

宫颈癌患者血清中 SCC-Ag 含量与肿瘤恶性生物学行为的关系

章家青

浙江省宁海县第一医院, 浙江 宁海 315600

摘要: **目的** 探讨不同分期宫颈癌患者血清中鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma associated antigen, SCC-Ag)含量的检测及其与肿瘤恶性生物学行为的内在联系。 **方法** 71 例原发性宫颈癌患者根据肿瘤分期不同分为早期宫颈癌组 30 例、中晚期宫颈癌组 41 例,同期在本院进行宫颈检查的宫颈息肉患者 50 例作为宫颈良性病变组。对比三组患者血清中 SCC-Ag 的含量以及宫颈病灶组织中增殖、侵袭、自噬基因表达量的差异,进一步分析宫颈癌患者血清 SCC-Ag 含量与病灶恶性分子表达量的内在联系。 **结果** 早期宫颈癌组、中晚期宫颈癌组患者血清中 SCC-Ag 的含量分别为 $(1.73 \pm 0.32) \mu\text{g/L}$ 、 $(5.40 \pm 1.17) \mu\text{g/L}$, 高于宫颈良性病变组的 $(0.32 \pm 0.08) \mu\text{g/L}$ ($P < 0.001$)。早期宫颈癌组、中晚期宫颈癌病灶组织中增殖基因 FOXP3、INK4、NDRG3 mRNA 的表达量高于宫颈良性病变组(均 $P < 0.001$); eIF4E3 mRNA 的表达量低于宫颈良性病变组(均 $P < 0.001$); 侵袭基因 GOLPH3、EZH2、GRP94、PRPS2、Rab11 mRNA 的表达量高于宫颈良性病变组(均 $P < 0.001$); 自噬基因 Beclin1、ARHI mRNA 的表达量低于宫颈良性病变组(均 $P < 0.001$), p62 mRNA 的表达量高于宫颈良性病变组($P < 0.001$)。且中晚期宫颈癌组上述指标的变化程度大于早期宫颈癌组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。相关性分析发现,宫颈癌患者血清 SCC-Ag 含量与肿瘤细胞增殖、侵袭及自噬活性均直接相关($P < 0.05$)。 **结论** 随宫颈癌肿瘤分期进展,患者血清中 SCC-Ag 含量增加,且具体 SCC-Ag 含量可客观反映肿瘤细胞的增殖、侵袭、自噬等恶性生物学行为严重程度。

关键词: 宫颈癌; SCC-Ag; 增殖基因; 侵袭基因; 自噬基因

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2019)02-0238-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2019.02.035

宫颈癌是女性发病率最高的恶性肿瘤性疾病之一,流行病学调查发现 2012 年全球原发性宫颈癌新发病例约有 53 万例,而死亡病例数高达 27.5 万例,其中 85% 发病、死亡病例聚集于发展中国家^[1-2]。我国目前宫颈癌发病率逐年递增且呈年轻化趋势,早期确诊疾病、明确肿瘤分期是当下该病治疗结局优化的关键所在。鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma associated antigen, SCC-Ag)存在于肺、子宫、宫颈、头颈部等鳞状上皮细胞癌的胞浆中^[3],可作为上述肿瘤辅助诊断的肿瘤标志物之一,但关于其具体含量对肿瘤恶性程度的指向性研究涉及不多。本研究探讨宫颈良性病变患者与不同分期宫颈癌患者血清中 SCC-Ag 含量的差异,从而揭示 SCC-Ag 含量与宫颈癌恶性生物学行为间的相关关系,以期对日后宫颈癌早期病情判定提供简便高效的手段。

1 对象与方法

1.1 对象 71 例原发性宫颈癌患者于 2015 年 1 月-2018 年 1 月在本院确诊并接受治疗,根据肿瘤分期不

同分为早期宫颈癌组 30 例、中晚期宫颈癌组 41 例,另取同期在本院进行宫颈检查的宫颈息肉患者 50 例作为宫颈良性病变组。早期宫颈癌组患者年龄 34~72 周岁,平均 (53.28 ± 11.04) 周岁;中晚期宫颈癌组患者年龄 32~73 周岁,平均 (53.67 ± 10.95) 周岁;宫颈良性病变组患者年龄 34~71 周岁,平均 (54.01 ± 11.53) 周岁。三组患者的年龄分布具有可比性($P > 0.05$),本院伦理委员会审核、批准此次研究实施。

1.2 入组及排除标准 入组标准:①宫颈病灶组织标本病理确诊良恶性,其中宫颈癌的病理分型均为鳞癌;②首次确诊并接受治疗、既往无疾病相关治疗史;③宫颈癌患者留取宫颈组织病灶前未经放化疗;④年龄 < 80 周岁;⑤本人或者家属了解研究过程、签署知情同意书。排除标准:①既往宫颈手术史;②入院前 6 月内外科手术史;③合并其他恶性肿瘤性疾病;④妊娠或者哺乳期女性;⑤合并全身感染、严重自身免疫性疾病;⑥标本组织污染、可能影响研究结果获取。

1.3 血清 SCC-Ag 含量检测 留取三组患者的同一时间点空腹血标本 5.0 ml,促凝处理后分离血清,采用化学发光微粒子免疫检测法检测血清中 SCC-Ag 的含量。SCC-Ag 正常值 $\leq 1.5 \mu\text{g/L}$ ^[4]。

作者简介: 章家青(1982-),男,浙江宁海县人,本科学历,主管技师,主要从事临床生化检验工作。

1.4 宫颈病灶组织中恶性分子表达量的检测 三组患者行宫颈检查时均留取病灶局部组织标本,即刻冻存储备用。经实时荧光定量 PCR 法(quantitative real-time PCR)检测宫颈病灶组织中目标基因的表达量,包括宫颈癌相关增殖基因:FOXP3、INK4、NDRG3、eIF4E3;宫颈癌相关侵袭基因:GOLPH3、EZH2、GRP94、PRPS2、Rab11;宫颈癌相关自噬基因:Beclin1、p62、ARHI。具体 Quantitative Real-time PCR 步骤包括:①裂解标本细胞;两相分离,取无色水相上层;②转移水相上层至无 RNA 酶的离心管中,加等体积异丙醇沉淀其中总 RNA;③清洗 RNA 凝胶块、室温干燥后加入无 RNA 酶的水 40 μ l 并获取 RNA 溶液,冻存储备用;④紫外吸收法测定 RNA 纯度、浓度;⑤制备反应体系,采用反转录试剂盒合成样品 cDNA;⑥待测样品的管家基因实时定量 PCR;⑦绘制梯度标准曲线的 DNA 模板制备;⑧待测基因实时定量 PCR 检测。设置宫颈良性病变组病灶组织中上述目标基因表达量为标准值 100^[5],计算早期宫颈癌组、中晚期宫颈癌组病灶组织中对应基因的相对表达量。

1.5 统计学方法 用 SPSS 20.0 作为统计软件,由同一名统计员录入具体数据并进行统计学计算。SCC-Ag 含量以及增殖基因、侵袭基因、自噬基因具体表达量均属于计量资料,以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,三组间比较采用方差分析、组间两两比较采用 LSD 法、相关性分析采用 Pearson 积差相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 SCC-Ag 含量 三组患者血清中 SCC-Ag 含量差异有统计学意义($P<0.000$)。早期宫颈癌组、中晚期宫颈癌组患者血清中 SCC-Ag 的含量高于宫颈良性病变组;中晚期宫颈癌组患者血清中 SCC-Ag 的含量高于早期宫颈癌组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 宫颈癌相关增殖基因相对表达量 三组患者宫

颈病灶组织中宫颈癌相关增殖基因 FOXP3、INK4、NDRG3、eIF4E3 mRNA 相对表达量差异有统计学意义($P<0.05$)。早期宫颈癌组、中晚期宫颈癌组患者病灶组织中 FOXP3、INK4、NDRG3 mRNA 的表达量高于宫颈良性病变组,eIF4E3 mRNA 的表达量低于宫颈良性病变组;中晚期宫颈癌组患者病灶组织中 FOXP3、INK4、NDRG3 mRNA 的表达量高于早期宫颈癌组,eIF4E3 mRNA 的表达量低于早期宫颈癌组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 1 三组患者血清中 SCC-Ag 含量的比较(μ g/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	SCC-Ag
宫颈良性病变组	50	0.32 \pm 0.08
早期宫颈癌组	30	1.73 \pm 0.32*
中晚期宫颈癌组	41	5.40 \pm 1.17**
F 值		608.69
P 值		<0.001

注:与宫颈良性病变组比较,* $P<0.05$;与早期宫颈癌组比较,** $P<0.05$ 。下同。

表 2 三组宫颈病灶组织中宫颈癌相关增殖基因表达量的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	FOXP3	INK4	NDRG3	eIF4E3
宫颈良性病变组	50	100	100	100	100
早期宫颈癌组	30	119.46 \pm 15.84*	110.64 \pm 16.29*	120.47 \pm 18.43*	90.72 \pm 11.48*
中晚期宫颈癌组	41	130.95 \pm 17.65**	140.75 \pm 20.18**	139.66 \pm 19.71**	78.63 \pm 9.71**
F 值		53.32	79.16	69.32	48.60
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 宫颈癌相关侵袭基因相对表达量 三组患者宫颈病灶组织中宫颈癌相关侵袭基因 GOLPH3、EZH2、GRP94、PRPS2、Rab11 mRNA 表达量差异有统计学意义($P<0.05$)。早期宫颈癌组、中晚期宫颈癌组患者病灶组织中 GOLPH3、EZH2、GRP94、PRPS2、Rab11 mRNA 的表达量高于宫颈良性病变组;中晚期宫颈癌组患者病灶组织中 GOLPH3、EZH2、GRP94、PRPS2、Rab11 mRNA 的表达量高于早期宫颈癌组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 三组宫颈病灶组织中宫颈癌相关侵袭基因表达量的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	GOLPH3	EZH2	GRP94	PRPS2	Rab11
宫颈良性病变组	50	100	100	100	100	100
早期宫颈癌组	30	118.33 \pm 16.20*	122.61 \pm 15.83*	113.21 \pm 14.57*	109.73 \pm 13.14*	114.06 \pm 15.28*
中晚期宫颈癌组	41	131.66 \pm 19.74**	140.28 \pm 19.71**	132.09 \pm 17.83**	128.53 \pm 17.23**	137.25 \pm 21.14**
F 值		48.20	78.79	57.66	50.26	62.75
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 宫颈癌相关自噬基因相对表达量 三组患者宫颈病灶组织中宫颈癌相关自噬基因 Beclin1、p62、ARHI mRNA 表达量差异有统计学意义($P < 0.05$)。早期宫颈癌组、中晚期宫颈癌组患者病灶组织中 Beclin1、ARHI mRNA 的表达量低于宫颈良性病变组, p62 mRNA 的表达量高于宫颈良性病变组;中晚期宫颈癌组患者病灶组织中 Beclin1、ARHI mRNA 的表达量低于早期宫颈癌组, p62 mRNA 的表达量高于早期宫颈癌组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 三组宫颈病灶组织中宫颈癌相关自噬基因表达量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Beclin1	p62	ARHI
宫颈良性病变组	50	100	100	100
早期宫颈癌组	30	88.16±9.75 *	115.47±14.02 *	91.07±11.24 *
中晚期宫颈癌组	41	67.23±8.04 **#	132.65±18.94 **#	80.62±10.54 **#
F值		140.46	56.82	38.38
P值		<0.001	<0.001	<0.001

2.5 相关性分析 宫颈癌患者血清中 SCC-Ag 含量与增殖基因 FOXP3、INK4、NDRG3 mRNA 的表达量呈正相关, eIF4E3 mRNA 的表达量呈负相关($r = 0.371$ 、 0.498 、 0.519 、 -0.364 , 均 $P < 0.05$); 与侵袭基因 GOLPH3、EZH2、GRP94、PRPS2、Rab11 mRNA 的表达量呈正相关($r = 0.309$ 、 0.516 、 0.372 、 0.481 、 0.231 , 均 $P < 0.05$); 与自噬基因 Beclin1、ARHI mRNA 的表达量呈负相关, p62 mRNA 的表达量呈正相关($r = -0.312$ 、 -0.475 、 0.511 , 均 $P < 0.05$)。

3 讨论

SCC-Ag 最初从宫颈鳞状上皮细胞癌组织中分离而来, 路会侠和李绍波^[6]的研究指出早期宫颈癌患者病灶组织中 SCC-Ag 阳性表达率高达 87.7%; 刘晓华和吴国华^[7]的研究证实, SCC-Ag 具体阳性表达率与宫颈癌类型相关, 其中宫颈鳞癌组织中 SCC-Ag 阳性表达率高于宫颈腺鳞癌、宫颈小细胞癌患者。为了深入探讨 SCC-Ag 与宫颈癌病情的内在联系, 首先对比不同患者的血清 SCC-Ag 含量差异并发现: 不同分期宫颈癌患者血清中 SCC-Ag 的含量均较宫颈息肉等良性病变者高, 其中中晚期宫颈癌患者血清中 SCC-Ag 的含量较早期患者高, 直接说明随宫颈病变恶性进展以及具体分期增加, 血清 SCC-Ag 含量递增。正常宫颈细胞存在增殖/凋亡平衡状态, 细胞癌变发生早期即存在细胞增殖能力增强以及凋亡抑制, 两者共同导致肿瘤直径扩大、细胞恶性程度增加^[8]。随宫颈病变严

重程度增加, 病灶组织中 FOXP3、INK4、NDRG3 基因的表达量增加而 eIF4E3 基因表达量下降。FOXP3、INK4、NDRG3、eIF4E3 均在不同研究中被证实与宫颈癌细胞的增殖能力密切相关, 其中 FOXP3 基因过表达可直接抑制宫颈癌 SiHa 细胞凋亡并促进细胞增殖的 G_0/G_1 期进展^[9]; INK4 基因沉默可直接抑制宫颈癌细胞增殖并促进其凋亡^[10]; NDRG3 可通过上调肿瘤相关基因 CXCL5 而促进宫颈癌 Hela 细胞增殖^[11]; eIF4E3 属于潜在抑癌基因, 通过下调 cuclin B1 蛋白表达而抑制癌细胞细胞周期中的 G_2/M 期, 其在宫颈癌组织中呈异常低表达^[12-13]。上述结果说明促增殖基因的过表达以及增殖抑制基因的低表达共同促使宫颈癌分期进展, 这与肿瘤的基因学演进特点吻合。相关性分析则指出, 宫颈癌患者血清 SCC-Ag 含量与 FOXP3、INK4、NDRG3 基因表达量呈正相关, 与 eIF4E3 基因表达量呈负相关, 证实血清 SCC-Ag 含量与宫颈癌细胞增殖活力呈正相关, 从癌细胞增殖层面说明检测宫颈癌患者血清 SCC-Ag 含量可客观反映肿瘤恶性程度。

随肿瘤恶性程度进展, 癌细胞获得侵袭能力并最终导致机体出现淋巴结及远处转移, 是肿瘤分期增加的最直接原因之一。文中随宫颈病变严重程度增加, 病灶组织中 GOLPH3、EZH2、GRP94、PRPS2、Rab11 基因的表达量增加。GOLPH3、EZH2、GRP94、PRPS2、Rab11 是与宫颈癌密切相关的侵袭基因, 其中 GOLPH3 基因通过调控 MMP-2、MMP-9 等分子表达而促进宫颈癌细胞侵袭转移^[14]; EZH2 基因的作用机制与 GOLPH3 相似, 通过上调 MMP-2 表达而促进宫颈癌 C33A 细胞侵袭^[15]; 沉默宫颈癌组织中 GRP94 基因表达可显著下调癌细胞的侵袭及迁移能力^[16]; PRPS2 基因被发现高表达于宫颈癌 Hela 细胞中, siRNA 抑制其表达可迅速降低该细胞株的侵袭能力; Rab11 基因可通过上调 Rac1 分子表达、改变 Rac1 定位而促进宫颈癌细胞侵袭^[17]。上述结果说明促侵袭基因的异常高表达导致宫颈癌病情进展, 与既往研究结论吻合。相关性分析进一步证实, 宫颈癌患者血清 SCC-Ag 含量与 GOLPH3、EZH2、GRP94、PRPS2、Rab11 基因的表达量呈正相关, 从癌细胞侵袭层面说明检测宫颈癌患者血清 SCC-Ag 含量可客观反映肿瘤恶性程度。

细胞自噬是一种程序性死亡类型, 又被称为 II 型细胞死亡, 在调节细胞内环境稳态中发挥重要作用。自噬具有促进细胞生存、抑制细胞生存的双面作用, 目前有研究指出自噬在多种恶性肿瘤发生发展中扮演重要角色。宫颈癌中存在自噬相关基因的差异性表达,

Beclin1 是最早发现的自噬基因,其编码的蛋白质可抑制肿瘤生长、被认为是具有抑癌作用的自噬基因^[18]; p62 属于自噬标记蛋白,其失活会导致自噬功能障碍并损伤线粒体 DNA,缺陷线粒体累积可导致肿瘤出现^[19]; ARHI 基因在生长发育过程中发挥负性调控作用,李跃等^[20]的研究认为 ARHI 是自噬必须的,其可诱发自噬反应出现,而在宫颈癌组织中存在 ARHI 基因异常低表达。文中随宫颈病变进展,病灶组织中 Beclin1、ARHI 基因表达量降低,p62 基因表达量增加,与上述各个自噬基因的病理作用吻合。相关性分析进一步表明,宫颈癌患者血清 SCC-Ag 含量与 Beclin1、ARHI 基因表达量呈负相关,与 p62 基因表达量呈正相关,从癌细胞自噬层面说明检测宫颈癌患者血清 SCC-Ag 含量可客观反映肿瘤恶性程度。

综上所述,得出结论:随宫颈癌分期进展,患者血清中 SCC-Ag 的含量增加,且 SCC-Ag 含量与宫颈癌细胞的增殖、侵袭、自噬活性直接相关,可作为宫颈癌早期诊断、病情评估的重要指标。由于选取的病例数有限,可能对最终结果产生一定偏倚,有待后续大样本研究进一步明确。

参考文献

- [1] Lee YH, Kim MK, Moon HY, et al. Proteomic analysis of pelvic autonomic nerve in nerve-sparing radical hysterectomy for cervical carcinoma[J]. *Cancer Genom Proteom*, 2018, 15(4):337-342.
- [2] Chen Z, Zhou J, Chen Y, et al. Distribution of human papillomavirus genotypes and its relationship to clinicopathology in invasive cervical carcinoma in Zhejiang Province, China[J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(4):780-784.
- [3] Oh J, Bae JY. Optimal cutoff level of serum squamous cell carcinoma antigen to detect recurrent cervical squamous cell carcinoma during post-treatment surveillance[J]. *Obstet Gynecol Sci*, 2018, 61(3):337-343.
- [4] 赵先文,平翠香,荆结线,等. 宫颈癌患者 CEA 和 SCC-Ag 血清水平联合检测的临床应用价值[J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(10):2316-2318.
- [5] 张立国,张璐. 实时定量 PCR 技术的介绍[J]. *生物技术*, 2003, 13(1):39-40.
- [6] 路会侠,李绍波. 宫颈癌相关肿瘤标志物的检测进展[J]. *医学综述*, 2017, 23(23):4638-4641.
- [7] 刘晓华,吴国华. 不同病理类型的宫颈癌与血清鳞状细胞癌相关

- 抗原的关系研究[J]. *中国妇幼健康研究*, 2017, 28(12):1768-1771.
- [8] Guo QS, Song Y, Hua KQ, et al. Involvement of FAK-ERK2 signaling pathway in CKAP2-induced proliferation and motility in cervical carcinoma cell lines[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):2117.
- [9] 孟芳,陈秀芹,李巧云,等. FOXP3 过表达对 HPV 感染阳性宫颈癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(12):1826-1829.
- [10] Poi MJ, Knobloch TJ, Sears MT, et al. Alterations in RD (INK4/ARF) -mediated en bloc regulation of the INK4-ARF locus in human squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Mol Carcinog*, 2015, 54(7):532-542.
- [11] Ma J, Liu S, Zhang W, et al. High expression of NDRG3 associates with positive lymph node metastasis and unfavourable overall survival in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Pathology*, 2016, 48(7):691-696.
- [12] Ernst BP, Mikstas C, St ver T, et al. Association of eIF4E and SPARC expression with lymphangiogenesis and lymph node metastasis in hypopharyngeal cancer[J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(2):699-706.
- [13] Xu H, Wang Z, Xu L, et al. Targeting the eIF4E/ β -catenin axis sensitizes cervical carcinoma squamous cells to chemotherapy[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3):1203-1212.
- [14] 王镇南,黄海丽,黄颢,等. GOLPH3 基因对宫颈癌细胞 Hela 迁移和侵袭能力的影响[J]. *广东医科大学学报*, 2017, 35(2):136-139.
- [15] Fathy A, Abdelrahman AE. EZH2, endothelin-1, and CD34 as biomarkers of aggressive cervical squamous cell carcinoma; an immunohistochemical study[J]. *Turk Patoloji Derg*, 2018, 34(2):150-157.
- [16] 徐蕾,朱晓莺,邓晓杨. 沉默 GRP94 抑制宫颈癌细胞的侵袭和迁移[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(2):186-189.
- [17] Xu H, Yuan Y, Wu W, et al. Hypoxia stimulates invasion and migration of human cervical cancer cell lines HeLa/SiHa through the Rab11 trafficking of integrin α 3/FAK/PI3K pathway-mediated Rac1 activation[J]. *J Biosci*, 2017, 42(3):491-499.
- [18] Shen MX, Ding JB. Expression levels and roles of EMC-6, Beclin1, and Rab5a in the cervical cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(13):3038-3046.
- [19] 陈飞,余婷婷,李俊. 宫颈癌中自噬标记蛋白 Beclin1p62 的表达及其临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2017, 32(2):218-221.
- [20] 李跃,王渠源,张颂婕,等. 自噬基因 ARHI 与 Beclin1 在宫颈癌中的表达及意义[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7(23):10648-10651.

收稿日期:2018-08-15