

子宫颈鳞状上皮内病变中 PYCR2、CA125 及 ATG-12 的表达及意义

朱兴华, 张邢松, 沈 蓉, 卫颖泽

(南通市肿瘤医院病理科, 江苏 南通 226361)

[摘要]目的 探讨吡咯啉-5-羧酸还原酶 2(PYCR2)、糖类抗原 125(CA125)、自噬相关蛋白-12(ATG-12)在子宫颈鳞状上皮内病变(SIL)诊断中的价值。**方法** 于 2020 年 1 月至 2021 年 12 月在南通市肿瘤医院收集子宫颈组织样本共 336 例,其中正常子宫颈 131 例,低级别鳞状上皮内病变(LSIL)91 例,高级别鳞状上皮内病变(HSIL)114 例。分别检测各组中 PYCR2、CA125、ATG-12 的表达水平,并分析 PYCR2、CA125、ATG-12 与 SIL 的相关性及三者联合检测在子宫颈 SIL 诊断中的价值。**结果** LSIL 组及 HSIL 组中 PYCR2 及 CA125 的阳性检出率均高于正常子宫颈组(χ^2 值分别为 34.98、51.03, $P < 0.05$);LSIL 组及 HSIL 组中 ATG-12 的阳性检出率低于正常子宫颈组(χ^2 值为 61.83, $P < 0.05$);相关性分析结果显示, PYCR2 及 CA125 的阳性检出率与 SIL 病理分级(LSIL 与 HSIL)呈显著正相关关系($r = 0.321, P < 0.05$; $r = 0.387, P < 0.05$), ATG-12 阳性率与 SIL 病理分级呈显著负相关关系($r = -0.429, P < 0.05$)。PYCR2、CA125、ATG-12 三者联合诊断 SIL 的 AUC 为 0.996。**结论** SIL 中 PYCR2、CA125 以及 ATG-12 的表达水平发生改变,三种指标联合预测模型效果良好,可能作为 SIL 诊断评估的标志物。

[关键词] 子宫颈肿瘤;鳞状上皮内病变;诊断效能

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2025.01.012

[中图分类号] R179

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-5293(2025)01-0069-05

Expression and significance of PYCR2, CA125 and ATG-12 in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix

ZHU Xinghua, ZHANG Xingsong, SHEN Rong, WEI Yingze

(Department of Pathology, Nantong Tumor Hospital, Jiangsu Nantong 226361, China)

[Abstract] Objective To investigate the value of combined detection of pyrroline-5-carboxylate antigen 2 (PYCR2), carbohydrate antigen 125 (CA125), and autophagy-related protein-12 (ATG-12) in the diagnosis of squamous intraepithelial lesion (SIL) of the uterine cervix. **Methods** A total of 336 cervical biopsy paraffin-embedded specimens were collected at Nantong Tumor Hospital from January 2020 to December 2021, including 131 cases of normal cervix, 91 cases of low grade squamous intraepithelial lesions (LSIL), and 114 cases of high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL). The expression levels of PYCR2, CA125, and ATG-12 in each group were detected, and the correlation of PYCR2, CA125, and ATG-12 with SIL was analyzed. The diagnostic value of the combined detection of these three markers in SIL was also evaluated. **Results** The positive detection rates of PYCR2 and CA125 in the LSIL and HSIL groups were significantly higher than those in the normal cervical group ($\chi^2 = 34.98$ and 51.03 , respectively, $P < 0.05$). The positive detection rate of ATG-12 in the LSIL and HSIL groups was significantly lower than that in the normal cervical group ($\chi^2 = 61.83, P < 0.05$). Correlation analysis showed that the positive detection rates of PYCR2 and CA125 were significantly positively correlated with SIL pathological grading (LSIL and HSIL) ($r = 0.321$ and 0.387 , respectively, $P < 0.05$), while the positive rate of ATG-12 was significantly negatively correlated with SIL pathological grading ($r = -0.429, P < 0.05$). The AUC of the combined diagnosis of SIL using PYCR2, CA125, and ATG-12 was 0.996. **Conclusion** The expression levels of PYCR2, CA125, and ATG-12 are altered in SIL, and the combined diagnostic model of these three markers shows good performance. They may serve as potential biomarkers for the diagnosis and evaluation of SIL.

[Key words] cervical neoplasm; squamous intraepithelial lesion; diagnostic efficacy

子宫颈癌是常见的女性生殖系统恶性肿瘤,目前研究表明人乳头瘤病毒(human papillomavirus,

HPV)感染是子宫颈癌发生的主要因素^[1]。子宫颈鳞状上皮内病变(squamous intraepithelial lesions,

[收稿日期] 2024-01-05

[基金项目] 南通市卫健委科研项目(MB2020019)

[作者简介] 朱兴华(1978—),副主任医师,主要从事肿瘤研究。

[通讯作者] 卫颖泽,副主任医师。

SILs)是子宫颈癌前期病变的统称,癌前期病变发展为浸润癌是一个渐进性的过程,随着 SILs 级别的增高,病变范围扩大,进展为浸润癌的几率逐渐增大^[2]。吡咯啉-5-羧酸还原酶(pyrroline-5-carboxylate reductases, PYCRs)是一种管家蛋白,含PYCR1、PYCR2、PYCRL 三种同工酶,在子宫颈鳞状上皮内病变中,PYCR2 的表达可能参与调控细胞的增殖和分化^[3-4]。PYCR2 是一种线粒体酶,通过 NADH 氧化将吡咯啉-5-羧酸还原为 L-脯氨酸,催化脯氨酸生物合成的最后步骤^[5]。有研究报道 PYCR2 可通过调节细胞周期及氧化还原稳态促进肿瘤的发生发展^[6-7]。本研究通过免疫组化法检测正常子宫颈、子宫颈低级别鳞状上皮内病变(low grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)以及高级别鳞状上皮内病变(high grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)中 PYCR2、糖类抗原 125(carbohydrate antigen 125, CA125)、自噬相关蛋白-12 (autophagy-related protein 12, ATG-12)的表达水平,并分析上述指标在子宫颈 SIL 诊断中的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

于 2020 年 1 月至 2021 年 12 月在江苏省南通市肿瘤医院收集子宫颈组织样本共 336 例,其中正常子宫颈 131 例,LSIL 91 例,HSIL 114 例。本研究经我院医学伦理委员会批准[通肿伦审(科研)2019-047]。

1.2 方法

1.2.1 PYCR2 检测

(1)采用免疫组化 EnVision 法,操作步骤按产品说明书进行。一抗 PYCR2(货号 17146-1-AP,稀释度 1:200)购自 Proteintech 公司。二抗及 DAB 购自 Dako 公司。用已知阳性组织作为阳性对照,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。(2)免疫组化判读:PYCR2 阳性定位于细胞质。PYCR2 按染色强度结合阳性细胞百分比进行判读。按染色强度:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;按阳性细胞数:<5% 为 1 分,5%~25% 为 2 分,26%~50% 为 3 分,>50% 为 4 分。两者得分相乘:0 分为阴性(-),1~3 分为弱阳性(1+),4~6 分为中等阳性(2+),>6 分为强阳性(3+)。

1.2.2 CA125 检测

静脉抽取 5mL 血液,室温静置 30min,提取血清并于 4℃ 冰箱保存。以电化学发光法检测 CA125 水平。按照产品说明书规范使用试剂盒及相关仪器。

1.2.3 ATG-12 检测

采集宫颈组织,提取样本的总蛋白。以免疫印迹法、Atg-12 蛋白试剂盒(上海联迈)检测条带的灰度值(以 β -actin 为内参)并计算表达水平。按照产品说明及操作规范进行提取检测。

1.3 统计分析

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学处理。计数资料以例数(n)和百分比(%)表示,采用 χ^2 检验进行组间比较;符合正态分布的计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析;相关性分析采用 Pearson 相关性检验,使用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC)分析 PYCR2、CA125、ATG-12 在诊断 LSIL 中的预测价值。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PYCR2 在正常子宫颈、LSIL 及 HSIL 中的表达情况

LSIL 组及 HSIL 组中 PYCR2 的阳性检出率高于正常子宫颈组(χ^2 值为 34.98, $P < 0.05$)。按染色强度对三组免疫组化结果评分后,三组免疫组化分值趋势与 PYCR2 的阳性检出率趋势相同($F = 127.92$, $P < 0.05$),结果如表 1 所示。三组子宫颈 HE 形态及 PYCR2 表达如图 1~3 所示。

表 1 PYCR2 在正常子宫颈、LSIL 及 HSIL 中的表达情况 [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

Table 1 PYCR2 expression in normal cervix, LSIL and HSIL [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

组别	例数	PYCR2 阳性检出率	免疫组化分值结果
正常子宫颈组	131	25(19.08)	1.30±0.46
LSIL 组	91	31(34.07)*	4.20±3.50*
HSIL 组	114	63(55.26)*▲	6.18±2.65*▲
χ^2/F	—	34.98	127.92
P	—	<0.001	<0.001

注:与正常子宫颈组相比,* $P < 0.05$;与 LSIL 组相比,▲ $P < 0.05$ 。

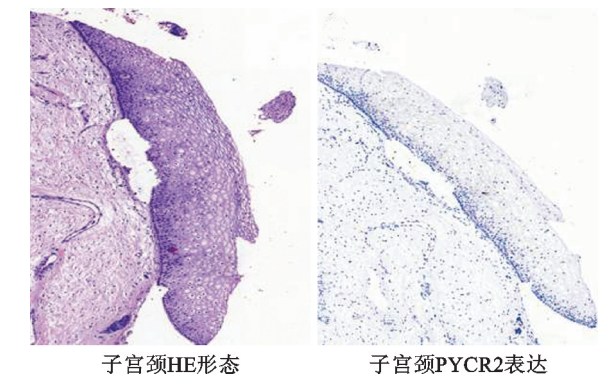


图 1 正常子宫颈组子宫颈 HE 形态及 PYCR2 表达
Fig.1 HE morphology of the uterine cervix and PYCR2 expression in the normal cervix group

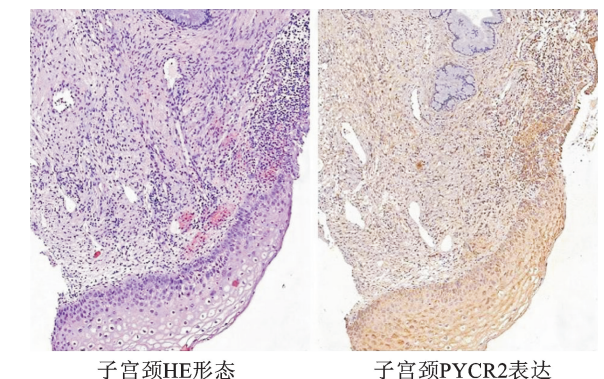


图 2 LSIL 组子宫颈 HE 形态及 PYCR2 表达
Fig.2 HE morphology of the uterine cervix and PYCR2 expression in the LSIL group

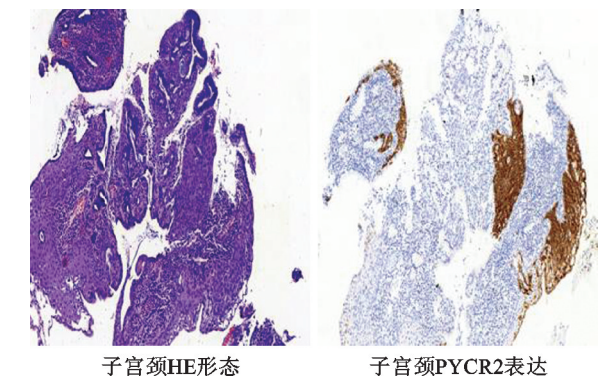


图 3 HSIL 组子宫颈 HE 形态及 PYCR2 表达
Fig.3 HE morphology of the uterine cervix and PYCR2 expression in HSIL group

2.2 CA125 在正常子宫颈、LSIL 及 HSIL 中的表达情况

LSIL 组及 HSIL 组中 CA125 的阳性检出率高于正常子宫颈组(χ^2 值为 51.03, $P < 0.05$), 三组 CA125 水平的趋势与阳性检出率趋势相同($F = 452.73, P < 0.05$)。

表 2 CA125 在正常子宫颈、LSIL 及 HSIL 中的表达情况 [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

Table 2 CA125 expression in normal cervix, LSIL and HSIL [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

组别	例数	CA125 阳性检出率	CA125 水平(U/mL)
正常子宫颈组	131	21(16.03)	11.46 $\pm$ 2.47
LSIL 组	91	30(32.97) *	37.11 $\pm$ 18.39 *
HSIL 组	114	68(59.65) *▲	54.38 $\pm$ 9.80 *▲
χ^2	—	51.03	452.73
P	—	<0.001	<0.001

注:与正常子宫颈组相比, * $P < 0.05$; 与 LSIL 组相比, ▲ $P < 0.05$ 。

2.3 ATG-12 在正常子宫颈、LSIL 及 HSIL 中的表达情况

LSIL 组及 HSIL 组中 ATG-12 的阳性检出率低于正常子宫颈组(χ^2 值为 61.83, $P < 0.05$), 且 HSIL 组显著低于 LSIL 组($P < 0.05$); ATG-12 水平的趋势与阳性检出率趋势相同($F = 313.41, P < 0.05$)。

表 3 ATG-12 在正常子宫颈、LSIL 及 HSIL 中的表达情况 [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

Table 3 ATG-12 expression in normal cervix, LSIL and HSIL [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

组别	例数	ATG-12 阳性检出率	蛋白表达量
正常子宫颈组	131	118(90.08)	1.34 $\pm$ 0.27
LSIL 组	91	60(65.93) *	0.51 $\pm$ 0.40 *
HSIL 组	114	49(42.98) *▲	0.40 $\pm$ 0.30 *▲
χ^2	—	61.83	313.41
P	—	<0.001	<0.001

注:与正常子宫颈组相比, * $P < 0.05$; 与 LSIL 组相比, ▲ $P < 0.05$ 。

2.4 PYCR2、CA125 以及 ATG-12 阳性率与 SIL 病理分级的相关性分析

结果显示, PYCR2 及 CA125 的阳性检出率与 SIL 病理分级 (LSIL 与 HSIL) 呈显著正相关关系 ($r = 0.321, P < 0.05; r = 0.387, P < 0.05$), ATG-12 阳性率与 SIL 病理分级呈显著负相关关系 ($r = -0.429, P < 0.05$), 见表 4。

2.5 PYCR2、CA125 以及 ATG-12 对 SIL 的诊断价值

ROC 结果显示, PYCR2、CA125 以及 ATG-12 对 SIL 病理(LSIL 与 HSIL)诊断的 AUC 分别为 0.820、0.969、0.960, 对应灵敏度分别为 64.40%、86.30%、82.90%, 特异性分别为 100.00%、98.50%、99.20%。三者联合诊断的 AUC 为 0.996, 灵敏度和特异度分别为 98.00%和 100.00%。见表 5 所示。

表 5 PYCR2、CA125 以及 ATG-12 对 SIL 的诊断价值

Table 5 Diagnostic value of PYCR2, CA125, and ATG-12 in SIL

指标	AUC	P	灵敏度(%)	特异性(%)	95%CI	约登指数
PYCR2	0.820	<0.001	64.40	100.00	0.776~0.865	0.644
CA125	0.969	<0.001	86.30	98.50	0.954~0.984	0.848
ATG-12	0.960	<0.001	82.90	99.20	0.937~0.982	0.821
三者联合	0.996	<0.001	98.00	100.00	0.991~1.000	0.980

3 讨论

CA125 是一种与卵巢癌相关的抗原, 是一种常见的诊断上皮恶性肿瘤的标志物, 有研究表明其在宫颈癌患者中也呈升高趋势^[8-9]。ATG-12 是新近发现的自噬相关蛋白, 在自噬通路中作为关键节点, 对自噬过程具有重要调节作用^[10]。此外, 有研究发现, ATG-12 蛋白表达率在宫颈鳞癌患者中显著较低^[11]。此前研究表明^[4], PYCR 基因与抗氧化应激、线粒体调控等密切相关, 但其与肿瘤的相关性研究相对较少。

3.1 SIL 患者 PYCR2、CA125 的阳性检出情况

本研究发现, LSIL 组及 HSIL 组中 PYCR2、CA125 的阳性检出率与正常子宫组相比显著较高。Yin 等^[12]报道, PYCR2 在结直肠癌中高表达, 敲低 PYCR2 的表达可通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制肿瘤形成; PYCR2 在非小细胞肺癌中过表达可以显著提高 A549 细胞的增殖、抑制其凋亡, 并提高其迁移和侵袭能力^[13-14], 与本研究结果的趋势一致。有研究指出^[15-16], CA125 的增高是肿瘤组织内异常增生、鳞状上皮细胞调控异常、细胞分化成熟异常的重要指标。倪晓鸽^[17]等人研究显示, 与子宫内膜良性疾病患者比较, 子宫内膜癌患者的 CA125 水平显著升高, 与本研究结果相似。

表 4 PYCR2、CA125 以及 ATG-12 阳性率与 SIL 病理分级的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of the positive rates of PYCR2, CA125, and ATG-12 with SIL pathological grading

指标		PYCR2	CA125	ATG-12
病理分级	相关性(r)	0.321	0.387	-0.429
	P	<0.001	<0.001	<0.001

3.2 SIL 患者 ATG-12 的阳性检出情况

我们的研究结果显示 LSIL 组及 HSIL 组中 ATG-12 的阳性检出率与正常子宫组相比显著降低, 且 HSIL 组显著低于 LSIL 组。在慢性宫颈炎、高级别宫颈上皮内瘤变组织和早期宫颈鳞状上皮癌组织中, ATG-12 的表达量和阳性率逐渐下降^[18], 可能的机制是 HPV 感染诱导的宫颈上皮细胞自噬水平下降, 导致宫颈癌发生, ATG-12 作为细胞自噬的关键蛋白, 可与 ATG-5 结合, 具有类泛素连接酶的功能, 其表达的降低与自噬缺陷有关, 还可使细胞的自噬活性下降, 进而促进肿瘤细胞的增殖^[19]。

3.3 PYCR2、CA125 以及 ATG-12 对 SIL 的诊断价值

本研究结果显示 CA125 的曲线下面积最大, 敏感度最高, PYCR2 的特异度最高, ATG-12 的准确性与上述两者相比较低; 三者联合检测后的 AUC 为 0.996, 灵敏度和特异度分别为 98.00%和 100.00%, 提示该模型具有较好的判别效度。因此, 在影像检查、病理活检等诊断方法的基础上, 对 PYCR2、CA125 以及 ATG-12 三项进行联合检测, 可提高对 SIL 的诊断效能, 尽早诊断、尽早治疗, 减少漏诊, 改善 SIL 患者的治疗效果。

综上所述, 我们的研究发现, PYCR2、CA125 与 ATG-12 三者联合检测模型具有较好的效度, 可能

作为 SIL 诊断评估的标志物。由于此次研究为回顾性研究,无法对数据质量进行严格控制,数据采集和处理的过程中可能存在一定偏倚,后期需进一步进行前瞻性队列研究以验证本研究结果。

[参考文献]

- [1] Pache B, Jacot-Guillarmod M, Hubner M, et al. Human papillomavirus: screening of cervical and anal cancers [J]. *Rev Med Suisse*, 2022, 18(800): 1950-1955.
- [2] Gothwal M, Singh P, Elhence P, et al. Spectrum of abnormal cervical lesions and its cytohistological correlation: a study from an institute of national importance of western rajasthan [J]. *Maedica (Bucur)*, 2022, 17(3): 636-640.
- [3] Cui B, He B, Huang Y, et al. Pyrroline-5-carboxylate reductase 1 reprograms proline metabolism to drive breast cancer stemness under psychological stress [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(10): 682.
- [4] 廖薇薇, 温必盛, 蔡仁颂, 等. 吡咯啉-5-羧酸盐还原酶 2 蛋白在结直肠癌中的表达及临床意义 [J]. *解放军医药杂志*, 2022, 34(10): 27-30.
- [5] Escande-Beillard N, Loh A, Saleem S N, et al. Loss of PYCR2 causes neurodegeneration by increasing cerebral glycine levels via SHMT2 [J]. *Neuron*, 2020, 107(1): 82-94.
- [6] Wang S, Yi W, Xu Z, et al. PYCR2 promotes growth and aerobic glycolysis in human liver cancer by regulating the AKT signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 680: 15-24.
- [7] Lu Y, Jiang B, Peng K, et al. Differential degradation of TRA2A and PYCR2 mediated by ubiquitin E3 ligase E4B [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 833396.
- [8] Zhang M, Cheng S, Jin Y, et al. Roles of CA125 in diagnosis, prediction, and oncogenesis of ovarian cancer [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1875(2): 188503.
- [9] 陈苗, 高丽, 张婷, 等. 1357 例宫颈上皮内瘤变临床特征及阴道镜图像的诊断意义 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2023, 34(2): 59-63.
- [10] Mizushima N. The ATG conjugation systems in autophagy [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2020, 63: 1-10.
- [11] 冯淑雯, 冯淑婷, 叶历, 等. 宫颈组织 HPV E6/E7 mRNA Atg-12 Tie-1 表达情况与鳞状上皮内病变病理分级的相关性 [J]. *安徽医学*, 2022, 43(6): 656-660.
- [12] Yin F, Huang X, Xuan Y. Pyrroline-5-Carboxylate reductase-2 promotes colorectal cancer progression via activating PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Dis Markers*, 2021, 2021(Pt.3): 9950663-9950673.
- [13] 刘忠. PYCR2 促进非小细胞肺癌 A549 细胞增殖并抑制其凋亡 [D]. 南昌大学医学部, 2020.
- [14] Geng Y, Chen P, Zhang L, et al. LncRNA MALAT1 regulates growth of carcinoma of the lung through modulating miR-338-3p/PYCR2 axis [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2023, 69(4): 133-140.
- [15] 高志洪, 钱丽萍. TSGF、SCC-Ag、CA125 水平对宫颈癌病情及预后的评估价值 [J]. *中国现代医生*, 2021, 59(27): 13-16, 33.
- [16] 吴倩, 张微, 方呈祥. 宫颈癌患者血清 SCC、CA125 及 PD-L1 水平与细胞凋亡指数相关性的研究 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2024, 35(2): 81-85.
- [17] 倪晓鸽, 朱琳娜, 房玉珠, 等. 经阴道三维超声联合 CA125、CA199、NLR 及 PLR 检测对绝经后子宫内膜癌的诊断效能 [J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(9): 1771-1775.
- [18] 吴霞, 桑学梅, 宋瑞, 等. 早期宫颈癌组织中 ATG-12 表达与 HPV16-E6/E7-DNA 病毒载量及预后的关系 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2020, 25(3): 235-240.
- [19] Fischer S, Rijal R, Frommolt P, et al. Functional characterization of ubiquitin-like core autophagy protein ATG12 in dictyostelium discoideum [J]. *Cells*, 2019, 8(1): 72.

[专业责任编辑: 吕淑兰]

[中文编辑: 张博星; 英文编辑: 方柳]