

Hfgl2 在宫颈癌患者组织中的表达及其临床意义

江 玉¹,裴美丽¹,陈 茜²,陈 刚³,邹余粮¹

(1.西安交通大学第一附属医院妇产科,陕西 西安 710061;2.西安交通大学第一附属医院生殖医学科,陕西 西安 710061;
3.陕西省榆林市第一医院妇产科,陕西 榆林 719001)

[摘要]目的 分析人纤维介素(Hfgl2)在宫颈癌组织中的表达及其意义,探究其对宫颈癌恶性生物学行为的影响。方法 选取2016年1月至2018年1月在榆林市第一医院经病理确诊的50例宫颈癌患者的癌组织标本作为实验组,另外收集同期50例正常宫颈组织作为对照组。采用免疫组化和逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测组织,蛋白质印迹法(WB)检测细胞中Hfgl2的表达,分析其与宫颈癌临床病理特征的关系;采用基因敲降下调Hfgl2表达,四甲基偶氮唑盐比色法(MTT)检测细胞增殖能力, WB方法检测血管生成及细胞增殖、迁移相关蛋白的表达。结果 Hfgl2在宫颈癌组织中的阳性表达率高于正常宫颈组织,差异有统计学意义($\chi^2=73.990, P<0.05$);Hfgl2在宫颈癌组织的免疫组化评分高于正常宫颈组织,差异有统计学意义($t=8.022, P<0.05$);RT-PCR测定表明,实验组Hfgl2 mRNA阳性表达率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=61.455, P<0.05$);Hfgl2在宫颈癌国际妇产科联盟(FIGO)分期Ⅲ-Ⅳ期中的阳性表达率高于Ⅰ期、Ⅱ期组,在病理分级G2-G3级宫颈癌组的阳性表达率高于G1级组,在有淋巴转移的宫颈癌组织中阳性表达率高于无淋巴结转移组,差异均有统计学意义(χ^2 值分别为6.737、7.147、12.037, $P<0.05$);Hfgl2在宫颈癌细胞系中均高表达,敲降Hfgl2后,细胞体外增殖能力明显降低,人宫颈癌细胞Hela血管生成及增殖迁移相关蛋白如血管内皮生长因子受体1(VEGFR1)、蛋白激酶B(PKB/Akt)、磷脂酶C(PLC)- γ 、基质金属蛋白酶(MMP)2和MMP9表达均明显下调,差异有统计学意义(t 值介于4.904~8.304之间, $P<0.05$)。结论 Hfgl2在宫颈癌组织中高表达且可能促进肿瘤血管生成及浸润生长,有望成为宫颈癌靶向治疗新方向。

[关键词]人纤维介素;宫颈癌;临床病理特征;血管生成;增殖迁移

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.06.006

[中图分类号]R173

[文献标识码]A

[文章编号]1673-5293(2024)06-0033-08

Expression of Hfgl2 in patients with cervical cancer and its clinical significance

JIANG Yu¹, PEI Meili¹, CHEN Qian², CHEN Gang³, ZOU Yuliang¹

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi Xi'an 710061, China; 2. Department of Reproductive Medicine, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi Xi'an 710061, China; 3. Department of Gynecology and Obstetrics, the First Hospital of Yulin, Shaanxi Yulin 719001, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the expression and significance of human fibrinogen-like protein (Hfgl2) in cervical cancer tissues and explore its impact on the malignant biological behavior of cervical cancer. **Methods** We selected tumor specimens from 50 cervical cancer patients diagnosed pathologically at the First Hospital of Yulin from January 2016 to January 2018 as the experimental group, and collected 50 normal cervical tissue specimens from the same period as the control group. Immunohistochemistry and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) were used to detect tissue samples. Western blot (WB) was employed to assess Hfgl2 expression in cells, and the relationship with clinical pathological characteristics of cervical cancer was analyzed. Gene knockdown was utilized to downregulate Hfgl2 expression, and the methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) assay was employed to measure cell proliferation ability, with WB used to evaluate the expression of proteins related to angiogenesis, cell proliferation, and cell migration. **Results** The positive expression rate of Hfgl2 in cervical cancer tissues was higher than that in normal cervical tissues, with statistically significant differences ($\chi^2=73.990, P<0.05$); The immunohistochemical score of Hfgl2 in cervical cancer tissues was higher than those in normal cervical tissues, with statistically significant differences ($t=8.022, P<0.05$); RT-PCR analysis revealed a higher positive rate of Hfgl2 mRNA expression in the experimental group compared to the control group, with statistically significant differences ($\chi^2=61.455, P<0.05$); The positive expression rate of

[收稿日期]2023-11-19

[基金项目]国家自然科学基金项目(82203465)

[作者简介]江 玉(1988—),女,住院医师,主要从事妇产科临床及相关研究。

[通讯作者]陈 刚,副主任医师;邹余粮,教授/主任医师。

Hfgl2 in Federation International of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stage III-IV cervical cancer was higher than in stage I and II groups, higher in pathological grade G2-G3 cervical cancer than in G1, and higher in cervical cancer tissues with lymph node metastasis than in those without, all with statistically significant differences ($\chi^2=6.737, 7.147$, and 12.037 respectively, $P<0.05$); Hfgl2 was highly expressed in cervical cancer cell lines, and knockdown of Hfgl2 resulted in a significant decrease in cell vitro proliferation ability, and the expression of angiogenesis and proliferation-related proteins vascular endothelial growth factor receptor 1 (VEGFR1), protein kinase B (PKB/Akt), phospholipase C (PLC)- γ , matrix metalloproteinase (MMP) 2, and MMP9 in human cervical cancer cells HeLa were significantly downregulated, with statistically significant differences ($t=4.904-8.304$, $P<0.05$).

Conclusion Hfgl2 is highly expressed in cervical cancer tissue and may promote tumor angiogenesis and invasive growth, which is expected to become a new direction for targeted treatment in cervical cancer.

[Key words] human fibrinogen-like protein 2; cervical cancer; clinical pathological characteristics; angiogenesis; proliferative and migration

宫颈癌是全球女性第4位常见恶性肿瘤,严重威胁女性健康^[1]。2020年全球有60.4万新发宫颈癌和34.2万死亡病例^[2]。目前,手术、放疗和化疗是宫颈癌的主要治疗手段^[3]。初始治疗后,30%~50%的宫颈癌患者会出现肿瘤复发或转移,其长期生存率仅为10%~20%^[4]。因此,复发性或转移性宫颈癌是妇科恶性肿瘤治疗的难点,也是提高患者生存率的关键点。随着肿瘤靶向治疗、免疫治疗的研究,寻找宫颈癌新的生物学标志物及治疗手段已成为临床研究热点。

纤维介素(fibroleukin/fibrinogen-like protein 2, fgl2), 又称 fgl2 凝血酶原酶, 属于纤维蛋白原超家族的成员。研究发现, 人纤维介素(human fibroleukin/fibrinogen-like protein-2, Hfgl2)可表达于人体各脏器中, 参与细胞黏附、细胞迁移、凝血及免疫调节等^[5]。既往研究显示, fgl2 凝血酶原酶参与病毒诱导的炎症反应、自身免疫性疾病、流产和肿瘤等相关疾病的发生发展^[6-8]。目前, 关于 Hfgl2 对宫颈癌发病的影响及作用机制尚不清楚, 且相关研究甚少。本研究通过检测宫颈癌组织中 Hfgl2 的表达, 分析其与宫颈癌临床病理特征之间的关系, 并探究 Hfgl2 对宫颈癌恶性生物学行为的影响, 以期寻找潜在的生物标志物和分子治疗靶点, 为宫颈癌的治疗提供新的策略。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2016年1月至2018年1月在榆林市第一医院经病理确诊的50例宫颈癌患者的癌组织标本作为实验组, 另外收集同期50例正常宫颈组织作为对照组。实验组患者纳入标准: ①具有完整的病例

资料; ②经宫颈活检或手术切除后病理诊断为宫颈癌; ③术前均未接受放化疗治疗; ④术前六个月内未服用激素类药物。排除标准: ①严重血液系统疾病; ②严重免疫系统疾病; ③严重心肝肾功能不全; ④全身感染性疾病; ⑤预计生存时间不足3个月。对照组患者纳入标准: ①因子宫肌瘤行子宫切除术; ②病例资料完整。对照组排除标准: ①合并其他恶性肿瘤; ②合并其他脏器严重功能障碍; ③合并免疫功能疾病或血液系统疾病。

所有患者年龄在37~68岁之间, 其中50岁以下52名, 50岁及以上48名。所有宫颈癌患者按照国际妇产科联盟(Federation International of Gynecology and Obstetrics, FIGO)2018年宫颈癌标准分期: I期12例, II期29例, III-IV期9例; 病理分级: G1级22例, G2-G3级28例; 41例手术患者中淋巴结转移者27例, 无淋巴结转移者14例。本研究经榆林市第一医院医学伦理委员会批准(批号: 2019-001), 所有患者及家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 免疫组化方法及评分标准

组织标本切成4 μ m薄片, 切片放于玻片架上, 63℃烘烤过夜。二甲苯脱蜡后乙醇水化, 柠檬酸钠修复液高压热修复后3%的H₂O₂封闭10min, 加入兔抗人Hfgl2抗体(1:100), 4℃过夜。二抗孵育后DAB显色, 苏木素复染, 1%盐酸乙醇分化, 1%氨水反蓝。乙醇脱水, 二甲苯透明后中性树胶封片, 在显微镜下观察。免疫组化染色的片子, 将染色结果显示为棕黄色、颗粒者视为阳性。采用Leica Qwin图像分析系统, 对染色细胞所占比例进行评分(选取至少5个不同的400倍视野); 其中0分为<5%, 1分

为 5%~25%, 2 分为 26%~50%, 3 分为 51%~75%, 4 分为 >75%。按照染色程度的强弱分为 3 级: 其中弱染色计为 1 分, 中度染色计为 2 分, 强染色计为 3 分。每份切片最终评分 = 染色细胞计数比例分数 × 染色强度分数, 结果分数 <1 视为阴性, ≥1 视为阳性。

1.2.2 mRNA 表达检测

逆转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)检测 mRNA 表达。TRIzol 法提取细胞总 RNA, 进行反转录, 反转录条件为 37℃ 15min, 85℃ 5s, 以反转录产物为模板进行 RT-PCR, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参。引物序列: GAPDH-F: GCACCGTCAAGGCTGAGAAC; GAPDH-R: TGGTGAAGACGCCAGTGGGA; Hfgl2-F: GCTCTGACTACTACGCAATA; Hfgl2-R: ATGTTCTGGTGAAGTTGGT。按照 SYBR © Premix Ex Taq™ 说明书进行, 反应条件为 Step1(1 Cycle) 95℃ 30s, Step2(40 Cycles) 95℃ 5s 60℃ 30s, Step3 Dissociation(1 Cycle)。实验重复 3 次。

1.2.3 蛋白表达检测

从细胞中提取蛋白, 二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid, BCA)定量测定浓度。蛋白经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)电泳, 应用 Bio-Rad 湿转法转移到聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜, 5% 脱脂牛奶封闭 1h, 加入 5% 脱脂牛奶稀释的一抗[1:1 000 Hfgl2、1:500V 血管内皮细胞生长因子受体 1(vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR1)、1:1 000 蛋白激酶(protein kinase B, PKB/Akt)、1:1 000 磷脂酶 C(phospholipase C, PLC)-γ、1:500 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)2、1:500 MMP9、1:20 000 GAPDH]4℃ 孵育过夜, 与相应的 1:20 000 稀释的二抗室温孵育 1h, 加入增强型化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)试剂, 用 Western Blot 化学发光成像系统一体机进行曝光, 采用 ImageJ2× 软件进行吸光度分析。

1.2.4 细胞活性检测

四甲基偶氮唑盐比色法(methylthiazolyldiphenyl-

tetrazolium bromide, MTT)检测细胞活性。将对数生长期的细胞, 用胰蛋白酶消化后, 接种于 96 孔板中(4×10^4 个/孔), 24h 细胞贴壁后, 实验组加入 siRNA 寡聚物, 阴性对照组加入无血清培养基, 作用 6h 后, 更换成正常培养基。分别隔 24h、48h、72h、96h 后, 每孔加入 0.5mg/mL MTT, 37℃ 孵育 4~6h。加入二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)置于脱色摇床上充分振荡, 用酶联免疫检测仪于 490nm 波长下测定各孔吸光度(optical density, OD)值。

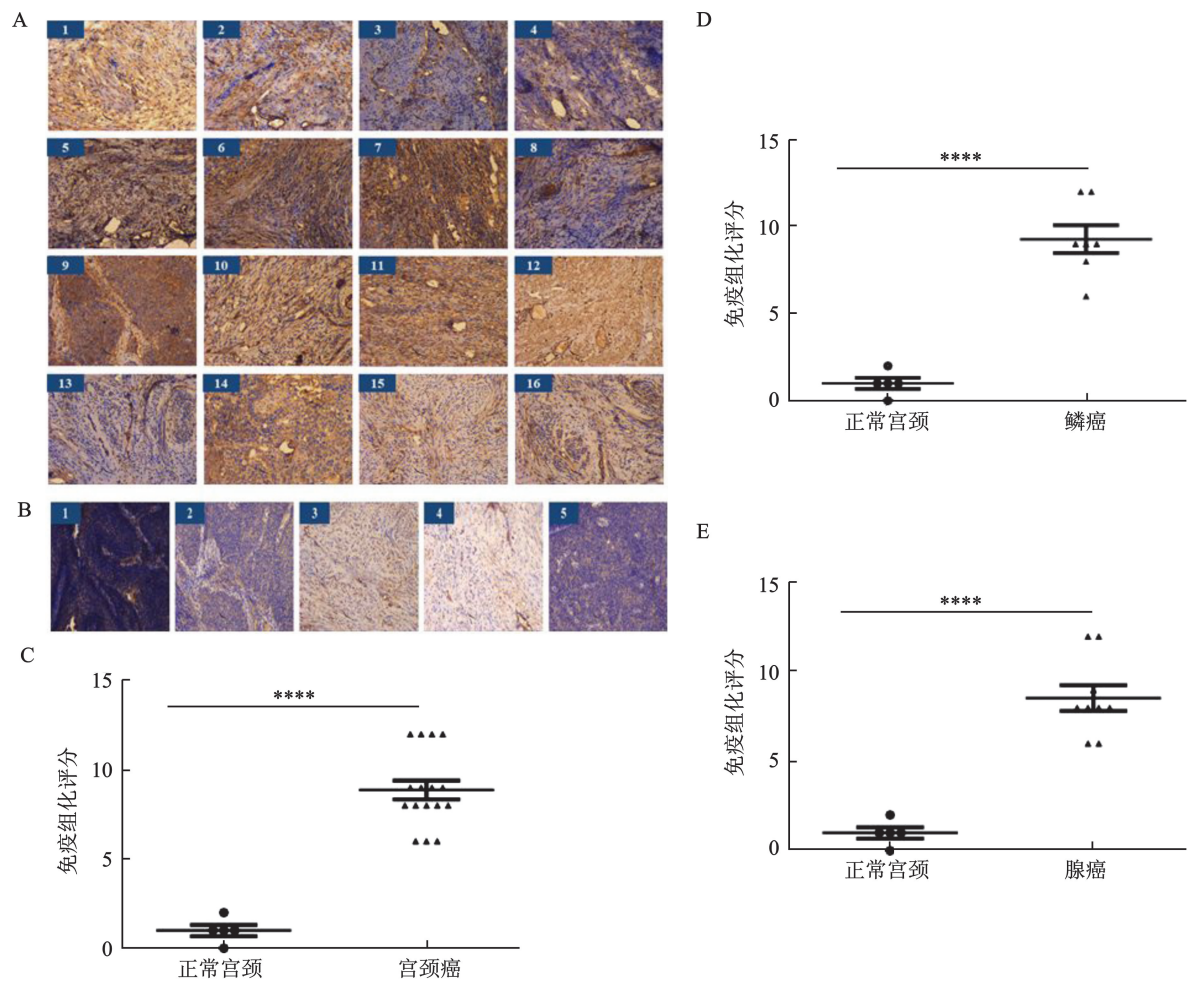
1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计学分析。各阳性表达等计数资料使用频数(n)和百分比(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 检验。免疫组化评分等计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组比较采用单因素方差分析。推断两个分类变量间有无相关性时使用 Spearman 相关系数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hfgl2 在宫颈癌组织中的表达

Hfgl2 在宫颈癌组织中(见图 1A)的阳性表达率高于正常宫颈组织(见图 1B), 差异有统计学意义(92.00% vs. 6.00%, $\chi^2 = 73.990$, $P < 0.05$), 见表 1。Hfgl2 在宫颈癌组织及正常宫颈组织免疫组化评分分别为(8.88 ± 0.35)分、(1.00 ± 0.50)分, Hfgl2 在宫颈癌组织的免疫组化评分高于正常宫颈组织, 差异有统计学意义($t = 8.022$, $P < 0.05$), 见图 1C。分别对宫颈鳞癌、腺癌进行分类统计, Hfgl2 在宫颈鳞癌组织及正常宫颈组织免疫组化评分分别为(9.29 ± 0.24)分、(1.00 ± 0.50)分, Hfgl2 在宫颈鳞癌组织的免疫组化评分高于正常宫颈组织, 差异有统计学意义($t = 8.249$, $P < 0.05$), 见图 1D。Hfgl2 在宫颈腺癌组织及正常宫颈组织免疫组化评分分别为(8.56 ± 0.41)分、(1.00 ± 0.50)分, Hfgl2 在宫颈腺癌组织的免疫组化评分高于正常宫颈组织, 差异有统计学意义($t = 7.399$, $P < 0.05$), 见图 1E。另外, RT-PCR 测定表明, 实验组 Hfgl2 mRNA 阳性表达率高于对照组, 差异有统计学意义(84.00% vs. 6.00%, $\chi^2 = 61.455$, $P < 0.05$), 见表 2。



注:A为16例宫颈癌组织 Hfgl2 免疫组化染色图(100 $\times$);B为5例正常宫颈组织 Hfgl2 免疫组化染色图(100 $\times$);C为宫颈癌组织和正常宫颈组织中 Hfgl2 免疫组化评分统计分析;D为宫颈鳞癌组织和正常宫颈组织中 Hfgl2 免疫组化评分统计分析;E为宫颈腺癌组织和正常宫颈组织中 Hfgl2 免疫组化评分统计分析;****表示 $P<0.0001$ 。

图1 Hfgl2 在宫颈癌组织中的表达

Fig.1 Expression of Hfgl2 in cervical cancer tissue

表1 Hfgl2 在宫颈癌及正常宫颈组织中的表达 [n(%)]

Table 1 Expression of Hfgl2 in cervical cancer tissue and normal cervical tissue [n(%)]

分组	例数	Hfgl2 阳性表达	Hfgl2 阴性表达
正常宫颈组织	50	3(6.00)	47(94.00)
宫颈癌组织	50	46(92.00)	4(8.00)
χ^2		73.990	
P		<0.001	

2.2 Hfgl2 的表达与宫颈癌临床病理参数之间的关系

宫颈癌组织中,Hfgl2 在宫颈癌 FIGO 分期Ⅲ-Ⅳ期中的阳性表达率高于Ⅰ期、Ⅱ期组,差异有统计学意义($\chi^2=6.737,P<0.05$);在病理分级中,Hfgl2

表2 Hfgl2 mRNA 在宫颈癌及正常宫颈组织中的表达 [n(%)]

Table 2 Expression of Hfgl2 mRNA in cervical cancer tissue and normal cervical tissue [n(%)]

分组	例数	Hfgl2mRNA 阳性表达	Hfgl2mRNA 阴性表达
正常宫颈组织	50	3(6.00)	47(94.00)
宫颈癌组织	50	42(84.00)	8(16.00)
χ^2		61.455	
P		<0.001	

在 G2-G3 级宫颈癌组的阳性表达率显著高于 G1 级组($\chi^2=7.147,P<0.05$);在有淋巴转移的宫颈癌组织中,Hfgl2 阳性表达率显著高于无淋巴结转移组($\chi^2=12.037,P<0.05$);年龄与 Hfgl2 的表达差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 Hfgl2 的表达与宫颈癌患者临床病理参数的关系 [n(%)]

临床情况	分组	例数	Hfgl2 阳性表达	Hfgl2 阴性表达	χ^2	P
年龄	<50	26	12(46.15)	14(53.85)	0.287	0.592
	≥50	24	9(37.50)	15(62.50)		
分期	I	12	4(33.33)	8(66.67)	6.737	0.034
	II	29	18(62.07)	11(37.93)		
	III-IV	9	8(88.89)	1(11.11)		
分级	G1	22	9(40.91)	13(59.09)	7.147	0.006
	G2-G3	28	22(78.57)	6(21.43)		
淋巴结转移	无	14	4(28.57)	10(71.43)	12.037	<0.001
	有	27	22(81.48)	5(18.52)		

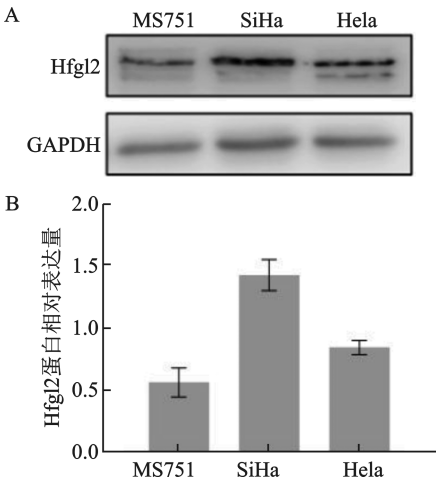
2.3 Hfgl2 在三株人宫颈癌细胞的表达

采用 Western blot 方法检测 Hfgl2 在三株人宫颈癌细胞中的表达量,结果显示,三株人宫颈癌细胞中 Hfgl2 均有表达,在 SiHa 细胞中的表达量最高,见图 2。进一步确证 Hfgl2 在宫颈癌中的作用,采用 RNA 干扰试剂干扰三株人宫颈癌细胞中的 Hfgl2 基因。采用 RT-PCR 实验进行验证,干扰后 Hfgl2 的 mRNA 表达量降低,表明所选择的寡聚 siRNA 片段可成功干扰 Hfgl2 基因,见图 3。采用 Western blot 方法进一步验证 RNA 干扰三株人宫颈癌细胞中的 Hfgl2 基因,结果显示干扰后 Hfgl2 的蛋白表达明显降低,表明所选择的寡聚 siRNA 片段可成功干扰 Hfgl2 基因,见图 4。

2.4 敲降 Hfgl2 表达对宫颈癌细胞增殖的影响

采用上述实验中筛选得到的 siRNA 片段干扰三株宫颈癌细胞后,进一步考察了野生型的 HeLa、MS751 和 SiHa 细胞在 Hfgl2 基因干扰后的细胞增

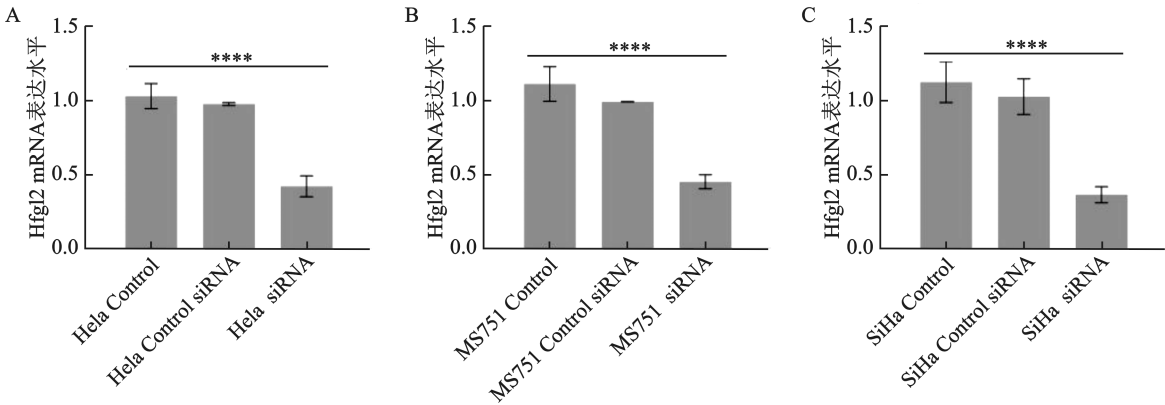
殖能力,结果显示敲降 Hfgl2,三株宫颈癌细胞的增殖能力明显降低,见图 5。



注:A为 Western 条带图;B为 Western 条带定量图。

图 2 Hfgl2 蛋白在三株人宫颈癌细胞中的表达

Fig.2 Expression of Hfgl2 protein in three strains of human cervical cancer cells



注:A为 HeLa 细胞;B为 MS751 细胞;C为 SiHa 细胞;**** P<0.000 1。

图 3 Hfgl2 干扰结果 RT-PCR 验证

Fig.3 RT-PCR validation of Hfgl2 interference results

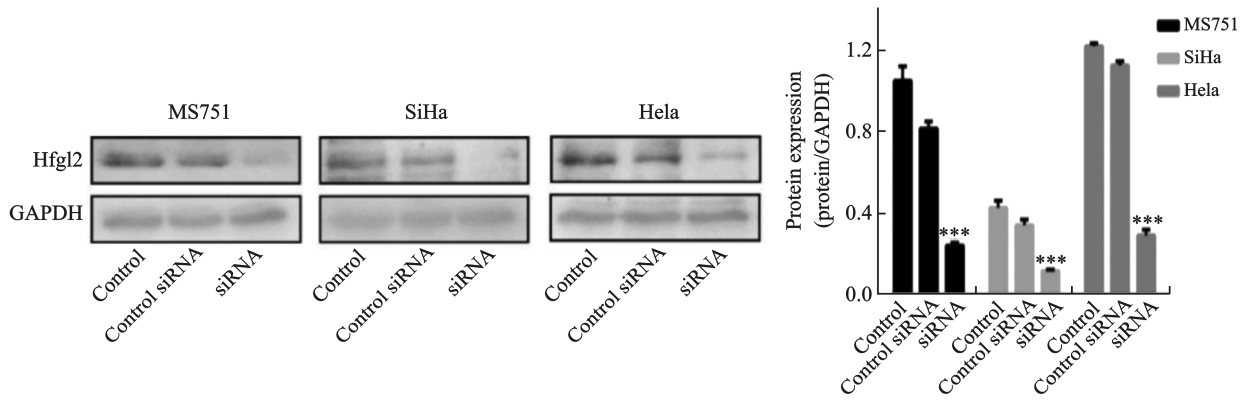


图 4 Hfgl2 干扰结果 Western blot 验证

Fig.4 Western blot validation of Hfgl2 interference results

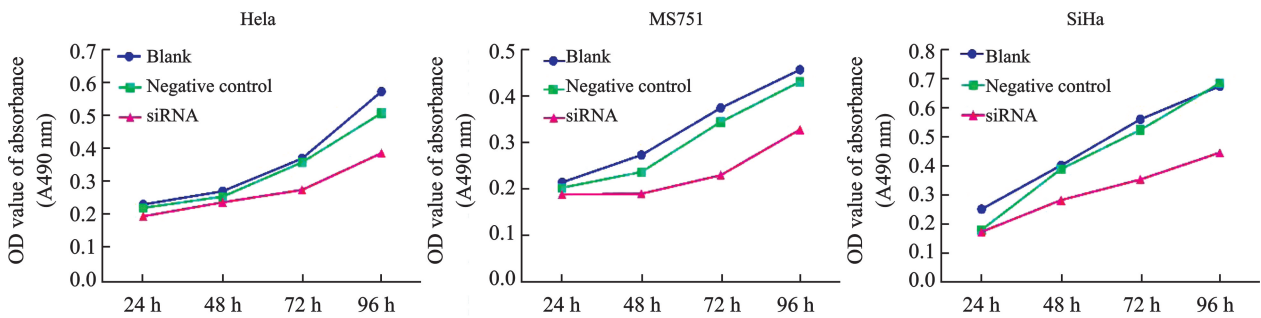


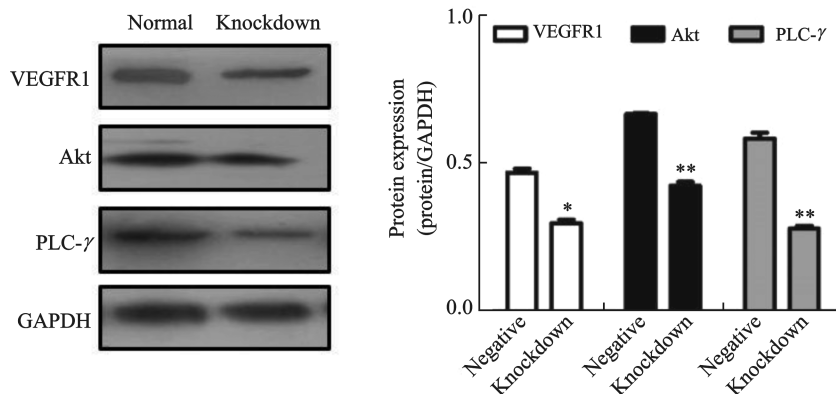
图 5 敲降 Hfgl2 对宫颈癌细胞增殖的影响

Fig.5 Effect of Hfgl2 knockdown on the proliferation of cervical cancer cell

2.5 敲降 Hfgl2 表达对宫颈癌细胞信号通路的影响

采用上述实验中筛选得到的 siRNA 片段干扰 HeLa 细胞后,进一步考察了敲降 Hfgl2 基因对 HeLa 细胞血管生成及增殖迁移相关信号通路的影响。在 HeLa 细胞中敲降 Hfgl2,与血管生成相关的 VEGFR1

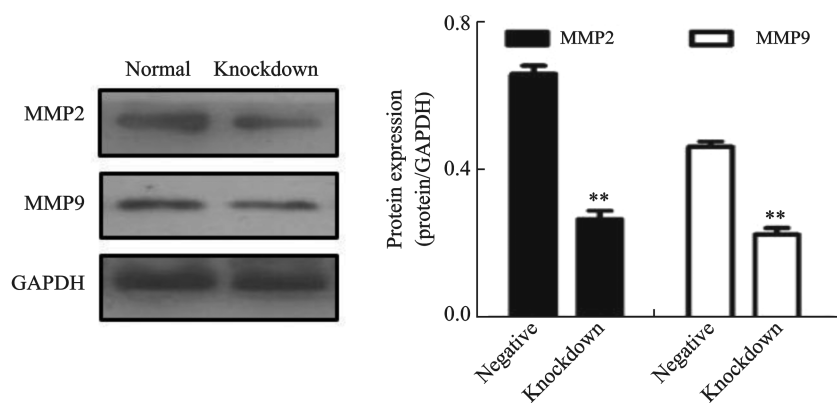
表达下降,与细胞增殖相关的 Akt 和 PLC- γ 的蛋白表达也降低(t 值分别为 4.904、6.126、6.216, $P < 0.05$),见图 6。在 HeLa 细胞中敲降 Hfgl2,和细胞迁移密切相关的 MMP2 和 MMP9 蛋白表达均下调(t 值分别为 5.731、8.304, $P < 0.05$),见图 7。



注:左为蛋白条带图;右为对应定量图($n=3$);与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 6 敲降 Hfgl2 对 HeLa 细胞 VEGFR1、Akt 和 PLC- γ 表达的影响

Fig.6 Effect of Hfgl2 knockdown on VEGFR1, Akt, and PLC- γ expression in HeLa cells



注:左为蛋白条带图;右为对应定量图(n=3);与对照组相比,** $P<0.01$ 。

图 7 敲降 Hfgl2 对 HeLa 细胞 MMP2 和 MMP9 表达的影响

Fig.7 Effect of Hfgl2 knockdown on MMP2 and MMP9 expression in HeLa cells

3 讨论

3.1 宫颈癌的概况及 Hfgl2 的生物学性质

宫颈癌的发生发展与高危型人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)的持续感染高度相关。虽然宫颈癌筛查的推广及 HPV 疫苗的研发一定程度上提高了宫颈癌的防治效果,但晚期、复发性或转移性患者治疗效果及预后仍较差。近年来,免疫治疗和靶向治疗的发展为宫颈癌的治疗带来了机遇^[4]。Fgl2 凝血酶原酶在正常生理及感染性疾病、自身免疫性疾病和恶性肿瘤等的发生发展中起着重要作用^[6,9],可能有望成为肿瘤靶向治疗的新方向。

Hfgl2 基因位于人类染色体 7q11.23,是一种含有 439 个氨基酸的蛋白质,与纤维蛋白原的 β 和 γ 链有 36% 的同源性。生理情况下,fgl2 以膜型和分泌型两种形式存在。膜型 fgl2(membrane fibrinogen-like protein 2, mfgl2)具有丝氨酸蛋白酶活性,能直接将凝血酶原裂解成凝血酶,导致级联反应^[5],同时还可以诱导纤维蛋白沉积,在微循环障碍和肿瘤血管新生方面发挥重要作用^[5]。分泌型 fgl2(soluble fibrinogen-like protein 2, sfgl2)主要由调节性 T 细胞分泌,能通过抑制树突状细胞成熟、促进 B 细胞凋亡、影响 T 细胞增殖分化及杀伤靶细胞,发挥负性免疫调节作用^[10]。

3.2 Hfgl2 在宫颈癌发生发展中的作用

近年来发现,fgl2 在肝癌、肾癌、结肠癌、乳腺癌、肺癌、胃癌、食管癌和胶质瘤等多种实体瘤中高度表达,提示其可能与肿瘤的发生发展相关^[11]。Ma

等^[12]报道,fgl2 在胶质瘤组织中的表达明显高于正常组织,且参与了低级别胶质瘤向高级别胶质瘤的恶性转化。张岚^[13]研究发现,fgl2 在宫颈癌中表达升高,且与宫颈癌临床分级、病理类型及不良预后有关。本研究发现,Hfgl2 在宫颈癌组织中高表达,并且 FIGO 分期晚、组织学分级差、淋巴结转移者中 Hfgl2 表达增高,提示 Hfgl2 可能与宫颈癌的恶性生物学行为有关,与上述相关文献报道一致。

3.3 Hfgl2 影响宫颈癌恶性生物学行为的作用机制

目前普遍认为,fgl2 主要是通过促进肿瘤的血管形成来发挥促瘤作用。Liu 等^[14]研究报道,fgl2 参与丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路,促进了结直肠癌肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。Xiao 等^[8]研究显示,在暴发型肝炎小鼠模型中,fgl2 通过调节核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)、MAPK 等信号通路促进巨噬细胞极化,加速疾病进展。此外,在脑胶质瘤的研究中发现^[15-16],fgl2 可以促进肿瘤微环境中巨噬细胞的极化和调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)的增殖,从而增强免疫抑制功能来促进胶质瘤的进展。

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是包括宫颈癌在内的多种癌性肿瘤的关键促血管生成因子,一直是靶向抗血管生成治疗的焦点。本研究中,敲降人宫颈癌细胞 HeLa 中 fgl2, VEGFR1 表达明显下调。PLC 与细胞增殖分化密切相关,PLC- γ 属于其一种亚型^[17]。Akt 是生

长因子诱导细胞存活的关键介质, Akt 的活化参与肿瘤的侵袭转移^[18]。MMP 在细胞外基质的降解和转化中起着特殊作用。有研究显示 MMP2 和 MMP9 的表达与宫颈癌扩散风险正相关, 下调后可抑制癌细胞侵袭转移^[19]。本研究显示, 敲降人宫颈癌细胞 Hela 中 fgl2, 宫颈癌细胞体外增殖能力明显降低, 与肿瘤细胞侵袭转移相关蛋白 Akt、PLC- γ 、MMP2 和 MMP9 表达均明显下调, 与上述相关报道一致。我们推测 Hfgl2 可能通过促进宫颈癌肿瘤血管生成、促进细胞增殖及迁移来影响宫颈癌恶性生物学行为的进展。

综上, Hfgl2 在宫颈癌组织中高表达且与宫颈癌 FIGO 分期、病理分级及淋巴结转移有关。Hfgl2 可能促进宫颈癌肿瘤血管生成及浸润生长, 有望成为靶向治疗新方向。后期研究中, 我们将增加样本量探索 Hfgl2 对宫颈癌的免疫调节作用及机制。

[参考文献]

- [1]周晖, 刘昀昀, 罗铭, 等.《2023NCCN 子宫颈癌临床实践指南(第 1 版)》解读[J].中国实用妇科与产科杂志, 2023, 39(2):189-196.
- [2]Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al.Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J].CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [3]Cohen P A, Jhingran A, Oaknin A, et al.Cervical cancer [J].Lancet, 2019, 393(10167):169-182.
- [4]谢鹏, 晏俊芳.复发性子宫颈癌综合诊治中国专家共识(2022 年版)[J].中华肿瘤防治杂志, 2022, 29(24):1715-1724, 1740.
- [5]Yu J, Li J, Shen J, et al.The role of fibrinogen-like proteins in cancer[J].Int J Biol Sci, 2021, 17(4):1079-1087.
- [6]Fu L, Liu Z, Liu Y.Fibrinogen-like protein 2 in inflammatory diseases: a future therapeutic target[J].Int Immunopharmacol, 2023, 116:109799.
- [7]Pulkka O P, Viisanen L, Tynnen O, et al.Fibrinogen-like protein 2 in gastrointestinal stromal tumour[J].J Cell Mol Med, 2022, 26(4):1083-1094.
- [8]Xiao F, Wang H W, Hu J J, et al.Fibrinogen-like protein 2 deficiency inhibits virus-induced fulminant hepatitis through abrogating inflammatory macrophage activation [J].World J Gastroenterol, 2022, 28(4):479-496.
- [9]Fan C, Chen H, Liu K, et al.Fibrinogen-like protein 2 contributes to normal murine cardiomyocyte maturation and heart development[J].Exp Physiol, 2021, 106(7):1559-1571.
- [10]Yang M, Zhang Z, Chen J, et al.Soluble fibrinogen-like protein 2 promotes the growth of hepatocellular carcinoma via attenuating dendritic cell-mediated cytotoxic T cell activity[J].J Exp Clin Cancer Res, 2019; 38(1):351.
- [11]Cherny I, Hasin P, Philosoph L K, et al.Presence and activity of fibrinogen like protein 2 in platelets[J].PLoS One, 2023, 18(5):e0285735.
- [12]Ma X, Zhu H, Cheng L, et al.Targeting FGL2 in glioma immunosuppression and malignant progression[J].Front Oncol, 2022, 12:1004700.
- [13]张岚.宫颈癌患者 Fgl2 凝血酶原酶、D-二聚体表达及与临床预后关系[J].中国计划生育学杂志, 2020, 28(6):868-871, 876.
- [14]Liu X, Chu Y, Wang D, et al.MAPK-mediated upregulation of fibrinogen-like protein 2 promotes proliferation, migration, and invasion of colorectal cancer cells [J].Cell Biol Int, 2019, 43(12):1483-1491.
- [15]Yan J, Zhao Q, Gabrusiewicz K, et al.FGL2 promotes tumor progression in the CNS by suppressing CD103+ dendritic cell differentiation[J].Nat Commun, 2019, 10(1):448.
- [16]Latha K, Yan J, Yang Y, et al.The role of fibrinogen-like protein 2 on immunosuppression and malignant progression in glioma[J].J Natl Cancer Inst, 2019, 111(3):292-300.
- [17]孟凡华, 葛彦明, 王素霞, 等.系统性红斑狼疮的磷脂酶 C- γ 的致病机制及靶向治疗研究进展[J].实用医药杂志, 2017, 34(3):269-271.
- [18]Revathidevi S, Munirajan A K.Akt in cancer: mediator and more[J].Semin Cancer Biol, 2019, 59:80-91.
- [19]Guan C, Wang B, Dong Q.The lncRNA SCIRT promotes the proliferative, migratory, and invasive properties of cervical cancer cells by upregulating MMP-2/-9 [J].J Oncol, 2022, 2022:3448224.

[专业责任编辑:任慕兰]

[中文编辑:郭乐倩;英文编辑:牛惠]