

• 论 著 •

血清可溶性白细胞 G 抗原在宫颈癌及癌前病变的临床诊断意义

田玫玲, 卢庆乐

(山东大学附属省立医院检验科, 山东济南 250022)

摘要:目的 探讨血清可溶性白细胞 G 抗原(sHLA-G)在宫颈癌及癌前病变中的临床诊断价值。方法 用酶联免疫吸附法(ELISA)法测定同期 230 例宫颈癌患者、120 例宫颈上皮内瘤样变(CIN)患者及 30 例健康自愿者的血清 sHLA-G 水平及电化学发光法测定血清中宫颈癌相关抗原(TA-4)和 SCC-Ag 水平,分析其在各组间的差异及与宫颈癌临床病理特征之间的关系。结果 (1)血清中 sHLA-Ag、TA-4 及鳞形细胞癌相关抗原(SCC-Ag)水平的比较:血清 sHLA-G 浓度各组间的差异有统计学意义($P=0.000$);宫颈癌组明显高于对照组和 CIN 各组($P=0.000, P=0.000, P=0.002, P=0.006$);CIN Ⅲ级组明显高于 CIN Ⅰ级组和对照组($P=0.001, P=0.021$)。各组间血清 TA-4 浓度的差异有统计学意义($P=0.006$);宫颈癌组明显高于对照组、CIN Ⅰ级组和 CIN Ⅱ级组($P=0.003, P=0.008, P=0.018$);CIN Ⅲ级组明显高于对照组与 CIN Ⅰ级组($P=0.023, P=0.031$)。各组间血清 SCC-Ag 浓度间的差异有统计学意义($P=0.000$);宫颈癌组明显高于对照组、CIN Ⅰ级组与 CIN Ⅱ级组($P=0.000, P=0.001, P=0.007$);CIN Ⅲ级组明显高于对照组和 CIN Ⅰ级组($P=0.013, P=0.021$)。(2)血清 sHLA-G 与宫颈癌病理特征的关系:宫颈癌患者血浆中 sHLA-G 水平与 FIGO 分期和淋巴结转移密切相关($P=0.008, P=0.031$),而与患者年龄、肿瘤大小及病理类型无关($P>0.05$)。宫颈癌 FIGO 分期Ⅲ、Ⅳ期患者的血清 sHLA-G 水平明显高于Ⅰ、Ⅱ期患者($U=7.125, P=0.008$),伴淋巴结转移患者的血浆 sHLA-G 水平明显高于淋巴结转移阴性患者($U=4.651, P=0.031$)。结论 血清 sHLA-G 水平检测有助于宫颈癌及 CIN Ⅲ的早期诊断及病情评估,有可能成为一种新的早期诊断指标。但其与发生宫颈癌及癌前病变的特异性分析仍有待进一步的相关研究。

关键词:可溶性白细胞 G 抗原; 宫颈癌; 癌前病变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)07-0889-03

Clinical diagnostic value of plasma sHLA-G antigen in cervical cancer and precancerous lesion

Tian Meiling, Lu Qingle

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Provincial Hospital, Shandong University, Jinan, Shandong 250022, China)

Abstract: Objective To explore the clinical diagnostic value of serum soluble human leukocyte antigen-G (sHLA-G) in cervical cancer and precancerous lesion cervical intraepithelial neoplasia(CIN). **Methods** The serum sHLA-G level was detected by using ELISA and serum TA-4 and SCC-Ag levels were detected by using the light-emitting electrochemical immunoassay method detecting in 230 cases of cervical carcinoma, 120 cases of CIN and 30 healthy volunteers. The differences among various groups and their relationship with the clinicopathological features of cervical cancer were analyzed. **Results** (1) The comparison of serum sHLA-G, TA-4 and SCC-Ag levels; there were statistically significant differences in serum sHLA-G level among various groups ($P=0.000$); the serum sHLA-G level in the cervical cancer group was significantly higher than that in the healthy control group, CIN Ⅰ group, CIN Ⅱ group and CIN Ⅲ group ($P=0.000, P=0.000, P=0.002, P=0.006$); which in the CIN Ⅲ group was significantly higher than that in the CIN Ⅰ group and the healthy control group ($P=0.001, P=0.021$). There were statistically significant differences in serum TA-4 level among various groups ($P=0.006$); the serum TA-4 level in the cervical cancer group was significantly higher than that in the healthy control group, CIN Ⅰ group and CIN Ⅱ group ($P=0.003, P=0.008, P=0.018$); which in the CIN Ⅲ group was significantly higher than that in the healthy control group and the CIN Ⅰ group ($P=0.023, P=0.031$). The differences of serum SCC-Ag level among various groups had statistically significant differences ($P=0.000$); which in the cervical cancer group was significantly higher than that in the healthy control group, CIN Ⅰ group and CIN Ⅱ group ($P=0.000, P=0.001, P=0.007$), and which in the CIN Ⅲ group was significantly higher than that in the healthy control group and the CIN Ⅰ group ($P=0.013, P=0.021$). (2) The relationship between serum sHLA-G and pathological features of cervical cancer; the serum sHLA-G level had no significant correlation with the age, tumor size and pathological type ($P>0.05$), while serum sHLA-G was closely related with the FIGO stages and lymph node metastasis ($P=0.008, P=0.031$). The serum sHLA-G level in the FIGO stage Ⅲ and Ⅳ was significantly higher than that in the FIGO stage Ⅰ and Ⅱ ($U=7.125, P=0.008$), and which in the patients with lymph node metastasis was significantly higher than that without lymph node metastasis ($U=4.651, P=0.031$). **Conclusion** The detection of serum sHLA-G level can contribute to the early diagnosis and disease condition evaluation of cervical cancer and CIN Ⅲ, thus which is likely to become a new indicator of early diagnosis of cervical cancer. But its specificity with the occurrence of cervical cancer and precancerous lesion remains to be further investigated by related research.

Key words: serum soluble human leukocyte antigen-G; cervical carcinoma; precancerous lesion

宫颈癌发病率目前在女性恶性肿瘤中居第二位,并且是发展中国家导致女性死亡的主要原因之一,近年来其发病有年轻化的趋势^[1]。流行病学证实人乳头瘤病毒(HPV)感染是引起宫颈癌最主要的危险因素^[2],而人类白细胞 G 抗原(HLA-G)很可能在肿瘤细胞逃逸机体免疫过程中发挥重要作用,从而导致 HPV 的持续感染和宫颈癌的发生和发展^[2-3]。近年来有研究表明,HLA-G 在多种恶性肿瘤细胞中的表达均增加,可通过抑制 NK 细胞和细胞毒性 T 淋巴细胞等免疫细胞的活性而保护肿瘤细胞逃避机体免疫防御系统^[4],提示其可能与肿瘤的发生、发展密切相关。而且有学者提出血清可溶性白细胞 G 抗原(sHLA-G)分子很可能成为一种新的肿瘤标志分子,对生殖系统肿瘤的早期诊断、寻求新的治疗靶点以及预后评估有着重要的研究价值^[4]。然而目前血清 sHLA-G 水平与宫颈癌的发病机制、病理特征等方面的关系缺乏相应的研究报道。因此,本研究通过检测对照人、宫颈上皮内瘤样变(CIN)患者及宫颈癌患者的血清 sHLA-G 水平,以探讨血清 sHLA-G 与宫颈癌的发生、发展及其病理特征之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2007 年 4 月至 2011 年 4 月于本院就诊并经病理学检测诊断为宫颈癌患者 230 例纳入宫颈癌组,同时选择同期经病理学检查诊断为 CIN 患者 120 例,其中 CIN I 级 25 例,CIN II 级 41 例,CIN III 级 54 例,分别纳入 CIN I 级组、CIN II 级组、CIN III 级组。以同期 30 例健康志愿者为对照组,本研究经本院伦理会同意,所有受检者了解研究目的并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 均于上午 7:00~9:00 采集研究对象的空腹静脉血 2 mL,于常温静置 1 h 后于离心机中以 3 000 r/min 的离心 5 min,取上清液并等份分管,置于-80 ℃冷冻保存待检测。所有患者采血前均未行化疗、放疗等治疗。

1.2.2 sHLA-G 测定 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中 sHLA-G 浓度,sHLA-G 试剂盒购于上海酶联公司,测定

仪器采用美国的 550 型 BIO-RAD 酶标仪,最低检测限度为 3 U/mL。用纯化的 HLA-G 抗体包被微孔板并制成固相抗体,再依次加入 HLA-G 抗原、抗人 HLA-G 抗体等,洗涤后用酶底物 TMB 显色,TMB 进而在过氧化氢(H₂O₂)酶的作用下显现黄色,用酶标仪测定其吸光度,从而可计算其浓度。

1.2.3 宫颈癌相关抗原(TA-4)和鳞形细胞癌相关抗原(SCC-Ag)测定 采用电化学免疫发光法测定血清中 TA-4 和 SCC-Ag 浓度,TA-4、SCC-Ag 试剂盒购于上海宝曼生物科技有限公司,测定仪器采用美国雅培公司的 RCHITECT® i2000 全自动电化学发光免疫分析仪,以 TA-4<5 μg/L、SCC-Ag<1.5 μg/L 为阴性。

1.3 统计学处理 用 SPSS18.1 软件进行统计学分析,计数资料采用 χ^2 检验,计量资料做正态性检验时结果显示为偏态,故用中位数(四分位数)描述,两组之间的比较选用 Mann-Whitney U 检验,多组之间的比较选用 Kruskal-Wallis H 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清中 sHLA-Ag、TA-4 及 SCC-Ag 水平的比较 血清 sHLA-G:血清 sHLA-G 浓度各组间相比,差异有统计学意义($P=0.000$);宫颈癌组明显高于对照组和 CIN 各组($P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.002$, $P=0.006$);CIN II 级组和 III 级组间差异无统计学意义($P=0.183$);CIN III 级组明显高于 CIN I 级组和对照组($P=0.001$, $P=0.021$);CIN I 级组与对照组间差异无统计学意义($P=8.175$)。血清 TA-4:各组间血清 TA-4 浓度相比,差异有统计学意义($P=0.006$);宫颈癌组明显高于对照组、CIN I 级组和 CIN II 级组($P=0.003$, $P=0.008$, $P=0.018$);CIN III 级组明显高于对照组与 CIN I 级组($P=0.023$, $P=0.031$)。血清 SCC-Ag:各组间血清 SCC-Ag 浓度间的差异有统计学意义($P=0.000$);宫颈癌组明显高于对照组、CIN I 级组与 CIN II 级组($P=0.000$, $P=0.001$, $P=0.007$);CIN III 级组明显高于对照组和 CIN I 级组($P=0.013$, $P=0.021$),详见表 1。

表 1 各组间的血清 sHLA-Ag、TA-4 及 SCC-Ag 浓度[中位数(四分位数)]

分组	<i>n</i>	sHLA-G(kU/L)	TA-4(μg/L)	SCC-Ag(μg/L)
对照组	30	43.19(37.86~54.25)	1.96(1.45~2.06)	0.41(0.33~0.68)
CIN I 级组	25	45.93(39.33~58.15)	2.15(1.58~2.23)	0.46(0.38~0.69)
CIN II 级组	41	89.54(71.55~116.55)	4.03(3.78~4.37)	0.71(0.53~0.97)
CIN III 级组	54	108.84(77.43~158.84) ^{ab}	4.81(4.55~5.02) ^{ab}	0.83(0.65~1.38) ^{ab}
宫颈癌	230	196.03(161.75~279.96) ^{abcd}	5.06(4.85~5.28) ^{abc}	1.07(0.87~1.96) ^{abc}

^a:与对照组比较, $P<0.05$; ^b:与 CIN I 级组比较, $P<0.05$; ^c:与 CIN II 级组比较, $P<0.05$; ^d:与 CIN III 级组比较, $P<0.05$ 。

2.2 血清 sHLA-G 与宫颈癌病理特征的关系 宫颈癌患者血清中 sHLA-G 水平与国际妇产科联盟(FIGO)分期和淋巴结转移密切相关($U=7.125$, $U=4.651$; P 均 <0.05),而与患者年龄、肿瘤大小及病理类型无关($U=1.175$, $U=2.031$, $P=1.356$,; P 均 >0.05)。宫颈癌 FIGO 分期 III、IV 期患者的血浆 sHLA-G 水平明显高于 I、II 期患者($U=7.125$, $P=0.008$),伴淋巴结转移患者的血浆 sHLA-G 水平明显高于淋巴结转移阴性患者($U=4.651$, $P=0.031$),详见表 2。

表 2 宫颈癌患者血清 sHLA-G 浓度与宫颈癌临床病理之间的关系[中位数(四分位数)]

项目	<i>n</i>	sHLA-G(kU/L)	<i>U</i>	<i>P</i>
年龄(岁)			1.175	0.629
<50	109	174.12(137.28~213.55)		
≥50	121	187.93(144.86~221.47)		
FIGO 分期			7.125	0.008

续表 2 宫颈癌患者血清 sHLA-G 浓度与宫颈癌临床病理之间的关系[中位数(四分位数)]

项目	n	sHLA-G(kU/L)	U	P
I、II	136	158.31(128.15~188.36)		
III、IV	94	233.96(201.58~268.25)		
肿瘤大小(cm)			2.031	0.174
<4	153	163.41(128.79~215.58)		
≥4	77	197.74(173.96~237.18)		
病理类型			1.356	0.317
鳞癌	164	201.13(148.35~244.79)		
腺癌	66	198.52(179.13~239.51)		
淋巴结转移			4.651	0.031
+	102	225.69(185.57~258.16)		
-	128	149.72(103.74~185.59)		

3 讨 论

目前认为宫颈癌的发生、发展是一种由量变到质变,由渐变到突变的慢性进展过程,好发于宫颈的移行带^[2,5]。在外来物质(如 HPV)的刺激与内在环境改变等因素下,宫颈移行带上皮可发生间变或不典型增生,形成 CIN^[2]。CIN 若不经及时合理治疗可继续发展,突破基底膜而向间质浸润,发展为浸润癌^[6]。CIN 发展为浸润癌的时间一般为 5~15 年,故目前普遍认为宫颈癌存在一定的可预防性^[5-6]。然而,宫颈癌的癌前病变临床上常无特殊症状,通过临床体征及妇科检查亦常检查不到明显病灶,故寻求宫颈癌的早期发现、早期诊断及早期治疗的手段,是目前研究的热点^[7]。HLA-G 分子是非经典 HLA-I 类分子的一种,最早于妊娠期胎盘的绒毛外滋养层细胞中发现,其可能通过抑制 NK 细胞的杀伤活性与母体 T 淋巴细胞的细胞毒活性等机制,保护胎儿逃避母体的异体识别功能^[4,7-8]。近年来有研究表明,HLA-G 在生殖系统肿瘤(如乳腺癌、宫颈癌、子宫内膜癌等)中的表达明显增加^[4],提示生殖系统的肿瘤细胞在增殖过程中其基因可能发生反分化现象,从而使癌细胞产生与胎儿相似的免疫耐受现象,逃避机体的免疫监视与攻击^[4,8]。HLA-G 分子分为膜结合型 HLA-G 和可溶性 HLA-G(sHLA-G)2 种,而后者可随体液循环遍布全身^[9],故测定血清中 sHLA-G 分子水平,可能提示与肿瘤相关的信息,为宫颈癌的早期发现及诊断治疗提供临床价值。

本研究显示,血清 sHLA-G 水平在宫颈癌患者明显增加,此结果与 HLA-G 在宫颈癌组织中表达增加的结果一致^[9,10]。研究还显示,CIN II 级组和 III 级组间差异无统计学意义($P=0.183$),CIN III 级组明显高于 CIN I 级组和对照组($P=0.001$, $P=0.021$),CIN I 级组与对照组间差异无统计学意义($P=8.175$),提示血清 sHLA-G 水平在宫颈癌的癌前病变即有明显的增加,而且其增加程度可能与病变的进展过程有关,故血清 sHLA-G 水平很可能成为宫颈癌早期病变或癌前病变的诊断指标之一。本研究还检测了目前常用的宫颈癌生物标志物 TA-4 和 SCC-Ag 的血清水平,发现血清 sHLA-G 水平与其有相似的规律,进一步证实了血清 sHLA-G 有望成为新的宫颈癌生物标志物的可能性,但其与 TA-4、SCC-Ag 诊断价值的比较还需做进一步研究分析。

本研究还分析了血清 sHLA-G 水平与宫颈癌临床特征间的关系。研究显示,血清 sHLA-G 水平与患者年龄、肿瘤大小及病理类型无关($P>0.05$),而与宫颈癌 FIGO 分期与淋巴结

转移密切相关($P=0.008$, $P=0.031$),FIGO 分期 III、IV 期患者的血清 sHLA-G 水平明显高于 I、II 期患者($U=7.125$, $P=0.008$),伴淋巴结转移患者的血清 sHLA-G 水平显著高于淋巴结转移阴性患者($U=4.651$, $P=0.031$),提示 sHLA-G 很可能参与宫颈癌的发生发展及淋巴结转移过程,且与其恶性程度有关,可能作为判断宫颈癌病情及预后评估的指标之一。本研究结果亦与张欣等^[11]报道的结果一致。而郑妮等^[12]的报道显示宫颈癌组织中 HLA-G 水平与淋巴结转移关联无统计学意义,可能与 HLA-G 不同亚型的来源不同有关。有研究报道,sHLA-G 主要由外周血中的单核细胞产生,而不是由肿瘤细胞直接产生,可能解释宫颈癌组织中 HLA-G 表达和血清中 sHLA-G 水平与宫颈癌病理特征之间关系的差异^[13]。

综上所述,血清 sHLA-G 水平的检测不仅有助于宫颈癌的早期发现,而且在评价病情及恶性程度上意义重大。而且其检测手段无创、简便且相对廉价,有望成为宫颈癌新的检测指标之一。但由于其与发生宫颈癌的特异性尚不十分明确,故仍需更多的临床研究以进一步阐明其在宫颈癌早期发现和早期诊断中的临床价值。

参考文献

[1] 黄金双,林蓓. HLA-II 类抗原与妇科恶性肿瘤的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2008,16(4):676-678.

[2] 刘平,於艳霞,梁鸿,等. 宫颈癌患者的 HPV 感染情况分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(1):103-104.

[3] 蒋卫,李宁丽. 人乳头瘤病毒的免疫逃逸机制[J]. 细胞生物学杂志,2008,30(1):25-29.

[4] Lin A,Chen HX,Zhu CC,et al. Aberrant human leukocyte antigen-G expression and its clinical relevance in hepatocellular carcinoma[J]. J Cell Mol Med,2010,14(20):2162-2171.

[5] 徐丹萍,林爱芬,颜卫华. HLA-G 在肿瘤细胞中的表达调控机制研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2012,32(8):755-760.

[6] 吴洁,王以新. 人类白细胞抗原 G 介导的免疫逃逸与宫颈癌发生关系的研究进展[J]. 中国医药,2011,6(3):378-379.

[7] 阮嫣赞,颜卫华,林爱芬. HLA-G 与肿瘤研究进展[J]. 生命科学,2012,24(3):242-249.

[8] Menier C,Rouas-Freiss N,Favier B. Recent advances on the non-classical major histocompatibility complex class I HLA-G molecule[J]. Tissue Antigens,2010,11(3):201-206.

[9] 邓顺生,刘庆猛,何平生. 血清 sHLA-G 水平和绒毛中 HO-1 蛋白的表达与早期流产的相关性研究[J]. 浙江医学,2013,35(21):1908-1910.

[10] 邱建新,罗明,Teraaski PI Miller J. 可溶性人类白细胞抗原 G 表达及其临床意义[J]. 中华细胞与干细胞移植,2009,18(1):46-50.

[11] 张欣,郑妮,王传新,等. 血浆 sHLA-G 在宫颈癌和癌前病变检测中的应用[J]. 中华检验医学杂志,2011,34(1):61-65.

[12] 郑妮,王传新,邓小梅,等. HLA-G 在宫颈癌组织中的表达及临床意义[J]. 山东大学学报:医学版,2010,48(2):128-130.

[13] He X,Dong DD,Yie SM,et al. HLA-G expression in human breast cancer;implications for diagnosis and prognosis,and effect on allocytotoxic lymphocyte response after hormone treatment in vitro[J]. Ann Surg Oncol,2010,17(5):1459-1469.