

• 论 著 •

miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 在宫颈癌患者癌组织中的表达水平及与预后关系*

李 婵¹, 吕卫琴¹, 李 婷¹, 张俊丽¹, 赵丽娜^{2△}, 阎长平²

1. 山西医科大学附属运城市中心医院妇科, 山西运城 044000; 2. 山西省肿瘤医院/中国医学科学院肿瘤医院山西医院/山西医科大学附属肿瘤医院妇瘤科, 山西太原 030013

摘 要:目的 探讨微小 RNA-34a(miR-34a)、 β -连环蛋白(β -catenin)和程序性死亡配体 1(PD-L1)在宫颈癌(CC)患者癌组织中的表达水平及与患者预后的关系。方法 选取 2021 年 6 月至 2024 年 1 月在山西医科大学附属运城市中心医院收治的 83 例 CC 患者作为研究对象。收集所有患者的一般资料及患者 CC 组织及癌旁正常组织样本。荧光定量 PCR 检测宫颈上皮组织癌组织及癌旁组织 miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 mRNA 表达水平并比较。采用免疫组织化学检测 β -catenin 与 PD-L1 的表达水平。采用多因素 Logistic 回归分析方法, 分析 CC 患者预后的影响因素。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 表达水平对 CC 患者预后不良的预测价值。**结果** 相比于癌旁组织, 癌组织中 miR-34a 的表达水平较低, β -catenin 和 PD-L1 表达水平较高($P < 0.05$)。癌组织中 β -catenin 和 PD-L1 蛋白阳性表达率高于癌旁组织(89.16% vs. 10.84%, 78.31% vs. 20.48%, $\chi^2 = 101.807, 55.526, P < 0.05$)。预后良好组和预后不良组的年龄和体重指数(BMI)相比差异无统计学意义($t = 1.508, 1.820$, 均 $P > 0.05$), 而两组患者国际妇产科联盟(FIGO)分期和分化程度比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 8.451, 9.115$, 均 $P < 0.05$)。相比于预后良好组, 预后不良组 miR-34a 的表达水平较低, β -catenin 和 PD-L1 表达水平较高($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示 miR-34a 表达水平升高是 CC 患者预后不良的保护因素, β -catenin 与 PD-L1 表达水平升高、FIGO 分期为 II a 和 II b 以及分化程度为低分化是 CC 患者预后不良的独立危险因素($P < 0.05$)。ROC 曲线分析发现, miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 表达水平对 CC 患者预后不良具有一定的预测价值, 三者单独预测的 AUC 分别为 0.765、0.836、和 0.797, 联合预测的整体效能最高, 其 AUC 为 0.914($Z = 2.631, 2.331, 2.571, P = 0.009, 0.020, 0.010$)。**结论** miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 mRNA 表达水平影响 CC 患者的预后。miR-34a 表达水平升高是 CC 患者预后不良的保护因素, β -catenin 与 PD-L1 表达水平升高是 CC 患者预后不良的独立危险因素, 三者分别能作为预测 CC 患者预后不良的生物标志物, 且三者联合的预测价值最高。

关键词: 宫颈癌; 微小 RNA-34a; β -连环蛋白; 程序性死亡配体 1; 肿瘤预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.20.002 **中图法分类号:** R737.33

文章编号: 1673-4130(2025)20-2439-07 **文献标志码:** A

Expressions levels of miR-34a, β -catenin and PD-L1 in cancer tissues of patients with cervical cancer and their correlation with prognosis*

LI Chan¹, LYU Weiqin¹, LI Ting¹, ZHANG Junli¹, ZHAO Lina^{2△}, YAN Changping²

1. Department of Gynecology, Yuncheng Central Hospital Affiliated to Shanxi Medical University, Yuncheng, Shanxi 044000, China; 2. Department of Gynecological Oncology, Shanxi Provincial Cancer Hospital/Cancer Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences Shanxi Hospital/Affiliated Cancer Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030013, China

Abstract: Objective To investigate the expression levels of microRNA-34a (miR-34a), β -catenin and programmed death receptor-1 (PD-L1) in cancer tissues of patients with cervical cancer (CC) and their correlation with patients' prognosis. **Methods** A total of 83 patients with CC admitted to Yuncheng Central Hospital Affiliated to Shanxi Medical University from June 2021 to January 2024 were selected as the research objects. General data, CC tissue and adjacent normal tissue samples of all patients were collected. The mRNA expression levels of miR-34a, β -catenin and PD-L1 in CC tissues and adjacent normal tissues were detected by fluorescence quantitative PCR and compared. The expression levels of β -catenin and PD-L1 in CC tissues and adja-

* 基金项目: 山西省科学技术厅项目 (202303021212346)。

作者简介: 李婵, 女, 主治医师, 主要从事妇科方面的研究。△ 通信作者, E-mail: Zln15035193222@163.com。

cent normal tissues were detected by immunohistochemistry. Multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the influencing factors of prognosis in CC patients. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of miR-34a, β -catenin and PD-L1 expression levels in CC patients with poor prognosis. **Results** Compared with adjacent normal tissues, the expression level of miR-34a of the CC tissues was lower, while the expression levels of β -catenin and PD-L1 were higher ($P<0.05$). The positive expression rates of β -catenin and PD-L1 protein in CC tissues were higher than those of adjacent normal tissues (89.16% vs. 10.84%, 78.31% vs. 20.48%, $\chi^2=101.807, 55.526, P<0.05$). There were no significant differences in age and body mass index (BMI) between the good prognosis group and the poor prognosis group ($t=1.508, 1.820$, both $P>0.05$), while there were significant differences in International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stage and differentiation degree between the two groups ($\chi^2=8.451, 9.115$, both $P<0.05$). Compared with the good prognosis group, the expression level of miR-34a of the poor prognosis group was lower, while the expression levels of β -catenin and PD-L1 were higher ($P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that increased expression of miR-34a was an protective factor for poor prognosis in CC patients, while the increased expression levels of β -catenin and PD-L1, II a and II b FIGO staging and low differentiation were independent risk factors for poor prognosis in CC patients ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that miR-34a, β -catenin and PD-L1 all had certain predictive value for the poor prognosis of CC patient, and the area under the curve (AUC) of the single detection was 0.765, 0.836 and 0.797, respectively. The AUC of the combined detection was 0.914 ($Z=2.631, 2.331, 2.571, P=0.009, 0.020, 0.010$). **Conclusion** The expression levels of miR-34a, β -catenin and PD-L1 mRNA affect the prognosis of CC patients. Increased expression of miR-34a is an protective factor for poor prognosis in CC patients, increased β -catenin and PD-L1 expressions are independent risk factors for poor prognosis in CC patients, and all three factors can be used as biomarkers to predict poor prognosis in CC patients, and the combined detection of the three has the highest prognostic value.

Key words: cervical cancer; microRNA-34a; β -catenin; programmed death receptor-1; tumor prognosis

宫颈癌(CC)是全球女性常见恶性肿瘤之一,发病率位于女性恶性肿瘤首位,且发病率逐年升高,患者趋于年轻化^[1]。目前CC的风险筛查方案正在逐渐完善,有效降低了CC的发病率,但对于可预测CC患者预后情况的临床生物指标仍然缺乏。因此,寻求精准的临床预后指标对CC病情进展和预后评估具有重大意义。微小RNA-34a(miR-34a)是一种具有调节肿瘤细胞功能的miRNA,研究表明其主要通过作用于靶基因并调节肿瘤细胞的增殖,凋亡,侵袭,转移和上皮间充质转化等^[2]。miR-34a在肿瘤细胞中的异常表达使得其具有作为肿瘤生物标记物的潜在生物学价值。在CC中,miR-34a在CC中的低表达与肿瘤分化程度、淋巴结转移及国际妇产科联盟(FIGO)分期密切相关^[3]。 β -连环蛋白(β -catenin)是一种功能性蛋白质,它主要在细胞连接处与E-钙黏蛋白相互作用,参与形成黏合带^[4]。 β -catenin参与组成Wnt/ β -catenin信号通路,在肿瘤细胞增殖,分化,凋亡,迁移,侵袭和组织稳态中发挥重要的调节作用^[5]。 β -catenin可进入细胞核,调节基因表达,其异常表达或激活能激活Wnt/ β -catenin信号通路,进而促进肿瘤形成。在CC中, β -catenin的结构和信号转导特性失衡会导致CC的发生^[6]。程序性死亡配体1(PD-L1)是一种在肿瘤细胞表面表达的蛋白质,其可以与T细胞表面的受体

PD-1结合,抑制T细胞的活性,从而使肿瘤细胞逃避免疫系统的攻击^[7]。在CC患者中,PD-L1的高表达可能与晚期或转移性CC患者的预后较差有关^[8]。上述研究表明,在CC中miR-34a、 β -catenin和PD-L1异常表达,三者均具有作为CC生物标志物的潜在能力。目前临床上关于中miR-34a、 β -catenin和PD-L1这3种指标在CC中表达及其在CC患者预后中作用的研究较为匮乏,基于此,本研究旨在探讨miR-34a、 β -catenin和PD-L1在CC患者中的表达情况及其潜在的临床意义,以期临床提供更为科学的参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2021年6月至2024年1月山西医科大学附属运城中心医院(下称本院)收治的83例CC患者作为研究对象。患者平均年龄为(52.66 $\pm$ 3.78)岁,平均体重指数(BMI)为(21.68 $\pm$ 1.66)kg/m²。按FIGO分期区分:I b2期有23例,II a期有31例,II b期有29例。按分化程度区分:低分化有43例,中高分化有40例。纳入标准:(1)FIGO 2018癌症报告及宫颈癌新分期及诊治指南^[9]的诊断标准中符合分期I b2~II b期,并经病理活检确诊为CC的患者;(2)未经过任何治疗的初诊患者;(3)临床资料完整的患者;(4)依从性高,能配合各项检查的患者。排除标准:(1)合并患有其他恶性肿瘤患者;

(2)妊娠期或哺乳期患者;(3)合并患有严重肝、肾功能损害患者;(4)合并精神疾病、内分泌或免疫性疾病等患者;(5)合并其他妇科疾病患者。收集所有受试者的一般资料和临床病理资料。本研究经本院医学伦理委员会批准。本研究所有研究对象均知晓研究内容并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 荧光定量 PCR 收集所有患者的宫颈上皮癌组织及癌旁正常组织并立即放入液氮中进行速冻后

置于一80℃中保存。检测时,取100 mg的组织块,通过液氮研磨法将组织研磨成粉末。向组织粉末中加入 Trizol 提取组织总 RNA。反转录合成 cDNA 步骤则按照反转录试剂盒的说明书。按照试剂盒说明书进行荧光定量反应,条件及体系参考试剂盒说明书。每个样本设置 3 个复孔。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算基因相对表达量。miRNA 采用 U6 作为内参基因, β -catenin 和 PD-L1 采用 GAPDH 作为内参基因。引物序列如表 1 所示。

表 1 引物序列表(5'-3')

基因	正向引物	反向引物
miR-34a	ACACTCCAGCTGGGTGGCAGTGTCTTAGC	CTCAACTGGTGTCTGTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGACAACCA
U6	ATTGGAACGATACAGAGAAGATT	GGAACGCTTCACGAATTTG
β -catenin	GTAATACGACTCAC	TTGATATAGATAAGG
PD-L1	TGCCGACTACAAGCGAATTACTG	CTGCTTGTCCAGATGACTTCGG
GAPDH	AACGTGTCACTGGTGGACCTG	AGTGGGTGTCTGCTGTTGAAGT

1.2.2 免疫组织化学 组织用固定液固 16 h,石蜡包埋切片,厚度 4 μ m。切片于 60℃下烤片 2 h,二甲苯中脱蜡 2 次,每次 10 min。于 100%、95%、80%、70%、50%梯度乙醇水化,每次 5 min。水化后将切片浸泡在柠檬酸盐抗原修复液中,在 100℃条件下放置 10 min。待切片自然冷却至室温后,将切片在 3% H₂O₂ 中室温避光孵育 15 min,阻断内源性过氧化物酶。向切片滴加 β -catenin(1:100)和 PD-L1(1:100)一抗,4℃孵育 16 h 后,用酶标二抗在 37℃孵育 30 min,使用 3,3'-二氨基联苯胺显色 5 min 后苏木素染细胞核 10 s 后于水中返蓝,50%、70%、80%、95%、100%梯度乙醇脱水,每次 5 min,二甲苯透明 5 min 后用树脂封片,于镜下观察染色情况。染色以磷酸盐缓冲液作为一抗阴性对照,以已证实 β -catenin 和 PD-L1 阳性的组织切片作为阳性对照。染色结果由两位经验丰富的病理科医生进行独立阅片进行评判,对于有异议的结果,协商讨论后得出结论。最后,通过 Image J 1.8.0 软件分析 β -catenin 和 PD-L1 在组织切片中的阳性表达率。

1.3 随访 对患者进行 1 年的随访。根据患者的预后结果将患者分为预后良好组($n=46$)和预后不良组($n=37$)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计学软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,癌组织与癌旁组织间比较采用配对 t 检验,不同预后情况组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用多因素 Logistic 回归分析方法分析影响宫颈癌患者预后的因素。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-34a、 β -catenin 和 PD-L1 表达水平对 CC 患者预后的预测能力。两组间

曲线下面积(AUC)比较采用 Z 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 癌组织及癌旁组织 miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 表达水平比较 相比于癌旁组织,癌组织中 miR-34a 的表达水平较低(0.45 ± 0.13 vs. 1.05 ± 0.31), β -catenin 和 PD-L1 表达水平较高(0.51 ± 0.15 vs. 0.16 ± 0.03 , 0.54 ± 0.12 vs. 0.23 ± 0.05),差异有统计学意义($t=43.520$ 、 46.404 、 56.176 ,均 $P<0.05$)。见表 2。

表 2 癌组织及癌旁组织 miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

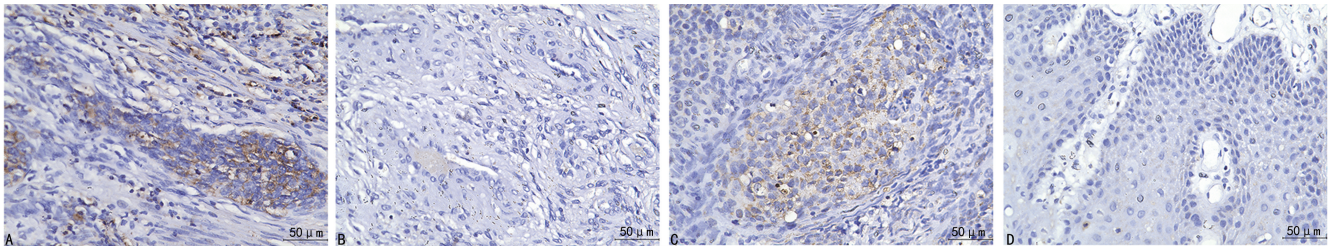
组别	n	miR-34a	β -catenin	PD-L1
癌组织	83	0.45 ± 0.13	0.51 ± 0.15	0.54 ± 0.12
癌旁组织	83	1.05 ± 0.31	0.16 ± 0.03	0.23 ± 0.05
t		43.520	46.404	56.176
P		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 癌组织及癌旁组织中 β -catenin 与 PD-L1 蛋白水平比较 癌组织中 β -catenin 蛋白阳性表达率高于癌旁组织[89.16%(74/83) vs. 10.84%(9/83), $\chi^2=101.807$, $P<0.05$]。癌组织中 PD-L1 蛋白阳性表达率高于癌旁组织[78.31%(65/83) vs. 20.48%(17/83), $\chi^2=55.526$, $P<0.05$]。见图 1。

2.3 预后不良组与预后良好组的一般资料比较 两组患者年龄和 BMI 比较,差异无统计学意义($t=1.508$ 、 1.820 ,均 $P>0.05$)。两组患者 FIGO 分期和分化程度比较,差异有统计学意义($\chi^2=8.451$ 、 9.115 ,均 $P<0.05$)。见表 3。

2.4 不同预后结果的 CC 患者 miR-34a、 β -catenin 与

PD-L1 表达水平比较 相比于预后良好组,预后不良组 CC 组织中 miR-34a 的表达水平较低(0.32 ± 0.07 vs. 0.51 ± 0.14), β -catenin 和 PD-L1 表达水平较高(0.63 ± 0.19 vs. 0.42 ± 0.11 , 0.62 ± 0.15 vs. 0.48 ± 0.09),差异具有统计学意义($t = -4.616$ 、 6.302 、 5.265 ,均 $P < 0.05$)。见表 4。



注:A 为 β -catenin 蛋白在癌组织中的免疫组化结果;B 为 β -catenin 蛋白在癌旁组织中的免疫组化结果;C 为 PD-L1 蛋白在癌组织中的免疫组化结果;D 为 PD-L1 蛋白在癌旁组织中的免疫组化结果。

图 1 癌组织及癌旁组织中 β -catenin 与 PD-L1 蛋白免疫组化结果($\times 400$)

表 3 预后不良组与预后良好组的一般资料比较($\bar{x} \pm s$ 或 $n(\%)$)

组别	<i>n</i>	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	FIGO 分期			分化程度	
				I b2	II a	II b	低分化	中高分化
预后不良组	37	53.33±3.56	22.05±1.57	5(13.51)	14(37.84)	18(48.65)	26(70.27)	11(29.73)
预后良好组	46	52.12±3.69	21.38±1.74	18(39.13)	17(36.96)	11(23.91)	17(36.96)	29(63.04)
<i>t</i> / χ^2		1.508	1.820		8.451		9.115	
<i>P</i>		0.135	0.072		0.015		0.003	

表 4 不同预后结果的 CC 患者 miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-34a	β -catenin	PD-L1
预后不良组	37	0.38±0.11	0.63±0.19	0.62±0.15
预后良好组	46	0.51±0.14	0.42±0.11	0.48±0.09
<i>t</i>		-4.616	6.302	5.265
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.5 多因素 Logistic 回归分析结果 以 CC 患者的预后结果为因变量(预后良好=0,预后不良=1),以 FIGO 分期(I b2=0,II a+II b=1),分化程度(中高分化=0,低分化=1),miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 表达水平为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。

结果表明,miR-34a 表达水平升高是 CC 患者预后不良的保护因素, β -catenin、PD-L1 表达水平升高、FIGO 分期为 II a+II b 及分化程度为低分化是 CC 患者预后不良的独立危险因素。见表 5。

2.6 miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 表达水平对 CC 患者预后不良的预测价值 ROC 曲线分析发现,miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 表达水平对 CC 患者预后不良具有一定的预测价值,三者单独检测的 AUC 分别为 0.765、0.836、和 0.797。联合预测的整体效能最高,其 AUC 为 0.914($Z = 2.631$ 、 2.331 、 2.571 , $P = 0.009$ 、 0.020 、 0.010),灵敏度为 86.50%,特异度为 93.45%。见表 6。

表 5 多因素 Logistic 回归分析结果

指标	β	SE	χ^2	<i>P</i>	OR	95%CI
miR-34a	-0.807	0.213	14.354	<0.001	0.446	0.294~0.677
β -catenin	0.478	0.133	12.917	<0.001	1.613	1.243~2.093
PD-L1	0.902	0.293	9.477	0.002	2.465	1.388~4.377
FIGO 分期	1.364	0.648	4.432	0.035	3.913	1.099~13.936
分化程度	1.603	0.565	8.057	0.005	4.969	1.642~15.033

表 6 miR-34a、 β -catenin 与 PD-L1 表达水平对 CC 患者预后不良的预测价值

指标	截断值	AUC	95%CI	<i>P</i>	约登指数	灵敏度(%)	特异度(%)
miR-34a	0.44	0.765	0.663~0.866	<0.001	0.421	70.32	71.74
β -catenin	0.55	0.836	0.742~0.931	<0.001	0.594	70.32	89.11
PD-L1	0.58	0.797	0.694~0.900	<0.001	0.519	64.93	87.00
联合检测	—	0.914	0.842~0.986	<0.001	0.800	86.50	93.45

注:—表示无数据。

3 讨 论

CC 是全球女性癌症死亡的第四大原因。目前, 由于疫苗接种和筛查计划的不断推广, CC 的全球发病率降低了 80.0%^[10]。但 CC 目前仍是一个严重的全球公共卫生问题, 其主要原因是 CC 患者通常具有较差的预后, 研究表明 CC 患者的 5 年相对总生存率仅为 17.6%^[11]。CC 患者预后较差主要归因于预后指标的不确定性。例如, 虽然 FIGO 分期可显示 CC 的范围和侵袭性, 是临床上 CC 的预后指标之一, 但是由于 FIGO 分期主要基于解剖范围的临床评估, 在早期患者中, 最终组织病理学分类与 FIGO 分期之间的误差率较大^[12]。另外, 由于 CC 患者的异质性, 导致即使在同一临床分期内, 不同患者的预后也可能存在显著差异^[13]。这种预后指标的不确定性给 CC 患者预后带来巨大的挑战。

组织癌变过程中涉及多个基因表达的变化, 基因表达异常是细胞发生癌变的主要原因。基因表达异常通常指的是细胞内基因的正常表达模式被打乱, 导致某些基因过表达或低表达, 这种表达异常可以由多种因素引起。在 CC 中, 基因表达失衡可能引起以下病变发生并促进癌症发展: (1) 基因突变。例如, p53 基因突变可能导致细胞生长和分化异常, 进而促进 CC 癌变的发生^[14]。(2) 病毒感染。人乳头瘤病毒 (HPV) 感染是宫颈癌的主要致病因素之一。HPV 的某些亚型能够导致宫颈细胞产生异常, 例如, 高危型 HPV 的 E6、E7 基因能够干扰 DNA 损伤细胞的修复过程, 感染后使宿主 DNA 不稳定, 最终可能导致恶性转化^[15]。(3) 激素水平异常。雌孕激素失衡可能导致子宫内膜细胞过度增生, 增加癌变的风险, 例如, 长期使用含有雌激素的药物或接受雌激素替代治疗等, 都可能导致体内激素紊乱, 增加 CC 发生的风险^[16]。(4) 免疫抑制状态。免疫系统功能低下可能导致无法有效对抗某些致癌因素, 从而使宫颈细胞更容易发生恶变。在免疫抑制状态下, 细胞的正常监测和清除机制可能受损, 使得异常细胞得以存活并增殖^[17]。上述原因均可导致 CC 基因异常表达, 因此, 基因表达可作为 CC 生物标志物, 监测其表达水平在辅助早期诊断、评估 CC 病情发生发展。监测复发转移和预测患者预后等方面至关重要。

本研究的研究结果表明, miR-34a 在 CC 组织中表达水平下降。miR-34 家族是一组与肿瘤发生发展相关的 miRNA, 其中 miR-34a 是 miR-34 家族最重要的成员之一。分析 miR-34a 在 CC 中表达降低的原因和其低表达在 CC 发生发展中的影响机制: miR-34a 受 p53 的直接调控, p53 作为一种重要的肿瘤抑制蛋白, 在细胞应激反应中起着关键作用, 它能够监控细胞内 DNA 的完整性, 当检测到 DNA 损伤时, 可以启

动细胞修复机制或诱导细胞凋亡, 防止受损细胞增殖并形成肿瘤^[18]。而在 CC 中, HPV-E6 癌蛋白与 p53 结合, 通过泛素化途径使 p53 降解, 导致其功能丧失或者异常, 因此无法正常调控 miR-34a 的高表达, p53 功能丧失导致 DNA 受损的细胞可能逃脱凋亡发生癌变。另外 HPV16 是 HPV 的一种亚型, 且属于高危型。当人体感染 HPV16 后, 若病毒在体内持续存在而不被清除, 就形成了 HPV16 的持续感染状态, 进而提高 CC 的发生风险。LI 等^[19]的研究表明, 在宫颈上皮细胞中, HPV16 持续感染导致了 miR-34a 的下调。上述因素可能是 CC 细胞中 miR-34a 发生低表达的原因, 而 miR-34a 的低表达进一步通过影响其靶基因表达促进 CC 的发生发展。VEENA 等^[20]的研究表明, miR-34a 低表达导致靶基因 PACS-1 的过表达, 进而引发 DNA 损伤应答的丧失, 使得 CC 细胞基因组重排和肿瘤发生。因此, miR-34a 在 CC 患者中呈低表达, 可作为 CC 的潜在生物标志物。

本研究的研究结果表明, β -catenin 在 CC 组织中表达水平升高。 β -catenin 是一种相对分子质量约为 88×10^3 的细胞内蛋白, 其结构包含多个结构域, N 端含有调节蛋白稳定性的结构域, 中间部分能与其他蛋白相互作用, 如与钙黏蛋白结合参与细胞间黏附; C 端含有转录激活结构域, 能与转录因子相互作用, 参与基因表达的调控^[21]。在肿瘤中, β -catenin 被异常激活并转移到细胞核内, 作为转录因子调节基因表达, 促进肿瘤进展。另外, β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 肿瘤信号通路的重要组成部分。分析 β -catenin 在 CC 中表达水平升高的原因和其高表达在 CC 发生发展中的影响机制: 在 CC 中, Wnt10a 等 Wnt 家族成员的表达显著升高, 这些分子通过与细胞膜上的受体结合, 进而激活 Wnt/ β -catenin 信号通路^[22]。该信号通路的激活导致 β -catenin 在细胞质中积累并转运至细胞核, 与转录因子结合, 调控下游靶基因的表达, 从而促进细胞增殖并抑制细胞凋亡, 参与 CC 的发生和发展过程^[23]。在 CC 中 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活机制也受其他基因调控。SONG 等^[24]的研究表明, USP14 在 CC 中过表达并上调 β -catenin 的表达, 增强 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性, 促进 CC 细胞的 G₁-S 期转变, 抑制细胞凋亡, 从而促进 CC 细胞的增殖、迁移和侵袭。因此, β -catenin 在 CC 患者中高表达, 可作为 CC 的潜在生物标志物。

本研究结果表明, PD-L1 在 CC 组织中表达水平升高。PD-L1 是一种免疫抑制因子, 当肿瘤细胞表面表达 PD-L1 时, 它会与免疫细胞 (如 T 淋巴细胞) 上的 PD-1 受体结合, 这种结合会向免疫细胞传递一个抑制信号, 使得免疫细胞将肿瘤细胞识别为正常细胞, 从而实现肿瘤免疫逃逸^[25]。分析 PD-L1 在 CC 中

表达水平升高的原因和其高表达在 CC 发生发展中的影响机制;PD-L1 在 CC 中表达升高的原因复杂多样,可能涉及 HPV 感染导致的基因突变及免疫逃逸机制的诱导等。HPV 感染后可将基因整合到宿主细胞基因组中,特别是整合到 PD-L1 基因附近,可能导致 PD-L1 的表达升高。另外在 CC 的发展过程中,肿瘤细胞可能发挥适应性的免疫逃逸的功能,通过上调 PD-L1 的表达水平来逃避机体的免疫监视和攻击^[26]。因此,PD-L1 在 CC 患者中高表达,可作为 CC 的潜在生物标志物。

本研究表明,相比于预后良好组,预后不良组 CC 组织中 miR-34a 的表达水平较低,β-catenin 和 PD-L1 表达水平较高,且 miR-34a 低表达、β-catenin 和 PD-L1 高表达是 CC 患者预后较差的危险因素。分析其原因,miR-34a 的表达水平下降,影响到肿瘤细胞内基因错配切除修复能力,导致癌基因蓄积效应的增强,促进了肿瘤细胞的浸润。另外在 miR-34a 的表达水平也随着 CC 临床分期的进展而显著下降,在发生浸润的、临床分期更高、淋巴结转移和分化程度较低的 CC 组织中也发现了 miR-34a 低表达,说明 miR-34a 低表达可能与 CC 的恶性进展,包括肿瘤的浸润深度、临床分期的提高、淋巴结的转移以及肿瘤细胞的低分化程度密切相关^[27]。进一步的研究还表明,miR-34a 低表达不仅与上述恶性进展特征相关,还可能直接影响 CC 细胞的生物学行为。在 CC 细胞中,miR-34a 被证实具有促进细胞活性,但同时抑制其迁移和侵袭能力的作用,因此当 miR-34a 表达水平下降时,CC 细胞可能获得更强的迁移和侵袭能力,从而加剧了肿瘤的恶性进展。此外,miR-34a 作为重要的抑癌基因,通过调节多靶点表达水平参与肿瘤的发生发展过程,其异常表达与 CC 的发生发展紧密相关,进一步支持了 miR-34a 低表达与 CC 恶性进展之间的密切联系,因此,miR-34a 低表达的 CC 患者预后较差,且 miR-34a 低表达是 CC 患者预后差的危险因素。在 CC 中,β-catenin 表达水平升高,且与肿瘤分化程度、有无淋巴结转移和临床分期相关,β-catenin 的高表达可能意味着 β-catenin 促进了肿瘤的发生和发展。另外,β-catenin 在正常上皮细胞与肿瘤细胞中的表达位置不同,正常上皮细胞中 β-catenin 作为黏附分子仅表达于细胞膜中,而肿瘤细胞中 β-catenin 则在细胞核或细胞质中异位表达^[28],这种异位表达可能与肿瘤细胞的恶性程度有关,进而影响患者的预后。因此,miR-34a 低表达的 CC 患者预后较差,且 miR-34a 低表达是 CC 患者预后差的危险因素。在 CC 中,PD-L1 表达水平升高,可帮助肿瘤细胞逃避免疫系统的攻击,使得肿瘤得以持续生长和扩散,这种免疫逃逸机制是 PD-L1 高表达患者预后差的主要原因之一^[29]。

多因素 Logistic 回归分析结果显示,miR-34a 表达水平升高是 CC 患者预后不良的保护因素,β-catenin 与 PD-L1 表达水平升高,FIGO 分期为 II a+II b 和分化程度为低分化是 CC 患者预后不良的独立危险因素。CC 中低表达的 miR-34a 可能通过影响其靶基因促进 CC 进展,而高表达的 β-catenin 和 PD-L1 分别通过影响 Wnt/β-catenin 信号通路和促使 CC 细胞免疫逃逸的机制来促进 CC 进展。FIGO 分期是 CC 预后的重要指标,FIGO 分期越高,CC 越严重,预后越差。而肿瘤分化程度越低则说明肿瘤细胞展现出不规则的形态与结构,丧失了正常细胞的功能与特性,因此具有较高的恶性潜能和侵袭性,易于发生转移并出现复发。本研究经 ROC 曲线分析发现,miR-34a、β-catenin 与 PD-L1 表达水平对 CC 患者预后不良具有一定的预测价值,联合预测的预测效能最高,说明对 CC 患者的 miR-34a、β-catenin 与 PD-L1 表达水平进行检测能预测其发生不良预后的风险。

综上所述,miR-34a、β-catenin 与 PD-L1 表达水平与 CC 患者发生不良预后密切相关,且 miR-34a 高表达是 CC 患者预后不良的保护因素,β-catenin 和 PD-L1 高表达是 CC 患者预后较差的危险因素。miR-34a、β-catenin 与 PD-L1 能够作为预测 CC 患者发生不良预后的生物标志物,联合预测具有更好的价值。因此,CC 诊断和检查时应关注上述基因的表达,通过检测这 3 种生物标志物的表达水平,可能有助于预防不良预后的发生。本研究的局限性在于样本量相对较小,且为单中心研究,因此研究结果有一定的局限性,结果可能存在一定偏差,未来还需进一步扩大样本量,深入研究这些指标在 CC 预后中的具体作用机制,以期获得更加可靠的结论,提供更精确有效的 CC 预后标志物。

参考文献

[1] PERKINS R B, WENTZENSEN N, GUIDO R S, et al. Cervical cancer screening: a review[J]. JAMA, 2023, 330 (6): 547-558.

[2] CHEN A H, QIN Y E, TANG W F, et al. MiR-34a and miR-206 act as novel prognostic and therapy biomarkers in cervical cancer[J]. Cancer Cell Int, 2017, 9(17): 63.

[3] WANG P, ZHAI G, BAI Y. Values of miR-34a and miR-218 expression in the diagnosis of cervical cancer and the prediction of prognosis[J]. Oncol Lett, 2018, 15(3): 3580-3585.

[4] 李佳霖, 罗丹. β-连环蛋白与结直肠癌的研究进展[J]. 河北医药, 2024, 46(21): 3316-3321.

[5] LIU J, XIAO Q, XIAO J, et al. Wnt/β-catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 3.

[6] WANG B, LI X, LIU L, et al. β-Catenin: oncogenic role

- and therapeutic target in cervical cancer[J]. *Biol Res*, 2020, 53(1):33.
- [7] YAO H, LAN J, LI C, et al. Inhibiting PD-L1 palmitoylation enhances T-cell immune responses against tumours[J]. *Nat Biomed Eng*, 2019, 3(4):306-317.
- [8] HUANG W, LIU J, XU K, et al. PD-1/PD-L1 inhibitors for advanced or metastatic cervical cancer; from bench to bed[J]. *Front Oncol*, 2022, 14(12):849352.
- [9] 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.
- [10] LIZANO M, CARRILLO-GARCÍA A, DE LA CRUZ-HERNÁNDEZ E, et al. Promising predictive molecular biomarkers for cervical cancer (Review)[J]. *Int J Mol Med*, 2024, 53(6):50.
- [11] LIU X, LIU X, HAN X. FANCI may serve as a prognostic biomarker for cervical cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(51):e27690.
- [12] HALLE MK, BOZICKOVIC O, FORSE D, et al. Clinicopathological and radiological stratification within FIGO 2018 stages improves risk-prediction in cervical cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2024, 181:110-117.
- [13] FJELDBO C S, HOMPLAND T, HILLESTAD T, et al. Combining imaging- and gene-based hypoxia biomarkers in cervical cancer improves prediction of chemoradiotherapy failure independent of intratumour heterogeneity[J]. *EBioMedicine*, 2020, 57:102841.
- [14] ZHAO X, SUN W, REN Y, et al. Therapeutic potential of p53 reactivation in cervical cancer[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2021, 157:103182.
- [15] BHATTACHARJEE R, DAS S S, BISWAL S S, et al. Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: molecular pathways and targeted therapeutic strategies[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2022, 174:103675.
- [16] WANG C, ZHANG T, WANG K, et al. ER- α 36 promotes the malignant progression of cervical cancer mediated by estrogen via HMGA2[J]. *Front Oncol*, 2021, 14(11):712849.
- [17] NI H, ZHANG H, LI L, et al. T cell-intrinsic STING signaling promotes regulatory T cell induction and immunosuppression by upregulating FOXP3 transcription in cervical cancer[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(9):e005151.
- [18] LIU Y, SU Z, TAVANA O, et al. Understanding the complexity of p53 in a new era of tumor suppression[J]. *Cancer Cell*, 2024, 42(6):946-967.
- [19] LI J, YU L, SHEN Z, et al. miR-34a and its novel target, NLRC5, are associated with HPV16 persistence[J]. *Infect Genet Evol*, 2016, 44:293-299.
- [20] VEENA M S, RAYCHAUDHURI S, BASAK S K, et al. Dysregulation of hsa-miR-34a and hsa-miR-449a leads to overexpression of PACS-1 and loss of DNA damage response (DDR) in cervical cancer[J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(50):17169-17186.
- [21] XU Y, YU Y, YAN R, et al. Modulating β -catenin homeostasis for cancer therapy[J]. *Trends Cancer*, 2024, 10(6):507-518.
- [22] 周广, 代小燕. Wnt10a 及 Wnt/ β -catenin 信号通路促进宫颈癌细胞增殖及其机制研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2024, 32(11):1978-1983.
- [23] NALLI M, MASCI D, URBANI A, et al. Emerging direct targeting β -Catenin agents[J]. *Molecules*, 2022, 27(22):7735.
- [24] SONG H, QIU J, HUA K. USP14 promotes the proliferation of cervical cancer via upregulating β -catenin[J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(2):1031-1043.
- [25] AI L, XU A, XU J. Roles of PD-1/PD-L1 pathway: signaling, cancer, and beyond[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1248:33-59.
- [26] YANG J, GAO Y, YAO S, et al. TFAP2A promotes cervical cancer via a positive feedback pathway with PD-L1[J]. *Oncol Rep*, 2023, 49(6):114.
- [27] 周立飞, 高跃丽, 耿欣, 等. 宫颈癌及癌前病变宫颈组织中 miR-34a-5p 和 HMGB1 表达及与 HPV 感染的相关性[J]. *河北医药*, 2024, 46(13):1946-1949.
- [28] 曹丽雯. WNT/ β -catenin 信号通路拮抗因子 sFRP1 在宫颈组织中的表达及其与 HPV 感染相关性研究[D]. 蚌埠: 蚌埠医学院, 2018.
- [29] HU T, WAN X, WU H, et al. Predictive values of PD-L1 expression for survival outcomes in patients with cervical cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Ginekol Pol*, 2022, 93(10):767-774.

(收稿日期: 2025-02-12 修回日期: 2025-06-25)

(上接第 2438 页)

- [22] D' ALESSANDRO A, FU X, KANIAS T, et al. Donor sex, age and ethnicity impact stored red blood cell antioxidant metabolism through mechanisms in part explained by glucose 6-phosphate dehydrogenase levels and activity[J]. *Haematologica*, 2021, 106(5):1290-1302.
- [23] 杨雪, 谭春泽, 李聚林. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症急性溶血与安全输血最新研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2018, 26(5):1569-1573.
- [24] KARAFIN M S, FU X, D ALESSANDRO A, et al. The clinical impact of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in patients with sickle cell disease[J]. *Curr Opin Hematol*, 2018, 25(6):494-499.
- [25] 袁君, 王伟, 李娜, 等. 红细胞无效输注判定检测技术研究新进展[J]. *临床输血与检验*, 2020, 22(2):221-224.

(收稿日期: 2025-03-05 修回日期: 2025-06-20)