

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.015

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.015

## IL-22 基因启动子区甲基化检测在宫颈癌中的临床意义

肖义森<sup>1</sup>, 潘国基<sup>1</sup>, 杨丽梅<sup>1</sup>, 李雪梅<sup>2</sup>

(惠州仲恺高新区人民医院 1. 检验科; 2. 妇产科, 广东 惠州 516229)

**[摘要]** 目的: 检测IL-22基因启动子区域甲基化修饰的改变, 以明确IL-22激活的可能机制及其在宫颈癌中的临床意义。方法: 选取2016年1月至2017年6月惠州仲恺高新区人民医院收治的宫颈癌患者104例, 选取同期我院因子宫良性病变行子宫全切手术的患者60例作为对照。IL-22基因启动子甲基化使用特异性PCR(MSP)检测, ELISA检测IL-22因子表达。结果: 宫颈癌患者IL-22启动子甲基化阳性率为32.7%(34/104)显著高于对照组的15.0%(9/60)( $P<0.05$ ), 宫颈癌患者IL-22表达水平为(28.36±5.48) ng/L, 显著高于对照组的(14.52±1.37) ng/L( $P<0.01$ )。IL-22启动子甲基化阳性率和IL-22因子表达量在临床III, IV期患者为40.4%(19/47)和(30.71±6.11) ng/L, 均显著高于I, II期的26.3%(15/57)和(27.42±4.74) ng/L( $P<0.05$ ); 在淋巴结有转移患者为42.1%(16/38)和(31.02±6.58) ng/L, 显著高于无转移的27.3%(18/66)和(27.42±4.74) ng/L( $P<0.05$ ); 在中、低分化患者为36.6%(26/71)和(30.13±6.37) ng/L, 显著高于高分化的24.2%(8/33)和(24.56±4.85) ng/L( $P<0.05$ )。结论: 宫颈癌患者中IL-22基因启动子高甲基化, IL-22表达增加可能参与宫颈癌的发生、发展和转移过程。

**[关键词]** 宫颈癌; IL-22; 甲基化修饰

## Clinical significance of promoter region methylation of IL-22 gene in uterine cervical cancer

XIAO Yisen<sup>1</sup>, PAN Guoji<sup>1</sup>, YANG Limei<sup>1</sup>, LI Xuemei<sup>2</sup>

(1. Department of Laboratory; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Huizhou Zhongkai High-tech Zone of People's Hospital, Huizhou Guangdong 516229, China)

**Abstract** **Objective:** To detect promoter region methylation of IL-22 gene in uterine cervical cancer (UCC) and explore its clinical significance. **Methods:** One hundred and four uterine cervical cancer patients from Huizhou Zhongkai High-tech Zone of People's Hospital were enrolled in this study. Another 60 patients who underwent total hysterectomy for benign diseases was used as control, during the same period. Methylation of the IL-22 promoter was detected using specific PCR (MSP). IL-22 expression was detected by ELISA. **Results:** The positive rate of IL-22 promoter methylation and IL-22 expression in UCC patients was 32.7% (34/104) and (28.36±5.48) ng/L, which was significantly higher than that of 15.0%(9/60) and (14.52±1.37) ng/L in control group ( $P<0.05$ ). The positive rate of IL-22 methylation and IL-22 expression in III and IV stage group was 40.4% (19/47) and (30.71±6.11) ng/L, which was both higher than that of 26.3% (15/57) and (27.42±4.74) ng/L in I and II stage

收稿日期 (Date of reception): 2017-09-25

通信作者 (Corresponding author): 肖义森, Email: 15018666751@163.com

group ( $P < 0.05$ ). The positive rate of IL-22 methylation and IL-22 expression in lymph node metastasis group was 42.1% (16/38) and (31.02±6.58) ng/L, which was both higher than that of 27.3% (18/66) and (27.42±4.74) ng/L in non-lymph node metastasis group ( $P < 0.05$ ). The positive rate of IL-22 methylation and IL-22 expression in median and low differentiation group was 36.6% (26/71) and (30.13±6.37) ng/L, which was both higher than that of 24.2% (8/33) and (24.56±4.85) ng/L in well differentiation group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** High-methylation of IL-22 was detected in UCC, which increased IL-22 expression. The expression changes may be involved in the occurrence, development and metastasis of cervical cancer.

**Keywords** uterine cervical cancer; IL-22; methylation

宫颈癌(uterine cervical cancer, UCC)是危害妇女健康的常见恶性肿瘤,其发生、发展的详细机制仍未阐明<sup>[1]</sup>,近期免疫细胞以及细胞因子的紊乱在宫颈癌病因研究中成为热点<sup>[2]</sup>。IL-22是Th22分泌的最重要的细胞因子,主要的功能是促进细胞的增殖和组织再生,在肿瘤中的作用越来越受到学者们的关注<sup>[3]</sup>。已有研究<sup>[4]</sup>发现宫颈癌患者Th22细胞和IL-22表达升高,但IL-22激活的机制还有待进一步探讨。甲基化修饰是基因表达调控的一种重要方式,可以控制基因的激活或者失活。本研究旨在检测IL-22基因启动子区域甲基化修饰的改变,以明确IL-22激活的可能机制以及其在宫颈癌中的临床意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选取2016年1月至2017年6月惠州仲恺高新区人民医院收治的宫颈癌患者104例,均经病理确诊,排除标准:伴发自身免疫性疾病以及其他脏器原发肿瘤者;曾接受放疗、化疗或免疫治疗等的患者。患者年龄29~73(59.72±12.26)岁,鳞癌69例,腺癌35例;国际妇产科联盟FIGO临床分期:I期26例、II期31例、III期24例、IV期23例;高分化33例,中分化48例、低分化23例;无淋巴结转移66例,有淋巴结转移38例。选取同期我院因子宫良性病变行子宫全切手术的患者60例作为对照,均经术后病理未检见肿瘤组织,对照组患者年龄31~73(58.75±12.13)岁。宫颈癌和对照患者之间年龄差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有操作经我院伦理学委员会批准后实行,所有患者知晓本研究并签署知情同意书。

### 1.2 IL-22 基因启动子甲基化特异性 PCR(MSP) 检测

取宫颈癌患者和对照组受试者不抗凝静脉血

2 mL, -80 °C冻融破坏红细胞, PBS缓冲液洗涤细胞, 1 000 r/min离心15 min, 取沉淀细胞, 使用美国基因公司基因组DNA提取试剂盒, 提取总基因组DNA, 按照EZ DNA Methylation-Gold™试剂盒(北京天根生物技术有限公司)说明书对DNA进行甲基化修饰及纯化。甲基化以及非甲基化引物由深圳华大基因公司设计以及合成, 甲基化引物5'-TTTTTCAAATCCTTCCAAGCGGCATGC-3'(正向), 5'-ACGCTGAGCCTAAGAAGTGC-3'(反向); 非甲基化引物5'-TTTCAAATCCTTCCAAGCGGCATGC-3'(正向), 5'-ACGCTGAGCCTAAGAAGTGC-3'(反向)。反应条件: 94 °C 2 min; 94 °C 45 s, 62 °C 30 s, 72 °C 45 s, 35个循环, 72 °C 5 min, 美国Applied Biosystems公司9700PCR仪完成基因扩增, 基因扩增产物使用2%琼脂糖凝胶电泳分离产物。

### 1.3 ELISA 检测 IL-22

取宫颈癌患者和对照组受试者不抗凝静脉血2 mL, 1 000 r/min离心15 min, 取上层血清, 放入-80 °C低温保存待检。ELISA检测试剂盒购自美国eBioscience公司, 按照试剂盒说明书步骤操作, 最后美国Bio-Rad MD550型酶标仪470 nm波长处读板。参照标准品计算IL-22因子表达量。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS16.0统计学软件进行分析, 计量资料数据采用 $t$ 检验, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 宫颈癌患者 IL-22 基因启动子甲基化及 IL-22 因子表达的变化

宫颈癌患者IL-22基因启动子甲基化检测到阳性34例, 阳性率为32.7%(34/104), 对照组检

测到阳性9例, 阳性率为15.0%(9/60), 宫颈癌患者IL-22因子表达为(28.36±5.48) ng/L。对照组为(14.52±1.37) ng/L, 宫颈癌患者IL-22基因启动子甲基化阳性率和IL-22因子表达均显著高于对照组( $P<0.05$ , 表1)。

## 2.2 宫颈癌患者 IL-22 基因启动子甲基化及 IL-22 表达的变化与各临床指标的相关性分析

IL-22启动子甲基化阳性率和IL-22因子表达量与宫颈癌患者的年龄和组织类型无显著相关

( $P>0.05$ )。IL-22启动子甲基化阳性率和IL-22因子表达量在临床III, IV期患者为40.4%(19/47)和(30.71±6.11) ng/L, 均显著高于I, II期的26.3%(15/57)和(27.42±4.74) ng/L( $P<0.05$ )。在淋巴结有转移患者为42.1%(16/38)和(31.02±6.58) ng/L, 显著高于无转移的27.3%(18/66)和(27.42±4.74) ng/L( $P<0.05$ )。在中、低分化患者为36.6%(26/71)和(30.13±6.37) ng/L, 显著高于高分化的24.2%(8/33)和(24.56±4.85) ng/L( $P<0.05$ , 表2)。

表1 宫颈癌IL-22基因启动子甲基化及IL-22表达的变化

Table 1 Methylation of IL-22 gene promoter and expression of IL-22 in cervical cancer

分组	<i>n</i>	IL-22启动子甲基化阳性率/[例(%)]	IL-22/(ng·L <sup>-1</sup> )
对照组	60	9 (15.0)	14.52 ± 1.37
宫颈癌组	104	34 (32.7)	28.36 ± 5.48
$\chi^2$		2.617	7.125
<i>P</i>		0.016	<0.001

表2 宫颈癌IL-22基因启动子甲基化阳性率和IL-22在不同临床类型中的表达变化

Table 2 IL-22 gene promoter methylation and expression of IL-22 in different clinical types of cervical cancer

临床指标	<i>n</i>	IL-22启动子甲基化阳性率/[例(%)]	$\chi^2$	<i>P</i>	IL-22/(ng·L <sup>-1</sup> )	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄/岁			0.716	0.382		0.524	0.482
≥50	65	22 (33.8)			28.13 ± 5.37		
<50	39	12 (30.8)			28.74 ± 5.54		
组织类型			0.646	0.453		0.458	0.561
鳞癌	69	23 (33.3)			28.38 ± 5.56		
腺癌	35	11 (31.4)			28.32 ± 5.39		
临床分期			2.543	0.035		2.652	0.037
I, II期	57	15 (26.3)			27.42 ± 4.74		
III, IV期	47	19 (40.4)			30.71 ± 6.11*		
淋巴结转移			2.562	0.031		2.655	0.036
无	66	18 (27.3)			26.83 ± 4.81		
有	38	16 (42.1)			31.02 ± 6.58*		
分化程度			2.545	0.038		2.683	0.032
高分化	33	8 (24.2)			24.56 ± 4.85		
中、低分化	71	26 (36.6)			30.13 ± 6.37*		

## 3 讨论

临床上仍缺少宫颈癌早期诊断和预后评估的肿瘤标志物, 基因检测是一种灵敏度高的肿瘤标

志物发现方法。Th22细胞是一个新发现的T细胞亚群, 调节机体的免疫反应<sup>[5]</sup>, IL-22是Th22细胞分泌的最主要的细胞因子, IL-22通过蛋白酪氨酸激酶-信号转导蛋白和转录激活物(JAK-STAT)、分裂

原活化蛋白激酶(MAPK)细胞信号转导途径, 促进细胞的增殖和组织的再生<sup>[6]</sup>。研究<sup>[7]</sup>观察到恶性肿瘤患者的全身以及局部的肿瘤微环境IL-22表达升高, 提示IL-22可能在肿瘤的发生中发挥一定的作用。启动子甲基化修饰是基因组的表观遗传学修饰, 以此调控目的基因的激活或失活。本研究检测宫颈癌患者IL-22启动子区域甲基化的情况, 结果显示其阳性率显著高于对照非肿瘤患者, 随后检测患者血液中IL-22蛋白的表达, 发现肿瘤患者IL-22蛋白的表达也显著高于对照非肿瘤患者, 说明宫颈癌患者IL-22启动子区域甲基化水平升高起激活IL-22基因表达的作用, 高表达的IL-22有可能参与了宫颈癌的发生过程。王小霞等<sup>[8]</sup>的研究也发现宫颈癌患者外周血和组织中都存在Th22与IL-22的高表达, 与本研究结果相似。

近期, 异常免疫调节在肿瘤的发生、发展中的作用引起了学者们的关注。Th22是一个新发现的免疫调节细胞, Souza等<sup>[9]</sup>研究显示IL-22与宫颈癌的进展密切相关, 本研究也检测到临床III, IV期宫颈癌患者IL-22基因启动子甲基化阳性率和IL-22因子表达显著高于I, II期患者, 病理低分级的患者高于高分级的患者。说明IL-22启动子高甲基化与宫颈癌的病理分级和临床分期密切相关。淋巴结转移分析发现有淋巴结转移的患者IL-22基因启动子甲基化阳性率和IL-22因子表达显著高于淋巴结无转移的患者, 上述的结果提示宫颈癌患者IL-22基因启动子高甲基化可能参与肿瘤向远处的转移。

总之, 宫颈癌患者中IL-22基因启动子高甲基化, IL-22表达增加, 其表达变化可能参与宫颈癌的发生、发展和转移过程。

## 参考文献

1. 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 等. 2012年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(1): 1-8.  
CHEN Wanqing, ZHENG Rongshou, ZHANG Siwei, et al. Report of Cancer Incidence and Mortality in China, 2012[J]. Bulletin of Chinese Cancer, 2016, 25(1): 1-8
2. 袁陆, 张丽杰, 李鸥, 等. 白介素17基因启动子区CpG岛甲基化与宫颈癌的相关性研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(27): 3300-3305.  
YUAN Lu, ZHANG Lijie, LI Ou, et al. Correlation between CpG Island methylation in IL-17 gene promoter and cervical cancer[J]. Chinese General Practice, 2016, 19(27): 3300-3305.
3. 张轶, 李晓英, 师雷锋. 白细胞介素22在疾病中的作用[J]. 免疫学杂志, 2017, 33(8): 711-716.  
ZHANG Yi, LI Xiaoying, SHI Leifeng. The function of IL-22 in diseases[J]. Immunological Journal, 2017, 33(8): 711-716.
4. 徐浩, 吴淋淋, 袁青. Th17、Th22、Treg细胞及相关细胞因子在宫颈癌患者外周血中变化及意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(2): 217-219.  
XU Hao, WU Linlin, YUAN Qing. Changes and significance of Th17, Th22, Treg cells in peripheral blood of uterine cervical cancer patients[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2017, 27(2): 217-219.
5. 田馨莉, 矫俊, 张腾, 等. Th22细胞联合Th17细胞在宫颈癌外周血中的表达及意义[J]. 山东大学学报(医学版), 2015, 53(7): 43-47.  
TIAN Xinli, JIAO Jun, ZHANG Teng, et al. Expression and significance of Th22 and Th17 cells in the peripheral blood of cervical cancer[J]. Journal of Shandong University. Health Sciences, 2015, 53(7): 43-47.
6. 宁珏, 叶华, 朱宇珍, 等. IL-22介导通路在结肠癌发病机制中作用的研究进展[J]. 山东医药, 2017, 57(9): 97-99.  
NING Jue, YE Hua, ZHU Yuzhen, et al. IL-22 mediated pathway in the pathogenesis of colorectal cancer[J]. Shandong Medical Journal, 2017, 57(9): 97-99.
7. Santana AL, Felsen D, Carucci JA. Interleukin-22 and cyclosporine in aggressive cutaneous squamous cell carcinoma[J]. Dermatol Clin, 2017, 35(1): 73-84.
8. 王小霞, 康佳丽, 朱莉. 宫颈癌患者外周血和组织Th22与IL-22表达及其与临床病理特征的关系[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2016, 23(10): 642-647.  
WANG Xiaoxia, KANG Jiali, ZHU Li. Relationship of expression of Th22 and IL-22 in peripheral blood and tissue and clinicopathologic features of patients with cervical carcinoma[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2016, 23(10): 642-647.
9. Souza JM, Matias BF, Rodrigues CM, et al. IL-17 and IL-22 serum cytokine levels in patients with squamous intraepithelial lesion and invasive cervical carcinoma[J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2013, 34(5): 466-468.

本文引用: 肖义森, 潘国基, 杨丽梅, 李雪梅. IL-22基因启动子区甲基化检测在宫颈癌中的临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2017, 37(12): 2601-2604. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.015  
Cite this article as: XIAO Yisen, PAN Guojie, YANG Limei, LI Xuemei. Clinical significance of promoter region methylation of IL-22 gene in uterine cervical cancer[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2017, 37(12): 2601-2604. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.015