[文章编号] 1671-587X(2026)04-1051-11 DOI:10.13481/j.1671-587X.20260417

IL-24对人宫颈癌HeLa细胞生物学行为的影响及其机制

王 微[1], 王 靖[1], 张 杰[1], 宋 倩[1], 孙甜甜[1], 袁洪涛[2]
（1. 齐鲁医药学院医学检验学院临床基础检验教研室,山东 淄博 255300;2. 山东省淄博市张店区湖田卫生院检验科,山东 淄博 255000）

[摘 要] **目的：**探讨白细胞介素24（IL-24）调控V-Rel网状内皮增生病毒癌基因同源物B（RelB）对宫颈癌HeLa细胞生物学行为的影响，并阐明其作用机制。**方法：**将HeLa细胞分为对照组［pcDNA3.1(＋)组，转染pcDNA3.1(＋)质粒］和IL-24过表达组［pcDNA3.1(＋)-IL-24组，转染pcDNA3.1(＋)-IL-24质粒］。采用实时荧光定量PCR（RT-qPCR）和Western blotting法检测2组细胞转染效率，细胞计数试剂盒8（CCK-8）法检测各组细胞增殖活性，流式细胞术检测2组细胞凋亡率，Transwell小室法检测2组细胞迁移率和细胞侵袭率，转录组测序（RNA-seq）法和生物信息学分析2组细胞差异表达基因，RT-qPCR和免疫荧光染色法检测IL-24过表达后HeLa细胞中*RelB*表达水平。验证实验，将HeLa细胞分为pcDNA3.1(＋)组、pcDNA3.1(＋)-IL-24组、HPV18 E6过表达组［pcDNA3.1(＋)-IL-24＋E6组，共转染pcDNA3.1(＋)-IL-24质粒和pcDNA3.1(＋)-HPV18 E6质粒］、HPV18 E7过表达组［pcDNA3.1(＋)-IL-24＋E7组，共转染pcDNA3.1(＋)-IL-24质粒和pcDNA3.1(＋)-HPV18 E7质粒］及HPV18 E6/E7过表达组［pcDNA3.1(＋)-IL24＋E6＋E7组，共转染pcDNA3.1(＋)-IL-24质粒、pcDNA3.1(＋)-HPV18 E6质粒和pcDNA3.1(＋)-HPV18 E7质粒］。RT-qPCR法检测人乳头瘤病毒18（HPV18）E6和HPV18 E7 mRNA表达水平及转染后HeLa细胞中*RelB* mRNA表达水平，Western blotting法检测HeLa细胞中RelB蛋白表达水平。**结果：**与pcDNA3.1(＋)组比较，pcDNA3.1(＋)-IL-24组HeLa细胞中*IL-24* mRNA和蛋白表达水平明显升高（$P<0.01$）；HeLa细胞增殖活性降低（$P<0.001$），细胞迁移率降低（$P<0.05$），细胞侵袭率降低（$P<0.01$），细胞凋亡率升高（$P<0.01$）。RNA-seq法共发现952个差异表达基因及与肿瘤发生发展相关的核因子κB（NF-κB）、环磷酸腺苷（cAMP）和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B（PI3K/Akt）等多条信号通路。蛋白质-蛋白质相互作用（PPI）网络分析，RelB处于网络的核心调控区域。与pcDNA3.1(＋)组比较，pcDNA3.1(＋)-IL-24组HeLa细胞中*HPV18 E6*和*HPV18 E7* mRNA表达水平降低（$P<0.01$），细胞中*RelB* mRNA表达水平明显降低（$P<0.01$）；过表达*HPV18 E6*和*E7*后，pcDNA3.1(＋)-IL-24组HeLa细胞中*RelB* mRNA和蛋白表达水平升高（$P<0.05$）。**结论：**IL-24过表达可抑制HeLa细胞增殖、迁移和侵袭，并促进细胞凋亡，其机制可能与抑制*HPV18 E6*和*E7*表达、下调RelB蛋白表达水平有关联。

[关键词] 宫颈肿瘤；白细胞介素24；转录组测序；V-Rel网状内皮增生病毒癌基因同源物B；人乳头瘤病毒
[中图分类号] R737.33 [文献标志码] A

[收稿日期] 2025-04-15 [录用日期] 2025-11-07
[基金项目] 山东省卫健委医药卫生科技发展计划项目(202202080776)；山东省高等学校“青创团队计划”项目(2024KJJ044)
[作者简介] 王 微（1989－），女，山东省德州市人，副教授，医学博士，主要从事高危型HPV感染所致宫颈癌发病机制方面的研究。
[通信作者] 袁洪涛，副主任技师（E-mail：bottle3@126.com）

©《吉林大学学报（医学版）》编辑部，开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。
© Editorial Board of Journal of Jilin University（Medicine Edition）. Open access under CC BY-NC-ND license.

Effect of IL-24 on biological behaviors of human cervical cancer HeLa cells and its mechanism

WANG Wei[1], WANG Jing[1], ZHANG Jie[1], SONG Qian[1], SUN Tiantian[1], YUAN Hongtao[2]
(1. Department of Clinical Basic Laboratory Medicine, School of Medical Laboratory, Qilu Medical University, Zibo 255300, China; 2. Clinical Laboratory, Hutian Health Center, Zhangdian District, Zibo City, Shandong Province, Zibo 255000, China)

ABSTRACT **Objective**: To discuss the effect of interleukin-24 (IL24) on the biological behaviors of cervical cancer HeLa cells through regulation of V-Rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog B (RelB), and to clarify the mechanism. **Methods**: The HeLa cells were divided into control group [pcDNA3.1(+) group, transfected with pcDNA3.1(+) plasmid] and IL-24 overexpression group [pcDNA3.1(+)-IL-24 group, transfected with pcDNA3.1(+)-IL-24 plasmid]. Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) and Western blotting methods were used to detect the transfection efficiencies of the cells in two groups; cell counting kit-8 (CCK-8) method was used to detect the proliferation activities of the cells in two groups; flow cytometry was used to detect the apoptotic rates of the cells in two groups; Transwell chamber assay was used to detect the migration rates and invasion rates of the cells in two groups; transcriptome sequencing (RNA-seq) method and bioinformatics were used to explore the differentially expressed genes in two groups of IL-24; RT-qPCR and immunofluorescence staining methods were used to detect the expression level of *RelB* mRNA and protein in HeLa cells after IL-24 overexpression. In validation experiment, the HeLa cells were divided into pcDNA3.1(+) group, pcDNA3.1(+)-IL-24 group, HPV18 E6 overexpression group [pcDNA3.1(+)- IL-24+E6 group, co-transfected with pcDNA3.1(+)-IL-24 plasmid and pcDNA3.1(+)-HPV18 E6 plasmid], HPV18 E7 overexpression group [pcDNA3.1(+)-IL-24+E7 group, co-transfected with pcDNA3.1(+)-IL-24 plasmid and pcDNA3.1(+)-HPV18 E7 plasmid], and HPV18 E6/E7 overexpression group [pcDNA3.1(+)-IL-24+E6+E7 group, co-transfected with pcDNA3.1(+)-IL-24 plasmid, pcDNA3.1(+)-HPV18 E6 plasmid, and pcDNA3.1(+)-HPV18 E7 plasmid]. RT-qPCR method was used to detect the expression levels of human papillomavirus(HPV18) E6 and HPV18 E7 mRNA and the expression level of *RelB* mRNA in the HeLa cells after transfection; Western blotting method was used to detect the expression level of RelB protein in the HeLa cells. **Results**: Compared with pcDNA3.1(+) group, the expression levels of *IL-24* mRNA and protein in the HeLa cells in pcDNA3.1(+)-IL-24 group were significantly increased ($P<0.01$), the proliferation activity of the HeLa cells was decreased ($P<0.001$), the migration rate of cells was decreased ($P<0.05$), the invasion rate of cells was decreased ($P<0.01$), and the apoptotic rate was increased ($P<0.01$). The RNA-seq results showed that a total of 952 differentially expressed genes were identified, which were involved in multiple signaling pathways related to tumor occurrence and development, including nuclear factor-kappa B (NF-κB), cyclic adenosine monophosphate (cAMP), and phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt). The protein-protein interaction (PPI) network analysis results showed that RelB was located in core regulatory region of the network. Compared with pcDNA3.1(+) group, the expression levels of *HPV18 E6*, *HPV18 E7* and RelB mRNA in the HeLa cells in pcDNA3.1(+)-IL-24 group were significantly decreased ($P<0.01$). Furthermore, after overexpression of *HPV18 E6* and *E7* in the HeLa cells in pcDNA3.1(+)-IL-24 group, the expression level of *RelB* mRNA and protein was significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion**: Overexpression of IL-24 can inhibit the proliferation, migration and invasion of the HeLa cells and promote the cell apoptosis. The mechanism may be related to the inhibition of *HPV18 E6* and *E7*

expressions and the down-regulation of RelB protein expression level.

KEYWORDS　Cervical neoplasm；Interleukin-24；Transcriptome sequencing；V-Rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog B；Human papillomaviru

宫颈癌为女性第四大恶性肿瘤，发病率仅次于肺癌、乳腺癌和结直肠癌[1]。在发展中国家，宫颈癌发病率呈现持续上升趋势[2]。宫颈癌的传统治疗方法以手术、化疗和放疗为主[3]，但对于晚期、复发、转移或对放化疗不敏感的患者，传统治疗方法的疗效不佳，5年生存率仍不理想[4]。近年来，随着医学研究的进展，宫颈癌治疗领域也出现了一些新的策略，如免疫治疗[5]、靶向治疗[6-7]和基因治疗[8-9]等。

白细胞介素24（interleukin-24，IL-24）是白细胞介素（interleukin，IL）基因家族成员之一[10]。研究[11]显示：IL-24对肿瘤细胞具有特异性抑制和杀伤作用，可诱导多种癌细胞凋亡，但对正常细胞无显著细胞毒性。目前，IL-24与宫颈癌的相关研究报道较少，尤其是IL-24影响宫颈癌发生的作用机制尚不明确。本研究在宫颈癌HeLa细胞中过表达*IL-24*基因，观察*IL-24*基因对HeLa细胞恶性生物学行为的影响；并利用转录组测序技术分析*IL-24*基因影响宫颈癌发生的分子机制，为探讨预防和治疗宫颈癌的新方法提供理论及实验依据。

1　材料与方法

1.1　细胞、主要试剂和仪器　人宫颈癌HeLa细胞购自武汉普诺赛公司标准化细胞库，该细胞通过短串联重复序列（short tandem repeat，STR）鉴定并符合美国典型培养物保藏中心质量认证标准。DMEM培养基、10%胎牛血清、1%青-链霉素溶液、实时荧光定量PCR（real-time fluorescence quantitative PCR，RT-qPCR）试剂盒及结晶紫染液均购自生工生物工程（上海）股份有限公司，RNAeasy™ Plus动物RNA抽提试剂盒、细胞计数试剂盒8（cell counting kit-8，CCK-8）、抗V-Rel网状内皮增生病毒癌基因同源物B（V-Rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog B，RelB）抗体（1∶1 000）、抗β-actin抗体、辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记的山羊抗兔免疫球蛋白G（IgG）（H+L）、HRP标记的山羊抗小鼠IgG（H+L）、Lipo8000™转染试剂、空载体质粒pcDNA3.1(+)及过表达质粒pcDNA3.1(+)-IL-24、pcDNA3.1(+)-人乳头瘤病毒（human papillomavirus，HPV）18 E6和pcDNA3.1(+)-HPV18 E7均购自上海碧云天生物技术有限公司，基底胶购自北京索莱宝科技有限公司，抗IL-24抗体（1∶1 000）购自美国Proteintech公司。倒置显微镜购自日本Olympus公司，CO_2培养箱购自美国LABOTERY公司，超净工作台购自山东博科生物产业有限公司，酶标仪购自杭州奥盛仪器有限公司FlexA-200型，化学发光仪购自广州博鹭腾生物科技有限公司，漩涡震荡仪购自美国Thermo Fisher Scientific公司，高速冷冻离心机购自湖南赫西仪器装备有限公司，RT-qPCR购自瑞士罗氏公司、CytoFLEX流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特公司。

1.2　细胞分组和模型制备　HeLa细胞置于含有10%胎牛血清和1%青-链霉素溶液的DMEM培养基中培养，并按常规流程进行传代操作。培养条件：37 ℃、5% CO_2、饱和湿度。每日监测细胞融合度，待细胞融合度达80%时进行质粒转染。设置对照组［pcDNA3.1(+)组，转染pcDNA3.1(+)质粒］和IL-24过表达组［pcDNA3.1(+)-IL-24组，转染pcDNA3.1(+)- IL-24质粒］。验证实验分组：Hela细胞分为pcDNA3.1(+)组、pcDNA3.1(+)-IL-24组、HPV18 E6过表达组［pcDNA3.1(+)-IL-24+E6组，共转染pcDNA3.1(+)-IL-24质粒和pcDNA3.1(+)-HPV18 E6质粒］、HPV18 E7过表达组［pcDNA3.1(+)-IL-24+E7组，共转染pcDNA3.1(+)-IL-24质粒和pcDNA3.1(+)- HPV18 E7质粒］和HPV18 E6/E7过表达组［pcDNA3.1(+)-IL24+E6+E7组，共转染pcDNA3.1(+)-IL-24质粒、pcDNA3.1(+)- HPV18 E6质粒及pcDNA3.1(+)-HPV18 E7质粒］。根据Lipo8000™转染试剂说明书将指定质粒转染至HeLa细胞。转染48 h后，分别采用RT-qPCR和Western blotting法检测各组细胞转染效率。

1.3　RT-qPCR法检测细胞中目的基因mRNA表达水平　使用RNAeasy™ Plus动物RNA抽提试剂盒从细胞中提取总RNA，使用反转录试剂盒将RNA逆转录为互补DNA（complementary DNA，cDNA），使用RT-qPCR试剂盒构建20 μL反应体系进行实时定量PCR。反应条件：95 ℃预变性

30 s；40个循环（95 ℃变性5 s，60 ℃退火/延伸30 s）；熔解阶段：95 ℃、15 s，60 ℃、1 min，95 ℃、15 s，1个循环。以β-actin为内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算细胞中目的基因mRNA表达水平。所用引物序列见表1。

表1 RT-qPCR的引物序列

Tab. 1 Primer sequences of RT-qPCR

Gene	Primer sequence
IL-24	F:5′-AGATCTATGAGTTGGGGAC-3′
	R:5′-GAATTCTCAGAGATGGTAG-3′
RelB	F:5′-TAACAACCTGGGCATCCAGT-3′
	R:5′-CGCAGCTCTGATGTGTTTGT-3′
HPV18 E6	F:5′-GCGACCCTACAAGCTACCTG-3′
	R:5′-GTTGGAGTCGTTCCTGTCGT-3′
HPV18 E7	F:5′-AACATTTACCAGCCCGACGA-3′
	R:5′-TCGTCTGCTGAGCTTTCTAC-3′
β-actin	F:5′-CCCGAGCCGTGTTTCCT-3′
	R:5′-GTCCCAGTTGGTGACGATGC-3′

1.4 Western blotting法检测HeLa细胞中目的蛋白表达水平 采用含有蛋白酶抑制剂的放射性免疫沉淀分析缓冲液（radioimmunoprecipitation assay buffer，RIPA）从细胞中提取蛋白，二辛可宁酸检测法（bicinchoninic acid assay，BCA）检测HeLa细胞中目的蛋白表达水平。30 μg蛋白经8%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis，SDS-PAGE）分离后，转移至PVDF膜上。用5%脱脂牛奶37 ℃封闭1 h后，与IL-24、RelB和β-actin蛋白一抗4 ℃孵育过夜后，与二抗37 ℃孵育2 h。以β-actin为内参，使用特超敏增强化学发光（enhanced chemiluminescence，ECL）试剂盒对蛋白进行发光检测，采用软件Image J计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平＝目的蛋白条带灰度值/β-actin蛋白条带灰度值。

1.5 CCK-8法检测各组细胞增殖活性 采用CCK-8法检测各组细胞增殖活性，96孔细胞培养板中每孔接种2 000个细胞，37 ℃培养箱中培养0、24、48和72 h后，每100 μL培养基中加入10 μL CCK-8溶液，37 ℃孵育2 h，采用酶标仪测量450 nm处的吸光度（A）值，以A值代表细胞增殖活性。

1.6 Transwell小室法检测各组细胞迁移率 胰蛋白酶消化各组细胞并悬浮于不含胎牛血清的DMEM培养基中，Transwell小室的上室接种3×10^5个细胞（100 μL DMEM培养基，不含胎牛血清），Transwell小室的下室加入600 μL DMEM培养基（含10%胎牛血清）。培养48 h后吸净培养基，PBS缓冲液清洗2次后加入4%多聚甲醛，室温静置20 min以充分固定细胞。吸净多聚甲醛并用PBS缓冲液清洗1次后加入0.5%结晶紫染色液，室温静置20 min后进行细胞染色，用棉棒轻轻擦除上室细胞。于普通倒置光学显微镜下计数迁移细胞数。细胞迁移率＝（实验组平均迁移细胞数/对照组平均迁移细胞数）×100%。

1.7 Transwell小室法检测各组细胞侵袭率 采用DMEM培养基以1∶8的比例稀释基质胶，将50 μL稀释后的基质胶加入Transwell小室，细胞培养箱中孵育2 h以包被小室。其余步骤与细胞迁移实验相同。细胞侵袭率＝（实验组平均侵袭细胞数/对照组平均侵袭细胞数）×100%。

1.8 流式细胞术检测各组细胞凋亡率 取对数生长期各组细胞，采用PBS缓冲液洗涤2次，采用195 μL膜联蛋白Ⅴ-异硫氰酸荧光素（Annexin Ⅴ-fluorescein isothiocyanate，Annexin Ⅴ-FITC）结合液轻轻重悬细胞后，加入5 μL Annexin Ⅴ-FITC和10 μL碘化丙啶（propidium iodide，PI）染液，避光室温孵育15 min（期间每隔5 min轻轻混匀1次），采用流式细胞术检测各组细胞凋亡率。细胞凋亡率＝（凋亡细胞数/细胞总数）×100%。

1.9 转录组测序(RNA-seq)和生物信息学分析 将HeLa细胞接种于细胞培养皿中，分为pcDNA3.1(＋)组和pcDNA3.1(＋)-IL-24组。分别转染相应质粒48 h后，采用TRIzol法提取各组细胞总RNA。转录组测序由生工生物工程（上海）股份有限公司完成。后续生物信息学分析包括：计算差异倍数（fold change，FC），筛选差异表达基因，并对这些基因进行基因本体论（Gene Ontology，GO）功能富集分析及京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）信号通路富集分析。选取与宫颈癌密切相关的差异表达基因，通过RT-qPCR和Western blotting法进行验证。

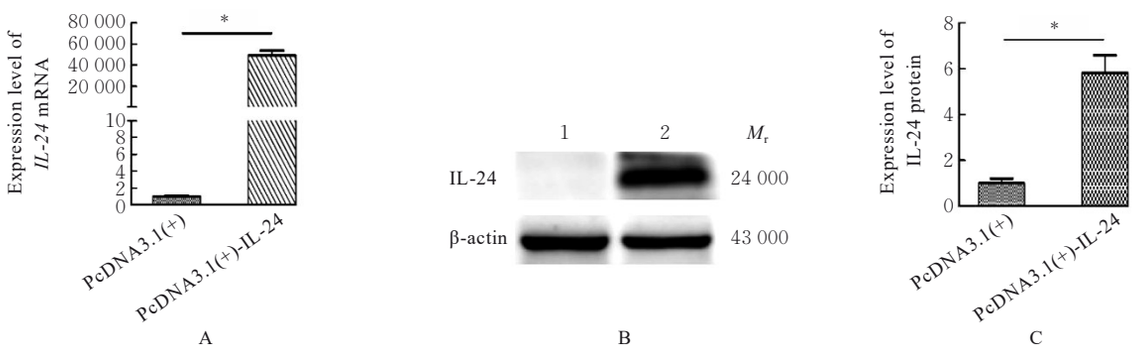
1.10 免疫荧光染色法检测各组细胞中RelB蛋白表达情况 将1×10^4个转染后的HeLa细胞接种至细胞爬片上，于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养48 h。吸净培养基，采用PBS缓冲液清洗2次，加入4%多聚甲醛固定10 min，采用PBS缓冲液清洗3次

（每次5 min）。加入0.1% Triton X-100孵育10 min，采用PBS缓冲液清洗3次（每次5 min）。采用10%山羊血清封闭2 h，用缓冲液PBS清洗2次（每次5 min）。加入RelB一抗（稀释比例为1∶50），于4 ℃冰箱中孵育过夜。次日用PBS清洗3次（每次5 min），加入荧光二抗（稀释比例为1∶1 000），室温孵育2 h，用PBS缓冲液清洗3次（每次5 min）。采用含4′，6-二脒基-2-苯基吲哚（4′，6-diamidino-2-phenylindole，DAPI）的抗荧光淬灭封片液封片后，于荧光显微镜下观察并拍照，使用Image J软件进行图像分析。

1.11　统计学分析　采用Graphpad Prism 8.0软件进行统计学分析。各组HeLa细胞中*IL-24* mRNA和蛋白、*HPV18 E6* mRNA、*HPV18 E7* mRNA和*RelB* mRNA及蛋白表达水平，各组细胞增殖活性、细胞凋亡率、细胞迁移率和细胞侵袭率均符合正态分布，以$\bar{x}\pm s$表示，2组间样本均数比较采用独立样本t检验，多组间样本均数比较采用单因素方差分析，组间样本均数两两比较采用SNK-q检验。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　2组HeLa细胞中IL-24表达水平　RT-qPCR和Western blotting法检测结果显示：与pcDNA3.1(+)组比较，pcDNA3.1(+)-IL-24组HeLa细胞中*IL-24* mRNA和蛋白表达水平均升高（$P<0.01$），提示细胞转染成功。见图1。



A：Expression level of *IL-24* mRNA；B：Electrophoregram of expression of IL-24 protein [Lane 1：pcDNA3.1(+) group；Lane 2：pcDNA3.1(+)-IL-24 group]；C：Expression level of IL-24 protein. $^{*}P<0.01$ compared with pcDNA3.1(+) group.

图1　2组HeLa细胞中*IL-24* mRNA和蛋白表达水平

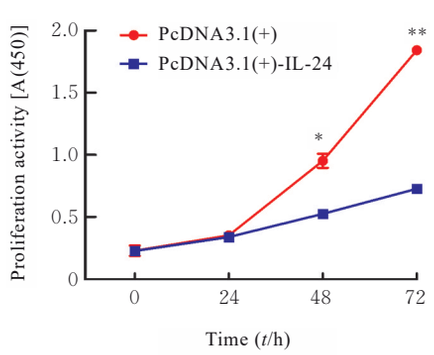
Fig. 1　Expression levels of *IL-24* mRNA and protein in HeLa cells in two groups

2.2　2组HeLa细胞增殖活性　CCK-8法检测结果显示：48 h和72 h后，与pcDNA3.1(+)组比较，pcDNA3.1(+)- IL-24组HeLa细胞增殖活性明显降低（$P<0.01$或$P<0.001$）。见图2。

2.3　2组HeLa细胞凋亡率　流式细胞术检测结果显示：与pcDNA3.1(+)组比较，pcDNA3.1(+)-IL-24组HeLa细胞凋亡率明显升高（$P<0.01$）。见图3。

2.4　2组HeLa细胞迁移率和侵袭　Transwell小室法检测结果显示：与pcDNA3.1(+)组比较，pcDNA3.1(+)-IL-24组HeLa细胞迁移率和侵袭率均明显降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。见图4。

2.5　2组HeLa细胞差异表达基因分析　对2组HeLa细胞进行转录组测序，结果分析发现：pcDNA3.1(+)组与pcDNA3.1(+)-IL-24组之间共有952个差异表达基因（$P<0.05$，$|\log_2 FC|>1$），其中表达上调的基因278个，表达下调的基因674个。绘制差异表达基因的火山图和柱状图。见图5。

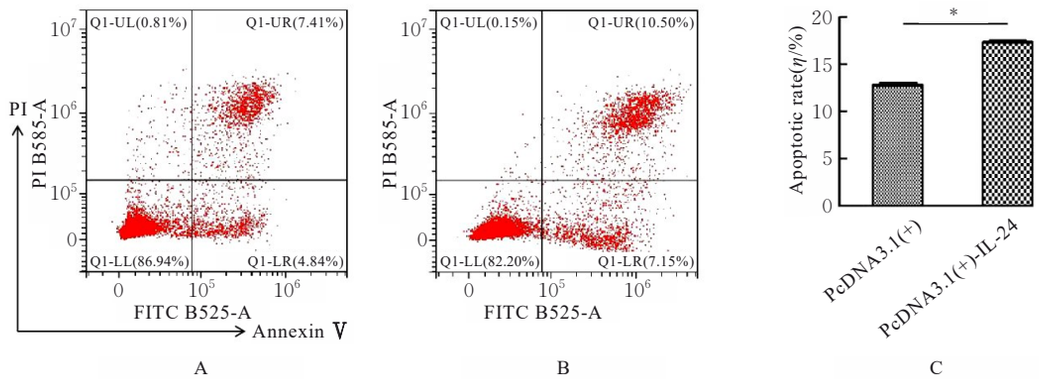


$^{*}P<0.01$，$^{**}P<0.001$ compared with pcDNA3.1(+) group.

图2　2组HeLa细胞增殖活性

Fig. 2　Proliferation activities of HeLa cells in two groups

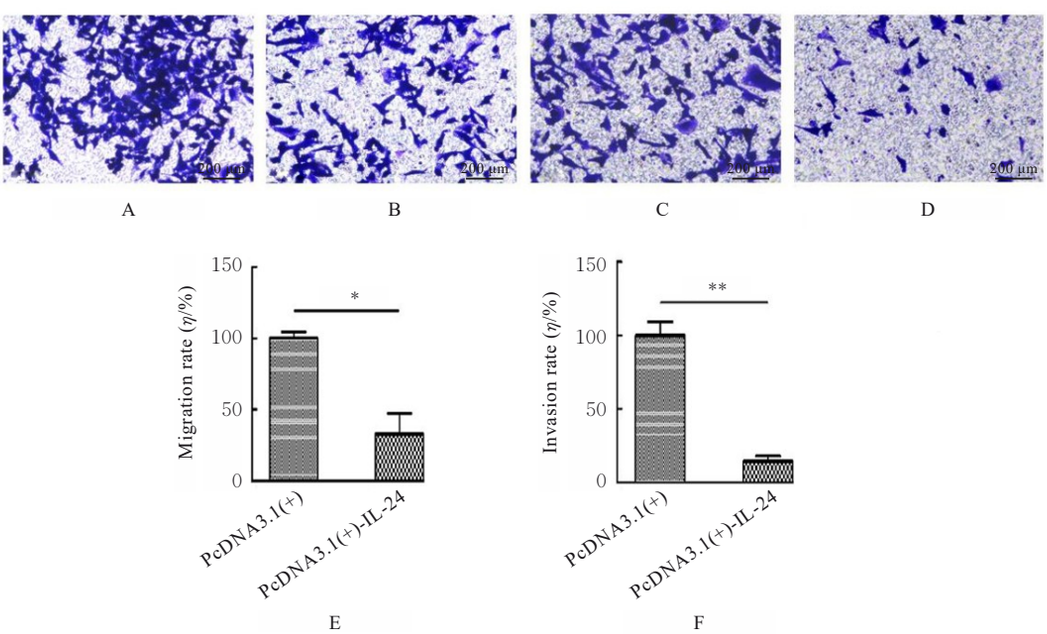
2.6　GO功能富集分析　对转录组测序得到的差



A，B：Flow cytometry diagrams；C：Histogram；A：PcDNA3.1（＋）group；B：PcDNA3.1（＋）-IL-24 group. $^{*}P<0.01$.

图 3 2组 HeLa 细胞凋亡率

Fig. 3 Apoptotic rates of HeLa cells in two groups



A－D：Morphology（Crystal violet，×200）；E，F：Histograms；A，B，E：Migration；C，D，F：Invasion. A，C：PcDNA3.1（＋）group；B，D：PcDNA3.1（＋）-IL-24 group. $^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$ compared with pcDNA3.1（＋）group.

图 4 2组 HeLa 细胞迁移和侵袭情况

Fig. 4 Migration and invasion of HeLa cells in two groups

异表达基因进行GO功能富集分析，共得到8 042个功能注释，其中包括生物学过程6 132个（76.2%）、细胞成分672个（8.4%）和分子功能1 238个（15.4%）。差异表达基因显著富集的GO功能包括细胞聚集、细胞生物学行为、细胞外基质、翻译调节和转录因子活性等过程。见图6。

2.7 KEGG信号通路富集分析和蛋白质-蛋白质相互作用（protein-protein interaction，PPI）网络分析

将筛选出的差异表达基因进行KEGG信号通路富集分析，结果显示：IL-24过表达后，调控HeLa细胞凋亡的信号通路主要集中在核因子κB（nuclear factor-kappa B，NF-κB）信号通路、环磷酸腺苷（cyclic adenosine monophosphate，cAMP）信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B（phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B，PI3K/Akt）信号通路及腺苷酸活化蛋白激酶（adenosine 5′-monophosphate-activited protein kinase，AMPK）信号通路等。PPI网络分析结果显示：NF-κB信号通路、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin，mTOR）信号通

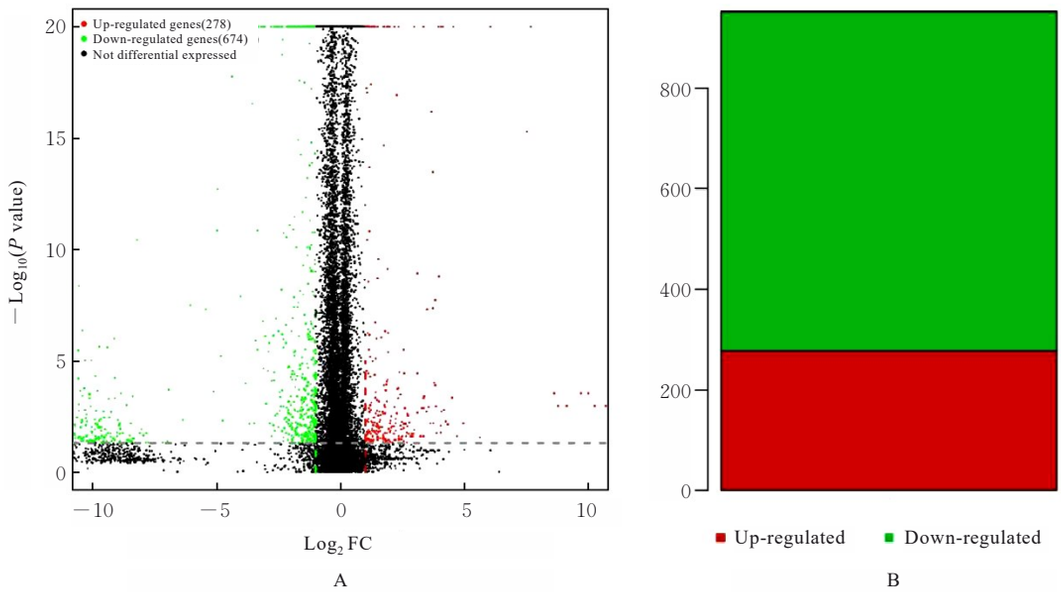


图5　2组HeLa细胞差异表达基因的火山图(A)和柱状图(B)

Fig. 5　Volcano plot(A) and bar chart(B) of differentially expressed genes in HeLa cells in two groups

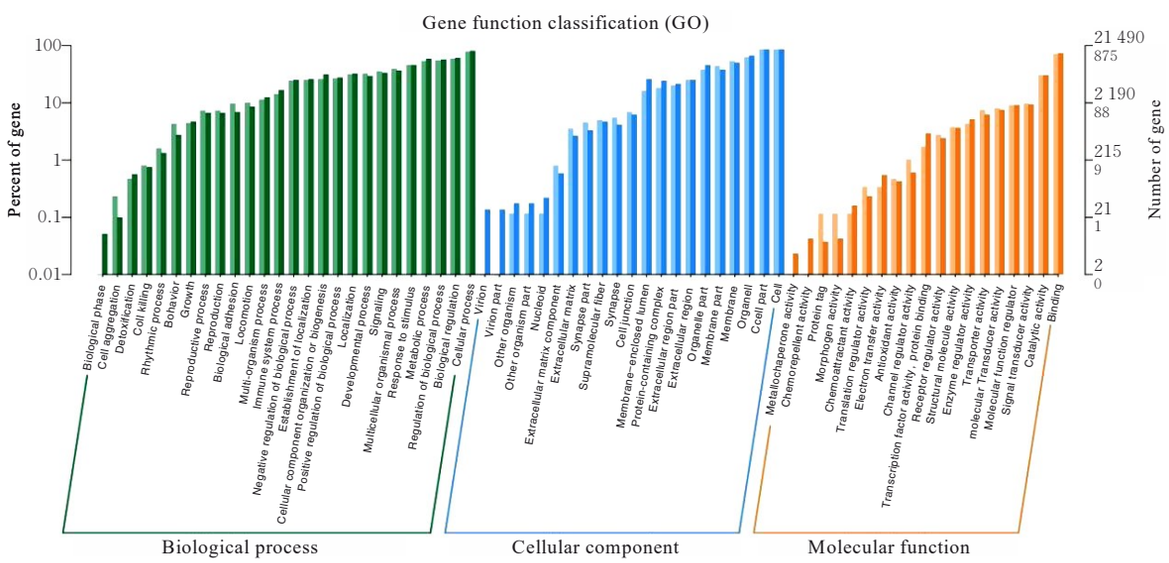


图6　差异表达基因的GO功能富集分析

Fig. 6　GO functional enrichment analysis on differentially expressed genes

路及PI3K/Akt信号通路等与细胞凋亡密切相关。见图7A。*IL-24*过表达后，RelB处于PPI网络的核心调控区域（图7B），提示其在细胞信号转导中发挥关键作用。

2.8　2组HeLa细胞中*RelB* mRNA表达水平　RT-qPCR法检测结果显示：与pcDNA3.1(＋)组比较，pcDNA3.1(＋)-IL-24组HeLa细胞中*RelB* mRNA表达水平降低（$P<0.01$）。免疫荧光染色实验结果显示：与pcDNA3.1(＋)组比较，pcDNA3.1(＋)-IL-24组HeLa细胞中RelB蛋白表达量降低。见图8。

2.9　验证实验中HPV18 E6/E7作用前后各组HeLa细胞中*RelB* mRNA和蛋白表达水平　RT-qPCR检测结果显示：与pcDNA3.1(＋)组比较，pcDNA3.1(＋)-IL-24组HeLa细胞中*HPV18 E6*和*HPV18 E7* mRNA表达水平均降低（$P<0.01$）。见图9A和9B。pcDNA3.1(＋)-IL-24组HeLa细胞中分别或同时过表达*HPV18 E6*和*HPV18 E7*后，*HPV18 E6*和*HPV18 E7* mRNA表达水平均升高（$P<0.05$或$P<0.01$），说明*HPV18 E6*和*HPV18 E7*

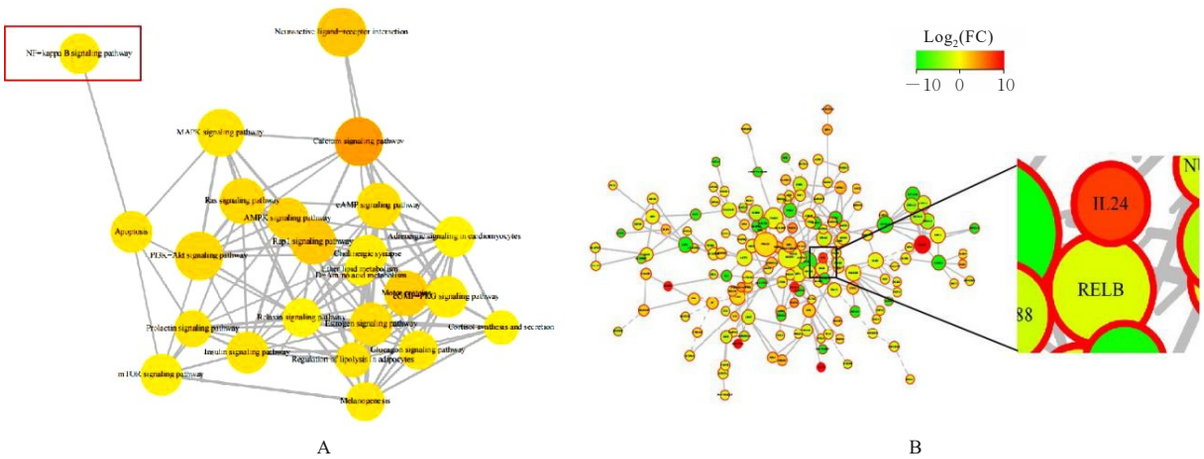
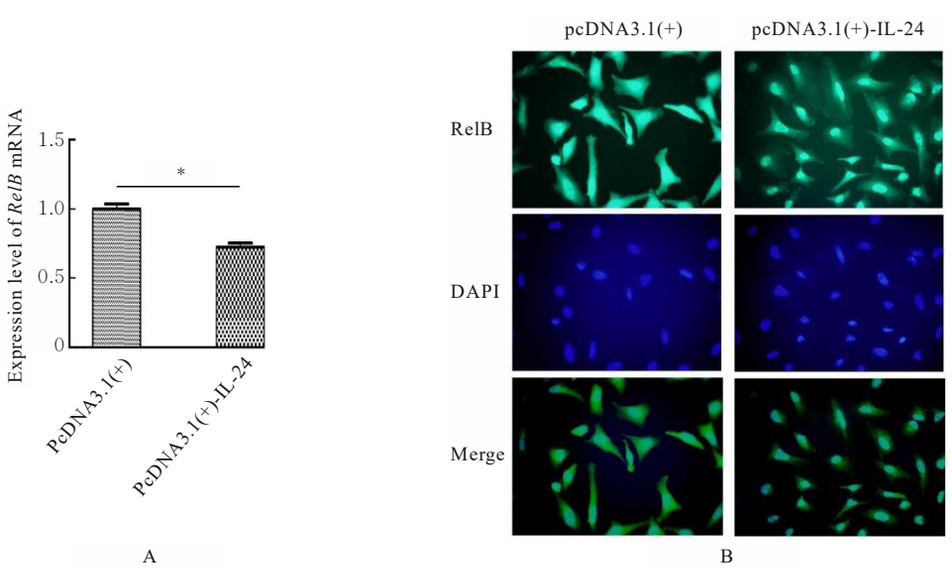


图 7　差异表达基因的 KEGG 信号通路富集分析(A)和 PPI 网络(B)

Fig. 7　KEGG signaling pathway enrichment analysis(A) and PPI network(B) of differentially expressed genes



A：Expression level of *RelB* mRNA dectected by RT-qPCR method($^*P<0.01$)；B：Expression amount of RelB protein detected by immunofluorescence staining assay (×400).

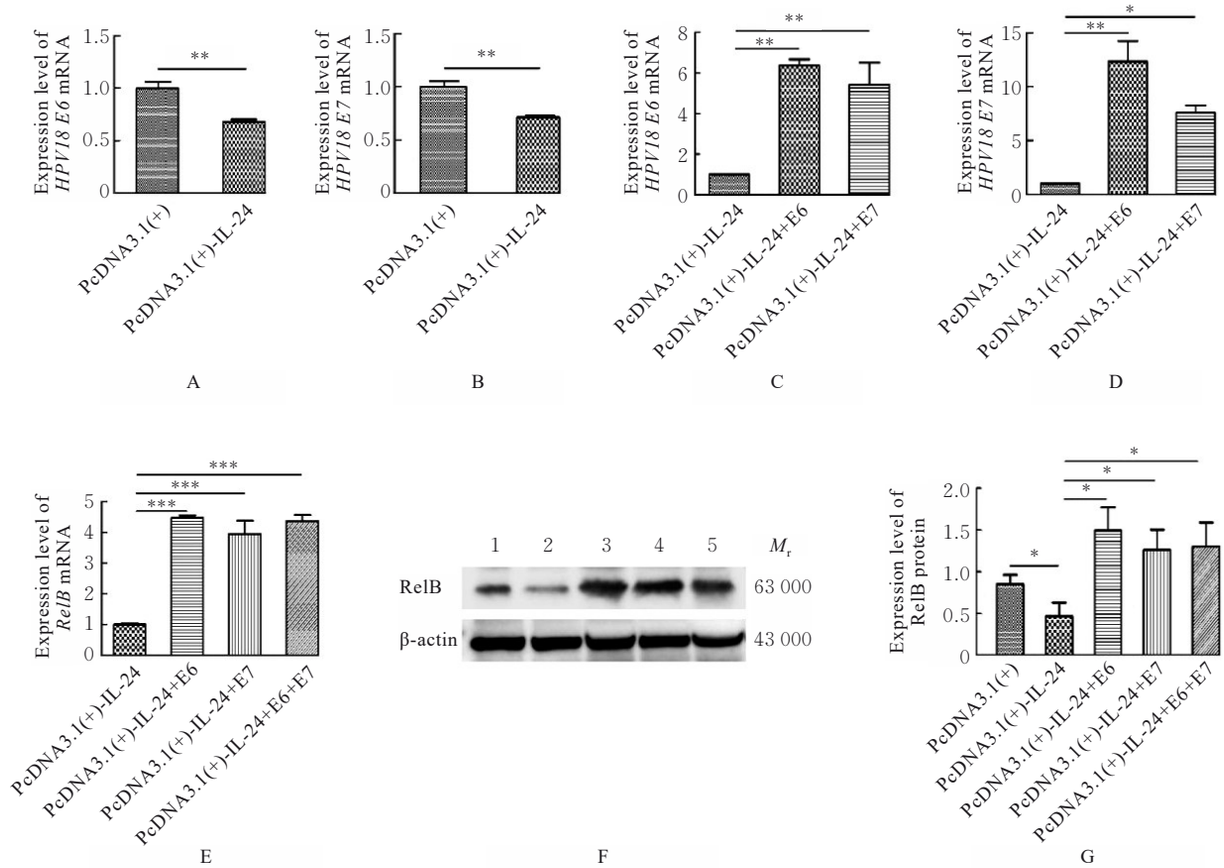
图 8　2 组 HeLa 细胞中 *RelB* mRNA 和蛋白表达情况

Fig. 8　Expressions of *RelB* mRNA and protein in HeLa cells in two groups

质粒成功转染（图 9C 和 9D）。RT-qPCR 和 Western blotting 法检测结果显示：与 pcDNA3.1(+)-IL-24 组比较，pcDNA3.1(+)- IL-24+E6 组、pcDNA3.1(+)-IL-24+E7 组和 pcDNA3.1(+)-IL-24+E6+E7 组 HeLa 细胞中 *RelB* mRNA 及蛋白表达水平均升高（$P<0.05$ 或 $P<0.001$）。见图 9E 和 9F。

3　讨　论

IL-24 是白细胞介素（interleu kin，IL）细胞因子家族的一员，研究[12-14]证实其与多种自身免疫性疾病（包括肿瘤、关节炎和炎症性肠病等）有关。研究[15]显示：IL-24 可诱导肿瘤干细胞凋亡，并促进 T 淋巴细胞活化、分化和增殖，使嵌合抗原受体 T 淋巴细胞（即 CAR-T 细胞）具备更强的抗肿瘤反应性。9 型辅助性 T 淋巴细胞 9（T helper type 9 cells，Th9）是肿瘤免疫治疗中强有力的效应 T 淋巴细胞，IL-24 在 Th9 细胞中高表达。体外实验[16]证实：敲除 Th9 细胞中的 *IL-24* 基因可降低 Th9 细胞的肿瘤特异性细胞毒性。此外，在小鼠肿瘤模型中，敲除 *IL-24* 的 Th9 细胞免疫治疗表现出比常规 Th9 细胞更低的肿瘤抑制作用。本研究结果显示：在宫颈癌 HeLa 细胞中过表达 *IL-24* 后，HeLa 细胞



A: Expression level of *HPV18 E6* mRNA in two groups; B: Expression level of *HPV18 E7* mRNA in two groups; C: Expression level of *HPV18 E6* mRNA in three groups; D: Expression level of *HPV18 E7* mRNA in three groups; E: Expression level of *RelB* mRNA in four groups; G: Expression level of RelB protein in five groups; F: Electrophoregram [Lane 1: PcDNA3.1(+) group; Lane 2: PcDNA3.1(+)-IL-24 group; Lane 3: PcDNA3.1(+)-IL-24+E6 group; Lane 4: PcDNA3.1(+)-IL-24+E7 group; Lane 5: PcDNA3.1(+)-IL-24+E6+E7 group]; $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$.

图9　各组HeLa细胞中*HPV18 E6* mRNA、*HPV18 E7* mRNA和*RelB* mRNA及蛋白表达水平

Fig. 9　Expression levels of *HPV18 E6* mRNA, *HPV18 E7* mRNA, *RelB* mRNA and protein in HeLa cells in various groups

的增殖、迁移和侵袭能力均明显降低，细胞凋亡率升高，表明过表达*IL-24*能够有效抑制宫颈癌细胞的恶性生物学行为。

宫颈癌的发生受到多种因素的影响，包括高危型人乳头瘤病毒（high-risk human papillomavirus，HR-HPV）的持续性感染、性行为、生殖和遗传因素以及环境或生活方式等[17-18]。HR-HPV持续性感染是宫颈癌发生的主要致病因素[19]。HPV是一种小型无包膜病毒，含有环状双链DNA基因组。引发宫颈癌发生的最常见高危亚型是HPV16型和HPV18型[20]。*HPV18 E6*和*E7*为癌基因，其编码的E6和E7蛋白通过作用于其他基因诱导癌症的发生，对于研究HPV感染所致疾病的致病机制具有重要意义[21]。本研究结果显示：*IL-24*过表达可下调*HPV18 E6*和*E7*癌基因的转录水平。研究[22]证实：IL-24可诱导多种上皮来源肿瘤细胞的分化和衰老。在HPV相关的宫颈癌发生过程中，E6和E7癌蛋白分别介导P53蛋白降解和视网膜母细胞瘤蛋白功能失活，协同破坏细胞的衰老与分化机制，从而维持感染细胞的永生化状态[21]。本研究中，*IL-24*过表达可能作为一种外源性抗肿瘤信号，通过其已知的促分化与促衰老作用，促使HeLa细胞进入分化或衰老状态。在该状态下，细胞可能不再提供HPV基因组高效转录所需的活跃细胞周期环境，最终导致E6/E7基因启动子活性降低及其促使*E6* mRNA和*ET* mRNA表达水平降低。本研究基于RNA-seq技术分析*IL-24*过表达对HeLa细胞基因表达谱的影响，RNA-seq测序结果表明：*IL-24*过

表达后共有278个基因表达上调，674个基因表达下调，GO功能富集分析结果显示：差异表达基因显著富集在细胞聚集、细胞生物学行为、细胞外基质、翻译调节及转录因子活性等过程。KEGG信号通路富集分析与PPI网络分析结果进一步显示：NF-κB信号通路中的关键分子RelB在信号转导网络中发挥重要调节作用。已知NF-κB信号通路不仅参与炎症反应，也在肿瘤发生中发挥重要作用[23]，而HPV E6/E7癌蛋白可通过多种机制激活该通路[24-25]。本研究采用RT-qPCR与Western blotting法验证：*IL-24*过表达可导致RelB表达降低，而外源过表达*HPV18 E6/E7*则能够逆转这一趋势，使RelB表达升高。上述结果提示：*HPV18 E6/E7*的缺失可能解除了其对NF-κB通路的持续激活作用，从而降低RelB的转录活性与蛋白表达水平；重新过表达*HPV18 E6/E7*则重建了该激活信号，逆转了RelB的表达下调。

综上所述，本研究证实*IL-24*过表达可显著抑制宫颈癌HeLa细胞的增殖、迁移与侵袭，并促进细胞凋亡。IL-24可能通过下调HPV18 E6/E7癌蛋白表达，进而抑制NF-κB信号通路关键分子RelB的转录与蛋白表达水平，从而实现对宫颈癌细胞恶性表型的多维度干预。该研究结果不仅在细胞分子层面阐释了IL-24在宫颈癌发生发展中的新调控机制，也为基于宫颈癌的精准分子靶向治疗策略提供了创新性思路和可靠的实验依据。

利益冲突声明：

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：

王微参与实验操作、统计学分析和论文撰写，王靖参与实验操作，张杰和宋倩参与数据分析，孙甜甜参与论文撰写，袁洪涛参与研究设计和论文审阅。

[参考文献]

[1] VIMPERE L, SAMI J, JEANNOT E. Cervical cancer screening programs for female sex workers: a scoping review[J]. Front Public Health, 2023, 11: 1226779.

[2] BAI Y Y, WANG W H, CHENG Y M, et al. Research progress on the GRP78 gene in the diagnosis, treatment and immunity of cervical cancer[J]. Eur J Med Res, 2023, 28(1): 447.

[3] SMALL W Jr, BACON M A, BAJAJ A, et al. Cervical cancer: a global health crisis[J]. Cancer, 2017, 123(13): 2404-2412.

[4] GADDUCCI A, COSIO S. Pharmacological treatment of patients with metastatic, recurrent or persistent cervical cancer not amenable by surgery or radiotherapy: state of art and perspectives of clinical research[J]. Cancers, 2020, 12(9): 2678.

[5] SANTORO A, ANGELICO G, INZANI F, et al. The emerging and challenging role of PD-L1 in patients with gynecological cancers: an updating review with clinico-pathological considerations[J]. Gynecol Oncol, 2024, 184: 57-66.

[6] BHATTACHARJEE R, DAS S S, BISWAL S S, et al. Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: Molecular pathways and targeted therapeutic strategies[J]. Crit Rev Oncol, 2022, 174: 103675.

[7] ZHAO F H, LANG J H, QIAO Y L, et al. How can China achieve WHO's 2030 targets for eliminating cervical cancer?[J]. BMJ, 2024, 386: e078641.

[8] ZHAO Q Q, YANG S B, HAO S J, et al. Identification of transcriptionally-active human papillomavirus integrants through nanopore sequencing reveals viable targets for gene therapy against cervical cancer[J]. J Med Virol, 2024, 96(6): e29769.

[9] ZHANG D M, ZHAO M Q, JIANG P, et al. RPL22L1 fosters malignant features of cervical cancer *via* the modulation of DUSP6-ERK axis[J]. J Transl Med, 2025, 23(1): 244.

[10] WU Q, JIN Y H, LI S, et al. Oncolytic Newcastle disease virus carrying the IL24 gene exerts antitumor effects by inhibiting tumor growth and vascular sprouting[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 136: 112305.

[11] DENG L L, FAN J, DING Y D, et al. Target therapy with vaccinia virus harboring IL-24 for human breast cancer[J]. J Cancer, 2020, 11(5): 1017-1026.

[12] QURESHI S, AHMED N, REHMAN H M, et al. Investigation of therapeutic potential of the IL-24-p20 fusion protein against breast cancer: an *in-silico* approach[J]. In Silico Pharmacol, 2024, 12(2): 84.

[13] SCRIVO R, CONIGLIARO P, RICCIERI V, et al. Distribution of interleukin-10 family cytokines in serum and synovial fluid of patients with inflammatory arthritis reveals different contribution to systemic and joint inflammation[J]. Clin Exp Immunol, 2015, 179(2): 300-308.

[14] ZHONG Y J, ZHANG X, CHONG W P. Interleukin-24 immunobiology and its roles in inflammatory diseases[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(2): 627.

[15] ZHANG K, HU W H, LI F, et al. IL-24 improves efficacy of CAR-T cell therapy by targeting stemness of tumor cells[J]. Br J Cancer, 2024, 130(8): 1337-1347.
[16] CHEN J T, ZHANG Y W, ZHANG H, et al. IL-24 is the key effector of Th9 cell-mediated tumor immunotherapy[J]. iScience, 2023, 26(9): 107531.
[17] SAHASRABUDDHE V V. Cervical cancer: precursors and prevention[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2024, 38(4): 771-781.
[18] TRIPATHI T, YADAV J, JANJUA D, et al. Targeting cervical cancer stem cells by phytochemicals[J]. Curr Med Chem, 2024, 31(32): 5222-5254.
[19] BOSCH F X, LORINCZ A, MUÑOZ N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer[J]. J Clin Pathol, 2002, 55(4): 244-265.
[20] HU C C, LIU T Y, HAN C Y, et al. HPV E6/E7 promotes aerobic glycolysis in cervical cancer by regulating IGF2BP2 to stabilize m^6A-MYC expression[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(2): 507-521.
[21] PI R J, LI T Y, ZHANG H, et al. The distribution of HR-HPV E6/E7 DNA and mRNA by histological grade and the clinical performance for detection of cervical cancer and precancer[J]. J Med Virol, 2024, 96(11): e70026.
[22] GUPTA P, SU Z Z, LEBEDEVA I V, et al. Mda-7/IL-24: multifunctional cancer-specific apoptosis-inducing cytokine[J]. Pharmacol Ther, 2006, 111(3): 596-628.
[23] YU H, LIN L B, ZHANG Z Q, et al. Targeting NF-κB pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study[J]. Sig Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 209.
[24] GU N J, WU M Z, HE L, et al. HPV 16 E6/E7 up-regulate the expression of both HIF-1α and GLUT1 by inhibition of RRAD and activation of NF-κB in lung cancer cells[J]. J Cancer, 2019, 10(27): 6903-6909.
[25] HUSSAIN I, FATHALLAH I, ACCARDI R, et al. NF-kappaB protects human papillomavirus type 38 E6/E7-immortalized human keratinocytes against tumor necrosis factor alpha and UV-mediated apoptosis[J]. J Virol, 2011, 85(17): 9013-9022.