

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2024.10.007

PCR 技术与肿瘤

宫颈癌组织中 LRRC8A、METTL14 的表达及临床预后价值

王彩丽,王蕊,张文莉,杨杰

基金项目: 陕西省卫生健康科研项目(2020E023)

作者单位: 719000 陕西榆林,榆林市第一医院妇产科

通信作者: 王蕊, E-mail: m18740320595@163.com



【摘要】 目的 分析宫颈癌(CC)组织中富含亮氨酸重复蛋白8A(LRRC8A)、甲基转移酶样蛋白14(METTL14)的表达,探讨两者的临床意义。方法 回顾性选取2019年2月—2021年3月榆林市第一医院妇产科诊治CC术后患者138例的临床资料和病理组织,采用实时荧光定量PCR和免疫组化法检测CC组织中LRRC8A、METTL14 mRNA及蛋白表达;绘制K-M生存曲线,用Log-Rank检验比较曲线的差异;Cox回归模型筛选CC预后影响因素。结果 CC癌组织中LRRC8A、METTL14 mRNA表达量高于癌旁组织($t/P=44.520/<0.001, 42.352/<0.001$),癌组织LRRC8A、METTL14蛋白阳性率高于癌旁组织($\chi^2/P=124.062/<0.001, 107.574/<0.001$);FIGO分期I B2~II A期、淋巴结转移患者癌组织LRRC8A、METTL14蛋白阳性率明显高于I A~I B1期及无淋巴结转移患者(LRRC8A: $\chi^2/P=6.338/0.012, 4.886/0.027$; METTL14: $\chi^2/P=7.547/0.006, 10.294/0.001$);LRRC8A阳性和阴性组3年总生存率分别为71.43%(70/98)、90.00%(36/40);METTL14阳性和阴性组3年总生存率分别为70.65%(65/92)、89.13%(41/46)。Log-Rank检验结果显示,LRRC8A阳性组、METTL14阳性组3年总生存率分别低于LRRC8A阴性组、METTL14阴性组(Log-Rank $\chi^2=5.065, 7.690, P=0.023, 0.006$);Cox回归分析结果表明,LRRC8A阳性、METTL14阳性、FIGO分期I B2~II A期是影响CC患者生存预后的独立危险因素[OR(95%CI)=1.679(1.301~2.166), 1.429(1.156~1.766), 1.713(1.187~2.471)]。结论 CC组织中LRRC8A、METTL14表达升高,与CC患者FIGO分期、淋巴结转移有关,是评估CC患者不良生存预后的标志物。

【关键词】 宫颈癌;富含亮氨酸重复蛋白8A;甲基转移酶样蛋白14;预后**【中图分类号】** R737.33**【文献标识码】** A

The expression and clinical prognostic value of LRRC8A and METTL14 in cervical cancer tissue Wang Caili, Wang Rui, Zhang Wenli, Yang Jie. Department of Obstetrics and Gynecology, First Hospital of Yulin City, Shaanxi Province, Yulin 719000, China

Funding program: Shaanxi Provincial Health Research Project (2020E023)

Corresponding author: Wang Rui, E-mail: m18740320595@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the expression of leucine rich repeat protein 8A (LRRC8A) and methyltransferase like protein 14 (METTL14) in cervical cancer (CC) and explore their clinical significance. **Methods** One hundred and thirty-eight patients with CC who underwent diagnosis and treatment from February 2019 to March 2021 were selected. Immunohistochemistry and real-time fluorescence quantitative PCR were used to detect the expression of LRRC8A and METTL14 in CC. K-M survival curve were drew and the differences between the curves were compared by Log Rank test. The prognostic factors affecting CC were screen by COX regression model. **Results** The expression levels of LRRC8A mRNA and METTL14 mRNA in CC cancer tissues were higher than those in adjacent tissues($P=44.520/<0.001, 42.352/<0.001$). The positive rates of LRRC8A protein and METTL14 protein in cancer tissues were higher than those in adjacent tissues (all $P<0.001$). The positivity rates of LRRC8A and METTL14 proteins in cancer tissues of patients with FIGO staging I B2-IIA and lymph node metastasis were higher ($P<0.05$). The 3-year overall survival (OS) of LRRC8A positive and negative groups were 71.43% (70/98) and 90.00% (36/40), respectively; The 3-year OS of METTL14 positive and negative groups were 70.65% (65/92) and 89.13% (41/46), respectively. Log Rank test showed that the overall 3-year survival rate of the LRRC8A positive group and the METTL14 positive group was lower than that of the LRRC8A negative group and the METTL14 negative group, with statisti-

cally significant differences (Log Rank $\chi^2=5.065, 7.690, P=0.023, 0.006$). LRRC8A positive and METTL14 positive groups, as well as FIGO staging stages IB2-IIA, were independent risk factors $OR(95\% CI)=1.679 (1.301-2.166), 1.429 (1.156-1.766), 1.713 (1.187-2.471)$]. **Conclusion** Elevated expression of LRRC8A and METTL14 in CC are associated with FIGO staging and lymph node metastasis in CC patients, and are biomarkers for signal assessment of poor survival prognosis in CC patients.

【Key words】 Cervical cancer; Rich in leucine repeat protein 8A; Methyltransferase like protein 14; Prognosis

宫颈癌(cervical cancer, CC)为女性第四大常见恶性肿瘤,全世界每年新发例数 60 万,死亡例数 34.2 万^[1]。CC 的治疗包括手术及放化疗等,但中晚期 CC 患者术后肿瘤复发及转移的风险较高^[2]。富含亮氨酸重复蛋白 8A (leucine rich repeat containing 8 VRAC subunit A, LRRC8A) 属于富含亮氨酸的蛋白质重复家族,参与包括细胞黏附、细胞运输和激素受体相互作用等多种生物过程^[3]。研究表明,胃癌、肺癌等肿瘤中 LRRC8A 表达上调,其能够抑制 p53 的表达,促进癌细胞的恶性增殖及转移^[4-5]。甲基转移酶样蛋白 14 (methyltransferase 14, METTL14) 具有与信使核糖核酸结合及 N6-甲基腺苷 (N6-methyladenosine, m6A) 甲基转移酶的活性,参与信使核糖核酸代谢及翻译调节过程,与造血祖细胞分化、个体发育及炎症反应关系密切^[6]。研究表明, METTL14 能够促进癌基因 c-Met mRNA 的 m6A 修饰,上调 c-Met 的表达,促进癌细胞的恶性增殖^[7]。目前 CC 组织中 LRRC8A、METTL14 表达的临床意义尚不清楚。本研究通过分析 CC 组织中 LRRC8A、METTL14 的基因和蛋白表达,探讨两者的预后价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性选取 2019 年 2 月—2021 年 3 月榆林市第一医院妇产科诊治 CC 术后患者 138 例的临床资料,年龄 32~79 (57.54±7.16) 岁;病理类型:鳞癌 93 例,腺癌 45 例;浸润深度: <1/2 肌层 85 例, ≥1/2 肌层 53 例;肿瘤大小: <4 cm 88 例, ≥4 cm 48 例;分化程度:高中分化 90 例,低分化 48 例;FIGO 分期: I A~I B1 期 96 例, I B2~II A 期 42 例;淋巴结转移 39 例。本研究获得医院伦理委员会批准(2021-009),患者和家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①经病理组织学检查明确为 CC; ②初次诊治,病理切缘阴性; ③临床资料完整; ④ FIGO 分期 I A~II A。(2) 排除标准: ①合并其他器官的恶性肿瘤; ②入院前有放化疗及免疫治疗等; ③合并严重心脑血管疾病、肺栓塞等。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 LRRC8A、METTL14 mRNA 检测: 将术中获取的

癌及癌旁组织(距离肿瘤边缘>2 cm)各约 50 mg,研钵中研磨后,离心留取研磨后的组织上清。利用 TRIzol 试剂提取其中的总 RNA,将 RNA 逆转录为 cDNA(逆转录试剂盒购自日本 Takara 公司,货号 RR901Q)。然后采用 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 试剂盒(北京伊塔生物科技有限公司,货号 SY4008)进行实时荧光定量 PCR 反应。实时荧光定量 PCR 反应仪购自美国赛默飞公司,型号 ABI7500。引物由北京睿博兴科生物公司提供,反应程序: 94℃ 5 min, 1 个循环, 94℃ 34 s, 62℃ 30 s, 72℃ 32 s, 共计 40 个循环。引物序列如下: LRRC8A 上游 5'-AGTGCCGACAGCATTTGGTG-3', 下游 5'-GGAGCAGAGGTATCATAGGAAGC-3'; METTL14 上游 5'-GAACACAGAGCTTAAATCCCCA-3', 下游 5'-TGT-CAGCTAAACCTACATCCCTG-3'; GAPDH 上游 5'-GAGTGTGTTTACGAAAATGGGGT-3', 下游 5'-CCGTCTGTGCTACGCTTCA-3'。以 GAPDH 为内参,采用 2^{-ΔΔCT} 法评估 LRRC8A、METTL14 mRNA 的相对表达量。

1.3.2 LRRC8A、METTL14 蛋白检测: 采用免疫组化法。调取病理科 CC 癌和癌旁组织的石蜡切片,按照常规免疫组化步骤进行染色(SP 法),由 1 名专业的病理科医师完成。LRRC8A、METTL14 兔多克隆抗体(购自美国 Abcam 公司,货号 ab157487、ab220030) 稀释比为 1:100, DAB 显色后镜下观察(购自日本尼康公司,型号 JCM-5000),分别进行半定量的染色强度评分(0 分无染色; 1 分淡黄色; 2 分棕黄色; 3 分棕褐色)和染色面积评分(0 分 ≤5%; 1 分 6%~25%; 2 分 26%~50%; 3 分 51%~100%)。两项乘积>2 为阳性, ≤2 为阴性。LRRC8A 阳性和阴性组分别为 98 例、40 例, METTL14 阳性和阴性组分别为 92 例、46 例。

1.3.3 随访方法: 随访起点为患者手术后即刻,随访截止时间为术后 3 年, 3~6 个月随访 1 次,采用门诊随访,随访截至 2024 年 4 月 1 日。记录患者因 CC 复发转移等造成死亡的时间。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件对数据进行分析。正态分布计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验或配对 *t* 检验; 计数资料以频数或率

(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;Kaplan-Meier法(Log-Rank检验)比较组间的生存曲线差异;Cox比例风险回归模型筛选CC预后影响因素。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈癌和癌旁组织 LRRC8A、METTL14 基因和蛋白表达比较 癌组织 LRRC8A、METTL14 mRNA 表达量均高于癌旁组织 ($P<0.01$)。癌组织 LRRC8A、METTL14 蛋白位于细胞浆和细胞膜。癌组织 LRRC8A、METTL14 蛋白阳性率均高于癌旁组织 ($P<0.01$),见表 1、图 1。

2.2 LRRC8A 蛋白、METTL14 蛋白在不同临床病理参数中的差异 CC 癌组织 LRRC8A、METTL14 蛋白阳性率在 FIGO 分期 I B2~II A 期、淋巴结转移中均高于 FIGO 分期 I A~I B1 期、无淋巴结转移患者 ($P<0.01$),见表 2。

2.3 LRRC8A、METTL14 蛋白水平与 CC 患者临床预后的关系 CC 患者随访中,肿瘤相关死亡 32 例,3 年总生存率为 76.81%(106/138)。LRRC8A 阳性和阴性组 3 年总生存率分别为 71.43%(70/98)、90.00%(36/40); METTL14 阳性和阴性组 3 年总生存率分别

为 70.65%(65/92)、89.13%(41/46)。Log-Rank 检验结果显示,LRRC8A 阳性组、METTL14 阳性组 3 年总生存率低于 LRRC8A 阴性组、METTL14 阴性组(Log-Rank $\chi^2=5.065、7.690,P=0.023、0.006$),见图 2。

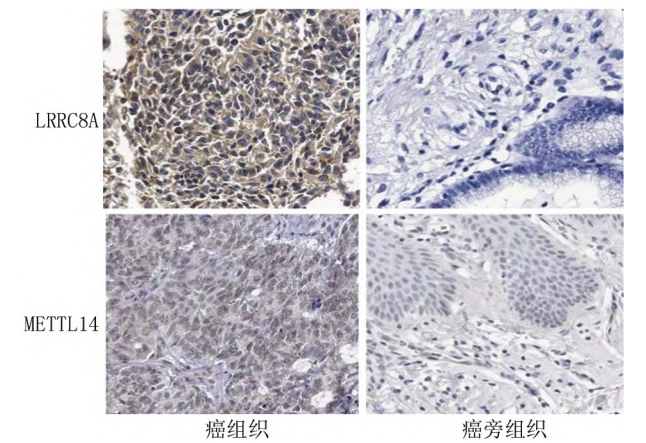


图 1 宫颈癌和癌旁组织中 LRRC8A、METTL14 蛋白表达(免疫组化染色,×200)

Fig.1 Expression of LRRC8A protein and METTL14 protein in cervical cancer and adjacent tissues (immunohistochemical staining, × 200)

表 1 宫颈癌和癌旁组织中 LRRC8A、METTL14 mRNA 和蛋白表达比较

Tab.1 mRNA and protein expression of LRRC8A and METTL14 in cervical cancer and adjacent tissues					
组 别	n	LRRC8A mRNA($\bar{x}\pm s$)	METTL14 mRNA($\bar{x}\pm s$)	LRRC8A 蛋白 例(%)	METTL14 蛋白 例(%)
癌旁组织	138	1.02±0.24	1.13±0.33	8(5.80)	9(6.52)
癌组织	138	3.02±0.47	3.32±0.51	98(71.01)	92(66.67)
t 值		44.520	42.352	124.062	107.574
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 不同临床病理参数 CC 癌组织中 LRRC8A、METTL14 蛋白表达的比较 例(%)

Tab.2 Comparison of LRRC8A and METTL14 protein expression in CC cancer tissues with different clinical pathological parameters								
项 目	例数	LRRC8A 蛋白阳性 (n=98)	χ^2 值	P 值	METTL14 蛋白阳性 (n=92)	χ^2 值	P 值	
年龄	≤60 岁	87	60(68.97)	0.480	0.488	53(60.92)	3.499	0.061
	>60 岁	51	38(74.51)			39(76.47)		
病理类型	鳞癌	93	65(69.89)	0.174	0.676	58(62.37)	2.374	0.123
	腺癌	45	33(73.33)			34(75.56)		
肿瘤大小	<4 cm	89	67(75.28)	2.217	0.137	59(66.29)	0.016	0.900
	≥4 cm	49	31(63.27)			33(67.35)		
肌层浸润深度	<1/2 全层	85	58(68.24)	0.830	0.362	54(63.53)	0.980	0.322
	≥1/2 全层	53	40(75.47)			38(71.70)		
肿瘤分化程度	高中分化	90	59(65.56)	3.746	0.053	56(62.22)	2.300	0.290
	低分化	48	39(81.25)			36(75.00)		
FIGO 分期	I A~I B1 期	96	62(64.58)	6.338	0.012	57(59.38)	7.547	0.006
	I B2~II A 期	42	36(85.71)			35(83.33)		
淋巴结转移	无	99	65(65.66)	4.886	0.027	58(58.59)	10.294	0.001
	有	39	33(84.62)			34(87.18)		

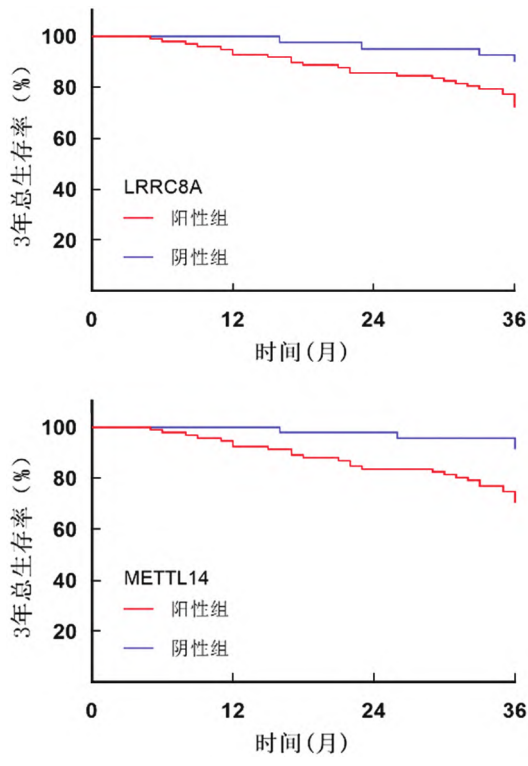


图2 K-M 曲线分析 LRRC8A 蛋白/METTL14 蛋白水平与 CC 患者临床预后的关系

Fig.2 K-M curve analysis of the relationship between LRRC8A protein/METTL14 protein expression and clinical prognosis in CC patients

2.4 影响 CC 患者生存预后的多因素 Cox 回归分析
以患者的生存预后为因变量(1=死亡,0=存活),将上述结果中差异有统计学意义的因素为自变量进行多因素 Cox 回归分析,结果显示:LRRC8A 阳性、METTL14 阳性、FIGO 分期 I B2~II A 期是影响 CC 预后的危险因素(P 均 <0.01),见表 3。

表 3 影响 CC 患者生存预后的多因素 Cox 回归分析

Tab.3 Multivariate Cox regression analysis of factors affecting the survival prognosis of CC patients

因素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR 值	95%CI
FIGO I B2~II A 期	0.538	0.187	8.277	<0.001	1.713	1.187~2.471
淋巴结转移	0.242	0.182	1.768	0.332	1.274	0.892~1.820
LRRC8A 阳性	0.518	0.130	15.877	<0.001	1.679	1.301~2.166
METTL14 阳性	0.357	0.108	10.927	<0.001	1.429	1.156~1.766

3 讨论

CC 是女性生殖系统常见的恶性肿瘤,近年来其发病率和病死率总体呈不断上升的趋势^[8]。早期 CC 以手术治疗为主,术后预后较好,但合并淋巴结转移、切缘阳性等高危因素的 CC 患者肿瘤术后容易出现复发

转移,预后不佳^[9]。探究影响 CC 患者预后的相关因素,对于临床工作中评估 CC 患者的预后,指导 CC 的临床诊治意义重大。

LRRC8A 是表达于细胞膜的保守的跨膜蛋白,结构上具有富含亮氨酸重复序列,参与构成体积阴离子通道,在 B 细胞发育和功能维持、细胞自噬及细胞凋亡中发挥重要的调控作用^[10]。研究表明,食管鳞癌中 LRRC8A 的表达上调能够抑制 p21 和 p27 的表达,促进细胞周期由 G1 到 M 期的转变,促进癌细胞的恶性增殖^[11]。本研究中,CC 癌组织中 LRRC8A 的 mRNA 和蛋白表达均显著上调,与既往学者在人类肿瘤基因组图谱数据库分析结果一致^[12],但该研究未能对 LRRC8A 在蛋白水平进行大样本验证,本研究进一步证实 CC 组织中 LRRC8A 蛋白表达显著上调,提示 LRRC8A 促进 CC 的肿瘤发生。CC 中 LRRC8A 的表达上调与其 mRNA 的稳定性增加有关。既往学者报道,NOP2/Sun RNA 甲基转移酶家族成员 2 能够促进 CC 癌细胞中 LRRC8A mRNA 的 5 甲基胞嘧啶修饰,增加 LRRC8A mRNA 的稳定性,上调 LRRC8A 的蛋白表达,LRRC8A 蛋白与 RNA 结合蛋白 Y-盒结合蛋白 1 相互作用,促进 CC 癌细胞的恶性增殖和转移^[13]。本研究中,FIGO 分期 I B2~II A 期、淋巴结转移 CC 组织中 LRRC8A 表达升高,表明 LRRC8A 参与 CC 的肿瘤进展。分析其原因,LRRC8A 是介导细胞内多条信号通路传导的中心介质,其表达上调能够促进癌细胞的增殖和转移。研究表明,LRRC8A 与磷脂酰肌醇-4-磷酸 5-激酶 1 型 β 结合,磷酸化激活丝裂原活化蛋白激酶、磷酸腺苷激活的蛋白激酶和趋化因子信号通路,促进癌细胞的侵袭和迁移^[13]。此外,LRRC8A 作为一种氯离子通道蛋白,其高表达还能够促进 Jacus 相关激酶磷酸化激活,促进转化生长因子 β 介导的细胞迁移和侵袭,导致肿瘤恶性进展^[14]。本研究中,LRRC8A 阳性的 CC 患者随访中具有较高的死亡风险,提示 LRRC8A 的表达有助于评估 CC 患者的生存预后。笔者分析,LRRC8A 作为氯离子通道的关键蛋白,其能促进癌细胞中牛磺酸及谷氨酸等物质进入细胞,促进肿瘤细胞增殖、侵袭及转移,增加肿瘤术后进展的风险。此外,LRRC8A 还能够抑制顺铂和卡铂化疗药物进入细胞,降低化疗治疗的有效性,导致患者不良预后,动物实验证实敲除 LRRC8A 能够增强顺铂和卡铂诱导的癌细胞 DNA 损伤,促进癌细胞凋亡,改善化疗耐药性^[15]。

METTL14 是甲基转移酶复合物的核心成分,广泛表达于真核细胞中,参与细胞内 m6A 修饰动态过程的

调控。近年来发现,卵巢癌、子宫内膜癌等妇科恶性肿瘤中 METTL14 表达上调,其能够以 m6A 修饰依赖的方式促进癌细胞的侵袭和转移,导致肿瘤进展^[6-7]。本研究中,CC 组织中 METTL14 表达明显升高,这与既往学者在 CC 肿瘤细胞中观察结果一致^[8],但该研究是基于 GEPIA 数据库对 CC 中 METTL14 mRNA 的表达进行检测,本研究进一步在蛋白水平证实 CC 中 METTL14 蛋白水平升高,提示 METTL14 参与 CC 的肿瘤发生。有研究表明,PIWI 相互作用 RNA-14633 在 CC 组织和肿瘤细胞中高表达,其促进 METTL14 mRNA 的甲基化修饰及增强 METTL14 mRNA 稳定性,上调细胞色素 P450 家族 1 亚家族 B 成员 1 的表达,促进 CC 细胞的增殖、迁移和侵袭^[9]。本研究中, METTL14 与较差的临床病理参数相关。分析其机制, CC 肿瘤细胞系 SiHa 和 C33a 中 METTL14 的表达上调能够磷酸化激活磷脂酰肌醇 3 激酶/Akt/人类哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路,上调抗凋亡相关蛋白如 Bcl-2 的表达,促进癌细胞的增殖、迁移和侵袭,抑制肿瘤细胞凋亡,导致肿瘤恶性进展^[20-21]。此外,CC 组织中 METTL14 的表达上调还能够促进糖酵解,导致肿瘤微环境中乳酸堆积,上调肿瘤相关巨噬细胞中程序性细胞死亡蛋白 1 的表达,抑制肿瘤细胞逃逸 CD8⁺T 淋巴细胞的免疫杀伤能力,导致肿瘤的免疫逃逸^[22]。本研究中, METTL14 的表达上调能够增加 CC 患者不良预后的风险。既往有学者发现, METTL14 的表达上调能够增加 CC 细胞中硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 mRNA 的 m6A 修饰及 mRNA 的稳定性,促进脂质代谢,促进三酰甘油和脂肪酸的细胞内蓄积,导致 CC 细胞的增殖和转移,增加 CC 患者术后肿瘤转移的风险^[23-24]。此外, METTL14 能够促进蛋白质精氨酸甲基转移酶 3 相互作用,增加谷胱甘肽过氧化物酶 4 mRNA 的稳定性,降低顺铂化疗及 X 线放射治疗诱导的细胞脂质过氧化水平,促进肿瘤耐药性及放疗抵抗性形成^[25]。

综上所述,CC 组织中 LRRC8A、METTL14 表达升高,与 CC 患者 FIGO 分期、淋巴结转移有关,是评估 CC 患者不良生存预后的标志物。但是本研究也存在局限性。本研究通过 qPCR 试验和免疫组化试验验证 LRRC8A、METTL14 在 CC 组织中的差异表达,但 LRRC8A、METTL14 在 CC 组织中确切的作用机制需要更多的后续试验进行验证。其次,本研究还发现 LRRC8A、METTL14 对于 CC 患者的预后具有良好的临床评估价值,仍然还需要更多的前瞻性大样本的临床研究验证 LRRC8A、METTL14 的预后价值。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

王彩丽:设计研究方案,实施研究过程,分析试验数据,论文撰写;王蕊:进行文献调研与整理,提出研究思路,收集并分析试验数据,论文审核;张文莉:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;杨杰:数据收集,进行统计学分析

参考文献

- [1] Buskwofie A, David-West G, Clare CA. A review of cervical cancer: Incidence and disparities [J]. J Natl Med Assoc, 2020, 112(2): 229-232. DOI: 10.1016/j.jnma.2020.03.002.
- [2] He B, Chen W, Liu L, et al. Prediction models for prognosis of cervical cancer: Systematic review and critical appraisal [J]. Front Public Health, 2021, 9(8): 6544-6554. DOI: 10.3389/fpubh.2021.654454.
- [3] Goldsmith EJ, Huang CL. LRRC8A reduces intracellular chloride to permit WNK activation in response to hypertonic stress [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118(32): 2109-2124. DOI: 10.1073/pnas.2109432118.
- [4] Kurashima K, Shiozaki A, Kudou M, et al. LRRC8A influences the growth of gastric cancer cells via the p53 signaling pathway [J]. Gastric Cancer, 2021, 24(5): 1063-1075. DOI: 10.1007/s10120-021-01187-4.
- [5] Xu R, Hu Y, Xie Q, et al. LRRC8A is a promising prognostic biomarker and therapeutic target for pancreatic adenocarcinoma [J]. Cancers (Basel), 2022, 14(22): 5526-5534. DOI: 10.3390/cancers14225526.
- [6] Zheng Y, Li Y, Ran X, et al. Mettl14 mediates the inflammatory response of macrophages in atherosclerosis through the NF-kappaB/IL-6 signaling pathway [J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(6): 311-323. DOI: 10.1007/s00018-022-04331-0.
- [7] Miyake K, Costa CP, Nagatomo I, et al. A cancer-associated METTL14 mutation induces aberrant m6A modification, affecting tumor growth [J]. Cell Rep, 2023, 42(7): 1126-1138. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.112688.
- [8] 王瑾瑶, 张年萍, 白志强, 等. 1993—2017 年中国宫颈癌发病率和死亡率长期趋势的年龄-时期-队列模型分析 [J]. 中国全科医学, 2022, 25(13): 1564-1568. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0074.
- [9] 玛丽亚木古丽·克依木, 热孜婉古丽·吾布力, 克热曼·牙库甫, 等. 基于列线图生存预测模型探讨血清学指标对宫颈癌预后的判断价值 [J]. 疑难病杂志, 2023, 22(11): 1186-1190. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.11.013.
- [10] Serra SA, Stojakovic P, Amat R, et al. LRRC8A-containing chloride channel is crucial for cell volume recovery and survival under hypertonic conditions [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(23): 3118-3128. DOI: 10.1073/pnas.2025013118.
- [11] Konishi T, Shiozaki A, Kosuga T, et al. LRRC8A expression influences growth of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Am J Pathol, 2019, 189(10): 1973-1985. DOI: 10.1016/j.ajpath.2019.06.006.
- [12] Chen Y, Zuo X, Wei Q, et al. Upregulation of LRRC8A by m(5)C modification-mediated mRNA stability suppresses apoptosis and facilitates tumorigenesis in cervical cancer [J]. Int J Biol Sci, 2023, 19(2): 691-704. DOI: 10.7150/ijbs.79205.

- [13] Zhang H, Liu R, Jing Z, et al. LRRC8A as a central mediator promotes colon cancer metastasis by regulating PIP5K1B/PIP2 pathway [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870(4) : 1670–1686. DOI: 10.1016/j.bbdis.2024.167066.
- [14] Yoshimoto S, Matsuda M, Kato K, et al. Volume-regulated chloride channel regulates cell proliferation and is involved in the possible interaction between TMEM16A and LRRC8A in human metastatic oral squamous cell carcinoma cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 895(8) : 1738–1746. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.173881.
- [15] Widmer CA, Klebic I, Domanitskaya N, et al. Loss of the volume-regulated anion channel components LRRC8A and LRRC8D limits platinum drug efficacy [J]. *Cancer Res Commun*, 2022, 2(10) : 1266–1281. DOI: 10.1158/2767-9764.CRC-22-0208.
- [16] 韦有生, 姚德生, 李力, 等. METTL14 在卵巢上皮性癌组织中的表达及对 A2780、SKOV3 细胞增殖、侵袭和迁移的影响 [J]. *中华妇产科杂志*, 2022, 57(1) : 46–56. DOI: 10.3760/cma.j.cn112141-20210925-00553.
- [17] 赵满英, 伍东月, 杜瑞亭, 等. METTL14 介导 ER α 的 m6A 修饰调控子宫内膜癌转移的机制研究 [J]. *中国癌症杂志*, 2023, 33(3) : 250–259. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2023.03.008.
- [18] Geng F, Fan MJ, Li J, et al. Knockdown of METTL14 inhibits the growth and invasion of cervical cancer [J]. *Transl Cancer Res*, 2019, 8(6) : 2307–2315. DOI: 10.21037/ter.2019.09.48.
- [19] Xie Q, Li Z, Luo X, et al. piRNA-14633 promotes cervical cancer cell malignancy in a METTL14-dependent m6A RNA methylation manner [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1) : 51–62. DOI: 10.1186/s12967-022-03257-2.
- [20] Liu X, Xiao M, Zhang L, et al. The m6A methyltransferase METTL14 inhibits the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer by regulating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(3) : 2365–2375. DOI: 10.1002/jcla.23655.
- [21] 玛丽亚木古丽·克依木, 热孜婉古丽·吾布力, 克热曼·牙库甫, 等. 基于列线图生存预测模型探讨血清学指标对宫颈癌预后的判断价值 [J]. *疑难病杂志*, 2023, 22(11) : 1186–1190. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.11.013.
- [22] Wang B, Mao Z, Ye J, et al. Glycolysis induced by METTL14 is essential for macrophage phagocytosis and phenotype in cervical cancer [J]. *J Immunol*, 2024, 212(4) : 723–736. DOI: 10.4049/jimmunol.2300339.
- [23] Han C, Hu C, Liu T, et al. IGF2BP3 enhances lipid metabolism in cervical cancer by upregulating the expression of SCD [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(2) : 138–147. DOI: 10.1038/s41419-024-06520-0.
- [24] 张海花, 雷燕, 刘宇, 等. m6A 修饰与妇科恶性肿瘤相关性的研究进展 [J]. *临床误诊误治*, 2024, 37(1) : 147–152. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2024.01.026.
- [25] Lu W, Yang X, Zhong W, et al. METTL14-mediated m6A epitranscriptomic modification contributes to chemotherapy-induced neuropathic pain by stabilizing GluN2A expression via IGF2BP2 [J]. *J Clin Invest*, 2024, 134(6) : 1748–1757. DOI: 10.1172/JCI174847.

(收稿日期: 2024-07-05)

(上接 1186 页)

- [20] Ren L, Guo JS, Li YH, et al. Structural classification of MELK inhibitors and prospects for the treatment of tumor resistance: A review [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 156(2) : 113965. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113965.
- [21] Hardeman AA, Han YJ, Grushko TA, et al. Subtype-specific expression of MELK is partly due to copy number alterations in breast cancer [J]. *PLoS One*, 2022, 17(6) : e0268693. DOI: 10.1371/journal.pone.0268693.
- [22] Zhu X, Zhang E, Qin L. The high expression of TOP2A and MELK induces the occurrence of psoriasis [J]. *Aging (Albany NY)*, 2024, 16(4) : 3185–3199. DOI: 10.18632/aging.205519.
- [23] 张钊红, 全昱冲, 关德凤, 等. 母体胚胎亮氨酸拉链激酶与妇科恶性肿瘤的相关研究 [J]. *临床误诊误治*, 2020, 33(8) : 112–116. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2020.08.023.
- [24] Salim Jeddo(萨利姆). MELK 是骨肉瘤的不良预后标志物和治疗靶 [D]. 济南: 山东大学, 2021.
- [25] 孟杨, 王绍伟, 王宛峰, 等. 瑞芬太尼调控 miR-148a 对骨肉瘤细胞生物行为的影响 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(4) : 371–375. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.04.011.
- [26] Li R, Yan L, Jiu J, et al. PSME2 offers value as a biomarker of M1 macrophage infiltration in pan-cancer and inhibits osteosarcoma malignant phenotypes [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(4) : 1452–1470. DOI: 10.7150/ijbs.90226.
- [27] Guo T, Wei R, Dean DC, et al. SMARCB1 expression is a novel diagnostic and prognostic biomarker for osteosarcoma [J]. *Biosci Rep*, 2022, 42(1) : BSR20212446. DOI: 10.1042/BSR20212446.
- [28] 易鹏, 徐雄峰, 姚佳炜, 等. 儿童骨肉瘤预后因素及列线图的构建 [J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(9) : 926–930. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.015.
- [29] Gao X, Gao B, Li S. Extracellular vesicles: A new diagnostic biomarker and targeted drug in osteosarcoma [J]. *Front Immunol*, 2022, 13(9) : 1002742. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1002742.
- [30] Han Z, Peng X, Yang Y, et al. Integrated microfluidic-SERS for exosome biomarker profiling and osteosarcoma diagnosis [J]. *Biosens Bioelectron*, 2022, 217(2) : 114709. DOI: 10.1016/j.bios.2022.114709.

(收稿日期: 2024-05-30)