

[J]. Front Pediatr, 2021, 9: 659164.

[10] WYLIE K M, WYLIE T N, BULLER R, et al. Detection of viruses in clinical samples by use of metagenomic sequencing and targeted sequence capture[J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(12): e01123.

[11] DOYLE R M, BURGESS C, WILLIAMS R, et al. Direct whole-genome sequencing of sputum accurately identifies drug-resistant Mycobacterium tuberculosis faster than MGIT culture sequencing[J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(8): e00666.

[12] YANG Y, WALLS S D, GROSS S M, et al. Targeted sequencing of respiratory viruses in clinical specimens for pathogen identification and genome-wide analysis [J]. Methods Mol Biol, 2018, 1838: 125-140.

[13] WU X C, LIANG R B, XIAO Y Q, et al. Application of targeted next generation sequencing technology in the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis and first line drugs resistance directly from cell-free DNA of bronchoalveolar lavage fluid[J]. J Infect, 2023, 86(4): 399-401.

[14] RIGOUTS L, MIOTTO P, SCHATS M, et al. Fluoroquinolone heteroresistance in Mycobacterium tuberculosis: detection by genotypic and phenotypic assay in experimentally mixed populations[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 11760.

[15] WU S H, XIAO Y X, HSIAO H C, et al. Development and assessment of a novel whole-gene-based targeted next-generation sequencing assay for detecting the susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to 14 drugs [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(6): e0260522.

[16] CHAE H, HAN S J, KIM S Y, et al. Development of a

• 综 述 • DOI: 10.3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 20. 030

one-step multiplex PCR assay for differential detection of major Mycobacterium species[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(9): 2736-2751.

[17] 姚璐. M. arundinis 引起播散性暗色丝孢霉病 1 例报道并文献复习[D]. 南宁: 广西医科大学, 2018.

[18] 郑凯文. 基于多重 PCR 与第二代高通量测序技术的下呼吸道感染病原检测方法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.

[19] DUNLAP D G, MARSHALL C W, FITCH A, et al. Improved detection of culprit pathogens by bacterial DNA sequencing affects antibiotic management decisions in severe pneumonia[J]. Am J Case Rep, 2018, 19: 1405-1409.

[20] 吴秀秀, 胡嘉艺, 龙剑海, 等. 5 例鹦鹉热衣原体肺炎的临床特征及诊治特点[J]. 临床内科杂志, 2022, 39(9): 630-631.

[21] 祝青, 张彬. 鹦鹉热衣原体肺炎 12 例临床分析[J]. 南通大学学报(医学版), 2022, 42(2): 183-185.

[22] DOMAZETOVSKA A, JENSEN S O, GRAY M, et al. Culture-free phylogenetic analysis of legionella pneumonia using targeted CRISPR/Cas9 next generation sequencing[J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(4): e0035922.

[23] O'FLAHERTY B M, LI Y, TAO Y, et al. Comprehensive viral enrichment enables sensitive respiratory virus genomic identification and analysis by next generation sequencing[J]. Genome Res, 2018, 28(6): 869-877.

[24] CHUNG H Y, JIAN M J, CHANG C K, et al. Novel dual multiplex real-time PCR assays for the rapid detection of SARS-COV-2, influenza A/B, and respiratory syncytial virus using the BD MAX open system[J]. Emerg Microbes Infect, 2021, 10(1): 161-166.

(收稿日期: 2022-12-29 修回日期: 2023-05-11)

宫颈癌血清肿瘤标志物的研究进展

钟学进¹综述, 曾 涛^{2△}审校

1. 广东医科大学附属第二医院检验科, 广东湛江 524003; 2. 广东医科大学附属第二医院检验科, 广东湛江 524003

摘 要: 尽管临床治疗宫颈癌的手段及技术不断增多, 但晚期或复发宫颈癌患者的预后仍然很差, 宫颈癌早发现、早治疗是保障女性生命健康的重大卫生问题。血清肿瘤标志物具有取材方便、检测操作简单、检测费用低廉等优势, 是诊断恶性肿瘤的常见参考。该文分别对不同性质的宫颈癌血清肿瘤标志物(包括蛋白质、DNA 及 RNA 三大种类)进行归纳总结, 旨在为宫颈癌的诊断提供参考依据。

关键词: 宫颈癌; 血清肿瘤标志物; 蛋白质类标志物; DNA 类标志物; RNA 类标志物
中图法分类号: R737. 33 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2023)20-3072-04

Research progress of cervical cancer serum tumor markers^{*} ZHONG Xuejin¹, ZENG Tao^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524003, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524003, China

Abstract: Despite the increasing number of clinical treatment methods and technologies for cervical cancer,

[△] 通信作者, E-mail: zengt@smu. edu. cn.

er, the prognosis of patients with advanced or recurrent cervical cancer are still very poor. Early detection and treatment of cervical cancer is a major health problem to protect women's life and health. Serum tumor markers have the advantages of convenient sampling, simple detection operation and low detection cost, which are common references for the diagnosis of malignant tumors. In this paper, serum tumor markers of cervical cancer with different properties were summarized, including protein, DNA and RNA, in order to provide reference for the diagnosis of cervical cancer.

Key words: cervical cancer; serum tumor marker; protein marker; DNA marker; RNA marker

宫颈癌是女性群体中常见的恶性肿瘤,是导致女性死亡的重要病因,特别是在发展中国家。宫颈癌的早期治愈率可达 80%~90%,但随着宫颈癌病情不断进展,患者预后也越来越差^[1]。故宫颈癌的早诊断、早治疗是改善患者预后的重要前提,但宫颈癌早期临床症状不明显,多数患者首次来院就诊时已发展为中晚期。宫颈癌的发病机制尚不清楚,随着分子生物学技术的不断发展,临床开始关注宫颈癌发生、发展的分子生物学机制。血清分子标志物在反映宫颈癌中的灵敏度更高,且取材及检测也较为方便,已成为临床诊断宫颈癌、判断患者病情严重程度的常见手段。根据宫颈癌血清标志物的生物性质,主要分为蛋白质类标志物、DNA 类标志物、RNA 类标志物三大类,本文对宫颈癌常见的血清标志物综述如下。

1 蛋白质类标志物

1.1 Toll 样受体(TLR)9 TLR 属于病原相关分析模式识别受体,TLRs 可识别病原体,同时可激活机体产生固有免疫受体,触发 TLR 信号,导致癌症发生,其中 TLR9 是天然免疫中重要识别受体家族中的一员。有研究表明,TLR9 能识别人乳头瘤病毒(HPV),参与 HPV 所引起的后续病理反应。PAR-ROCHE 等^[2]研究发现,TLR9 能影响细胞周期,参与宫颈癌发病。PANDEY 等^[3]研究发现,TLR9 基因多态性与宫颈癌发病风险相关。CANNELLA 等^[4]研究发现,TLR9 与高危型-HPV(HR-HPV)密切相关,没有清除 HPV 的机体内 TLR9 水平升高会引发炎症反应,增加宫颈癌患病风险。

1.2 CXCL 趋化因子配体 14(CXCL14) CXCL14 是近来新发现的趋化因子家族成员,其定位于人染色体 5q31。有研究发现,CXCL14 在肾脏、小肠、肝脏等正常组织中均有表达,但在许多肿瘤细胞系及肿瘤组织中缺失。有学者发现,结直肠癌内 CXCL14 表达水平升高会增加结直肠癌 SW620 细胞侵袭能力^[5]。XU 等^[6]研究发现,乳腺癌阳性淋巴结中 CXCL14 表达水平异常增高,可能是乳腺癌淋巴结转移的调节因子。CXCL14 是一种肿瘤抑制因子,WESTRICH 等^[7]报道称,CXCL14 在宫颈癌、子宫内膜癌、结直肠癌中的表达失调。CICCHINI 等^[8]研究发现,CXCL14 在 HPV 阳性宫颈癌中的表达水平明显下调,且 CXCL14 表达水平下调与 HPV 癌蛋白 E7 诱导的 CXCL14 启动子高甲基化相关。

1.3 缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) HIF-1 α 最初在人肝癌细胞细胞株的核内容物中被发现,HIF-1 α 与 HIF-1 β 以异源二聚体的形式构成 HIF-1 α 。低氧是肿瘤微环境改变的重要特征,也是肿瘤恶性转化及转移的始动因素^[9]。HIF-1 α 是调节氧平衡的关键因子,是组织缺氧的固定生物学标志物。目前,已有研究表明,HIF-1 α 参与恶性肿瘤增殖、凋亡及血管生成等生理过程,并与肿瘤放疗、化疗的灵敏度相关^[10]。郑芳等^[11]研究显示,沉默端粒重复结合因子 2 的表达,可通过抑制 HIF-1 α 介导的血管生成,从而抑制宫颈癌细胞的增殖、侵袭、转移及上皮-间质转化。YAN 等^[12]还发现,HIF-1 α 表达水平可预测宫颈癌患者新辅助化疗的预后。

1.4 人多梳蛋白 2(HPC2) 细胞周期失控是恶性肿瘤发病的重要机制,多梳蛋白(PcG)是维持同源异形基因稳定性,抑制基因同源转化的重要转录因子,与肿瘤发生密切相关^[13]。HPC2 是 PcG 家族中的重要成员,负责执行 PcG 功能,HPC2 与其他 PcG 相互作用可介导多梳蛋白抑制性复合体 2 (PRC2)与特异性 DNA 序列相互结合,对靶基因产生抑制作用。有研究认为,HPC2 基因突变或表达水平异常与肿瘤发生密切相关^[14]。有学者研究发现,宫颈癌细胞中 HPC2 表达异常,其编码的氨基酸改变^[15]。

1.5 糖类抗原 242(CA242) CA242 是常见的肿瘤标志物,属于唾液酸化鞘糖脂类抗原。CA242 表达于黏蛋白上,健康人外周血中 CA242 水平极低,但恶性肿瘤患者血清中 CA242 水平异常升高,并且其血清水平与肿瘤恶性程度、浸润深度、分期等病理特征均有关^[16]。目前,CA242 多用于胃肠道肿瘤的诊断,其被证实与大肠癌、结直肠癌、胃癌等密切相关,特别在胰腺癌及结直肠癌中的诊断价值较高^[17-18]。近年来,CA242 也被应用于肺腺癌、宫颈癌的诊断,DOU 等^[19]研究发现,宫颈癌患者血清 CA242 中位数水平较高,可作为诊断宫颈癌的血清标志物。

2 DNA 类标志物

2.1 HPV DNA HR-HPV 长期感染是宫颈癌的重要致病原因,与细胞学检查比较,HPV DNA 检测的灵敏度更高。此外,HPV DNA 荧光聚合酶链反应(PCR)检测方便简单,易被大众所接受,是宫颈癌的常见筛查手段之一。但 HPV 感染的普遍性及一过性导致了 HPV DNA 检测的特异度较低,假阳性率较

高^[20]。为提高判断准确度,患者需定期进行反复 HPV DNA 检测,当反复检测结果均为阳性时,才可认定为 HPV 持续感染。但反复检测对患者带来的经济负担及心理压力较大,目前,临床正在寻找特异度更高的生物标志物,弥补 HPV DNA 检测的不足。

2.2 循环肿瘤 DNA(ctDNA) 循环游离 DNA(cfDNA) 是一种具有 DNA 双螺旋结构的核苷酸片段,健康人体内的 cfDNA 多来源于血细胞,由于吞噬细胞的吞噬作用,其外周血水平极低,除正常血细胞会产生 cfDNA 外,肿瘤细胞也会释放出游离 DNA 片段,即 ctDNA,故恶性肿瘤患者血浆中 cfDNA 水平明显增高^[21]。ctDNA 来自肿瘤原发灶、转移灶及转移灶中肿瘤细胞坏死、凋亡及溶解 ctDNA 与肿瘤细胞分泌的外泌体,其携带肿瘤组织的分子遗传学信息,并且可反映肿瘤负荷。在不同类型的恶性肿瘤患者中,其血浆 ctDNA 阳性检出率不一致,如肺癌患者血浆 ctDNA 阳性检出率为 90%,乳腺癌血浆 ctDNA 阳性检出率为 50%~70%,肝癌患者 ctDNA 阳性检出率为 75%以上^[22-24]。相对于其他恶性肿瘤,宫颈癌患者血浆 ctDNA 阳性检出率较低,有学者表示宫颈癌患者血浆 ctDNA 阳性检出率不高^[24]。这与宫颈癌转移途径相关,不同于其他肿瘤,宫颈癌主要通过直接蔓延及淋巴转移的方式进行转移,血行转移并不多见,故其外周血中所释放的 DNA 水平较低。此外,ctDNA 水平或阳性检出率与宫颈癌的体积、临床分期、组织学分级等临床病理特征有关,其在诊断宫颈癌、反映其病情严重程度中具有良好价值。

3 RNA 类标志物

3.1 HR-HPV E6/E7 mRNA 大多数宫颈癌的发生与 HR-HPV 感染密切相关。美国阴道镜和宫颈病理协会强调 HR-HPV 检测的重要性,并建议根据 HR-HPV 检测结果进行下一步分流处理^[25]。HPV 属于小型无包膜长双链环状 DNA 病毒,其编码基因 E6、E7 在宿主中的表达是宫颈癌发生的关键,HPV E6/E7 DNA 荧光 PCR 检测在诊断宫颈癌中的灵敏度优于液基薄层细胞学检查,常用于 HPV 感染的早期筛查及分型,与 HPV DNA 比较,HR-HPV mRNA 检测更有助于判断宫颈病变发展的程度。在高级别鳞状上皮内病变中,HPV E6/E7 mRNA 检测方法比 HPV DNA 更具优势^[26],其联合细胞学筛查可提高 HPV 感染的早期宫颈癌癌前病变筛查效果,降低因一过性感染导致的过度诊疗。

3.2 长链非编码 RNA(LncRNAs) LncRNAs 是指长度超过 200 个核苷酸但无蛋白质编码功能的转录物,其可参与细胞凋亡、周期调控,以及 RNA 转录、翻译、调控等多种生物功能。目前,与宫颈癌相关的 LncRNAs 较多。(1)HOX 转录反义 RNA(HOTAIR): HOTAIR 是 LncRNA 中的一种,主要功能是识别 HOX D 基因座中基因表达的反式调节作用,可与

PRC2、组蛋白去甲基化酶 1 相互作用,参与肿瘤细胞增殖、凋亡、转移等基因调控。有研究发现,宫颈癌癌灶内 HOTAIR mRNA 水平明显高于癌旁组织,且与宫颈癌侵袭、转移、增殖等病理行为密切相关^[27]。(2)人肺腺癌转移相关转录本 1 基因(MALAT1): MALAT1 定位于染色体 11q13,转录本序列全长 8 078 bp,其在宫颈癌细胞系中呈高表达。TIE 等^[28]研究发现,MALAT1 可能是宫颈癌 HPV16 阳性患者的治疗靶点。(3)人类母系表达基因 3(MEG3): MEG3 定位于染色体 14q32,长度为 1.6 kb,MEG3 启动子区域甲基化水平高于癌旁组织,MEG3 启动子甲基化水平有望成为诊断宫颈癌的分子标志物^[29]。(4)小核仁 RNA 宿主基因 16(SNHG16): SNHG16 是一种新型 lncRNA,在宫颈癌组织中呈高表达,SNHG16 可上调 RARP9 表达,促进宫颈癌细胞增殖及侵袭^[30]。

3.3 环状 RNAs(circRNAs) circRNAs 是一种无游离 5'端及 3'端的单链共价闭合非编码 RNA,具有稳定、丰富及特异性结构特点,参与宫颈癌侵袭转移。有研究显示,circRNAs 可促进宫颈癌细胞增殖与侵袭,还可调节天然免疫基因,与 HPV 相互作用,参与宫颈癌癌前病变^[31]。

4 总结与展望

宫颈癌的血清肿瘤标志物种类较多,对辅助临床诊断宫颈癌、判断患者病情严重程度均具有一定的应用价值,可为宫颈癌的早诊断、早治疗提供依据,帮助临床更为准确地判断宫颈癌的临床分期、淋巴转移等病理情况,降低宫颈癌的病死率。但不同血清肿瘤标志物水平也会受多种其他因素的干扰,故目前尚无公认的针对宫颈癌的特定肿瘤标志物,可采用多种肿瘤标志物联合检测的形式,提高其临床应用价值。关于宫颈癌血清肿瘤标志物的研究还需要更多的科研探索及更长时间的临床验证,寻找灵敏度高及特异性强的分子标志物,是优化宫颈癌筛查策略的可靠途径。

参考文献

- [1] LIN S,GAO K,GU S,et al. Worldwide trends in cervical cancer incidence and mortality, with predictions for the next 15 years[J]. Cancer,2021,127(21):4030-4039.
- [2] PARROCHE P,ROBLLOT G,LE CALVEZ-KELM F,et al. TLR9 re-expression in cancer cells extends the S-phase and stabilizes p16(INK4a) protein expression[J]. Oncogenesis,2016,5(7):244-250.
- [3] PANDEY N O,CHAUHAN A V,RAITHATHA N S,et al. Association of TLR4 and TLR9 polymorphisms and haplotypes with cervical cancer susceptibility[J]. Sci Rep, 2019,9(1):729-735.
- [4] CANNELLA F,PIERANGELI A,SCAGNOLARI C,et al. TLR9 is expressed in human papillomavirus-positive cervical cells and is overexpressed in persistent infections

- [J]. Immunobiology, 2015, 220(3): 363-368.
- [5] ZENG J, YANG X, CHENG L, et al. Chemokine CXCL14 is associated with prognosis in patients with colorectal carcinoma after curative resection[J]. J Transl Med, 2013, 11(7): 6-12.
- [6] XU K, ZHANG W, WANG C, et al. Integrative analyses of scRNA-seq and scATAC-seq reveal CXCL14 as a key regulator of lymph node metastasis in breast cancer[J]. Hum Mol Genet, 2021, 30(5): 370-380.
- [7] WESTRICH J A, VERMEER D W, COLBERT P L, et al. The multifarious roles of the chemokine CXCL14 in cancer progression and immune responses[J]. Mol Carcinog, 2020, 59(7): 794-806.
- [8] CICCINI L, WESTRICH J A, XU T, et al. Suppression of antitumor immune responses by human papillomavirus through epigenetic downregulation of CXCL14[J]. mBio, 2016, 7(3): 270-286.
- [9] RASHID M, ZADEH L R, BARADARAN B, et al. Up-down regulation of HIF-1 α in cancer progression[J]. Gene, 2021, 25(798): 769-782.
- [10] ALBADARI N, DENG S, LI W. The transcriptional factors HIF-1 and HIF-2 and their novel inhibitors in cancer therapy[J]. Expert Opin Drug Discov, 2019, 14(7): 667-682.
- [11] 郑芳, 肖新益. TRF2 通过调节 HIF-1 α 介导的血管生成对宫颈癌细胞上皮-间质转化的影响[J]. 中国计划生育和妇产科, 2021, 13(11): 42-47.
- [12] YAN B, MA Q F, TAN W F, et al. Expression of HIF-1 α is a predictive marker of the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for locally advanced cervical cancer[J]. Oncol Lett, 2020, 20(1): 841-849.
- [13] BARBOUR H, DAOU S, HENDZEL M, et al. Polycomb group-mediated histone H2A monoubiquitination in epigenome regulation and nuclear processes[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 5947-5952.
- [14] QIN H, DU D, ZHU Y, et al. The PcG protein HPC2 inhibits RBP-J-mediated transcription by interacting with LIM protein KyoT2[J]. FEBS Lett, 2005, 79(5): 1220-1226.
- [15] GUI J C, YAN W L, LIU X D. CA19-9 and CA242 as tumor markers for the diagnosis of pancreatic cancer: a meta-analysis[J]. Clin Exp Med, 2014, 14(2): 225-233.
- [16] GE L, PAN B, SONG F, et al. Comparing the diagnostic accuracy of five common tumour biomarkers and CA19-9 for pancreatic cancer: a protocol for a network meta-analysis of diagnostic test accuracy[J]. BMJ Open, 2017, 7(12): e018175.
- [17] BJÖRKMANN K, MUSTONEN H, KAPRIO T, et al. CA125: a superior prognostic biomarker for colorectal cancer compared to CEA, CA19-9 or CA242[J]. Tumour Biol, 2021, 43(1): 57-70.
- [18] LUO H, SHEN K, LI B, et al. Clinical significance and diagnostic value of serum NSE, CEA, CA19-9, CA125 and CA242 levels in colorectal cancer[J]. Oncol Lett, 2020, 20(1): 742-750.
- [19] DOU H, SUN G, ZHANG L. CA242 as a biomarker for pancreatic cancer and other diseases[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2019, 162(7): 229-239.
- [20] HU Z, MA D. The precision prevention and therapy of HPV-related cervical cancer: new concepts and clinical implications[J]. Cancer Med, 2018, 7(10): 5217-5236.
- [21] ZVIRAN A, SCHULMAN R C, SHAH M, et al. Genome-wide cell-free DNA mutational integration enables ultra-sensitive cancer monitoring[J]. Nat Med, 2020, 26(7): 1114-1124.
- [22] IGNATIADIS M, SLEDGE G W, JEFFREY S S. Liquid biopsy enters the clinic-implementation issues and future challenges[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(5): 297-312.
- [23] WANG Y F, WANG X J, LU Z, et al. Overexpression of Stat3 increases circulating cfDNA in breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2021, 187(1): 69-80.
- [24] SIVARS L, PALSDOTTIR K, CRONA GUTERSTAM Y, et al. The current status of cell-free human papillomavirus DNA as a biomarker in cervical cancer and other HPV-associated tumors: a review[J]. Int J Cancer, 2022, 24(10): 16-20.
- [25] LIU T Y, XIE R, LUO L, et al. Diagnostic validity of human papillomavirus E6/E7 mRNA test in cervical cytological samples[J]. J Virol Methods, 2014, 196(8): 120-125.
- [26] HU C, LIU T, HAN C, et al. HPV E6/E7 promotes aerobic glycolysis in cervical cancer by regulating IGF2BP2 to stabilize m6A-MYC expression[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(2): 507-521.
- [27] FAN C N, MA L, LIU N. Systematic analysis of lncRNA-miRNA-mRNA competing endogenous RNA network identifies four-lncRNA signature as a prognostic biomarker for breast cancer[J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 264-270.
- [28] TIE W, GE F. MALAT1 inhibits proliferation of HPV16-positive cervical cancer by sponging miR-485-5p to promote expression of MAT2A[J]. DNA Cell Biol, 2021, 40(11): 1407-1417.
- [29] ZHU J, HAN S. Lidocaine inhibits cervical cancer cell proliferation and induces cell apoptosis by modulating the lncRNA-MEG3/miR-421/BTG1 pathway[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(9): 5404-5416.
- [30] WU W, GUO L, LIANG Z, et al. Lnc-SNHG16/miR-128 axis modulates malignant phenotype through WNT/ β -catenin pathway in cervical cancer cells[J]. J Cancer, 2020, 11(8): 2201-2212.
- [31] CHAICHIAN S, SHAFABAKHSH R, MIRHASHEMI S M, et al. Circular RNAs: a novel biomarker for cervical cancer[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(2): 718-724.