

DOI:10.13350/j.cjpb.241203

• 论著 •

宫颈癌患者血清 miR-410、miR-875 表达 与 HPV 感染的相关性

曲书平, 刘春君, 梁菊华*

(烟台业达医院, 山东烟台 264006)

【摘要】 目的 探究宫颈癌患者血清 miR-410、miR-875 表达与人乳头状瘤病毒(HPV)感染的相关性。方法 选取 2019 年 12 月至 2023 年 12 月来本院治疗的 87 例宫颈癌患者为宫颈癌组, 同期纳入 65 例宫颈上皮内瘤变患者为癌前病变组, 另选取同期 87 例体检健康女性为对照组。采用荧光定量 PCR 法测定血清中 miR-410、miR-875 的水平; 采用 Pearson 法分析血清 miR-410、miR-875 水平与 HPV 感染的相关性; Logistic 回归分析宫颈癌发生的影响因素。结果 与对照组相比, 宫颈癌组血清 miR-410 明显降低($P < 0.05$), miR-875 水平明显升高($P < 0.05$); 与癌前病变组相比, 宫颈癌组血清 miR-410 明显降低($P < 0.05$), miR-875 水平明显升高($P < 0.05$); 与 1~100 组相比, 100~1000 组、>1000 组血清 miR-410 明显降低($P < 0.05$), miR-875 水平明显升高($P < 0.05$); 与 100~1000 组相比, >1000 组血清 miR-410 明显降低($P < 0.05$), miR-875 水平明显升高($P < 0.05$); 流产史、miR-875 为宫颈癌发生的独立危险因素($P < 0.05$), miR-410 为独立保护因素($P < 0.05$)。结论 宫颈癌患者血清 miR-410 水平下调, 与 HPV 负荷量呈负相关, 为宫颈癌的独立保护因素; miR-875 水平上调, 与 HPV 负荷量呈正相关, 为宫颈癌的独立危险因素, 二者均可作为宫颈癌诊断的生物标志物。

【关键词】 宫颈癌; miR-410; miR-875; 人乳头状瘤病毒感染

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2024)12-1404-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2024 Dec.;19(12):1404-1407.]

Correlation between serum miR-410, miR-875 expression with HPV infection in cervical cancer patients

QU Shuping, LIU Chunjun, LIANG Juhua (*Gynecology, Yantai Yeda Hospital, Yantai, Shandong 264006, China*)*

【Abstract】 **Objective** To investigate the correlation between serum miR-410, miR-875 expression with human papillomavirus (HPV) infection in cervical cancer patients. **Methods** From December 2019 to December 2023, 87 cervical cancer patients treated in our hospital were included as the cervical cancer group, 65 cervical intraepithelial neoplasia patients were included as the precancerous lesion group, and 87 healthy women who underwent physical examination were selected as the control group. Fluorescence quantitative PCR method was applied to determine the levels of miR-410 and miR-875 in serum. Pearson method was applied to analyze the correlation between serum miR-410, miR-875 levels with HPV infection. Logistic regression was applied to analyze the influencing factors of cervical cancer.

Results Compared with the control group, the serum miR-410 in the cervical cancer group was greatly lower ($P < 0.05$), and the miR-875 level was greatly higher ($P < 0.05$). Compared with the precancerous lesion group, the serum miR-410 in the cervical cancer group was greatly lower ($P < 0.05$), and the miR-875 level was greatly higher ($P < 0.05$). Compared with the 1-100 group, the serum miR-410 level in the 100-1000 group and >1000 group was greatly lower ($P < 0.05$), while the miR-875 level was greatly higher ($P < 0.05$). Compared with the 100-1000 group, the serum miR-410 in the >1000 group was greatly lower ($P < 0.05$) and the miR-875 level was greatly higher ($P < 0.05$). Abortion history and miR-875 were independent risk factors for cervical cancer ($P < 0.05$), while miR-410 was an independent protective factor ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum miR-410 level in cervical cancer patients is down-regulated and negatively correlated with HPV load, which is an independent protective factor for cervical cancer. The level of miR-875 is up-regulated and positively correlated with HPV load, which is an independent risk factor for cervical cancer. Both can serve as biomarkers for the diagnosis of cervical cancer.

【Keywords】 cervical cancer; miR-410; miR-875; human papillomavirus infection

* **【通讯作者】** 梁菊华, E-mail: ljh543688@126.com

【作者简介】 曲书平(1985-), 女, 山东莱州人, 本科, 主治医师, 从事妇科临床工作研究。E-mail: qsp308048609@163.com

宫颈癌是妇科常见的一种恶性肿瘤,在女性恶性肿瘤疾病中排第2,高发人群为30~55岁之间的女性人群,具有较高的死亡率^[1]。随着人们生活习惯及生活方式的改变,宫颈癌的发病率逐渐升高,我国宫颈癌发生率占全球范围内的30%,其病死率仅次于食管癌、胃癌、肝癌,成为排名第4的恶性肿瘤疾病^[2]。研究表明,高危型人乳头瘤病毒(HPV)持续感染是引发宫颈癌的重要危险因素,可影响患者免疫系统功能,而宫颈癌的恶性发展与机体免疫应答密切相关,约90%的患者存在高危型HPV感染,严重威胁患者的生命健康^[3]。微小RNA(miRNA)作为一种单链非编码小RNA,可靶向调控基因转录及表达,在多种生理病理学过程中发挥重要作用,如细胞的增殖、凋亡以及肿瘤的发生等^[4]。miR-410作为一种新型miRNA,在细胞凋亡、侵袭以及多能干细胞基因再编辑等生物过程中发挥重要作用^[5]。研究发现,miR-410在多种恶性肿瘤疾病中低表达,如乳腺癌、结直肠癌,可作为多种疾病潜在的生物标志物^[6]。研究发现,miR-875在各种癌症中的作用存在差异,在膀胱癌、结直肠癌中表达异常升高,对癌细胞的增殖、转移具有促进作用,而在肝细胞癌中表达降低,具有一定的抑癌作用^[7]。但是miR-410、miR-875在宫颈癌中的作用研究较少,因此,本研究通过检查血清miR-410、miR-875表达水平,进一步分析其与HPV感染的相关性,为寻找有效的生物标志物,对该疾病早期诊断及HPV感染情况评估有重要作用。

对象与方法

1 研究对象

选取2019年12月至2023年12月来本院治疗的87例宫颈癌患者为宫颈癌组,年龄32~54(44.69±5.28)岁,病理类型:鳞癌59例,腺癌28例;病理分化:高分化42例,中低分化45例。同期纳入65例宫颈上皮内瘤变患者为癌前病变组,年龄34~55(45.26±5.37)岁,病变程度:I级25例,II级22例,III级18例。另选取同期87例体检健康女性为对照组,年龄32~55(44.14±5.02)岁。三组年龄差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

纳入标准:(1)宫颈癌患者均符合相应诊断标准^[8];(2)癌前病变患者均符合相应诊断标准^[9];(3)临床资料完整;(4)患者及家属知情并签署知情同意书。排除标准:(1)患有其他恶性肿瘤;(2)有化疗、放疗以及药物治疗史;(3)患有其他女性生殖系统疾病;(4)患有心、肝等重要器官功能障碍;(5)妊娠期或哺乳期患者;(6)有宫颈或阴道手术史;(7)患有免疫系统、血液系统相关疾病;(8)患有精神类疾病,依从性不佳。

本研究获得本院伦理委员会批准。

2 试剂与仪器

离心机(型号:Hettich UNIVERSAL320,德祥科技有限公司);酶标仪(型号:BMGLABTEC Omega,武汉核成科技发展有限公司);RNA提取试剂盒(货号:QPE-010,上海吉玛制药技术有限公司);反转录试剂盒(货号:F0202,北京兰博利德商贸有限公司);Taq PCR MasterMix试剂盒(货号:TIANGEN,天根生化科技有限公司)。

3 方法

取所有患者入院后第二天及体检者清晨空腹静脉血4 mL,3 000 r/min(离心半径10 cm)离心10 min,分离血清,-80℃保存。采用荧光定量PCR法测定血清miR-410、miR-875水平,采用RNA提取试剂盒提取总RNA,通过反转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA,再根据模板扩增。反应条件:95℃预变性8 min,95℃变性15 s,62℃退火38 s,40个循环,重复3次。扩增体系(20 μL):cDNA 3 μL,Taq PCR MasterMix 10 μL,dH₂O 5 μL,上下游引物各1 μL。引物:(1)miR-410,上游:5'-GGTACTGAAACAGAGCCATC-3',下游为5'-CCATGGACTCTTCTCCAACA-3';(2)miR-875,上游:5'-GCGGGCGGTATACCTCAGTTTTAT-3',下游:5'-ATCCAGTGCA GGGTCCGAGG-3';(3)以U6为内参引物,上游:5'-CAGGCCAGCAATTTGGGTAA-3',下游:5'-GGGAGCAATGTTGGTACTGT-3'。

4 HPV感染检测

宫颈癌组患者通过一次性宫颈脱落细胞取样器进行取样,取宫颈分泌物,置于无菌管中,-20℃保存。采取HPV检测试剂盒进行检测,以HPV相对光单位表达值/阳性标准品阈值(RLU/CO)为病毒负荷量。将 $RLU/CO \geq 1$ 判定为阳性, $RLU/CO < 1$ 判定为阴性,阳性患者根据病毒负荷量分为三个级别:1~100、101~1000、>1000^[3]。经检测宫颈癌组均为阳性,根据病毒负荷量将宫颈癌患者分为1~100组(37例)、101~1000组(28例)、>1000组(22例)。

5 统计学分析

数据以SPSS25.0软件进行统计学分析,计数资料以“ $n(\%)$ ”表示,行 χ^2 检验;计量数据均符合正态分布,以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述,两组比较采用 t 检验;三组比较采用单因素方差分析,进一步两两比较用SNK- q 检验;采用Pearson法分析血清miR-410、miR-875水平与HPV感染的相关性;Logistic回归分析宫颈癌发生的影响因素。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结果

1 三组患者血清 miR-410、miR-875 水平比较

与对照组相比,宫颈癌组血清 miR-410 明显降低($P < 0.05$),miR-875 水平明显升高($P < 0.05$);与癌前病变组相比,宫颈癌组血清 miR-410 明显降低($P < 0.05$),miR-875 水平明显升高($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 三组患者血清 miR-410、miR-875 水平比较
Table 1 Comparison of serum miR-410 and miR-875 levels among three groups of patients

| 组别 | 例数 | miR-410 | miR-875 |
|----------|----|-------------------------|-------------------------|
| 宫颈癌组 | 87 | 0.65±0.18 ^{ab} | 2.12±0.68 ^{ab} |
| 癌前病变组 | 65 | 0.94±0.27 | 1.24±0.45 |
| 对照组 | 87 | 1.02±0.33 | 1.08±0.36 |
| <i>F</i> | | 45.445 | 98.252 |
| <i>P</i> | | 0.000 | 0.000 |

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与癌前病变组相比,^b $P < 0.05$ 。

2 宫颈癌组不同 HPV 负荷量患者血清 miR-410、miR-875 水平比较

与 1~100 组相比,100~1000 组、>1000 组血清 miR-410 明显降低($P < 0.05$),miR-875 水平明显升高($P < 0.05$);与 100~1000 组相比,>1000 组血清 miR-410 明显降低($P < 0.05$),miR-875 水平明显升高($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 宫颈癌组不同 HPV 负荷量患者血清 miR-410、miR-875 水平比较

Table 2 Comparison of serum miR-410 and miR-875 levels in patients with different HPV load levels in cervical cancer group

| 组别 | 例数 | miR-410 | miR-875 |
|------------|----|-------------------------|-------------------------|
| 1~100 组 | 37 | 0.75±0.24 | 1.82±0.62 |
| 100~1000 组 | 28 | 0.65±0.17 ^a | 2.17±0.66 ^a |
| >1000 组 | 22 | 0.49±0.11 ^{ab} | 2.58±0.79 ^{ab} |
| <i>F</i> | | 12.606 | 8.739 |
| <i>P</i> | | 0.000 | 0.000 |

注:与 1~100 组相比,^a $P < 0.05$;与 100~1000 组相比,^b $P < 0.05$ 。

3 血清 miR-410、miR-875 水平与 HPV 负荷量的相关性分析

经 Pearson 法分析可知,血清 miR-410 水平与 HPV 负荷量呈负相关($r = -0.526, P < 0.05$),血清 miR-875 水平与 HPV 负荷量呈正相关($r = 0.614, P < 0.05$)。

4 临床资料比较

与癌前病变组相比,宫颈癌组患者的年龄、BMI、肿瘤直径、产次、饮酒史、高血压、糖尿病占比均无明显差异($P < 0.05$),流产史的占比明显升高($P < 0.05$)。见表 3。

5 多因素 Logistic 回归分析宫颈癌的影响因素

以患者是否患有宫颈癌(是=1,否=0)为自变量,以流产史(有=1,无=0)、miR-410(实测值)、miR-875(实测值)为因变量,进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示,流产史、miR-875 为宫颈癌的独立危险因素

($P < 0.05$),miR-410 为独立保护因素($P < 0.05$)。见表 4。

表 3 临床资料比较[n(%)]/ $\bar{x} \pm s$
Table 3 Clinical Data Comparison

| 项目 | 宫颈癌组 (n=87) | 癌前病变组 (n=65) | <i>t</i> / χ^2 | <i>P</i> |
|-------------------------|----------------|------------------------|---------------------|----------|
| 年龄(岁) | 44.69±5.28 | 45.26±5.37 | 0.654 | 0.514 |
| BMI(kg/m ²) | 23.86±3.14 | 23.72±3.03 | 0.276 | 0.783 |
| 肿瘤直径 (cm) | <4 ≥4 | 28(43.08) 37(56.92) | 3.086 | 0.079 |
| 产次 (次) | ≤1 >1 | 31(35.63) 39(60.00) | 0.303 | 0.582 |
| 流产史 | 有 无 | 39(44.83) 48(55.17) | 4.661 | 0.031 |
| 饮酒史 | 有 无 | 26(29.89) 61(70.11) | 0.875 | 0.349 |
| 高血压 | 有 无 | 32(36.78) 55(63.22) | 0.328 | 0.567 |
| 糖尿病 | 有 无 | 35(40.23) 52(59.77) | 1.965 | 0.161 |

表 4 多因素 Logistic 回归分析宫颈癌的影响因素
Table 4 Multivariate logistic regression analysis of influencing factors of cervical cancer

| 指标 | β | SE | Wald | <i>P</i> | OR | 95%CI |
|---------|---------|-------|-------|----------|-------|-------------|
| 流产史 | 0.623 | 0.313 | 3.965 | 0.046 | 1.865 | 1.010~3.444 |
| miR-410 | -0.434 | 0.206 | 4.436 | 0.035 | 0.648 | 0.433~0.970 |
| miR-875 | 0.721 | 0.328 | 4.829 | 0.028 | 2.056 | 1.081~3.910 |

讨论

宫颈癌的发生受到多方面因素的影响,除 HPV 感染这一关键因素之外,还受到患者的年龄、吸烟、口服避孕药、饮食以及生活满意度等的影响,给该疾病的早期防治增加了难度^[10]。据调查,我国每年新增宫颈癌患者约 10 万,发病患者具有年轻化的趋势,严重危害女性的生活质量和身体健康^[11]。HPV 是一种无包膜的 DNA 病毒,具有嗜上皮性,持续性感染 HPV 会导致宫颈上皮组织受到损伤,引发宫颈癌^[12]。研究发现,大多数机体受到 HPV 感染时会自身清除,但是部分女性自身免疫力低下,无法清除病毒,呈持续性感染,最终使宫颈上皮细胞内遗传物质不稳定,导致细胞癌变^[13]。目前,临床治疗 HPV 感染尚无特效药,大多是通过定期随访,尽早发现癌前病变,及时采取干预措施以预防宫颈癌的发生,另外,由于宫颈癌早期症状不明显,易发生病灶扩散,病情延误,进而导致治疗效果不佳,严重影响患者的生存率^[14]。因此,对该疾病早期筛查及诊断对降低发病率及死亡率有重要意义。

miRNA 是一种内源性非编码 RNA,常通过负调控作用对靶基因进行调控,在细胞增殖、分化及凋亡过程均发挥作用^[15]。研究表明,miR-410 在乳腺癌细胞

中表达水平明显下调,而过表达 miR-410 可调控机体上皮间质转化,对癌细胞的生长有抑制作用^[16]。研究发现,miR-410 可靶向抑制 Sns1l 基因的表达,抑制 Sns1l 活化上皮细胞向间充质细胞转化,从而达到抑制癌症发展的作用^[17]。褚冬梅等^[18]发现,Sns1l 过表达对肿瘤细胞的增殖、转移有促进作用,并且参与机体的免疫抑制中,miR-410 通过靶向抑制 Sns1l 表达,对宫颈癌有抑制作用。本研究中,宫颈癌患者血清 miR-410 水平明显低于健康者及癌前病变患者,说明 miR-410 表达水平与宫颈癌的发生有一定联系,可能通过 miR-410 水平下调,使 Sns1l 过表达促进肿瘤细胞的增殖、转移,可作为潜在治疗靶点用于临床治疗中。

miR-875 是一种新发现的与肿瘤相关的 miRNA,与肿瘤的发生、发展存在密切联系,具有作为肿瘤标志物的前景^[19]。研究发现,miR-875 在不同癌症中的存在异质性,在胃癌中通过过表达 miR-875,可靶向抑制 Notch3 基因的活化,提高癌基因对化疗的敏感性,可作为患者治疗及预后评估的指标^[20]。何德娇等^[21]研究发现,miR-875 在宫颈癌组织中表达上调,并且能够促进癌细胞侵袭、转移,促进癌症的发展,有望成为患者治疗的有效靶点。本研究中,宫颈癌患者血清 miR-875 表达明显上调,提示 miR-875 表达变化参与肿瘤的发生发展,可能 miR-875 表达升高能促进癌细胞侵袭、转移,促进癌症的发展,可作为有效治疗靶点,为改善治疗效果及评估预后提供一定的参考。

经过 Pearson 法分析可知,血清 miR-410 水平与 HPV 负荷量呈负相关,血清 miR-875 水平与 HPV 负荷量呈正相关,提示血清 miR-410、miR-875 水平与 HPV 感染有一定的联系,随着 miR-410 水平降低、miR-875 水平升高,患者 HPV 负荷量随之增加,血清 miR-410、miR-875 可作为生物标志物评估 HPV 负荷量,根据感染严重程度进一步进行有针对性治疗。另外,通过多因素 Logistic 回归分析可知,流产史、miR-875 为宫颈癌的独立危险因素,miR-410 为独立保护因素,临床中应密切关注以上指标,及时诊断,采取合理的治疗措施。

综上所述,宫颈癌患者血清 miR-410 水平下调,与 HPV 负荷量呈负相关,为宫颈癌的独立保护因素;miR-875 水平上调,与 HPV 负荷量呈正相关,为宫颈癌的独立危险因素。二者均可作为宫颈癌诊断的生物标志物。本研究存在一定的局限性,分析研究样本相对较小,研究群体间也存在着个体差异,需要更多的临床病例对照数据验证此分析结果的可靠性,为获得准确可靠的统计学分析结果,仍需进一步的探究和分析。

【参考文献】

[1] 房爱芳,李秀芳,林丽红. 宫颈癌患者高危型 HPV 感染状况及其

- 与血清 Hmga1、CK19、CA125 表达的相关性[J]. 实用癌症杂志, 2022, 37(7):1096-1099,1104.
- [2] 李彦英,黄平,张玲,等. 血清 CYFRA21-1、CA125 联合 HPV DNA 检测在宫颈癌早期筛查中的价值及病理特征研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(4):700-703,708.
- [3] 陈丽艳,姜继勇,刘莎,等. 宫颈癌患者高危型 HPV 感染状况及与血清 HLA-G、TGF- β 1 表达的相关性[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(3):295-299.
- [4] 荆春霞,袁高亮,于蕾,等. miR-497-5p miR-3607-3p 与宫颈癌合并高危型 HPV 感染的相关性分析[J]. 中国艾滋病性病, 2024, 30(2):167-171.
- [5] 赵爽,孙静莉. 卵巢癌组织中 miR-410、CCNB1 的表达及临床意义[J]. 中国医药导报, 2021, 18(11):105-108.
- [6] Asante DM, Sreekumar A, Nathani S, et al. miR-410 is a key regulator of epithelial-to-mesenchymal transition with biphasic role in prostate cancer[J]. Cancers (Basel), 2023, 16(1):48-56.
- [7] Kang W, Zhang J, Huang T, et al. NOTCH3, a crucial target of miR-491-5p/miR-875-5p, promotes gastric carcinogenesis by upregulating PHLDB2 expression and activating Akt pathway[J]. Oncogene, 2021, 40(9):1578-1594.
- [8] 李静,索红燕,孔为民. 《国际妇产科联盟(FIGO)2018 癌症报告:宫颈癌新分期及诊治指南》解读[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(6):646-649.
- [9] Zhang T, Zhuang L, Muabiti M, et al. Identification of cervical cancer stem cells using single-cell transcriptomes of normal cervix, cervical premalignant lesions, and cervical cancer[J]. EBio Medicine, 2023, 92:612-628.
- [10] 杨晓飞,姚君霞,杜建秀,等. B7-H6 在宫颈上皮内瘤变、宫颈癌组织中表达差异及与肿瘤浸润 T 淋巴细胞、预后的相关性[J]. 转化医学杂志, 2024, 13(1):117-123.
- [11] Pimple SA, Mishra GA. Global strategies for cervical cancer prevention and screening[J]. Minerva Ginecol, 2019, 71(4):313-320.
- [12] Martinelli M, Giubbi C, Saderi L, et al. Evaluation of human papilloma virus (HPV) genotyping and viral load determination as diagnostic biomarkers of cervical cancer risk[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(2):1320-1336.
- [13] Bhattacharjee R, Das SS, Biswal SS, et al. Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: Molecular pathways and targeted therapeutic strategies[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2022, 174:3675-3689.
- [14] Dorji T, Tshomo U, Gyamtsho S, et al. Gender-neutral HPV elimination, cervical cancer screening, and treatment: Experience from Bhutan[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2022, 156(3):425-429.
- [15] 张永珍,王珊珊,赵海灵,等. 宫颈癌患者血清 miR-651、miR-630 水平及临床意义[J]. 实用医学杂志, 2024, 40(2):158-162.
- [16] Liu X, Yao W, Xiong H, et al. LncRNA NEAT1 accelerates breast cancer progression through regulating miR-410-3p/CCND1 axis[J]. Cancer Biomark, 2020, 29(2):277-290.
- [17] Liu MX, Chu KM. MiR-410-3p suppresses primary gastric cancer and exosomes regulate endogenous expression of miR-410-3p[J]. Am J Cancer Res, 2023, 13(6):2670-2680.
- [18] 褚冬梅,赵振钊,刘荣霞,等. miR-410 通过靶向 Sna1l 抑制宫颈癌细胞的迁移和侵袭[J]. 免疫学杂志, 2020, 36(6):510-515.
- [19] Tong JL, Wang LL, Ling XF, et al. MiR-875 can regulate the proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer cells via targeting SOCS2[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(12):5235-5241.
- [20] 王伟,王聃,王晓光. 胃癌组织中 miR-875-5p、USF2 基因表达变化及其临床意义[J]. 山东医药, 2022, 62(19):7-11.
- [21] 何德娇,梁华,欧阳晓飞,等. miR-875-5p 靶向基质抗原 2 对宫颈癌细胞迁移及侵袭行为的影响[J]. 中国性科学, 2021, 30(11):89-93.

【收稿日期】 2024-07-24 【修回日期】 2024-09-30