

LncRNA SNHG25调控miR-195-5p/*HMGA1*轴 对宫颈癌细胞增殖、凋亡和免疫逃逸的影响

曾欢¹ 谢程^{1*} 李红梅²¹仙桃市第一人民医院妇产科, 仙桃 433000; ²武汉市第三医院妇科, 武汉 430000

摘要 该文旨在探讨长链非编码RNA SNHG25(LncRNA SNHG25)调控微小RNA-195-5p(miR-195-5p)/高迁移率组A1(*HMGA1*)轴对宫颈癌(CC)细胞增殖、凋亡和免疫逃逸的影响。分别检测宫颈癌组织、癌旁组织以及人宫颈上皮细胞H8、宫颈癌细胞HeLa中LncRNA SNHG25和miR-195-5p的表达水平。将HeLa细胞分为sh-NC组、sh-SNHG25组、sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor组、sh-SNHG25+inhibitor NC组、miR-NC组、miR-195-5p mimics组、miR-195-5p mimics+pcDNA组、miR-195-5p mimics+*HMGA1*组。qRT-PCR法检测各组HeLa细胞LncRNA SNHG25、miR-195-5p和*HMGA1* mRNA的表达水平, CCK-8试剂盒法检测细胞活性, 克隆形成实验检测细胞增殖能力, 流式细胞术法检测细胞凋亡情况, 划痕实验检测细胞迁移能力, Transwell小室法检测细胞侵袭能力, Western blot法检测*HMGA1*、N-cadherin、E-cadherin、cleaved-caspase 3蛋白表达量。利用ELISA法检测CD8⁺ T细胞与HeLa细胞共培养的细胞上清中IFN- γ 、IL-4和IL-10水平, 双荧光素酶报告基因实验分别验证miR-195-5p与LncRNA SNHG25、miR-195-5p与*HMGA1*的靶向关系。宫颈癌组织、HeLa细胞中LncRNA SNHG25表达上调、miR-195-5p表达下调。沉默LncRNA SNHG25的表达或过表达miR-195-5p能够显著降低HeLa细胞克隆数、侵袭数和划痕愈合率, *HMGA1*和N-cadherin蛋白表达量下降, 细胞凋亡率、E-cadherin和cleaved-caspase 3蛋白表达量升高($P<0.05$)。抑制miR-195-5p表达或过表达*HMGA1*可逆转沉默LncRNA SNHG25或过表达miR-195-5p对HeLa细胞增殖、迁移、侵袭及上皮-间质转化的抑制作用($P<0.05$)。双荧光素酶报告基因实验显示, miR-195-5p与LncRNA SNHG25、*HMGA1*分别存在靶向关系。沉默LncRNA SNHG25可通过靶向miR-195-5p/*HMGA1*轴抑制HeLa细胞免疫逃逸。在宫颈癌组织与细胞中LncRNA SNHG25过表达, 沉默LncRNA SNHG25的表达可通过上调miR-195-5p的表达、下调*HMGA1*的表达, 抑制HeLa细胞增殖、迁移、侵袭和免疫逃逸, 促进HeLa细胞凋亡。

关键词 长链非编码RNA SNHG25; 宫颈癌细胞; 增殖; 凋亡; 免疫逃逸; 微小RNA-195-5p/高迁移率组A1轴

Impacts of LncRNA SNHG25 on the Proliferation, Apoptosis, and Immune Escape of Cervical Cancer Cells by Adjusting miR-195-5p/*HMGA1* Axis

ZENG Huan¹, XIE Cheng^{1*}, LI Hongmei²¹Department of Obstetrics and Gynecology, Xiantao First People's Hospital, Xiantao 433000, China;²Department of Gynecology, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430000, China)

收稿日期: 2025-06-20

接受日期: 2025-07-29

湖北省卫生健康科研项目(批准号: WJ2021M260)资助的课题

*通信作者。Tel: 0728-3220541, E-mail: 34803025@qq.com

Received: June 20, 2025

Accepted: July 29, 2025

This work was supported by the Hubei Provincial Health and Wellness Research Project (Grant No. WJ2021M260)

*Corresponding author. Tel: +86-728-3220541, E-mail: 34803025@qq.com

Abstract This study aims to explore the effects of LncRNA SNHG25 (long non-coding RNA SNHG25) regulating the miR-195-5p/HMGA1 axis on the proliferation, apoptosis and immune escape of cervical cancer cells. The expression levels of LncRNA SNHG25 and miR-195-5p in cervical cancer tissues, adjacent tissues, human cervical epithelial cells H8 and cervical cancer cells HeLa were detected respectively. HeLa cells were divided into the sh-NC group, the sh-SNHG25 group, the sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor group, the sh-SNHG25+inhibitor NC group, the miR-NC group, the miR-195-5p mimics group, the miR-195-5p mimics+pcDNA group, and the miR-195-5p mimics+HMGA1 group. The expression levels of LncRNA SNHG25, miR-195-5p and HMGA1 mRNA were detected by qRT-PCR method. Cell viability was detected by the CCK-8 assay kit. The colony formation assay was used to detect the proliferation ability. Cell apoptosis was detected by flow cytometry. The wound healing assay was used to detect the migration ability of cells. Cell invasion ability was detected by the Transwell method. The protein expression levels of HMGA1, N-cadherin, E-cadherin and cleaved-caspase 3 were detected by Western blot. The levels of IFN- γ , IL-4 and IL-10 in the supernatant of CD8⁺ T cells co-cultured with HeLa cells were detected by ELISA. Dual luciferase reporter assay was applied to verify the targeting relationship between LncRNA SNHG25 and miR-195-5p, and miR-195-5p and HMGA1. The expression of LncRNA SNHG25 was upregulated and the expression of miR-195-5p was downregulated in cervical cancer tissues and HeLa cells. Silencing the expression of LncRNA SNHG25 or overexpressing miR-195-5p could significantly reduce the number of HeLa cell clones, the number of invasive cells and the scratch healing rate, as well as the protein expression levels of HMGA1 and N-cadherin, while the apoptosis rate and the protein expression levels of E-cadherin and cleaved-caspase 3 were increased ($P<0.05$). Inhibition of miR-195-5p or overexpression of HMGA1 could reverse the inhibitory effects of silencing LncRNA SNHG25 or overexpression of miR-195-5p on HeLa cell proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition ($P<0.05$). Dual luciferase reporter gene experiments confirmed that miR-195-5p had targeted relationships with LncRNA SNHG25 and HMGA1, respectively. Silencing LncRNA SNHG25 could inhibit immune escape in HeLa cells by targeting miR-195-5p/HMGA1 axis. The expression of LncRNA SNHG25 is upregulated in cervical cancer tissues and cells. Silencing LncRNA SNHG25 can inhibit HeLa cell proliferation, migration, invasion, and immune escape, and promote HeLa cell apoptosis by upregulating miR-195-5p and down-regulating HMGA1.

Keywords long non-coding RNA SNHG25; cervical cancer cells; proliferation; apoptosis; immune escape; microRNA-195-5p/high mobility group A1 axis

宫颈癌(cervical cancer, CC)是常见的妇科恶性疾病,其发病率和死亡率逐年增加且患病群体逐渐趋于年轻化^[1]。CC患者在感染早期无明显症状,容易被忽视和误诊,而晚期患者的生存率大幅下降、疾病预后较差,肿瘤的侵袭和转移仍然是CC治疗的重要障碍。目前,CC的诊断和治疗仍然具有挑战性,当务之急是寻找到理想的肿瘤标志物和治疗靶点,以提高CC的诊断和治疗水平。

大量证据表明长链非编码RNA(long non-coding RNA, LncRNA)在多种类型癌症中具有抑癌或致癌功能。在CC方面,有研究强调了LncRNA对CC细胞的侵袭、转移有重要的调控作用^[2]。长链非编码RNA SNHG25(long non-coding RNA SNHG25, LncRNA SNHG25)是LncRNAs的一种,在介导多种癌症

进展中起着重要作用。研究显示,LncRNA SNHG25在上皮性卵巢癌组织和细胞中显著上调,并促进卵巢癌细胞系的迁移和侵袭^[3]。LncRNA SNHG25水平高的子宫内膜癌患者总生存期短于LncRNA SNHG25水平低的患者,低表达LncRNA SNHG25可通过抑制细胞增殖、迁移和侵袭并促进细胞凋亡,降低子宫内膜癌患者的肿瘤活性^[4]。由此可见,LncRNA SNHG25可作为女性生殖系统癌症的生物标志物且可能是有前途的治疗靶点。然而,LncRNA SNHG25在CC细胞中的表达情况及其在CC中的确切作用尚不清楚。

研究表明,LncRNAs作为竞争性内源性

RNA(competing endogenous RNAs, ceRNAs), 通过与靶mRNAs竞争结合微小RNA(microRNAs, miRNAs), 减弱miRNAs对靶mRNAs的抑制作用^[5]。ENCORI数据库分析显示, LncRNA SNHG25可能具有微小RNA-195-5p(miR-195-5p)的结合位点。现有证据表明, miR-195-5p可能作为肿瘤抑制因子^[6]。miR-195-5p在CC组织和细胞系中表达量显著降低, 上调miR-195-5p的表达可抑制CC细胞增殖、迁移、侵袭和上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)。此外, 研究显示miR-195-5p可通过靶向调控下游众多靶基因(如*ATG9A*)表达抑制CC细胞的恶性生物学进展^[7]。ENCORI数据库分析显示, 高迁移率组A1(high mobility group A1, *HMGAI*)在其mRNA的3'非翻译区含有miR-195-5p结合序列, 提示*HMGAI*是miR-195-5p的下游靶基因。*HMGAI*在多种癌症中具有内在的致癌功能, 能够增强癌细胞的致瘤特性和体内转移能力^[8]。既往研究显示, *HMGAI*在SiHa和HeLa细胞中高表达, 降低*HMGAI*的表达水平可抑制CC细胞的恶性生物学行为^[9]。综合以上研究进展及结果, 推测LncRNA SNHG25靶向miR-195-5p/*HMGAI*轴可能介导CC的发展。基于此, 本研究旨在验证LncRNA SNHG25通过竞争性海绵化miR-195-5p来提高*HMGAI*的表达水平, 从而影响CC细胞行为的假设, 为CC的靶向机制治疗提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 样本收集

本研究的样本来源于2021年4月至2023年6月期间在仙桃市第一人民医院接受手术治疗的67例宫颈癌患者, 分别获取每例患者的癌组织与癌旁组织用于后续研究。纳入标准: (1) 确诊为宫颈癌患者且在仙桃市第一人民医院接受手术治疗; (2) 患者及家属知情并签订知情同意书。排除标准: (1) 为其他肿瘤宫颈转移; (2) 合并严重心脑血管疾病、其他宫颈良恶性疾病。本研究经仙桃市第一人民医院伦理委员会审核并批准(批准号: 2021-03-002)。

1.2 材料和试剂

人宫颈上皮细胞H8(货号: H364)、人宫颈癌细胞HeLa(货号: H066)购自上海信裕生物科技有限公司; 人外周血CD8⁺ T细胞(货号: YX9436)购自上海联祖生物科技有限公司; CCK-8试剂盒(货号: C2214)购自上海碧云天生物技术有限公司; DMEM

培养基(货号: 9483)购自爱必信(上海)生物科技有限公司; *HMGAI*(货号: ab202070)、N-cadherin(货号: ab207608)、E-cadherin(货号: ab231303)、cleaved-caspase 3(货号: ab208003)、 β -actin(货号: ab6276)抗体购自英国Abcam公司。

1.3 癌组织及细胞LncRNA SNHG25和miR-195-5p水平检测

将HeLa和H8细胞置于DMEM培养基(含10%胎牛血清)中, 于37 °C、5% CO₂的细胞培养箱中进行培养, 定期对培养液进行更换, 取传代3次的细胞检测LncRNA SNHG25和miR-195-5p相对表达水平。

取冻存的癌组织及癌旁组织, 提取RNA并根据试剂盒说明书进行实时荧光定量PCR反应, PCR反应条件: 95 °C预变性30 s; 95 °C变性5 s, 60 °C退火延伸30 s, 40个循环。相关基因的表达水平采用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 方法进行计算。

1.4 分组处理

取对数生长期的HeLa细胞将其分为敲低SNHG25阴性对照组(sh-NC组)、敲低SNHG25组(sh-SNHG25组)、敲低SNHG25+miR-195-5p抑制剂组(sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor组)、敲低SNHG25+抑制剂阴性对照组(sh-SNHG25+inhibitor NC组)、过表达miR-195-5p阴性对照组(miR-NC组)、过表达miR-195-5p组(miR-195-5p mimics组)、过表达miR-195-5p+空载体对照组(miR-195-5p mimics+pcDNA组)、过表达miR-195-5p+过表达*HMGAI*组(miR-195-5p mimics+*HMGAI*组)。使用脂质体2000转染试剂将sh-NC、sh-SNHG25、miR-195-5p inhibitor、inhibitor NC、miR-NC、miR-195-5p mimics、pcDNA、*HMGAI*分别转染至HeLa细胞, 于细胞培养箱(37 °C、5% CO₂)中培养后检测相关指标。

1.5 qRT-PCR法检测细胞LncRNA SNHG25、miR-195-5p、*HMGAI* mRNA表达水平

收集各组细胞, TRIzol法提取RNA并将其反转录为cDNA, 随后进行PCR扩增。LncRNA SNHG25和*HMGAI*以*GAPDH*为内参, miR-195-5p以*U6*为内参。采用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 方法计算LncRNA SNHG25、miR-195-5p、*HMGAI* mRNA的相对表达水平。引物序列见表1。

1.6 CCK-8检测细胞活力

取各组HeLa细胞以5×10³/孔接种至96孔板, 在37 °C、5% CO₂的细胞培养箱中培养48 h后, 分

表1 qRT-PCR引物序列
Table 1 Sequences of qRT-PCR primers

基因 Gene	引物序列 Primer sequences
miR-195-5p	F: 5'-GGG GTA GCA GCA CAG AAA T-3' R: 5'-TCC AGT GCG TGT CGT GGA-3'
U6	F: 5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3' R: 5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'
LncRNA SNHG25	F: 5'-GCA GGT TCC GGG AGG TCA-3' R: 5'-CAA ACC ACT TTA TTG ACG GGAA-3'
HMGA1	F: 5'-CTA GGG GTC TTC TGG GCT CT-3' R: 5'-CCA GGG GTA GTC CCA TCT CA-3'
GAPDH	F: 5'-AGT ACC CCA TCG AGC ACG-3' R: 5'-AGC CTG GAT AGC AAC GTA CA-3'

别向每孔加入10 μ L CCK-8试剂。于细胞培养箱中孵育3 h后在450 nm波长下测量吸光度(即 D_{450})值。

1.7 细胞克隆形成实验

收集各组HeLa细胞,以 1×10^3 /孔接种至6孔板中。在培养箱(37 $^{\circ}$ C、5% CO_2)中培养14天后经多聚甲醛固定(室温固定15 min)和结晶紫染色(室温静置15 min),于光学显微镜下观察并统计各组克隆细胞数。

1.8 流式细胞术检测细胞凋亡情况

取各组HeLa细胞经胰蛋白酶消化(37 $^{\circ}$ C消化5 min)后,以 1×10^4 /孔接种至96孔板中,37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养24 h,经离心(4 $^{\circ}$ C、1 000 r/min,5 min)、PBS冲洗3次后,重悬于500 μ L结合缓冲液中,随后加入5 μ L Annexin V-FITC和PI染液,室温避光孵育5 min后通过流式细胞仪检测细胞凋亡率(Q2象限凋亡细胞占比+Q4象限凋亡细胞占比)。

1.9 Transwell小室评估细胞的侵袭能力

将预冷的Matrigel基质胶涂在Transwell系统的上室中保存过夜。将在100 μ L无血清培养基中培养的HeLa细胞以 1×10^4 /mL接种至上室,下室中加入含20% FBS的培养基。于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱培养48 h后,细胞在室温下经4%多聚甲醛固定15 min、0.1%结晶紫染色10 min,在显微镜下观察细胞数量。

1.10 划痕实验检测细胞迁移情况

取各组HeLa细胞以 2×10^5 /孔接种在24孔板中,于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养一段时间待细胞铺满底部时,用枪头尖端轻轻划动孔板。分别在0 h和24 h时观察细胞迁移情况并计算划痕愈合率。

1.11 Western blot检测细胞HMGA1、N-cadherin、E-cadherin和cleaved-caspase 3蛋白表达量

收集各处理组细胞并用RIPA裂解液裂解细胞,提取并定量总蛋白。蛋白变性处理后用SDS-PAGE法分离总蛋白,然后将其转移到PVDF膜上。5%脱脂奶粉4 $^{\circ}$ C封闭摇床过夜后洗膜,将膜分别与HMGA1、N-cadherin、E-cadherin和cleaved-caspase 3、 β -actin一抗(稀释比例均为1:1 000)在4 $^{\circ}$ C下孵育过夜,次日洗膜后加入二抗IgG(1:1 000),室温孵育1 h。可视化处理后检测蛋白条带。

1.12 ELISA法检测CD8⁺ T细胞上清中IFN- γ 、IL-4和IL-10含量

收集sh-NC组、sh-SNHG25组、sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor组、sh-SNHG25+inhibitor NC组细胞,并将其与CD8⁺ T细胞共培养,按照ELISA试剂盒的说明书进行处理,酶标仪检测IFN- γ 、IL-4和IL-10含量。

1.13 双荧光素酶报告基因检测

利用在线网站(<https://rnasysu.com>)对miR-195-5p与LncRNA SNHG25、HMGA1的结合位点进行预测,并构建SNHG25-WT、SNHG25-MUT、HMGA1-WT、HMGA1-MUT双荧光素酶报告基因表达载体。将上述构建的野生型或突变型载体分别与miR-NC和miR-195-5p mimics共转染于HeLa细胞,于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养48 h后,对其荧光素酶活性进行检测。

1.14 统计学分析

所有分析均使用SPSS 24.0软件进行,分析结果以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组间差异分析采用独立样本 t 检验进行,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK- q 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统

计学意义。

2 结果

2.1 癌组织与细胞中 LncRNA SNHG25 和 miR-195-5p 表达水平比较

如图1所示,与癌旁组织比较,癌组织中 LncRNA SNHG25 表达上调,miR-195-5p 表达下调;与 H8 细胞比较,HeLa 细胞中 LncRNA SNHG25 表达上调,miR-195-5p 表达下调($P<0.05$)。

2.2 各组 HeLa 细胞 LncRNA SNHG25、miR-195-5p、HMGA1 mRNA 表达水平比较

如图2所示,与 sh-NC 组相比,sh-SNHG25 组 HeLa 细胞 LncRNA SNHG25 和 HMGA1 mRNA 表达水平显著下降,miR-195-5p 表达水平显著升高($P<0.05$);与 sh-SNHG25+inhibitor NC 组相比,sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor 组 HeLa 细胞 miR-195-5p 表达水平显

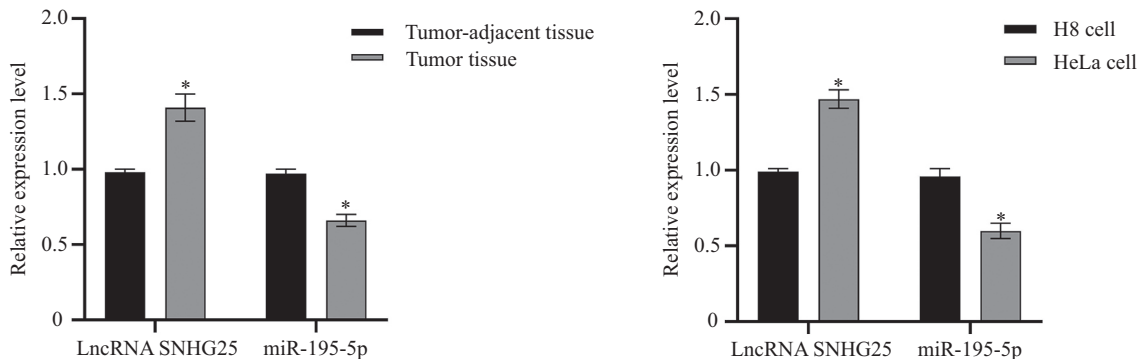
著下降,HMGA1 mRNA 水平升高($P<0.05$)。

2.3 各组 HeLa 细胞恶性生物学行为比较

如图3和图4所示,与 sh-NC 组相比,sh-SNHG25 组 HeLa 细胞克隆数、侵袭数、划痕愈合率明显下降,凋亡率显著升高($P<0.05$);与 sh-SNHG25+inhibitor NC 组相比,sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor 组 HeLa 细胞克隆数、侵袭数、划痕愈合率明显升高,凋亡率显著下降($P<0.05$)。

2.4 各组 HeLa 细胞 HMGA1、N-cadherin、E-cadherin 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达量比较

如图5所示,与 sh-NC 组相比,sh-SNHG25 组 HeLa 细胞 HMGA1 和 N-cadherin 蛋白表达量显著下降,E-cadherin 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达量显著升高($P<0.05$);与 sh-SNHG25+inhibitor NC 组相比,sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor 组 HeLa 细胞 HMGA1 和 N-cadherin 蛋白表达量显著升高,E-cadherin 和

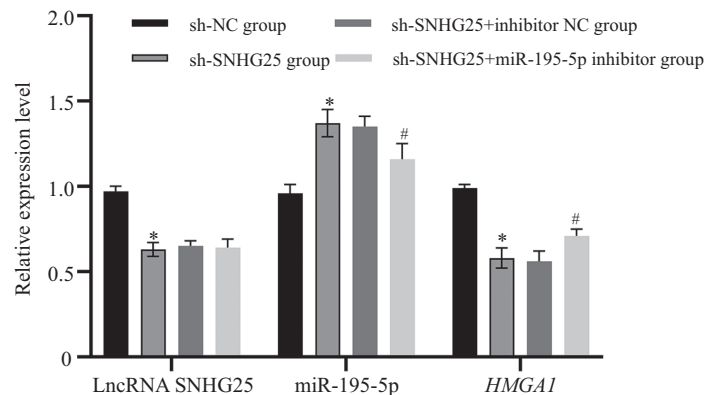


* $P<0.05$, 与 H8 细胞或癌旁组织相比。

* $P<0.05$ vs H8 cells or adjacent tissues.

图1 癌组织、细胞中 LncRNA SNHG25 和 miR-195-5p 表达水平比较

Fig.1 Comparison of LncRNA SNHG25 and miR-195-5p expression levels in cancer tissues and cells

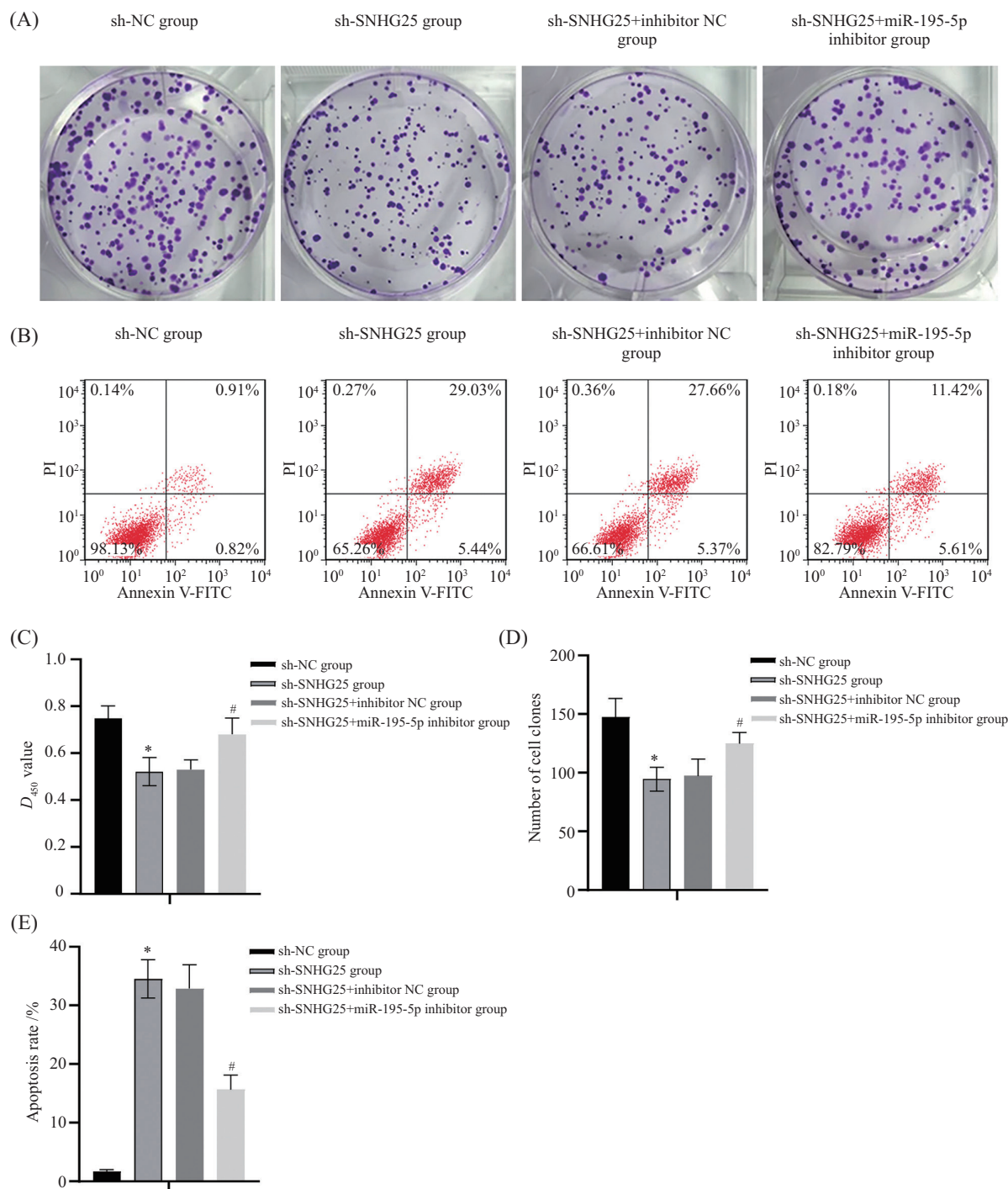


* $P<0.05$, 与 sh-NC 组相比; # $P<0.05$, 与 sh-SNHG25+inhibitor NC 组相比。

* $P<0.05$ vs sh-NC group; # $P<0.05$ vs sh-SNHG25+inhibitor NC group.

图2 各组 LncRNA SNHG25、miR-195-5p、HMGA1 mRNA 表达水平对比

Fig.2 Comparison of mRNA expression levels of LncRNA SNHG25, miR-195-5p, and HMGA1 in different groups



A: 克隆形成实验; B: 流式细胞术检测细胞凋亡情况; C: 细胞活力比较; D: 细胞克隆数比较; E: 细胞凋亡率比较。* $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; # $P < 0.05$, 与sh-SNHG25+inhibitor NC组相比。

A: clone formation experiment; B: apoptosis was detected by flow cytometry; C: comparison of cell viability; D: comparison of cell clone numbers; E: comparison of apoptosis rates. * $P < 0.05$ vs sh-NC group; # $P < 0.05$ vs sh-SNHG25+inhibitor NC group.

图3 各组HeLa细胞克隆数、凋亡率比较

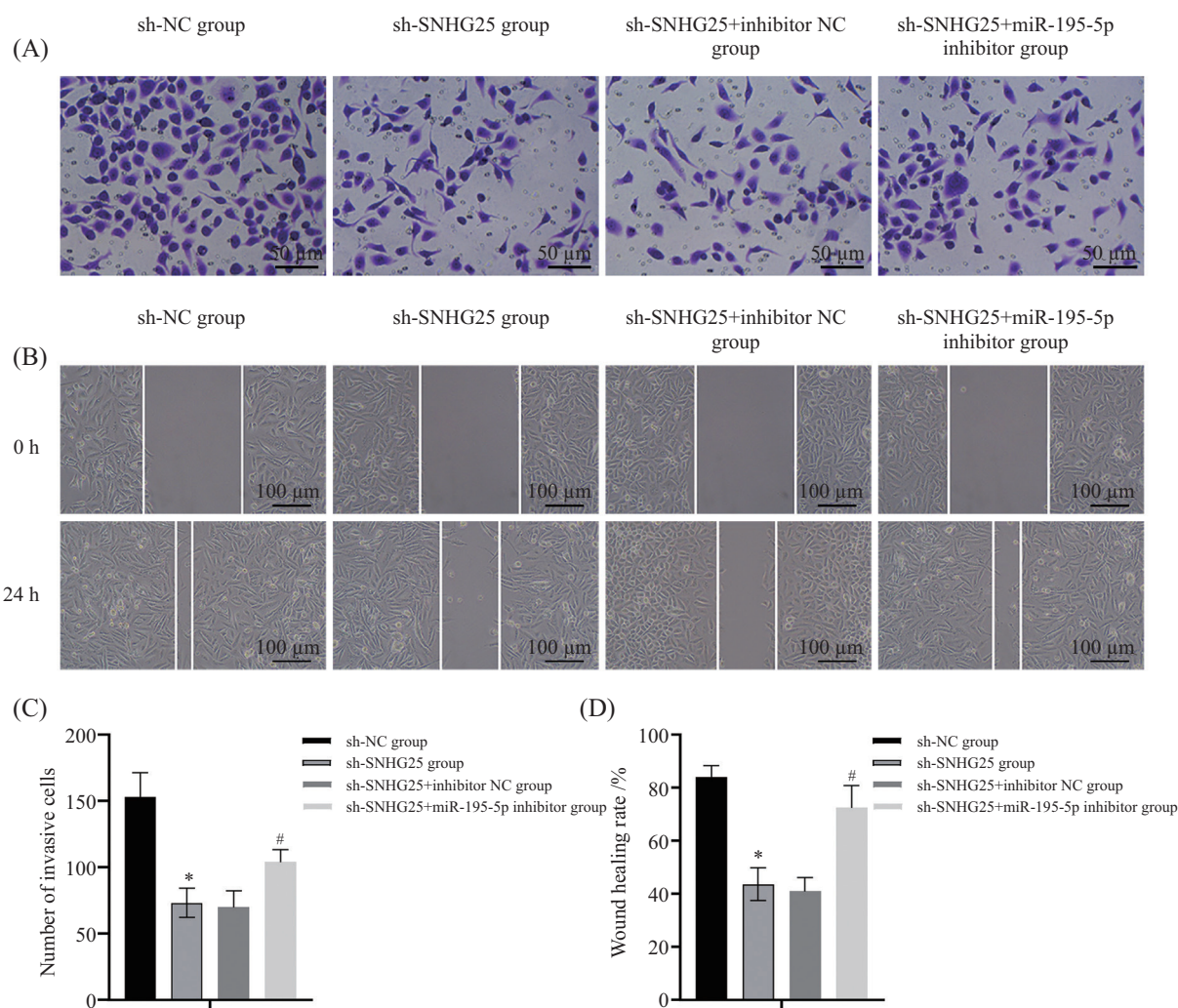
Fig.3 Comparison of the number of HeLa cell clones and the apoptosis rate in each group

cleaved-caspase 3蛋白表达量显著下降($P < 0.05$)。

2.5 各组HeLa细胞miR-195-5p和*HMGA1* mRNA水平比较

如图6所示, 与miR-NC组相比, miR-195-5p

mimics组 HeLa细胞 miR-195-5p表达水平显著升高, *HMGA1* mRNA表达水平显著降低($P < 0.05$)。与miR-195-5p mimics+pcDNA组比较, miR-195-5p mimics+*HMGA1*组 *HMGA1* mRNA表达水平显著升



A: Transwell小室检测细胞侵袭; B: 0 h和24 h划痕距离; C: 各组侵袭细胞数比较; D: 各组划痕愈合率比较。* $P<0.05$, 与sh-NC组相比; # $P<0.05$, 与sh-SNHG25+inhibitor NC组相比。

A: Transwell chamber for detecting cell invasion; B: 0 h and 24 h scratch distances; C: comparison of invasive cell numbers in each group; D: comparison of wound healing rates in each group. * $P<0.05$ vs sh-NC group; # $P<0.05$ vs sh-SNHG25+inhibitor NC group.

图4 各组HeLa细胞迁移、侵袭比较

Fig.4 Comparison of migration and invasion of HeLa cells in each group

高($P<0.05$)。

2.6 各组HeLa细胞恶性生物学行为比较

如图7和图8所示, 与miR-NC组相比, miR-195-5p mimics组HeLa细胞克隆数、侵袭数、划痕愈合率显著下降, 凋亡率显著升高($P<0.05$); 与miR-195-5p mimics+pcDNA组相比, miR-195-5p mimics+HMGA1组HeLa细胞克隆数、侵袭数、划痕愈合率显著升高, 凋亡率显著下降($P<0.05$)。

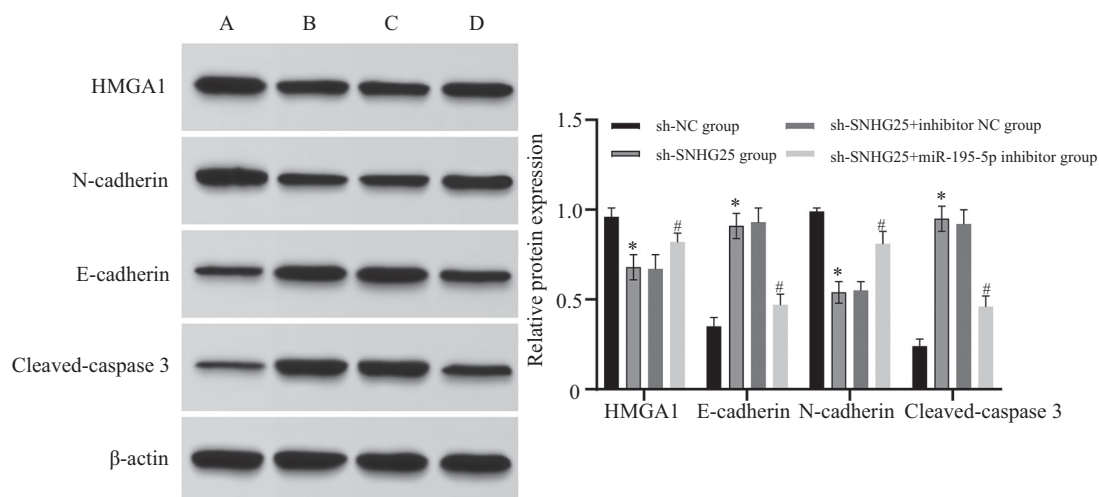
2.7 各组HeLa细胞HMGA1、N-cadherin、E-cadherin和cleaved-caspase 3蛋白表达量比较

如图9所示, 与miR-NC组相比, miR-195-5p mimics组HeLa细胞HMGA1和N-cadherin蛋白表达

量显著下降, E-cadherin和cleaved-caspase 3蛋白表达量显著升高($P<0.05$); 与miR-195-5p mimics+pcDNA组相比, miR-195-5p mimics+HMGA1组HeLa细胞HMGA1和N-cadherin蛋白表达量显著升高, E-cadherin和cleaved-caspase 3蛋白表达量显著下降($P<0.05$)。

2.8 双荧光素酶报告实验验证miR-195-5p与LncRNA SNHG25、miR-195-5p与HMGA1之间的靶向关系

如图10所示, miR-195-5p与LncRNA SNHG25、HMGA1之间分别存在结合位点。与miR-NC组比较, miR-93-5p mimics+SNHG25-WT组和miR-93-

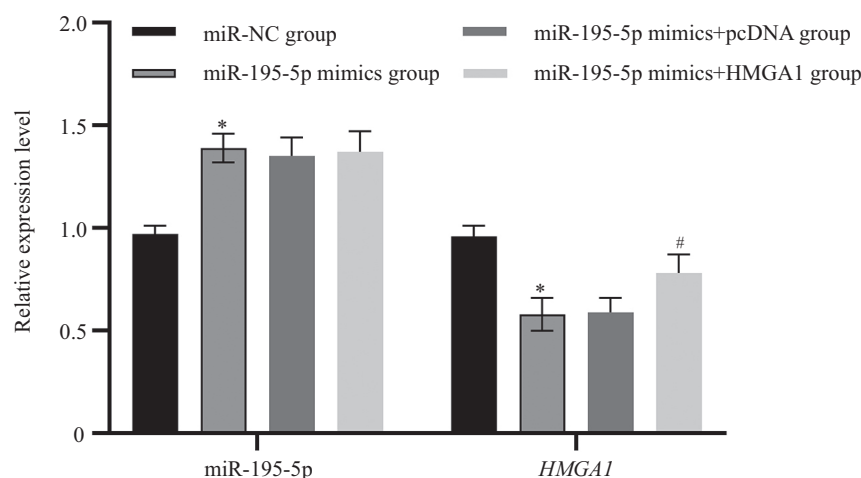


A: sh-NC组; B: sh-SNHG25组; C: sh-SNHG25+inhibitor NC组; D: sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor组。* $P<0.05$, 与sh-NC组相比; # $P<0.05$, 与sh-SNHG25+inhibitor NC组相比。

A: sh-NC group; B: sh-SNHG25 group; C: sh-SNHG25+inhibitor NC group; D: sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor group. * $P<0.05$ vs sh-NC group; # $P<0.05$ vs sh-SNHG25+inhibitor NC group.

图5 各组HeLa细胞HMGA1、N-cadherin、E-cadherin和cleaved-caspase 3蛋白表达水平比较

Fig.5 Comparison of the protein expression levels of HMGA1, N-cadherin, E-cadherin and cleaved-caspase 3 in HeLa cells of each group



* $P<0.05$, 与miR-NC组相比; # $P<0.05$, 与miR-195-5p mimics+pcDNA组相比。

* $P<0.05$ vs miR-NC group; # $P<0.05$ vs miR-195-5p mimics+pcDNA group.

图6 各组HeLa细胞miR-195-5p和HMGA1 mRNA水平比较

Fig.6 Comparison of miR-195-5p and HMGA1 mRNA levels in HeLa cells of each group

5p mimics+HMGA1-WT组荧光素酶活性显著降低($P<0.05$)。

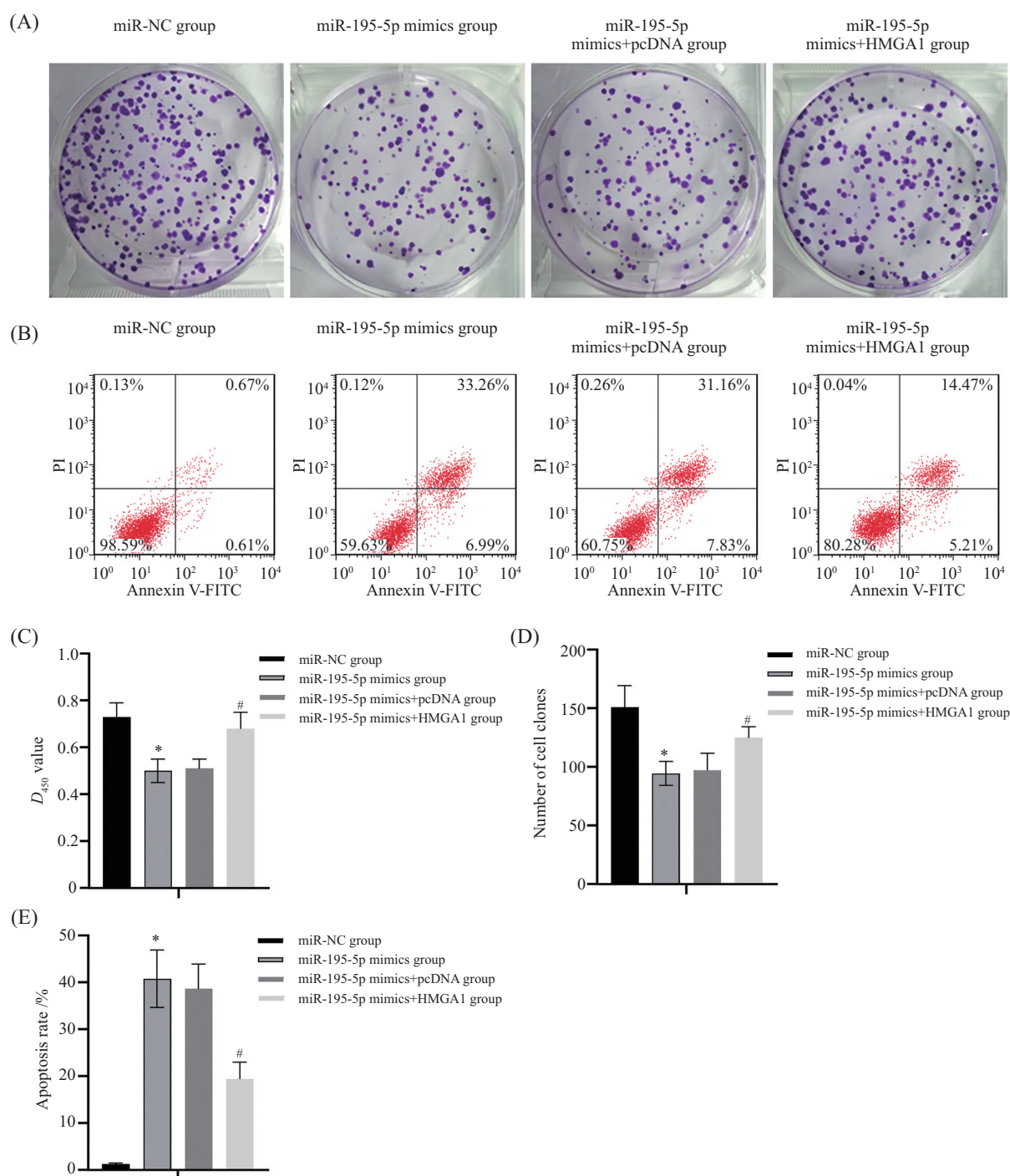
2.9 各组CD8⁺ T细胞上清IFN- γ 、IL-4和IL-10含量比较

如图 11 所示, 与 sh-NC 组相比, sh-SNHG25 组 HeLa 细胞 IFN- γ 、IL-4 水平显著升高, IL-10 水平显著降低 ($P<0.05$); 与 sh-SNHG25+inhibitor NC 相比, sh-SNHG25+miR-195-5p inhibitor 组 HeLa 细胞 IFN- γ 、

IL-4 水平显著下降, IL-10 水平显著升高 ($P<0.05$)。

3 讨论

宫颈癌(CC)是一种常见的妇科恶性肿瘤, 转移和侵袭往往是其治疗失败的主要原因, 目前其预后仍不理想^[10]。因此仍需要了解具体的病理机制以便确定新的治疗靶点来改善该病患者的预后。目前公认的上皮-间质转化(EMT)是癌细胞转移和侵



A: 克隆形成实验; B: 流式细胞术检测细胞凋亡情况; C: 细胞活力比较; D: 细胞克隆数比较; E: 细胞凋亡率比较。* $P < 0.05$, 与miR-NC组相比; # $P < 0.05$, 与miR-195-5p mimics+pcDNA组相比。

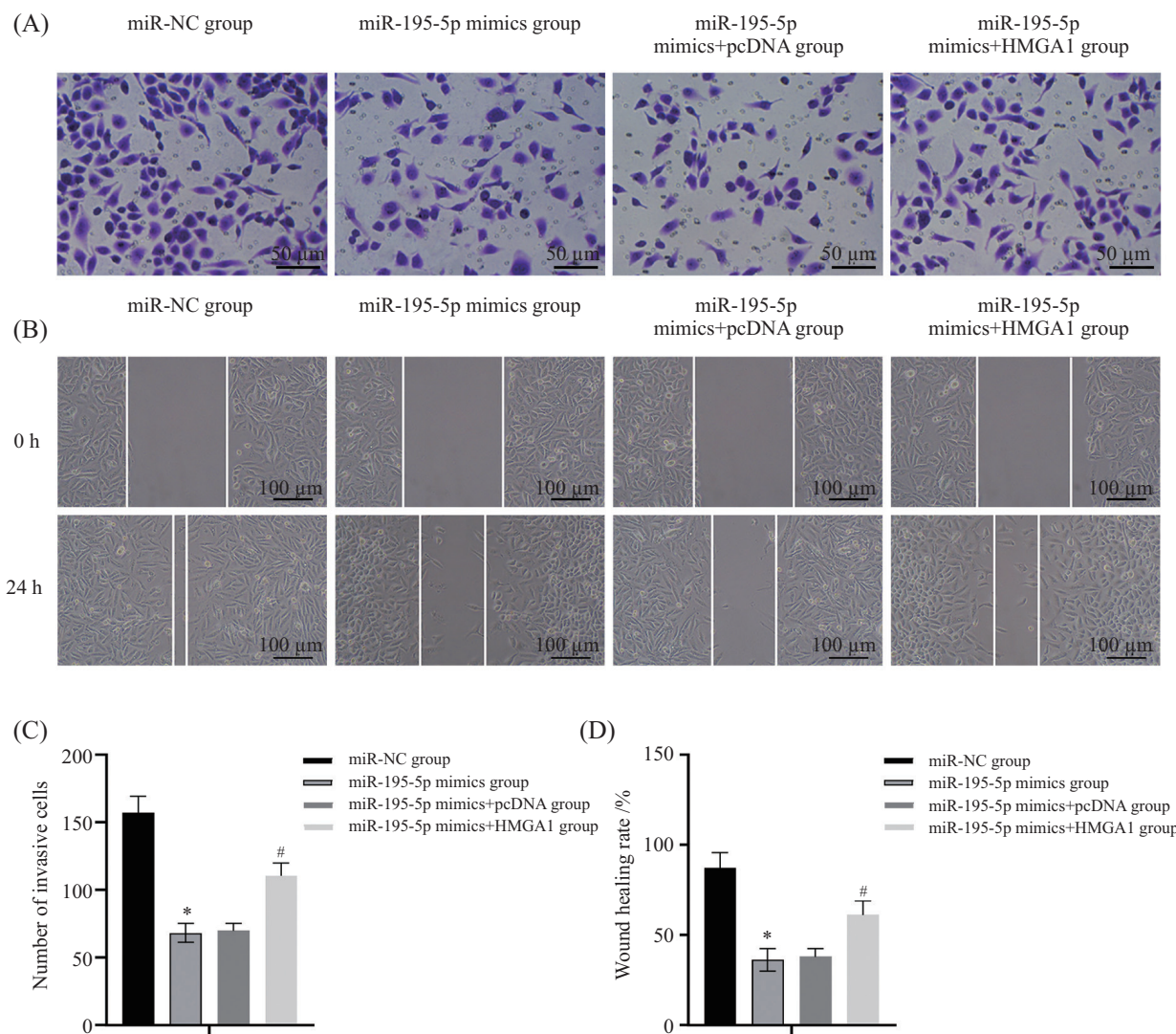
A: clone formation experiment; B: apoptosis was detected by flow cytometry; C: comparison of cell viability; D: comparison of cell clone numbers; E: comparison of apoptosis rates. * $P < 0.05$ vs miR-NC group; # $P < 0.05$ vs miR-195-5p mimics+pcDNA group.

图7 各组HeLa细胞克隆数、凋亡率比较

Fig.7 Comparison of the number of HeLa cell clones and apoptosis rate in each group

袭的重要诱因, 其中E-cadherin和N-cadherin是EMT的标志物^[11], 因此抑制EMT是抗CC的首要策略。研究表明, 异常的LncRNAs在包括CC在内的多种恶性肿瘤的发病机制中发挥重要作用, 这些LncRNAs

表达水平的改变不仅可明显地影响CC细胞的恶性生物学行为, 还与肿瘤大小、血管生和预后不良等密切相关, LncRNAs可作为CC转移和预后的生物标志物^[12]。因此, 对LncRNAs的调控可能成为CC的一



A: Transwell小室检测细胞侵袭情况; B: 0 h和24 h划痕距离; C: 各组侵袭细胞数比较; D: 各组划痕愈合率比较。* $P<0.05$, 与miR-NC组相比; # $P<0.05$, 与miR-195-5p mimics+pcDNA组相比。

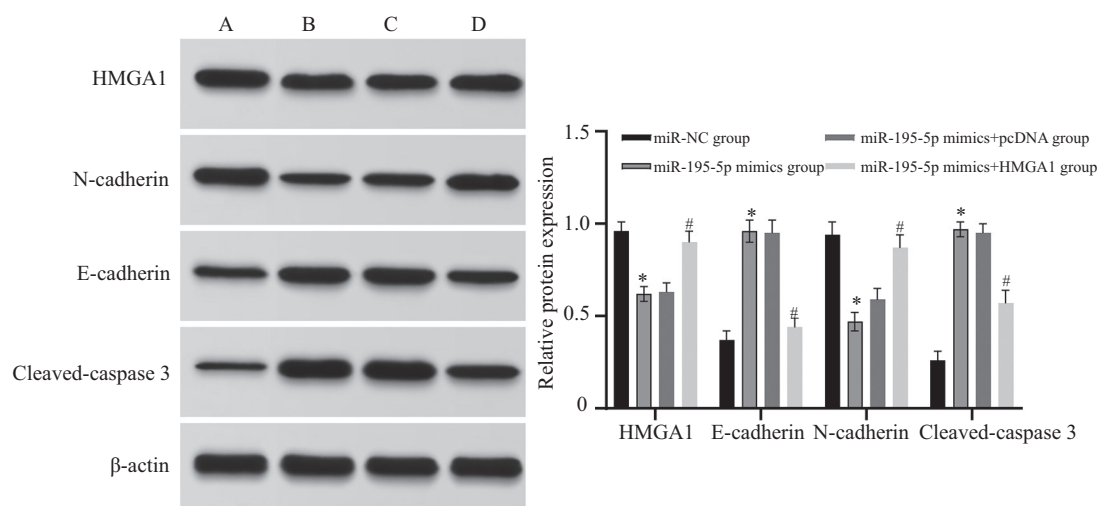
A: Transwell chamber for detecting cell invasion; B: 0 h and 24 h scratch distances; C: comparison of invasive cell numbers in each group; D: comparison of wound healing rates in each group. * $P<0.05$ vs miR-NC group; # $P<0.05$ vs miR-195-5p mimics+pcDNA group.

图8 各组HeLa细胞迁移、侵袭情况比较

Fig.8 Comparison of migration and invasion of HeLa cells in each group

种新的治疗策略。LncRNA SNHG25作为一种长链非编码RNA, 是多种类型癌症的诊断和预后分子标志物。既往研究显示, LncRNA SNHG25不仅在结直肠癌中发挥促癌作用, 还调节卵巢癌和子宫内膜癌的恶性进展^[13]。由此可见, LncRNA SNHG25在调节女性生殖系统癌症中发挥重要作用。本研究主要探究LncRNA SNHG25在CC中的作用。实验结果显示, 在CC组织和HeLa细胞中LncRNA SNHG25过表达, 而沉默LncRNA SNHG25可抑制HeLa细胞的增殖、迁移和侵袭。以上结果表明, LncRNA SNHG25在CC中发挥了致癌的作用。

LncRNAs可以作为ceRNAs或分子海绵发挥作用, 将miRNAs与靶mRNAs分离开来。如LncRNA SNHG25可通过靶向调节miR-497-5p/SOX4轴促进骨肉瘤的进展^[14]。在结直肠癌中, LncRNA SNHG25通过靶向调节miR-330-3p/SMYD3轴促进癌细胞的迁移及侵袭^[15]。本研究经预测发现, LncRNA SNHG25与miR-195-5p存在靶向关系。miR-195-5p在多种癌症中发挥抗肿瘤功效。目前的研究表明, miR-195-5p在CC组织和细胞系中表达水平较低, 并具有抑瘤作用^[16]。miRNAs通过配对碱基直接靶向mRNA 3'-UTR, 导致靶mRNA翻译抑制或目标降解。本

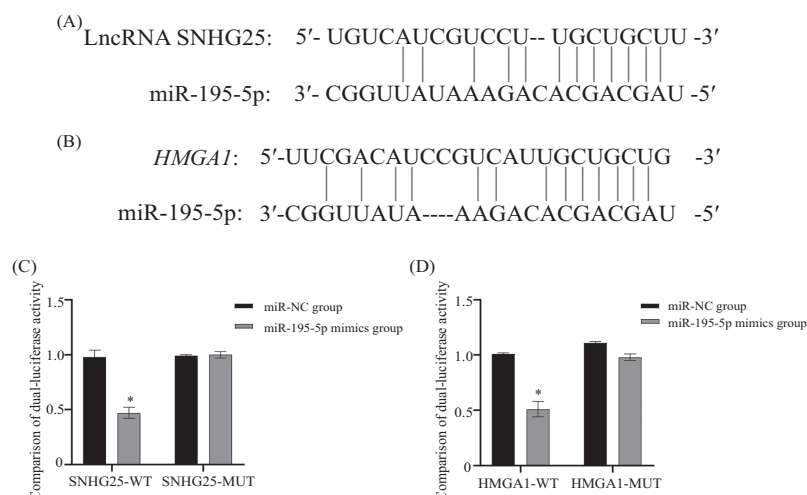


A: miR-NC组; B: miR-195-5p mimics组; C: miR-195-5p mimics+pcDNA组; D: miR-195-5p mimics+HMGA1组。* $P<0.05$, 与miR-NC组相比; # $P<0.05$, 与miR-195-5p mimics+pcDNA组相比。

A: miR-NC group; B: miR-195-5p mimics group; C: miR-195-5p mimics+pcDNA group; D: miR-195-5p mimics+HMGA1 group. * $P<0.05$ vs miR-NC group; # $P<0.05$ vs miR-195-5p mimics+pcDNA group.

图9 各组HeLa细胞HMGA1、N-cadherin、E-cadherin和cleaved-caspase 3蛋白表达水平比较

Fig.9 Comparison of the protein expression levels of HMGA1, N-cadherin, E-cadherin and cleaved-caspase 3 in HeLa cells of each group



A: miR-195-5p与LncRNA SNHG25的互补位点; B: miR-195-5p与HMGA1的互补位点; C、D: 双荧光素酶活性比较; * $P<0.05$, 与miR-NC+SNHG25-WT组相比; * $P<0.05$, 与miR-NC+HMGA1-WT组相比。

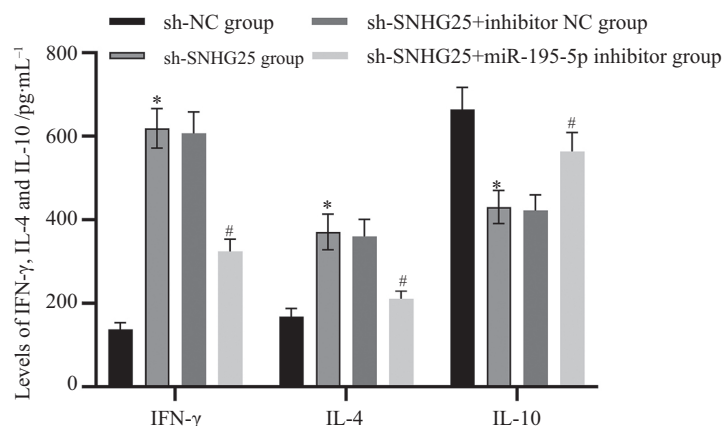
A: complementary sites of miR-195-5p and LncRNA SNHG25; B: complementary sites of miR-195-5p and HMGA1; C,D: comparison of dual luciferase activities; * $P<0.05$ vs the miR-NC+SNHG25-WT group; * $P<0.05$ vs the miR-NC+HMGA1-WT group.

图10 双荧光素酶报告实验验证miR-195-5p与LncRNA SNHG25、miR-195-5p与HMGA1之间的靶向关系

Fig.10 Dual-luciferase reporter assay was used to verify the targeting relationships between miR-195-5p and LncRNA SNHG25, as well as between miR-195-5p and HMGA1

研究经预测发现 miR-195-5p与 HMGA1具有互补结合位点。HMGA1属于非组蛋白染色质结合蛋白超家族,是一种新型的转录调控因子,参与转录调控、DNA修复、细胞周期调控、细胞分化、胚胎发生、细胞恶性转化、病毒整合等多种细胞生物学过程^[17]。MA等^[18]研究显示 HMGA1是CC的肿瘤

生物标志物,miRNAs可通过靶向下调 HMGA1的表达抑制CC肿瘤的发生。在本研究中CC组织和HeLa细胞中 miR-195-5p的表达显著下调,沉默 LncRNA SNHG25的表达可显著上调 miR-195-5p的表达,同时抑制HeLa细胞的增殖、迁移侵袭,促进其凋亡,提示 LncRNA SNHG25负调控 miR-195-5p的表达;而在沉



* $P < 0.05$, 与sh-NC组相比; # $P < 0.05$, 与sh-SNHG25+inhibitor NC组相比。

* $P < 0.05$ vs sh-NC group; # $P < 0.05$ vs sh-SNHG25+inhibitor NC group.

图11 各组CD8⁺ T细胞上清IFN-γ、IL-4和IL-10水平检测

Fig.11 Detection of IFN-γ, IL-4 and IL-10 levels in the supernatant of CD8⁺ T cells in each group

默LncRNA SNHG25表达的同时抑制miR-195-5p的表达后发现, 沉默LncRNA SNHG25对HeLa细胞恶性生物学行为的抑制作用被逆转, 这进一步说明LncRNA SNHG25靶向调控miR-195-5p在HeLa细胞中的分子机制。

为了进一步探究miR-195-5p与下游靶基因HMGAI在CC中的作用关系, 本研究在过表达miR-195-5p后发现, HMGAI的表达水平显著下调, HeLa细胞的增殖、迁移、侵袭得到有效抑制, 说明miR-195-5p负调控HMGAI的表达。为了证明miR-195-5p通过靶向HMGAI影响HeLa细胞的恶性生物学进展, 本研究在过表达miR-195-5p的同时转染HMGAI过表达质粒, 结果显示过表达miR-195-5p对HeLa细胞的增殖、迁移、侵袭的抑制作用被HMGAI所逆转, 进一步证明了miR-195-5p靶向负调节HMGAI在宫颈癌中的作用机制。此外, 相关实验也验证了miR-195-5p与LncRNA SNHG25、HMGAI之间的靶向关系。以上研究结果表明, 沉默LncRNA SNHG25抑制了HeLa细胞的增殖、迁移和侵袭。在机制上, LncRNA SNHG25作为一种ceRNA, 通过结合miR-195-5p来提高HMGAI的表达水平, 从而促进HeLa细胞的增殖、迁移和侵袭。

免疫逃逸是恶性肿瘤的重要标志, 癌症免疫监测的失败导致癌细胞逃避和转移。本研究通过检测HeLa细胞与CD8⁺ T细胞共培养的上清液发现, 沉默LncRNA SNHG25可显著提高IFN-γ和IL-4水平, 降低IL-10水平。其中IFN-γ和IL-4是免疫促进因子而IL-10是免疫抑制因子, 它们在调控癌细胞免疫逃逸

中发挥重要作用^[19]。以上结果表明, 沉默LncRNA SNHG25能够抑制HeLa细胞免疫逃逸。

综上所述, HeLa细胞中LncRNA SNHG25过表达, 沉默LncRNA SNHG25可能通过调节miR-195-5p/HMGAI轴抑制HeLa细胞的恶性生物学行为及免疫逃逸, 促进细胞凋亡。本研究仅利用体外细胞实验说明了LncRNA SNHG25靶向miR-195-5p/HMGAI轴抗CC的分子作用机制, 后续将进行裸鼠实验进一步加强对LncRNA SNHG25靶向miR-195-5p/HMGAI轴在CC中作用的认识。

参考文献 (References)

- [1] LIZANO M, CARRILLO-GARCIA A, DE LA CRUZ-HERNÁNDEZ E, et al. Promising predictive molecular biomarkers for cervical cancer (Review) [J]. Int J Mol Med, 2024, 53(6): 50-67.
- [2] ASWATHY R, SUMATHI S. DEFINING new biomarkers for overcoming therapeutical resistance in cervical cancer using lncRNA [J]. Mol Biol Rep, 2023, 50(12): 10445-60.
- [3] LIU Y, XU B, LIU M, et al. Long non-coding RNA SNHG25 promotes epithelial ovarian cancer progression by up-regulating COMP [J]. J Cancer, 2021, 12(6): 1660-8.
- [4] HE Y, XU S, QI Y, et al. Long noncoding RNA SNHG25 promotes the malignancy of endometrial cancer by sponging microRNA-497-5p and increasing FASN expression [J]. J Ovarian Res, 2021, 14(1): 163-75.
- [5] DU Y, GENG G, ZHAO C, et al. LncRNA MEG3 promotes cisplatin sensitivity of cervical cancer cells by regulating the miR-21/PTEN axis [J]. BMC Cancer, 2022, 22(1): 1145-57.
- [6] LIU X, ZHOU Y, NING Y E, et al. MiR-195-5p inhibits malignant progression of cervical cancer by targeting YAP1 [J]. Onco Targets Ther, 2020, 13(1): 931-44.
- [7] LIU X, LIU Z, LIU Y, et al. ATG9A modulated by miR-195-5p can boost the malignant progression of cervical cancer cells [J]. Epigenetics, 2023, 18(1): 1-14.

- [8] SHARMA P, YADAV P, JAIN R P, et al. miR-142-3p simultaneously targets HMGA1, HMGA2, HMGB1, and HMGB3 and inhibits tumorigenic properties and *in-vivo* metastatic potential of human cervical cancer cells [J]. Life Sci, 2022, 291(1): 1-12.
- [9] XIE J, CHEN Q, ZHOU P, et al. Circular RNA hsa_circ_0000511 improves epithelial mesenchymal transition of cervical cancer by regulating hsa-mir-296-5p/HMGA1 [J]. J Immunol Res, 2021, 2021(1): 1-17.
- [10] MA T, GUO J, HAN J, et al. Circ_0001589/miR-1248/HMGB1 axis enhances EMT-mediated metastasis and cisplatin resistance in cervical cancer [J]. Mol Carcinog, 2023, 62(11): 1645-58.
- [11] YANG X, SUN F, GAO Y, et al. Histone acetyltransferase CSR-P2BP promotes the epithelial-mesenchymal transition and metastasis of cervical cancer cells by activating N-cadherin [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 268-87.
- [12] YANG Q, AL-HENDY A. The regulatory functions and the mechanisms of long non-coding RNAs in cervical cancer [J]. Cells, 2022, 11(7): 1149-68.
- [13] GONG T, LI Y, FENG L, et al. SNHG25 promotes colorectal cancer metastasis by regulating MMP2 [J]. Aging, 2023, 15(19): 10105-16.
- [14] WAN N, LIU Q, SHI J, et al. LncRNA SNHG25 predicts poor prognosis and promotes progression in osteosarcoma via the miR-497-5p/SOX4 axis [J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2024, 27(5): 725-44.
- [15] 董春燕, 王翠英, 李日彩, 等. LncRNA SNHG25在直肠癌细胞中的表达及其调节 miR-330-3p/SMYD3轴对直肠癌细胞迁移及侵袭的影响[J]. 现代消化及介入诊疗(DONG C Y, WANG C Y, LI R C, et al. Expression of lncRNA SNHG25 in rectal cancer cells and its influences on the migration and invasion of rectal cancer cells by regulating the miR-330-3p/SMYD3 axis [J]. Modern Digestion and Intervention), 2022, 27(2): 179-84.
- [16] NI S, WEI Z, LI D. Effect of lncRNA LINC00324 on cervical cancer progression through down-regulation of miR-195-5p [J]. J Obstet Gynaecol, 2023, 43(2): 1-8.
- [17] CHENG W, YANG F, MA Y. lncRNA TPT1-AS1 promotes cell migration and invasion in esophageal squamous-cell carcinomas by regulating the miR-26a/HMGA1 axis [J]. Open Med, 2023, 18(1): 1-12.
- [18] MA W G, SHI S M, CHEN L, et al. SP1-induced lncRNA FOXD3-AS1 contributes to tumorigenesis of cervical cancer by modulating the miR-296-5p/HMGA1 pathway [J]. J Cell Biochem, 2021, 122(2): 235-48.
- [19] ZHENG G, YE H, BAI J, et al. Downregulation of lncRNA MIR17HG reduced tumorigenicity and Treg-mediated immune escape of non-small-cell lung cancer cells through targeting the miR-17-5p/RUNX3 axis [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2024, 38(5): 23715-28.