

论著 · 临床研究

老年宫颈癌患者血清 NO、Gal-9 表达及其与细胞凋亡的相关性研究^{*}

刘爱萍¹, 胡 洁²

(甘肃省妇幼保健院:1. 临床检验中心;2. 整形美容科,甘肃兰州 730050)

摘 要:**目的** 探讨分析老年宫颈癌患者血清一氧化氮(NO)、半乳凝素-9(Gal-9)表达及其与细胞凋亡的相关性。**方法** 选择该院收治的 76 例老年宫颈癌患者作为宫颈癌组,50 例老年子宫颈上皮不典型增生(CIN)患者作为 CIN 组,50 例健康老年人群作为健康对照组,采用流式细胞技术检测 3 组受试者组织细胞凋亡(AI)指数,检测 3 组受试者血清 NO、Gal-9 水平,比较分析 3 组受试者各指标差异及相关性,并分析宫颈癌患者血清 NO、Gal-9 水平与病理特征关系。**结果** 3 组受试者 AI 指数比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),其中宫颈癌组患者 AI 指数明显高于健康对照组,但明显低于 CIN 组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。3 组受试者血清 NO、Gal-9 水平比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),且宫颈癌组患者血清 NO、Gal-9 水平明显高于健康对照组与 CIN 组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。宫颈癌患者血清 NO、Gal-9 水平均与 AI 指数呈正相关(r 分别为 0.813、0.872, $P<0.05$)。宫颈癌临床分期Ⅲ、Ⅳ期患者血清 NO、Gal-9 水平明显高于Ⅰ、Ⅱ期患者,差异具有统计学意义($P<0.05$),肿瘤低分化患者血清 Gal-9 水平明显高于中、高分化患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 血清 NO、Gal-9 参与到了老年宫颈癌发生发展过程中,同时对宫颈癌组织细胞凋亡发挥一定的影响作用,其具体影响机制还需进一步深入研究分析。

关键词:老年; 宫颈癌; 一氧化氮; 半乳凝素 9; 细胞凋亡

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.04.006 **中图法分类号:**R446.11

文章编号:1673-4130(2019)04-0403-04 **文献标识码:**A

Study on the expression of serum NO and Gal-9 and its correlation with apoptosis in elderly patients with cervical cancer^{*}

LIU Aiping¹, HU Jie²

(1. Clinical Testing Center; 2. Plastic Surgery Department, Gansu Maternal and Child Health Care Hospital, Lanzhou, Gansu 730050, China)

Abstract: Objective To investigate and analyze the expression of serum NO and Gal-9 and its correlation with apoptosis in elderly patients with cervical cancer. **Methods** 76 cases of elderly patients with cervical cancer in our hospital as the cervical cancer group, 50 cases of cervical epithelial dysplasia of uterus in elderly (CIN) were taken as CIN group and 50 healthy elderly people as healthy controls were detected by flow cytometry in three subjects tissue apoptosis index (AI) and the detection of serum NO and Gal-9 levels in three groups of subjects, difference analysis and correlation of the indicators of the three groups of subjects, and analyze the relationship between the serum of patients with cervical cancer NO, Gal-9 levels and pathological features. **Results** There was a significant difference in the tissue apoptosis index (AI) between the three groups ($P<0.05$), and the AI index in the cervical cancer group was significantly higher than that in the healthy control group ($P<0.05$), but it was significantly lower than that in the CIN group ($P<0.05$). The serum NO and Gal-9 levels of the three groups were statistically different ($P<0.05$), and the levels of NO and Gal-9 in the cervical cancer group were significantly higher than those in the healthy control group and CIN group ($P<0.05$). The serum levels of NO and Gal-9 in patients with cervical cancer were positively correlated with the value of AI ($r=0.813, 0.872, P<0.05$). The serum NO and Gal-9 levels in patients with stage Ⅲ and Ⅳ of cervical cancer were significantly higher than those in Ⅰ and Ⅱ patients ($P<0.05$). The serum Gal-9 level in patients with poorly differentiated tumors was significantly higher than that in patients with high or inter-

^{*} 基金项目:甘肃省自然科学基金计划(1208RJZA122)。

作者简介:刘爱萍,男,研究员,主要从事临床检验诊断学方向研究。

本文引用格式:刘爱萍,胡洁.老年宫颈癌患者血清 NO、Gal-9 表达及其与细胞凋亡的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2019,40(4):

mediate differentiation ($P<0.05$). **Conclusion** Serum NO and Gal-9 play an important role in the occurrence and development of cervical cancer in elderly patients, and play a certain role in the apoptosis of cervical cancer tissues. The specific mechanisms of their effects need further research and analysis.

Key words: old age; cervical cancer; NO; Gal-9; cell apoptosis

宫颈癌也称为宫颈浸润癌,是女性常见的一种恶性肿瘤,根据近年来流行病学调查研究显示,宫颈癌发病率近年来呈逐年上升趋势^[1]。一氧化氮(NO)是生物体内普遍存在的一种活泼的小分子物质,可参与信息传递、机体免疫应答、血管舒张调节、细胞凋亡等正常生理活动^[2-3]。近年来学者研究表明,NO与多种病理过程相关,尤其与肿瘤血管生成以及肿瘤细胞凋亡等有关^[4]。半乳凝素家族在动植物组织中有广泛分布,可参与机体免疫调节、细胞增殖凋亡、细胞黏附以及RNA转录加工等多种病理生理过程^[5]。其中半乳凝素-9(Gal-9)在机体炎性反应、肿瘤转移、细胞生长分化等方面具有突出的影响^[6]。本研究针对老年宫颈癌患者进行分析,探讨老年宫颈癌患者血清NO、Gal-9表达及其与细胞凋亡的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2015年3月至2017年6月本院收治的76例老年宫颈癌患者作为观察对象,76例患者均经术后病理结果确诊,年龄≥60岁;排除非宫颈原发肿瘤患者、合并其他恶性肿瘤患者。宫颈癌患者年龄60~82岁,平均(69.83±6.12)岁;低分化18例(23.68%)、中分化41例(53.95%)、高分化17例(22.37%);按照国际妇产科联盟(FIGO)病理分期标准:I期16例(21.05%)、II期25例(32.89%)、III期27例(35.53%)、IV期8例(10.53%);组织病理学分型:鳞癌58例(76.32%)、腺癌18例(23.68%);淋巴结转移34例(44.74%)、未转移42例(55.26%)。

再选择同期收治的老年子宫颈上皮不典型增生(CIN)患者50例以及老年健康人群50例作为对照。CIN组年龄60~80岁,平均(68.79±6.38)岁,其中CIN I期28例(56.00%)、CIN II期22例(44.00%)。健康对照组年龄60~83岁,平均(69.57±7.21)岁。3组受试者年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 流式细胞技术测定细胞凋亡指数 分别取宫颈组织、CIN组织以及正常宫颈组织,置于盛有PBS的小烧杯内,使用眼科剪将其反复剪碎后过滤(160目尼龙网筛),制成单细胞悬液,调整细胞浓度为 $1\times10^9/L$ 。取1 mL单细胞悬液,离心后弃去上清,加入1 mL PBS,重复离心后弃去上清。使用预冷的70%乙醇固定细胞,然后置于4℃冰箱内过夜。次日离心5 min,弃去上清后使用PBS漂洗一次,加入PNase酶37℃作用30 min,加入50 μmg/mL碘化丙啶(PI)1 mL,4℃避光染色20 min,过滤,使用FCM

测定。以正常人外周血淋巴细胞作为正常二倍体标准,使用CELLQUEST分析软件计算各组细胞凋亡(AI)指数。

1.2.2 血清NO、Gal-9水平检测 采集3组受试者清晨空腹静脉血5 mL,肝素抗凝,离心分离血清,-40℃保存待测。采用硝酸还原酶法检测受试者血清NO水平,NO检测试剂盒购于南京建成生物工程研究所;采用双单抗夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测受试者血清Gal-9水平,Gal-9 ELISA检测试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司。操作严格按照试剂盒使用说明书进行。

1.3 统计学处理 采用统计学软件SPSS 22.0进行数据处理分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组计量资料比较采用 t 检验,3组计量资料比较采用方差分析;计数资料以率(%)表示,两组计数资料比较采用 χ^2 检验,3组计数资料比较采用秩和检验,相关性分析采用Spearman相关分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 3组细胞凋亡指数比较 3组受试者AI指数比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),其中宫颈癌组患者AI指数明显高于健康对照组,但明显低于CIN组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表 1 受试者细胞凋亡指数(AI)比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	AI	<i>F</i>	<i>P</i>
健康对照组	50	2.38±0.73	28.719	<0.05
CIN组	50	9.33±2.46*		
宫颈癌组	76	6.31±5.60*#		

注:与健康对照组比较,* $P<0.05$;与CIN组比较,# $P<0.05$

2.2 3组血清NO、Gal-9表达比较 3组受试者血清NO、Gal-9水平比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),且宫颈癌组患者血清NO、Gal-9水平明显高于健康对照组与CIN组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表 2 3组受试者血清NO、Gal-9水平比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	NO(μmol/L)	Gal-9(ng/L)
健康对照组	50	23.48±5.92	16.42±2.31
CIN组	50	29.46±6.12*	20.95±3.46*
宫颈癌组	76	42.38±8.30*#	28.56±4.75*#
<i>F</i>		18.294	21.361
<i>P</i>		<0.05	<0.05

注:与健康对照组比较,* $P<0.05$;与CIN组比较,# $P<0.05$

2.3 宫颈癌患者血清 NO、Gal-9 水平与细胞凋亡相关性分析 采用 Spearman 相关分析分析宫颈癌患者血清 NO、Gal-9 水平与 AI 相关性,结果显示,宫颈癌患者血清 NO 水平与 AI 值呈正相关($r=0.813, P<0.05$);宫颈癌患者血清 Gal-9 与 AI 值呈正相关($r=0.872, P<0.05$)。

2.4 血清 NO、Gal-9 水平与老年宫颈癌患者临床病

理特征关系 宫颈癌临床分期Ⅲ、Ⅳ期患者血清 NO、Gal-9 水平明显高于Ⅰ、Ⅱ期患者,差异具有统计学意义($P<0.05$),肿瘤低分化患者血清 Gal-9 水平明显高于中、高分化患者,差异具有统计学意义($P<0.05$),其余临床病理特征对血清 NO、Gal-9 水平无明显影响,见表 3。

表 3 血清 NO、Gal-9 水平与老年宫颈癌患者临床病理特征关系($\bar{x}\pm s$)

临床病理特征	<i>n</i>	NO($\mu\text{mol/L}$)	<i>t</i>	<i>P</i>	Gal-9(ng/L)	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄(岁)							
60~70	43	40.94±9.46	1.275	>0.05	29.17±3.44	1.149	>0.05
>70	33	43.51±7.61			28.04±5.12		
肿瘤分化程度							
低分化	18	43.58±6.47	1.267	>0.05	30.41±3.48	3.071	<0.05
中、高分化	58	40.25±10.52			26.5±5.03		
临床分期							
Ⅰ、Ⅱ	41	39.85±7.29	2.928	<0.05	27.02±4.97	2.504	<0.05
Ⅲ、Ⅳ	35	45.63±9.88			29.67±4.12		
病理组织学分类							
鳞状细胞癌	58	41.52±7.33	1.045	>0.05	29.58±3.61	1.889	>0.05
腺癌	18	43.70±8.94			27.58±4.83		
淋巴结转移							
转移	34	43.25±6.90	0.982	>0.05	29.10±5.03	0.963	>0.05
无转移	42	41.26±10.05			28.09±4.12		

3 讨 论

细胞凋亡是有核细胞在一定条件下通过自身内部机制启动而发生的一种细胞自然死亡的过程,细胞凋亡是一种与有丝分裂相反的方式调节细胞群体相对稳定的重要方式,在细胞发育、增殖、分化以及死亡过程中均发挥重要的影响作用,同时,细胞凋亡对于肿瘤的发生、抗肿瘤药物的治疗以及细胞间信息传递等方面同样具有重要的作用^[7-9]。本研究对健康对照组、CIN 组以及宫颈癌组患者组织进行细胞凋亡检测,结果显示,CIN 患者细胞凋亡率明显高于健康对照组,表明当宫颈上皮细胞发生不典型增生时,细胞凋亡增加,此时仍能维持细胞增殖与死亡之间的平衡;而宫颈癌患者细胞凋亡却较 CIN 患者明显降低,表明随着病变加重至癌变阶段,细胞凋亡率降低,提示宫颈癌的发生发展与细胞凋亡之间有着密切的相关性,随着疾病的进展及细胞内相关基因表达的变化,细胞凋亡受到抑制,导致宫颈上皮细胞平衡被破坏,从而引发癌变^[10-11]。

NO 是一种非常活泼的自由基,可对机体血管、神经系统等发挥重要的调节作用,但 NO 浓度较高时具有一定的细胞毒性,在肿瘤的发生发展中发挥一定的

作用^[12]。近年来学者报道显示,诱导型一氧化氮合酶(iNOS)在子宫颈癌、卵巢癌等多种妇科肿瘤组织中均有明显表达上调趋势,提示肿瘤组织局部 NO 生成增多^[13-14]。Gal-9 在细胞质、细胞外基质以及细胞核内均有分布,研究表明,Gal-9 在胃肠道、肝脏及各种免疫细胞中均有高表达,同时在胃癌、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌等不同肿瘤组织中也检测到了 Gal-9 表达^[15-16]。本研究对比分析 3 组受试者血清 NO、Gal-9 水平,结果显示,宫颈癌患者血清 NO、Gal-9 水平显著高于 CIN 组及健康对照组,而 CIN 组患者血清 NO、Gal-9 水平显著高于健康对照组,提示宫颈上皮细胞不典型增生至癌变过程中,NO 以及 Gal-9 发挥着一定的影响作用,与相关研究报道结果相似^[17]。

关于 NO 对细胞凋亡的影响,研究显示,NO 可诱导肌母细胞、视网膜神经细胞以及巨噬细胞发生凋亡,但是其对肝细胞、B 淋巴细胞凋亡起着抑制作用^[18]。而报道显示,Gal-9 可诱导胸腺细胞、T 细胞以及巨噬细胞的凋亡,同时对肿瘤细胞凋亡、转移等发挥了一定作用^[19-20]。本研究以老年宫颈癌患者作为研究对象,结果显示,患者血清 NO 水平、Gal-9 与老年宫颈癌细胞凋亡呈正相关,提示 NO、Gal-9 参与到

了宫颈癌细胞凋亡过程中,且随着患者肿瘤临床分期的增加,NO、Gal-9 水平显著升高,表明在机体对抗肿瘤发生发展过程中,可能受到 NO、Gal-9 等多种因素的影响,导致细胞凋亡与增殖的平衡被打破。

4 结 论

宫颈癌患者血清 NO、Gal-9 水平显著高于 CIN 组及健康对照组,老年宫颈癌血清 NO 水平、Gal-9 与老年宫颈癌细胞凋亡呈显著正相关关系。血清 NO、Gal-9 参与到了老年宫颈癌发生发展过程中,同时对宫颈癌组织细胞凋亡发挥一定的影响作用,其具体影响机制还需进一步深入研究分析。

参考文献

- [1] 邓凯贤,郑玉华,柳晓春,等.巨噬细胞集落刺激因子在宫颈癌及宫颈上皮内瘤变患者血清中的表达及意义[J].实用医学杂志,2017,33(21):3635-3638.
- [2] 肖晶晶,郭奇桑,王宪政,等. TLR4/NO 通路在高危型 HPV 阳性的子宫颈癌组织和细胞中的表达及意义[J].中华妇产科杂志,2015,50(1):41-47.
- [3] MA H, LIAN M, FENG L, et al. Management of cervical lymph nodes for cN0 advanced glottic laryngeal carcinoma and its long-term results[J]. Acta Otolaryngol, 2014, 134(9):952-958.
- [4] SRIVASTAVA V K, GARA R K, RASTOGI N, et al. Serum vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) as a biomarker in squamous cell carcinoma of head and neck patients undergoing chemoradiotherapy[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(7):3261-3265.
- [5] BON MARDION N, DE R D, BABIN E, et al. Cervical lymph node metastases and T1 squamous cell carcinoma of the lips[J]. B-ENT, 2015, 11(2):89-93.
- [6] 刘丽丹,黄浩梁. 宫颈癌组织长链非编码 RNA XIST、小分子 RNA miR-101-3p 表达变化及其意义[J]. 山东医药, 2017, 57(35):44-46.
- [7] WEISS D, KOOPMANN M, STENNER M, et al. Clinicopathological characteristics of carcinoma from unknown primary in cervical lymph nodes[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2015, 272(2):431-437.
- [8] DONG J, CHENG L, ZHAO M, et al. Tim-3-expressing macrophages are functionally suppressed and expanded in oral squamous cell carcinoma due to virus-induced Gal-9 expression[J]. Tumour Biol, 2017, 39(5):1651-1655.
- [9] 秦瑞英,王宏伟,赵建华,等. AEG-1 siRNA 对宫颈癌细胞株增殖和凋亡影响的研究[J]. 重庆医学, 2014, (17):2139-2141.
- [10] WANG L, LI L, LOU W. Repair of a cervical skin defect using xenogeneic acellular dermal matrix in a patient with advanced laryngeal carcinoma[J]. J Laryngol Otol, 2015, 129(7):715-717.
- [11] 李华,周福祥,王育斌,等. Gal-1 单抗增强 $\gamma\delta$ T 细胞对宫颈癌细胞的杀伤作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20(1):82-86.
- [12] LI Q, WU D, LIU W W, et al. Survival impact of cervical metastasis in squamous cell carcinoma of hard palate[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2013, 116(1):23-27.
- [13] 韩凌斐,郭晓青,胡家昌等. 宫颈癌患者外周血髓源性抑制细胞的比例及其临床意义[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2015, 44(1):32-36.
- [14] 车玉传,苏运钦,温旺荣,等. miR-155-5p 在宫颈癌血清中的表达及其对宫颈癌细胞的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(12):2193-2200.
- [15] KHADEMI B, SOLEIMANPOUR M, GHADERI A, et al. Prognostic and predictive value of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. Oral Maxillofac Surg, 2014, 18(2):187-196.
- [16] FU Z, CHEN D, CHENG H, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α protects cervical carcinoma cells from apoptosis induced by radiation via modulation of vascular endothelial growth factor and p53 under hypoxia[J]. Med Sci Monit, 2015, 27(21):318-325.
- [17] 张蕾,曾凡清. 血清中 SCC-Ag、CEA 和 CA125 联合检测在宫颈癌诊断中的意义[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(10):1708-1710.
- [18] 张茂娜,张弘,张军,等. miR-451a 过表达对宫颈癌细胞增殖和凋亡的影响及其分子机制[J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(11):1145-1148.
- [19] YU J Q, ZHOU Q, ZHU H, et al. Overexpression of astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) in cervical cancer and its correlation with angiogenesis[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(6):2277-2281.
- [20] 陈钢. 全身静脉化疗和髂内动脉栓塞灌注化疗对宫颈癌血管新生及恶性程度的影响[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(11):1145-1148.

(收稿日期:2018-10-22 修回日期:2019-01-04)