

# 转染 APOBEC3A 基因对宫颈癌 HeLa 细胞生物学行为的影响

郑婷婷, 陈 珊, 张帝开\*  
(中山大学附属第六医院妇产科, 广东 广州 510655)

**摘要:**【目的】探讨载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽样蛋白 3A(APOBEC3A)表达对宫颈癌 HeLa 细胞体外增殖、凋亡及迁移能力的影响。【方法】根据 HeLa 细胞是否转染 APOBEC3A 真核表达质粒,分 A3A 特异性转染组(A3A 组),空白质粒转染组(阴性对照组,M45)和未转染组(空白组,HeLa)。利用 Western blotting 检测 A3A 特异性转染组 A3A 蛋白的表达;而后使用 CCK8 法、流式细胞仪分析法和异质粘附、Transwell 法分别检测 A3A 对 HeLa 细胞增殖、凋亡、粘附及迁移等生物学行为的影响。【结果】A3A 组与阴性对照组比较,HeLa 细胞的增殖、粘附、迁移能力下降,凋亡率增加,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );阴性对照组与空白组比较,增殖能力、凋亡率、粘附及迁移能力无明显差异( $P > 0.05$ )。【结论】A3A 基因可能具有抑制 HeLa 细胞增殖、粘附、迁移并诱导凋亡的功能,为研究 A3A 基因在宫颈癌中的作用及其生物治疗提供了理论基础。

**关键词:** A3A;宫颈癌;增殖;凋亡;转移

中图分类号:R711.74 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2014)03-0371-07

## Effects of Human APOBEC3A on Biological Behaviors of Cervical Cancer HeLa Cells

ZHENG Ting-ting, CHEN Shan, ZHANG Di-kai\*

(Department of Obstetrics and Gynecology, The Sixth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China)

**Abstract:**【Objective】To investigate the effect of human apolipoprotein B mRNA-editing catalytic polypeptide-like protein 3A on the biological behaviors (such as growth, proliferation, apoptosis, migration) of cervical cancer HeLa cells.【Methods】The plasmid containing APOBEC3A gene was transfected into HeLa cells (A3A). Blank plasmid-transfected HeLa cells (M45/neo) and untransfected HeLa cells were used as controls. The expression of A3A protein was detected by Western blotting. The impact of A3A on the biological behaviors of cervical cancer HeLa cells, including cell proliferation, cell cycle, apoptosis, and migration, was subsequently analyzed using CCK8 assay, flow cytometry, and a Transwell chamber migration assay.【Result】After transfection, the protein of A3A was expressed successfully in the A3A-transfected group by the detection of Western blotting. The cell viability, proliferation capacity, and migration ability of HeLa cells in the A3A-transfected group were significantly lower than those of HeLa cells in the negative control group and the blank control group ( $P < 0.05$ ). The percentage of apoptotic HeLa cells in the A3A-transfected group was significantly higher than those of HeLa cells in the negative control group and the blank control group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the viability, proliferation capacity, apoptosis, and migration ability of HeLa cells between the negative control group and the blank control group ( $P > 0.05$ ).【Conclusion】Transfection of A3A can inhibit the proliferation and the growth of HeLa cells, thereby suppressing the migration ability of HeLa cells and promoting their apoptosis. This study can provide an experimental basis for future biological therapies for human cervical cancer by A3A.

**Key words:** A3A; cervical cancer; proliferation; apoptosis; metastasis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci),2014,35(3):371-377]

宫颈癌是女性第二大恶性肿瘤,发病率仅次于乳腺癌,据统计全世界每年约有 529 800 新发病例,

275 100 人死亡,其中 85%以上发生在发展中国家,而且发病年龄也在逐渐年轻化<sup>[1]</sup>。因此,宫

收稿日期:2013-12-06

基金项目:广东省人口计生委基金资助项目(2009230),广东省科技计划项目(2012B031800455)

作者简介:郑婷婷,妇产科硕士,研究方向:妇科肿瘤,E-mail:woshi.zt@163.com;\*通信作者:张帝开,教授,博士生导师,主任医师,妇科主任,E-mail:diopen@21cn.com

颈癌成为全球妇女的主要健康问题之一。而且,宫颈癌是目前唯一一种已经明确原因的恶性疾病,感染高危型人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)是宫颈癌发生发展的必要条件<sup>[2]</sup>。载脂蛋白B mRNA 编辑酶催化多肽样蛋白 3A (apolipoprotein B mRNA -editing catalytic polypeptide-like protein 3A, A3A) 是哺乳动物特有的胞嘧啶脱氨酶家族 APOBEC3 成员之一,它作为一种机体对抗外来入侵者的天然免疫的宿主细胞因子,在抗病毒的过程中发挥着重要的作用<sup>[3]</sup>。A3A 是一种 RNA/DNA 编辑酶,具有胞苷脱氨酶活性,可使胞嘧啶(C)脱氨基变为尿嘧啶(U),从而诱导病毒基因组发生碱基突变。大量研究表明,A3A 具有抑制腺相关病毒、细小病毒、内源性逆转录因子、HIV-1 的作用,此外对非病毒性外源性基因也是起到了限制作用<sup>[4-6]</sup>。在对 HPV 的研究中发现,A3A 具有在细胞核内编辑 HPV DNA 的功能<sup>[7]</sup>,显示出 A3A 在机体对抗和清除 HPV 的过程中起着重要作用,由此推测 A3A 在宫颈癌的发生发展中可能发挥着重要作用。我们的前期实验研究表明,宫颈癌中 A3A 阳性表达较正常宫颈组织及 CIN 组明显下降,宫颈癌中 A3A 以阴性和弱阳性表达为主,提示宫颈癌组织中存在 A3A 表达缺失或下调,且发现 A3A 蛋白表达与 HPV18 感染阳性率呈负相关,在 HeLa 细胞中 A3A 的过表达会明显降低 HPV18 E6 mRNA 和蛋白的表达<sup>[8]</sup>。为进一步探究 A3A 与宫颈癌之间的关系,尤其是对宫颈癌细胞生物学行为的影响,本研究通过脂质体转染将目的基因 A3A 转入宫颈癌 HeLa 细胞中,观察 A3A 对宫颈癌细胞增殖、凋亡、粘附及迁移能力的影响,旨在为宫颈癌的预防治疗等提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

HeLa 细胞株购自中国社科院细胞库,含有 APOBEC3AORF 的质粒(命名为 A3A 质粒)以及对照空白质粒 M45 由复能基因公司提供,大肠杆菌株 DH5 $\alpha$  购自大连 TaKaRa 公司,质粒提取试剂盒购自美国 Biomiga 公司,南美胎牛血清、DMEM 培养基、RPMI1640 培养基、胰蛋白酶、青链霉素购自美国 Gibco 公司,DMSO 购自美国 Sigma 公司,转染试剂盒,Lipofectamine LTX and Plus Reagents 试

剂购自 Invitrogen 公司,CCK8 试剂购自日本同仁公司,结晶紫染料购自碧云天公司,Matrigel 流式检测试剂盒购自美国 BD Bioscience 公司,T-PER 蛋白提取试剂购自 Thermo 公司,BCA 蛋白定量试剂盒购自北京鼎国生物公司,预染蛋白 marker 购自美国 Fermentas 公司,兔抗 APOBEC3A 多克隆 IgG 抗体(ab38641)购自 Abcam 公司,羊抗兔 IRDye680II 抗体购自 LI-COR 公司,兔抗 GAPDH 多克隆 IgG 抗体购自杭州贤至生物科技有限公司,PVDF 膜购自美国 Millipore 公司,Transwell 小室购自美国 Corning 公司。

转染 A3A 质粒基因序列:1 ATGGAAGCC AGCCCAGCATCCGGGCCAGACACTTGATGGATC CACACATA;52 TTCACTTCCAACCTTTAACAATGGC ATTGGAAGGCATAAGACCTACCTGTGC;103 TACG AAGTGGAGCGCCTGGACAATGGCACCTCGGTCAA GATGGACCAGCAC;154 AGGGGCTTTCTACACAAC CAGGCTAAGAATCTTCTCTGTGGCTTTTACGGC ; 205 CGCCATGCGGAGCTGCGCTTCTTGGACCTGGT TCCTTCTTTGCAGTTGGACC;256 CGGCCAGATCT ACAGGGTCACTTGGTTCATCTCCTGGAGCCCCTGC TTC;307 TCCTGGGGCTGTGCCGGGGAAGTGCCTG CGTTCCTTCAGGAGAACACACAC;358 GTGAGACT GCGTATCTTCGCTGCCCCGATCTATGATTACGACC CCCTAT;409 AAGGAGGCACTGCAAATGCTGCGGG ATGCTGGGGCCCAAGTCTCCATCATG;460 ACCTA CGATGAATTTAAGCACTGCTGGGACACCTTTGTGG ACCACCAGGGA ; 511 TGTCCCTTCCAGCCCTGGG ATGGACTAGATGAGCACAGCCAAGCCCTGAG;562 TGGGAGGCTGCGGGCCATTCTCCAGAATCAGGGA AACTGA 600。

### 1.2 方 法

1.2.1 细胞培养 宫颈癌 HeLa 细胞复苏后,接种于含 100 mL/L 胎牛血清,10 mL/L 双抗的 DMEM 培养液中,放置于 37  $^{\circ}$ C,体积分数 5% CO<sub>2</sub>,100% 相对湿度条件的培养箱中孵育。取对数生长期的细胞进行各项试验。

1.2.2 质粒提取 携带 A3A 基因和 M45 基因的真核表达质粒经大肠杆菌扩增后,严格按质粒提取试剂盒的操作步骤抽提质粒,紫外分光光度计检测浓度和纯度。

1.2.3 脂质体转染 按照 Lipofectamine LTX and Plus Reagents 试剂盒说明,转染前 1 d 用胰酶消化

HeLa, 移入离心管  $130 \times g$  离心 3 min, 去上清, 沉淀加 1 mL 培养基制成细胞悬液并计数, 将  $5 \times 10^6 \sim 6 \times 10^6$  个细胞接种于 6 孔培养板, 培养 24 h, 次日达到 80% ~ 90% 融合。弃原液, 以 PBS 洗 2 次, 加入无血清、无抗生素 DMEM 培养基; 将适量重组 DNA 及脂质体分别溶于无血清、无抗生素培养液中, 5 min 内混匀, 室温放置 15 min 形成 DNA 脂质体混合物; 将其加入 6 孔培养板, 37 °C, 体积分数 5% CO<sub>2</sub>, 100% 相对湿度条件的培养箱培养 6 h 后, 换含 100 mL/L 胎牛血清的 DMEM 完全培养液继续培养, 检测基因表达。

**1.2.4 Western blotting 检测** 将转染 A3A 质粒及空载体 M45 的 HeLa 细胞及空白对照组 HeLa 细胞在 6 孔板中培养 48 h 后, 按照 T-PER 蛋白提取试剂盒说明在冰上提取蛋白, 将提取的蛋白加 5 × 上样蛋白缓冲液, 煮沸 5 min。用 80 g/L 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电泳条件为 80 V、30 min, 120 V、90 min; 印迹转染 PVDF 膜, 转移条件为 25 V、20 min, 然后用 30 g/L 的脱脂奶粉溶液室温下孵育 1 h, 用一抗工作液 (GAPDH 1:1 000 用 TBST 稀释, 兔抗 APOBEC3A 多克隆 IgG 抗体 1:100 用 TBST 稀释) 4 °C 过夜孵育, TBST 洗膜 10 min × 3 次, 羊抗兔 IRDye680II 抗体 (1:10 000 用 TBST 稀释) 孵育 1 h, TBST 洗 10 min × 3 次, PVDF 膜直接放在 LI-COR Odyssey 红外荧光扫描仪, 按说明书进行图像分析。

**1.2.5 CCK8 法检测 A3A 对 HeLa 细胞增殖的影响** 收集处于对数期的 HeLa 细胞, 调整细胞浓度为每孔  $1 \times 10^4$  个细胞接种于 96 孔板, 置于 37 °C, 体积分数 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养, 待细胞贴壁后按上述方法转染。实验分 3 组: 分 A3A 特异性转染组 (A3A 组), 空白质粒转染组 (阴性对照组, M45) 和未转染组 (空白组, HeLa)。在每天同一时间, 每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 置于培养箱中静置 2 h, 将 96 孔板放入酶标仪读取每孔吸光值 *D*, 每组设 3 复孔, 计算每孔增殖抑制率, 转染时间为 3 个不同时间 (24 h、48 h、72 h), 以未转染组的 *D* 值为对照。细胞增殖抑制率 =  $(1 - D_{\text{实验组}} / D_{\text{对照组}}) \times 100\%$ 。

**1.2.6 流式细胞仪检测细胞周期** 分别用 2.5 g/L 的胰蛋白酶消化并收集实验组细胞和 2 个对照组细胞, 调整细胞浓度为  $1 \times 10^5$ /mL; 制备的单细胞悬液用体积分数为 70% 乙醇固定, 4 °C 保存过夜, 染色前用 PBS 洗去固定液; 加 50 μL

RNaseA 37 °C 水浴 30 min; 再加 200 μL PI 染色均匀, 4 °C 避光 30 min; 上流式细胞仪检测细胞周期。

**1.2.7 流式细胞仪检测细胞凋亡** 分别用 2.5 g/L 的胰蛋白酶消化并收集  $(1 \sim 4) \times 10^5$  个实验组细胞和 2 个对照组细胞; 加入 200 μL 的 Binding Buffer 悬浮细胞; 加入 5 μL AnnexinV-FITC 混匀后, 加入 5 μL PI, 混匀, 室温避光反应 15 min; 在 1 h 之内上流式细胞仪检测细胞早期凋亡情况。

**1.2.8 异质粘附实验** 转染后 48 h 后, 于预铺 Matrigel 的 96 孔板加入  $5 \times 10^4$  个细胞/孔, 每组设 3 个复孔, 分别在孵育 30 min、60 min 及 90 min 后用 PBS 洗涤以去除未粘附的细胞。CCK8 检测吸光值 *D*, 计算粘附细胞比例 (%) = 粘附于 Matrigel 上的细胞 *D* 值 / 总细胞 *D* 值 × 100%。

**1.2.9 Transwell 小室迁移实验** 在 Transwell 小室上部加上密度为  $5 \times 10^5$ /mL 的转染组、未转染组、空质粒组细胞 100 μL。小室下部加入含 100 mL/L 胎牛血清的细胞培养液, 体积分数 5% CO<sub>2</sub>, 37 °C, 培养 18 h。18 h 后取出上室, 用湿棉签轻轻擦去滤过膜上表面的细胞, 40 g/L 多聚甲醛溶液固定下室膜上的细胞 15 min, 100 g/L PBS 冲洗, 结晶紫染色, 光镜下记数穿过滤过膜的细胞数 (细胞计数单位为: cells/200 HP), 每组设 3 个复孔。

### 1.3 统计学处理

所有数据均采用 SPSS17.0 统计软件进行方差分析, 结果用均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,  $P < 0.05$  认为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Western blotting 检测 A3A 蛋白在 HeLa 细胞的表达

Western blotting 检测 A3A 质粒转染 HeLa 细胞 72 h 后 A3A 蛋白表达。实验组 (A3A) 转染 A3A 质粒 4 μg 并成功表达 APOBEC3A 蛋白, 而空载体组与未转染组细胞未检测到 A3A 蛋白表达 (图 1)。

### 2.2 A3A 对 HeLa 细胞增殖的抑制

将转染等量质粒的 A3A 组、空载体组和未转染组 HeLa 细胞接种培养后, 分别于转染后 24 h、48 h、72 h 通过 CCK8 检测发现: A3A 质粒对 HeLa 细胞的抑制作用明显, 与未转染组及空载体质粒转染组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 空载体质粒转染组与未转染组相比, 差异无统计学意

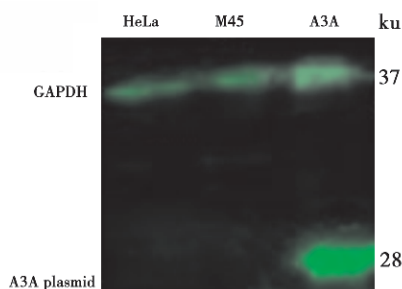


图 1 A3A 质粒转染 HeLa 细胞 72 h 后 A3A 蛋白水平的表达

Fig.1 Expression of protein A3A after A3A plasmid transfection 72 h

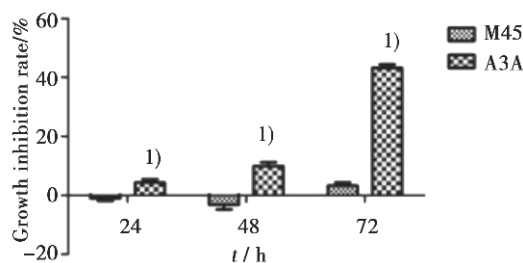


图 2 质粒 A3A 对 HeLa 细胞生长的抑制作用

Fig.2 Inhibition of A3A plasmid in the growth of the HeLa cells

n = 3. 1) A3A group vs M45, P < 0.01

义(P > 0.05)。说明质粒 A3A 对 HeLa 细胞增殖的抑制作用有时间依赖性,随着时间的延长,抑制作用更明显(表 1,图 2)。

表 1 转染后 24 h、48 h、72 h 细胞生长抑制率 (%)

Table 1 Growth inhibition rate of 24 h, 48 h, and 72 h (%)

Group	24 h	48 h	72 h
HeLa	0	0	0
M45	-1.1 ± 0.8	-3.14 ± 1.7	3.25 ± 1.1
A3A	4.32 ± 1.2	9.93 ± 1.3	43.25 ± 1.2

### 2.3 A3A 对 HeLa 细胞周期的影响

流式细胞仪对各组 HeLa 细胞周期分析结果显示:A3A 组处于 S 期的 HeLa 细胞数 (32.7 ± 1.0)%明显多于空载体转染组 (23.3 ± 0.2)%和未转染组 (24.4 ± 0.1)% (P < 0.05), G 0/G1 期细胞数 (56.7 ± 0.5)%明显少于空载体转染组 (67.5 ± 0.9)%和未转染组 (68.3 ± 0.6)% (P < 0.05), G2/M 期细胞数 [A3A: (10.7 ± 0.6)%,空: (9.2 ± 0.7)%,未: (7.3 ± 0.7)%] 三组之间无明显差异 (P > 0.05)。空载体转染组和未转染组之间 G0/G1 期、S 期和 G2/M 期细胞无明显变化(图 3)。

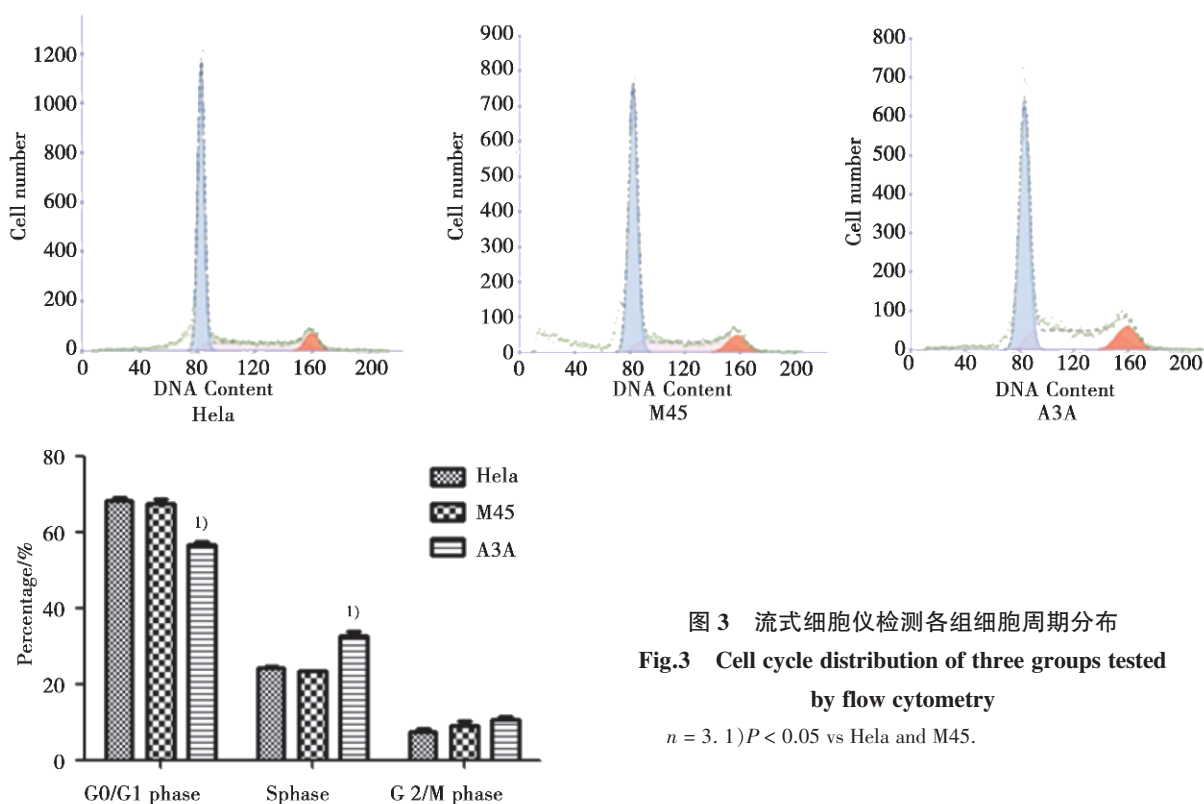


图 3 流式细胞仪检测各组细胞周期分布

Fig.3 Cell cycle distribution of three groups tested by flow cytometry

n = 3. 1) P < 0.05 vs HeLa and M45.

2.4 A3A 对 HeLa 细胞凋亡的影响

流式细胞仪对各组 HeLa 细胞发生凋亡情况的检测结果显示:A3A 组发生凋亡的 HeLa 细胞 (33.2 ± 1.9)% 明显多于空载体质粒组 (10.6 ± 1.4)% 和未转染组 (5.7 ± 0.9)% ( $P < 0.05$ ), 后两者没有明显差异 ( $P > 0.05$ , 图 4)。

2.5 A3A 对 HeLa 细胞迁移能力的影响

通过 Transwell 小室实验对各组 HeLa 细胞迁

移能力的检测结果显示:A3A 组穿过膜的 HeLa 细胞数量 (19 ± 8) 明显少于空载体质粒组 (57 ± 8) 和未转染组 (58 ± 15) ( $P < 0.05$ ), 后两者没有明显差异 ( $P > 0.05$ , 图 5)。

2.6 A3A 对 HeLa 细胞异质粘附能力的影响

在 30 min、60 min 时三组细胞的粘附率无明显差异 ( $P > 0.05$ )。在 90 min 时 A3A 组的细胞粘附率明显少于空载体质粒组和未转染组 ( $P < 0.05$ ),

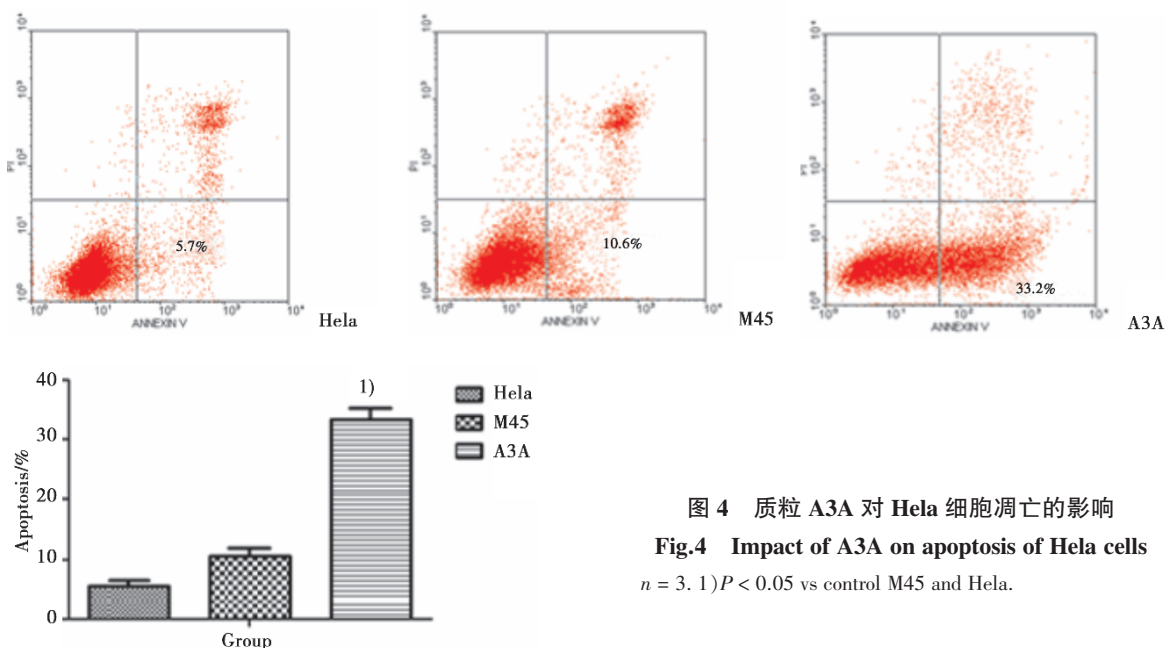


图 4 质粒 A3A 对 HeLa 细胞凋亡的影响  
Fig.4 Impact of A3A on apoptosis of HeLa cells  
 $n = 3$ . 1)  $P < 0.05$  vs control M45 and HeLa.

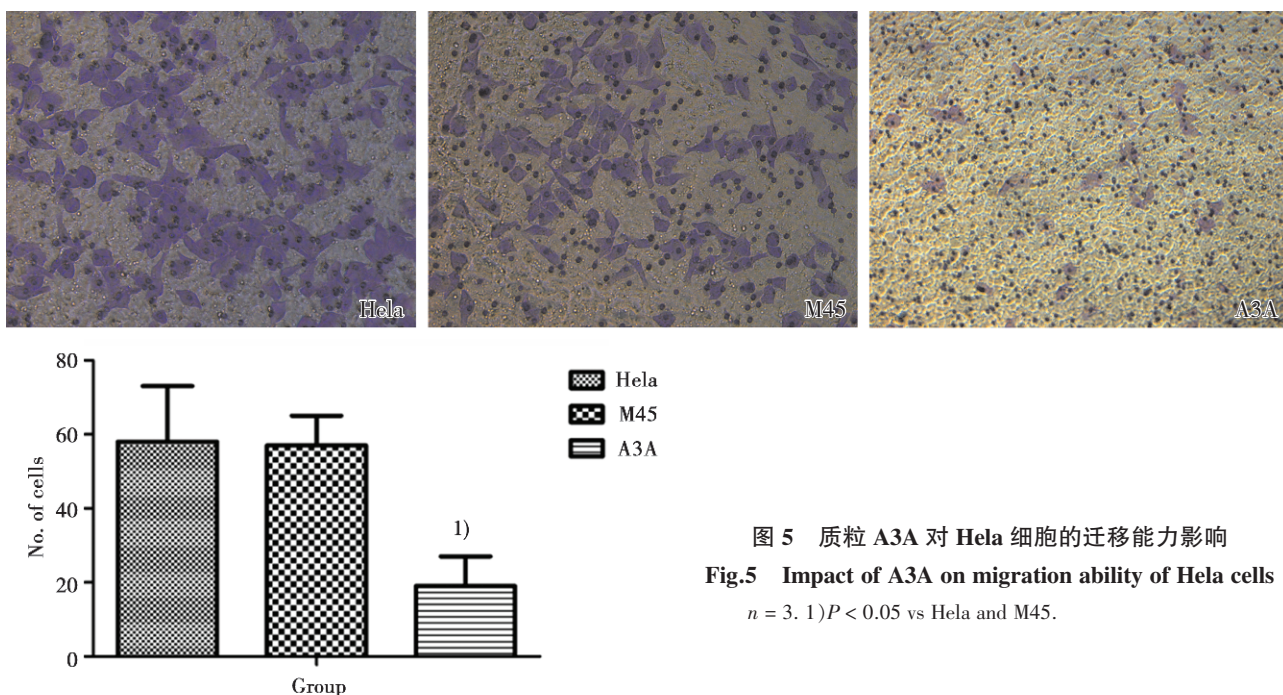


图 5 质粒 A3A 对 HeLa 细胞的迁移能力影响  
Fig.5 Impact of A3A on migration ability of HeLa cells  
 $n = 3$ . 1)  $P < 0.05$  vs HeLa and M45.

后两者没有明显差异( $P > 0.05$ ),结果提示 A3A 组细胞的异质粘附能力减弱(表 2,图 6)。

表 2 30 min、60 min、90 min 各组细胞异质粘附率(%)  
Table2 Heterogeneous adhesion rate of 30 min、60 min、90 min (%)

Group	30 min	60 min	90 min
Hela	50.3 ± 5.5	68.8 ± 4.1	95.8 ± 2.3
M45	48.2 ± 16.0	56.7 ± 19.1	90.1 ± 4.1
A3A	36.1 ± 5.0	62.5 ± 0.6	75.3 ± 0.3

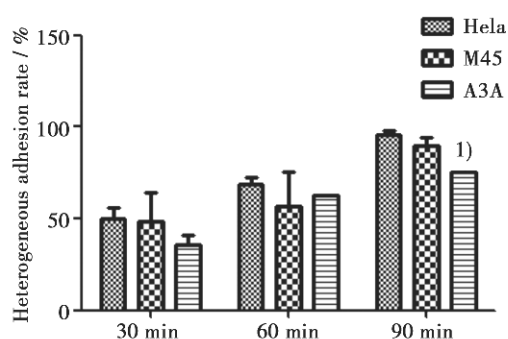


图 6 各组 HeLa 细胞在不同孵育时间下异质粘附率的比较

Fig.6 Heterogeneous adhesion rate of three groups in different incubation times

$n = 3. 1) P < 0.05$  vs HeLa.

### 3 讨 论

A3A 是 APOBEC3 蛋白家族中的新成员,其基因位于人类 22 号染色体上,全长 13.24 kb, mRNA 全长 1 390 bp,其编码框为 600 bp,编码 181 个氨基酸。APOBEC 蛋白抗病毒功能可以通过至少以下 3 种途径发挥作用:DNA 编辑、RNA 编辑以及非编辑途径<sup>[9]</sup>。有研究报道,多种细胞可以通过  $\alpha$ -干扰素诱导 APOBEC3 基因的表达而发挥抗病毒的作用<sup>[10]</sup>。有学者在体外实验研究中发现 APOBEC3A 具有编辑部分 HPV 基因,使 HPV 基因组突变频率增加<sup>[7]</sup>。而高危型 HPV 感染是宫颈癌发生发展的关键因素,本研究拟检测 A3A 对宫颈癌生物行为学的影响,通过将构建好的 APOBEC3A 真核表达质粒(A3A),利用脂质体介导转染 HeLa 细胞(A3A 特异性转染组),转染空

载质粒(空白质粒 M45 转染组)和未转染的 HeLa 细胞(未转染组)作为对照。采用 Western blotting 检测 A3A 特异性转染组 A3A 蛋白在 HeLa 细胞中成功表达。CCK8 结果提示 A3A 基因的表达抑制 HeLa 细胞增殖有时间依赖性。Butz 等<sup>[11]</sup>研究显示 HPV18E6 siRNA 对宫颈癌细胞有显著杀伤作用,也有文献报道沉默 HPV18E6 表达后宫颈癌细胞中 p53、p21 和 bax 表达显著增加,bcl-2 表达明显下降,进而抑制细胞增殖、促进细胞凋亡<sup>[12]</sup>。据此推测 A3A 可能通过抑制了 HPV18E6 致癌基因的转录与表达,使其无法继续激活原癌基因或者使抑癌基因失活,从而无法实现细胞的永生。而时间依赖性则表明了转染基因在不同时间内的表达量不同,转染 72 h 后 A3A 表达量较其他两个时间点多,抑制作用更明显。流式细胞仪检测各组 HeLa 细胞周期结果显示:A3A 抑制 HeLa 细胞增殖可能与 HeLa 细胞 S 期阻滞有关。许多抗肿瘤药物能使肿瘤细胞周期阻滞于某一时期,从而抑制肿瘤细胞的有丝分裂<sup>[13]</sup>。我们的实验研究发现,HeLa 细胞转染 A3A 质粒后 G0/G1 期比例明显降低,S 期细胞比例增高。流式细胞仪检测各组 HeLa 细胞凋亡率的结果显示:A3A 转染组发生凋亡的 HeLa 细胞明显多于空白质粒转染组和未转染组。由此推测 A3A 诱导宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的机制可能与细胞增殖被阻滞于 S 期,抑制其有丝分裂有关,其确切的机制仍需进一步的探讨。

肿瘤的侵袭转移是指肿瘤细胞脱离其原发部位,向周围传播,浸润正常组织,并通过各种方式转运到继发靶组织或器官继续增殖生长,形成与原发肿瘤相同性质的继发肿瘤的过程。肿瘤的侵袭转移是多基因参与、多步骤完成的复杂过程,主要包括肿瘤细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的异质粘附、降解 ECM 及穿透移行 3 个相互关联的基本过程。肿瘤细胞间的黏附减弱和肿瘤细胞运动能力增强是肿瘤发生侵袭转移的基础<sup>[14]</sup>。本研究采用异质粘附实验来探讨宫颈癌细胞 HeLa 在转染 A3A 质粒后与细胞外基质的异质粘附能力的改变,结果提示转染 A3A 后 HeLa 细胞的异质粘附能力明显下降。我们利用 Transwell 小室实验检测 A3A 基因对宫颈癌 HeLa 细胞迁移能力的影响,结果显示 A3A 转染组 HeLa

细胞迁移数量明显低于空白质粒转染组和未转染组, 后两者之间 HeLa 细胞迁移能力无明显差异, 提示 A3A 基因对宫颈癌 HeLa 细胞迁移能力可能具有一定的抑制作用, 这可能与 A3A 具有使 HeLa 细胞活力下降并降低其异质粘附和运动能力, 从而抑制其迁移的恶性行为, 其具体作用机制仍待进一步研究。

本研究体外实验结果表明, A3A 在宫颈癌的发生、发展以及浸润转移过程中可能起着重要的作用。有必要进一步深入了解 A3A 在宫颈癌的发生、发展以及浸润转移过程的具体机制, 以便进一步认识宫颈癌的发生发展, 为该病的治疗提供新策略和靶点。

#### 参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69–90.
- [2] Zur HH. Papillomaviruses in human cancers [J]. *Proc Assoc Am Physicians*, 1999, 111(6): 581–587.
- [3] Chen H, Lilley CE, Yu Q, et al. APOBEC3A is a potent inhibitor of adeno-associated virus and retrotransposons [J]. *Curr Biol*, 2006, 16(5): 480–485.
- [4] Narvaiza I, Linfesty DC, Greener BN, et al. Deaminase-independent inhibition of parvoviruses by the APOBEC3A cytidine deaminase [J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(5): e1000439.
- [5] Stenglein MD, Burns MB, Li M, et al. APOBEC3 proteins mediate the clearance of foreign DNA from human cells [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(2): 222–229.
- [6] Berger G, Durand S, Fargier G, et al. APOBEC3A is a special inhibitor of the early phases of HIV-1 infection in myeloid cells [J]. *PLoS Pathog*, 2011, 7(9): e1002221.
- [7] Vartanian JP, Guétard D, Henry M, et al. Evidence for editing of human papillomavirus DNA by APOBEC3 in benign and precancerous lesions [J]. *Science*, 2008, 320(5873): 230–233.
- [8] 陈姗, 狄娜, 秦君璞, 等. 宫颈癌组织 APOBEC3A 蛋白的表达与高危型 HPV 感染的相关性研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(5): 845–849.  
Chen Shan, Di Na, Qin Junpu, et al. Correlation of human APOBEC3A protein expression with high-risk HPV infection in cervical cancer tissues [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2013, 29(5): 845–849.
- [9] Bishop KN, Holmes RK, Sheehy AM, et al. APOBEC-mediated editing of viral RNA [J]. *Science*, 2004, 305(5684): 645.
- [10] Refsland EW, Stenglein MD, Shindo K, et al. Quantitative profiling of the full APOBEC3 mRNA repertoire in lymphocytes and tissues: implications for HIV-1 restriction [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(13): 4274–4284.
- [11] Butz K, Ristriani T, Hengstermann A, et al. siRNA targeting of the viral E6 oncogene efficiently kills human papillomavirus-positive cancer cells [J]. *Oncogene*, 2003, 22(38): 5938–5945.
- [12] 上官文学, 杨业鹏, 周梅, 等. HPV18E6 基因沉默对宫颈癌 HeLa 细胞生长和凋亡的影响 [J]. *现代肿瘤医学*, 2008, 16(10): 1653–1656.  
Shangguan WX, Yang YP, Zhou M, et al. siRNA targeting of HPV18 E6 inhibits the growth of HeLa cells and induces apoptosis [J]. *J Modern Oncol*, 2008, 16(10): 1653–1656.
- [13] Carnero A. Targeting the cell cycle for cancer therapy [J]. *Br J Cancer*, 2002, 87(2): 129–133.  
Geiger TR, Peeper DS. Metastasis mechanisms [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1796(2): 293–308.

(编辑 孙慧兰)