

• 论 著 •

circNRIP1 对宫颈癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响研究*

葛 琴, 蔡 平, 张玲玲, 曹晓莉[△]

江苏省南通市肿瘤医院检验科, 江苏南通 226000

摘 要:目的 探讨环状 RNA 核受体相互作用蛋白 1(circNRIP1)在宫颈癌组织中的表达,并初步考察其对宫颈癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响。方法 采用荧光定量 PCR(qPCR)检测 circNRIP1 在宫颈癌组织和癌旁组织中的表达水平,并通过细胞增殖实验(MTS 法)、细胞划痕实验和 Transwell Matrigel 实验分别考察 circNRIP1 对宫颈癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响。结果 与癌旁组织相比, circNRIP1 在宫颈癌组织中的表达显著升高($P<0.001$); circNRIP1 在 HeLa 细胞系中表达水平最低,在 SiHa 细胞系中表达水平最高,与其他细胞系 circNRIP1 表达水平比较差异均有统计学意义($P<0.001$)。在 SiHa 细胞系中,与 NC 组比较, shRNA1、shRNA2、shRNA3 慢病毒均可显著降低 circNRIP1 的表达水平,其中 shRNA2 的敲低能力最高,在 HeLa 细胞系中,与 OV-NC 组比较, circNRIP1 在 OV- cNRIP1 组的表达水平更高($P<0.01$)。MTS 实验结果显示,在 HeLa 细胞系中,与 OV-NC 组比较, OV-cNRIP1 组的 HeLa 细胞增殖能力更高($P<0.001$);在 SiHa 细胞系中,与 sh-NC 组比较, sh-cNRIP1 组的 SiHa 细胞增殖能力更低($P<0.001$)。划痕实验结果显示,在 SiHa 细胞系中,与 sh-NC 组比较, sh-cNRIP1 组的 SiHa 细胞迁移能力更低($P<0.001$);在 HeLa 细胞系中,与 OV-NC 组比较, OV-cNRIP1 组的 HeLa 细胞迁移能力显著增强($P<0.001$);Transwell Matrigel 实验结果显示,在 SiHa 细胞系中,与 sh-NC 组比较, sh-cNRIP1 组的 SiHa 细胞穿膜数显著减少($P<0.001$);在 HeLa 细胞系中,与 OV-NC 组比较, OV-cNRIP1 组的 HeLa 细胞穿膜数显著增多($P<0.001$)。结论 circNRIP1 在宫颈癌组织中的表达上调, circNRIP1 能显著促进宫颈癌细胞的增殖、迁移及侵袭。

关键词: 宫颈癌; circNRIP1; 细胞增殖; 细胞迁移; 细胞侵袭

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.07.017

中图法分类号: R737.33

文章编号: 1673-4130(2024)07-0847-06

文献标志码: A

Effect of circNRIP1 on the proliferation, migration, and invasion ability of cervical cancer cells*

GE Qin, CAI Ping, ZHANG Lingling, CAO Xiaoli[△]

Department of Clinical Laboratory, Tumor Hospital of Nantong, Nantong, Jiangsu 226000, China

Abstract: Objective To investigate the expression of circNRIP1 in cervical cancer and its effects on the proliferation, migration and invasion ability of cervical cancer cells. **Methods** Quantitative fluorescent PCR (qPCR) was used to detect the expression level of circNRIP1 in cervical cancer tissue and adjacent tissues. The effects of circNRIP1 on the proliferation, migration, and invasion ability of cervical cancer cells were investigated by cell proliferation assay (MTS method), cell scratch assay, and Transwell Matrigel assay, respectively. **Results** Compared with adjacent tissues, the expression of circNRIP1 was significantly increased in cervical cancer tissues ($P<0.001$). The expression level of circNRIP1 was the lowest in the HeLa cell line and the highest in the SiHa cell line, both of which were statistically significant compared to other cell lines ($P<0.001$). In SiHa cell line, compared with NC group, shRNA1, shRNA2 and shRNA3 lentiviruses significantly reduced the expression level of circNRIP1, among which shRNA2 had the highest knockdown ability. In HeLa cell line, compared with OV-NC group, SHRNA2 had the highest knockdown ability. The expression level of circNRIP1 in OV-cNRIP1 group was significantly higher ($P<0.01$). The MTS assay results showed that in HeLa cell lines, the proliferation ability of HeLa cells in the OV-cNRIP1 group was significantly higher than that in OV-NC group ($P<0.001$). In SiHa cell lines, the proliferation capacity of SiHa cells in sh-cNRIP1 group was lower than that in sh-NC group ($P<0.001$). The results of scratch assay showed that the SiHa cell migration ability of sh-cNRIP1 group was lower than that of sh-NC group ($P<0.001$). In HeLa cell line, the

* 基金项目:南通市卫生健康委员会科研课题(MSZ2022030)。

作者简介:葛琴,女,主管技师,主要从事免疫学方向研究。 [△] 通信作者, E-mail:13912258289@163.com。

migration ability of HeLa cells in OV-cNRIP1 group was significantly enhanced compared with OV-NC group ($P<0.001$). The Transwell Matrigel assay results showed that in the SiHa cell line, compared with the sh-NC group, the number of SiHa cells membrane penetration in the sh-cNRIP1 group was significantly reduced ($P<0.001$). In the HeLa cell line, compared with the OV-NC group, the number of HeLa cell membrane penetrations in the OV-cNRIP1 group was significantly increased ($P<0.001$). **Conclusion** The expression of circNRIP1 is up-regulated in cervical cancer tissues, and circNRIP1 can significantly promote the proliferation, migration, and invasion of cervical cancer cells.

Key words: cervical cancer; circNRIP1; cell proliferation; cell migration; cell invasion

宫颈癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 其在所有妇科癌症中的发病率和死亡率均排第四位^[1]。尽管随着宫颈癌普查及人乳头瘤病毒(HPV)疫苗的应用及推广, 越来越多的早期宫颈癌患者获得了手术治愈的机会, 但近 30 年的流行病学调查数据表明, 宫颈癌患者不仅呈年轻化趋势, 且临床上仍有大量被确诊为晚期而丧失手术治疗机会的患者^[2]。目前, 针对宫颈癌的靶向治疗药物仍处于缺乏状态。因此, 深入研究宫颈癌发生发展的相关分子生物学机制, 寻找可能的潜在治疗靶点仍是本领域关注的热点问题之一。已有较多研究表明, 环状 RNA(circRNA)在人类癌症的进展中起着重要作用, 其中, circRNA 核受体相互作用蛋白 1(circNRIP1)在多类型癌症中作为癌基因发挥作用, 如胃癌^[3-5]、骨肉瘤^[6]、肺腺癌^[7]、甲状腺状癌^[8]等。这些研究提示 circNRIP1 具有作为抗肿瘤治疗分子靶点的潜力。就宫颈癌而言, 目前也逐渐有研究提示 circNRIP1 在其病理过程中可能发挥有特定的生物学功能^[9-11]。为进一步明确 circNRIP1 与宫颈癌病情发生发展的关系, 本研究分析了 circNRIP1 在宫颈癌组织中的表达, 并初步考察了其对宫颈癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响, 旨在为发掘 circNRIP1 作为宫颈癌治疗分子靶点的潜力提供参考。

1 材料与方法

1.1 临床样本 选取 2019 年 4 月至 2023 年 5 月在南通市肿瘤医院行手术切除治疗的 50 例宫颈癌患者, 收集其癌组织和癌旁组织样本。纳入标准: (1) 术前未接受过任何形式的抗肿瘤治疗; (2) 原发性宫颈癌, 且未合并其他类型的恶性肿瘤; (3) 无传染性疾病史和代谢性疾病史; (4) 经病理学检查证实为宫颈组织及邻近的癌旁组织。所有患者或其家属签署知情同意书。本研究经本院伦理委员会审核通过(伦理审批号: 通肿伦审 2021-008)。

1.2 主要试剂及材料 无水乙醇、异丙醇、氯仿购自国药集团化学试剂有限公司, 结晶紫染液购自上海碧云天公司, Rnase R 均购自美国 Epicentre 公司, Arraystar Super RNA Labeling Kit、Arraystar Human circRNA Arrays 8×15K 均购自美国 Arraystar 公司; RNeasy Mini Kit 购自德国 Qiagen 公司; RNAiso

Plus、PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser、TB Green™ Premix Ex Taq II 购自宝生物工程(大连)有限公司。DMEM 高糖培养基、MEM 培养基、RPMI 1640 培养基、磷酸盐缓冲液(PBS)、Matrigel 基质胶购自美国 Corning 公司, 胎牛血清(FBS)购自以色列 BIOIND 公司, 青霉素/链霉素抗生素购自美国 Hyclone 公司, 0.25%胰蛋白酶(胰酶)购自美国 Gibco 公司、二甲基亚砜(DMSO)购自美国 Sigma 公司, CircRNA 病毒载体、嘌呤霉素、Polybrene、细胞增殖实验(MTS 法)试剂购自上海汉恒生物公司; Cell Counting Kit-8(CCK-8)购自北京英格恩贸易有限公司, Cell-Light EdU DNA Cell Proliferation Kit 购自锐博生物科技有限公司, circRNA 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成。为成功构建过表达及敲减的慢病毒稳转细胞株, 本研究经参阅文献选择了应用较多的 4 种人宫颈癌细胞系(HeLa、SiHa、C-33A、Caski 细胞系, 上海宾穗生物科技有限公司), 同时为增强实验效果, 在后续实验中选择了 circNRIP1 表达水平最高和最低的细胞系分别进行敲减与过表达慢病毒转染。

1.3 荧光定量 PCR(qPCR) 取冻存的组织, 研磨成粉末后, 采用 RNA 提取试剂盒提取组织中 RNA, 采用 Nano Photometer N50 分光光度计检测 RNA 的浓度和纯度。参考 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 说明书配置逆转录反应体系, 先去除基因组 DNA, 反应混合液配制: 5×gDNA Eraser Buffer 2.0 μL、gDNA Eraser 1.0 μL、总 RNA 1.0 μL、Rnase-Free dH₂O 补足 10 μL。反应条件为 42 ℃ 2 min, 4 ℃; 之后进行逆转录反应。逆转录体系配制: 上述反应液 10 μL、PrimeScript RT Enzyme Mix I 1.0 μL、RT Primer Mix 1.0 μL、5×PrimeScript Buffer2 4.0 μL、Rnase-Free dH₂O 补足 20 μL。反应条件为 42 ℃ 15 min, 85 ℃ 5 s, 4 ℃。参考 TB Green™ Premix Ex Taq II 说明进行 qPCR 反应体系配制: TB GreenPremix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus, 2×)10.0 μL、正向引物(10 μmol/L)0.8 μL、反向引物(10 μmol/L)0.8 μL、ROB Reference Dye II (50×)0.4 μL、DNA 模板 2.0 μL、灭菌水补足 20.0

μL 。反应条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,共计 40 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 circNRIP1 的相对表达量,以 GAPDH 基因为内参。circNRIP1 引物序列:F-5'-TCCGGATGACATCAGAGCTAC-3',R-5'-TCAAGTGTGCATCTTCTGGCT-3';GAPDH 引物序列:F-5'-GCACCGTCAAGCTGAGAAC-3',R-5'-TGGTGAAGACGCCAGTGG-3'。

1.4 细胞培养和转染 完全培养基配置:89% 培养基+10% 胎牛血清+1% 青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。HeLa 细胞系采用 DMEM 培养基培养,SiHa 和 C-33A 细胞系采用 MEM 培养基培养,Caski 细胞系采用 RPMI 1640 培养基培养。人宫颈癌细胞复苏后,以 1 000 r/min 离心后加入完全培养基 4~5 mL,转移至 25 cm^2 的透气培养瓶中放置在 37 $^{\circ}\text{C}$ 环境中培养过夜,24 h 后换液。胰酶消化并收集呈对数期生长的细胞,以每孔 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 密度接种至 6 孔板中培养 24 h。采用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次,每孔加完全培养基 1 mL 及 Polybrene 3 μL ,用慢病毒 shRNA1、shRNA2、shRNA3 及空白对照 shRNA-NC 进行细胞转染,转染 72 h 后,用荧光显微镜观察细胞有绿色荧光后,采用 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的嘌呤霉素进行维持性筛选培养,连续传代 5 次后收集细胞并提取 RNA,采用 qPCR 检测各组细胞中 circNRIP1 的表达情况。根据表达情况构建 circNRIP1 过表达和敲低慢病毒载体,分别表示为 OV-cNRIP1 和 sh-cNRIP1,同时构建与二者对应的空白对照载体,分别表示为 OV-NC 和 sh-NC。

1.5 MTS 实验 将胰酶消化后的细胞以每孔 2×10^3 个细胞接种至 96 孔板,在细胞贴壁后计为 0 点,每隔 24 h 设计一个时间点,分别为 0、24、48、72 h 时间点,每个时间点设置 5 个复孔,放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的全湿度培养箱中培养。于对应的时间点加入 20 μL MTS 试剂,放置培养箱中孵育 2 h。采用酶标仪检测 490 nm 处各孔的吸光度(A)。

1.6 细胞划痕实验 将胰酶消化后的细胞以每孔 $20 \times 10^3/\text{mL}$ 密度接种至 9 孔板,恒温培养,待细胞贴壁面积密度达到 90%~100%后用 200 μL 枪头垂直版面笔直划过孔板。PBS 洗涤并加入不含血清的培养基,倒置显微镜下观察拍照($\times 100$),将此刻时间点定义为 0 h,48 h 后弃培养基并用 PBS 洗涤细胞,再次观察拍照,同时测量细胞的迁移率。

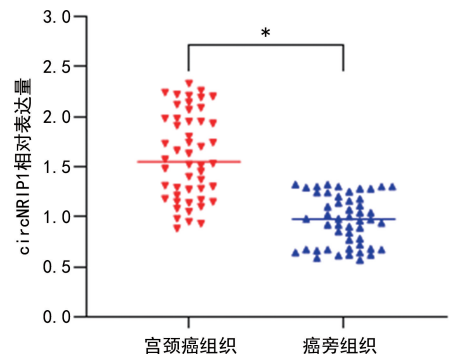
1.7 Transwell Matrigel 实验 将 600 μL 完全培养基作为趋化因子加入 24 孔板,将其正面朝上放置于提前铺有 200 μL Matrigel 胶的 Transwell 小室。将胰酶消化后的细胞离心、弃上清,用无血清培养基再次进行吹洗、离心、弃上清,采用不含血清培养基配制

细胞密度约 $10 \times 10^4/\text{mL}$ 的细胞悬液,加入各小室,单室加入量 200 μL ,恒温培养 24 h 后采用 PBS 轻轻洗涤,之后再将小室放入加有 600 μL 4% 多聚甲醛的 24 孔板中进行细胞固定,30 min 后采用 PBS 清洗固定液并将小室晾干,用 1% 结晶紫溶液进行染色 30 min,再用 PBS 清洗 3 次,于倒置显微镜下($\times 200$)观察并拍照,随机取 5 个视野进行细胞计数。

1.8 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8.0 和 IBM SPSS26.0 等软件进行本研究数据的统计学分析。每组实验设置 3 个平行,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两比较采用独立样本 t 检验,多组比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 circNRIP1 在宫颈癌组织中的表达 qPCR 检测结果显示,circNRIP1 在 50 例宫颈癌组织和 50 例癌旁组织中的相对表达量分别为 1.60 ± 0.43 、 0.96 ± 0.25 ,与癌旁组织相比,circNRIP1 在宫颈癌组织中的表达显著升高($t = 9.046$, $P < 0.001$)。见图 1。



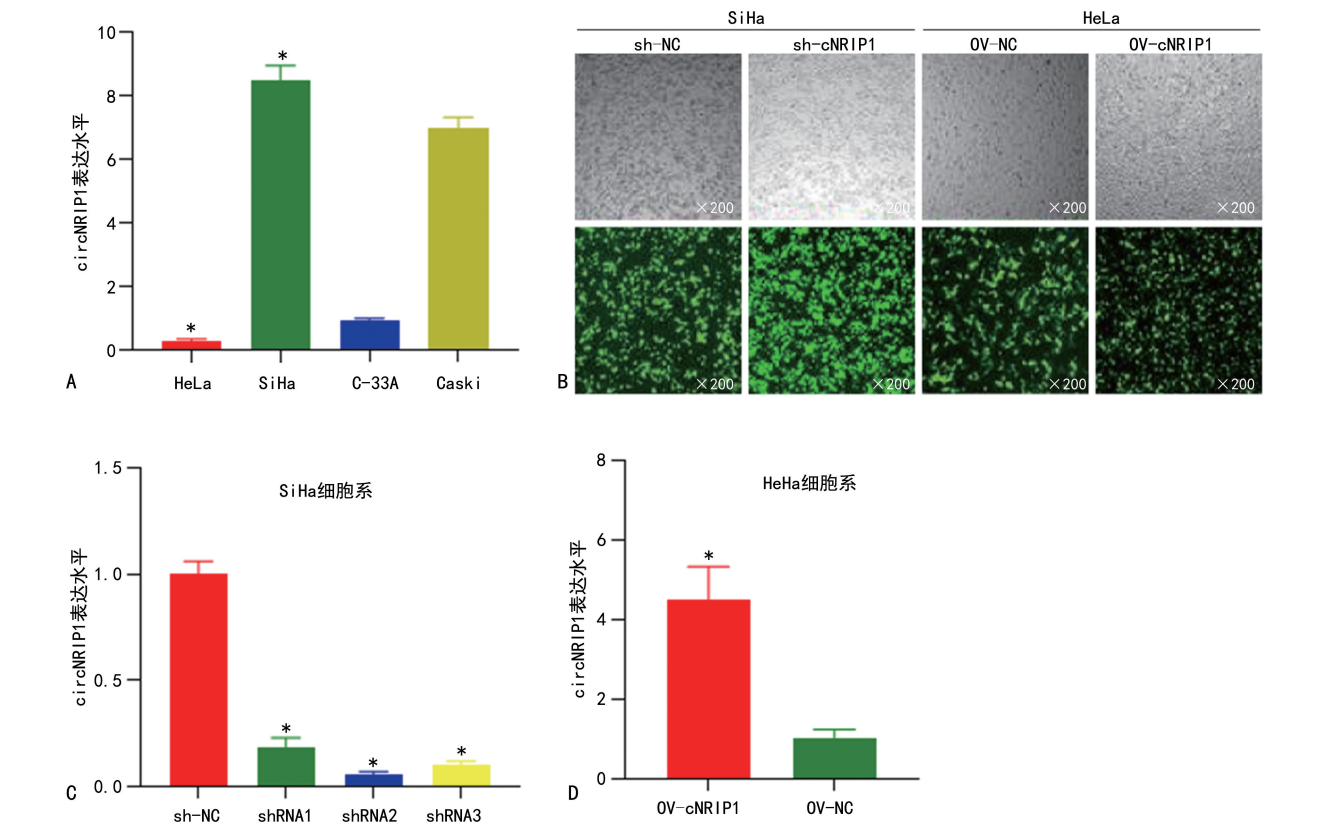
注: * $P < 0.001$ 。

图 1 circNRIP1 在宫颈癌组织和癌旁组织中的表达情况

2.2 circNRIP1 慢病毒转染细胞株的鉴定、筛选及表达水平比较 qPCR 检测结果显示,circNRIP1 在 HeLa 细胞系中表达水平最低,在 SiHa 细胞系中表达水平最高,二者分别与其他细胞系比较,差异均有统计学意义($P < 0.001$),见图 2A。故本研究分别选择 HeLa 细胞系和 SiHa 细胞系进行过表达与敲减慢病毒转染,经转染及嘌呤霉素筛选后,通过荧光显微镜可观察到超过 90% 的细胞表达绿色荧光,见图 2B;在 SiHa 细胞系中,与 NC 组比较,shRNA1、shRNA2、shRNA3 慢病毒均可显著降低 circNRIP1 的表达水平,其中 shRNA2 的敲低能力最高,见图 2C;在 HeLa 细胞系中,与 OV-NC 组比较, circNRIP1 在 OV-cNRIP1 组的表达水平更高($P < 0.01$)。见图 2D。

2.3 circNRIP1 对宫颈癌细胞增殖的影响 MTS 实验结果显示,在 HeLa 细胞系中,与 OV-NC 组比较,OV-cNRIP1 组 HeLa 细胞增殖能力显著升高($P < 0.001$);在 SiHa 细胞系中,与 sh-NC 组比较,sh-cNRIP1 组的 SiHa 细胞增殖能力显著降低($P <$

0.001)。见表 1、2。



注:A 为 circNRIP1 在各细胞系中的表达水平比较;B 为 HeLa 细胞系和 SiHa 细胞系转染情况;C 为 SiHa 细胞系中 shRNA1、shRNA2、shRNA3 敲除能力比较;D 为 HeLa 细胞系中 OV-cNRIP1 的敲除效果; * $P<0.01$ 。

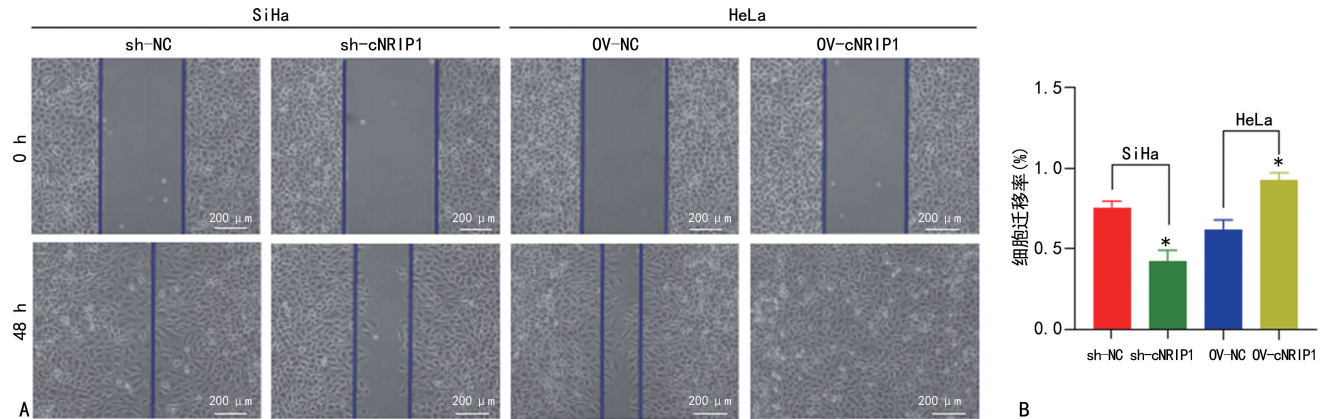
图 2 circNRIP1 慢病毒转染细胞株的鉴定、筛选及表达水平比较

表 1	不同培养时间各组 HeLa 细胞 A 值比较($\bar{x}\pm s$)			
培养时间	OV-NC 组	OV-cNRIP1 组	<i>t</i>	<i>P</i>
0 h	0.11±0.02	0.12±0.01	0.000	1.000
24 h	0.51±0.09	0.68±0.12	8.014	<0.001
48 h	1.13±0.14	1.31±0.16	5.987	<0.001
72 h	2.09±0.27	2.47±0.38	5.764	<0.001

2.4 circNRIP1 对宫颈癌细胞迁移能力的影响 划痕实验结果显示,在 SiHa 细胞系中,与 sh-NC 组比较,sh-cNRIP1 组 SiHa 细胞迁移能力显著降低($P<$

0.001),在 HeLa 细胞系中,与 OV-NC 组比较,OV-cNRIP1 组的 HeLa 细胞迁移能力显著升高($P<$ 0.001)。见图 3A、3B。

表 2	不同培养时间各组 SiHa 细胞 A 值比较($\bar{x}\pm s$)			
培养时间	sh-NC 组	sh-cNRIP1 组	<i>t</i>	<i>P</i>
0 h	0.25±0.04	0.25±0.03	0.000	1.000
24 h	0.61±0.12	0.52±0.08	4.413	<0.001
48 h	1.52±0.39	1.21±0.27	4.621	<0.001
72 h	2.48±0.63	2.05±0.34	4.247	<0.001

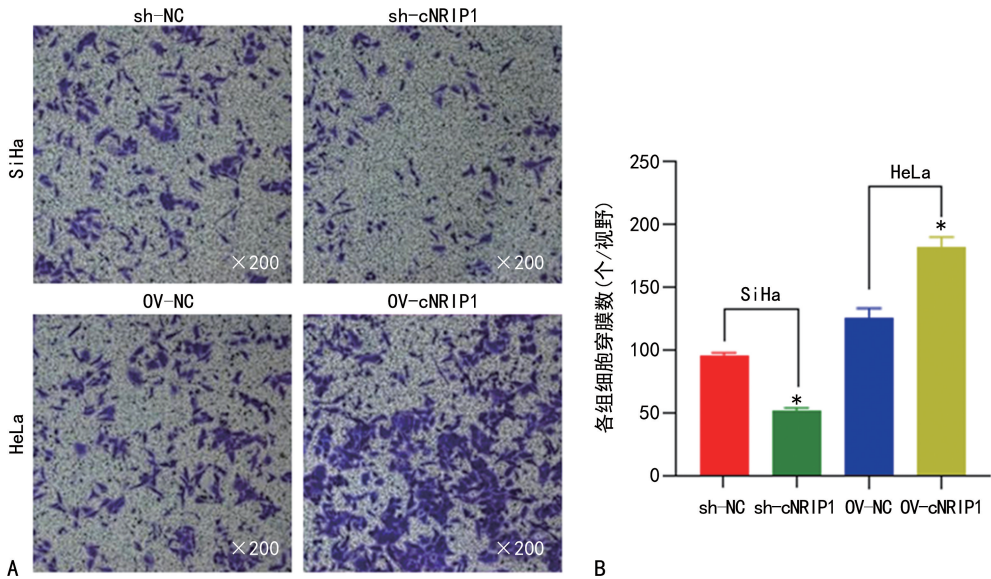


注:A 为细胞迁移镜检结果($\times 200$);B 为细胞迁移能力统计结果; * $P<0.001$ 。

图 3 circNRIP1 对宫颈癌细胞迁移能力的影响

2.5 circNRIP1 对宫颈癌细胞侵袭能力的影响 Transwell Matrigel 实验结果显示,在 SiHa 细胞系中,与 sh-NC 组比较,sh-cNRIP1 组的 SiHa 细胞穿膜数

显著减少($P<0.001$),在 HeLa 细胞系中,与 OV-NC 组比较,OV-cNRIP1 组的 HeLa 细胞穿膜数显著增多($P<0.001$)。见图 4A、4B。



注:A 为细胞侵袭情况镜检结果($\times 200$);B 为细胞穿膜情况统计结果;* $P<0.001$ 。

图 4 circNRIP1 对宫颈癌细胞侵袭能力的影响

3 讨 论

宫颈癌不仅高度可预防,而且如果及早发现也较易获得理想治疗。然而,在缺乏有组织的筛查和预防方案的情况下,宫颈癌的发病率和死亡率仍然很高^[12]。全球数据估计,每年发现宫颈癌新发病例达 527 624 例,死亡 265 672 例^[13]。值得注意的是,宫颈癌在亚洲的发病率处于相对较高水平^[2]。宫颈癌的发病是一个复杂的生物学过程,与宫颈上皮细胞的异常增殖、迁移和侵袭密切相关,通过了解宫颈癌的发生发展机制,阻止宫颈细胞异常的迁移和侵袭,对宫颈癌开展早期诊断、医生制订个体化的诊疗方案及改善患者的预后均具有重要意义,因此进一步深入寻找宫颈癌防治的新靶标十分必要。

circRNA 为一类特殊的内源性非编码 RNA 分子。与线性 RNA 不同,circRNA 分子没有 5'端帽子和 3'端多聚腺苷酸尾巴,具有封闭的环状结构,不易被核酸外切酶和核糖核酸酶降解,其表达更稳定^[14-15]。circRNA 在发现之初,曾一度被认为是错误的分子剪接或 mRNA 转录过程的副产物,不具备生物学功能。随着高通量测序和生物信息学技术的发展,最近的研究表明,circRNA 分子可以通过多种机制参与调节生物学过程,如:circRNA 可作为 miRNA 海绵发挥作用参与转录后调控^[16];通过调控 RNA 结合蛋白进而调控相关生理或病理过程^[17];调控选择性剪接或基因转录;通过表观遗传修饰来调控亲本基因表达^[18]。circRNA 可通过以上途径参与动物生长发

育和疾病的发生发展,特别是在调控癌细胞的增殖、迁移、侵袭、细胞周期及化疗药物耐药等方面起着重要作用。circNRIP1 源自 NRIP1 基因座的 circRNA,位于染色体 chr21:16,386,664-16,415,895 上,目前有研究显示 circNRIP1 为多种类型肿瘤进展的驱动因素^[3-8]。

张淼等^[9]的研究表明,宫颈癌组织中 NRIP1 阳性表达率为 81.45%,高于癌旁组织的 33.87%($P<0.05$),且宫颈癌患者癌组织中 NRIP1 的表达与其临床病理和预后具有明显相关性($P<0.05$),但尚未在细胞水平考察 circNRIP1 对宫颈癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响。本研究采用 qPCR 检测结果显示,与癌旁组织相比,circNRIP1 在宫颈癌组织中的表达显著升高($P<0.001$)。为进一步研究 circNRIP1 在宫颈癌中的功能,本研究首先通过体外实验检测了 circNRIP1 在 HeLa、SiHa、C-33A、Caski 等 4 种人宫颈癌细胞系中的表达水平,结果显示 circNRIP1 在 HeLa 细胞系中表达水平最低,在 SiHa 细胞系中表达水平最高,二者分别与其他细胞系比较差异均有统计学意义($P<0.001$)。故分别选择 HeLa 细胞系和 SiHa 细胞系进行过表达与敲减慢病毒转染,且通过 qPCR 检测验证了稳转细胞株构建成功。同时本研究分别利用 MTS 实验、细胞划痕实验和 Transwell Matrigel 实验考察了 circNRIP1 对宫颈癌细胞生物学行为的影响,结果显示 circNRIP1 能显著促进宫颈癌细胞的增殖、侵袭及迁移。然而,相关的作用机制目前

尚不清楚,仍需通过后续研究进一步探讨。

通过文献查阅,目前仍可从相关研究中获得一定启示,如李馨慧^[10]的研究表明 circNRIP1 通过负性调控 miR-629-3p 从而调控 PTP4A1 的表达,并通过 ERK1/2 通路促进宫颈癌细胞的迁移及侵袭;XING 等^[3]报道 circNRIP1 作为 microRNA-149-5p 海绵,通过 AKT1/mTOR 途径促进胃癌进展;SHI 等^[6]的研究表明,由骨髓间充质干细胞来源的细胞外囊泡包封的 circNRIP1 可通过调节 miR-532-3p/AKT3/PI3K/AKT 轴加重骨肉瘤;LIANG 等^[4]研究发现,通过沉默 circNRIP1 可增加 miR-182 表达并降低 ROCK1 表达进而对胃癌进展发挥抑制作用;FU 等^[8]发现, circNRIP1 通过海绵化 miR-653-5p 和调节 PBX3 表达在甲状腺状癌中发挥致癌作用。后续本课题组拟通过研究探索 circNRIP1 在宫颈癌中的作用是否有与以上类似的相关机制。

综上所述, circNRIP1 在宫颈癌组织中的表达上调, circNRIP1 能显著促进宫颈癌细胞的增殖、迁移及侵袭。干扰 circNRIP1 的表达抑制宫颈癌细胞增殖、迁移和侵袭能力,可能是宫颈癌防治的潜在分子靶点。

参考文献

[1] ANGELA S, FREDIANO I, GIUSEPPE A, et al. Recent advances in cervical cancer management: a review on novel prognostic factors in primary and recurrent tumors [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(4): 1137.

[2] YAO H, YAN C, QIUMIN H, et al. Epidemiological trends and attributable risk burden of cervical cancer: an observational study from 1990 to 2019 [J]. *Int J Clin Pract*, 2022, 2022: 3356431.

[3] XING Z, SEN W, HAIXIAO W, et al. Circular RNA circNRIP1 acts as a microRNA-149-5p sponge to promote gastric cancer progression via the AKT1/mTOR pathway [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18: 20.

[4] LIANG L, LI L. Down-regulation of circnrp1 promotes the apoptosis and inhibits the migration and invasion of gastric cancer cells by miR-182/ROCK1 axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 6279-6288.

[5] 陈婧, 张荣, 王浩斌, 等. 血清 circNRIP1 表达在胃癌诊疗中的临床意义 [J]. *胃肠病学*, 2021, 26(1): 39-42.

[6] SHI Z, WANG K, XING Y, et al. CircNRIP1 encapsulated

by bone marrow mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles aggravates osteosarcoma by modulating the miR-532-3p/AKT3/PI3K/AKT axis [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 658139.

[7] 石红, 陈盈, 杨晓燕. circNRIP1 在肺腺癌中的表达意义及其促进肺腺癌细胞增殖和转移的作用机制 [J]. *南昌大学学报(医学版)*, 2022, 62(2): 7-13.

[8] FU L, HUO J, FITRAT H, et al. CircNRIP1 exerts oncogenic functions in papillary thyroid carcinoma by sponging miR-653-5p and regulating PBX3 expression [J]. *J Oncol*, 2022, 2022: 2081501.

[9] 张森, 曾超, 周秀春, 等. LCoR, NRIP1 蛋白在宫颈癌组织中的表达及与临床病理、预后的关系分析 [J]. *中国性科学*, 2022, 31(1): 68-71.

[10] 李馨慧. CircNRIP1 靶向抑制 miR-629-3p 调控 PTP4A1 影响宫颈癌细胞的生物学行为的机制研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2020.

[11] DU Z. CircNRIP1: an emerging star in multiple cancers [J]. *Pathol Res Pract*, 2023, 241: 154281.

[12] PIMPLE S A, MISHRA G A. Global strategies for cervical cancer prevention and screening [J]. *Minerva Ginecologica*, 2019, 71(4): 313-320.

[13] SHRESTHA A D, NEUPANE D, VEDSTED P, et al. Cervical cancer prevalence, incidence and mortality in low and middle income countries: a systematic review [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(2): 319-324.

[14] QU S, YANG X, LI X, et al. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs [J]. *Cancer Lett*, 2015, 365(2): 141-148.

[15] DONG L, ZHENG J, GAO Y, et al. The circular RNA NTSE promotes non-small cell lung cancer cell growth via sponging microRNA-134 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(4): 3936-3949.

[16] MENG S, ZHOU H, FENG Z, et al. CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 94.

[17] HANSEN T B, WIKLUND E D, BRAMSEN J B, et al. miRNA-dependent gene silencing involving Ago-mediated cleavage of a circular antisense RNA [J]. *Embo J*, 2011, 30(21): 4414-4422.

[18] WUTZ A. Gene silencing in X-chromosome inactivation: advances in understanding facultative heterochromatin formation [J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(8): 542-553.