·论著·

PLK1在不同*TP53*基因型宫颈癌细胞中的作用

孟繁杰，周丽，邢思宁，于卉影
（中国人民解放军北部战区总医院基础医学实验室，沈阳 110003）

摘要 目的 探讨Polo样激酶1（PLK1）在不同*TP53*基因型宫颈癌细胞中的作用。**方法** 用0（对照组）、2.5（低浓度组）、5 nmol/L（高浓度组）PLK1抑制剂GSK461364分别处理*TP53*突变型宫颈癌C33a细胞和*TP53*野生型宫颈癌SiHa细胞24 h，检测细胞增殖、细胞周期、细胞干性和细胞周期相关蛋白表达变化。结合GEPIA和TCGA数据库，分析PLK1表达水平及其临床意义。**结果** GSK461364处理后，C33a细胞增殖被抑制，C33a细胞和SiHa细胞均发生G_2期细胞周期阻滞，细胞成球能力均下降。C33a细胞中，低浓度组、高浓度组细胞周期相关蛋白P-cdc25c、cdc25c、E2F-1表达显著下调（$P < 0.05$），高浓度组转录因子FoxO1表达水平显著降低（$P < 0.05$）。SiHa细胞中，高浓度组细胞周期相关蛋白P-cdc25c、E2F-1表达显著下调（$P < 0.05$），转录因子FoxO1表达水平显著降低（$P < 0.05$）。PLK1在宫颈癌患者中呈高表达；PLK1低表达的宫颈癌患者与PLK1高表达的宫颈癌患者相比，FoxO1低表达的宫颈癌患者与FoxO1高表达的宫颈癌患者相比，无进展生存期均显著延长（$P < 0.05$）。**结论** PLK1抑制剂影响宫颈癌细胞增殖、细胞周期、细胞成球能力，且在不同*TP53*基因型的宫颈癌细胞中作用不同。

关键词 Polo样激酶1；宫颈癌；细胞增殖；细胞周期
中图分类号 R737 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646（2026）08-0687-06
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20260716.1649.002
DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2026.08.003

Effect of PLK1 on cervical cancer cells with different *TP53* genotypes

MENG Fanjie，ZHOU Li，XING Sining，YU Huiying
（Laboratory of Basic Medicine，General Hospital of Northern Theater Command，Shenyang 110003，China）

Abstract Objective To investigate the role of Polo-like kinase 1（PLK1）in cervical cancer cells with different *TP53* genotypes. **Methods** C33a cells（*TP53* mutant type）and SiHa cells（*TP53* wild type）were treated with the PLK1 inhibitor GSK461364 at 0 nmol/L（control group），2.5 nmol/L（low-concentration group），or 5 nmol/L（high-concentration group）for 24 h. Cell proliferation，cell cycle distribution，stemness，and the expression of cell cycle-related proteins were assessed. GEPIA and TCGA databases were used to analyze PLK1 expression and its clinical significance. **Results** GSK461364 inhibited C33a cell proliferation，induced G_2-phase arrest in both cell lines，and attenuated spheroid formation capacity. In C33a cells，both the low- and high-concentration groups showed significantly decreased expression of P-cdc25c，cdc25c，and E2F-1（$P < 0.05$），whereas FoxO1 expression was significantly decreased only in the high-concentration group（$P < 0.05$）. In SiHa cells，the high-concentration group showed significantly downregulated expression of P-cdc25c，E2F-1，and FoxO1（$P < 0.05$）. PLK1 was highly expressed in cervical cancer. Patients with low PLK1 or FoxO1 expression exhibited significantly longer progression-free survival than those with high expression（$P < 0.05$）. **Conclusion** PLK1 inhibition suppressed cell proliferation，induced cell cycle arrest，and impaired spheroid formation in cervical cancer cells，with differential effects according to *TP53* genotype.

Keywords Polo-like kinase 1；cervical cancer；cell proliferation；cell cycle

宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤之一，严重威胁女性的健康和生命[1-2]。目前，宫颈癌的筛查和治疗取得了一些进展，但晚期和复发性宫颈癌患者的治疗效果并不理想[3-5]，亟需找到新的治疗靶点和策略。*TP53*基因作为细胞内重要的抑癌基因，在调控细胞周期、诱导细胞凋亡和维持基因组稳定等方面发挥重要作用[6]。然而，在多种肿瘤中*TP53*基因多发生突变或失活，导致其功能丧失，促使肿瘤细胞无限增殖、逃避凋亡以及侵袭和转移能力增强[7]。

近年来，Polo样激酶1（Polo-like kinase 1，PLK1）成为肿瘤领域的研究热点。研究[8]表明，PLK1在多种肿瘤组织中呈高表达状态，并且与肿瘤的恶性程度、侵袭和转移能力以及患者预后不良密切相关。本研究探讨了PLK1在不同*TP53*基因型宫颈癌细胞中的作用，旨在深入探究PLK1抑制剂对宫颈癌细

基金项目：辽宁省科学技术计划（2023-MS-037）；沈阳市科技计划（24-214-3-173）
作者简介：孟繁杰（1988-），女，主管技师，硕士.
通信作者：于卉影，E-mail：hyingy@sina.com
收稿日期：2025-08-13
网络出版时间：2026-07-17 13:13:27

胞增殖、细胞周期和细胞成球能力的影响，及其在不同*TP53*基因型下的差异性作用。通过对宫颈癌细胞进行体外实验，并结合基因表达谱交互式分析（Gene Expression Profiling Interactive Analysis，GEPIA）和癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas，TCGA）对临床患者的数据进行分析，为宫颈癌的分子机制研究提供新的见解。

1　材料与方法

1.1　主要试剂

DMEM/F12培养基，购自上海源培生物科技股份有限公司；胎牛血清，购自天津康源生物技术有限公司；PLK1抑制剂（GSK461364），购自美国Selleck公司；二甲基亚砜，购自北京索莱宝科技有限公司；胰蛋白酶和碘化丙啶，购自美国Sigma-Aldrich公司。

1.2　细胞和分组

*TP53*突变型（*TP53*-mut）宫颈癌C33a细胞和*TP53*野生型（*TP53*-wt）宫颈癌SiHa细胞，均购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。C33a和SiHa细胞均用含10%胎牛血清的DMEM/F12培养液，于37 ℃、饱和湿度的培养箱中培养，细胞处于80%融合时进行传代，取对数生长期细胞用于实验。

将C33a细胞（2×10^4/cm^2）和SiHa细胞（2×10^4/cm^2）分别接种于培养瓶或培养板中，培养 24 h，细胞贴壁。用二甲基亚砜（对照组）、2.5 nmol/L GSK461364（低浓度组）和5 nmol/L GSK461364（高浓度组）处理细胞 24 h，弃去含药物培养基，进行后续实验。

1.3　CCK-8法

将C33a细胞和SiHa细胞分别接种于96孔板中，每组3个复孔。分别在24、48、72 h时每孔加入10 μL CCK-8溶液避光孵育 4 h，使用多功能酶标仪（美国ThermoFisher Scientific公司）检测波长450nm处的吸光度。

1.4　流式细胞术

收集对照组、低浓度组和高浓度组细胞，每组5×10^5个细胞，在80%冰甲醇中，于–20 ℃固定24 h，每管加入550 μL碘化丙啶染液，室温避光染色30 min，采用流式细胞术分析细胞周期。

1.5　细胞成球实验

将处于对数生长期的细胞接种至超低吸附96孔板中，培养48 h，半量换液，继续培养72 h。在光学显微镜下观察和拍照。

1.6　Western blotting

使用超声波破碎仪裂解各组细胞，离心后提取细胞蛋白，应用BCA法测定各组蛋白的浓度，SDS-PAGE后转印至PVDF膜，使用脱脂奶粉室温封闭2 h，一抗4 ℃摇床过夜，二抗室温孵育2 h，ECL试剂发光显影。

1.7　生物信息学分析

利用GEPIA数据库（http://gepia.cancer-pku.cn）分析PLK1在宫颈癌组织和正常宫颈组织中的表达；利用TCGA数据库（https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga）分析PLK1、FoxO1表达水平与宫颈癌患者无进展生存期的关联。

1.8　统计学分析

应用SPSS 22.0软件处理数据。符合正态分布的计量资料用$\bar{x}\pm s$表示，2组间比较采用独立样本t检验，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-t检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　PLK1抑制剂对不同*TP53*基因型宫颈癌细胞增殖的影响

CCK-8法结果显示，C33a细胞在培养72 h时，与对照组相比，低浓度组和高浓度组细胞增殖受到抑制（$P<0.05$）；SiHa细胞在培养72 h时，与对照组相比，低浓度组和高浓度组细胞增殖受到抑制，但差异无统计学意义（$P>0.05$）。表明GSK461364显著抑制C33a细胞增殖，GSK461364对SiHa细胞增殖无显著影响。见表1。

2.2　PLK1抑制剂对不同*TP53*基因型宫颈癌细胞周期的影响

流式细胞术结果显示，在C33a细胞中，低浓度组、高浓度组G_2期细胞亚群比例高于对照组（$P<0.05$）；在SiHa细胞中，高浓度组G_2期细胞亚群比例高于对照组（$P<0.05$）。见图1、表2。

2.3　PLK1抑制剂对不同*TP53*基因型宫颈癌细胞成球的影响

CCK-8法结果显示，在C33a和SiHa细胞中，与对照组相比，低浓度组和高浓度组细胞成球均受到抑制，见图2。表明GSK461364抑制C33a细胞和SiHa细胞的干性。

表1　PLK1抑制剂对C33a和SiHa细胞增殖率的影响（%）

Tab.1　Effects of PLK1 inhibitor on the proliferation rate of C33a and SiHa cells (%)

Group	24 h	48 h	72 h
C33a cells			
Control group	0.35 ± 0.08	0.66 ± 0.15	1.36 ± 0.10
Low-concentration group	0.35 ± 0.08	0.63 ± 0.17	1.04 ± 0.04[1)]
High-concentration group	0.36 ± 0.08	0.61 ± 0.17	1.03 ± 0.10[1)]
SiHa cells			
Control group	0.41 ± 0.08	0.69 ± 0.09	1.44 ± 0.26
Low-concentration group	0.42 ± 0.06	0.67 ± 0.08	1.27 ± 0.11
High-concentration group	0.40 ± 0.07	0.62 ± 0.09	1.21 ± 0.13

1) $P < 0.05$ vs. control group at the same time point.

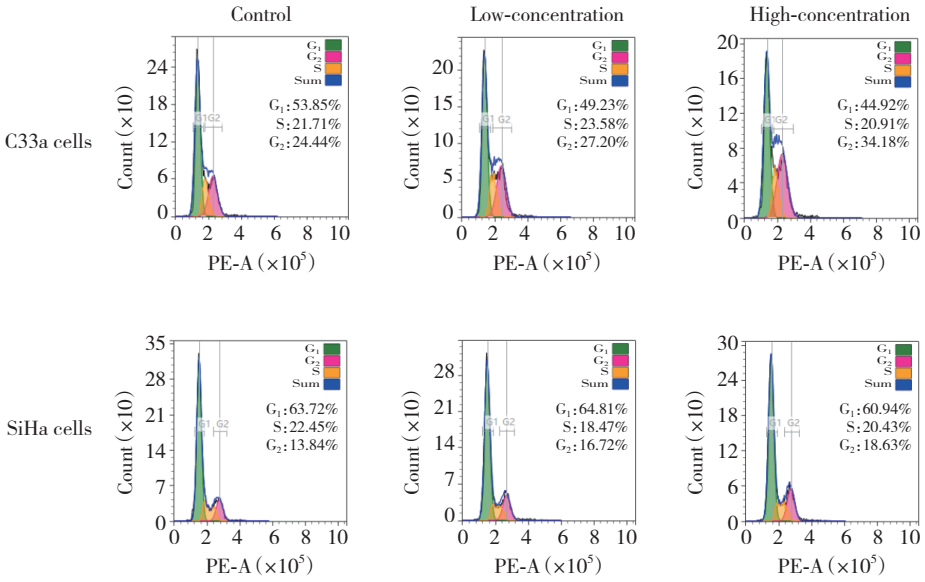


图1　PLK1抑制剂对C33a和SiHa细胞周期的影响

Fig.1　Effect of PLK1 inhibitor on cell cycle changes in C33a and SiHa cells

表2　C33a和SiHa细胞中G_1、S和G_2期细胞比例的比较（%）

Tab.2　Comparison of the proportions of G_1, S, and G_2 phase cells in C33a and SiHa cells (%)

Group	G_1 phase	S phase	G_2 phase
C33a cells			
Control group	54.93 ± 1.16	21.01 ± 1.59	24.07 ± 0.84
Low-concentration group	49.44 ± 1.05[1)]	22.78 ± 0.88	27.78 ± 1.64[1)]
High-concentration group	44.20 ± 2.21[1),2)]	22.79 ± 2.32[1)]	33.01 ± 1.11[1),2)]
SiHa cells			
Control group	64.27 ± 0.49	21.09 ± 1.62	14.65 ± 1.39
Low-concentration group	62.66 ± 2.04	20.19 ± 1.97	17.15 ± 2.16
High-concentration group	62.00 ± 0.97	18.82 ± 1.61	19.18 ± 0.67[1)]

1) $P < 0.05$ vs. control group at the same time point; 2) $P < 0.05$ vs. low-concentration group at the same time point.

2.4　PLK1抑制剂对不同*TP53*基因型宫颈癌细胞中P-cdc25c、cdc25c、E2F-1、FoxO1蛋白表达的影响

Western blotting结果显示，在C33a细胞中，与对照组相比，低浓度组和高浓度组细胞周期相关蛋白P-cdc25c、cdc25c、E2F-1表达显著下调（$P < 0.05$），高浓度组转录因子FoxO1表达水平显著降低（$P < 0.05$）；在SiHa细胞中，与对照组相比，高浓度组细胞周期相关蛋白P-cdc25c、E2F-1表达显著下调（$P < 0.05$），转录因子FoxO1表达水平显著降低（$P < 0.05$）。见图3、表3。

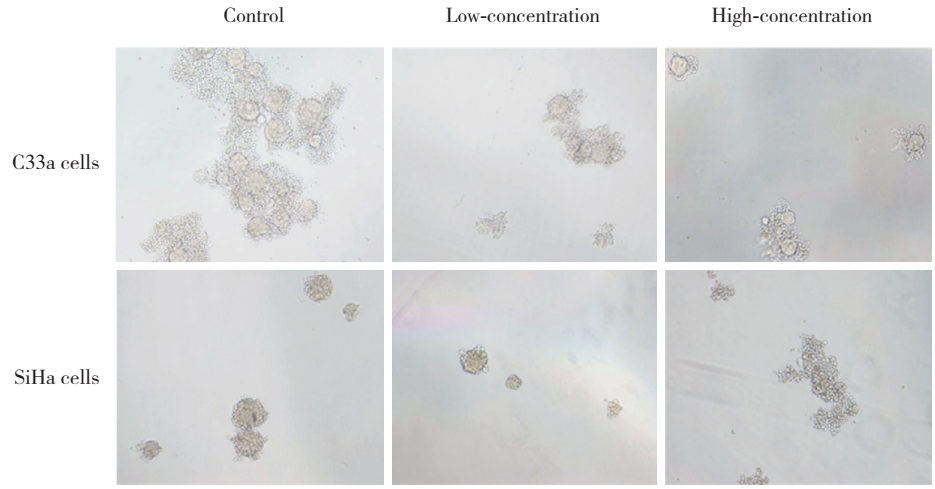
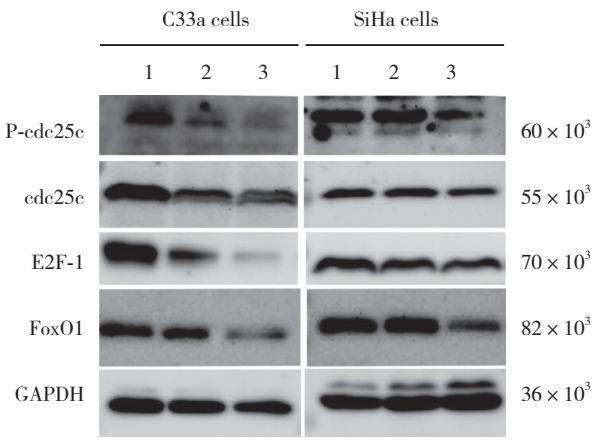


图2　PLK1抑制剂对宫颈癌C33a和SiHa细胞成球的影响　×200

Fig.2　Effects of PLK1 inhibitor on spheroid formation in C33a and SiHa cells　×200



1，control group；2，low-concentration group；3，high-concentration group.

图3　C33a和SiHa细胞中P-cdc25c、cdc25c、E2F-1、FoxO1蛋白的表达

Fig.3　Expressions of P-cdc25c，cdc25c，E2F-1，and FoxO1 proteins in C33a and SiHa cells

2.5　生物信息学分析结果

GEPIA网站结果显示，与正常宫颈组织（$n = 13$）相比，PLK1在宫颈癌组织（$n = 306$）中高表达。TCGA数据库结果显示，PLK1低表达的宫颈癌患者与PLK1高表达的宫颈癌患者相比，FoxO1低表达的宫颈癌患者与FoxO1高表达的宫颈癌患者相比，无进展生存期均显著延长（$P < 0.05$）。见图4。

3　讨论

PLK1是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，PLK1高表达与宫颈癌的临床进展密切相关，其致癌作用可能与DNA复制、细胞周期调控、错配修复和同源重组等途径密切相关[9]。本课题组前期研究[10-11]发现，宫颈癌细胞在放射处理后发生多倍体化，生成宫颈癌多倍体肿瘤细胞，与此同时，PLK1的表达水平显著升高。这一发现提示，PLK1高表达可能与宫颈癌细胞的多倍体细胞形成和放射抵抗性有关，PLK1在宫颈癌发生和发展过程中发挥关键作用。本研究进一步探讨了PLK1在不同*TP53*基因型宫颈癌细胞中的作用及其潜在机制。

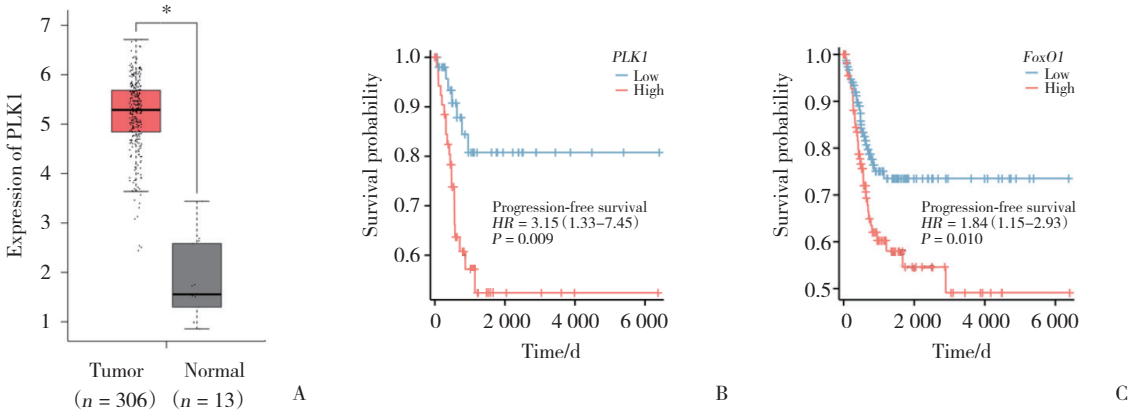
细胞增殖实验中，PLK1抑制剂GSK461364显著抑制*TP53*突变型C33a细胞的增殖，而对*TP53*野生型SiHa细胞的影响较小。这一现象表明，PLK1在不同*TP53*基因背景下对宫颈癌细胞增殖的作用存在差异。研究[12]发现，抑制PLK1在*TP53*突变的肾上腺皮质癌中更有效。这与本研究中GSK461364对*TP53*突变型宫颈癌C33a细胞的敏感性更高结果一致，提示PLK1在*TP53*基因型不同的宫颈癌细胞中的作用并不相同。

表3　C33a和SiHa细胞中P-cdc25c、cdc25c、E2F-1、FoxO1蛋白表达水平的比较

Tab.3　Comparisons of the expression levels of P-cdc25c，cdc25c，E2F-1，and FoxO1 proteins in C33a and SiHa cells

Group	P-cdc25c	cdc25c	E2F-1	FoxO1
C33a cells				
Control group	0.78 ± 0.12	0.87 ± 0.11	0.91 ± 0.16	0.91 ± 0.16
Low-concentration group	0.52 ± 0.08[1)]	0.55 ± 0.04[1)]	0.61 ± 0.02[1)]	0.67 ± 0.12
High-concentration group	0.46 ± 0.06[1)]	0.48 ± 0.04[1)]	0.46 ± 0.19[1)]	0.44 ± 0.17[1)]
SiHa cells				
Control group	1.70 ± 0.30	1.78 ± 0.32	1.49 ± 0.11	1.52 ± 0.07
Low-concentration group	1.21 ± 0.20	1.46 ± 0.27	1.06 ± 0.48	1.25 ± 0.29
High-concentration group	0.89 ± 0.29[1)]	1.10 ± 0.35	0.81 ± 0.14[1)]	0.65 ± 0.16[1)]

1) $P < 0.05$ vs. control group at the same time point.



A，expression of *PLK1* in cervical cancer tissue；B，relationship between *PLK1* expression and prognosis；C，relationship between *FoxO1* expression and prognosis. * $P < 0.05$ vs. normal tissues.

图4　PLK1和FoxO1的生物信息学分析结果

Fig.4　Bioinformatics analysis results of PLK1 and FoxO1

细胞周期检测结果提示，经GSK461364处理后，C33a细胞和SiHa细胞均发生了G_2期细胞周期阻滞。C33a细胞在较低浓度（2.5 nmol/L）的GSK461364处理后发生显著的细胞周期阻滞，而SiHa细胞在较高浓度（5 nmol/L）的GSK461364处理后发生显著的细胞周期阻滞。Western blotting结果也提示，在C33a细胞中，低浓度组和高浓度组细胞周期相关蛋白P-cdc25c、cdc25c、E2F-1表达显著下调；在SiHa细胞中，高浓度组细胞周期相关蛋白P-cdc25c、E2F-1表达显著下调。这一现象不仅进一步证实了PLK1抑制剂对宫颈癌细胞周期的调控作用，还揭示了其在不同*TP53*基因型细胞中诱导G_2期阻滞的差异。PLK1作为一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，在细胞有丝分裂过程中发挥重要的作用[5]。当PLK1受到抑制时，细胞可能无法完成有丝分裂而被阻滞在G_2期，表明其能够通过干扰细胞周期进程，有效抑制肿瘤细胞的增殖。

本研究结果还提示，*TP53*突变型细胞对PLK1抑制剂的敏感性更高，这可能与突变型*TP53*失去正常调控细胞周期和诱导细胞凋亡的功能有关[13]。相比之下，*TP53*野生型细胞可能通过正常的细胞周期调控机制部分抵消了PLK1抑制剂的作用，从而表现出较低的敏感性。这一发现对于指导未来PLK1抑制剂在宫颈癌治疗中的临床应用具有重要意义，提示应根据患者的*TP53*基因型制定个性化治疗方案，以提高治疗效果并减少不良反应。

细胞成球实验表明，GSK461364处理后，C33a和SiHa细胞的成球能力均下降。细胞成球能力与细胞的干性密切相关，而肿瘤的干性在肿瘤的发生、发展、转移和复发中起关键作用。PLK1抑制剂对细胞成球能力的影响提示其对宫颈癌细胞的干性产生影响，从而抑制肿瘤的自我更新和复发能力。同时，

C33a和SiHa细胞中高浓度组转录因子FoxO1表达水平也显著降低。转录因子Fox在各种器官分化和发育中发挥关键作用，且在多能祖细胞中高表达，表明它赋予许多癌细胞干细胞样特性[14]。提示抑制PLK1通过下调FoxO1蛋白的表达，抑制宫颈癌细胞的肿瘤干细胞特性。TCGA数据库分析结果显示，PLK1低表达的宫颈癌患者无进展生存期显著高于PLK1高表达患者，FoxO1低表达的宫颈癌患者无进展生存期显著高于FoxO1高表达患者。进一步提示PLK1在宫颈癌的发生和发展中发挥重要作用，其高表达可能与肿瘤的恶性程度和不良预后密切相关。这表明PLK1不仅是宫颈癌发生和发展中的重要分子，还可能作为潜在的治疗靶点和预后标志物。

综上所述，本研究通过体外实验和临床数据分析，揭示了PLK1在不同*TP53*基因型宫颈癌细胞中的作用及其潜在机制。PLK1抑制剂通过抑制细胞增殖、诱导细胞周期阻滞和削弱细胞干性，有望成为宫颈癌治疗的新策略，尤其是在*TP53*突变型患者中。已有研究[15]表明，PLK1抑制剂在多种肿瘤模型中表现出良好的抗肿瘤效果。PLK1抑制剂在宫颈癌中的作用以及在放射抵抗和多倍体肿瘤细胞形成中的具体作用机制，仍需进一步研究。

参考文献：

[1] JHA AK，MITHUN S，SHERKHANE UB，et al. Systematic review and meta-analysis of prediction models used in cervical cancer [J]. Artif Intell Med，2023，139：102549. DOI：10.1016/j.artmed.2023.102549.

[2] BUSKWOFIE A，DAVID-WEST G，CLARE CA. A review of cervical cancer：incidence and disparities [J]. J Natl Med Assoc，2020，112（2）：229-232. DOI：10.1016/j.jnma.2020.03.002.

[3] LIZANO M，CARRILLO-GARCÍA 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. DOI：10.3892/ijmm.2024.5374.

[4] MARQUINA G，MANZANO A，CASADO A. Targeted agents in cervical cancer：beyond bevacizumab [J]. Curr Oncol Rep，2018，20（5）：40. DOI：10.1007/s11912-018-0680-3.

[5] ZHU H，LUO H，ZHANG W，et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance in cervical cancer [J]. Drug Des Dev Ther，2016，10：1885-1895. DOI：10.2147/DDDT.S106412.

[6] HU J，CAO J，TOPATANA W，et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy：direct and indirect strategies [J]. J Hematol Oncol，2021，14（1）：157. DOI：10.1186/s13045-021-01169-0.

[7] LIU Y，SU Z，TAVANA O，et al. Understanding the complexity of p53 in a new era of tumor suppression [J]. Cancer Cell，2024，42（6）：946-967. DOI：10.1016/j.ccell.2024.04.009.

[8] SONG C，ZHANG M，KRUSE T，et al. Self-priming of Plk1 binding to BubR1 ensures accurate mitotic progression [J]. Commun Biol，2024，7：1473. DOI：10.1038/s42003-024-07205-2.

[9] GAO L，PANG YY，GUO XY，et al. Polo like kinase 1 expression in cervical cancer tissues generated from multiple detection methods [J]. PeerJ，2020，8：e10458. DOI：10.7717/peerj.10458.

[10] MENG F，YAN Y，ZHOU L，et al. Targeting autophagy promotes the antitumor effect of radiotherapy on cervical cancer cells [J]. Cancer Biol Ther，2024，25（1）：2431136. DOI：10.1080/15384047.2024.2431136.

[11] 孟繁杰，阎英，熊婵，等. 自噬和衰老在放射诱导的多倍体宫颈癌细胞中的作用 [J]. 肿瘤预防与治疗，2022，35（6）：493-499. DOI：10.3969/j.issn.1674-0904.2022.06.001.

[12] BELLAH SF，XIONG F，DOU Z，et al. PLK1 phosphorylation of ZW10 guides accurate chromosome segregation in mitosis [J]. J Mol Cell Biol，2024，16（2）：mjae008. DOI：10.1093/jmcb/mjae008.

[13] HERTEL A，STORCHOVÁ Z. The role of p53 mutations in early and late response to mitotic aberrations [J]. Biomolecules，2025，15（2）：244. DOI：10.3390/biom15020244.

[14] SHI F，LI T，LIU Z，et al. FOXO1：another avenue for treating digestive malignancy [J]. Semin Cancer Biol，2018，50：124-131. DOI：10.1016/j.semcancer.2017.09.009.

[15] XU Z，GUAN L，WANG Y，et al. Discovery of a novel PLK1 inhibitor with high inhibitory potency using a combined virtual screening strategy [J]. J Enzyme Inhib Med Chem，2025，40（1）：2467798. DOI：10.1080/14756366.2025.2467798.

（编辑　陈　姜）