

转录因子 ZNF174 对非小细胞肺癌肿瘤干性的影响

冯学溢, 戴倩

(安徽医科大学生命科学院, 合肥 230032)

摘要 目的 探讨转录因子 *ZNF174* 在非小细胞肺癌(NSCLC)中对肿瘤干性的影响。方法 通过 StemChecker 在线分析 *ZNF174* 对肿瘤干性指标影响;酶切酶联构建 *ZNF174* 敲低质粒;同源重组构建 *ZNF174* 过表达质粒;慢病毒感染构建 *ZNF174* 敲低和过表达细胞稳系;肿瘤干细胞成球检测干性维持能力;RNA-seq 和实时荧光定量 PCR(qPCR)检测对关键干性基因表达的影响。结果 转录因子 *ZNF174* 在 NSCLC 中对细胞干性中起促进作用,促进肿瘤干性基因:原癌基因 *B* 细胞特异性小鼠白血病毒插入位点 1(*BMI1*)、乙醛脱氢酶 2(*ALDH2*)、性别决定区 Y-框 2(*SOX2*)、高迁移率族蛋白 A2(*HMG A2*)和蜗牛家族转录抑制因子 1(*Snail1*)表达,并促进 NSCLC 肿瘤干细胞成球。结论 *ZNF174* 在 NSCLC 中促进肿瘤干性,具有成为 NSCLC 治疗和预后评估新靶点的潜力。

关键词 非小细胞肺癌;肿瘤干性;转录因子;*ZNF174*;肺癌;肿瘤

中图分类号 R 72

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)12-2308-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.12.014

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是最常见的肺癌亚型,严重威胁人类的生存和健康^[1]。肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)具有自我更新和分化潜能,是肿瘤生长、复发及转移的主要驱动力^[2-3]。通过靶向肿瘤干细胞,可以更有效地抑制肿瘤的生长和扩散,从而提高治疗效果,延长患者的生存期^[4]。然而,肿瘤干性的调控机制错综复杂,涵盖多种信号通路、代谢途径及肿瘤微环境因素的交互作用^[5]。因此,探究肿瘤干性的调控机制,对于开发新型的肿瘤治疗策略具有重要意义。

在调控机制中,转录调控扮演着至关重要的角色,而转录因子则是这一过程中的关键参与者^[6]。它们通过调控基因的表达,影响 CSCs 的生物学特性,进而对肿瘤的发展产生深远影响。*ZNF174* 是转录因子中占比最大家族——锌指蛋白家族成员之一,前人对于 *ZNF174* 的研究主要集中在对其结构的解析^[7-8]。该研究将深入探讨转录因子 *ZNF174* 在肿瘤干性调控中的作用,旨在为肿瘤治疗提供新的思路和方法。

1 材料与方法

2025-08-21 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82103299)

作者简介:冯学溢,女,硕士研究生;

戴倩,女,副教授,硕士生导师,通信作者, E-mail: daiqian

@ahmu.edu.cn

1.1 材料

1.1.1 细胞 人胚肾细胞,293T;人肺腺癌细胞,包括 A549、PC9;人肺鳞癌细胞,H520。所有细胞系均购于武汉 Procell 生物科技公司。

1.1.2 基因 人源 *ZNF174* 的 CDS 序列位于 NC_000016.10(3401215-3409364)染色体上。文中所采用的 shRNA 靶点在 *ZNF174* 的 mRNA 上的靶标序列为 CAGAGCATCCAAGAAACCAAA。

1.1.3 试剂 FuniCut™ EcoRI 快速限制性内切酶(货号:15010ES78)、FuniCut™ BamH I 快速限制性内切酶(货号:15003ES76)、Hieff Trans® Liposomal Transfection Reagent 脂质体核酸转染试剂(货号:40802ES03)、Hieff® qPCR SYBR Green Master Mix (No Rox)(货号:11201ES08)购自上海翌圣生物科技股份有限公司;DH5α Chemically Competent Cell(货号:TSC-C14)购自南京擎科生物科技有限公司;RIPA 裂解液(强)(货号:BL504A)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号:BL521A)、DMEM/F12(货号:BL305A)购自上海碧云天生物技术有限公司;B-27(货号:17504044)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;FGF2 细胞因子(货号:10014-HNAE)、EGF(货号:10605-HNAE)购自北京义翘神州科技股份有限公司;DMEM 高糖(含谷氨酰胺、丙酮酸钠)(货号:C3113-0500)购自上海维沃细胞科技有限公司;超低吸附 12 孔板(货号:11218)购自中国 LABSELECT 公司;SPARKeasy 细胞 RNA 快速提取

试剂盒(货号: AC0205-A)购自山东思科捷生物科技有限公司。

1.1.4 引物 使用的引物见表1。

表1 引物序列

Tab.1 Primer sequences

Gene	Primer sequence (5'-3')
<i>ZNF174</i>	EcoRI-F: TCTCGAGCTCAAGCTTCAATCGCCACCAT
	GGCAGCTAAATGGAGATAACTTTAAG
	BamH I -R: ATTATCTAGAGTCGCGGGATCCTTAGTCC
	CCATGGTGAAGTCGG
	RTF: GCCCCATCATTTGGGAGAAA
	RTR: ACCAGGCCCTCTAAACAGA
<i>ABCG2</i>	ShF: CCGGCAGAGCATCCAAGAAACCAACTCGAGT
	TTGGTTTCTTGGATGCTCTGTTTTTG
	ShR: AATTCAAAAACAGAGCATCCAAGAAACCAAC
	TCCAGTTTGTTTCTTGGATGCTCTG
<i>BMII</i>	RTF: CAGGTGGAGGCAAATCTTCGT
	RTR: ACCCTGTTAATCCGTTCTGTTTT
<i>GAPDH</i>	RTF: GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT
	RTR: GGCTGTGTCTACTTCTCATGG
<i>SOX2</i>	RTF: GCCGAGTGGAACTTTTGTCCG
	RTR: GGCAGCGTGTACTTATCCTTCT
<i>ALDH2</i>	RTF: ATCAAAGAAGCTGCCGGGAA
	RTR: GCATTGTCCAAGTCGGCATC
<i>HMG2</i>	RTF: CAGCAAGAACCAACCGGTGA
	RTR: GGCCATTTCCTAGTCTGCC

1.1.5 仪器 超纯水制造系统(型号: IFJY1501-UVF)购自富勒姆生物科技(上海)有限公司;二氧化碳细胞培养箱(型号: Heracell™ VIOS 160i)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;超净工作台(型号: AlphaClean1300)购自江西力康科技集团有限公司;光学倒置显微镜(型号: DMi8)购自德国 Leica Microsystems 公司;电泳仪(型号: 1658033)购自美国 Bio-Rad Laboratories 公司;实时荧光定量 PCR 仪(型号: LightCycler 96)购自瑞士 Roche Diagnostics 公司;PCR 仪器(型号: Biometra TOne 96 G)购自德国 Analytik Jena 公司。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析 使用在线工具 Stem-Checker (<http://stemchecker.sysbiolab.eu/>) 分析 *ZNF174* 基因可能富集的干细胞类型及其影响的干性标志物。利用 sangerbox (<http://sangerbox.com/home.html>) 线上生信平台,从 UCSC-Xena 数据库中

提取 TCGA NSCLC 数据集中 *ZNF174* 基因(ENSG00000103343)在各个样本的表达。再整合样本的干性指数及基因表达数据,计算每个肿瘤的 DNAs 肿瘤干性评分。对每个表达值进行 $\text{Log}_2(x + 0.001)$ 变换,绘制其在 NSCLC 中表达情况。

1.2.2 RNA-Seq 分析 下载原始测序数据,经 FastQC 质量控制后,使用 Trimmomatic 剪接序列两端。通过 TopHat2/Cufflinks/STAR 进行序列比对及定量,HTSeq 协助统计转录本表达水平,deeptools 用于富集分析。格式转换后的 bw 文件导入 IGV (2.16.1)进行可视化,以便观察基因表达及差异。

1.2.3 细胞培养 本实验用所有细胞均置于含 5% CO₂ 的 37 °C 恒温培养箱中,使用添加 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素的 DMEM 高糖培养基培养。

1.2.4 细胞稳态构建 将 37.5 μL 的转染试剂和 500 μL 的 opti-MEM 在室温混合静置 5 min,期间将 5 μg 目的质粒和 2.5 μg 的包装质粒 VSVG、5 μg 的包装质粒 P8.9 混合加入 500 μL 的 opti-MEM 中。静置结束后将两管液体混合室温孵育 15 min 后加入密度为 70% 的 293T 细胞中。16 h 后换新鲜培养基孵育,换液后 24 h 收取培养皿内病毒上清液加入密度 30% 左右的待感染细胞中,并加入病毒体积 1/2 的完全培养基以及终浓度 0.8 μg/μL 的聚凝胺。感染 24 h 后换含有 2 μg/μL 嘌呤霉素的完全培养基筛选 48 h。后换含有 1 μg/μL 嘌呤霉素的完全培养基持续培养。

1.2.5 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR) 在 8 连管中分别加入 12.5 ng 的 cDNA,终浓度为 0.125 μmol/L 的前后引物以及总体积 1/2 的 SYBR 配制 qPCR 体系。通过荧光信号累积来反映 PCR 进程,使用标准曲线对基因表达量进行定量分析。

1.2.6 Western blot 实验 使用 RIPA 裂解液对细胞总蛋白进行提取,使用 BCA 试剂盒将蛋白终浓度定为 2 μg/μL,每个样本每次实验使用 20 μg 蛋白。经 SDS 电泳、转膜、封闭、抗体孵育和曝光,通过蛋白浓度灰度值测定基因表达量。

1.2.7 干细胞成球实验 将生长状态良好的细胞进行消化处理,然后离心收集,去除含血清的培养基。用 PBS 清洗细胞 2 次,以去除残留的血清和消化酶。使用干细胞培养基重悬细胞,并进行细胞计数。将细胞播种到超低吸附 12 孔培养板中,1 000 个细胞/孔。将铺好细胞的 12 孔板置于培养箱中培养,每隔 2~3 d 更换 1 次培养基。培养 14 d 并记录

细胞球的形态和成长情况。

1.2.8 敲低载体构建 用退火缓冲液和 shRNA 前后引物梯度退火,用 T4 连接酶和酶切回收的线性 PLKO.1 载体进行酶连反应。将其产物转化到 DH5 α 中并涂布 LA 固体培养基上置于 37 ℃ 恒温培养箱中培养 12 h,然后挑取单克隆进行测序鉴定。引物序列见表 1 中 *ZNF174*-shF 和 *ZNF174*-shR。

1.2.9 过表达载体构建 在 *ZNF174* 基因片段的正反向 PCR 引物 5' 端引入线性化 pLVX 载体末端同源序列,引物序见表 1 中 *ZNF174*-EcoRI-F 和 *ZNF174*-BamH I -R。使用 EcoR I 和 BamH I 限制性内切酶对 pLVX 载体进行双酶切,使其线性化。通过琼脂糖凝胶电泳分离酶切产物,并回收线性化的 pLVX 载体片段。将线性化的 pLVX 载体与 *ZNF174* 基因片段按 1 : 3 混合,在重组酶的催化下进行重组反应。将重组反应产物转化到 DH5 α 中并涂布 LA 固体培养基上置于 37 ℃ 恒温培养箱中培养 12 h,然后挑取单克隆进行测序鉴定。

1.3 统计学处理 采用 Graphpad Prism 8 软件进行数据分析。所有细胞实验均独立重复 3 次,每次实验使用 2 个独立样本。实验结果呈正态分布,数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式呈现。方差齐性条件下,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;多组间比较则应用单因素方差分析。统计检验的显著性水平设定为 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生信分析 *ZNF174* 与 NSCLC 细胞干性之间

的关系 通过 StemChecker 在线工具分析,揭示 *ZNF174* 对于不同类型干细胞的影响,结果显示, *ZNF174* 主要在胚胎干细胞中发挥作用(图 1A)。进一步研究结果显示, *ZNF174* 主要通过调控细胞干性转录标记蛋白 Nanog 和 E2f4 的表达促进肿瘤干性(图 1B),证明 *ZNF174* 与细胞干性密切相关。

本研究重点研究了 mRNA 相似性指数(mRNA expression-based stemness index, mRNAsi)与 *ZNF174* 表达水平之间的关系。针对 TCGA 数据库进行生信分析的结果显示, *ZNF174* 表达量与 mRNAsi 指标呈正相关($P < 0.0001$),表明 NSCLC 细胞的干性特征增强(图 1C)。综上所述, *ZNF174* 在增强 NSCLC 细胞干性中起促进作用。

2.2 *ZNF174* 敲低和过表达慢病毒载体的构建

首先用慢病毒载体 pLKO.1 构建了 *ZNF174* 敲低的质粒(图 2A)。随后,用慢病毒载体 pLVX 构建了 *ZNF174* 过表达的质粒(图 2B、2C)。Sanger 测序显示 *ZNF174* 的 shRNA 序列和蛋白编码序列均成功插入到载体中(图 2D、2E)。

2.3 *ZNF174* 敲低和 *ZNF174* 过表达的 NSCLC 细胞稳系构建

使用 *ZNF174* 敲低和 *ZNF174* 过表达的慢病毒感染 NSCLC 细胞 A549、PC9 和 H520,并在感染 72 h 后取嘌呤霉素药筛后的部分细胞用于提取 RNA 和蛋白质验证病毒效率。qPCR 结果显示:与对照组相比,感染 *ZNF174* 敲低组病毒的细胞中 *ZNF174* 的 mRNA 水平降低[A549 ($P < 0.05$)、PC9 ($P < 0.01$)、H520 ($P < 0.05$)](图 3A);感染 *ZNF174* 过表达组病毒的细胞中 *ZNF174* 的 mRNA 水平升高

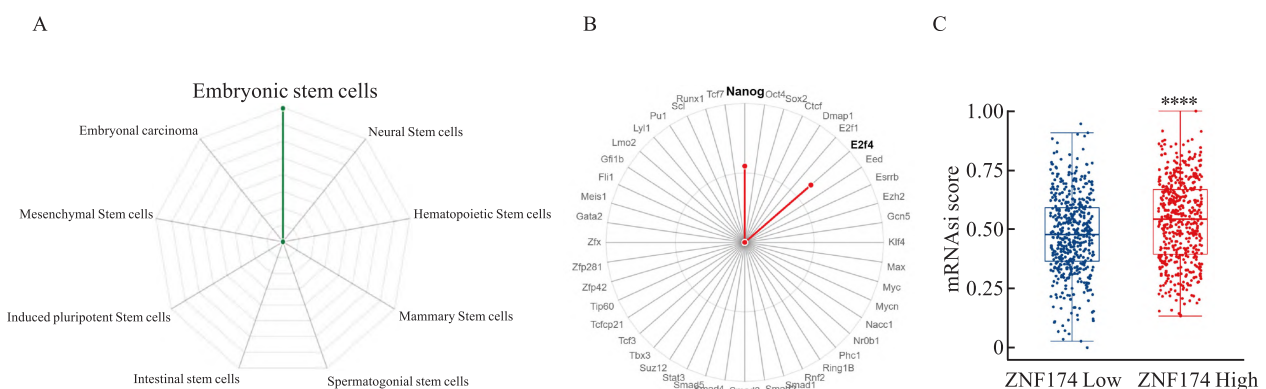


图 1 生信分析 *ZNF174* 对肿瘤干性的影响

Fig.1 Bioinformatics analysis of the effects of *ZNF174* on tumor stemness

A: Enrichment of *ZNF174* across multiple stem cell types (Radar plot); B: Impact of *ZNF174* on tumor stemness markers (Radial analysis plot); C: Association between *ZNF174* expression and mRNAsi scores in NSCLC patients (Box plot); **** $P < 0.0001$ vs *ZNF174* Low group.

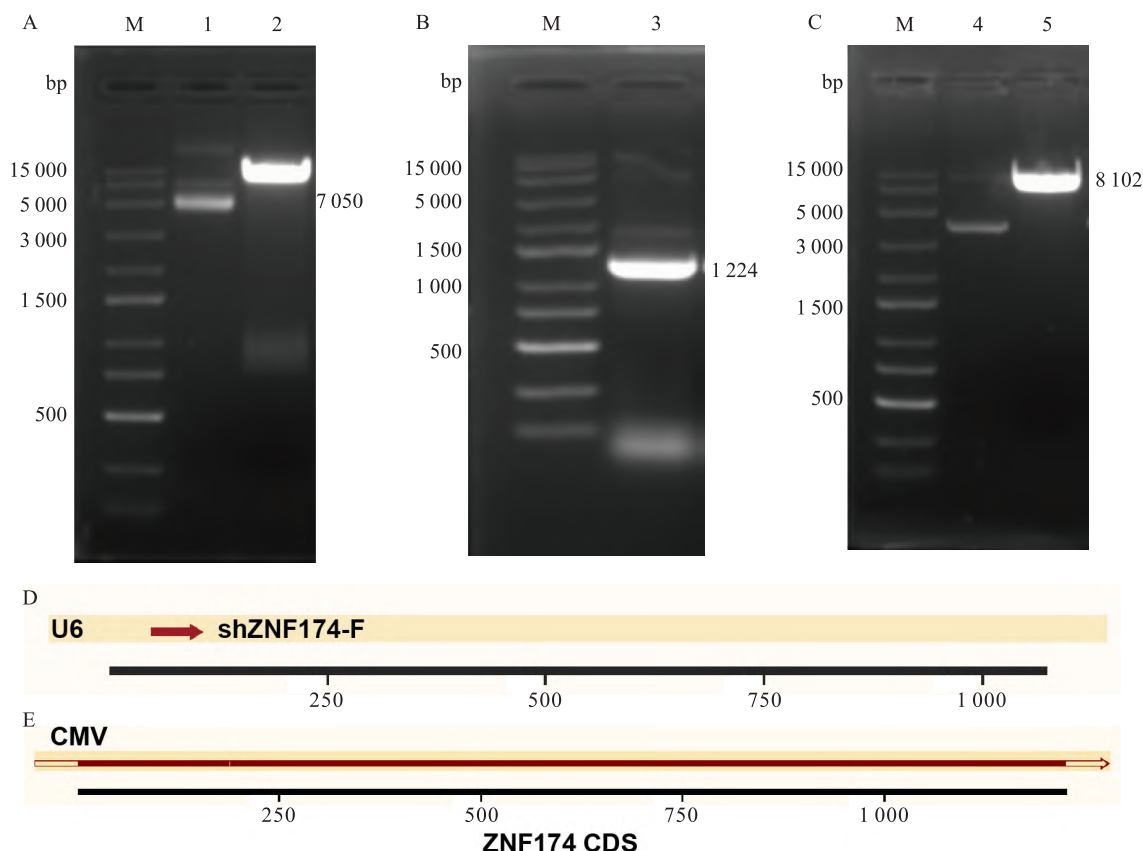


图2 质粒琼脂糖凝胶电泳图

Fig.2 Agarose gel electrophoresis image of plasmid

A: Agarose gel electrophoresis of linearized pLKO.1 plasmid; B: Agarose gel electrophoresis of CDS (coding sequence) amplification; C: Agarose gel electrophoresis of linearized pLVX plasmid; D: Sequencing results of pLKO.1-ZNF174 and alignment with the ZNF174-F primer sequence; E: Sequencing results of the pLVX-ZNF174 plasmid and alignment with the ZNF174 CDS sequence; M: Marker; 1: Control plasmid; 2: Linearized pLKO.1 plasmid; 3: Full-length CDS sequence of ZNF174; 4: Control plasmid; 5: pLVX vector digested with EcoRI and BamHI restriction enzymes.

[A549 ($P < 0.0001$)、PC9 ($P < 0.01$)、H520 ($P < 0.001$)] (图 3B)。Western blot 结果显示感染 ZNF174 敲低组病毒的细胞中 ZNF174 的蛋白水平降低(图 3C),感染 ZNF174 过表达组病毒的细胞中 ZNF174 的蛋白水平升高(图 3D)。

2.4 ZNF174 对 NSCLC 细胞的肿瘤干细胞成球能力的影响 通过干细胞成球实验,模拟体内肿瘤微环境,富集分离肿瘤干细胞并观察 ZNF174 对肿瘤干性的影响。对第 14 天的结果进行统计显示, ZNF174 敲低组的肿瘤干细胞成球率显著降低,且形成的干细胞球直径明显减小,在 3 种细胞系中均有统计学意义:A549 ($P < 0.0001$)、PC9 ($P < 0.0001$)、H520 ($P < 0.0001$) (图 4A);表明 ZNF174 敲低抑制肿瘤干细胞成球能力。与敲低组相反, ZNF174 过表达组的肿瘤干细胞成球率显著提高,且形成的干细胞球直径明显增大,这一促进效应同样在 3 种

细胞系中一致存在:A549 ($P < 0.0001$)、PC9 ($P < 0.001$)、H520 ($P < 0.0001$) (图 4B);表明 ZNF174 过表达促进肿瘤干细胞成球能力。因此, ZNF174 促进 NSCLC 中肿瘤干细胞的形成和生长。

2.5 ZNF174 对 NSCLC 细胞中干性相关基因表达的影响 对 A549 细胞样本进行 RNA-seq 测序,对比对照组与 ZNF174 敲低组的测序结果。测序数据经过分析转换为 bw 格式后,被导入 IGV 中进行分析 and 可视化。结果显示,与对照组相比, ZNF174 敲低后, *BMII*、*ALDH*、*SOX2*、*HMG2* 和 *Snail* 等多种肿瘤干性特征基因的峰值均有所降低,表证着基因表达丰度降低(图 5)。

A549、PC9 和 H520 三种 NSCLC 细胞系中 qPCR 检测的实验结果显示, ZNF174 敲低后,各细胞系中干性相关基因的表达水平均出现显著下调;在 A549 细胞中, *BMII* 表达量降低最为显著 ($P <$

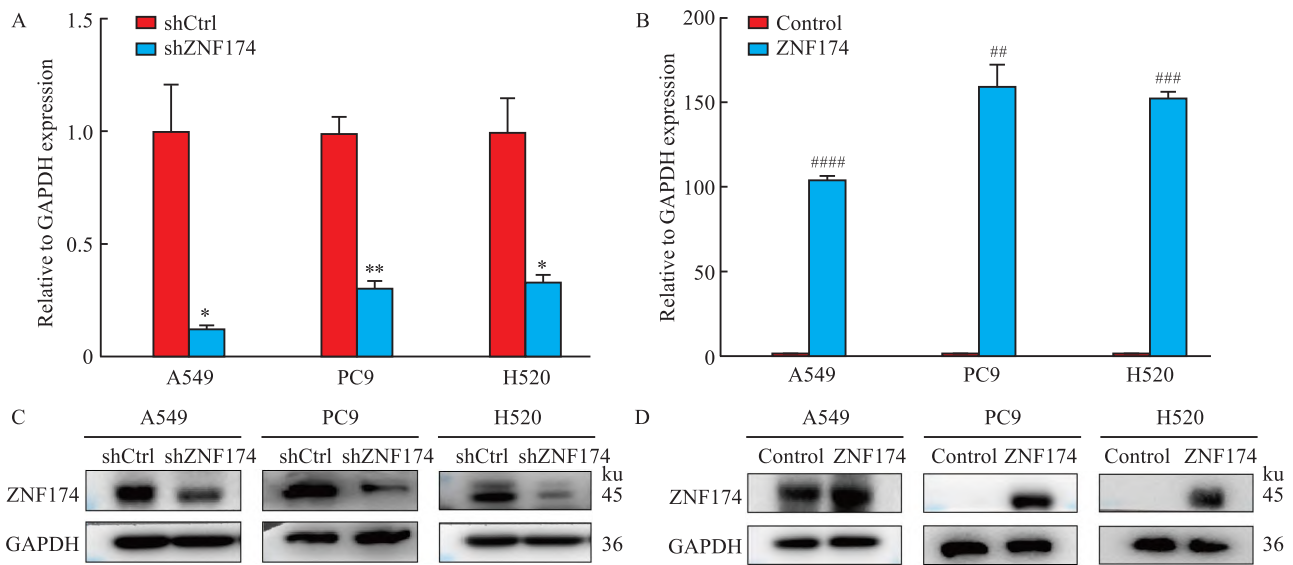


图3 ZNF174表达量检测结果图

Fig. 3 The expression level detection results of ZNF174

A: ZNF174 expression levels at the mRNA level in shCtrl and shZNF174 group; B: ZNF174 expression levels at the mRNA level in the control group and ZNF174 over-expression group; C: ZNF174 expression levels at the protein level in shCtrl and shZNF174 group; D: ZNF174 expression levels at the protein level in the control group and ZNF174 over-expression group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs shCtrl group; # $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$ vs Control group.

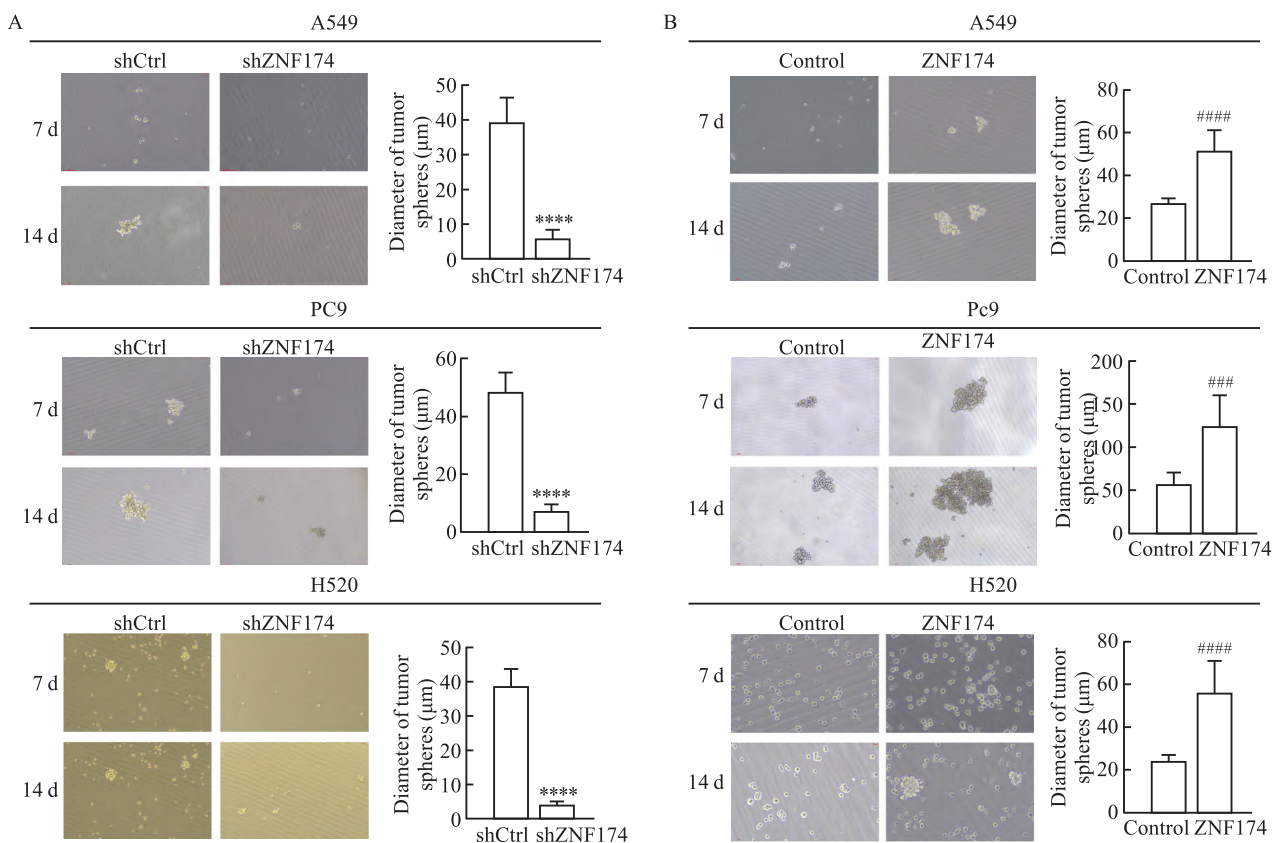
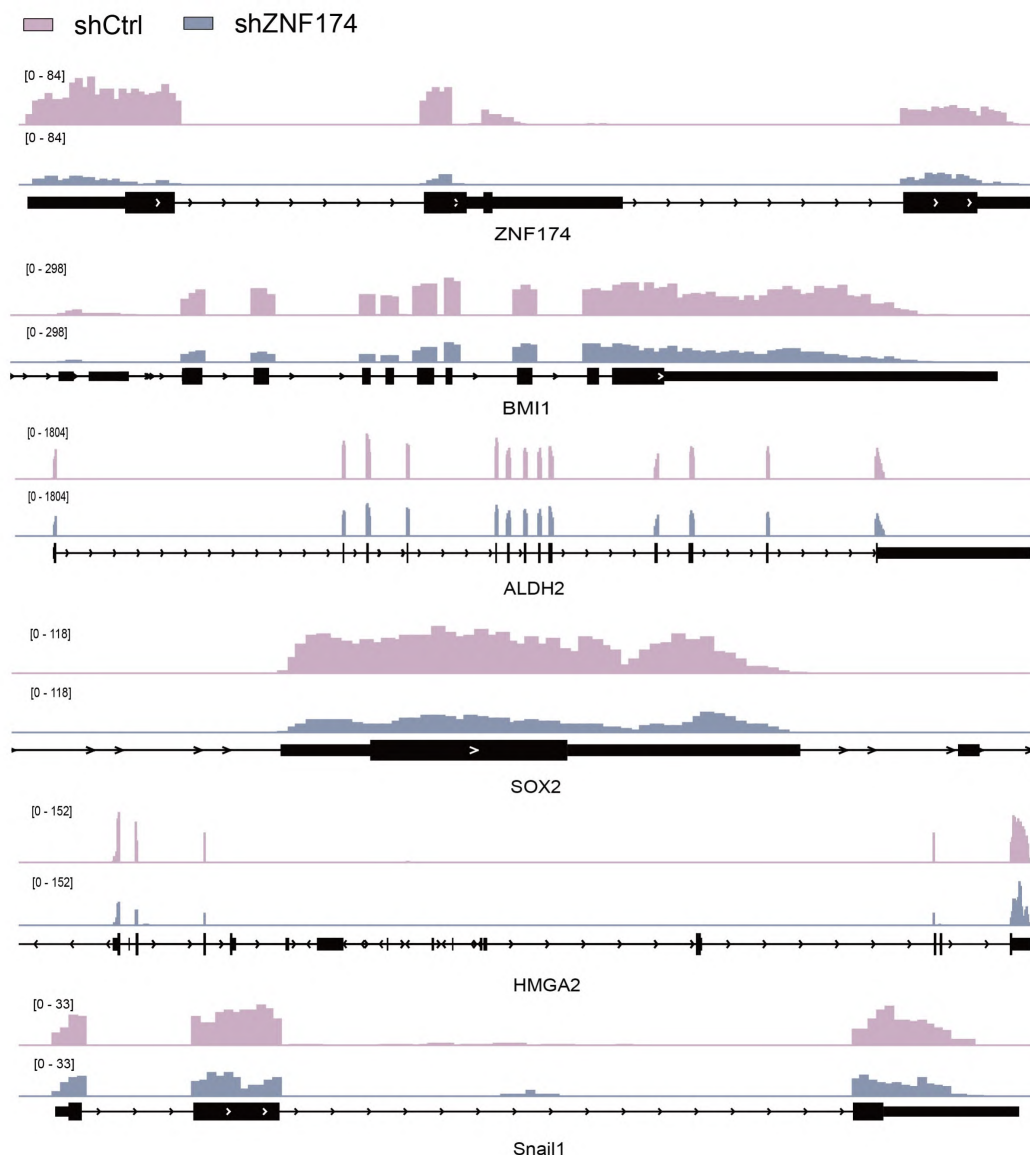


图4 超低吸附皿悬浮培养筛选肿瘤干细胞

Fig. 4 Screening of tumor stem cells in ultra-low adherence dish suspension culture

A: Enrichment of tumor stem cells in shCtrl and shZNF174 group at 7 and 14 days of suspension culture; B: Enrichment of tumor stem cells in the control group and ZNF174 overexpression group at 7 and 14 days of suspension culture, and the results of tumor stem cell sphere diameter statistics at the 14th day $\times 40$; **** $P < 0.0001$ vs shCtrl group; ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$ vs Control group.

图5 IGV 可视化 *ZNF174* RNA-seq 结果Fig.5 Visualization of *ZNF174* RNA-Seq results using IGV

0.001), *ALDH2* ($P < 0.01$)、*SOX2* ($P < 0.05$)、*HMGA2* ($P < 0.05$) 和 *Snail1* ($P < 0.05$) 的表达也下降。PC9 和 H520 细胞中也观察到相同的趋势:*BMI1* 表达下调最为显著 ($P < 0.001$), 其他干性基因 *ALDH2* ($P < 0.01$)、*SOX2* ($P < 0.05$)、*HMGA2* ($P < 0.05$) 和 *Snail1* ($P < 0.05$) 的表达水平均降低。见图6。表明 *ZNF174* 可能通过调节多种干性基因的活性以加速 NSCLC 的恶性行为。

3 讨论

肿瘤干细胞具有高度异质性和可塑性, 为其在肿瘤中的特殊作用提供了基础^[9]。肿瘤干细胞通

过多种机制维持肿瘤持续增长和扩散, 包括对化疗和放疗的抵抗性^[10]。研究 NSCLC 的细胞干性调控机制对开发新的治疗策略具有重要意义^[11]。

本研究通过整合分子生物学技术与生物信息学分析, 系统证实了 *ZNF174* 是调控 NSCLC 细胞干性的一个关键促进因子。首先, 通过成功构建 *ZNF174* 敲低与过表达的稳定细胞系, 本研究在功能层面证实了 *ZNF174* 的表达水平与 NSCLC 细胞的干性指标(如成球能力)呈正相关。说明 *ZNF174* 是一个潜在的癌基因, 其在 NSCLC 中可能通过维持 CSCs 群体来驱动肿瘤的恶性进展。本研究通过 RNA-seq 技术筛选了 *ZNF174* 的下游靶基因, 并发

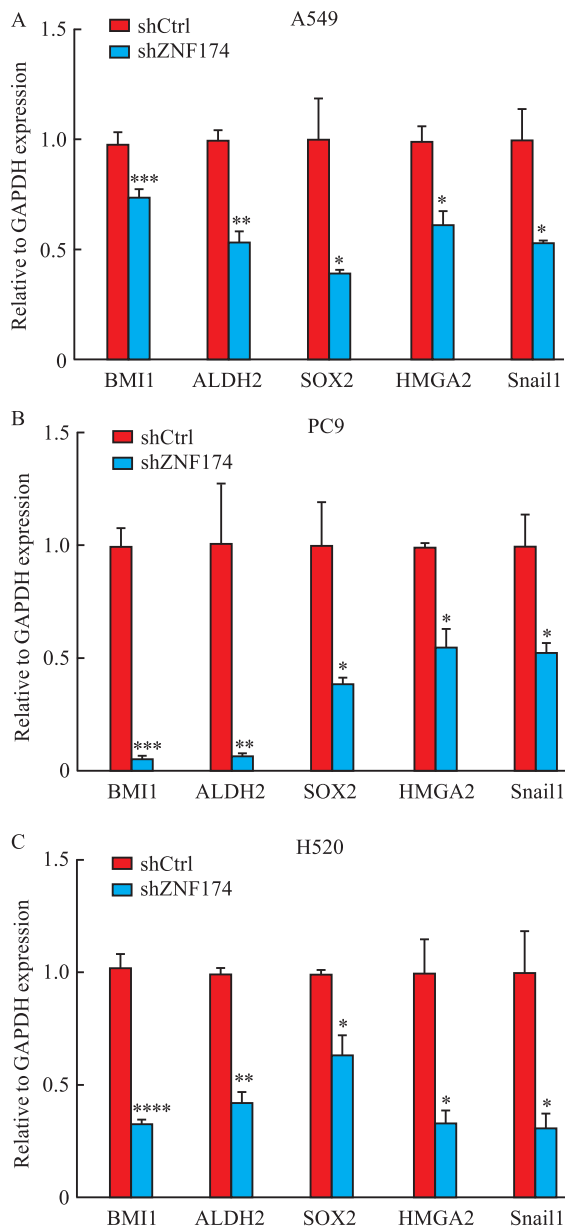


图6 *ZNF174* 敲低后检测肿瘤干性特征基因
Fig.6 Detection of tumor stemness-related genes
after *ZNF174* knockdown

A: mRNA expression levels of tumor stemness-related genes in the A549 cells in shCtrl and sh*ZNF174* group; B: mRNA expression levels of tumor stemness-related genes in the PC9 cells in shCtrl and sh*ZNF174* group; C: mRNA expression levels of tumor stemness-related genes in the H520 cells in shCtrl and sh*ZNF174* group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs shCtrl group.

现其表达变化显著影响了包括 *BMI1*、*ALDH2*、*SOX2*、*HMGA2* 和 *Snail1* 在内的多个核心干性基因。这些基因构成了一个复杂的调控网络,分别通过调控细胞自我更新(如 *BMI1*、*SOX2*)、代谢重编程(如 *ALDH2*)以及上皮-间质转化(EMT,如 *Snail1*)等过程,共同维持 CSCs 的特性并促进治疗抵抗^[12-16]。

当然,本研究仍存在一些局限性,为未来的探索指明了方向。首先,*ZNF174* 是否直接转录调控这些下游基因(如 *BMI1*、*SOX2*)尚需通过 ChIP-seq、荧光素酶报告基因实验等予以最终证实。其次,本研究主要基于体外细胞模型,*ZNF174* 在体内肿瘤形成、转移及耐药性中的作用需借助动物模型进一步验证。最后,*ZNF174* 的表达与 NSCLC 患者临床病理特征及预后的相关性也有待通过大样本临床数据分析加以明确。

综上所述,本研究证实 *ZNF174* 通过调控多个干性基因(*BMI1*、*ALDH2*、*SOX2*、*HMGA2*、*Snail1*)促进 NSCLC 肿瘤干性,为理解 NSCLC 发病机制提供了新视角,为 NSCLC 的临床诊疗和药物开发提供重要理论基础。同时提示 *ZNF174* 及其下游网络可能成为潜在治疗靶点。靶向肿瘤干细胞是克服治疗抵抗和预防复发的关键策略,干预 *ZNF174* 有望为开发新型 NSCLC 疗法提供新思路。未来研究可进一步阐明 *ZNF174* 调控下游基因的具体分子机制,并探索靶向 *ZNF174* 的小分子抑制剂及其与现有药物的联合治疗效果。

参考文献

- [1] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA A Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108. doi: 10.3322/caac.21262.
- [2] De Francesco E M, Sotgia F, Lisanti M P. Cancer stem cells (CSCs): metabolic strategies for their identification and eradication[J]. Biochem J, 2018, 475(9): 1611-34. doi:10.1042/BCJ20170164.
- [3] Gopalan V, Islam F, Lam A K. Surface markers for the identification of cancer stem cells[M]//Cancer Stem Cells. New York, NY: Springer New York, 2017: 17-29. doi:10.1007/978-1-4939-7401-6_2.
- [4] Yang L, Shi P, Zhao G, et al. Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 8. doi:10.1038/s41392-020-0110-5.
- [5] 臧超, 戈巧, 李超, 等. 沉默 MPZL1 调控 β -catenin 对 A549/Tax 细胞干性及耐药性的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(1): 99-105. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.016.
- [5] Zang C, Ge Q, Li C, et al. Effect of silencing MPZL1 on tumor cell stemness and drug resistance of A549/Tax cells via β -catenin signaling[J]. Acta Univ Med Anhui, 2024, 59(1): 99-105. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.016.
- [6] 郭欠影, 吴正升. 可变剪切在恶性肿瘤演进中的研究进展[J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(5): 778-82. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.05.002.
- [6] Guo Q Y, Wu Z S. Research progress of alternative splicing in the

- progression of malignant tumors [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2025, 60(5): 778 – 82. doi:10.19405/j.cnki.issn1000 – 1492.2025.05.002.
- [7] Williams A J, Khachigian L M, Shows T, et al. Isolation and characterization of a novel zinc-finger protein with transcription repressor activity[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(38): 22143 – 52. doi:10.1074/jbc.270.38.22143.
- [8] Stone J R, Maki J L, Blacklow S C, et al. The SCAN domain of *ZNF174* is a dimer[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(7): 5448 – 52. doi:10.1074/jbc.M109815200.
- [9] Kapoor-Narula U, Lenka N. Cancer stem cells and tumor heterogeneity: deciphering the role in tumor progression and metastasis [J]. *Cytokine*, 2022, 157: 155968. doi:10.1016/j.cyto.2022.155968.
- [10] 张文静, 赵可旭, 张可越, 等. 肿瘤干细胞生物学特性及其干性维持机制的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2024, 40(2): 391 – 418. doi:10.13345/j.cjb.230584.
- [10] Zhang W J, Zhao K X, Zhang K Y, et al. Advances in the biological characteristics and stem maintenance mechanisms of tumor stem cells[J]. *Chin J Biotechnol*, 2024, 40(2): 391 – 418. doi:10.13345/j.cjb.230584.
- [11] Ruan D Y, Wu H X, Meng Q, et al. Development of antibody-drug conjugates in cancer: overview and prospects[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2024, 44(1): 3 – 22. doi:10.1002/cac2.12517.
- [12] Xu J, Li L, Shi P, et al. The crucial roles of bmi-1 in cancer: implications in pathogenesis, metastasis, drug resistance, and targeted therapies[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(15): 8231. doi:10.3390/ijms23158231.
- [13] Zhang H, Fu L. The role of *ALDH2* in tumorigenesis and tumor progression: targeting *ALDH2* as a potential cancer treatment[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(6): 1400 – 11. doi:10.1016/j.apsb.2021.02.008.
- [14] Zhu Y, Huang S, Chen S, et al. *SOX2* promotes chemoresistance, cancer stem cells properties, and epithelial-mesenchymal transition by β -catenin and Beclin1/autophagy signaling in colorectal cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(5): 449. doi:10.1038/s41419-021-03733-5.
- [15] Mansoori B, Mohammadi A, Ditzel H J, et al. *HMG2* as a critical regulator in cancer development[J]. *Genes*, 2021, 12(2): 269. doi:10.3390/genes12020269.
- [16] Tang X, Sui X, Weng L, et al. *SNAIL1*: linking tumor metastasis to immune evasion[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 724200. doi:10.3389/fimmu.2021.724200.

The impact of the transcription factor *ZNF174* on tumor stemness in non-small cell lung cancer

Feng Xueyi, Dai Qian

(School of Life Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To explore the effect of transcription factor *ZNF174* on the stemness of non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** StemChecker online analysis was employed to assess the impact of *ZNF174* on tumor stemness markers. The *ZNF174* knockdown plasmid was constructed *via* restriction enzyme digestion and enzyme-linked assembly, while the *ZNF174* overexpression plasmid was generated through homologous recombination. Lentiviral infection established stable cell lines with *ZNF174* knockdown or overexpression. Tumor stem cell spheroid formation assays were conducted to evaluate stemness maintenance capacity. RNA-seq and quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) were utilized to detect effects on key stemness gene expression. **Results** The transcription factor *ZNF174* promoted cellular stemness in non-small cell lung cancer (NSCLC). It promoted the expression of key stemness genes: B-cell-specific moloney murine leukemia virus insertion site 1 (*BM1*), acetaldehyde dehydrogenase 2 (*ALDH2*), SRY-box transcription factor 2 (*SOX2*), recombinant high mobility group AT hook protein 2 (*HMG2*), and snail family transcriptional repressor 1 (*Snail1*) and enhanced tumor spheroid formation in NSCLC stem cells. **Conclusion** *ZNF174* promotes the expression of tumor stemness genes in NSCLC and may become a novel therapeutic and prognostic target for NSCLC.

Key words non-small cell lung cancer; tumor stemness; transcription factor; *ZNF174*; lung cancer; tumor

Fund program National Natural Science Foundation of China (No. 82103299)

Corresponding author Dai Qian, E-mail: daiqian@ahmu.edu.cn