

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.12.011

· 临床研究 ·

HOPX在宫颈癌组织和血清中的表达及其与CEA和CA125的相关性

黄丽凤¹, 刘景利¹, 王白石¹, 张立峡², 杨臻³(1. 天津医科大学中新生态城医院 检验科, 天津 300467; 2. 天津市武清区人民医院 肿瘤科, 天津 301700; 3. 天津医科大学肿瘤医院检验科 国家肿瘤临床医学研究中心 天津市肿瘤防治重点实验室 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060)

[摘要] **目的:**探讨HOPX基因在宫颈癌组织和血清中的表达水平及其对宫颈癌HeLa细胞的作用及其机制,并分析其与肿瘤标志物CEA和CA125表达的相关性。**方法:**选取2015年6月至2017年12月天津市滨海人民医院和武清区人民医院50例宫颈癌患者癌组织、癌旁组织和外周血清样本,同时取50例正常人的血清样本。qRT-PCR检测宫颈癌组织和血清中HOPX的表达水平,免疫组化染色检测宫颈癌患者血清中HOPX蛋白的表达,通过NCBI-GEO和TCGA数据库收集宫颈癌组织标本和患者预后的相关数据,分析HOPX基因在宫颈癌组织中的表达水平及其与患者预后的相关性。过表达的HOPX和对照的质粒转染HeLa细胞后,MTT和克隆形成实验检测转染的HeLa细胞的增殖能力,Transwell实验检测HeLa细胞迁移和侵袭能力,Western blotting检测其EMT相关蛋白的表达。**结果:**标本检测和数据库分析均显示,HOPX mRNA和蛋白在宫颈癌肿瘤组织及血清中均低表达,且与患者生存期呈正相关($r=0.736, P<0.05$);HOPX在组织及血清中表达与CEA和CA125的表达显著负相关($r=-0.678, P<0.05$)。过表达HOPX抑制HeLa细胞增殖、迁移和侵袭能力,而且能够促进HeLa细胞中ETM相关的E-cadherin的表达、抑制Vimentin和ICAM1的表达(均 $P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论:**HOPX基因在宫颈癌组织及血清中相对低表达,且与CEA和CA125水平呈负相关,与患者的生存期呈正相关。HOPX结合肿瘤标志物CEA/CA125联合检测可提高宫颈癌患者的早期诊断率,也为宫颈癌的精准治疗提供一个新思路。

[关键词] HOPX; 宫颈癌; HeLa细胞; 癌胚抗原; CA125; 精准医疗

[中图分类号] R730.51; R735.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)12-1276-06

Expression of HOPX in cervical cancer tissues and blood serum and its correlation to CEA and CA125

HUANG Lifeng¹, LIU Jingli¹, WANG Baishi¹, ZHANG Lixia², YANG Zhen³(1. Department of Clinical Laboratory, Zhongxin Eco-city Hospital Affiliated to Tianjin Medical University, Tianjin 300467, China; 2. Department of Oncology, Tianjin Wuqing People's Hospital, Tianjin 301700, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Clinical Research Center for Malignant Tumor of Tianjin City, Tianjin 300060, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of HOPX gene in cervical cancer tissues and blood serum as well as its effect on cervical cancer HeLa cells, and to analyze its correlation to tumor maker CEA and CA125. **Methods:** 50 pairs of cervical cancer tissues and para-cancerous tissues as well as the peripheral blood samples from patients with cervical cancer, who were treated at Tianjin Binhai People's Hospital and Tianjin Wuqing People's Hospital from June 2015 to December 2017, were collected for this study; in addition, 50 samples of blood serum from healthy people were used as control. Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) and immunohistochemical staining (IHC) were used to detect mRNA and protein expressions of HOPX in tissue and serum samples, NCBI-GEO data base and TCGA data base were used to collect the information on HOPX gene and patients' prognosis, and the correlation between HOPX expression and patients' prognosis was analyzed. Vectors over-expressing HOPX or control vectors were transfected into HeLa cells; MTT assay and colony formation assay were used to examine the proliferation ability of HeLa cells, Transwell assay was used to detect the migration and invasion of HeLa cells, and Western blotting was used to detect the expression of EMT-related proteins. **Results:** Both sample examination and data base information showed that the expression level of HOPX was down-regulated in tissue and

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 91629302, 81572790)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 91629302, 81572790)

[作者简介] 黄丽凤(1981-), 硕士, 检验师, 主要从事宫颈癌发生发展分子机制的研究, E-mail: 103926955@qq.com

[通信作者] 杨臻(YANG Zhen, corresponding author), 博士, 讲师, 主要从事miRNA与肿瘤发生发展机制的研究, E-mail: yangzhen0110@126.com

serum samples of cervical cancer patients and was positively related with the survival of patients ($r=0.736, P<0.05$); while its expression was negatively related to the level of CEA and CA125 in cervical cancer tissues and serum ($r=-0.678, P<0.05$). *HOPX* over-expression inhibited cell proliferation, migration and invasion, promoted the expression of E-cadherin but inhibited the expression of Vimentin and ICAM1 (all $P<0.05$ or $P<0.001$). **Conclusion:** *HOPX* is low expressed in cervical cancer tissues and blood samples, and negatively correlated with CEA and CA125, but positively correlated with the survival of patients. Thus, combination of *HOPX* and CEA/CA125 may improve the early diagnosis rate of cervical cancer and provide a new strategy for precision treatment of cervical cancer in future.

[Key words] *HOPX*; cervical cancer; HeLa cell; CEA; CA125; precision medicine

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(12): 1276-1281. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.12.011]

宫颈癌是全球女性中最为恶性的肿瘤类型之一^[1]。有研究^[2]显示,宫颈癌每年新发病例约 527 600 人,是发展中国家女性癌症相关死亡的主要原因之一。尽管在放疗、化疗和手术治疗宫颈癌方面取得了进展,但 III 期和 IV 期宫颈癌患者的 5 年生存率仍然低于 40%^[3]。因此,探索宫颈癌发生和发展的分子机制并确定潜在的精准靶向治疗策略是当务之急。NCBI-GEO 和 TCGA 数据库分析结果显示, *HOPX* (*HOP hmeobox*) 基因又被称为 *HOD*、*HOP*、*OBI*、*LAGY*、*TOTO*、*CAMEO*、*NECCI* 和 *SMAP31*, 定位在 4 号染色体负链 GRCh37 的位置,能够编码蛋白质,其功能与 DNA 靶定、蛋白复合体加工、细胞分化等信号通路相关。*HOPX* 在很多肿瘤组织中低表达,包括鼻咽癌^[4]、头颈癌^[5]、乳腺癌^[6]、肺癌^[7]和结直肠癌^[8],起着抑制肿瘤的作用。但是,目前国内外还没有有关 *HOPX* 基因在宫颈癌中作用的研究报道。因此,本研究主要探讨 *HOPX* 在宫颈癌组织及血清中的表达水平及其对宫颈癌细胞的作用机制,并分析其与肿瘤标志物 CEA 和 CA125 的相关性,旨在为宫颈癌的诊断和治疗提供新的参考依据。

1 资料和方法

1.1 临床资料标本来源

选取 2015 年 6 月至 2017 年 12 月天津市滨海人民医院和武清区人民医院 50 例子宫切除术或宫颈锥切术宫颈癌患者癌组织、癌旁组织和外周血清样本,同时取 50 例正常志愿者的血清样本。50 例宫颈癌患者中,年龄 22~65 岁,平均(47.6±5.9)岁; CIN I 期 18 例、II 期 20 例、III 期 12 例。所用样本均经组织病理学检查确诊。所有患者术前未进行放疗、化疗及生物治疗。本次研究获得患者及其家属的知情同意,并报知医院伦理委员会批准。

1.2 细胞株及主要试剂

HeLa 细胞购自天津中原公司(ATCC 一级代理商), *HOPX*、E-cadherin、ICAM1、Vimentin 和 GAPDH 蛋白抗体购自 Abcam 公司,即用型 PV6000 试剂及 DBA 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。转染质粒 pcDNA3 和过表达 *HPOX* 质粒 p*HOPX*

购自山东维真生物科技有限公司, TRIzol 试剂购自 Sigma 公司,逆转录试剂盒及定量 PCR 相关缓冲液购自南京诺唯赞公司, ELISA 试剂盒购自南京建成生物工程研究所, PCR 引物购自上海吉玛公司, MTT 试剂购自天津鼎国生物技术公司, RPMI 1640 培养基购自 Life 公司,胎牛血清购自 Gibco 公司, Transwell 小室购自天津密理博分公司,流式细胞周期试剂盒购自苏州凯基生物技术公司。

1.3 免疫组化染色检测宫颈癌组织中 *HOPX* 的表达

对所选取的石蜡标本连续切片,厚度为 4 μm,采用 PV-6000 二步法进行免疫组织化学染色, DAB 显色,所有的操作步骤按试剂盒说明书进行。*HOPX* 蛋白免疫组化阳性主要表达于细胞质,以胞浆出现棕黄色颗粒为阳性细胞,其阳性结果判定标准,计算 5 个高倍视野中阳性细胞所占的比例。-: 阳性细胞 < 5%; +: 5% ≤ 阳性细胞 < 30%; ++: 30% ≤ 阳性细胞 < 60%; +++: 60% ≤ 阳性细胞。本研究将 +、++、+++ 合并为阳性,以简化数据处理。

1.4 qRT-PCR 检测宫颈癌组织和血清中 *HOPX* 的表达水平

样本组织及血清的 RNA 均采用 TRIzol 法进行提取,然后按照说明书使用逆转录试剂盒进行逆转录反应,然后进行 qRT-PCR 实验, PCR 反应条件: 94 °C 条件下,预变性 5 min,后进行 35 次循环(循环条件为 94 °C、30 s, 58 °C、30 s, 72 °C、30 s),在 72 °C 的条件下延伸 10 min,最后 4 °C 冷却。所用 qRT-PCR 引物序列见表 1。实验重复 3 次。

1.5 ELISA 实验检测宫颈癌患者血清中 *HOPX* 蛋白表达水平

ELISA 实验严格按照说明书进行操作。检测程序:准备试剂与样本,配制标准品液,加样,将反应板充分混匀后 37 °C 置 30 min 后,用洗涤液将反应板充分洗涤 3 次,在滤纸上印干;加入抗体,将反应板充分混匀后 37 °C 置 30 min,洗板;加酶标抗体工作液,将反应板 37 °C 置 15 min,洗板,加底物工作液,置 37 °C 暗处反应 20 min,加终止液混匀,20 min 内用酶标仪在 450 nm 处测光密度(D)值,以标准品为横坐标, D 值为纵坐标,使用软件作图,画出标准曲线;再根据

样品 D 值计算出测试 HOPX 因子的含量。

表1 qRT-PCR引物序列
Tab. 1 Sequence of qRT-PCR primers

Gene	Sequence primer(5'-3')
HOPX	F: CAGATCCGTCACAGACTAAG R: GACTCAAAGGGAAATGCT
GAPDH	F: TCTGACTTCAACAGCGACAC R: GGTCTACATGGCAACTGTGA

1.6 MTT法检测宫颈癌HeLa细胞增殖活性

取接种有 HeLa 细胞的 96 孔细胞培养板, 转染 HOPX 的过表达质粒及对照质粒, 6 h 后换正常培养液, 37 °C 正常培养。每孔加入 MTT 溶液 10 μ l (5 mg/ml), 37 °C 孵育 4 h 后, 每孔再加 100 μ l DMSO, 振荡 10 min, 用酶联免疫检测仪读取每孔 570 nm 光密度 (D) 值。绘制细胞生长曲线, 检测 HOPX 诱导细胞增殖的活性。实验重复 3 次。

1.7 克隆形成实验检测HeLa细胞集落形成能力

在接种有 HeLa 细胞的 12 孔板中, 转染 pcDNA3 和 HOPX 过表达质粒 24 h 后, 用 0.05% 胰酶消化细胞, 用移液器将细胞吹打称单个细胞, 重悬细胞并计数, 以适当的细胞密度接种于培养皿中, 每孔种细胞 300 个, 使细胞均匀分布于板底, 放入培养箱中连续培养, 每 3 d 更换 1 次培养液。待两周左右至肉眼可见集落时, 弃去原培养液, PBS 洗涤 1 次后加 10% 甲醛固定 30 min, PBS 洗 3 次后用结晶紫染色 10 min, PBS 洗净后晾干, 拍照。实验重复 3 次。

1.8 Transwell实验检测HeLa细胞迁移和侵袭能力

HOPX 过表达质粒及对照质粒转染 HeLa 细胞 24 h 后, 0.05% 的胰酶消化细胞于无血清培养基。重悬细胞后计数板计数, 将含有 6×10^5 /ml HeLa 细胞的 200 μ l 细胞悬液加入铺有基质胶 (迁移实验不加基质胶) 的 Transwell 小室的上室中, 下室中加入 500 μ l 含 20% 胎牛血清的培养基, 每组设置 3 个复孔, 于 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 48 h。取出 Transwell 小室, 用棉签擦掉基质胶及上室未穿膜的 HeLa 细胞, 甲醇固定 30 min, 用 0.1% 结晶紫染色 20 min。用显微镜随机选取 5 个视野计数穿膜细胞数目, 取均值作图。实验重复 3 次。

1.9 流式细胞术实验检测HeLa细胞周期

转染过表达 HOPX 及其对照载体的 HeLa 细胞, 正常培养 24 h, 经胰酶消化后, 用 300 μ l PBS 缓冲液悬浮。2 000 \times g 离心 3 min, 然后按照周期试剂盒实验步骤进行操作, 然后上机进行测试。实验重复 3 次。

1.10 Western blotting检测HeLa细胞EMT相关蛋白的表达水平

转染过表达 HOPX 及其对照载体的 HeLa 细胞, 正常培养 48 h, 500 μ l PBS 缓冲液清洗后, 用 RIPA (购自碧云天公司) 裂解液裂解细胞。裂解后的细胞加 loading 煮沸, 按照实验步骤进行 Western blotting 实验检测 E-cadherin、ICAM-1、Vimentin 蛋白水平的变化。曝片后, 进行拍照。GraphPad 作图并分析数据。实验重复 3 次。

1.11 统计学处理

采用 SPSS18.0 统计学软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析及 SNK- q 检验, 相关性分析采用 Pearson 相关进行验证, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈癌组织中低表达的HOPX基因与患者的预后相关

qRT-PCR 检测结果 (图 1A) 显示, 宫颈癌组织中 HOPX mRNA 的表达水平明显低于癌旁组织 ($P < 0.05$)。NCBI-GEO (GDS3233) 数据库分析结果 (图 1B) 显示, HOPX 基因测序水平在宫颈癌组织及宫颈癌细胞系 (C4-I、CasKi、C33A、HT-3、SiHa、SW756、MS751、ME180、HeLa) 内呈现低丰度。TCGA 数据库分析结果 (图 1C) 显示, HOPX mRNA 水平在宫颈癌组织内低表达 ($P < 0.05$)。TCGA 数据库的生存曲线分析结果 (图 1D) 显示, HOPX 高表达组的肿瘤患者的生存期是高于 HOPX 低表达组肿瘤患者 ($r = 0.736, P < 0.05$)。

2.2 宫颈癌组织中低表达的HOPX蛋白与癌症分期相关

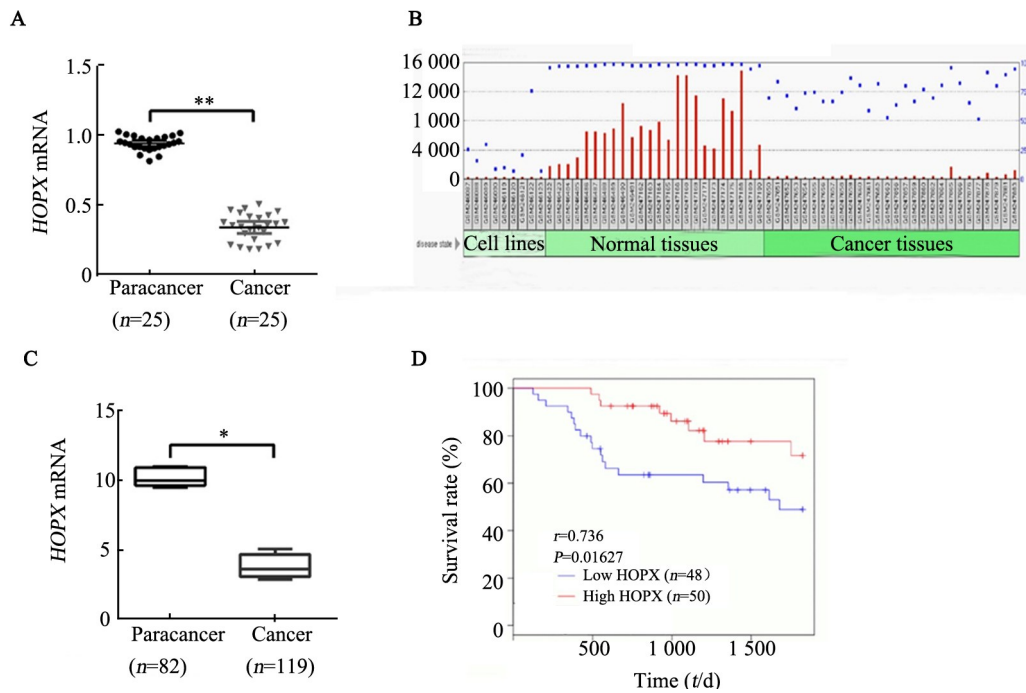
免疫组化染色分析结果 (图 2) 显示, 宫颈癌患者肿瘤分期越高 HOPX 蛋白染色的阳性率越低, 表明随着肿瘤恶性程度的升高, HOPX 蛋白染色的阳性率是逐渐降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.3 宫颈癌患者血清中HOPX mRNA和蛋白低表达

qRT-PCR 检测结果 (图 3A) 显示, 宫颈癌患者血清中 HOPX mRNA 表达水平较正常人血清明显低 ($P < 0.01$)。ELISA 检测结果 (图 3B) 显示, 宫颈癌患者血清中 HOPX 蛋白表达水平较正常人血清明显低表达 ($P < 0.01$)。

2.4 宫颈癌患者组织与癌旁组织中HOPX、CEA及CA125的表达

ELISA 检测结果 (表 2) 显示, HOPX 在宫颈癌组织中表达阳性率明显低于癌旁组织, CEA 和 CA125 在宫颈癌组织中表达阳性率均明显高于癌旁组织 (均 $P < 0.05$)。

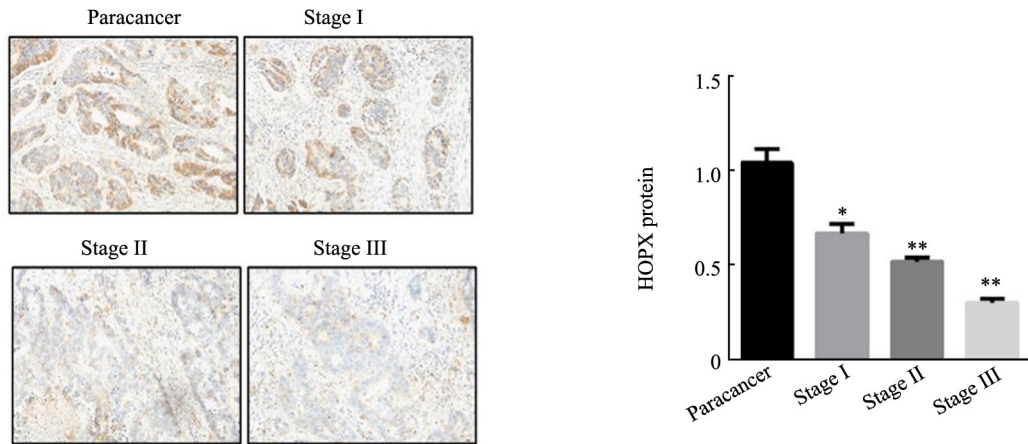


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

A: Expression of *HOPX* mRNA in cervical cancer tissues by qRT-PCR; B: NCBI-GEO database was used to analyze the sequencing of *HOPX* gene; C: Analysis of *HOPX* mRNA expression level by TCGA database; D: Analysis of survival rate of cervical cancer patients by TCGA database

图1 *HOPX*基因在宫颈癌肿瘤组织中低表达且与患者生存期相关

Fig.1 *HOPX* gene was low expressed in cervical cancer tissues and correlated with survival of patients



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Paracancer tissues group

图2 宫颈癌组织中*HOPX*表达与癌症分期相关($\times 200$)

Fig.2 *HOPX* expression in cervical cancer tissues and its correlation to tumor stage($\times 200$)

2.5 宫颈癌组织中 *HOPX* 的表达水平与 CEA、CA125 呈负相关

在 CEA、CA125 蛋白过度表达阳性的 30 例宫颈癌组织中, 有 25 例 *HOPX* 蛋白表达为阴性; 10 例 CEA、CA125 阴性(-)中, 7 例 *HOPX* 蛋白表达阳性(+), Pearson 相关性分析结果显示, 两者呈明显负相

关($r = -0.678, P < 0.05$)。

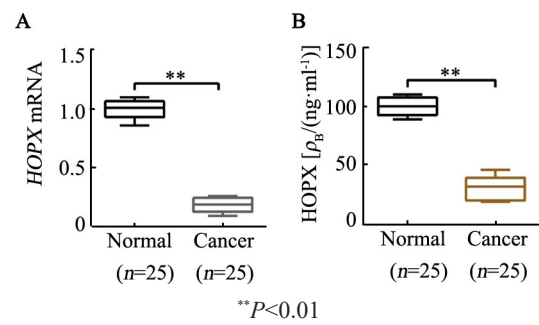
2.6 过表达 *HOPX* 抑制 HeLa 细胞增殖能力和阻滞细胞周期于 G1 期

MTT 实验和克隆形成实验结果(图 4A、B)显示, 过表达 *HOPX* 能够抑制 HeLa 的细胞活性及克隆形成能力($P < 0.05$)。流式细胞术检测细胞周期结果(图

5C)显示,过表达 *HOPX* 能够显著阻滞 HeLa 细胞由 G1 期向 S 期、G2 期的发展 ($P < 0.01$)。

2.7 过表达 *HOPX* 影响 HeLa 细胞迁移、侵袭能力和 EMT 相关蛋白的表达

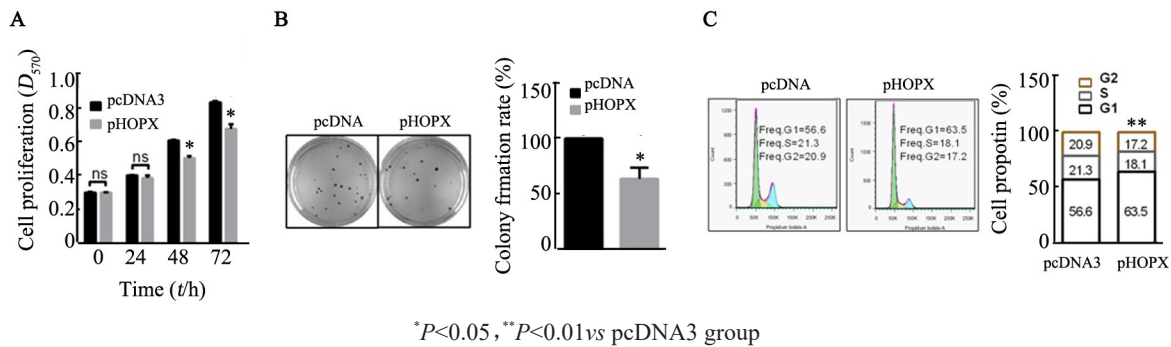
Transwell 迁移和侵袭实验结果(图 5A、B)显示,过表达 *HOPX* 能够抑制 HeLa 细胞迁移和侵袭能力 ($P < 0.01$)。Western blotting 检测结果(图 5C)显示,过表达 *HOPX* 后,能够促进 EMT 相关的上皮标志物 E-cadherin 的表达水平、抑制间质标志物 Vimentin 和 ICAM1 的表达水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



A: Expression level of *HOPX* mRNA; B: Expression level of *HOPX* protein
图 3 *HOPX* mRNA 和蛋白在宫颈癌患者血清中的表达
Fig. 3 Expressions of *HOPX* mRNA and protein in serum of patients with cervical cancer

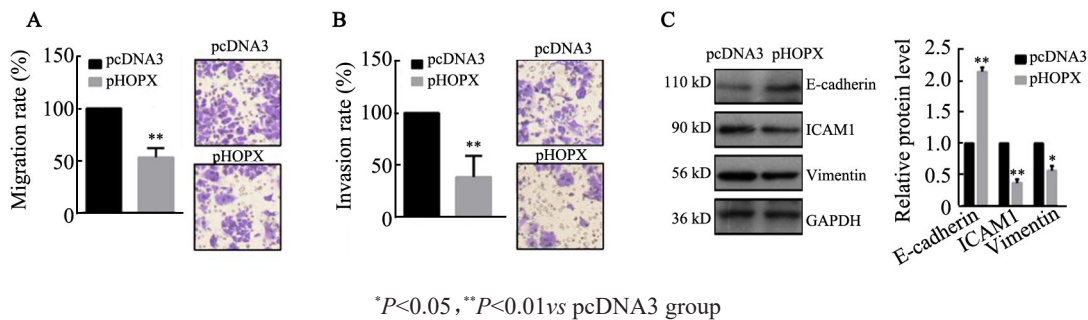
表 2 *HOPX*、CEA 及 CA125 在宫颈癌组织与癌旁组织的表达情况 (n)
Tab. 2 Expression of *HOPX*, CEA and CA125 in cervical cancer tissues and adjacent tissues (n)

Group	N	HOPX		CEA		CA125	
		Low	High	Low	High	Low	High
Cancer tissues	35	28	7	6	29	10	25
Paracancer tissues	25	4	21	22	3	20	3
χ^2			24.0		29.418		15.429
P			<0.05		<0.05		<0.05



A: The effect of over-expression of *HOPX* on the proliferation activity of HeLa cells was detected by MTT; B: Effect of over-expression of *HOPX* on colony formation of HeLa cells by colony forming assay; C: Effect of *HOPX* over-expression on cell cycle of HeLa cells by flow cytometry

图 4 过表达 *HOPX* 对 HeLa 细胞增殖和细胞周期的影响
Fig. 4 Effect of *HOPX* over-expression on proliferation and cell cycle of HeLa cells



A: Transwell migration assay was used to detect the effect of *HOPX* on migration of HeLa cells ($\times 200$); B: Effect of *HOPX* on invasion of HeLa cells was detected by Transwell invasion assay ($\times 200$); C: Western blotting assay was used to detect the effect of *HOPX* on the expression of EMT-related proteins (E-cadherin, ICAM1 and Vimentin)

图 5 过表达 *HOPX* 对 HeLa 细胞迁移、侵袭能力及 EMT 相关蛋白表达的影响
Fig. 5 Effects of *HOPX* over-expression on migration, invasion and expression of EMT-related proteins in HeLa cells

3 讨论

目前,大量研究^[9-13]报道,宫颈癌的发生发展是与某些基因的上调或下调密切相关。*HOPX*作为肿瘤抑制因子通过增强*SNAIL*基因启动子中的组蛋白H3K9去乙酰化来介导*SNAIL*转录的表现遗传沉默,为鼻咽癌转移和治疗提供了潜在的生物标志物^[4]。另外,*HOPX*在头颈癌细胞中能够抑制细胞增殖、平板效率和迁移,并增强对UVA诱导的细胞凋亡的敏感性;*HOPX*在头颈癌中作为肿瘤抑制因子发挥作用,并提示*HOPX*在抑制上皮细胞癌发生中起重要作用^[5]。CHEN等^[7]研究显示,*HOPX*的下调与DNA甲基化有关,并且在肺癌细胞中通过发挥肿瘤抑制活性。但是,*HOPX*的异常表达是否与宫颈癌的发生发展有关还未可知。本研究中发现,*HOPX*的表达水平在宫颈癌组织和血清中都是下降的,其表达水平与宫颈癌的恶性程度呈负相关;并且NCBI-GEO数据库及TCGA数据库分析*HOPX*的表达水平发现,其在宫颈癌中的表达水平也是下降的,这与本研究的检测结果相一致。另外,本研究发现,过表达*HOPX*后能够抑制HeLa细胞的增殖、迁移和侵袭,能够显著抑制HeLa细胞的周期进程。根据上述已经发表的文献内容并结合本实验结果,推测*HOPX*基因作为肿瘤的抑制因子,在很多肿瘤的发生发展中起到重要的调控作用。在不久的将来,很可能会作为临床早期诊断的肿瘤标志物。

多年来,在临床检验诊断学中,CEA和CA125作为肿瘤标志物用来检测患者是否患有肿瘤的可能性^[14-17],但是,其检出效率较低,而且特异性不明显。本研究发现,*HOPX*的表达水平在宫颈癌组织中与CEA、CA125表达水平呈负相关。因此,推测*HOPX*联合CEA和CA125进行检测,会提升宫颈癌早期诊断的效率及特异性。

综上,本研究结果显示,*HOPX*在宫颈癌组织和细胞株中是低表达的,其可作为一个抑癌基因发挥着重要作用;*HOPX*的表达水平与CEA和CA125呈负相关,其与CEA/CA125联合检测,有望在临床上提高宫颈癌早期诊断率;同时,*HOPX*也将可能为肿瘤的精准医疗提供一个新的治疗靶点。

[参考文献]

- [1] BARRA F, LORUSSO D, LEONE ROBERTI MAGGIORE U, et al. Investigational drugs for the treatment of cervical cancer[J]. *Exp Opin Invest Drug*, 2017, 26(4): 389-402. DOI: 10.1080/13543784.2017.1302427.
- [2] TORRE LA, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [3] SMITH R A, BROOKS D, COKKINIDES V, et al. Cancer screening in the United States, 2013: a review of current American cancer society guidelines, current issues in cancer screening, and new guidance on cervical cancer screening and lung cancer screening[J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63(2): 88-105. DOI: 10.3322/caac.21174.
- [4] REN X, YANG X, CHENG B, et al. *HOPX* hypermethylation promotes metastasis via activating Snail transcription in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(22): 14053-14059. DOI: 10.1038/ncomms14053.
- [5] YAP L F, LAI S L, PATMANATHAN S N, et al. *HOPX* functions as a tumour suppressor in head and neck cancer[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38758[2018-08-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5146930/>. DOI: 10.1038/srep38758.
- [6] KIKUCHI M, KATOH H, WARAYA M, et al. Epigenetic silencing of *HOPX* contributes to cancer aggressiveness in breast cancer[J]. *Cancer Lett*, 2017, 384(1): 70-78. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.10.017.
- [7] CHEN Y, YANG L, CUI T, et al. *HOPX* is methylated and exerts tumour-suppressive function through Ras-induced senescence in human lung cancer[J]. *J Pathol*, 2015, 235(3): 397-407. DOI: 10.1002/path.4469.
- [8] KATOH H, YAMASHITA K, WARAYA M, et al. Epigenetic silencing of *HOPX* promotes cancer progression in colorectal cancer[J]. *Neoplasia*, 2012, 14(7): 559-571. DOI: 10.1593/neo.12330.
- [9] DONG J, WANG Q, LI L, et al. Upregulation of long non-coding RNA small nucleolar RNA host gene 12 contributes to cell growth and invasion in cervical cancer by acting as a sponge for miR-424-5p[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(5): 2086-2094. DOI: 10.1159/000488045.
- [10] LIU X F, LI X Y, ZHENG P S, et al. *DAX1* promotes cervical cancer cell growth and tumorigenicity through activation of Wnt/ β -catenin pathway via *GSK3 β* [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 359-365. DOI: 10.1038/s41419-018-0359-6.
- [11] LI C, ZHENG X, LI W, et al. Serum miR-486-5p as a diagnostic marker in cervical cancer: with investigation of potential mechanisms[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 61-67. DOI: 10.1186/s12885-017-3753-z.
- [12] LI X, TIAN R, GAO H, et al. Identification of a histone family gene signature for predicting the prognosis of cervical cancer patients[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 164-167. DOI: 10.1038/s41598-017-16472-5.
- [13] GAO Y, WANG J, ZHOU Y, et al. Evaluation of serum CEA, CA19-9, CA72-4, CA125 and ferritin as diagnostic markers and factors of clinical parameters for colorectal cancer[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(18): 2732-2738. DOI: 10.1038/s41598-018-21048-y.
- [14] 王慧玲, 杨君, 陈瑞香, 等. miR-149-3p通过靶向FOX P3抑制宫颈癌HeLa细胞的恶性生物学行为[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(7): 704-710. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.07.008.
- [15] 贾静, 方健飞, 任娟, 等. 宫颈癌HeLa细胞内SKP2结合蛋白的筛选和功能预测[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(3): 258-262. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.03.008.
- [16] FENG F, TIAN Y, XU G, et al. Diagnostic and prognostic value of CEA, CA19-9, AFP and CA125 for early gastric cancer[J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 737. DOI: 10.1186/s12885-017-3738-y.
- [17] GUO J, YU J, SONG X, et al. Serum CA125, CA199 and CEA combined detection for epithelial ovarian cancer diagnosis: a meta-analysis[J]. *Open Med (Wars)*, 2017, 12(2): 131-137. DOI: 10.1515/med-2017-0020.

[收稿日期] 2018-09-20

[修回日期] 2018-10-18

[本文编辑] 王映红