

miR-124 与 HLA-G 在宫颈癌中的表达及变化研究

陶国华, 谢 玮, 李 荔[△]

南通市第一人民医院检验科, 江苏南通 226001

摘 要:目的 探讨 miR-124 与人类白细胞抗原 G(HLA-G)在宫颈癌中的表达及变化。方法 选取 2018 年 1 月至 2019 年 1 月该院住院治疗的 65 例宫颈癌患者作为研究组,另选取同期在该院进行子宫肌瘤切除的 40 例患者作为对照组,通过实时荧光定量 PCR 检测宫颈组织中 miR-124 相对表达水平,采用化学发光免疫检测血清 HLA-G 水平,观察 miR-124 与 HLA-G 在宫颈癌中的表达及变化。结果 研究组宫颈组织中 miR-124 相对表达水平低于对照组,研究组血清 HLA-G 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);研究组宫颈组织中 miR-124 相对表达水平在国际妇产科联盟(FIGO)分期、淋巴结转移、腺体浸润及脉管浸润间比较,差异有统计学意义($P<0.05$);而血清 HLA-G 水平在 FIGO 分期、淋巴结转移、脉管浸润间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。miR-124 与 HLA-G 联合检测的灵敏度为 87.18%,特异度为 83.52%。结论 miR-124 与 HLA-G 水平变化与宫颈癌 FIGO 分期、淋巴结转移及脉管浸润有关,二者联合检测有望成为宫颈癌诊断的新靶点。

关键词:miR-124; 人类白细胞抗原 G; 宫颈癌

中图法分类号:R737.33

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)12-1677-04

Study on the expression and changes of miR-124 and HLA-G signals in cervical cancer

TAO Guohua, XIE Wei, LI Li[△]

Department of Clinical Laboratory, Nantong First People's Hospital, Nantong, Jiangsu 226001, China

Abstract:**Objective** To investigate the expression and changes of miR-124 and human leukocyte antigen-G (HLA-G) in cervical cancer. **Methods** From January 2018 to January 2019, 65 patients with cervical cancer hospitalized in a hospital were selected as the study group, and 40 patients of hysteromyomectomy in a hospital during the same period were selected as the control group. The relative expression level of miR-124 in cervical tissue was detected by real-time fluorescence quantitative PCR, and HLA-G level in serum was detected by chemiluminescence immunoassay to observe the expression and changes of miR-124 and HLA-G in cervical cancer. **Results** The relative expression level of miR-124 in cervical tissue of the study group was lower than that of the control group, and the level of HLA-G in serum of the study group was higher than that of the control group, with statistical significance ($P<0.05$). The relative expression level of miR-124 in the cervical tissues of the study group was significantly different among the international federation of gynecology and obstetrics (FIGO) staging, lymph node metastasis, gland infiltration and vascular infiltration ($P<0.05$). The difference of serum HLA-G level among FIGO staging, lymph node metastasis and vascular infiltration was statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of miR-124 combined with HLA-G were 87.18% and 83.52% respectively. **Conclusion** The changes of miR-124 and HLA-G levels are related to the FIGO staging, lymph node metastasis and vascular invasion of cervical cancer. The combined detection of the two is expected to become a new target for the diagnosis of cervical cancer.

Key words:miR-124; human leukocyte antigen-G; cervical cancer

宫颈癌为女性高发的妇科疾病,根据我国妇科肿瘤流行病学调查结果显示,2017 年以来宫颈癌的发病率呈逐年升高趋势^[1]。人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌发生的关键诱因,属于基因病毒,能够快速增殖和复制^[2]。微小 RNAs(microRNAs)是一种小分子的非编码 RNA,能够通过对 DNA 片段进行调节,

提高细胞的生物活性。miR-124 属于 microRNAs 中的一种,有研究证实其在肺癌中活性降低,在不同恶性肿瘤中表达也有所差异,miR-124 在乳腺癌中通过低表达介导 SP1 信号改变癌细胞活性^[3]。人类白细胞抗原 G(HLA-G)是机体重要的免疫耐受分子,随着对 HLA-G 研究深入,人们推测 HLA-G 与恶性肿瘤

免疫逃窜具有相关性^[4]。本研究旨在探讨 miR-124 与 HLA-G 在宫颈癌中的表达及变化,为临床宫颈癌的诊断提供相关依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2019 年 1 月本院住院治疗的 65 例宫颈癌患者作为研究组,年龄 28~75 岁,中位年龄 47 岁。纳入标准:(1)根据术后病理结果确诊为宫颈癌;(2)接受术后切除或淋巴清扫治疗;(3)未接受化学治疗;(4)信息齐全。排除标准:(1)合并其他肿瘤;(2)全身感染;(3)接受化学治疗;(4)合并重要器官病变。另选取同期在本院进行子宫肌瘤切除的 40 例患者作为对照组,年龄 25~70 岁,中位年龄 46 岁。两组年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。两组患者和家属均了解本研究内容,且签署知情同意书,本研究经过本院伦理委员会审核批准。

1.2 实时荧光定量 PCR 检测宫颈组织中 miR-124 相对表达水平 将两组患者宫颈组织常规石蜡包埋、脱蜡、水化处理后加入购自中国深圳子科生物的 Trizol 试剂进行 RNA 提取,氯仿溶解。采用购自中国上海昂拉仪器的超微量分光光度计计算 RNA 纯度,吸光度 A_{280} 参考范围为 0.0~2.0,在上述范围为符合实验标准。采用武汉纯度生物科技有限公司生产的 RNA 逆转录试剂盒将 RNA 转录为 cDNA。PCR 反应条件:98 ℃ 6 min,98 ℃ 28 s,72 ℃ 30 s,80 ℃ 4 min,总计 40 个循环,以 U6 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算宫颈组织中 miR-124 相对表达水平。见表 1。

表 1 引物序列		
项目	基因	引物序列
miR-124	上游引物	5'-TGC GGA CAG CAG GCA CAG AC-3'
	下游引物	5'-CCA GTG CAG GGT CCG AGG T-3'
U6	上游引物	5'-TGC GGG TGC TCG CTT CGG CAG C-3'
	下游引物	5'-CCA GTG CAG GGT CCG AGG T-3'

1.3 化学发光免疫检测血清 HLA-G 水平 分别抽取两组患者空腹 8 h 静脉血 4 mL,4 000 r/min 离心 5

min 后,利用美国雅培公司生产的化学发光免疫分析仪检测血清 HLA-G 水平,研究步骤如下:按照仪器说明书制备单抗复合物,采用辣根过氧化物结合到固定的载体上,将两组血清及上述复合物加入链霉亲和素孔板中,37.7 ℃ 培养 1 h,磷酸盐缓冲溶液反复冲洗,加入底物,采用全自动化学发光免疫分析仪检测 HLA-G 表达水平(波长为 425 nm),检测范围:0.5~300.0 ng/mL。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计分析,非正态分布的计量资料以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,组间比较采用非参数 Kruskai-Wallis 秩和检验,进一步两两比较用 Mann-Whitney U 检验。计数资料组间比较采用 χ^2 检验。绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线),计算 ROC 曲线下面积(AUC)、灵敏度、特异度等指标。检验水准 $\alpha=0.05$ 。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 对照组与研究组 miR-124 相对表达水平和 HLA-G 水平比较 研究组宫颈组织中 miR-124 相对表达水平低于对照组,研究组血清 HLA-G 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组 miR-124 相对表达水平和 HLA-G 水平比较 [$M(P_{25},P_{75})$]			
组别	n	miR-124	HLA-G(ng/mL)
对照组	40	0.950(0.651,1.020)	45.170(35.100,60.140)
研究组	65	0.511(0.360,0.618)	185.200(152.230,196.330)
U		3.708	7.850
P		0.024	<0.001

2.2 研究组不同临床病理指标的 miR-124 相对表达水平、HLA-G 水平比较 研究组宫颈组织中 miR-124 相对表达水平在国际妇产科联盟(FIGO)分期、淋巴结转移、腺体浸润及脉管浸润间比较,差异有统计学意义($P<0.05$);而血清 HLA-G 水平在 FIGO 分期、淋巴结转移、脉管浸润间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 研究组不同临床病理指标的 miR-124 相对表达水平、HLA-G 水平比较[$M(P_{25},P_{75})$]					
因素	n	miR-124	P	HLA-G(ng/L)	P
年龄			0.532		0.660
<50 岁	30	0.376(0.258,0.514)		187.090(145.080,230.170)	
≥50 岁	35	0.380(0.266,0.602)		190.450(156.770,290.440)	
病理类型			0.699		0.427
鳞癌	57	0.373(0.244,0.489)		197.080(154.300,294.450)	
腺癌	9	0.400(0.305,0.550)		188.600(143.350,260.550)	
HPV 感染			0.511		0.369
无	49	0.411(0.295,0.620)		188.450(160.330,205.670)	

续表 3 研究组不同临床病理指标的 miR-124 相对表达水平、HLA-G 水平比较[$M(P_{25}, P_{75})$]

因素	<i>n</i>	miR-124	<i>P</i>	HLA-G(ng/L)	<i>P</i>
有	16	0.417(0.300,0.631)		204.490(177.500,230.590)	
肿瘤直径			0.603		0.182
<3 cm	33	0.457(0.366,0.652)		167.090(117.670,266.550)	
≥3 cm	32	0.463(0.350,0.662)		179.330(165.440,238.900)	
FIGO 分期			<0.001		0.012
I 期	44	0.461(0.339,0.568)		145.660(115.660,224.360)	
II 期	21	0.178(0.104,0.314)		225.090(183.450,316.440)	
淋巴结转移			<0.001		0.034
无	57	0.405(0.294,0.560)		153.390(124.370,233.650)	
有	8	0.162(0.095,0.210)		220.450(179.060,303.250)	
腺体浸润			<0.001		0.069
无	40	0.516(0.344,0.710)		169.900(133.500,190.340)	
有	25	0.244(0.180,0.366)		223.440(180.590,310.220)	
脉管浸润			<0.001		0.025
无	48	0.457(0.313,0.654)		154.330(120.390,189.530)	
有	17	0.221(0.146,0.415)		190.380(166.580,256.500)	

2.3 miR-124、HLA-G 诊断宫颈癌的 ROC 曲线分析 miR-124+HLA-G 联合检测诊断宫颈癌的灵敏度、特异度、AUC 均高于 miR-124 及 HLA-G 单项检测结果。见表 4、图 1。

表 4 miR-124、HLA-G 及两者联合检测对宫颈癌的诊断价值分析

项目	灵敏度(%)	特异度(%)	AUC
miR-124	83.50	78.15	0.728
HLA-G	81.27	76.30	0.713
miR-124+HLA-G 联合检测	87.18	83.52	0.824

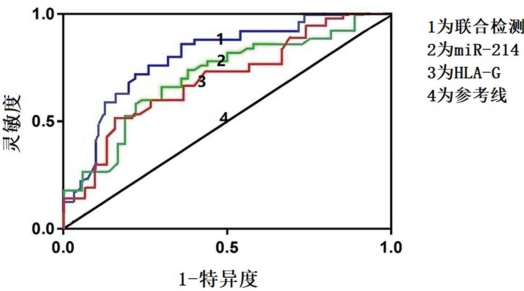


图 1 miR-124、HLA-G 诊断宫颈癌的 ROC 曲线分析

3 讨 论

宫颈癌产生及发展是一个多环境、多因素的过程。近些年,随着分子领域研究不断深入,大量 miRNA 对多种恶性疾病例如乳腺癌、卵巢癌等具有重要作用[5]。HLA-G 分子为机体重要的免疫因子,最初被发现具有参与母-胎界面免疫耐受作用,减少排斥反应。有研究报道,宫颈癌发展过程中存在大量 mi-

croRNAs 异常表达,其中 miR-21 能够加快宫颈癌生物活性,与 miR-466 表达相似,而 miR-320 能够保护宫颈组织,减少癌细胞恶性侵袭,通过调节 FOXM1 基因发挥作用[6]。熊兴东等[7]研究报道,宫颈癌组织中 microRNA-124 呈低表达趋势且与癌细胞过度增殖、凋亡不足、侵袭性生长密切相关。王梦洁等[8]研究报道,宫颈癌组织中 miR-124 水平低于健康宫颈组织,提示 miR-124 低表达能够加快癌症病变。HLA-G 是一种生物活性广泛的免疫指标,其水平升高与 Fas 受体活化相关,有研究报道,Fas 大量活化能够加快 T 淋巴细胞凋亡,改变多种细胞抗原提呈能力,加快恶性肿瘤细胞发生免疫逃窜[9]。张欣等[10]研究报道,宫颈癌患者血清 HLA-G 水平高于健康人群。本研究显示,研究组宫颈组织中 miR-124 相对表达水平低于对照组,研究组血清中 HLA-G 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。这与 LI 等[10]研究报道结果相似。

miR-124 通过介导宫颈癌细胞发生淋巴结转移与上皮-间充质转化(EMT)活性相关,能够加快癌细胞深层浸润[11]。有研究报道,miR-124 能够通过升高 PDCD6 水平,激活有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)信号通路,从而促进宫颈癌转移及迁移[12]。本研究显示,研究组宫颈组织中 miR-124 相对表达水平在 FIGO 分期、淋巴结转移、腺体浸润及脉管浸润间比较,差异有统计学意义($P<0.05$),而血清 HLA-G 水平在 FIGO 分期、淋巴结转移、脉管浸润间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。这提示 HLA-G 水平越高,宫颈癌淋巴结转移越快,疾病 FIGO 分期越高,

加快疾病发展。高水平 HLA-G 能够减弱自然杀伤细胞功能,减少对宫颈癌细胞的免疫监视作用^[13]。冷雪娇等^[14]研究报道,出现淋巴结转移的宫颈癌患者血清 HLA-G 升高,说明高水平 HLA-G 能够加快宫颈癌癌变。本研究 miR-124 和 HLA-G 灵敏度较高,ROC 曲线评估 miR-124 联合 HLA-G 对宫颈癌的诊断价值,提示 miR-124、HLA-G 能够对宫颈癌诊断提供较高的准确率。王梦洁等^[15]研究指出,通过 ROC 曲线了解到 miR-124 能够增加诊断宫颈癌的准确性。

综上所述,miR-124 与 HLA-G 水平变化与宫颈癌 FIGO 分期、淋巴结转移及脉管浸润有关,二者联合检测有望成为宫颈癌诊断的新靶点。

参考文献

[1] 郭颖,马冬,贾世峰,等.微小 RNA-365 和靶向 E74 样受体 4 在宫颈癌细胞的增殖及其临床意义[J].中国医学科学院学报,2019,41(2):220-227.

[2] 田芸,曾健,翟光宇. TNF- α 、TNFR1、TNFR2 在不同宫颈病变组织中的表达及与临床病理特征的关系[J].国际肿瘤学杂志,2018,45(7):412-418.

[3] 郭金鼎,赵新,劳杰,等. miR-124 和 miR-138 参与调控健侧颈 7 移位术后脑功能重塑的研究[J].中华手外科杂志,2019,35(2):139-142.

[4] 石清蒲,李力,汪丛敏. 黄体酮、抑制素 A、HLA-G 水平在早期先兆流产诊断中的价值[J].中国医师杂志,2019,21(10):1574-1576.

[5] WANG Z, WANG Q, ZHAO J, et al. Altered diversity and composition of the gut microbiome in patients with cervical cancer[J]. Amb Express, 2019, 9(1):40.

[6] 谢莹莹,徐梦婷. HLA-G 表达对滋养细胞系 JEG-3 细胞

侵袭和增殖能力的影响[J].中华妇产科杂志,2019,54(3):179.

[7] 熊兴东,成捷,刘新光,等. miR-124 rs531564 基因多态性与宫颈癌遗传易感有密切关系[J].南方医科大学学报,2014,11(2):210-213.

[8] 王梦洁,孟碧,高飞,等. miR-124 对宫颈癌 Hela 细胞放射敏感性的影响及其机制探讨[J].现代肿瘤医学,2018,26(6):818-821.

[9] 张欣,郑妮,王传新,等. 血浆 HLA-G 在宫颈癌和癌前病变检测中的应用[J].中华检验医学杂志,2011,34(1):61-65.

[10] LI W, SONG D, SUN Y, et al. microRNA 124 3p inhibits the progression of congenital hypothyroidism via targeting programmed cell death protein 6[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(6):5001-5006.

[11] WAN H Y, LI Q Q, ZHANG Y, et al. MiR-124 represses vasculogenic mimicry and cell motility by targeting amotL1 in cervical cancer cells[J]. Cancer Letters, 2014, 355(1):148-158.

[12] 袁犁. miR-124 通过靶向 PDCD6 抑制卵巢癌细胞及诱导凋亡机制的研究[D].重庆:重庆医科大学,2016.

[13] 郑妮. 人类白细胞抗原 G(HLA-G)在宫颈癌患者中的表达及其临床应用研究[D].济南:山东大学,2010.

[14] 冷雪娇,粘桂粒,张道强,等. 人类白细胞抗原 G 和人类白细胞抗原 E 在宫颈癌中的表达及临床意义[J].国际免疫学杂志,2016,39(2):107-110.

[15] 王梦洁,孟碧,高飞,等. miR-124 对宫颈癌 Hela 细胞放射敏感性的影响及其机制探讨[J].现代肿瘤医学,2018,26(6):818-821.

(收稿日期:2020-09-23 修回日期:2021-01-09)

(上接第 1676 页)

[11] 赵秀敏,李杰,彭洋颖,等. 子宫腺肌病患者 CXCL12/CXCR4/CXCR7 mRNA 及其蛋白表达水平[J/CD].中华妇幼临床医学杂志(电子版),2020,16(3):309-315.

[12] HUISMAN B W, BURGGAARF J, VAHRMEIJER A L, et al. Potential targets for tumor-specific imaging of vulvar squamous cell carcinoma: a systematic review of candidate biomarkers[J]. Gynecol Oncol, 2020, 156(3):734-743.

[13] ZHOU W, GUO S, LIU M, et al. Targeting CXCL12/CXCR4 axis in tumor immunotherapy[J]. Curr Med Chem, 2019, 26(17):3026-3041.

[14] YAMASHIRO K, IDEGUCHI H, AOYAGI H, et al. High mobility group box 1 expression in oral inflammation and regeneration[J]. Front Immunol, 2020, 11(1):1461.

[15] CHEN C, SU Y J, CHEN J W, et al. Intra-Bone marrow transplantation of endosteal bone marrow cells facilitates allogeneic hematopoietic and stromal cells engraftment dependent on early expression of CXCL-12[J]. Med Sci Monit, 2015, 21(1):2757-2766.

[16] 赖德芳,王青,刘东军. 趋化因子 SDF-1 在脂肪间充质干细胞向血管内皮细胞分化过程中的作用[J].中国细胞生物学学报,2018,40(5):827-835.

[17] 胡秋霞,彭新月,石杰敏,等. CXCL12/CXCR4/CXCR7 轴在子宫内膜异位症中的研究进展[J].生命的化学,2020,40(2):262-268.

[18] WANG Y, FU W, ZHANG S, et al. CXCR-7 receptor promotes SDF-1 α -induced migration of bone marrow mesenchymal stem cells in the transient cerebral ischemia/reperfusion rat hippocampus[J]. Brain Res, 2014, 1575(1):78-86.

[19] EIBEL B, KRISTOCHEK M, PERES T R, et al. β -blockers interfere with cell homing receptors and regulatory proteins in a model of spontaneously hypertensive rats[J]. Cardiovasc Ther, 2018, 36(4):e12434.

[20] 黄晓萍,张娟,王文平,等. CXCL12 和 CXCR4 对骨髓间充质干细胞向子宫内膜间质细胞趋化的影响[J].中国组织工程研究,2019,23(9):1319-1323.

(收稿日期:2020-10-12 修回日期:2021-05-10)