

· 论 著 ·

STING、ZEB1 在老年宫颈癌患者中的表达及与 HPV 感染的相关性*

张林光, 董 涛, 印海娟, 刘亚丽[△]

秦皇岛市第一医院体检中心, 河北秦皇岛 066000

摘 要:目的 探讨干扰素基因刺激因子(STING)、E 盒锌指结合蛋白 1(ZEB1)在老年宫颈癌(CCA)患者中的表达变化及与人乳头瘤病毒(HPV)感染的相关性。方法 选取 2021 年 1 月至 2022 年 9 月于该院行病理检验的 CCA 患者 62 例为 CCA 组, 宫颈上皮内瘤变(CIN)患者 65 例为 CIN 组, 正常宫颈者 63 例为对照组, 观察记录各组患者宫颈 STING、ZEB1 阳性表达率及高危 HPV 感染情况, 并分析 STING、ZEB1 水平与 CCA 临床病理特征及高危 HPV 感染情况的相关性。结果 CCA 组 STING、ZEB1 阳性表达率高于 CIN 组及对照组, CIN 组 ZEB1 水平高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。CCA 组 HPV16、18 检出率高于 CIN 组及对照组, CIN 组 HPV16、18 检出率高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。CCA 患者浸润深度、国际妇产科联盟(FIGO)分期与 STING、ZEB1 阳性表达率有关($P < 0.05$), 肿瘤分化程度、淋巴结转移与 STING 阳性表达率有关($P < 0.05$), CCA 患者 STING、ZEB1 阳性表达率与 HPV16、18 感染率呈正相关($P < 0.05$)。结论 CCA 患者 STING、ZEB1 阳性表达较高其表达量与 FIGO 分期、宫颈癌浸润深度、HPV16、18 感染有关。STING、ZEB1 可能与 HPV16、18 共同作用于 CCA 的发生、发展。

关键词: 宫颈癌; 干扰素基因刺激因子; E 盒锌指结合蛋白 1; 人乳头瘤病毒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.014

中图法分类号:R446.1;R737.33

文章编号:1673-4130(2024)17-2117-04

文献标志码:A

Changes in STING and ZEB1 protein levels in elderly cervical cancer patients and their correlation with HPV infection*

ZHANG Linguang, DONG Tao, YIN Haijuan, LIU Yali[△]

Physical Examination Center, Qinhuangdao First Hospital, Qinhuangdao, Hebei 066000, China

Abstract: Objective To investigate the expression changes of interferon gene stimulating factor (STING) and E-box zinc finger binding protein 1 (ZEB1) in elderly cervical cancer (CCA) patients and their correlation with human papillomavirus (HPV) infection. **Methods** Sixty-two patients with CCA who underwent pathological examination in this hospital from January 2021 to September 2022 were selected as the CCA group, 65 patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) as the CIN group, and 63 patients with normal cervix as the control group. The positive expression rates of cervical STING and ZEB1 and high-risk HPV infection in each group were observed and recorded. The correlation of STING and ZEB1 levels with clinicopathological features of CCA and high-risk HPV infection was analyzed. **Results** The positive expression rates of STING and ZEB1 in CCA group were higher than those in CIN group and control group, and the level of ZEB1 in CIN group was higher than that in control group, with statistical significance ($P < 0.05$). The detection rates of HPV16 and 18 in CCA group were higher than those in CIN group and control group, and the detection rates of HPV16 and 18 in CIN group were higher than those in control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The infiltration depth and FIGO stage of CCA patients were correlated with the positive expression rates of STING and ZEB1, the degree of tumor differentiation and lymph node metastasis were correlated with the positive expression rates of STING ($P < 0.05$), and the positive expression rates of STING and ZEB1 in CCA patients were positively correlated with the infection rates of HPV16 and 18 ($P < 0.05$). **Conclusion** The positive expression levels of STING and ZEB1 proteins in the CCA group are higher than those in the control group and CIN group, and their expression levels were related to FIGO staging and depth of cervical cancer infiltration. STING and ZEB1 proteins are positively correlated with HPV16 and 18 infection, and STING and ZEB1 proteins may jointly act with HPV16 and 18 on the occurrence and development of

* 基金项目: 秦皇岛市科学技术研究与发展计划(202301A232)。

作者简介: 张林光, 女, 主管技师, 主要从事微生物与肿瘤学方向研究。 [△] 通信作者, E-mail: 475516459@qq.com。

CCA.

Key words: cervical cancer; interferon gene stimulating factor; E-box zinc finger binding protein 1; human papillomavirus

宫颈癌(CCA)是由人乳头状瘤病毒(HPV)感染引起的一种恶性肿瘤,CCA 最主要的危险因素是高危型 HPV 感染,持续感染 HPV16 和 HPV18 等高危型 HPV 可能引起细胞内的基因突变和异常增殖,最终导致 CCA^[1]。干扰素基因刺激因子(STING)是一种在免疫应答中起重要作用的蛋白质,STING 通过识别细胞内的病原体 DNA 并激活免疫反应,对于抗病毒和抗肿瘤的免疫监视起关键作用,激活 STING 通路可能增强 CCA 细胞的凋亡,抑制肿瘤生长和扩散^[2]。E 盒锌指结合蛋白 1(ZEB1)是一种转录因子,ZEB1 通过调控多个信号通路和基因的表达,促进肿瘤细胞的侵袭、转移和耐药性,在 CCA 中,ZEB1 的表达增加与肿瘤的恶性程度和不良预后相关^[3-4]。本研究通过检测 STING 及 ZEB1 在宫颈癌前病变及 CCA 中的表达,分析 STING 及 ZEB1 与高危型 HPV 的相关性,进一步探究 STING 及 ZEB1 对与 CCA 发生发展的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 1 月至 2022 年 9 月于本院行病理检查的 62 例老年 CCA 患者作为 CCA 组,宫颈上皮内瘤变(CIN)老年患者 65 例作为 CIN 组,正常宫颈者 63 例作为对照组。入选患者年龄均在 60 岁以上,所有患者均经宫颈活检病理检查确诊。CCA 组纳入标准:(1)病理学检查首次确诊为 CCA;(2)行广泛全子宫切除+盆腔淋巴结清除术;(3)入组前 1 个月接受放化疗或其他抗肿瘤治疗;排除标准:(1)伴有其他恶性肿瘤或复发性 CCA;(2)存在药物滥用史。CIN 组纳入标准:初次于本院行宫颈锥切术;排除标准:(1)存在认知功能障碍;(2)哺乳期或妊娠期女性。对照组为确诊子宫肌瘤于本院行全子宫切除术,术后病理学检验未见宫颈病变者。所有受试者均同意参与本研究,并签署知情同意书。本研究经本院伦理委员会批准。CCA 组年龄 60~72 岁,平均(64.13±6.37)岁;病理分级:I 级 28 例,II 级 19 例,III 级 15 例;合并淋巴结转移者 20 例;鳞癌 47 例,腺癌 15 例。CIN 组年龄 60~73 岁,平均(63.16±6.82)岁;CIN 分级:I 级 29 例,II 级 19 例,III 级 17 例。对照组年龄 61~73 岁,平均(63.53±6.49)岁。3 组患者年龄比较,差异无统计学意义($F=0.735$, $P=0.448$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法检测 STING、ZEB1 (1)检测方法:病理组织采用福尔马林固定,经石蜡包埋后,以 4 μm 的厚度进行连续切片,常规切片后脱蜡,行抗

原修复,滴加过氧化氢、一抗,将 STING 以 1:1 000 稀释,ZEB1 以 1:150 稀释,置于 4℃下孵育 15 h,使用磷酸缓冲液(PBS)冲洗,连续冲洗 3 次,每次 3 min,随后滴加二抗,于 37℃下孵育 30 min,DAB 显色后复染反蓝,通过逆梯度乙醇脱水、二甲苯脱水 5 min,置于 60℃下烤箱脱水,采用中性树胶封片。(2)结果判定:蛋白阳性染色为阳性对照,PBS 代替一抗为阴性对照。光学显微镜下(日本 Olympus 公司)观察切片,细胞核周围出现棕黄色颗粒视为 ZEB1 阳性表达,细胞质出现棕黄色颗粒视为 STING 阳性表达。兔抗人 STING 单克隆抗体及鼠抗人 ZEB1 单克隆抗体浓缩液均购自英国 Abcam 公司,免疫通用型检测试剂盒 PV6000 购自北京中山金桥公司。

1.2.2 原位杂交法检测高危型 HPV 以 HPV16、18 阳性样本为阳性对照,以无菌水代替 DNA 作为阴性对照。常规切片脱蜡后,于 37℃下采用蛋白酶 K 消化 10~15 min,病毒 DNA 片段变性 2 min,预杂交 37℃、2 h,滴加含有地高辛标记的 DNA 探针试剂 20 μL。HPV16、18 核苷酸探针序列由北京中杉生物公司合成。盖玻片盖住组织块,37℃恒温干燥箱下杂交过夜,滴加兔抗鼠地高辛 60 min、生物素化羊抗兔 IgG 30 min、SABC 30 min,DAB 显色。

1.3 统计学处理 使用 SPSS20.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行 t 检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较行 χ^2 检验。相关性分析采用 Spearman 相关分析法。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组 STING 及 ZEB1 表达情况比较 CCA 组 STING、ZEB1 阳性率高于 CIN 组及对照组,CIN 组 ZEB1 阳性率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),CIN 组与对照组 STING 阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 3 组 STING 及 ZEB1 表达情况比较[n(%)]					
组别	n	STING		ZEB1	
		阴性	阳性	阴性	阳性
CCA 组	62	41(66.13)	21(33.87)	27(43.55)	35(56.45)
CIN 组	65	56(86.15)	9(13.85)	48(73.85)	17(26.15)
对照组	63	55(87.30)	8(12.70)	56(88.89)	7(11.11)

2.2 3 组 HPV16、18 检出情况比较 CCA 组 HPV16、18 检出阳性率高于 CIN 组及对照组,CIN 组 HPV16、18 检出阳性率高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.3 CCA 临床病理特征与 STING、ZEB1 阳性率的关系分析 CCA 患者国际妇产科联盟(FIGO)分期、浸润深度与 STING、ZEB1 阳性表达率有关($P<0.05$),淋巴结转移、肿瘤分化程度与 STING 阳性表达率有关($P<0.05$),见表 3。

2.4 CCA 患者 STING、ZEB1 阳性表达率与 HPV16、18 感染的相关性分析 CCA 患者 STING、ZEB1 阳性表达率与 HPV16、18 感染率呈正相关

($P<0.05$),见表 4。

表 2 3 组 HPV16、18 检出情况比较[n(%)]

组别	n	HPV16		HPV18	
		阴性	阳性	阴性	阳性
CCA 组	62	11(17.47)	51(82.26)	26(41.94)	36(58.06)
CIN 组	65	48(73.85)	17(26.15)	47(72.31)	18(27.69)
对照组	63	60(95.24)	3(4.76)	59(93.65)	4(6.35)

表 3 CCA 临床病理特征与 STING、ZEB1 阳性率的关系分析[n(%)]

项目	n	STING			ZEB1		
		STING 阳性(n=21)	χ^2	P	ZEB1 阳性(n=35)	χ^2	P
年龄(岁)			0.842	0.536		0.629	0.068
65~75	41	13(31.71)			28(68.29)		
>75	21	8(38.10)			7(57.14)		
组织学分型			0.993	0.412		0.173	0.072
鳞癌	47	16(34.04)			27(57.45)		
腺癌	15	5(33.33)			8(53.33)		
FIGO 分期			5.226	0.031		8.365	0.019
I A~II A 期	46	11(23.91)			21(45.65)		
≥II B 期	16	10(62.50)			14(87.50)		
病理分级			0.992	0.071		0.274	0.060
I~II 级	47	16(34.04)			26(55.32)		
Ⅲ级	15	5(33.33)			9(60.00)		
淋巴结转移			6.240	0.023		0.617	0.051
是	20	12(60.00)			11(55.00)		
否	42	9(21.43)			24(57.14)		
浸润深度			5.109	0.034		7.419	0.029
≥1/2 肌层	30	16(53.33)			22(73.33)		
<1/2 肌层	32	5(15.63)			13(40.63)		
分化程度			5.882	0.017		0.164	0.091
低分化	39	10(25.64)			21(53.85)		
中高分化	23	11(47.83)			14(60.67)		
肿瘤最大径(cm)			0.364	0.082		0.267	0.068
≤2	33	12(36.36)			19(57.58)		
>2	29	9(31.03)			16(55.17)		

表 4 CCA 患者 STING、ZEB1 阳性表达率与 HPV16、18 感染率的相关性分析

指标	HPV16		HPV18	
	r	P	r	P
STING	0.562	0.013	0.531	0.004
ZEB1	0.526	0.020	0.415	0.011

3 讨 论

CCA 主要危险因素包括高危 HPV 持续感染、多个性伴侣、早期性行为、吸烟、免疫抑制、遗传因素等^[5]。HPV 感染在宫颈癌的发生发展中起到关键作用,高危型 HPV 的 DNA 可以嵌入宫颈细胞中,干扰细胞生命周期和基因表达,导致宫颈细胞的异常增殖和转化,最终发展成宫颈癌^[6]。STING 是细胞的一

种重要信号传导蛋白,受到病毒感染后,宫颈细胞内的 STING 可以被激活,从而激发免疫细胞产生干扰素和其他抗病毒细胞因子,抵御病毒感染并诱导免疫反应^[7],并且 STING 的激活可以导致 CCA 细胞发生凋亡,抑制肿瘤细胞的生长和扩散^[8]。ZEB1 在肿瘤中具有转录调节作用,与肿瘤的侵袭和转移相关,ZEB1 的高表达可抑制肿瘤细胞上肿瘤抗原的表达,干扰免疫细胞的识别和攻击,从而降低宫颈癌患者的抗肿瘤免疫反应^[9]。有研究认为,STING 和 ZEB1 在肿瘤患者中的异常表达与病情严重程度和预后密切相关^[10]。本研究旨在揭示高危 HPV 感染与 STING、ZEB1 表达的关系,探讨宫颈癌的发病机制和预后评估指标,以为宫颈癌的治疗和预防提供新的方向和策略。

有研究报道,STING 作为感受胞质异常 DNA 和免疫预防之间的桥梁,其在不同类型的肿瘤中发挥着不同作用^[11]。张明珍等^[12]研究显示,STING 表达在乳腺癌组织中降低,并通过调节核因子- κ B 相关通路,抑制其增殖及凋亡。田谱等^[13]研究显示,STING 表达在宫颈癌患者中上升,并可通过促进吡嗪胺 2,3 双加氧酶及趋化因子 22 的释放,加剧肿瘤微环境的免疫失衡。本研究结果显示,CCA 组 STING、ZEB1 阳性表达率高于 CIN 组及对照组($P<0.05$),CIN 组 ZEB1 水平高于对照组($P<0.05$)。这提示在正常宫颈组织、CIN 组织、CCA 组织中 STING 的阳性表达率逐步提升,表明 STING 和 ZEB1 与 CCA 的发生和发展有关,可能与 STING 和 ZEB1 在 CCA 组织中异常表达情况及肿瘤细胞的侵袭和转移等相关。有研究认为,STING 是一种参与免疫反应的蛋白,其高表达可能与免疫应答和癌症免疫逃逸有关^[14],与本研究结果一致。HPV 感染可以导致细胞的遗传变异和癌症相关基因的异常表达,进而促进癌症的发展和进展,HPV16、18 亚型已被证实为 CCA 发生的高危因素^[15]。本研究中 CCA 组 HPV16、18 检出率高于 CIN 组及对照组,CIN 组 HPV16、18 检出率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),并且 CCA 患者 STING、ZEB1 阳性表达率与 HPV16、18 感染呈正相关($P<0.05$)。岳彩霞等^[16]研究认为,STING、ZEB1 及高危 HPV 感染共同作用于 CCA 发展,与本研究结果一致。由此推测,HPV16、18 感染可能增加 STING、ZEB1 阳性表达,共同调控 CCA 的发生、发展。

STOLNICU 等^[17]研究认为,CCA 作为一种恶性肿瘤,其浸润深度和 FIGO 分期是评估癌症扩散和临床分期的重要指标。本研究中 CCA 患者浸润深度、FIGO 分期与 STING、ZEB1 阳性表达率有关($P<0.05$),可能意味着 STING 和 ZEB1 异常表达与 CCA 的侵袭和恶性程度有关。

综上所述,CCA 患者 STING、ZEB1 阳性表达率高于 CIN 及宫颈正常者,并且 STING、ZEB1 表达与 FIGO 分期、宫颈癌浸润深度、HPV16、18 感染率有关,表明 STING、ZEB1 与 HPV16、18 可能共同参与 CCA 的发生、发展。但本研究为横断面研究,样本量较小且未对不同病变严重程度 CCA 患者 STING、ZEB1 表达情况分析,因此有待扩大样本量进一步深入研究。

参考文献

[1] 姜爱华,孙俊红,张芳芳,等. 宫颈癌患者 HPV 感染状况及外周血 Th1/Th2 细胞因子变化研究[J]. 实用癌症杂志,2021,36(4):555-558.
[2] 杨逸帆,杜万威,王霞,等. 干扰素基因刺激蛋白(STING)

通路对乙型肝炎肝硬化患者外周血单核细胞炎症因子分泌及吞噬功能的影响[J]. 临床肝胆病杂志,2023,39(9):2117-2121.
[3] 曾皓,杨鑫荣,龚化. 超声微泡介导的膀胱癌抑制因子 miR-490-5p 调控转录因子 ZEB1 对膀胱癌细胞的影响研究[J]. 中国医学装备,2023,20(1):146-152.
[4] WANG X, LIU M, CHU Y, et al. O-GlcNAcylation of ZEB1 facilitated mesenchymal pancreatic cancer cell ferroptosis[J]. Int J Biol Sci,2022,18(10):4135-4150.
[5] 陈粉合,邓祎,王恩栋,等. 宫颈癌患者 HPV 感染及 EGFR、Sox2 水平与预后的关系[J]. 实用癌症杂志,2020,35(10):1628-1630.
[6] 陈佳佳,陆晓媛,经莉. 宫颈癌组织中 CAC1 的表达变化及其与宫颈 HR-HPV 感染的关系[J]. 标记免疫分析与临床,2020,27(2):215-218.
[7] LI S, MIRLEKAR B, JOHNSON B M, et al. STING-induced regulatory B cells compromise NK function in cancer immunity[J]. Nature,2022,610(7931):373-380.
[8] GARLAND K M, SHEEHY T L, WILSON J T. Chemical and biomolecular strategies for STING pathway activation in cancer immunotherapy[J]. Chem Rev,2022,122(6):5977-6039.
[9] 袁祎,丁森君,李丽洁,等. 卵巢癌组织锌指 E 盒同源结合蛋白 1、微小 RNA-574-3p 的表达及其临床意义研究[J]. 中国性科学,2022,31(7):63-67.
[10] 李晖. 即刻早期基因 Cyr61 在宫颈癌中的表达及与高危型 HPV 感染的关系[J]. 北华大学学报(自然科学版),2020,21(4):466-470.
[11] 王燕,黄冬梅,董雪,等. HR-HPV 和 STING 在宫颈癌中的表达及临床价值[J]. 热带医学杂志,2020,20(2):208-211.
[12] 张明珍,胡知齐,罗兵,等. 乳腺癌组织中 STING 蛋白的表达及其临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志,2020,36(3):303-305.
[13] 田谱,罗煜立,王倩,等. STING 及相关免疫抑制因子在宫颈癌中的表达及相关性分析[J]. 免疫学杂志,2018,34(9):785-790.
[14] KWOK M M, VIRK J S, MICHAEL M, et al. Cervical nodal metastatic pituitary carcinoma: a case report[J]. Ear Nose Throat J,2022,101(2):110-113.
[15] 曾晶晶,孙丽,高毅,等. 血清 miR-501 和 miR-195 评估 HPV 感染宫颈癌患者预后的临床价值[J]. 中华医院感染学杂志,2022,32(9):1375-1379.
[16] 岳彩霞,梁文华,张秉虹,等. 宫颈癌患者人乳头瘤病毒感染情况及 STING、ZEB1 蛋白水平分析[J]. 中国微生态学杂志,2023,35(1):69-72.
[17] STOLNICU S, HOANG L, ZHOU Q, et al. Cervical adenocarcinoma: detailed analysis of morphology, immunohistochemical profile, and outcome in 59 cases [J]. Int J Gynecol Pathol,2023,42(3):259-269.