

ZMIZ1 对肝细胞癌细胞恶性表型的调控作用研究

唐 浩^{1,2}, 陈 果^{1,2}, 毛春虎³, 伍 刚^{1,2}

1. 西南医科大学临床医学院, 四川 泸州 646000; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院(电子科技大学附属医院)肝胆外科, 四川 成都 610072; 3. 首都医科大学附属北京安贞医院南充医院, 四川 南充 637000

【摘要】 目的 研究 ZMIZ1 与肝细胞癌(HCC)患者预后的关系, 以及 ZMIZ1 对 HCC 细胞恶性表型的调控作用。方法 利用 TCGA 数据、生物信息学分析、PCR、免疫组织化学染色等技术和方法, 观察 ZMIZ1 在肿瘤组织中的表达水平以及其与 HCC 患者预后的关系。分别使用 CCK8 法、流式细胞术、集落形成法、细胞划痕实验以及 Transwell 迁移实验来验证敲低 ZMIZ1 对 HCC 细胞增殖、凋亡、克隆以及迁移等生物学行为的影响。结果 ZMIZ1 在 HCC 组织中高表达, 且与不良预后显著相关($P<0.05$); ZMIZ1 的高表达与更晚期的肿瘤分期和分级显著相关($P<0.05$); 敲低 ZMIZ1 会显著抑制 HCC 细胞的增殖、克隆、迁移能力, 并促进 HCC 细胞的凋亡。结论 ZMIZ1 在促进 HCC 细胞增殖、抑制凋亡、增强克隆形成能力和促进迁移方面起着关键作用, 有望成为新的药物靶点, 提高 HCC 患者生存期。

【关键词】 肝细胞癌; ZMIZ1; 恶性表型; 调控

【中图分类号】 R34

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-6170(2025)06-0053-09

Study on the regulatory effect of ZMIZ1 on the malignant phenotype of hepatocellular carcinoma cells TANG Hao^{1,2}, CHEN Guo^{1,2}, MAO Chun-hu³, WU Gang^{1,2} 1. School of Clinical Medicine, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Department of Hepatobiliary Pancreatic Surgery, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital (Affiliated Hospital of University of Electronic Science and Technology of China), Chengdu 610072, China; 3. Nanchong Hospital of Beijing Anzhen Hospital affiliated to Capital Medical University, Nanchong 637000, China

【Corresponding author】 WU Gang

【Abstract】 **Objective** To investigate the relationship between ZMIZ1 and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma (HCC) as well as the regulatory effect of ZMIZ1 on the malignant phenotype of HCC cells. **Methods** TCGA data, bioinformatics analysis, PCR, immunohistochemical staining and other techniques and methods were used to observe the expression level of ZMIZ1 in tumor tissues. Its relationship with the prognosis of HCC patients was analyzed. CCK8 assay, flow cytometry, colony formation assay, wound-healing assay, and transwell were used to verify the effects of knocking down ZMIZ1 on the biological behaviors of HCC cells such as proliferation, apoptosis, cloning, and migration. **Results** ZMIZ1 was highly expressed in HCC tissue and significantly associated with poor prognosis. The high expression of ZMIZ1 was significantly correlated with more advanced tumor staging and grading. Knocking down ZMIZ1 could significantly inhibit the proliferation, cloning, and migration ability of HCC cells, and promote the apoptosis of HCC cells. **Conclusions** ZMIZ1 plays a key role in promoting the proliferation, inhibiting the apoptosis, enhancing the colony formation ability, and promoting the migration of HCC cells. Therefore, it is expected to become a new drug target to improve the survival of HCC patients.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; ZMIZ1; Malignant phenotype; Regulation

肝癌是当今最常见的恶性肿瘤之一, 在肿瘤相关死亡原因中排名第三, 给人类健康带来了极大的威胁, 其治疗是当下亟待解决的问题之一^[1~3]。原发性肝癌可根据细胞来源分为几种亚型, 包括肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)(约占所有肝癌病例的 75% ~ 85%)、肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)(约占所有肝癌病例的 10 ~ 15%)以及其他罕见形式^[4]。因此, HCC 是目前肝癌研究领域的主要类型以及重点研究方向。目前, HCC 的治疗已趋向于多样化, 包括手术治疗、肝

动脉化疗栓塞、射频消融以及放化疗等^[5, 6]。然而, 由于 HCC 具有高度异质性以及各种信号通路参与所导致的复杂致病因素, 个性化治疗成为当代 HCC 治疗研究领域的重点方向。近十几年来, 大量在肝癌中异常表达并伴有重要调控功能的分子和信号通路被发掘出来, 相应的靶向药和免疫治疗药物相继问世, 使 HCC 的治疗取得了突破性的进展^[7~9]。然而, HCC 的预后和患者生存率仍然远远无法达到令人满意的程度, 因此探寻新的药物靶点促使更多靶向药物的开发刻不容缓, 这对提升 HCC 患者的生活质量以及预后有着重要的临床意义。

ZMIZ1, 也称为 ZIMP10 或 RAI17, 是一种与活化 STAT 蛋白抑制剂(protein inhibitor of activated STAT, PIAS)相关的转录共激活剂。虽然 PIAS 家族

【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(编号:81302161); 四川省科技厅重点项目(编号:2020YJ0450); 四川省卫生健康委员会基金资助项目(编号:150215)

【通讯作者】 伍刚

蛋白不直接与 DNA 结合,但它们与可以结合 DNA 的转录因子相互作用并调节转录因子,从而调节靶基因的表达^[10,11]。ZMIZ1 具有位于中心的高度保守的 MIZ 锌指蛋白结构域、核定位信号和两个富含脯氨酸的区域^[12]。这些结构元件使 ZMIZ1 能够增强 SMAD3/4 复合物的转录活性和 Notch1 靶基因的转录活性,并加强蛋白质-蛋白质相互作用^[10]。ZMIZ1 作为 Notch、雄激素受体、p53 和 Smad3/4 的转录共激活因子,发挥着许多生理和病理作用^[10,11,13,14]。目前,ZMIZ1 已被证实与多种癌症的发生发展有关,包括结肠癌、乳腺癌、白血病、骨肉瘤、鳞状细胞癌等^[10,15~20]。Liu 等^[21]的研究发现 ZMIZ1 在肝细胞癌发生中发挥着作用,与诱导巨噬细胞 M2 极化相关。然而,ZMIZ1 在肝细胞癌中的具体作用机制尚不清楚。本研究旨在探讨 ZMIZ1 对 HCC 细胞恶性表型的调控作用,为未来的靶向治疗奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 为了从表达水平和预后意义两个角度研究 ZMIZ1,于 2024 年 3 月从癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA) 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 下载肝细胞癌的基因表达数据及预后信息进行了生物信息学分析。在表达分析中,我们从癌症基因组图谱数据库中选择了肝细胞癌和正常组织样本。

1.2 方法

1.2.1 临床样本采集和免疫组织化学染色 收集肿瘤组织和邻近非肿瘤组织样本用于免疫组织化学染色分析。所有患者均提供了知情同意书,该研究得到了四川省人民医院伦理委员会的批准。组织样本在 4% 多聚甲醛的磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 中固定,并包埋在石蜡中。将 4 μm 切片脱蜡、复水,并在 0.01 M 柠檬酸盐缓冲液中于 95 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 分钟,以促进抗原修复。分别使用 3% H_2O_2 和 5% 血清阻断内源性过氧化物酶活性,然后与一抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 12 小时。用 PBS 冲洗后,将切片与二抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜。用 PBS 冲洗后,通过添加二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB) 溶液在黑暗中染色来可视化抗原,并在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下用苏木精对切片复染 2 分钟。对于阴性对照,使用正常山羊血清代替一抗孵育切片。两名经验丰富的病理学家独立地对图像和染色进行了盲评。

1.2.2 细胞培养 肝细胞癌细胞系 HCCLM3 和 SNU-423 购自 BeNa Culture Collection Co., Ltd (中

国河北)。HCCLM3 细胞在 90% DMEM-H 完全培养基中维持,补充 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS),在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的条件下培养。SNU-423 细胞在 90% RPMI-1640 完全培养基中维持,补充 10% FBS,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的条件下培养。细胞系通过短串联重复序列分析进行鉴定。

1.2.3 质粒构建和细胞转染 含有 ZMIZ1 基因敲除序列的慢病毒,由上海懿贝瑞生物医药科技有限公司 (中国上海) 使用慢病毒载体系统构建。对于细胞转染,目标细胞用胰蛋白酶消化并制备成细胞悬液,然后以每孔 2×10^5 个细胞的密度置于 6 孔板中。加入慢病毒以转染细胞。转染 18 小时后,用新鲜培养基替换原有培养基。孵育 72 小时后,观察并计算荧光和转染效率。

1.2.4 逆转录聚合酶链式反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 按照制造商的说明 (Sigma, 美国), 使用 TRIzol[®] 试剂从细胞中提取总 RNA。SuperScript First-Strand Synthesis System (Vazyme, 中国) 进行 cDNA 合成。AceQ qPCR SYBR Green Master Mix (Vazyme, 中国) 在 95 $^{\circ}\text{C}$ 下进行 1 分钟的 PCR 扩增。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算相对表达水平,并以 GAPDH 水平为参照。

1.2.5 蛋白质印迹 (western blot, WB) 使用 BCA 蛋白测定试剂盒 (HyClone-Pierce, 美国) 提取总蛋白。将细胞置于冰上,与 IP 裂解缓冲液和苯甲基磺酰氟混合。离心后,收集上清液,并与上样缓冲液混合。随后,将 20 μg 的蛋白在 10% 的 SDS-PAGE 凝胶上分离,并使用 SDS-Acryl/Bis 蛋白电泳系统 (Tanon, 中国) 将其转移到聚偏二氟乙烯膜上。用含有 0.05% Tween 20 的 Tris 缓冲盐水的 5% 脱脂牛奶将膜封闭 1 小时。然后,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下将它们与各种一抗孵育过夜,随后在室温下与辣根过氧化物酶偶联的羊抗兔或羊抗鼠二抗孵育 1 小时。使用增强化学发光试剂盒 (GE, 美国) 对目标蛋白进行可视化。

1.2.6 CCK8 测定 采用 CCK8 试剂盒检测肿瘤细胞的增殖率。将 HCCLM3 和 SNU-423 细胞用胰蛋白酶消化,然后以每孔 2.5×10^3 个细胞的密度接种到 96 孔板上,每孔加入 200 μl 完全培养基。随后,向每孔中加入 10 μl CCK8 溶液 (Sigma, 美国)。最后,在 450 nm 波长处记录吸光度值。

1.2.7 Celigo 细胞计数检测 当 HCCLM3 细胞达到 90% 融合度时,用慢病毒质粒对其进行转染。将转染后的 HCCLM3 细胞以每孔 2.0×10^3 个细胞的

密度接种到 96 孔板中,并在补充了 10% 胎牛血清的 DMEM-H 完全培养基中,于 37 °C、5% CO₂ 的条件下培养 5 天。每三天更换一次培养基。在第 1、2、3、4 和 5 天,使用 Celigo 图像细胞计数仪 (Nexcelom, 美国) 进行细胞计数,随后对数据进行分析。

1.2.8 流式细胞术 一旦转染后的 HCCLM3 和 SNU-423 细胞达到 85% 融合度,我们就会进行流式细胞术以检测细胞凋亡。收集上清液,用 D-Hanks 溶液洗涤细胞。用胰蛋白酶消化并离心后,弃去上清液。用 D-Hanks 溶液洗涤细胞沉淀,离心并收集。然后用 1×结合缓冲液洗涤细胞,再次离心并重新悬浮。随后,向细胞悬浮液中加入 5 μl 的 annexin V-APC,在 4 °C 下黑暗中孵育 15 分钟。之后,加入 5 μl 的碘化丙啶,在 4 °C 下黑暗中孵育 10 分钟。然后通过流式细胞术分析染色细胞的早期和晚期凋亡情况。

1.2.9 集落形成实验 从每个实验组中转染的 HCCLM3 和 SNU-423 细胞使用胰蛋白酶进行分离,随后重新悬浮并计数。在 6 孔板中,每孔接种 500 个细胞,并在补充了 10% 胎牛血清的培养基中培养。经过 13 天的孵化期后,用 4% 的多聚甲醛处理孔洞进行固定,持续 30 分钟,随后用 GIEMSA 溶液染色 20 分钟。使用倒置显微镜 (Olympus) 观察并量化包含超过 50 个细胞的集落。

1.2.10 细胞划痕实验 通过胰蛋白酶消化法将转染后的 HCCLM3 和 SNU-423 细胞酶解分离,随后将其重悬于 DMEM 培养基中,并以每孔 5×10⁴ 个细胞的密度接种至 6 孔板上。在 37 °C 下培养 24 小时,使用划痕仪 (V&P Scientific) 在融合的单层细胞上制造标准化划痕。在基线 (0 小时) 以及划痕后 24 小时和 48 小时,使用荧光显微镜 (Olympus, 放大 200 倍) 获取显微镜图像。

1.2.11 Transwell 测定 将转染后的 HCCLM3 和 SNU-423 细胞接种于 24 孔板中 (每孔 5×10⁴ 个细胞),在 37 °C 下孵育 24 小时,随后用胰蛋白酶消化,并用 DMEM 培养基重新悬浮。每个 Transwell 内室加入 100 μl 细胞悬液,而下室则加入 600 μl 富含 30% 胎牛血清的培养基。将装置在 37 °C 下孵育 16 小时以促进细胞迁移,然后使用 4% 的多聚甲醛固定迁移的细胞,并在室温下用 0.1% 的结晶紫溶液进行染色。在荧光显微镜 (Olympus, 放大 200 倍) 下,对每个孔随机选取五个视野进行成像,以量化迁移的细胞数量。

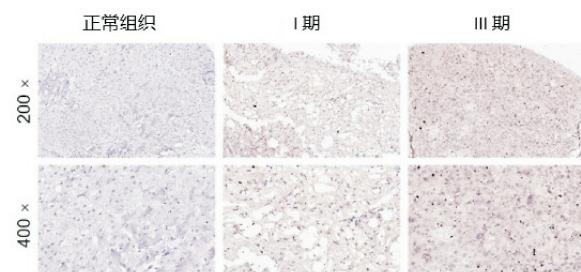
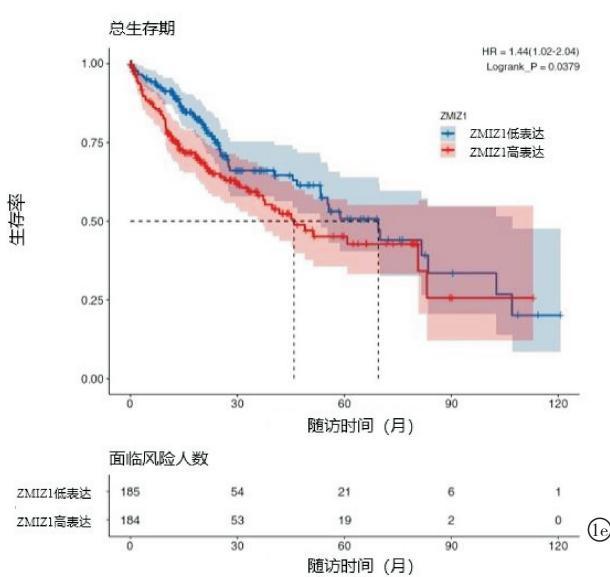
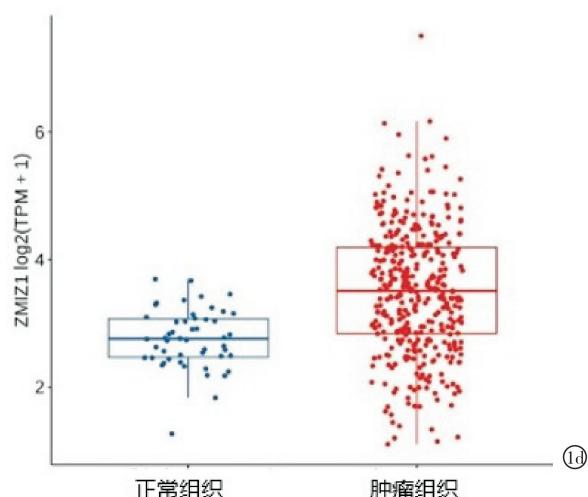
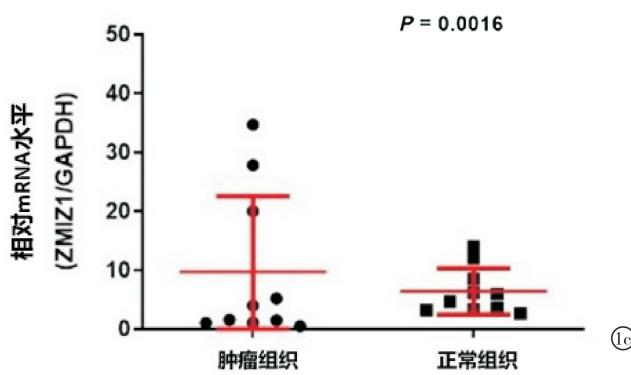
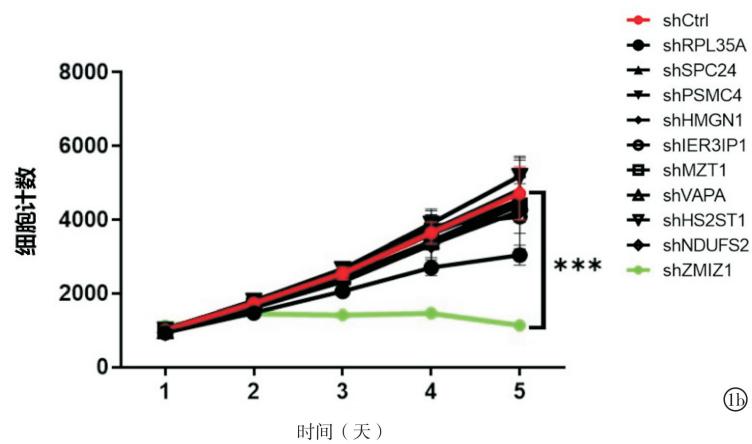
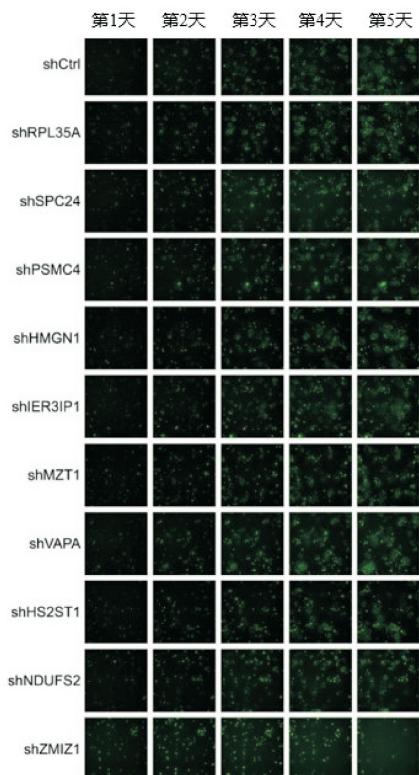
1.3 统计学方法 使用 GraphPad Prism 8.0 软件 (GraphPad Software Inc. 美国) 进行数据分析。计量资料以均数±标准差表示,两组间比较采用配对 t 检验或单因素方差分析后进行 Bonferroni 事后检验分析来研究。并采用 Mann-Whitney U 检验和皮尔逊相关性分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ZMIZ1 在 HCC 中的表达及与患者生存期的关系 基于来自癌症基因组图谱 (TCGA) 的 HCC 组织和正常组织的转录组测序数据,确定了 10 个候选基因,这些基因在肿瘤组织中高表达,且与不良预后显著相关 (图 1、图 2)。其中, ZMIZ1 在 HCCLM3 细胞中的内源性表达最高 (图 3)。此外,我们构建了敲低这 10 个候选基因的 HCCLM3 细胞,并进行 Celigo 细胞计数分析,以评估对细胞增殖的影响。ZMIZ1 敲低对细胞增殖的抑制作用最为显著,因此选择 ZMIZ1 作为本研究的主要关注基因 (图 1a、b)。从 10 对肿瘤和正常组织样本中提取的 mRNA 进行 qPCR,进一步验证了 ZMIZ1 的表达。结果证实,ZMIZ1 在肿瘤组织中显著上调 (图 1c)。TCGA 数据的生物信息学分析证实了这些发现,显示 ZMIZ1 在肿瘤组织中表达升高 (图 1d),且与患者总体生存呈负相关 (图 1e)。使用组织微阵列进行的免疫组织化学染色表明,与正常组织相比,ZMIZ1 在肿瘤组织中显著过表达 (图 1f)。表 1 数据显示,ZMIZ1 在肿瘤组织和正常组织中的表达水平存在显著差异 (P<0.001)。病理相关性分析表明,ZMIZ1 的高表达与更晚期的肿瘤分期和分级显著相关 (图 1f)。表 2 显示,ZMIZ1 的表达水平与性别无显著关系 (P=0.437),而与肿瘤分级、临床分期和肿瘤分期显著呈正相关 (P=0.005、0.020、0.032)。Kaplan-Meier 生存分析进一步探究 ZMIZ1 表达水平与患者生存期之间的关系,结果显示 ZMIZ1 的高表达与患者生存期显著呈负相关 (图 1g)。为选择合适的细胞模型进行进一步实验,我们评估了几个肿瘤细胞系 (HL-7702、BEL-7402、Hep-3B、HCCLM3、SNU-423) 中 ZMIZ1 的内源性表达。HCCLM3 和 SNU-423 细胞中 ZMIZ1 的表达相对较高,因此它们适合作为后续功能研究的模型 (图 1h)。

表 1 ZMIZ1 在 HCC 组织和正常组织中的表达模式 [n(%)]

ZMIZ1 表达水平	肿瘤组织	正常组织
低	40(53.6)	36(100.0)
高	36(47.4)	0(0)



⑪

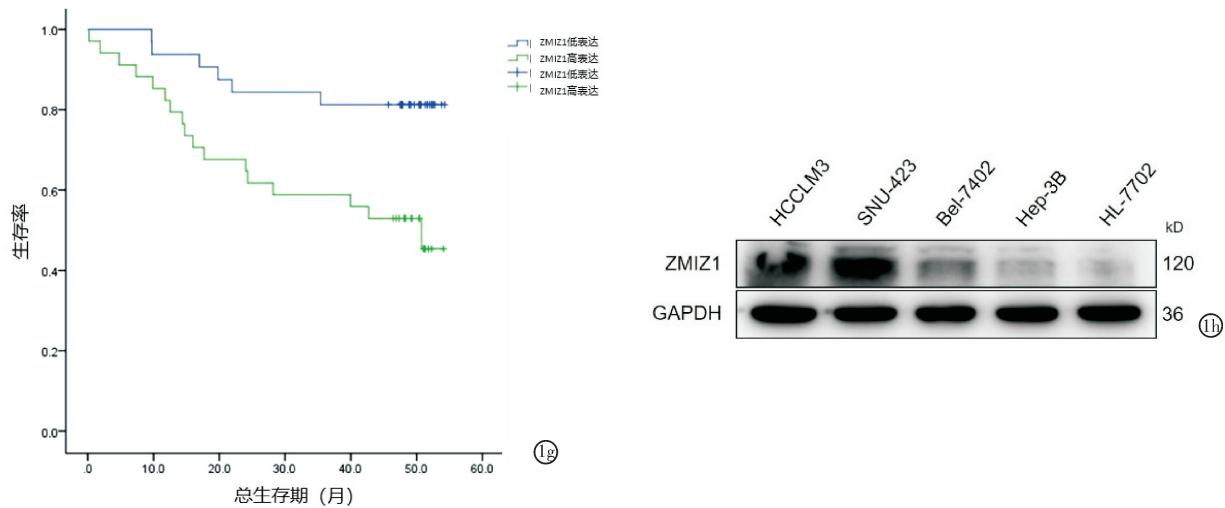
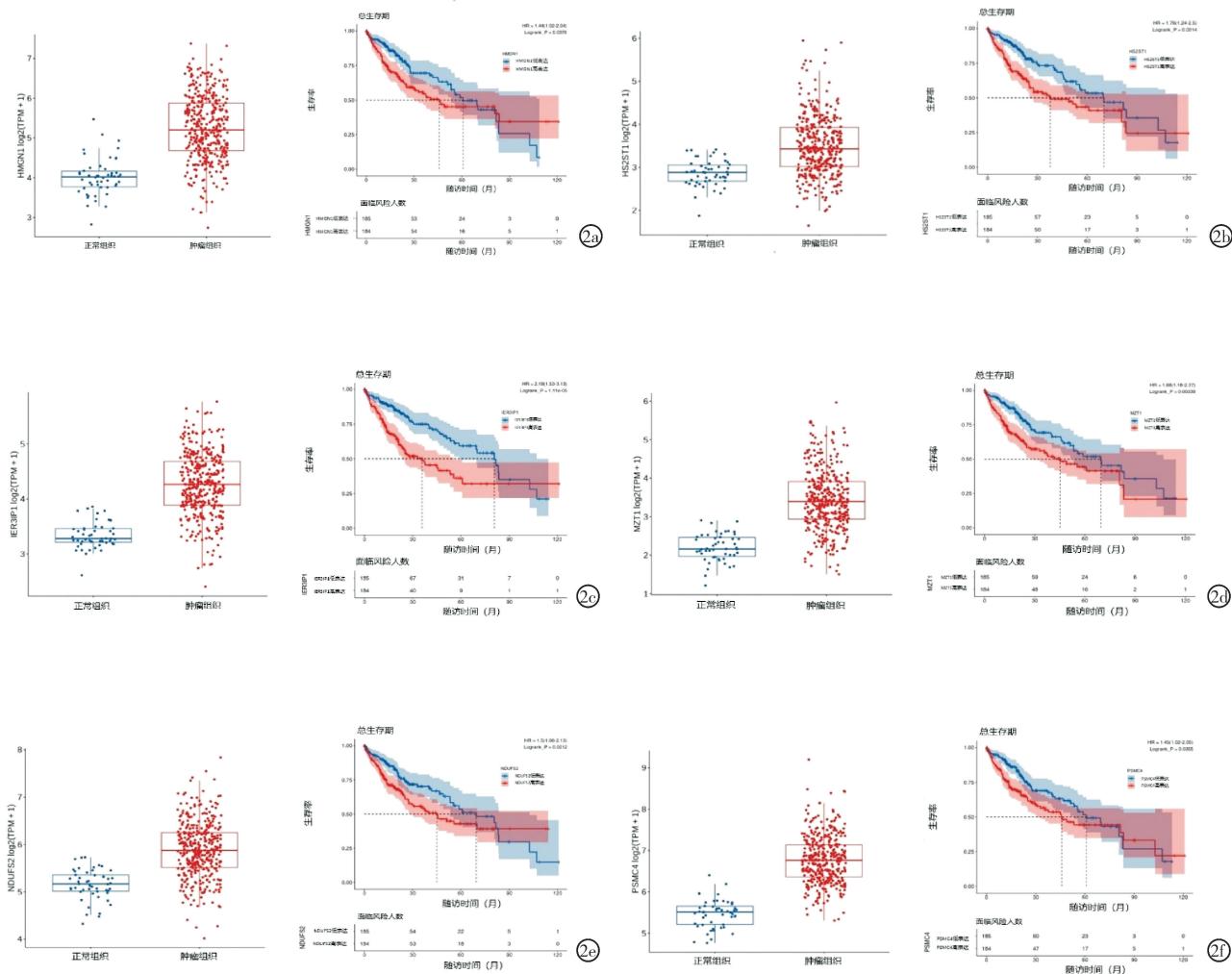


图 1 ZMIZ1 在肝细胞癌 (HCC) 中的表达 a ~ b; celigo 细胞计数分析结果显示 ZMIZ1 敲低对 HCC 细胞增殖的抑制作用最为显著; c; qPCR 结果显示 ZMIZ1 在肿瘤组织中显著上调; d; 基于 TCGA-LIHC 数据库的生物信息学分析显示 ZMIZ1 在肿瘤组织中表达升高; e; 基于 TCGA-LIHC 数据库收集的预后信息, Kaplan-Meier 生存分析结果显示 ZMIZ1 表达升高与 HCC 患者总生存期呈负相关; f; 对组织微阵列进行免疫组织化学染色, ZMIZ1 的高表达与肿瘤分期呈正相关; g; 基于组织微阵列携带的预后信息, Kaplan-Meier 生存分析结果显示 ZMIZ1 高表达与患者生存期呈负相关; h; 蛋白质印迹实验



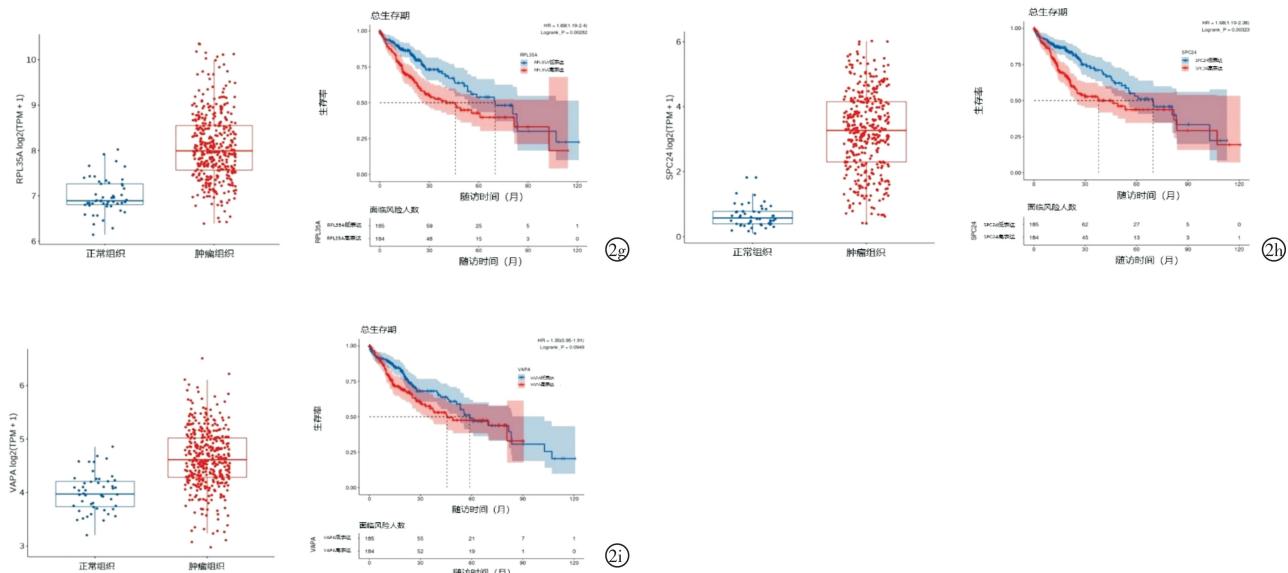


图 2 9 种候选基因在肿瘤组织中的表达 a:HMGN1 在肿瘤组织中表达升高,与 HCC 患者总生存期呈负相关;b: HS2ST1 在肿瘤组织中表达升高,与 HCC 患者总生存期呈负相关;c:IER3IP1 在肿瘤组织中表达升高,与 HCC 患者总生存期呈负相关;d: MZT1 在肿瘤组织中表达升高,与 HCC 患者总生存期呈负相关;e:NDUFS2 在肿瘤组织中表达升高,与 HCC 患者总生存期呈负相关;f:PSMC4 在肿瘤组织中表达升高,与 HCC 患者总生存期呈负相关;g:RPL35A 在肿瘤组织中表达升高,与 HCC 患者总生存期呈负相关;h:SPC24 在肿瘤组织中表达升高,与 HCC 患者总生存期呈负相关;i:VAPA 在肿瘤组织中表达升高,与 HCC 患者总生存期呈负相关。

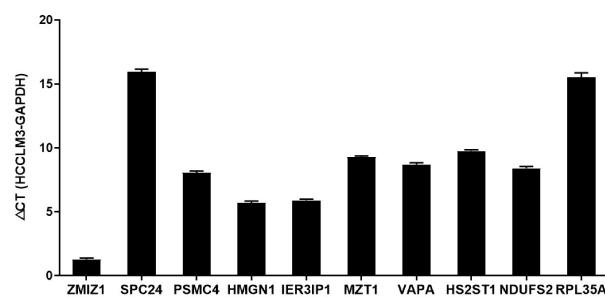


图 3 10 个候选基因在 HCCLM3 细胞中的表达水平

2.2 ZMIZ1 基因敲低抑制 HCC 细胞的恶性表型
为了研究 ZMIZ1 基因对 HCC 细胞恶性表型的调控作用,我们构建了针对 ZMIZ1 的 shRNA,并在 HCCLM3 和 SNU-423 细胞系中建立了 ZMIZ1 敲低细胞模型。通过 qPCR 和 WB 分析确认了敲低效率,验证了 ZMIZ1 敲低模型的成功构建(图 4a)。我们分别利用 CCK8 法、流式细胞术、集落形成法、细胞划痕实验以及 Transwell 移动实验来验证敲低 ZMIZ1 对 HCC 细胞增殖、凋亡、克隆以及迁移等生物学行

为的影响。使用 CCK8 法评估敲低 ZMIZ1 对 HCC 细胞增殖的影响,结果显示敲低 ZMIZ1 5 天后 HCCLM3 和 SNU-423 细胞活力较对照组明显下降,表明 ZMIZ1 敲低显著抑制了 HCC 细胞的增殖(图 4b)。使用流式细胞术分析敲低 ZMIZ1 对 HCC 细胞凋亡的影响,结果显示 ZMIZ1 敲低显著促进了 HCC 细胞系的凋亡(图 4c)。采用集落形成法检测敲低 ZMIZ1 后对 HCC 细胞的克隆形成能力的影响,结果显示 ZMIZ1 敲低后 HCC 细胞集落形成数量较对照组显著减少,表明 ZMIZ1 敲低显著抑制了 HCC 细胞的克隆能力(图 4d)。此外,通过细胞划痕实验(图 4e)和 Transwell 移动法(图 4f)来评估细胞迁移,细胞划痕实验结果显示敲低 ZMIZ1 后 HCC 细胞 24h 移动率明显降低,Transwell 移动实验结果显示敲低 ZMIZ1 后 HCC 细胞的迁移数量明显减少,这两种方法均表明, ZMIZ1 敲低显著抑制了 HCC 细胞的迁移能力。

表 2 不同 ZMIZ1 表达水平的肝癌患者一般资料比较 (n)

特征		例数(n=76)	低 ZMIZ1 表达水平(n=40)	高 ZMIZ1 表达水平(n=36)	P
性别	男	63	34	29	0.437
	女	12	5	7	
肿瘤分级	II 级	35	24	11	0.005
	III 级	39	14	25	
临床分期	I 期	25	17	8	0.020
	II 期	34	17	17	
	III 期	15	5	10	

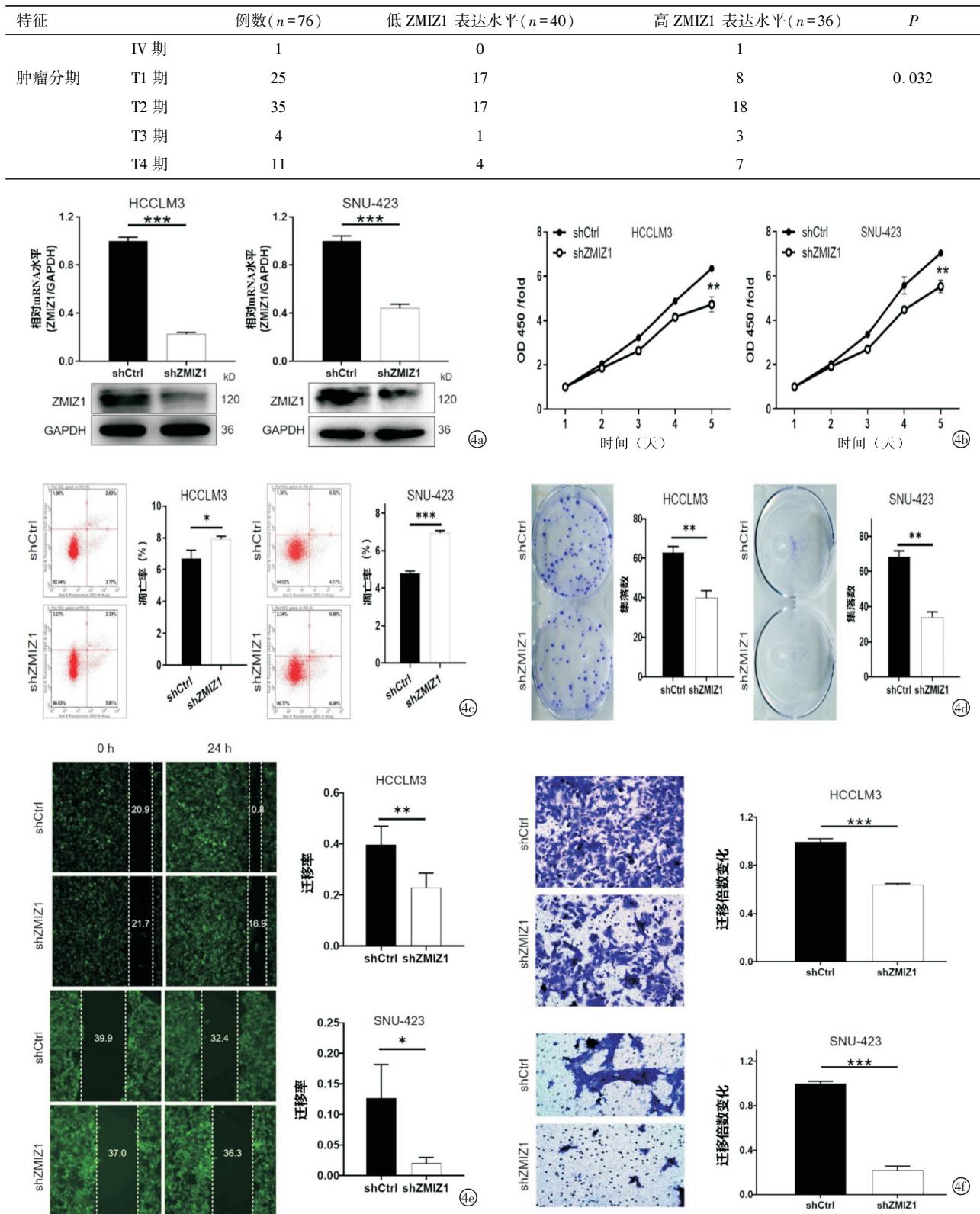


图 4 ZMIZ1 基因敲低抑制了 HCC 细胞的恶性表型 a:qPCR 和 WB 结果显示敲低 ZMIZ1 显著抑制了 ZMIZ1 的 mRNA 和蛋白质的表达,验证了 ZMIZ1 基因敲低 HCC 细胞模型的构建;b:CCK8 实验结果显示敲低 ZMIZ1 5 天后, HCC 细胞的活力显著降低;c:流式细胞术结果显示 ZMIZ1 敲低显著提高了 HCC 细胞的凋亡率;d:集落形成实验结果显示 ZMIZ1 敲低显著减少了 HCC 细胞的集落形成数量;e~f:细胞划痕实验(E)和 Transwell 试验(F)结果显示 ZMIZ1 敲低显著降低了 HCC 细胞的 24h 迁移率和迁移数量。* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

3 讨论

ZMIZ1 是一种具有非冗余功能的共调节因子,

含有 MIZ 结构域, 将其与活化 STAT 蛋白抑制剂 (PIAS) 家族的成员连接起来, 使其能够发挥 SUMO

E3 连接酶的作用。ZMIZ1 刺激各种信号通路的活性,包括 AR、P53、SMAD3/4 和 NOTCH1 通路,并与 BAF 染色质重塑复合物相互作用^[10]。由于其分子的多功能性,ZMIZ1 在胚胎发育和人类疾病中起着至关重要的作用。它已被确定为几种自身免疫性疾病和其他疾病的风险等位基因。在人类肿瘤中,ZMIZ1 的功能备受关注。Zhao 等^[15]通过结合 ENCODE 数据和 RNA-seq 分析,提出了雌激素受体 (Estrogen Receptor,ER) 和 ZMIZ1 相互作用,通过新的 ZMIZ1-ER-E2F2 信号轴在细胞周期基因亚群中实现有效的雌激素反应,在乳腺癌中起着重要作用。他们还观察到,高 ZMIZ1 表达预示着较差的患者预后,支持其临床应用潜力。Pang 等^[16]的研究证实 ZMIZ1 通过调节 NOTCH 信号传导从而促进舌鳞状细胞癌的侵袭和转移,并抑制其凋亡。Rakowski^[17] 和 Pinnell^[10] 等发现 ZMIZ1 与活化 NOTCH1 相互作用,促进 C-MYC 的转录和活性,从而诱导急性 T 淋巴细胞白血病。Huang 等^[18] 揭示了 ZMIZ1 通过增加 SIRT1 的泛素化来下调 SIRT1 的表达,抑制 SIRT1 对 FOXO3a 的脱乙酰化,通过调控 SIRT1-FOXO3a 轴,在结肠癌细胞增殖、凋亡和自噬方面发挥着关键作用。在骨肉瘤中,长非编码 RNA ZMIZ1-AS1 招募 RNA 结合蛋白 PTBP1,稳定和上调 ZMIZ1 mRNA,从而增强 ZMIZ1 对骨肉瘤细胞存活率、增殖、迁移和侵袭的调节作用^[19]。另有文献报道 ZMIZ1 还可诱导皮肤鳞状细胞癌的发生^[20]。此外,最近关于 TET3 在癌症中调节作用的研究强调,TET3 介导 ZMIZ1 启动子的 DNA 甲基化,促进其与 NOTCH1 蛋白的相互作用,从而激活 c-Myc 转录,导致巨噬细胞 M2 极化,并增强 HCC 细胞的恶性表型^[21]。

然而,ZMIZ1 在 HCC 中的具体调控作用尚不清楚。本研究表明,在 HCC 细胞中敲低 ZMIZ1 可显著抑制其恶性表型,即抑制了 HCC 细胞的增殖、迁移以及克隆能力,并促进其凋亡,这表明 ZMIZ1 在 HCC 进展中起着调节作用。ZMIZ1 在 HCC 组织中的表达上调及其与预后的负相关进一步支持了这一观点。ZMIZ1 在 HCC 细胞中高表达以及其对 HCC 细胞恶性表型的促进作用,提示其可能成为肝癌诊断及治疗的重要靶点。此外,我们还发现 ZMIZ1 高表达与更晚期的肿瘤分级和分期显著相关。这突显了 ZMIZ1 作为 HCC 的潜在治疗靶点,并强调了进一步研究其在 HCC 中的机制作用和临床意义的必要性。不过需要指出的是,本实验存在一些不足之处,我们未能构建 ZMIZ1 过表达模型以及小鼠模型进一步验证 ZMIZ1 过表达对 HCC 细胞

恶性表型的影响以及其在体内环境下的作用。此外,我们缺乏对完整信号通路的全面认识。后续我们将进一步研究 ZMIZ1 的上下游信号通路,即 ZMIZ1 的表达受何影响,以及 ZMIZ1 通过何种机制来调控 HCC 细胞的恶性表型,从而构建一条完整的信号通路。

综上,ZMIZ1 在肝细胞癌中显著上调,并与不良预后相关。功能测定表明,ZMIZ1 促进 HCC 细胞增殖、迁移和存活,敲低 ZMIZ1 则抑制这些恶性表型。这些实验结果提示 ZMIZ1 在 HCC 进展中起着至关重要的作用,并为 HCC 治疗提供了潜在的治疗靶点。

【参考文献】

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2022[J]. CA,2022,72(1):7-33.
- [2] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA,2021,71(3):209-249.
- [3] Xia C, Dong X, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chinese Medical Journal,2022,135(5):584-590.
- [4] Chidambaranathan-Reghupathy S, Fisher PB, Sarkar D. Hepatocellular carcinoma (HCC) : Epidemiology, etiology and molecular classification[J]. Adv Cancer Res,2021,149:1-61.
- [5] Pessôa M. Biomarkers in Hepatocellular Carcinoma: Diagnosis, Prognosis and Treatment Response Assessment[J]. Cells,2020,9: 1-26.
- [6] Sugawara Y, Hibi T. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma[J]. BioScience Trends,2021,15(3):138-141.
- [7] Tekupalli R, Anand S, Ramachandregowda S, et al. Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma-An Updated Review[J]. Crit Rev Oncog, 2021,26(1):11-20.
- [8] Greten TF, Lai CW, Li G, et al. Targeted and Immune-Based Therapies for Hepatocellular Carcinoma[J]. Gastroenterology,2019,156 (2):510-524.
- [9] Wang T, Zhang Q, Wang N, et al. Research Progresses of Targeted Therapy and Immunotherapy for Hepatocellular Carcinoma[J]. Current Medicinal Chemistry,2021,28(16):3107-3146.
- [10] Pinnell N, Yan R, Cho HJ, et al. The PIAS-like Coactivator Zmiz1 Is a Direct and Selective Cofactor of Notch1 in T Cell Development and Leukemia[J]. Immunity,2015,43(5):870-883.
- [11] Li X, Zhu C, Tu WH, et al. ZMIZ1 preferably enhances the transcriptional activity of androgen receptor with short polyglutamine tract[J]. PLoS One,2011,6(9):e25040
- [12] Alghamdi TA, Krentz NAJ, Smith N, et al. Zmiz1 is required for mature β -cell function and mass expansion upon high fat feeding[J]. MolMetab,2022,66:101621.
- [13] Lee J, Beliakoff J, Sun Z. The novel PIAS-like protein hZimp10 is a transcriptional co-activator of the p53 tumor suppressor[J]. Nucleic Acids Res,2007,35(13):4523-4534.

富血小板血浆治疗大鼠卵巢早衰的疗效研究

李若芃^{1,2}, 刘淼^{1,2}, 江文静², 谢蕙霞², 吕群^{1,2}

1. 西南医科大学临床医学院, 四川 泸州 646000; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院(电子科技大学附属医院)生殖中心, 四川 成都 610072

【摘要】目的 通过建立卵巢早衰(POF)大鼠模型探讨富血小板血浆(PR)对大鼠POF的改善作用。**方法** 将33只雌性大鼠,随机分为正常组和模型组,模型组腹腔注射顺铂建立POF大鼠模型。将POF模型大鼠随机分为POF组和PR组,PR组大鼠腹腔注射PR治疗,其余两组注射等体积灭菌水。PR治疗后第5、10、20天各组随机取3只大鼠处死,采用ELISA法来检测大鼠血清中雌二醇(E₂)、促卵泡刺激素(FSH)和抗缪勒管激素(AMH)的变化。采用HE染色处理大鼠卵巢标本,对卵巢组织进行形态学及各级卵泡计数。**结果** PR组治疗后与POF组相比体重增加,E₂、AMH水平上升,FSH水平下降,卵巢各级卵泡数量增多,闭锁卵泡数量减少,颗粒细胞层增厚($P<0.05$);但在PR治疗后第5天、第10天尚未恢复到正常水平($P<0.05$),在治疗后第20天PR组大鼠各项指标均恢复到正常大鼠水平,与正常组对比差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 通过注射PR对POF大鼠治疗有效,且PR治疗具有时间依赖性,在治疗第20天时,POF大鼠卵巢功能基本上恢复至正常水平。

【关键词】 富血小板血浆;大鼠;卵巢早衰;腹腔注射

【中图分类号】 R711.6 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-6170(2025)06-0061-06

Study on the therapeutic effect of platelet-rich plasma on premature ovarian failure in rats

LI Ruo-peng^{1,2}, LIU Miao^{1,2}, JIANG Wen-jing², Xie Hui-xia², LV Qun^{1,2} 1. School of Clinical Medicine, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Department of Reproductive Center, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital(Affiliated Hospital of University of Electronic Science and Technology of China), Chengdu 610072, China

【Corresponding author】 LV Qun

【Abstract】 Objective To investigate the ameliorative effect of platelet-rich plasma (PR) on premature ovarian failure (POF) in rats by establishing a rat model of POF. **Methods** Thirty-three female rats were randomly divided into a normal group and a modeling group. The modeling group was intraperitoneally injected with cisplatin to establish the POF rat model. The POF rats were randomly divided into a POF group and a PR group. The PR group was intraperitoneally injected with PR. The remaining two groups were injected with equal volumes of sterilized water. Three rats were randomly taken from each group on the 5th, the 10th, and the 20th day after the PRP intervention. ELISA was used to detect the changes of E2, FSH and AMH in rat serum. The ovary specimens of the rats were processed by HE staining for morphology and follicle counting at all levels. **Results** Compared with the POF group, the PR group had increased body weight, increased E2 and AMH levels, decreased FSH levels, increased number of ovarian follicles at all levels, decreased number of atretic follicles, and thickened granulosa cell layer ($P < 0.05$). However, the indicators of the rats in the PR group had not returned to normal levels on the 5th and the 10th day after PRP treatment ($P < 0.05$). On the 20th day after treatment, all indicators of the rats in the PR group returned to the levels of normal rats, and there was no statistically significant difference compared with the normal group ($P > 0.05$). **Conclusions** The treatment of rats with POF by PRP injection was effective. PRP treatment is time-dependent. On the 20th day of treatment, the ovarian function of POF rats basically return to normal

- [14] Li X, Thyssen G, Beliakoff J, et al. The Novel PIAS-like Protein hZmp10 Enhances Smad Transcriptional Activity[J]. J Biol Chem, 2006, 281 (33):23748-23756.
- [15] Zhao W, Rose SF, Blake R, et al. ZMIZ1 enhances ER α -dependent expression of E2F2 in breast cancer[J]. J Mol Endocrinol, 2024, 73 (1):e230133.
- [16] Pang Y, Sun Y, Wu Y, et al. Targeting the ZMIZ1-Notch1 signaling axis for the treatment of tongue squamous cell carcinoma[J]. Sci Rep, 2024, 14 (1):13577.
- [17] Rakowski LA, Garagiola DD, Li CM, et al. Convergence of the ZMIZ1 and NOTCH1 pathways at C-MYC in acute T lymphoblastic leukemias[J]. Cancer Res, 2013, 73 (2):930-941.
- [18] Huang M, Wang J, Zhang Z, et al. ZMIZ1 Regulates Proliferation, Autophagy and Apoptosis of Colon Cancer Cells by Mediating Ubiq-

uitin-Proteasome Degradation of SIRT1[J]. Biochem Genet, 2024, 62 (4):3245-3259.

- [19] Zhou Y, Jin Q, Chang J, et al. Long non-coding RNA ZMIZ1-AS1 promotes osteosarcoma progression by stabilization of ZMIZ1[J]. Cell Biol Toxicol, 2022, 38 (6):1013-1026.

- [20] Rogers LM, Riordan JD, Swick BL, et al. Ectopic expression of Zmiz1 induces cutaneous squamous cell malignancies in a mouse model of cancer[J]. J Invest Dermatol, 2013, 133 (7):1863-1869.
- [21] Liu J, Sun T, Yin L. ZMIZ1 Upregulation of TET3-Mediated-Hydroxymethylation Induces M2 Polarization of Kupffer Cells in Hepatocellular Carcinogenesis by Mediating Notch1/c-Myc Signaling[J]. Lab Invest, 2023, 103 (12):100264.

(收稿日期:2024-11-25;修回日期:2025-03-05)

(本文编辑:彭羽)