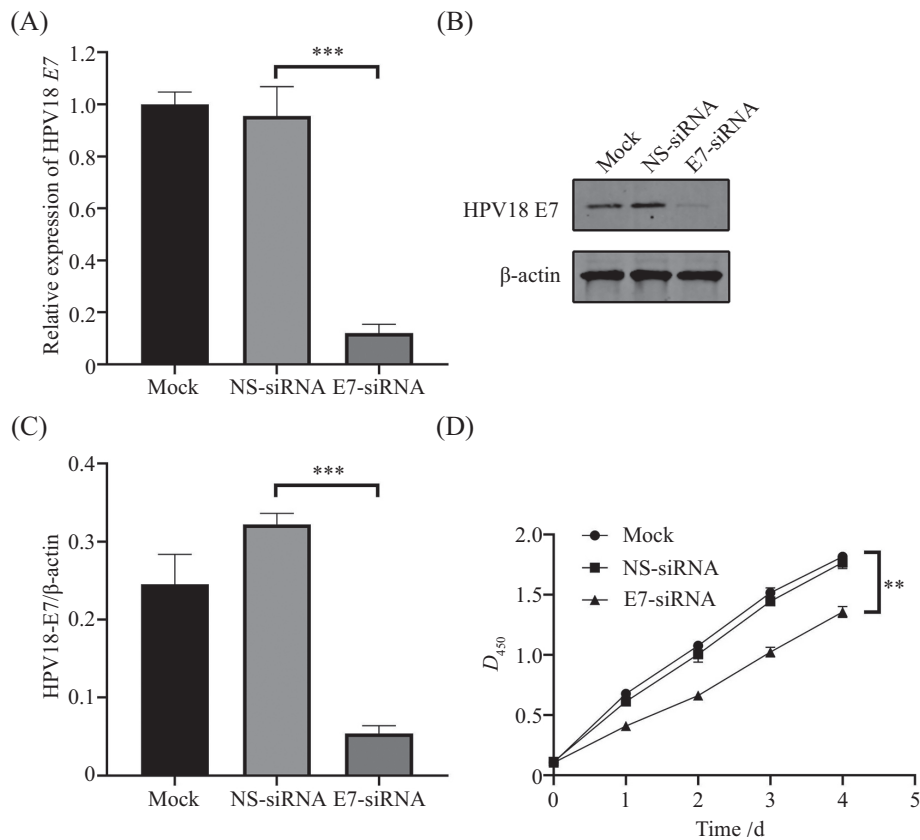
### 2.3 HPV-18 E7促进SIRT1的表达

为了研究HPV-18 E7对HeLa细胞*SIRT1*表达水平的影响,分别通过qRT-PCR和Western blot检测*SIRT1*的mRNA和蛋白表达水平,结果显示,与空白对照组和NS-siRNA组相比,E7-siRNA转染组*SIRT1* mRNA(图3A)和蛋白(图3B和图3C)表达水平均显著降低。

为进一步验证HPV-18 E7对*SIRT1*表达的调控作用,我们构建HPV-18 E7表达载体并转染HaCaT细胞,Western blot检测HPV-18 E7表达水平,结果显示HPV-18 E7表达成功(图3D)。然后分别通过qRT-PCR和Western blot检测*SIRT1*的mRNA和蛋白表达水平,结果显示,与对照组相比,E7表达载体转染组(HaCaT) *SIRT1*的mRNA(图3E)和蛋白(图3F和图3G)表达水平均显著升高。这些结果表明,HPV-18 E7促进*SIRT1*的表达。

### 2.4 HPV-18 E7通过SIRT1影响HeLa细胞增殖、凋亡和自噬

已有文献报道*SIRT1*能够抑制细胞凋亡并促进细胞增殖和自噬<sup>[7]</sup>,为了进一步探究HPV-18 E7是否通过*SIRT1*影响HeLa细胞增殖、凋亡和自噬,本研



A: qRT-PCR检测HPV-18 *E7* mRNA表达水平; B: Western blot检测HPV-18 *E7*蛋白表达水平; C: 图B的灰度分析图; D: CCK-8实验检测HeLa细胞增殖情况。\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

A: quantification of HPV-18 *E7* mRNA levels using qRT-PCR; B: the expression of HPV-18 *E7* protein was measured by Western blot; C: statistical analysis of figure B; D: CCK-8 assay was used to evaluate the proliferation of HeLa cells. \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

图1 HPV-18 E7促进HeLa细胞增殖

Fig.1 HPV-18 E7 promotes the proliferation of HeLa cells

究分别利用E7-siRNA抑制HPV-18 E7的表达, SIRT1特异性激动剂SRT1720处理激活细胞SIRT1后, 分别通过CCK-8实验、流式细胞技术和Western blot检测细胞增殖、凋亡和自噬情况。CCK-8实验结果显示, 经SRT1720处理的细胞与未经SRT1720处理的细胞相比, SRT1720处理促进了细胞增殖(图4A), 即SIRT1的激活可以提高HPV-18 *E7*基因沉默导致的低水平细胞增殖, 这表明SIRT1参与了HPV-18 E7促进HeLa细胞增殖的过程。

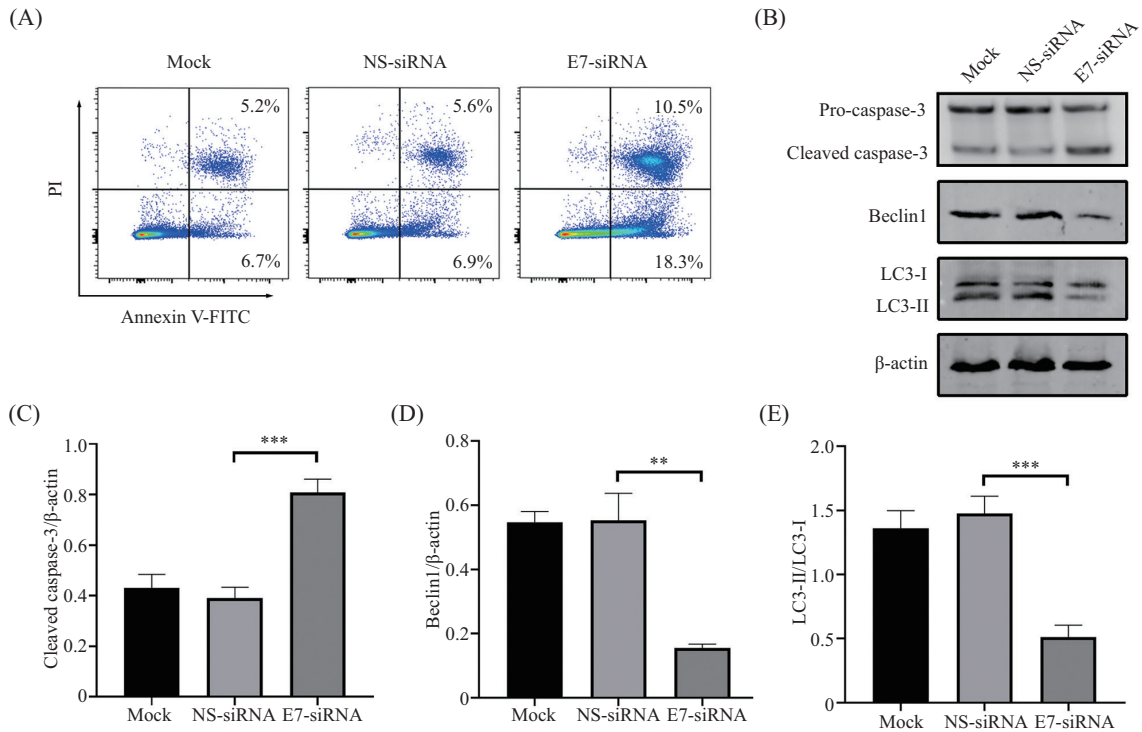
流式细胞技术结果显示, 未经E7-siRNA干扰的细胞, SRT1720处理组与SRT1720未处理细胞凋亡水平均较低, 且两组没有明显差异; 经E7-siRNA干扰的细胞, SRT1720处理组细胞凋亡比例明显低于SRT1720未处理组(图4B), 即SIRT1的激活可以缓解HPV-18 *E7*基因沉默导致的细胞凋亡, 这表明SIRT1参与了HPV-18 E7抑制HeLa细胞凋亡的过程; Western blot检测凋亡相关蛋白caspase-3激活情

况(图4C和图4D), 结果与流式细胞结果相似, 这佐证了SIRT1参与HPV-18 E7抑制HeLa细胞凋亡的过程。Western blot检测自噬相关蛋白结果(图4C)显示, SRT1720处理组细胞自噬相关蛋白Beclin1表达水平显著升高(图4E), LC3-II/LC3-I值显著升高(图4F), 即SIRT1的激活可以提高HPV-18 *E7*基因沉默导致的低水平细胞自噬, 这表明SIRT1参与了HPV-18 E7促进HeLa细胞自噬的过程。

### 3 讨论

HPV是一种无包膜的双链环状DNA病毒, 现已发现200多种亚型, 特别是作为高危型HPV16、18型病毒, 大约73%的宫颈癌和癌前病变与这两种高危型HPV的感染相关<sup>[8-9]</sup>。在高危型HPV的长期持续感染过程中, HPV基因组的部分片段可整合入宿主细胞基因组上, 在这种整合状态下被致癌因素激活后可在宿主细胞内持续高表达HPV蛋白HPV E7<sup>[10]</sup>。



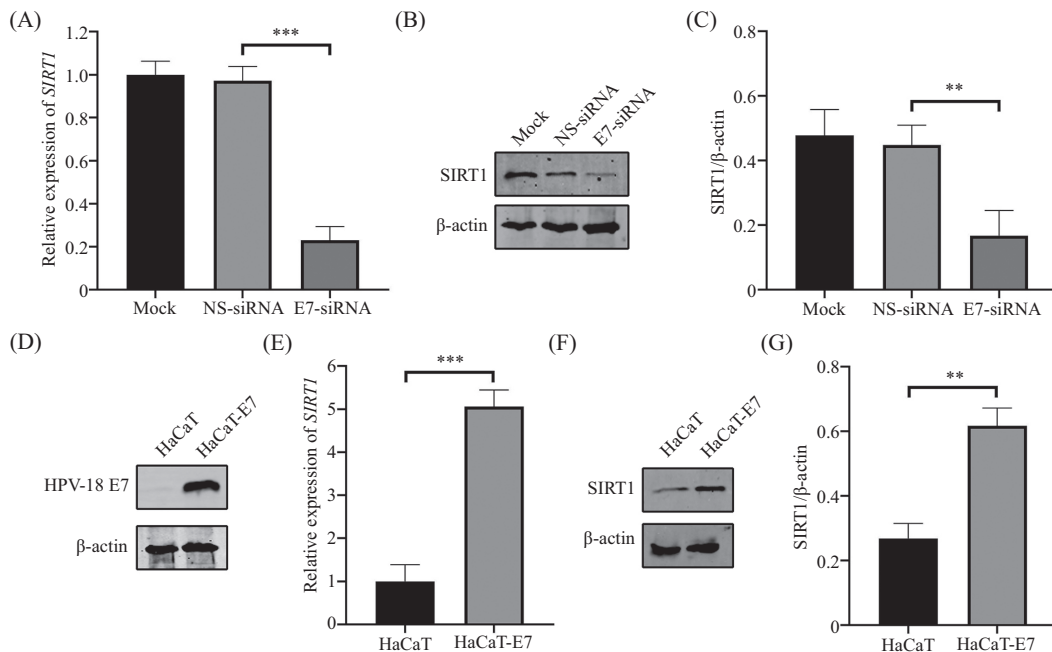


A: 流式细胞技术检测细胞凋亡; B: Western blot检测自噬和凋亡相关蛋白表达水平; C~E: 图B的灰度分析图。 \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

A: analysis of cell apoptosis by flow cytometry; B: the expression of apoptosis and autophagy related protein was measured by Western blot; C-E: statistical analysis of figure B. \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

图2 HPV-18 E7抑制HeLa细胞凋亡并促进自噬

Fig.2 HPV-18 E7 inhibits apoptosis and promotes autophagy in HeLa cells

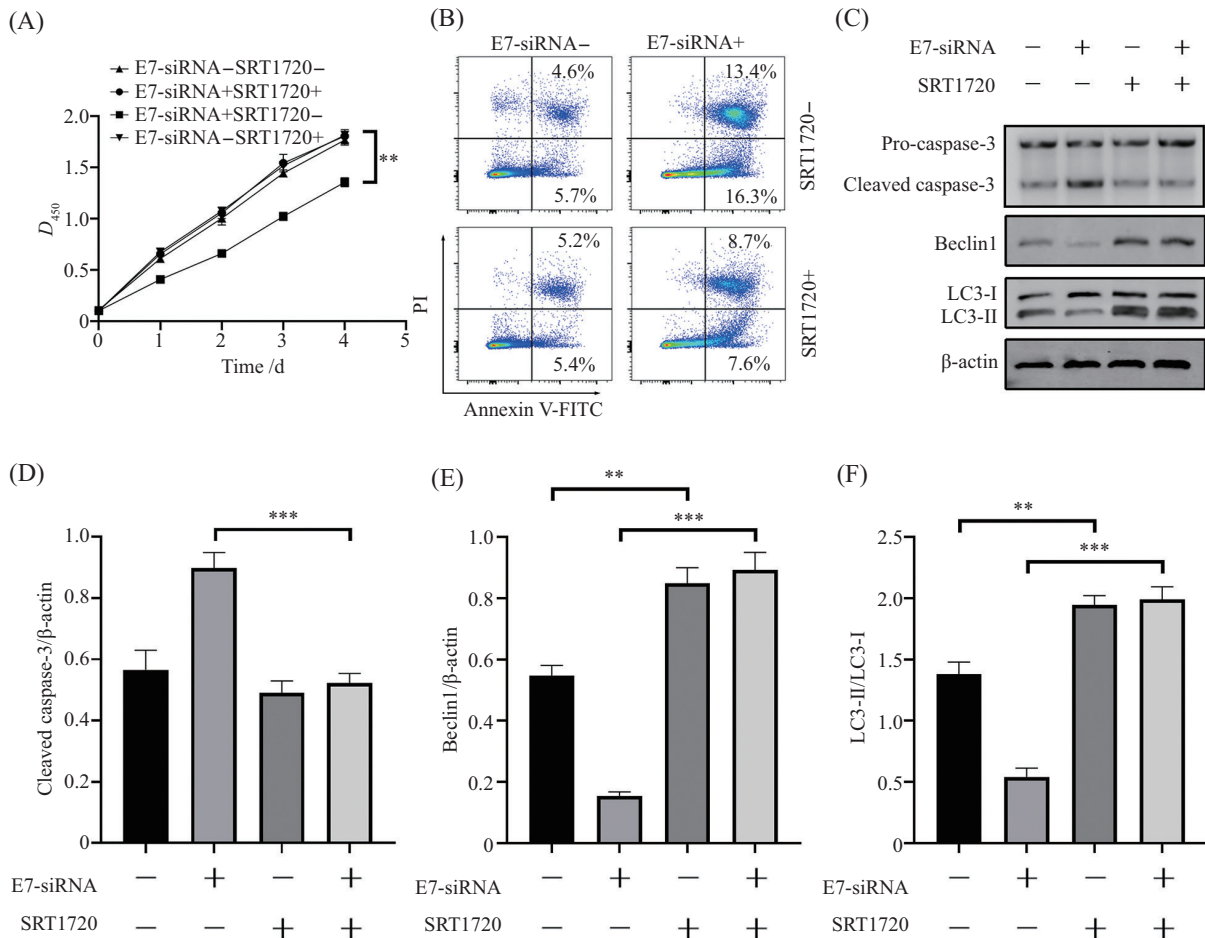


A: qRT-PCR检测 *SIRT1* mRNA 表达水平; B: Western blot检测 *SIRT1* 蛋白表达水平; C: 图B的灰度分析图; D: Western blot检测 HPV-18 E7 表达水平; E: qRT-PCR检测 *SIRT1* mRNA 表达水平; F: Western blot检测 *SIRT1* 蛋白表达水平; G: 图F的灰度分析图。 \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

A: quantification of *SIRT1* mRNA levels using qRT-PCR; B: the expression of *SIRT1* protein was measured by Western blot; C: statistical analysis of figure B; D: the expression of HPV-18 E7 protein was measured by Western blot; E: quantification of *SIRT1* mRNA levels using qRT-PCR; F: the expression of *SIRT1* protein was measured by Western blot; G: statistical analysis of figure F. \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

图3 HPV-18 E7促进SIRT1的表达

Fig.3 HPV-18 E7 promotes *SIRT1* expression



A: CCK-8实验检测HeLa细胞增殖情况; B: 流式细胞技术检测细胞凋亡; C: Western blot检测凋亡和自噬相关蛋白表达水平; D-F: 图C的灰度分析图。SIRT1720为SIRT1激动剂, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

A: CCK-8 assay was used to evaluate the proliferation of HeLa cells; B: analysis of cell apoptosis by flow cytometry; C: the expression of apoptosis and autophagy related protein was measured by Western blot; D-F: statistical analysis of figure C. SIRT1720 is the agonist of SIRT1, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

图4 SIRT1参与HPV-18 E7影响HeLa细胞凋亡和自噬的过程

Fig.4 SIRT1 is involved in the effect of HPV-18 E7 on apoptosis and autophagy in HeLa cells

HPV E7可以降解成视网膜母细胞瘤蛋白pRb, 影响宿主细胞的正常细胞信号通路调控, 并导致宿主细胞的恶性转化<sup>[11-12]</sup>。此外HPV E7还参与免疫逃逸, 抑制细胞凋亡, 调节细胞自噬等过程<sup>[13-15]</sup>, 但其影响宫颈上皮细胞生命活动的具体分子机制尚不清楚, 其调节宿主细胞的信号通路的具体机制亦有待进一步研究。

高危型人乳头状瘤病毒(high risk-HPV, HR-HPV)与宫颈癌的发生发展密切相关, 其中HPV E7蛋白是HR-HPV致癌的主要蛋白之一, 但其致癌的细胞信号途径尚不明确。有研究证实在宫颈癌细胞中利用siRNA靶向沉默HPV-16 E7和HPV-18 E7可显著抑制细胞的增殖并可诱导细胞凋亡<sup>[16]</sup>, 本研究与其

结果相似, 发现靶向沉默HeLa细胞中HPV-18 E7的表达, 可以抑制HeLa细胞增殖和自噬并促进凋亡。另有研究者利用RNA干扰技术抑制HPV-16 E7的表达, 发现SIRT1蛋白的表达下调<sup>[17]</sup>, 本研究利用RNA干扰技术抑制HPV-18 E7的表达, 结果发现SIRT1蛋白的表达下调, 并且通过真核表达载体在HaCaT细胞表达HPV-18 E7蛋白, 再次证实了HPV-18 E7可以激活SIRT1的表达, 这表明SIRT1与E7之间存在着紧密的联系, 并且SIRT1可能参与了宫颈癌的发生发展。为进一步探究SIRT1在HPV-18 E7调控细胞增殖、凋亡和自噬中的作用, 本研究利用SIRT1激动剂SIRT1720进行实验, 发现HPV-18 E7可以通过SIRT1促进HeLa细胞的增殖和自噬, 抑制细胞凋亡, 但对

于HPV-18 E7如何直接或者通过何种其他间接途径促进SIRT1的表达仍需要进一步研究,并通过临床试验进行验证。

SIRT1与肿瘤的发生发展有密切的关系,但在不同肿瘤或是同一肿瘤的不同阶段所起的作用不同<sup>[18]</sup>。SIRT1作为抑癌因子抑制炎症反应,但同时也能刺激肿瘤生长,如启动癌基因,抑制肿瘤抑制因子的启动,发展有利于肿瘤生长的微环境。SIRT1在卵巢癌和子宫内膜癌中高表达,使抑癌基因产生的p53蛋白去乙酰化,从而导致p53失活,使细胞避免p53所介导的凋亡。在本研究中,实验结果表明SIRT1可以抑制caspase-3的激活和细胞凋亡。除此之外,还有研究表明HPV-16 E7可以与抗凋亡因子Siva-1发生互作从而起到抗凋亡的作用<sup>[9]</sup>。在本研究中,我们发现HPV-18 E7可以促进SIRT1的表达,并且通过SIRT1抑制HeLa细胞凋亡,这对于进一步明确SIRT1在宫颈癌中的作用有启示意义。

自噬在许多的肿瘤细胞中起到抑制和促进的双重作用,自噬既可通过抑制肿瘤细胞存活、诱导肿瘤细胞死亡来抑制肿瘤形成,也可通过促进肿瘤细胞增殖和肿瘤生长促进肿瘤形成<sup>[20]</sup>。自噬在HPV感染和宿主细胞的恶性转化过程中发挥重要作用,与此同时,HPV感染对宿主细胞的自噬也有重要影响。研究表明,HPV E7在宫颈癌细胞中可利用Atg9B和LAMP1调节自噬,最终通过促进自噬体的形成和之后的降解来促进自噬<sup>[21]</sup>。本研究表明,HPV-18 E7可促进Beclin1表达和LC3-I型向II型的转变,提高HeLa细胞自噬水平。文献报道SIRT1作为去乙酰酶能够使自噬相关蛋白去乙酰化,影响细胞自噬小泡的形成<sup>[22]</sup>。本研究结果表明,HPV-18 E7可通过SIRT1促进Beclin1表达和LC3-I型向II型的转变,激活HeLa细胞自噬。除此之外,最近有研究发现自噬也可以反过来调节SIRT1的水平和功能<sup>[22]</sup>,这对于HPV-18 E7与HeLa细胞自噬的关系需要更为广泛的实验进行探究。

在本研究中,我们通过体外细胞实验发现HPV-18 E7可以促进HeLa细胞中SIRT1的表达,并进一步通过SIRT1促进HeLa细胞的增殖和自噬,抑制细胞凋亡。这不仅有利于我们深入了解HPV-18 E7对宫颈癌细胞SIRT1的特异性作用,同时还可作为宫颈癌的预防和治疗提供潜在靶标。

## 参考文献 (References)

- [1] FERRALL L, LIN K Y, RODEN R B S, et al. Cervical cancer immunotherapy: facts and hopes [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(18): 4953-73.
- [2] BHATTACHARJEE R, DAS S S, BISWAL S S, et al. Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: molecular pathways and targeted therapeutic strategies [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2022, 174: 103675.
- [3] YANG Y, LIU Y, WANG Y, et al. Regulation of SIRT1 and its roles in inflammation [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 831168.
- [4] DAI H, SINCLAIR D A, ELLIS J L, et al. Sirtuin activators and inhibitors: promises, achievements, and challenges [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 188: 140-54.
- [5] ZHAO B, LI X, ZHOU L, et al. SIRT1: a potential tumour biomarker and therapeutic target [J]. *J Drug Target*, 2019, 27(10): 1046-52.
- [6] ZHOU P, LI X P, JIANG R, et al. Evodiamine inhibits migration and invasion by Sirt1-mediated post-translational modulations in colorectal cancer [J]. *Anticancer Drugs*, 2019, 30(6): 611-7.
- [7] LUO G, JIAN Z, ZHU Y, et al. Sirt1 promotes autophagy and inhibits apoptosis to protect cardiomyocytes from hypoxic stress [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(5): 2033-43.
- [8] SZYMONOWICZ K A, CHEN J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers [J]. *Cancer Biol Med*, 2020, 17(4): 864-78.
- [9] DE MARTEL C, PLUMMER M, VIGNAT J, et al. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type [J]. *Int J Cancer*, 2017, 141(4): 664-70.
- [10] PAL A, KUNDU R. Human papillomavirus E6 and E7: the cervical cancer hallmarks and targets for therapy [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 3116.
- [11] HOPPE-SEYLER K, BOSSLER F, BRAUN J A, et al. The HPV E6/E7 oncogenes: key factors for viral carcinogenesis and therapeutic targets [J]. *Trends Microbiol*, 2018, 26(2): 158-68.
- [12] YEO-TEH N S L, ITO Y, JHA S. High-risk human papillomaviral oncogenes E6 and E7 target key cellular pathways to achieve oncogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6): 1706.
- [13] JAMES C D, FONTAN C T, OTOA R, et al. Human papillomavirus 16 E6 and E7 synergistically repress innate immune gene transcription [J]. *mSphere*, 2020, 5(1): e00828-19.
- [14] ARANDA-RIVERA A K, CRUZ-GREGORIO A, BRIONES-HERRERA A, et al. Regulation of autophagy by high- and low-risk human papillomaviruses [J]. *Rev Med Virol*, 2021, 31(2): e2169.
- [15] LIU X, MA H, FEI L, et al. HPV-mediated down-regulation of NOD1 inhibits apoptosis in cervical cancer [J]. *Infect Agent Cancer*, 2020, 15: 6.
- [16] CHANG J T, KUO T F, CHEN Y J, et al. Highly potent and specific siRNAs against E6 or E7 genes of HPV16- or HPV18-infected cervical cancers [J]. *Cancer Gene Ther*, 2010, 17(12): 827-36.
- [17] ALLISON S J, JIANG M, MILNER J. Oncogenic viral protein HPV E7 up-regulates the SIRT1 longevity protein in human cervical cancer cells [J]. *Aging*, 2009, 1(3): 316-27.
- [18] GARCIA-PETERSON L M, LI X. Trending topics of SIRT1 in tumorigenicity [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2021, 1865(9): 129952.

- [19] SEVERINO A, ABBRUZZESE C, MANENTE L, et al. Human papillomavirus-16 E7 interacts with Siva-1 and modulates apoptosis in HaCaT human immortalized keratinocytes [J]. *J Cell Physiol*, 2007, 212(1): 118-25.
- [20] RUSSELL R C, GUAN K L. The multifaceted role of autophagy in cancer [J]. *EMBO J*, 2022, 41(13): e110031.
- [21] TINGTING C, SHIZHOU Y, SONGFA Z, et al. Human papillomavirus 16E6/E7 activates autophagy via Atg9B and LAMP1 in cervical cancer cells [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(9): 4404-16.
- [22] KIM J Y, MONDACA-RUFF D, SINGH S, et al. SIRT1 and autophagy: implications in endocrine disorders [J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 930919.