

宫颈癌组织中 NEK2 和 circPITX1 的表达水平与放疗敏感度及预后的相关性研究

陈 霄, 吴小颖, 安 明 (四川大学华西三亚医院妇产科, 海南三亚 572000)

摘要: 目的 探讨宫颈癌组织中中心体相关激酶 2 (never in mitosis gene A related kinase-2, NEK2) 和环状 RNA 配对同源结构域基因 1 (circRNA paired homology domain gene 1, circPITX1) 表达与放疗敏感度及预后的关系。方法 选取 2017 年 1 月~2018 年 1 月四川大学华西三亚医院接受放疗治疗的 82 例宫颈癌患者为研究对象。依据放疗后病灶退缩情况评价放疗疗效, 分为放疗抵抗组 ($n=51$) 和放疗敏感组 ($n=31$)。应用免疫组织化学法 (immunohistochemistry, IHCS) 检测宫颈癌组织和癌旁组织中 NEK2 蛋白表达。采用荧光实时定量 PCR (real-time quantitative PCR, RT-qPCR) 检测 circPITX1 mRNA 和 NEK2 mRNA 表达。统计学分析癌组织中 circPITX1 mRNA 和 NEK2 mRNA 与放疗敏感度、临床病理特征的关系。采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析宫颈癌患者 circPITX1 mRNA 和 NEK2 mRNA 表达水平与患者生存预后的关系。COX 回归分析宫颈癌患者预后不良的危险因素。结果 宫颈癌组织中 NEK2 蛋白表达阳性率 [85.37% (70/82)] 高于癌旁组织 [12.20% (10/82)], 差异有统计学意义 ($\chi^2=87.857, P<0.05$)。癌组织中 circPITX1 mRNA (1.92 ± 0.24), NEK2 mRNA 表达 (2.04 ± 0.31) 高于癌旁组织 ($0.81\pm0.20, 0.93\pm0.27$) 表达, 差异均有统计学意义 ($t=32.174, 24.450$, 均 $P<0.05$)。宫颈癌组织中 NEK2 mRNA 与 circPITX1 mRNA 表达呈显著正相关 ($r=0.618, P<0.05$)。FIGO 分期 III A~III B 期宫颈癌患者 NEK2 mRNA (2.54 ± 0.23), circPITX1 mRNA (2.33 ± 0.19) 表达明显高于 IIB 期患者 ($1.17\pm0.40, 1.21\pm0.30$) 表达, 差异均有统计学意义 ($t=19.730, 20.710$, 均 $P<0.05$)。宫颈癌放疗抵抗组 NEK2 mRNA (2.39 ± 0.38), circPITX1 mRNA (2.50 ± 0.21) 均显著高于放疗敏感组 ($1.83\pm0.28, 0.97\pm0.28$), 差异有统计学意义 ($t=7.109, 28.149$, 均 $P<0.05$)。NEK2 mRNA [48.78% (20/41)] 和 circPITX1 mRNA [54.76% (23/42)] 高表达组的三年总生存率显著低于 NEK2 mRNA [90.24% (37/41)], circPITX1 mRNA 低表达组 [85.00% (34/40)], 差异均有统计学意义 ($\chi^2=5.118, 4.890$, 均 $P<0.05$)。NEK2 mRNA [26.10 \pm 3.62 个月] 和 circPITX1 mRNA [25.87 \pm 3.81 个月] 高表达组的平均生存时间显著短于 NEK2 mRNA [33.25 \pm 4.09 个月] 和 circPITX1 mRNA 低表达组 [32.02 \pm 4.02 个月], 差异均有统计学意义 ($t=8.382, 7.140$, 均 $P<0.05$)。FIGO 分期 III A~III B (HR=3.754, 95%CI:1.621~8.694), NEK2 mRNA 高表达 (HR=2.874, 95%CI:2.504~3.497), circPITX1 mRNA 高表达 (HR=2.679, 95%CI:2.485~3.184) 是宫颈癌患者预后不良的独立危险因素 (均 P 均 <0.05)。结论 NEK2 和 circPITX1 在宫颈癌组织中表达升高, 可成为放疗敏感度及预后预测的标志物。

关键词: 宫颈癌; 中心体相关激酶 2; 环状 RNA 配对同源结构域基因 1

中图分类号: R737.33; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2023) 01-027-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.01.006

Correlation between the Expression Levels of NEK2 and CircPITX1 and Radiotherapy Sensitivity and Prognosis in Cervical Cancer

CHEN Xiao, WU Xiao-ying, AN Ming (Department of Obstetrics and Gynecology, West China Sanya Hospital of Sichuan University, Hainan Sanya 572000, China)

Abstract: Objective To explore the expression never in mitosis gene A-related kinase 2 (NEK2) and circRNA paired homology domain gene 1 (circPITX1) in cervical cancer tissues and their correlation with radiotherapy sensitivity and prognosis. **Methods** 82 patients with cervical cancer who received radiotherapy in West China Sanya Hospital of Sichuan University from January 2017 to January 2018 were selected as research object. The efficacy of radiotherapy was evaluated according to the lesion shrinkage after radiotherapy, and the patients were divided into radiotherapy resistant group ($n=51$) and radiotherapy sensitive group ($n=31$). The expression of NEK2 protein in cervical cancer tissues and adjacent tissues was detected by immunohistochemistry (IHCS). The expression of circPITX1 mRNA and NEK2 mRNA was detected by fluorescence real-time quantitative PCR (RT-qPCR). The relationship between circPITX1 mRNA and NEK2 mRNA in cancer tissue with radiosensitivity and clinicopathological characteristics was statistically analyzed. The Kaplan-Meier survival curve was used to analyze the relationship between the expression levels of circPITX1 mRNA and NEK2 mRNA and the 3-year prognosis of

基金项目: 海南省自然科学基金项目 (20169426)。

作者简介: 陈霄 (1987-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 妇产科疾病相关研究, E-mail: chenxiao19870352@163.com。

cervical cancer patients. COX regression analysis was used to analyze the risk factors of poor prognosis in patients with cervical cancer. **Results** The positive rate of NEK2 protein expression in cervical cancer tissues [85.37% (70/82)] was higher than that in adjacent tissues [12.20% (10/82)], and the difference was statistically significant ($\chi^2=87.857$, $P < 0.05$). The expressions of circPITX1 mRNA (1.92 ± 0.24) and NEK2 mRNA (2.04 ± 0.31) in cancer tissues were higher than those of circPITX1 mRNA (0.81 ± 0.20) and NEK2 mRNA (0.93 ± 0.27) paracancerous tissues, and the differences were statistically significant ($t=32.174$, 24.450 , all $P < 0.05$). There was a significant positive correlation between NEK2 mRNA and CircPITX1 mRNA expression in cervical cancer tissue ($r=0.618$, $P < 0.05$). The expressions of NEK2 mRNA (2.54 ± 0.23) and circPITX1 mRNA (2.33 ± 0.19) in patients with FIGO stage IIIA ~ IIIB cervical cancer were significantly higher than those in IIB stage patients (1.17 ± 0.40) and CircPITX1 mRNA (1.21 ± 0.30), and the differences were statistical significance ($t=19.730$, 20.710 , all $P < 0.05$). The NEK2 mRNA (2.39 ± 0.38) and circPITX1 mRNA (2.50 ± 0.21) in the radiotherapy-resistant cervical cancer group were significantly higher than those in the radiosensitive group (1.83 ± 0.28 , 0.97 ± 0.28), and the differences were statistically significant ($t=7.109$, 28.149 , all $P < 0.05$). The 3-year overall survival rate of NEK2 mRNA [(48.78% (20/41))], circPITX1 mRNA [54.76% (23/42)] high expression group was significantly lower than that of NEK2 mRNA [90.24% (37/41)], and CircPITX1 mRNA low expression group [85.00% (34/40)], and the differences were statistically significant ($\chi^2=5.118$, 4.890 , all $P < 0.05$). The mean survival time of NEK2 mRNA [26.10 ± 3.62 months] and circPITX1 mRNA [25.87 ± 3.81 months] high expression group was significantly shorter than that of NEK2 mRNA [33.25 ± 4.09 months] and the circPITX1 mRNA low expression group [32.02 ± 4.02 months], and the differences were statistically significant ($t=8.382$, 7.140 , all $P < 0.05$). FIGO stage IIIA ~ IIIB (HR=3.754, 95%CI: 1.621 ~ 8.694), high expression of NEK2 mRNA (HR=2.874, 95%CI: 2.504 ~ 3.497), high expression of circPITX1 mRNA (HR=2.679, 95%CI: 2.485 ~ 3.184) were independent risk factors for poor prognosis of cervical cancer patients (all $P < 0.05$). **Conclusion** NEK2 and circPITX1 were up-regulated in cervical cancer tissues and could be used as markers for radiosensitivity and prognosis prediction.

Keywords: cervical cancer; centrosome-associated kinase 2; circRNA paired homology domain gene 1

宫颈癌(cervical cancer)是女性常见的恶性肿瘤,全球每年新发病例达56万例,严重威胁女性健康^[1]。根治性放疗是局部晚期宫颈癌的主要治疗方式,但由于肿瘤异质性,不同患者对放疗敏感度及预后差异较大^[2]。中心体相关激酶2(never in mitosis gene A-related kinase 2, NEK2)是参与有丝分裂调节的关键因子。研究表明,NEK2在胰腺癌、恶性胶质瘤等^[3-4]恶性肿瘤中异常高表达,其能激活ATP结合盒转运蛋白(ATP-binding cassette transporter),促进肿瘤细胞过度增殖及放疗抵抗性的形成,导致患者不良预后。环状RNA配对同源结构域基因1(circRNA paired homology domain gene 1, circPITX1)是具有共价闭环结构的内源性RNA分子,位于人类5号染色体。研究发现, circPITX1能够通过促进NEK2的表达,促进肿瘤细胞增殖及转移,同时参与肿瘤放疗抵抗的形成^[4-6]。本研究通过检测宫颈癌组织中NEK2, circPITX1的表达,分析两者与宫颈癌放疗敏感度及预后的相关性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2017年1月~2018年1月四川大学华西三亚医院收治的82例宫颈癌患者为研究对象。年龄27~75岁,平均年龄 59.17 ± 7.04 岁;高分化35例,中低分化47例;肿瘤直径 ≤ 4 cm者40例, > 4 cm者42例;宫颈癌国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstet-

rics, FIGO)分期ⅡB期30例,ⅢA~ⅢB期52例。本研究经本院伦理委员会审核批准通过。

纳入标准:①经宫颈组织活检病理检查明确诊断为宫颈鳞癌;②首次治疗为单纯根治性放疗并完成全程放疗;③初次诊治,既往无肿瘤治疗史;④患者无放疗相关禁忌证;⑤患者及其家属对本研究知情同意并签字。排除标准:①治疗过程中发生严重并发症;②并发其他恶性肿瘤;③并发严重精神疾病患者,不能配合诊治和随访。

1.2 仪器与试剂 引物序列由上海生工设计合成;ABI7500荧光定量PCR(美国ABI公司);CR Master MIX试剂盒(日本Takara公司);SP免疫组化试剂盒(北京中杉金桥公司);NEK2兔单克隆抗体(Abcam公司)。

1.3 方法

1.3.1 NEK2蛋白表达:测定所有宫颈癌组织标本均以甲醛固定,石蜡包埋、切片、烤片、脱蜡、染色。200倍镜下观察染色强度和范围,将染色强度(0:无染色,1:染色浅,2:染色深)与染色面积(0: $\leq 25\%$, 1: $25\% \sim 50\%$, 2: $\geq 50\%$)相乘得到染色评分。评分 < 2 分为阴性, ≥ 2 分为阳性^[7],并计算癌及癌旁组织中NEK2表达的阳性率。

1.3.2 circPITX1 mRNA, NEK2 mRNA表达检测:取癌及癌旁组织,采用Trizol法提取组织中总RNA,微量分光光度仪检测总RNA纯度 $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ 比值

在 1.8 ~ 2.0。将总 RNA 反转录合成 cDNA, 反转录程序: 37℃ 15min, 85℃ 5s。反转录体系 10μl: 5×PrimerScript Buffer 2 μl, PrimerScript RT Enzyme Mix 0.5 μl, Random 6 mers (100 μm) 0.5 μl, OligoDT 0.5μl, 总 RNA 3μl, 双蒸水 3.5μl。以 cDNA 为模板, 进行 qRT-PCR 反应, 检测 CircPITX1, NEK2 mRNA 的表达水平。反应体系: 5×SYBR Green Mix 10μl, 上下游引物各 1μl, cDNA 模板 1μl, ddH₂O 3μl。反应程序: 95℃ 变性 10s, 65℃ 退火 20s, 72℃ 延伸 15s, 40 个循环。引物: circPITX1: 正义 5'-GCGTCCCTGTGTATGT TGGA-3', 反义 5'-GTCTGTCTTAAAGCGACAGC G-3'; 内参 U6: 正义 5'-GCTTCGGCAGCACATATA CTAAAAT-3', 反义 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTG TCAT-3'。NEK2: 正义 5'-TGCTTCGTGAAGTGAAC CATCC-3', 反义 5'-CCAGAGTCAACTGAGTCATCA CT-3'; 内参 GAPDH: 正义 5'-TCCTGCACCACCA ACTGTTT-3, 反义 5'-GGATGATGTTCTGGTGGGC A-3'。反应结束后, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 circPITX1mRNA, NEK2 mRNA 相对表达量。

计算宫颈癌组织中 circPITX1mRNA, NEK2 mRNA 相对表达量的均值分别为 1.92, 2.04, 以此为界, 分高表达组和低表达组, 并进行统计分析。

1.3.3 放射方法及敏感度评估: 所有研究对象均按计划完成单纯根治性放疗。外照射采用直线加速器 6/10MV X 射线, 盆腔大野前后两野对穿照射, 照射野大小在 20cm×20cm, 每次 2Gy, 每天 1 次, 每周 5 次, 盆腔外照射总剂量 30Gy 后, 照射野中间给予 4cm 宽铅块遮挡, 以保护部分膀胱及直肠, 同时行后装腔内放疗, 每次 6Gy, 每周 1 次, 后装剂量 36 ~ 42Gy/6 ~ 7 次, 后装治疗当天不行外照射。所有研究对象在放疗前和放疗治疗后三周行宫颈视诊、三合诊及 B 超、CT 等影像学检查, 按照 WHO 实体瘤疗效评价标准 (response evaluation criteria in solid tumours, RECIST), 对病灶退缩情况评价放疗疗效, 分为完全缓解 (病灶完全消失, 至少持续四周)、部分缓解 (病灶最大径及最大垂直径乘积减少 50% 以上, 至少持续四周)、稳定 (病灶最大径及最大垂直径乘积减少 50% 以下或增大 25% 以下) 及进展加重 (病灶最大径及最大垂直径乘积增大 25% 以上, 或出现新病灶)。

对完全缓解的患者分为放疗敏感组 ($n=31$), 部分缓解、稳定及进展加重的患者为放疗抵抗组 ($n=51$)。

1.3.4 随访: 所有研究对象自确诊之日起开始进行随访, 连续随访 36 个月, 每三月随访一次, 随访方式为门诊、电话随访, 随访内容为患者生存情况等。随访截止日期为 2021 年 1 月, 随访终点为患者死

亡或随访时间结束。将随访三年内死亡定义为预后不良。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 计数资料用 $n(\%)$ 表示, 采用卡方 (χ^2) 检验。计量资料以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验。相关性分析采用 Pearson 相关分析法。Kaplan-Meier 及 Log-rank 检验进行生存分析。单因素及多因素 COX 回归分析宫颈癌患者预后不良的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NEK2, circPITX1mRNA 表达情况 见图 1。宫颈癌组织中 NEK2 蛋白表达阳性率 [85.37% (70/82)] 高于癌旁组织 [12.20% (10/82)], 差异有统计学意义 ($\chi^2=87.857$, $P < 0.05$)。

宫颈癌组织中 circPITX1mRNA (1.92 ± 0.24), NEK2 mRNA 表达 (2.04 ± 0.31) 高于癌旁组织 (0.81 ± 0.20 , 0.93 ± 0.27) 表达, 差异有统计学意义 ($t=32.174$, 24.450 , 均 $P < 0.05$)。宫颈癌组织中 NEK2 mRNA 与 circPITX1mRNA 表达呈显著正相关 ($r=0.618$, $P=0.000$)。

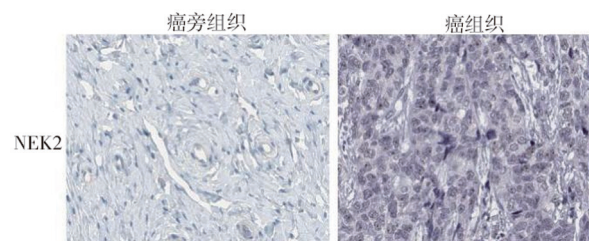


图 1 宫颈癌组织中 NEK2 蛋白表达 (200 ×)

2.2 宫颈癌中 NEK2 mRNA, circPITX1mRNA 表达与临床病理特征的关系 见表 1。FIGO 分期 III A ~ III B 期宫颈癌患者 NEK2 mRNA, circPITX1mRNA 表达明显高于 IIB 期患者 (均 $P < 0.05$)。不同年龄、组织学分期、肿瘤大小宫颈癌患者 NEK2 mRNA, circPITX1mRNA 表达无明显差异 (均 $P > 0.05$)。

2.3 宫颈癌中 NEK2mRNA 和 circPITX1mRNA 与放疗敏感度的关系 宫颈癌放疗抵抗组 NEK2 mRNA (2.39 ± 0.38), circPITX1mRNA (2.50 ± 0.21) 均显著高于放疗敏感组 (1.83 ± 0.28 , 0.97 ± 0.28), 差异有统计学意义 ($t=7.109$, 28.149 , 均 $P < 0.05$)。

2.4 宫颈癌中 NEK2mRNA, CircPITX1mRNA 表达与生存预后的关系 见表 2, 图 2。NEK2 mRNA, circPITX1mRNA 高表达组三年总生存率及平均生存时间均低于 NEK2 mRNA, circPITX1mRNA 低表达组 (均 $P < 0.05$)。NEK2 mRNA, circPITX1mRNA 高表达组的三年总生存率显著低于 NEK2 mRNA, circPITX1mRNA 低表达组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。NEK2 mRNA, circPITX1mRNA 高

表达组的平均生存时间显著短于 NEK2 mRNA, ($P < 0.05$)。
circPITX1mRNA 低表达组, 差异有统计学意义 (均

表 1 宫颈癌中 NEK2 mRNA, CircPITX1mRNA 表达与临床病理特征的关系

| 项 目 | | NEK2 mRNA | | | circPITX1mRNA | | |
|-----------|-----------------|-------------|------------|------------|---------------|------------|------------|
| | | 相对表达量 | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 | 相对表达量 | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
| 年龄 (岁) | > 60 | 1.96 ± 0.34 | 1.885 | 0.063 | 1.86 ± 0.28 | 1.803 | 0.075 |
| | ≤ 60 | 2.09 ± 0.28 | | | 1.96 ± 0.22 | | |
| 分化程度 | 高分化 | 1.99 ± 0.33 | 1.310 | 0.194 | 1.87 ± 0.31 | 1.510 | 0.135 |
| | 中低分化 | 2.08 ± 0.29 | | | 1.96 ± 0.23 | | |
| 肿瘤大小 (cm) | ≤ 4 | 1.98 ± 0.35 | 1.670 | 0.099 | 1.88 ± 0.22 | 1.500 | 0.137 |
| | > 4 | 2.10 ± 0.30 | | | 1.96 ± 0.26 | | |
| 组织学分期 | IIB 期 | 1.17 ± 0.40 | 19.730 | 0.000 | 1.21 ± 0.30 | 20.710 | 0.000 |
| | III A ~ III B 期 | 2.54 ± 0.23 | | | 2.33 ± 0.19 | | |

表 2 宫颈癌中 NEK2 mRNA, circPITX1mRNA 表达与生存预后的关系

| 组 别 | | 3 年总生存率 [% (n)] | Log Rank χ^2 | <i>P</i> | 平均生存时间 (月) | <i>t</i> | <i>P</i> |
|---------------|------|-----------------|-------------------|----------|--------------|----------|----------|
| NEK2 mRNA | 高表达组 | 48.78 (20/41) | 5.118 | 0.000 | 26.10 ± 3.62 | 8.382 | 0.000 |
| | 低表达组 | 90.24 (37/41) | | | 33.25 ± 4.09 | | |
| CircPITX1mRNA | 高表达组 | 54.76 (23/42) | 4.890 | 0.011 | 25.87 ± 3.81 | 7.140 | 0.000 |
| | 低表达组 | 85.00 (34/40) | | | 32.02 ± 4.02 | | |

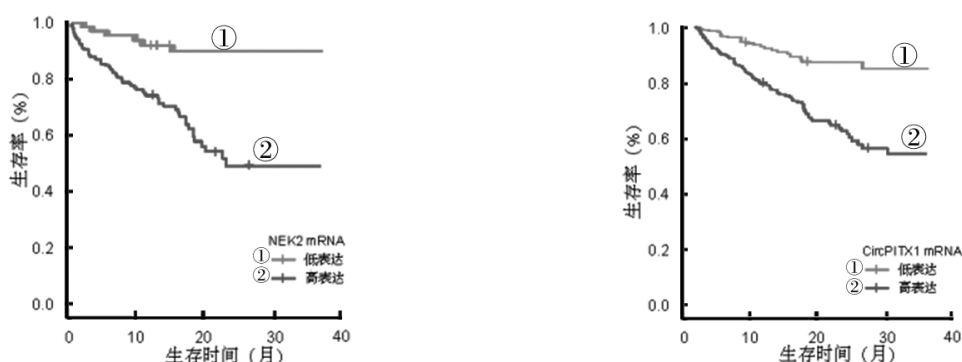


图 2 NEK2mRNA, circPITX1mRNA 表达对宫颈癌患者生存预后的影响

2.5 COX 回归分析宫颈癌患者预后不良的危险因素 和 circPITX1mRNA 的高表达是影响宫颈癌患者预后不良的独立危险因素 (均 $P < 0.05$)。

表 3 COX 回归分析宫颈癌患者预后不良的危险因素

| 类 别 | 赋值 | COX 单因素 | | COX 多因素 | |
|---------------|--------------------------|-----------------------|----------|-----------------------|----------|
| | | HR (95%CI) | <i>P</i> | HR (95%CI) | <i>P</i> |
| 年龄 | < 60 岁 =0, ≥ 60 岁 =1 | 1.189 (0.869 ~ 1.450) | 0.345 | -- | -- |
| 组织学分级 | 高分化 =0, 中低分化 =1 | 1.398 (1.120 ~ 1.729) | 0.091 | -- | -- |
| 肿瘤大小 | ≤ 4cm=0, > 4cm=1 | 1.968 (0.951 ~ 4.073) | 0.068 | -- | -- |
| FIGO 分期 | IIB =0, III A ~ III B =1 | 2.978 (1.652 ~ 5.368) | 0.000 | 3.754 (1.621 ~ 8.694) | 0.002 |
| NEK2 mRNA | 低表达 =0, 高表达 =1 | 2.978 (2.304 ~ 3.510) | 0.007 | 2.874 (2.504 ~ 3.497) | 0.010 |
| circPITX1mRNA | 低表达 =0, 高表达 =1 | 2.792 (2.360 ~ 3.250) | 0.012 | 2.679 (2.485 ~ 3.184) | 0.025 |

3 讨论

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤。宫颈癌早期症状不典型,部分患者发现时已为中晚期,远期生存预后较差,五年生存率仅约40%^[8]。目前宫颈癌的治疗包括手术、放化疗等,早期宫颈癌患者以手术治疗为主,对于ⅡB期以上的宫颈癌患者主要采用放疗治疗。但临床治疗中发现,相同分期的不同宫颈癌患者对放疗敏感度存在一定的差异,部分患者对放疗不敏感,继而出现肿瘤的复发和转移,导致患者不良生存预后。因此,寻找能够预测放疗敏感度及预后的指标,有助于宫颈癌的个体化治疗,改善患者的临床预后。

中心体相关激酶2(NEK2)基因位于人类1q32.3,编码蛋白是一种参与有丝分裂调节的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。近年来发现,NEK2在人类多种肿瘤中表达上调,具有促进肿瘤细胞的侵袭、转移的生物学功能^[3-4,9]。本研究中,宫颈癌组织中NEK2表达显著升高,且与宫颈癌FIGO分期有关,提示NEK2的表达升高可能参与宫颈癌的肿瘤发生发展过程。研究表明,宫颈癌细胞NEK2的表达升高与miR-195表达下调有关,miR-195的表达下调导致NEK2 mRNA的稳定性增加,促进NEK2的表达^[10]。此外,宫颈癌细胞中NEK2表达升高能够激活蛋白激酶B的表达,通过激活缺氧诱导因子1诱导下游血管内皮生长因子等基因表达,促进肿瘤细胞的增殖及侵袭^[10-11]。本研究中,放疗抵抗组NEK2 mRNA表达水平较高,提示宫颈癌组织中NEK2的表达与放疗抵抗的形成有关。既往研究发现,宫颈癌肿瘤细胞过表达NEK2后能够显著激活Wnt/ β -catenin信号通路,该通路中的Wnt1能够通过激活DNA损伤修复相关基因如DNA连接酶4的表达,增强肿瘤细胞对放疗治疗的抵抗,而在体外细胞实验中敲低NEK2的表达后,DNA损伤修复基因表达降低,重新恢复肿瘤细胞对放疗的敏感度^[12-13]。因此,基于检测宫颈癌组织中NEK2表达,有助于判断患者的放疗治疗反应,NEK2可能是新的反映宫颈癌放疗敏感性的生物学指标。本研究通过生存分析发现,NEK2 mRNA高表达患者的生存预后较差,是宫颈癌患者预后不良的独立危险因素,表明NEK2是新的宫颈癌预后的肿瘤标志物。临床上可根据癌组织中NEK2的表达,对患者生存预后及放疗敏感性进行预测,对高危患者选择个体化的治疗方案,以改善患者临床预后。

circRNA是一类在真核生物中含量丰富的新型非编码RNA。研究发现, circRNA的异常表达不仅影响肿瘤的发生发展,还与放化疗治疗的敏感性密切相关,是新的肿瘤放疗敏感性及预后相关生

物标志物^[14-16]。circPITX1是近年来新发现的环状RNA,其作为内源竞争性RNA调节丝裂原活化的蛋白激酶途径,促进肿瘤细胞的恶性增殖及转移^[17]。本研究发现,宫颈癌中circPITX1的表达升高,并与FIGO分期有关。circPITX1表达升高的机制受N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine,m6A)修饰调节。研究发现,宫颈癌中m6A修饰通过促进circRNA的剪接及降解过程,导致circRNA表达上调^[18-19]。有研究报道,circPITX1可以通过分子海绵的作用抑制miR-518a-5p的功能,促进白细胞介素17受体D的表达,促进肿瘤细胞的生长、迁移和侵袭,并抑制肿瘤细胞凋亡^[20]。本研究中放疗抵抗组患者癌组织中circPITX1 mRNA表达较高,提示circPITX1可能参与放疗抵抗的形成。分析其原因,circPITX1可通过促进肿瘤细胞干性形成,增强肿瘤细胞的放疗抵抗性。既往研究表明,宫颈癌细胞干性基因如性别决定区Y框2表达上调能够通过促进细胞自噬,诱导放疗抵抗的发生^[21],circPITX1能够通过激活磷脂酰肌醇3激酶/AKT信号通路,促进肿瘤细胞中干性标志性别决定区Y框2的表达,进而增强对放疗抵抗的形成^[6,22]。因此,通过检测宫颈癌组织中circPITX1的表达有助于对患者放疗敏感性进行评估,对于放疗治疗不敏感的宫颈癌患者予以积极化疗等其他综合治疗,改善患者临床预后。本研究通过生存分析发现circPITX1 mRNA高表达的宫颈癌患者生存预后较差,是宫颈癌患者预后不良的独立危险因素,提示circPITX1是一种新的宫颈癌预后相关标志物,值得临床关注。

本研究中,宫颈癌组织中NEK2 mRNA与CircPITX1 mRNA表达呈显著正相关。研究表明,miR-329-3p通过靶向结合NEK2抑制肿瘤细胞的糖酵解,增强放疗的敏感性,而CircPITX1能够作为分子海绵,结合并抑制miR-329-3p的作用,促进肿瘤细胞的肿瘤进展,诱导放疗抵抗的形成^[4]。因此,宫颈癌中两者之间的相互作用共同参与宫颈癌的肿瘤进展。

综上所述,宫颈癌中NEK2, circPITX1 mRNA表达升高,两者表达升高与放疗敏感性及生存预后相关,是宫颈癌患者不良预后的独立危险因素。临床医生可根据宫颈癌组织中两者的表达情况,对宫颈癌患者的放疗敏感性及预后进行预测,指导临床诊治及随访。但本研究样本量有限,未对两者之间的相互作用进行机制研究,有待今后深入研究。

参考文献:

- [1] SUNDSTRÖM K, ELFSTRÖM K M. Advances in cervical cancer prevention: efficacy, effectiveness, elimination[J]. PLoS Medicine, 2020, 17(1): e1003035.

- [2] 徐晓锋, 王纯, 卢国丰, 等. 宫颈癌患者 Kruppel 样因子 6, p21 蛋白表达水平与病理特征及化疗敏感性的相关性分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(6): 12-15.
XU Xiaofeng, WANG Chun, LU Guofeng, et al. Correlation analysis of KLF6 and p21 protein expression levels and pathological features and chemotherapy sensitivity in patients with cervical cancer [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(6): 12-15.
- [3] ZHANG Xiaozhen, HUANG Xing, XU Jian, et al. NEK2 inhibition triggers anti-pancreatic cancer immunity by targeting PD-L1 [J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 4536.
- [4] GUAN Yongchang, CAO Zhi, DU Jinghua, et al. Circular RNA circPITX1 knockdown inhibits glycolysis to enhance radiosensitivity of glioma cells by miR-329-3p/NEK2 axis [J]. Cancer Cell International, 2020, 20: 80.
- [5] CHAICHIAN S, SHAFABAKHSH R, MIRHASHEMI S M, et al. Circular RNAs: A novel biomarker for cervical cancer [J]. Journal of Cellular Physiology, 2020, 235(2): 718-724.
- [6] LI Wei, YANG Pan, ZHONG Chucheng, et al. The circ-PITX1 promotes non-small cell lung cancer development via the miR-30e-5p/ITGA6 axis [J]. Cell Cycle (Georgetown, Tex.), 2022, 21(3): 304-321.
- [7] 赵挺祺, 李时荣, 王静媛, 等. 非小细胞肺癌中 LASS2/TMSG1 的表达及其临床意义 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36(3): 323-325.
ZHAO Tingqi, LI Shirong, WANG Jingyuan, et al. Expression of LASS2/TMSG1 in non-small cell lung cancer and its clinical significance [J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2020, 36(3): 323-325.
- [8] GUPTA S, MAHESHWARI A, PARAB P, et al. Neoadjuvant chemotherapy followed by radical surgery versus concomitant chemotherapy and radiotherapy in patients with stage IB2, IIA, or IIB squamous cervical cancer: A randomized controlled trial [J]. Journal of Clinical Oncology, 2018, 36(16): 1548-1555.
- [9] XU Tie, ZENG Yulan, SHI Linli, et al. Targeting NEK2 impairs oncogenesis and radioresistance via inhibiting the Wnt1/ β -catenin signaling pathway in cervical cancer [J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2020, 39(1): 183.
- [10] JI Yuanyuan, MENG Man, MIAO Ye. LncRNA SNHG1 promotes progression of cervical cancer through miR-195/NEK2 axis [J]. Cancer Management and Research, 2020, 12(4): 11423-11433.
- [11] WAN Hao, XU Lin, ZHANG Huangbin, et al. High expression of NEK2 promotes gastric cancer progression via activating AKT signaling [J]. Journal of Physiology and Biochemistry, 2021, 77(1): 25-34.
- [12] YANG Yu, ZHOU Huangdi, ZHANG Ge, et al. Targeting the canonical Wnt/ β -catenin pathway in cancer radioresistance: Updates on the molecular mechanisms [J]. Journal of Cancer Research and Therapeutics, 2019, 15(2): 272-277.
- [13] JUN S, JUNG Y S, SUH H N, et al. LIG4 mediates Wnt signalling-induced radioresistance [J]. Nature Communications, 2016, 7(5): 10994.
- [14] 张振, 潘晴, 刘旭, 等. circRNA 与肿瘤发生的研究进展 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(2): 157-159, 164.
ZHANG Zhen, PAN Qing, LIU Xu, et al. Research progress of the relationship between circular RNA and tumorigenesis [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(2): 157-159, 164.
- [15] 申倩倩, 王焱, 王晓, 等. 沉默环状 RNA hsa_circ_0011021 表达对宫颈癌细胞增殖迁移及侵袭的影响 [J]. 西部医学, 2019, 31(9): 1339-1343.
SHEN Qianqian, WANG Yan, WANG Xiao, et al. Effect of knockdown of circular RNA hsa_circ_011021 on the proliferation, migration and invasion of cervical cancer cells [J]. Medical Journal of West China, 2019, 31(9): 1339-1343.
- [16] CUI Chaochu, YANG Jianbo, LI Xiao, et al. Functions and mechanisms of circular RNAs in cancer radiotherapy and chemotherapy resistance [J]. Molecular Cancer, 2020, 19(1): 58.
- [17] LÜ Xinwen, WANG Meihua, QIANG Jingli, et al. Circular RNA circ-PITX1 promotes the progression of glioblastoma by acting as a competing endogenous RNA to regulate miR-379-5p/MAP3K2 axis [J]. European Journal of Pharmacology, 2019, 863(3): 172643.
- [18] ZHANG Lele, HOU Chaofeng, CHEN Chen, et al. The role of N6-methyladenosine (m6A) modification in the regulation of circRNAs [J]. Molecular Cancer, 2020, 19(1): 105.
- [19] JI Fei, LU Yang, CHEN Shaoyun, et al. IGF2BP2-modified circular RNA circARHGAP12 promotes cervical cancer progression by interacting Ma/FOXMI manner [J]. Cell Death Discovery, 2021, 7(1): 215.
- [20] ZHAN Lan, MU Zhuang, YANG Mingchun, et al. Elevation of circ-PITX1 upregulates interleukin 17 receptor D expression via sponging miR-518a-5p and facilitates cell progression in glioma [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 120(10): 16495-16502.
- [21] HUANG Chunxian, LU Huaiwu, LI Jing, et al. SOX2 regulates radioresistance in cervical cancer via the hedgehog signaling pathway [J]. Gynecologic Oncology, 2018, 151(3): 533-541.
- [22] CHE Yilin, LI Yizhuo, ZHENG Fufu, et al. TRIP4 promotes tumor growth and metastasis and regulates radiosensitivity of cervical cancer by activating MAPK, PI3K/AKT, and hTERT signaling [J]. Cancer Letters, 2019, 452: 1-13.

收稿日期: 2022-04-24

修回日期: 2022-07-02