



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

## 《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目： CDH18 通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进宫颈癌细胞增殖和迁移  
作者： 张雪晨，董杨柳，赵博，夏宗一，董昭成，者湘漪，潘贞贞，潘泽民  
网络首发日期： 2026-04-08  
引用格式： 张雪晨，董杨柳，赵博，夏宗一，董昭成，者湘漪，潘贞贞，潘泽民. CDH18 通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进宫颈癌细胞增殖和迁移[J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260407.1904.006>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## CDH18 通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进宫颈癌细胞增殖和迁移<sup>1</sup>

张雪晨<sup>1</sup>, 董杨柳<sup>1</sup>, 赵博<sup>1</sup>, 夏宗一<sup>1</sup>, 董昭成<sup>1</sup>, 者湘漪<sup>1</sup>, 潘贞贞<sup>2</sup>, 潘泽民<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>石河子大学医学院 / 新疆地方与民族高发病教育部重点实验室, 石河子 832002; <sup>2</sup>新疆生产建设兵团第四师医院检验科/输血科, 伊宁 835000)

**摘要 目的** 揭示在宫颈癌细胞中过表达和敲低钙黏蛋白 18 (CDH18) 基因后通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对宫颈癌细胞增殖和迁移能力的影响。**方法** 生物信息学 STRING 数据库 (<http://cn.string-db.org>) 对与 CDH18 蛋白有相互作用的分子进行全面分析; 利用生物信息学 AutoDock 软件 (<http://autodock.scripps.edu>) 完成 XAV939 和  $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 的分子对接; 通过激光共聚焦荧光显微镜检测 CDH18 基因影响  $\beta$ -catenin 在细胞质和细胞核的分布; 采用 EdU 实验、细胞划痕实验和 Transwell 实验检测过表达、敲低 CDH18 基因和 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制剂 XAV939 处理对细胞增殖和迁移能力的影响; 采用 Western blot 检测过表达和敲低 CDH18 基因和 XAV939 处理对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路相关分子  $\beta$ -catenin、T 细胞因子/淋巴样增强因子 4 (TCF4) 和细胞髓细胞瘤病癌基因 (c-Myc) 表达水平的影响。**结果** SiHa 和 HeLa 细胞过表达 CDH18 基因后 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路分子  $\beta$ -catenin、TCF4 和 c-Myc 的蛋白表达水平增加, GSK-3 $\beta$  的蛋白表达水平减少, 细胞增殖和迁移能力提升, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。相反, 敲低 CDH18 基因后 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路分子  $\beta$ -catenin、TCF4 和 c-Myc 的蛋白表达水平减少, GSK-3 $\beta$  的蛋白表达水平增加, 细胞增殖和迁移能力减弱, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。在 SiHa 和 HeLa 细胞中加入 XAV939 后, Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路分子  $\beta$ -catenin、TCF4 和 c-Myc 的蛋白表达水平减少, GSK-3 $\beta$  的蛋白表达水平增加, 细胞增殖和迁移能力减弱, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论** CDH18 通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进宫颈癌细胞增殖和迁移能力。

**关键词** CDH18; 宫颈癌; Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路; XAV939; 细胞增殖; 细胞迁移

中图分类号 R392.9

文献标志码 A

### CDH18 promotes proliferation and migration of cervical cancer cells *via* the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

2026-03-04 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 82060518、U1503125)

作者简介: 张雪晨, 女, 硕士研究生; 石河子大学;

潘泽民, 男, 教授, 博士生导师, 通信作者, E-mail: panteacher89@sina.com

Zhang Xuechen<sup>1</sup>, Dong Yangliu<sup>1</sup>, Zhao Bo<sup>1</sup>, Xia Zongyi<sup>1</sup>, Dong Zhaocheng<sup>1</sup>, Zhe Xiangyi<sup>1</sup>, Pan

Zhenzhen<sup>2</sup>, Pan Zemin<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>*School of Medicine / Key Laboratory of Xinjiang Endemic and Ethnic Diseases, Shihezi University, Shihezi*

832002; <sup>2</sup>*Laboratory/Transfusion Department, Fourth Division Hospital of Xinjiang Production and*

*Construction Corps, Yining 835000)*

**Abstract** *Objective* To reveal the effects of overexpression and knockdown of *CDH18* gene on cervical cancer proliferation and migration levels through the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in cervical cancer cells. *Methods* A comprehensive analysis of *CDH18*-interacting molecules was performed *via* the bioinformatics STRING database (<http://cn.string-db.org>). Molecular docking between XAV939 and  $\beta$ -catenin was performed using the bioinformatics tool AutoDock (<http://autodock.scripps.edu>). The effect of *CDH18* on  $\beta$ -catenin subcellular distribution was detected by laser confocal microscopy. EdU assay, wound healing assay and Transwell assay were used to detect the effects of *CDH18* gene overexpression, *CDH18* gene knockdown and the Wnt/ $\beta$ -catenin inhibitor XAV939 on cell proliferation and migration. Western blot was performed to measure the expression levels of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway-related molecules, including  $\beta$ -catenin, transcription factor 4 (TCF4), and cellular myelocytomatosis oncogene (c-Myc), following *CDH18* gene overexpression, *CDH18* gene knockdown, or XAV939 treatment. *Results* In SiHa and HeLa cells, *CDH18* gene overexpression significantly increased the protein expression levels of  $\beta$ -catenin, TCF4 and c-Myc, decreased the protein expression of GSK-3 $\beta$ , and enhanced cell proliferation and migration, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). Conversely, *CDH18* gene knockdown significantly reduced the protein expression of  $\beta$ -catenin, TCF4 and c-Myc, elevated GSK-3 $\beta$  expression, and suppressed cell proliferation and migration ( $P < 0.05$ ). Treatment with XAV939 in SiHa and HeLa cells downregulated  $\beta$ -catenin, TCF4 and c-Myc, upregulated GSK-3 $\beta$ , and inhibited cell proliferation and migration, with significant differences ( $P < 0.05$ ). *Conclusion* *CDH18* promotes the proliferation and migration of cervical cancer cells *via* the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway.

**Key words** *CDH18*; cervical cancer; Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway; XAV939; cell proliferation; cell migration

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (Nos. 82060518, U1503125)

**Corresponding author** Pan Zemin, E-mail: [panteacher89@sina.com](mailto:panteacher89@sina.com)

宫颈癌 (cervical cancer, CC) 是全球女性中仅次于乳腺癌和结直肠癌的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 是宫颈癌最主要的致病因素<sup>[2]</sup>, 虽然目前化疗和放射治疗可实现高度局部控制, 但转移性疾病复发依旧会影响患者生存, 严重威胁生命<sup>[3]</sup>。

钙黏蛋白 18, 也被称作 CDH14, 是一种分布在细胞膜上的 II 型经典钙黏蛋白, 主要在生殖和神经系统中表达<sup>[4]</sup>。据文献<sup>[5]</sup>报道, *CDH18* 基因在胃癌中以抑癌基因的角色调控磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路 (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) 通路并发挥抑制肿瘤进程的作用。同时, 又有研究<sup>[6]</sup>报道, *CDH18* 基因是妊娠糖尿病的潜在致病基因, 并且与糖代谢相关, 参与该病的发生和发展。本研究旨在探究 *CDH18* 基因对宫颈癌 SiHa 和 HeLa 细胞增殖和迁移作用的分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要细胞、试剂和仪器

主要细胞和试剂: 细胞培养所需 SiHa 和 HeLa 细胞系购自武汉普诺赛生命科技有限公司; EdU Imaging Kits (Cy3) 试剂盒购自上海伟寰生物科技有限公司; PEI 转染试剂、 $\beta$ -catenin Monoclonal antibody 购自武汉三鹰生物技术有限公司; Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制剂 XAV939 购自上海皓元生物医药科技有限公司; *CDH18* 基因过表达和敲低质粒购自上海吉玛制药技术有限公司; CDH18 多克隆抗体购自杭州华安生物技术有限公司; T 细胞因子/淋巴样增强因子 (transcription factor 4, TCF4) 单克隆抗体和糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3 $\beta$ ) 单克隆抗体购自上海埃必威生物技术有限公司; c-Myc (细胞髓细胞瘤病癌基因, cellular Myelocytomatosis oncogene) 单克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; Mouse Anti-GAPDH mAb 和山羊抗小鼠 IgG/辣根过氧化物酶标记购自北京中杉金桥生物技术有限公司; CY3 标记山羊抗小鼠 IgG 和 Alexa Fluor 488 标记山羊抗兔 IgG 购自武汉塞维尔生物科技有限公司。

实验仪器与设备: CO<sub>2</sub> 恒温细胞培养箱 (美国 Thermofisher 公司, 型号: 308261-2731); 荧光倒置显微镜 (Olympus Corporation, 型号: 8E47050); 细胞超净台 (力辰科技有限公司, 型号: MSC 1.2); 高速冷冻离心机 (德国艾本德股份公司, 型号: Multifuge $\times$ 1R); 垂直电泳槽、电转仪、电泳仪和酶标仪 (美国 Bio-Rad 生物工程公司, 型号: 041BR316470); 正置荧光显微镜 (日本尼康, 型号: Nikon Eclipse C1)

### 1.2 细胞培养及抑制剂 XAV939 的配制

使用添加了含有 10%~15% 的胎牛血清和 500  $\mu$ L 的青链霉素的完全培养基在 37  $^{\circ}$ C、CO<sub>2</sub> 培养箱中培养, 同时, XAV939 用 DMSO 稀释成浓度为 20  $\mu$ mol/L 的母液, 并将母液稀释至实验所

需浓度（1、2、4、8 和 16  $\mu\text{mol/L}$ ）进行后续实验。

### 1.3 构建稳定转染细胞株

#### 1.3.1 构建过表达 *CDH18* 基因和敲低 *CDH18* 基因的质粒

构建过表达 *CDH18* 基因的质粒，质粒均由上海吉玛基因公司协助设计和构建。基因名称为 homo *CDH18*，克隆载体为 pcDNA3.1(+), 克隆位点为 BamHI/EcoRI。过表达载体的抗生素为：氨苄霉素（Ampicillin），图 1A 为过表达载体 pcDNA3.1 (+) 图谱。同时构建敲低 *CDH18* 基因的质粒，质粒均由上海吉玛基因公司协助设计和构建。基因名称及靶位点为 *CDH18*-Homo-1050 和 *CDH18*-Homo-2603，载体名称为 pGPU6/GFP/Neo-*CDH18*-Homo-1050 和 pGPU6/GFP/Neo-*CDH18*-Homo-2603，靶序列为 5'ATGACCCTACCTATGGAAACA3' 和 5'TCCACCCTGGAAAGCATAGAT3'，敲低载体的抗生素为：卡那霉素（Kanamycin），载体质粒图谱见图 1B。

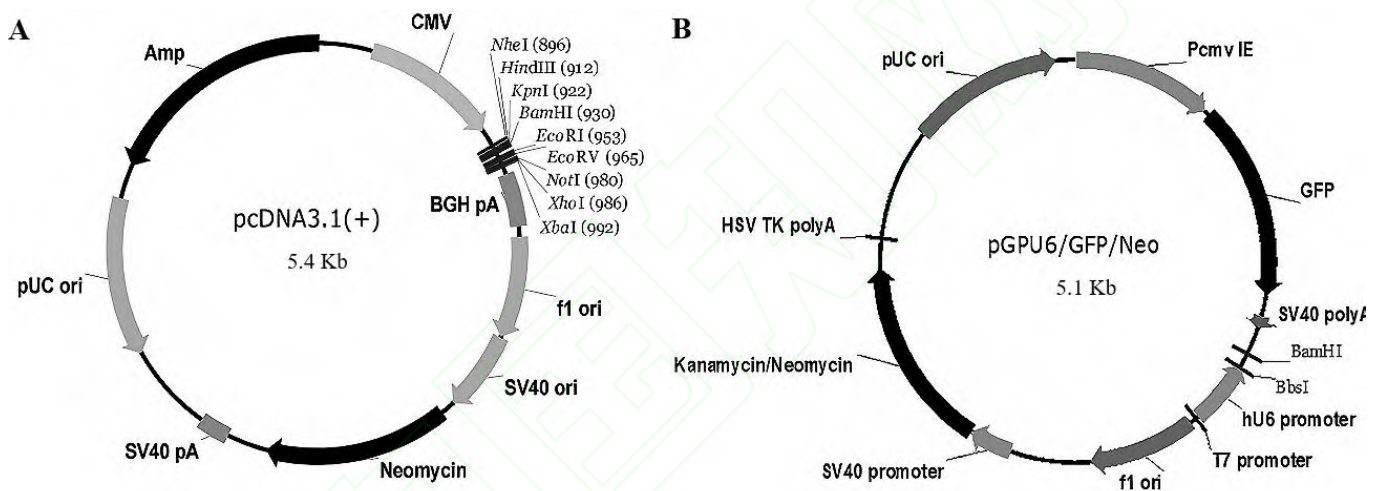


图 1 过表达 *CDH18* 基因 (A) 和敲低 *CDH18* 基因 (B) 质粒图谱

Fig. 1 Plasmid map of *CDH18* gene overexpression (A) and *CDH18* gene knockdown (B) constructs

表 1 敲低 *CDH18* 基因的质粒序列信息

Tab. 1 Sequence information of *CDH18* gene knockdown plasmid

Gene	Locus	Sequence
Sh- <i>CDH18</i> -1050	<i>CDH18</i> -Homo-1050	ATGACCCTACCTATG
Sh- <i>CDH18</i> -2603	<i>CDH18</i> -Homo-2603	GAAACA
		TCCACCCTGGAAAGCATAGAT

#### 1.3.2 稳定转染细胞株

用 PEI 转染试剂分别稳定转染 SiHa 和 HeLa 两种细胞株，将细胞接种于 6 孔板中，待到细胞的密度达到约 70% 左右，用 PEI 转染试剂进行稳定转染，48~72 h 后用含有 400  $\mu$ L G418 的完全培养基逐渐筛选出稳定转染成功的细胞（建立 NC 敲低对照组、2 个敲低 *CDH18* 基因实验组、NC 过表达对照组和过表达 *CDH18* 基因实验组），分别命名为 shNC 组、shCDH18-1 组、shCDH18-2 组、NC 组、OE-CDH18 组。

#### 1.4 EdU 细胞增殖实验

在 96 孔板内每孔铺大约 8 000 个细胞，加入浓度为 10  $\mu$ mol/L 的 EdU 工作液，在 37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  条件下孵育约 2 h 后，加入 4% 多聚甲醛室温固定 15 min 后洗细胞 3 次，并加入 0.5% Triton X-100 通透 20 min。按照试剂盒说明配置 Click 反应液，室温避光孵育 30 min 后洗涤细胞，再用 DAPI 染色细胞核 5 min，最后用荧光显微镜观察并采集图像，通过统计 EdU 阳性细胞占总细胞的比例来评估细胞增殖能力。

#### 1.5 细胞活力测定

细胞接种于 96 孔板，一般每孔  $5 \times 10^3 \sim 10^4$  个细胞，每孔培养基体积 200  $\mu$ L，每组至少 5 个复孔，随后转移至 37  $^{\circ}$ C  $\text{CO}_2$  培养箱贴壁培养。细胞贴壁后，加入含不同浓度 XAV939 的培养基，并设置培养时间（24、48、72 h）。分别在每个时间点每孔加入 20  $\mu$ L MTT 试剂，培养箱继续孵育 3 h。吸弃孔内上清液，每孔加入 150  $\mu$ L DMSO，将 96 孔板置于摇床上振荡 15 min，酶标仪设置波长为 490 nm，读取各孔吸光度（absorbance, *A*）值。

#### 1.6 Western blot 实验

采用 BCA 法用酶标仪读取 *A* 值，计算样品蛋白浓度。根据定量结果并上样，随后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳，转膜，封闭，在 4  $^{\circ}$ C 冰箱进行一抗（CDH18 多克隆抗体； $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$ 、c-Myc 和 TCF4 等单克隆抗体；稀释比例均为 1 : 1 000）孵育过夜。次日回收一抗，1  $\times$  TBST 洗膜 3 次，每次 10 min，加入稀释好的对应种属二抗工作液（山羊抗小鼠 IgG/辣根过氧化物酶标记，稀释比例为 1  $\square$  5 000；山羊抗兔 IgG/辣根过氧化物酶标记，稀释比例为 1  $\square$  10 000），室温孵育 2 h，弃二抗，1  $\times$  TBST 洗膜 3 次。放入化学发光成像仪中，根据信号强度调整曝光时间，获取条带图像。

#### 1.7 Transwell 实验

进行细胞计数，在 24 孔板下室加入 600  $\mu$ L 含 15% FBS 的培养基。用镊子将小室置于 24 孔板内，取细胞悬液和完全培养基混合液一共 200  $\mu$ L 加入上室，培养箱中培养 36 h 后收样，用棉签轻轻擦拭上室内的细胞，加入 4% 多聚甲醛固定 30 min，用结晶紫染色 30 min，1  $\times$  PBS 洗 3 遍，除去未与细胞结合的结晶紫，在显微镜下选取 3 个视野观察细胞并计数。

#### 1.8 细胞划痕实验

在 6 孔板铺板并确保每个孔的细胞数量为  $4 \times 10^5$  个，在  $37\text{ }^\circ\text{C}$   $\text{CO}_2$  培养箱中培养至细胞融合率达到 100% 后用 200  $\mu\text{L}$  枪头竖直在孔底部划 3 条竖线，并用记号笔比着 6 孔板盖子或板底部画 3 条横线，用  $1 \times \text{PBS}$  清洗 2 次并加入新的无血清或低血清培养基，在 0 h 和 24 h 保持同一时间拍照，观察细胞迁移和愈合能力。

### 1.9 激光共聚焦荧光显微镜实验

将细胞接种于 6 孔板中，次日，使用 4% 多聚甲醛固定 15 min。加入 2 mL  $1 \times \text{PBS}$ ，在环形摇床上，以转速 80~120 r/min 洗 2 min，洗 3 次。加入 200  $\mu\text{L}$  浓度为 0.2% 的 Triton 试剂，计时 3 min。随后用  $1 \times \text{PBS}$  洗 3 次。加入 2 mL 浓度为 5% 的 BSA 封闭液，放入提前预热至  $37\text{ }^\circ\text{C}$  的温箱内，计时 30 min。取 2 个 1.5 mL Ep 管，分别加入 800  $\mu\text{L}$  5% BSA，再加入  $\beta$ -Catenin 抗体，在孔底的位置加入  $1 \times 100$  的 200  $\mu\text{L}$  的  $\beta$ -Catenin 一抗， $4\text{ }^\circ\text{C}$  孵育 24 h。孵育结束后，放置在  $37\text{ }^\circ\text{C}$  的温箱内复温 30 min。加入  $1 \times 500$  的 200  $\mu\text{L}$  鼠抗，置于  $37\text{ }^\circ\text{C}$  温箱内孵育 2 h。全程避光操作。孵育结束后，用  $1 \times \text{PBS}$  洗 4 次。在孔底的位置加入 200  $\mu\text{L}$  DAPI 染液，计时 15 min。滴入抗荧光淬灭剂，覆盖皿底，等待拍摄。

### 1.10 生物信息学预测

STRING 数据库 (<http://cn.string-db.org>) 对与 CDH18 有相互作用的分子进行全面分析，生物信息学 AutoDock 软件 (<http://autodock.scripps.edu>) 完成 XAV939 和  $\beta$ -连环蛋白的分子对接。

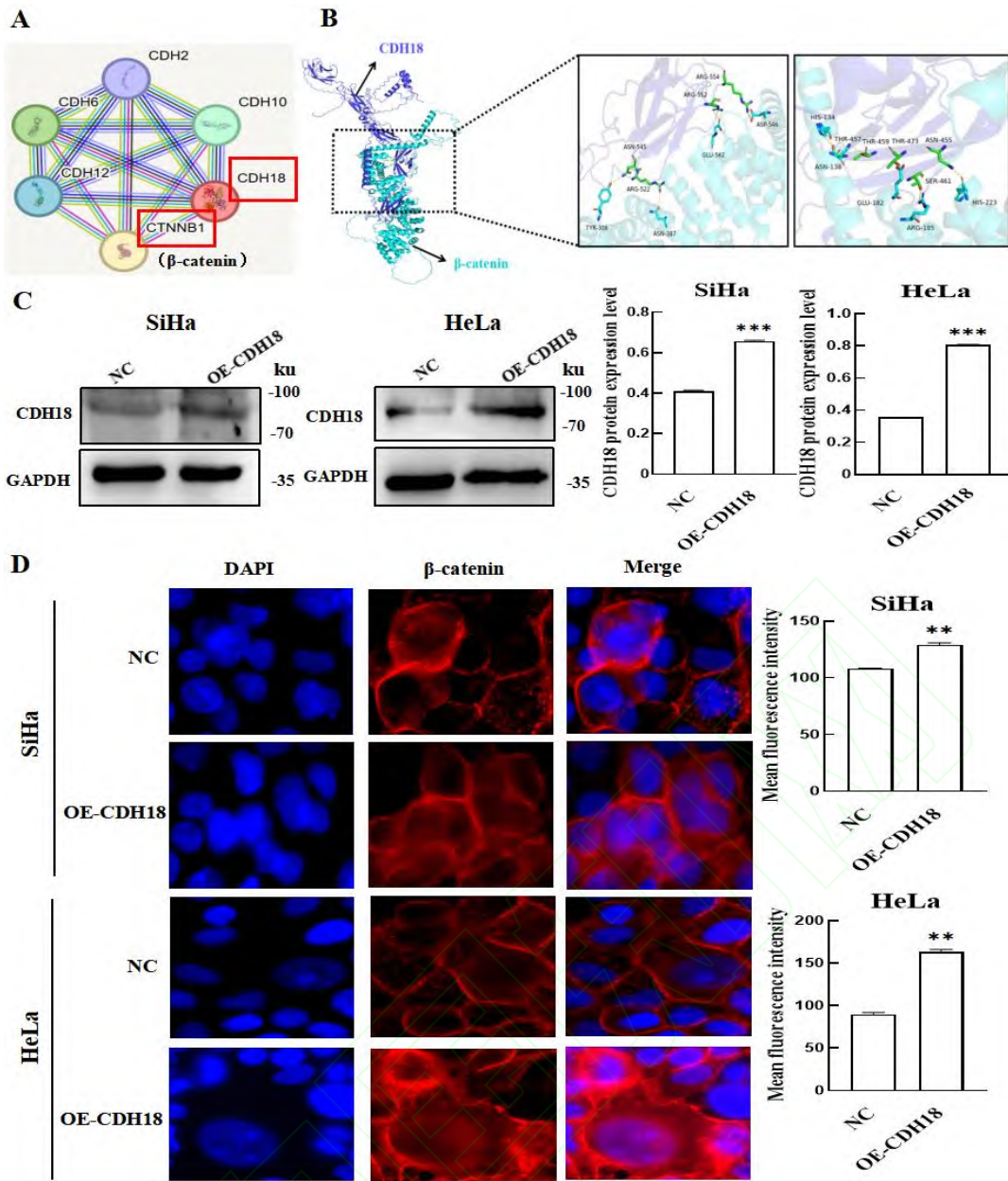
### 1.11 统计学处理

采用 ImageJ 对数据进行整理，每组实验重复 3 次，所有数据统计分析采用 SPSS 26.0,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 宫颈癌细胞中 CDH18 与 $\beta$ -catenin 有一定相关性

用生物信息学 STRING 数据库 (<http://cn.string-db.org>) 对与 CDH18 有相互作用的分子进行全面分析，核心交叉图谱筛选出 5 个相关基因 (图 2A)，其中 CTNNB1 相关性最高。并用 HiDock 分子对接软件 (<http://www.hidock.org>) 对 CDH18 与  $\beta$ -catenin 进行对接分析 (图 2B)。将过表达 CDH18 基因的质粒分别稳定转染至 SiHa 和 HeLa 两种细胞系，Western blot 验证结果显示其转染成功，差异具有统计学意义 (图 2C) ( $t=61.30$ 、 $38.80$ ，均  $P < 0.001$ )。最后用激光共聚焦荧光显微镜检测过表达 CDH18 基因是否影响  $\beta$ -catenin 在细胞质和细胞核的分布，结果显示 (图 2D)，过表达 CDH18 基因后，与对照组 NC 相比， $\beta$ -catenin 在细胞核与细胞质中的荧光强度均增强，差异具有统计学意义 ( $t=17.12$ 、 $26.43$ ，均  $P < 0.01$ )，证明过表达 CDH18 基因可促进  $\beta$ -catenin 表达水平并刺激  $\beta$ -catenin 大



量进入细胞核。

图2 宫颈癌细胞中 CDH18 与  $\beta$ -catenin 相互作用及其对细胞内分布影响分析

Fig. 2 Analysis of the interaction between CDH18 and  $\beta$ -Catenin and its effects on their intracellular distribution in cervical cancer cells

A: STRING database was used to predict molecules interacting with CDH18 protein; B: HiDock molecular docking software was used to perform docking analysis between CDH18 and  $\beta$ -catenin; C: Western blot assay was used to verify the transfection efficiency in SiHa and HeLa cells; D: Laser confocal microscopy was used to detect the fluorescence intensity of  $\beta$ -catenin  $\times 100$ ; \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs NC group.

## 2.2 过表达 CDH18 基因通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进宫颈癌细胞的增殖和迁移能力

为了探究过表达 *CDH18* 基因对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路分子表达的影响，用 Western blot 检测  $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$ 、TCF4 和 c-Myc 这 4 个 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路关键分子蛋白质表达水平，结果显示，*CDH18* 基因的上调激活了  $\beta$ -catenin、c-Myc 和 TCF4 的表达，降低了 GSK-3 $\beta$  的表达，差异具有统计学意义（图 3A）（ $t=50.70$ 、 $93.60$ 、 $16.70$ 、 $33.94$ 、 $12.58$ 、 $6.19$ 、 $17.13$ 、 $55.30$ ， $P<0.05$ ， $P<0.01$ ， $P<0.001$ ）。EdU 实验、Transwell 实验和细胞划痕实验检测结果显示，*CDH18* 过表达组细胞增殖数量较对照 NC 组显著增多，细胞穿膜能力和愈合能力也显著增强，差异具有统计学意义（图 4A-4C）（ $t=5.27$ 、 $11.40$ 、 $12.73$ 、 $17.36$ 、 $8.46$ 、 $18.14$ ， $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。提示过表达 *CDH18* 基因可以通过调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路从而增强宫颈癌细胞的增殖和迁移能力。

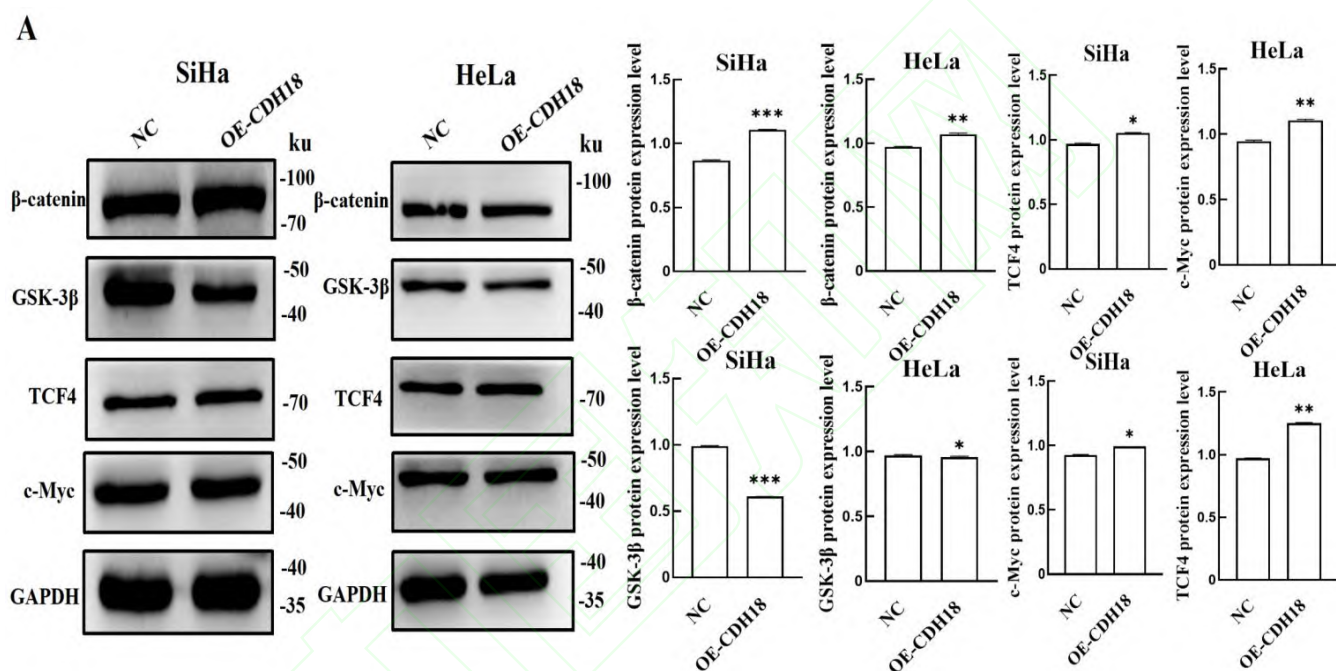


图 3 过表达 *CDH18* 基因对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路分子蛋白表达水平影响分析

**Fig.3** Analysis of the effects of *CDH18* gene overexpression on the expression levels of molecular proteins in the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

A: Western blot was performed to detect the protein expression levels of molecules related to the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway; \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$  vs NC group.

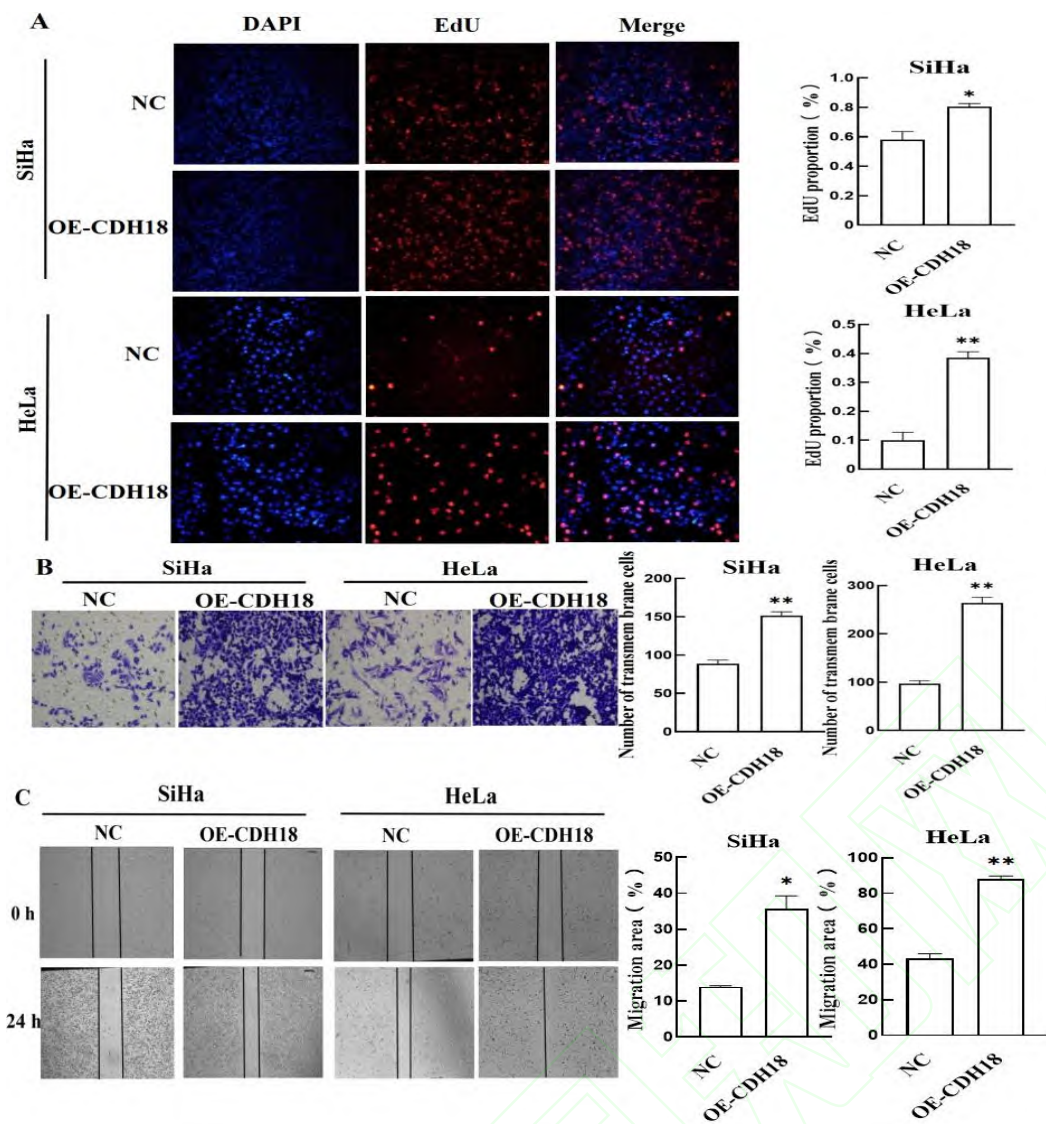


图 4 过表达 *CDH18* 基因通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对宫颈癌细胞的增殖和迁移能力影响分析

Fig.4 Analysis of the effects of *CDH18* gene overexpression on proliferation and migration capacity of cervical cancer cells through the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

A: Transwell assay was used to detect cell migration ability  $\times 100$ ; B: Wound healing assay was used to measure cell migration ability  $\times 100$ ; C: Wound healing assay was used to measure cell migration ability  $\times 100$ ; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs NC group.

### 2.3 宫颈癌细胞中敲低 *CDH18* 基因后抑制 $\beta$ -catenin 表达

将敲低 *CDH18* 基因的质粒分别稳定转染至 SiHa 和 HeLa 两种细胞系，Western blot 实验显示其转染成功，差异具有统计学意义（图 5A）（ $t=219.70$ 、 $184.20$ 、 $78.00$ 、 $13.77$ ， $P < 0.01$ ， $P < 0.001$ ）。激光共聚焦荧光显微镜检测结果显示（图 5B），与 NC 组相比，*CDH18* 基因敲低后， $\beta$ -catenin 在细胞核与细胞质中的荧光强度均减弱，差异具有统计学意义（ $t=14.50$ 、 $178.00$ 、 $46.74$ 、 $14.02$ ， $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ， $P < 0.001$ ）。证明敲低 *CDH18* 基因可以抑制  $\beta$ -catenin 表达水平并阻碍  $\beta$ -catenin 进入细胞核。

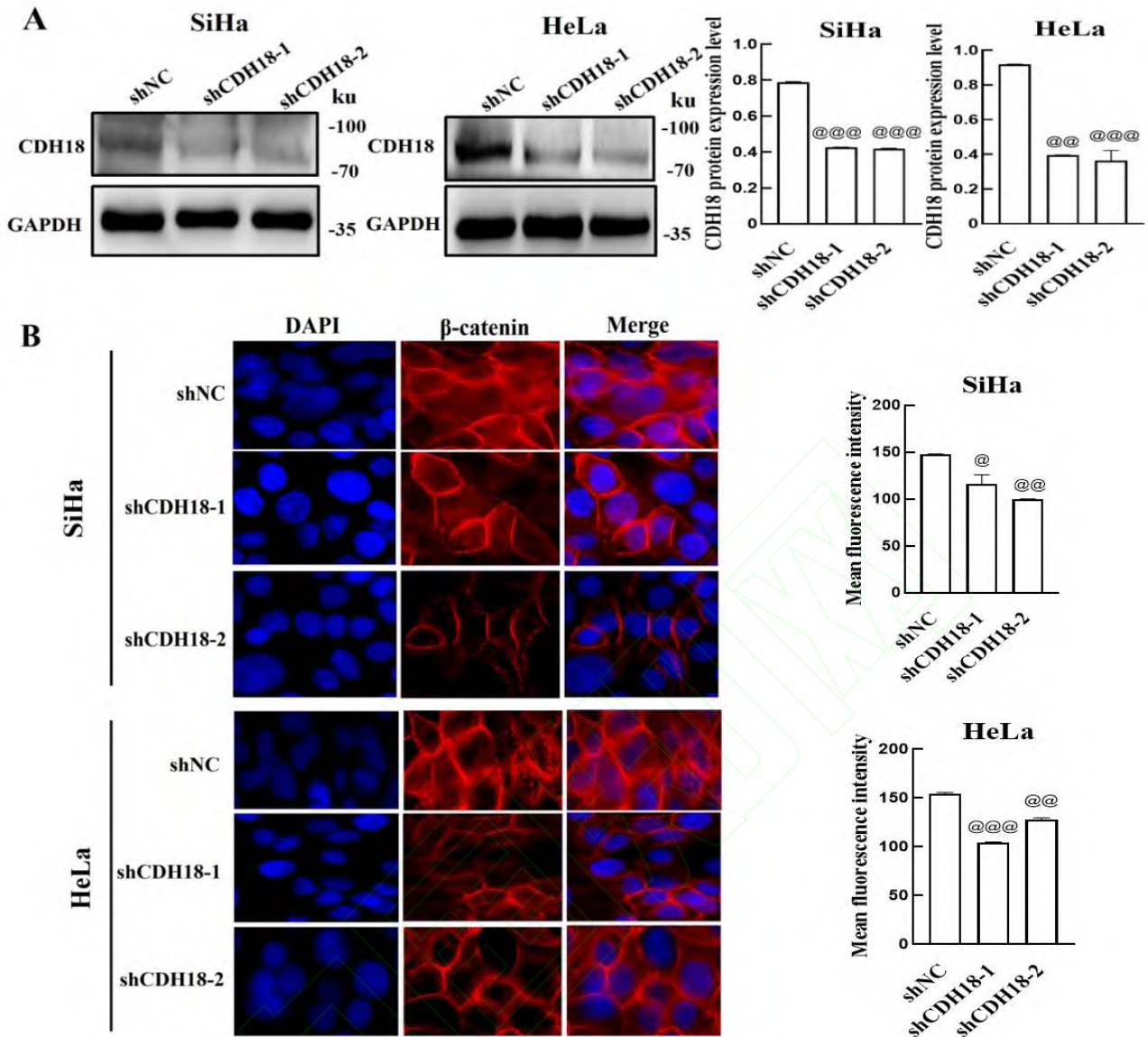


图5 宫颈癌细胞中敲低 *CDH18* 基因后对  $\beta$ -catenin 表达水平影响分析

Fig.5 The effects of *CDH18* gene knockdown on  $\beta$ -Catenin expression in cervical cancer cells

A: Western blot was used to verify the transfection efficiency in SiHa and HeLa cells; B: Laser confocal microscopy was used to detect the fluorescence intensity of  $\beta$ -catenin  $\times 100$ ; @ $P < 0.05$ , @@ $P < 0.01$ , @@@ $P < 0.001$  vs shNC group.

#### 2.4 敲低 *CDH18* 基因通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制宫颈癌细胞的增殖和迁移能力

在宫颈癌细胞 SiHa 和 HeLa 中敲低 *CDH18* 基因后，用 Western blot 检测  $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$ 、TCF4 和 c-Myc 这 4 个 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路关键分子蛋白质表达水平，结果显示，敲低 *CDH18*

基因抑制了  $\beta$ -catenin、c-Myc 和 TCF4 的表达，增强了 GSK-3 $\beta$  的表达，GSK-3 $\beta$  蛋白表达水平没有统计学意义，其余均有统计学意义（图 6A）（ $t=179.90$ 、 $259.40$ 、 $83.32$ 、 $33.52$ 、 $67.23$ 、 $130.00$ 、 $31.56$ 、 $1.51$ 、 $16.21$ 、 $45.48$ 、 $24.12$ 、 $70.91$ 、 $105.40$ 、 $39.79$ ， $P<0.05$ ， $P<0.001$ ）。EdU 实验、Transwell 实验和细胞划痕实验结果显示，敲低 *CDH18* 后，细胞增殖数量较 NC 组减少，并且细胞穿膜能力和愈合能力也减弱，差异具有统计学意义（图 6B，7A-7C）（ $t=5.05$ 、 $5.51$ 、 $16.88$ 、 $13.25$ 、 $57.24$ 、 $51.62$ 、 $2.89$ 、 $35.15$ 、 $56.50$ 、 $38.74$ ， $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。提示敲低 *CDH18* 基因可以通过调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路从而抑制宫颈癌细胞的增殖和迁移能力。

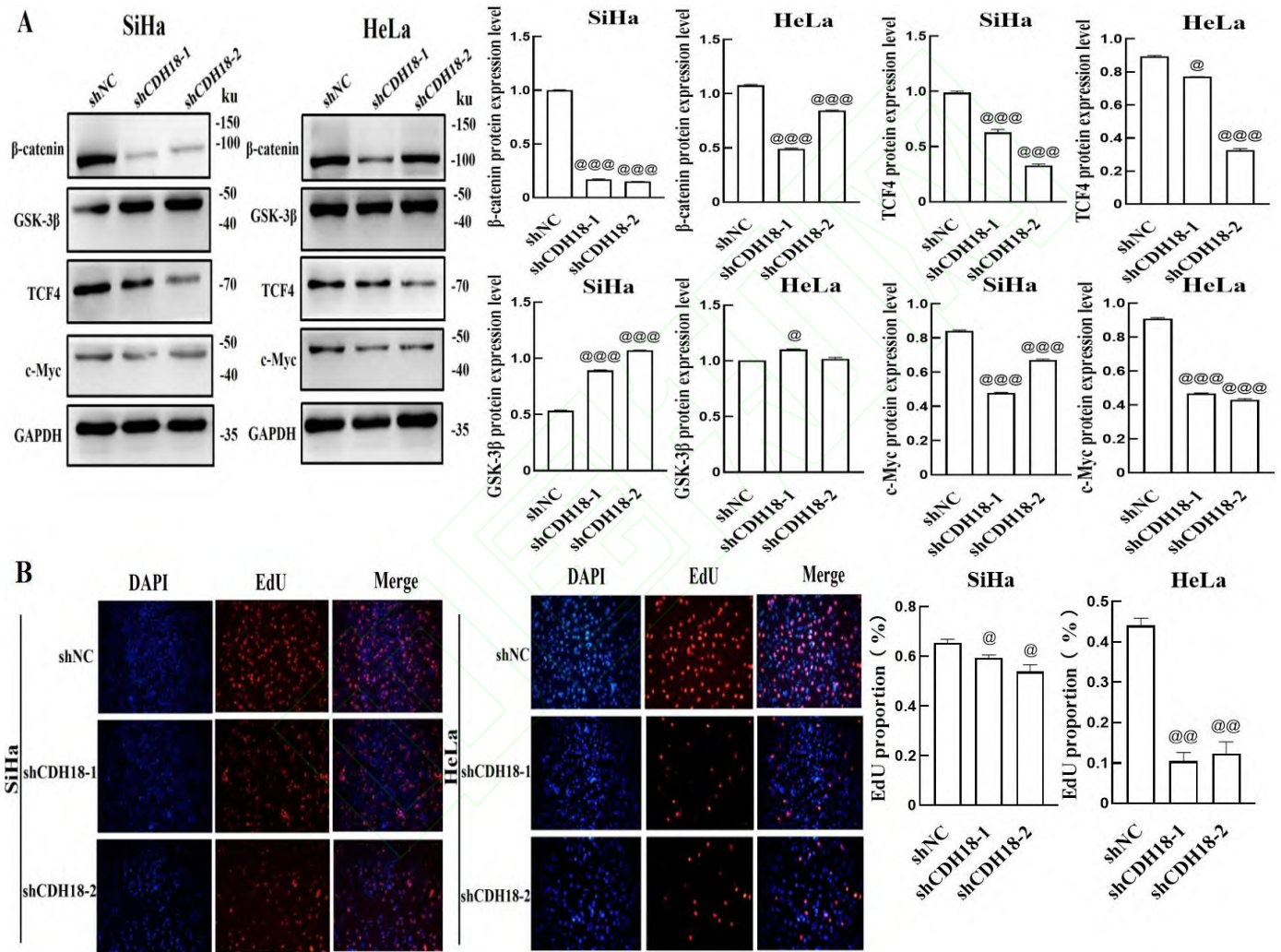


图 6 敲低 *CDH18* 基因对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路分子蛋白表达水平以及增殖能力影响分析

Fig. 6 Analysis of the effects of *CDH18* gene knockdown on molecular protein expression levels and proliferative capacity in the wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

A: Western blot was used to detect the protein expression levels of molecules associated with the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway; B: EdU assay was used to detect cell proliferation ability  $\times 100$ ; @ $P<0.05$ ,

@@ $P < 0.01$ , @@@ $P < 0.001$  vs shNC group.

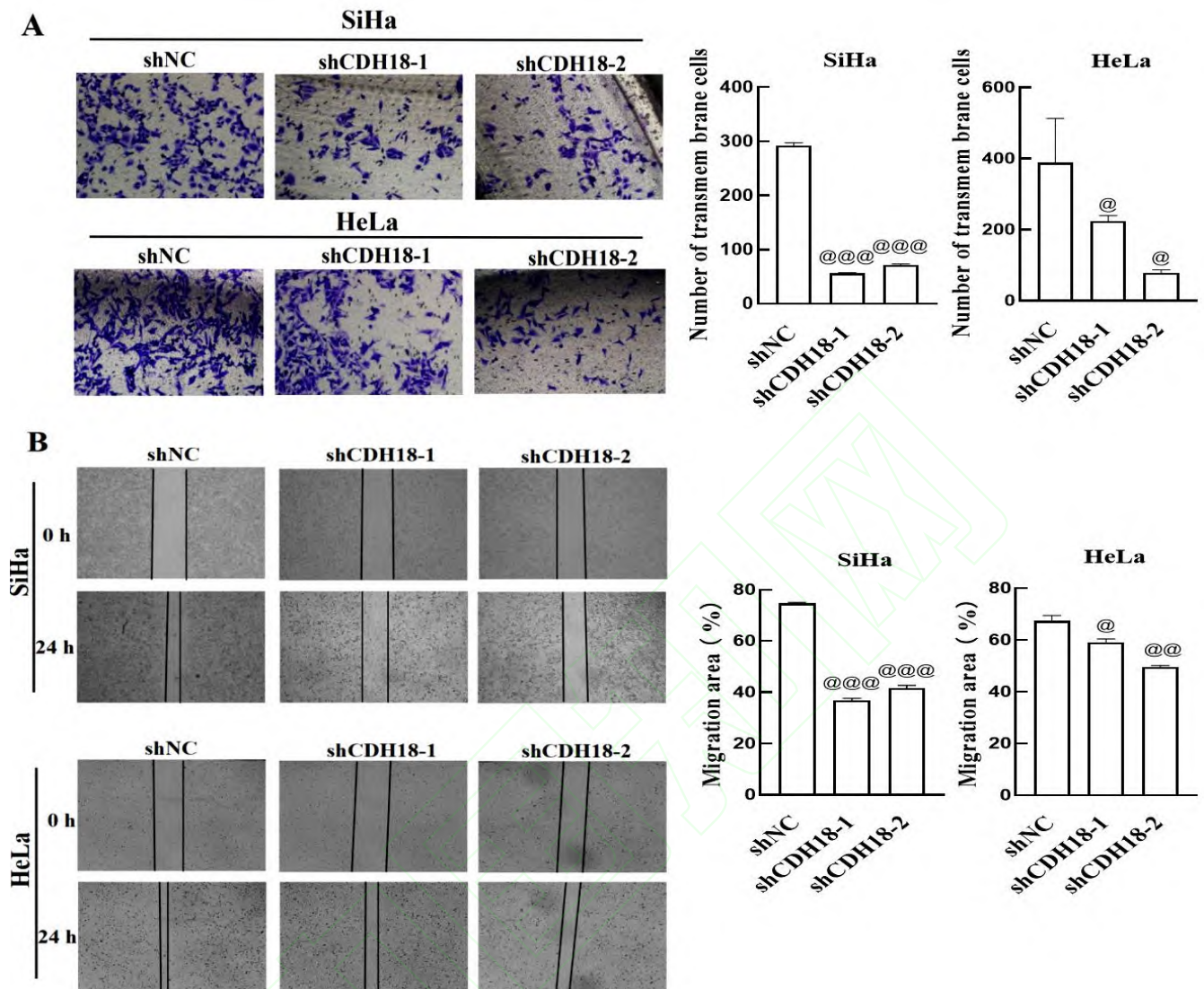


图 7 敲低 *CDH18* 基因通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对宫颈癌细胞迁移能力影响分析

Fig.7 Analysis of the effects of *CDH18* gene overexpression on migration capacity of cervical cancer cells through the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

A: Transwell assay was used to detect cell migration ability  $\times 100$ ; B: Wound healing assay was used to measure cell migration ability  $\times 100$ ; @ $P < 0.05$ , @@ $P < 0.01$ ; @@@ $P < 0.001$  vs shNC group.

## 2.5 XAV939 以剂量依赖性方式抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的表达

为了评估  $\beta$ -catenin 抑制剂 XAV939 (图 8A) 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路表达的影响, 分析二者的亲和力, 对接打分值小于 -5.0 大于 -7.0 表明化合物小分子与靶点具有较好的结合能力<sup>[7]</sup> (图 8B)。用生物信息学 AutoDock 软件 (<http://autodock.scripps.edu>) 软件完成 XAV939 和  $\beta$ -catenin 的分子对接 (图

8C)。在 SiHa 和 HeLa 细胞中, 分别加入 XAV939, 并设置 1、2、4、8、16  $\mu\text{mol/L}$  几个浓度梯度来评估 XAV939 对细胞的毒性作用, MTT 结果显示, SiHa 和 HeLa 细胞存活率下降, 且 XAV939 对 SiHa 和 HeLa 细胞的  $\text{IC}_{50}$  分别是 1.719  $\mu\text{mol/L}$  和 1.304  $\mu\text{mol/L}$  (图 8E)。Western blot 结果也证实 XAV939 以剂量依赖性方式抑制  $\beta\text{-catenin}$  的蛋白表达水平 (图 8D) ( $F_{\text{趋势}}=227.90、222.70, P<0.001$ )。与 NC 组比较, OE-CDH18 组 TCF4、c-Myc 的蛋白表达升高, GSK-3 $\beta$  的蛋白表达降低 (SiHa:  $t_{\text{GSK-3}\beta}=44.96、t_{\text{TCF4}}=2.10、t_{\text{c-Myc}}=14.11$ ; HeLa:  $t_{\text{GSK-3}\beta}=157.70、t_{\text{TCF4}}=8.53、t_{\text{c-Myc}}=60.96$ , 均  $P<0.05$ ); 与此同时, 在过表达 *CDH18* 基因的 SiHa 和 HeLa 细胞中加入 XAV939, 结果显示与 OE-CDH18 组比较, OE-CDH18+XAV939 组 c-Myc 和 TCF4 的蛋白表达降低, GSK-3 $\beta$  的蛋白表达升高 (SiHa:  $t_{\text{GSK-3}\beta}=3.56、t_{\text{TCF4}}=82.29、t_{\text{c-Myc}}=101.40$ ; HeLa:  $t_{\text{GSK-3}\beta}=29.36、t_{\text{c-Myc}}=27.43$ , 均  $P<0.05$ ) (图 8F)。

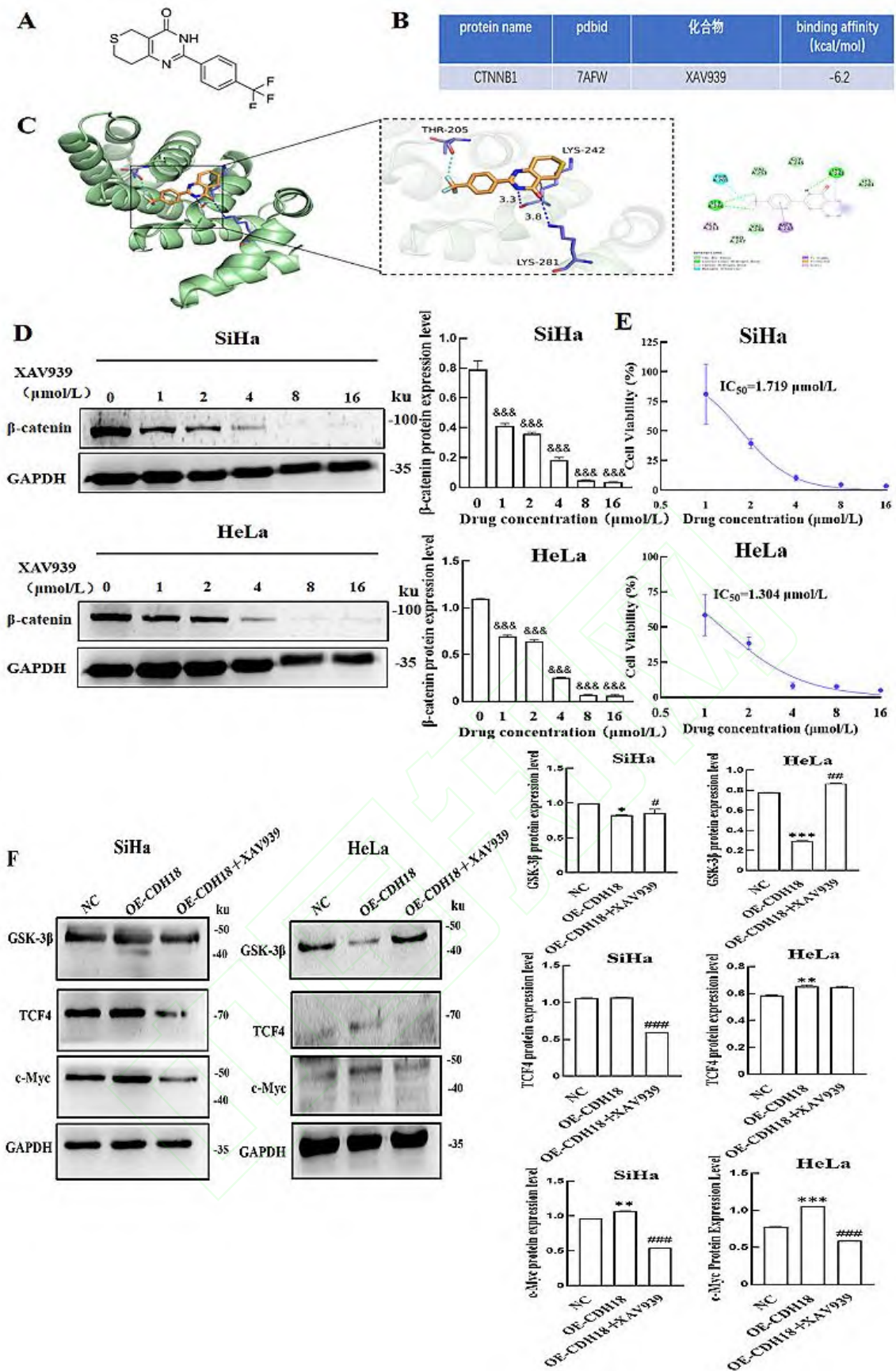


图 8 XAV939 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的表达水平影响分析

Fig.8 Analysis of XAV939 mediated regulation of the wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

A: Chemical structure of XAV939; B: Binding energy score of molecular docking between XAV939 and

$\beta$ -catenin; C: Schematic diagram of molecular docking between XAV939 and  $\beta$ -catenin; D: Protein expression level of  $\beta$ -catenin in cervical cancer cells treated with different concentrations of XAV939 detected by Western blot; E:  $IC_{50}$  value of XAV939 against cervical cancer cells determined by MTT assay; F: Protein expression levels of molecules related to the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway detected by Western blot;  $\&\&\&P<0.001$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$  group;  $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ ,  $***P<0.001$  vs NC group;  $\#P<0.05$ ,  $\#\#P<0.01$ ,  $\#\#\#P<0.001$  vs OE-CDH18 group.

## 2.6 XAV939 通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路从而抑制宫颈癌细胞增殖和迁移能力

为了进一步探究 XAV939 是否能通过对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的抑制作用从而影响宫颈癌细胞增殖和迁移能力, 在过表达 *CDH18* 基因的 SiHa 和 HeLa 细胞中加入 XAV939, 结果显示 XAV939 显著消除了 *CDH18* 基因过表达对宫颈癌细胞增殖和迁移能力的促进作用, 与 NC 组比较, OE-CDH18 组增殖和迁移能力增强 (SiHa:  $t_{\text{增殖}}=19.45$ 、 $t_{\text{迁移}}=4.65$ 、 $8.19$ ; HeLa:  $t_{\text{增殖}}=13.51$ 、 $t_{\text{迁移}}=10.96$ 、 $6.92$ , 均  $P<0.05$ ); 与此同时, 在过表达 *CDH18* 基因的 SiHa 和 HeLa 细胞中加入 XAV939, 结果显示与 OE-CDH18 组比较, OE-CDH18+XAV939 组增殖和迁移能力降低, (SiHa:  $t_{\text{增殖}}=4.20$ 、 $t_{\text{迁移}}=9.83$ 、 $13.02$ ; HeLa:  $t_{\text{增殖}}=10.42$ 、 $t_{\text{迁移}}=23.70$ 、 $6.55$ , 均  $P<0.05$ )(图 9A-9C), 进一步证明 *CDH18* 基因通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路影响宫颈癌细胞增殖和迁移能力。

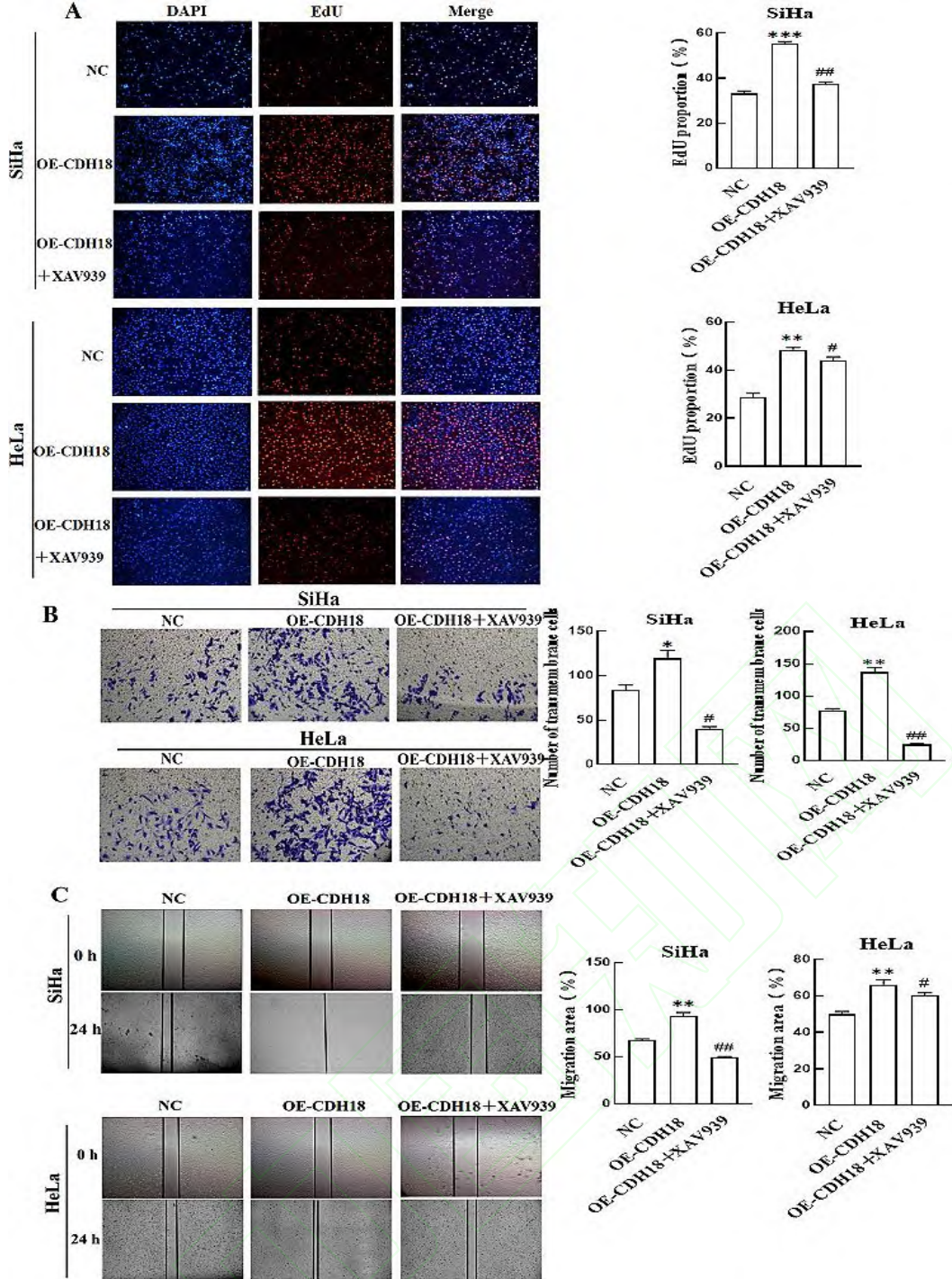


图9 XAV939通过Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响宫颈癌细胞增殖和迁移能力影响分析

Fig.9 The effects of XAV939 on proliferation and migration capacity of cervical cancer cells through the wnt/ $\beta$ -catenin pathway

A: EdU assay was used to detect cell proliferation ability  $\times 100$ ; B: Transwell assay was used to detect cell migration ability  $\times 100$ ; C: Wound healing assay was used to detect cell migration ability  $\times 100$ ; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs NC group; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs OE-CDH18 group.

### 3 讨论

CDH18 是一种钙黏蛋白，不仅介导钙依赖性细胞间黏附，在组织和细胞增殖和分化中也发

挥着重要作用<sup>[8]</sup>。CDH18 可能作为治疗胶质瘤的治疗靶点,抑制胶质瘤细胞的侵袭和迁移<sup>[9]</sup>, CDH18 基因在卵巢癌中低表达并发挥抑制细胞生物学行为的作用<sup>[10]</sup>,同时, CDH18 基因也作为高遗传风险因子成为儿童言语水平失用症和声音障碍的发病诱因<sup>[11]</sup>。

本研究旨在揭示在宫颈癌细胞中过表达和敲低 CDH18 基因后通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对宫颈癌增殖和迁移能力的影响。 $\beta$ -catenin 在 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路中发挥核心作用,该通路对胚胎发育和成人干细胞的调控、稳态和组织再生至关重要,在人类疾病,尤其是癌症的起始和发展有关键作用<sup>[12]</sup>。GSK-3 $\beta$  是 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的核心负调控因子,促使  $\beta$ -catenin 降解,导致  $\beta$ -catenin 在 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的表达水平降低<sup>[13]</sup>。c-Myc 和 TCF4 是 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路下游的重要转录因子,涉及多种细胞过程,包括增殖、分化、细胞凋亡和代谢<sup>[14]</sup>。本研究显示, CDH18 基因使宫颈癌细胞中  $\beta$ -catenin, c-Myc 和 TCF4 的蛋白表达水平显著升高, GSK-3 $\beta$  蛋白表达水平显著降低,抑制细胞质中降解  $\beta$ -catenin 的能力,因此细胞质中的  $\beta$ -catenin 显著增多,  $\beta$ -catenin 大量入核。同时,  $\beta$ -catenin 进入细胞核与 TCF4 结合并激活靶基因 c-Myc,进而促进细胞增殖和迁移能力。相反,敲低 CDH18 基因后,  $\beta$ -catenin、c-Myc 和 TCF4 表达水平显著降低, GSK-3 $\beta$  蛋白表达水平显著升高,  $\beta$ -catenin 在细胞质中的表达减弱,并抑制其入核; Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路活性被抑制,细胞增殖和迁移能力减弱,表明 CDH18 基因通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路影响宫颈癌细胞的增殖和迁移能力。

XAV939 是一种调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的小分子抑制剂,促进  $\beta$ -catenin 的降解,最终阻断经典 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路<sup>[15]</sup>。本研究结果显示,随着 XAV939 浓度的增加,宫颈癌 SiHa 和 HeLa 细胞中  $\beta$ -catenin 的蛋白表达水平呈浓度依赖性降低,在过表达 CDH18 基因的宫颈癌细胞中加入 XAV939,发现 c-Myc 和 TCF4 的蛋白表达水平显著降低,并且逆转了过表达 CDH18 基因对宫颈癌细胞增殖和迁移能力的促进作用,这进一步说明 CDH18 与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的相关性。

综上所述,本研究表明 CDH18 基因可以通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路影响宫颈癌细胞的增殖和迁移能力,为深入探索 CDH18 基因在宫颈癌细胞中的作用分子机制提供了新的观点和依据,为更好地控制宫颈癌肿瘤细胞的生长、防治宫颈癌提供了理论依据。

#### 参考文献

- [1] Colonetti T, Rodrigues Uggioni M L, Meller Dos Santos A L, et al. Self-sampling for HPV testing in cervical cancer screening: a scoping review[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2024, 296: 20-51. doi:10.1016/j.ejogrb.2024.02.032.
- [2] 白茂潮, 王 岩, 李凡卡, 等. 高危型 HPV 感染现况及其与阴道感染性疾病的关系[J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(9): 1719-24. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.09.020.
- [2] Bai M C, Wang Y, Li F K, et al. Status of high-risk HPV infection and its relationship with vaginal infectious diseases[J]. Acta Univ Med Anhui, 2025, 60(9): 1719-24. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.09.020.

- [3] Abdul-Latif M, Tharmalingam H, Tsang Y, et al. Functional magnetic resonance imaging in cervical cancer diagnosis and treatment[J]. *Clin Oncol*, 2023, 35(9): 598-610. doi:10.1016/j.clon.2023.05.006.
- [4] Etzrodt J, Krishna-K K, Redies C. Expression of classic cadherins and delta-protocadherins in the developing ferret retina[J]. *BMC Neurosci*, 2009, 10: 153. doi:10.1186/1471-2202-10-153.
- [5] Zhao B H, Wu J J, Cha X L, et al. Effect of COP1 in promoting the tumorigenesis of gastric cancer by down-regulation of CDH18 *via* PI3K/AKT signal pathway[J]. *Anal Cell Pathol*, 2023, 2023: 5617875. doi:10.1155/2023/5617875.
- [6] Wu N N, Zhao D, Ma W, et al. A genome-wide association study of gestational diabetes mellitus in Chinese women[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2021, 34(10): 1557-64. doi:10.1080/14767058.2019.1640205.
- [7] Hsin K Y, Ghosh S, Kitano H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83922. doi:10.1371/journal.pone.0083922.
- [8] Chavula T, To S, Agarwal S K. Cadherin-11 and its role in tissue fibrosis[J]. *Cells Tissues Organs*, 2023, 212(4): 293-303. doi:10.1159/000525359.
- [9] Bai Y H, Zhan Y B, Yu B, et al. A novel tumor-suppressor, CDH18, inhibits glioma cell invasiveness *via* UQCRC2 and correlates with the prognosis of glioma patients[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(4): 1755-70. doi:10.1159/000492317.
- [10] Zhang J, Sang X, Zhang R, et al. CD105 expression is associated with invasive capacity in ovarian cancer and promotes invasiveness by inhibiting NDRG1 and regulating the epithelial-mesenchymal transition[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(11): 12461-79.
- [11] Peter B, Wijsman E M, Nato A Q Jr, et al. Genetic candidate variants in two multigenerational families with childhood apraxia of speech[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153864. doi:10.1371/journal.pone.0153864.
- [12] Xue W, Yang L, Chen C, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin-driven EMT regulation in human cancers[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81(1): 79. doi:10.1007/s00018-023-05099-7.
- [13] 张 杨, 刘文艺, 苗欢欢, 等. 瑞芬太尼对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、凋亡及 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2025, 60(9): 1606-13. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.09.006.
- [13] Zhang Y, Liu W W, Miao H H, et al. Impacts of remifentanyl on proliferation, apoptosis and Wnt/ $\beta$ -catenin pathway of breast cancer MDA-MB-231 cells[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2025, 60(9): 1606-13. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.09.006.
- [14] Xiang Z, Wang Y W, Ma X, et al. Targeting the NOTCH2/ADAM10/TCF7L2 axis-mediated transcriptional regulation of Wnt pathway suppresses tumor growth and enhances chemosensitivity in colorectal cancer[J]. *Adv Sci*, 2025, 12(3): 2405758. doi:10.1002/advs.202405758.
- [15] Pundkar C, Antony F, Kang X, et al. Targeting Wnt/ $\beta$ -catenin signaling using XAV939 nanoparticles in tumor microenvironment-conditioned macrophages promote immunogenicity[J]. *Heliyon*, 2023, 9(6): e16688. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e16688.