

宫颈癌组织中 EMC6、C-myc 及 BCL-2 的表达和预后

苗春霞, 王一娜, 张云霞

(新疆医科大学第三临床医学院妇科放射治疗科一病区, 新疆 乌鲁木齐 830000)

[摘要] **目的** 通过生信分析, 评估 EMC6 基因在泛癌及宫颈癌中的表达、免疫相关性及诊断价值, 并探究 EMC6、C-myc、BCL-2 蛋白与宫颈癌的相关性及预后。**方法** 分析 TCGA 和 GTEx 数据库中 EMC6 在泛癌和宫颈癌的表达, 并利用 SangerBox 和 Timer 数据库评估 EMC6 与免疫相关性, 以及 ROC 评估诊断潜力。通过免疫组化在 68 例宫颈癌及癌旁组织中检测 EMC6、C-myc、BCL-2 蛋白表达, 分析其与临床病理特征的联系。使用 Phi 系数法分析相关性, 并利用 Kaplan-Meier 法评估这些蛋白对预后的影响。**结果** 宫颈癌中 EMC6 表达降低, 对免疫浸润有显著影响, 且诊断准确性较高 ($AUC = 0.819$)。免疫组化显示, 与宫颈癌旁组织相比, EMC6 蛋白表达下降、而 C-myc 和 BCL-2 蛋白表达上调, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。EMC6 表达与临床病理特征无相关性 ($P > 0.05$), 而 C-myc 与病理类型相关 ($P < 0.05$), BCL-2 与年龄、病理类型、肿瘤大小、分化程度相关 ($P < 0.05$)。EMC6 与 C-myc、BCL-2 表达在宫颈癌中呈负相关 ($\Phi = -0.367, P = 0.002$; $\Phi = -0.284, P = 0.019$), 且三者与患者总生存期显著相关 ($P < 0.05$)。**结论** 宫颈癌中 EMC6 蛋白表达下降, 与 C-myc、BCL-2 蛋白表达呈负相关, 且这些蛋白的表达水平与患者的总生存期之间存在显著的相关性, 提示它们可能作为宫颈癌治疗和预后评估的潜在生物标志物。

[关键词] EMC6; C-myc; BCL-2; 宫颈癌; 细胞凋亡

[中图分类号] R737.33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)07-0062-07

Expression of EMC6, C-myc and BCL-2 in Cervical Cancer Tissues and Prognosis Analysis

MIAO Chunxia, WANG Yina, ZHANG Yunxia

(Dept. of Gynecological Radiation Oncology, The 3rd Clinical Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang 830000, China)

[Abstract] **Objective** This study employs bioinformatics analysis to evaluate the expression, immune correlation, and diagnostic value of EMC6 gene in pan-cancer and cervical cancer, and investigate the associations of EMC6, C-myc, and BCL-2 proteins with cervical cancer and patient prognosis. **Methods** This study analyzed the expression of EMC6 across pan-cancer and cervical cancer datasets from TCGA and GTEx, utilizing SangerBox and Timer databases to assess its correlation with immune response and employing ROC analysis to evaluate its diagnostic potential. EMC6, C-myc, and BCL-2 protein expressions were detected in 68 cases of cervical cancer and adjacent tissues using immunohistochemistry, and their associations with clinicopathological characteristics were analyzed. The Phi coefficient method was employed to assess correlations, and the Kaplan-Meier method was used to evaluate the impact of these proteins on prognosis. **Results** In cervical cancer, the expression of EMC6 decreased, which significantly affected immune infiltration and had a high diagnostic accuracy ($AUC = 0.819$). Immunohistochemistry revealed that compared to the adjacent tissues of cervical cancer, the expression of EMC6 protein decreased, while the expressions of C-myc and BCL-2 proteins were upregulated, with statistically significant differences ($P < 0.05$). EMC6 expression showed no correlation with clinicopathological features ($P >$

[收稿日期] 2023-12-21

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81960472)

[作者简介] 苗春霞(1992~), 女, 河南商丘人, 在读硕士研究生, 主要从事妇科肿瘤疾病的研究工作。

[通信作者] 张云霞, E-mail: 1402635899@qq.com

0.05), while C-myc was associated with pathological type ($P < 0.05$), and BCL-2 was associated with age, pathological type, tumor size, and degree of differentiation ($P < 0.05$). In cervical cancer, the expression of EMC6 was negatively correlated with C-myc and BCL-2 ($\Phi = -0.367$, $P = 0.002$; $\Phi = -0.284$, $P = 0.019$), and all three were significantly associated with overall patient survival ($P < 0.05$). **Conclusions** The expression of EMC6 protein decreases in cervical cancer and is negatively correlated with the expression of C-myc and BCL-2 proteins. There is a significant correlation between the expression levels of these proteins and the overall survival of patients, suggesting that they may be used as treatments for cervical cancer and Potential biomarkers for prognostic assessment.

[**Key words**] EMC6; C-myc; BCL-2; Cervical cancer; Apoptosis

宫颈癌是女性常见恶性肿瘤, 尽管预防措施有所进步, 但仍是女性癌症死亡的主要原因之一, 近年来发病率和死亡率均呈上升趋势^[1-2]。宫颈癌的早期诊断和治疗对预后至关重要, 但晚期患者的治疗选择有限, 预后较差^[3]。因此, 深入理解宫颈癌发病机制, 寻找有效的诊断和治疗靶点, 对改善患者预后具有重要意义。

内质网蛋白膜复合物亚基 6 [endoplasmic reticulum (ER) protein membrane complex subunit 6, EMC6] 也称为跨膜蛋白 93 (TMEM93) 是一个古老的、广泛保守的专性伴侣, 在膜蛋白生物合成中扮演关键角色^[4]。对细胞功能和生物膜稳定性具有重要影响, 其异常可能导致神经发育障碍和癌症^[5]。C-myc 是 MYC 家族的关键成员, 广泛调控多种生物学过程, 如细胞增殖、凋亡、分化和代谢^[6-7]。C-myc 的扩增和过表达是常见的基因失调模式。同时, BCL-2 作为关键的抗凋亡分子, 可以通过与促凋亡蛋白如 BAX 结合, 保护线粒体外膜的完整性, 抑制细胞凋亡, 其表达在多数癌症中增加^[8]。本研究探讨 EMC6 与 C-myc、BCL-2 在宫颈癌及癌旁组织中的表达模式, 以及它们之间的潜在关联, 同时, 评估其与宫颈癌的临床病理特征及预后的关联, 旨在为宫颈癌的病理机制提供新的认识, 并发掘潜在生物标志物, 为疾病的诊断和治疗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 生物信息学分析

1.1.1 EMC6 差异表达分析 利用 Tumor 数据库评估 EMC6 (TMEM93) 在多种癌症中的表达, 并结合 TCGA 和 GTEx 数据库的 RNAseq 数据, 利用 R 软件 4.2.2 分析 EMC6 在宫颈癌中的差异表达。

1.1.2 免疫浸润评估及 ROC 检验 使用 SangerBox 网站和 Tumor 数据库评估宫颈癌中 EMC6 的表达与免疫浸润及六类免疫细胞、肿瘤

纯度的关联性。统计分析及可视化通过 R4.2.2 软件完成, pROC 包被用于 ROC 分析和检验。

1.2 组织样本资料

本研究中, 所有组织标本均来源于新疆医科大学附属肿瘤医院 2014 年 1 月至 2018 年 3 月病理科存档的确诊为宫颈癌的患者。选取的标本包括宫颈癌组织及癌旁组织, 共收集了 68 例患者的组织标本。所有标本的诊断均经 2 名资深病理医师独立复核确认。纳入标准: (1) 基于组织病理学结果, 结合细胞学检查和高危人乳头瘤病毒 (HPV) DNA 检测的结果诊断为宫颈癌; (2) 患者临床资料完整且为首次发病; (3) 术前未接受化疗、放疗或免疫治疗。排除标准: (1) 患有其他类型癌症的患者; (2) 样本质量不佳, 如固定不良、保存不当或取材部位不准确。所有实验组织的获取均获得患者知情同意, 并通过了伦理委员会的审查, 符合伦理原则 (G-2019025)。

1.3 试剂与方法

兔抗人 EMC6 抗体 (Bioss)、兔抗人 C-myc 蛋白抗体及兔抗人 BCL-2 蛋白抗体 (北京中杉金桥); 通用型二抗试剂盒与 DAB 显色试剂盒 (北京中杉金桥)。用免疫组织化学 SP 法检测 EMC6、C-myc 及 BCL-2 基因的表达, 具体方法按照说明书的步骤操作进行。

1.4 结果判读

实验结果由该院 2 位病理学专家共同评估, 采用半定量评分法对免疫组化结果进行判定。在每张切片上随机选取 5 个不同的视野进行观察, 在每个 ($\times 400$) 放大倍数的视野中计数癌细胞总数及表达目标基因的阳性癌细胞数。随后, 计算平均阳性细胞百分比。根据平均阳性细胞百分比, 将结果分为两类: 若阳性细胞百分比在 0% 至 24% 之间, 则判定为阴性; 若阳性细胞百分比达到或超过 25%, 则判定为阳性。阳性阈值定义为细胞质或细胞核中出现显著的棕黄色或棕褐色颗粒, 而阴性阈值则设定为无显著染色或染色程度低于

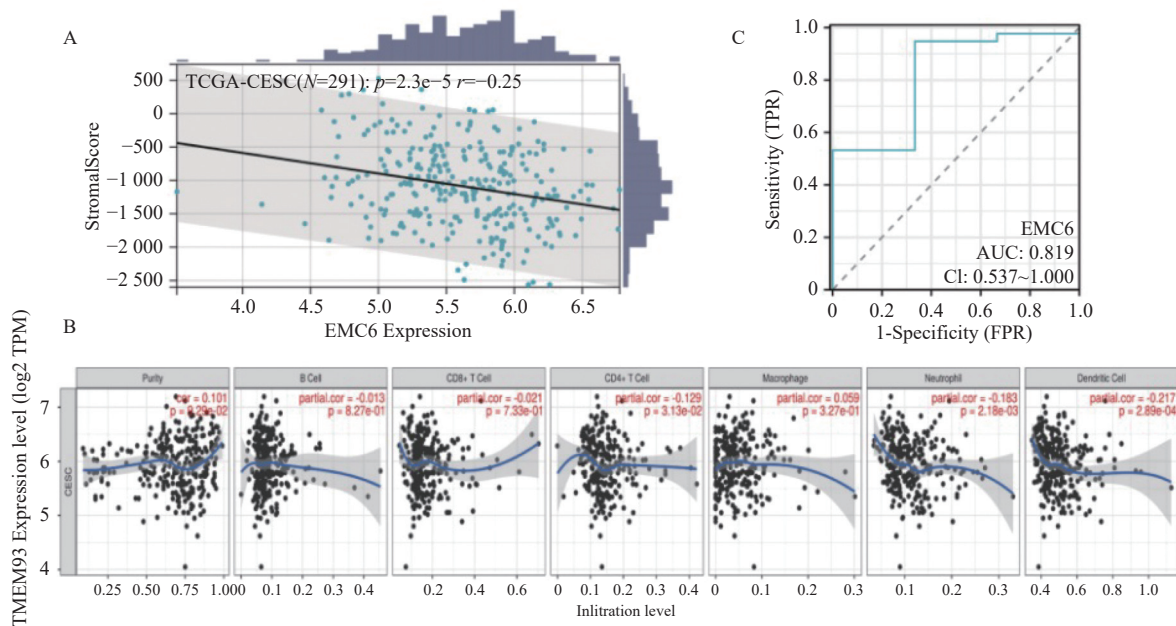


图 2 宫颈癌中 EMC6 表达与免疫浸润之间的关系及 ROC 诊断

Fig. 2 The relationship between EMC6 expression and immune invasion in cervical cancer and the diagnosis of ROC

A: EMC6 表达与免疫浸润的相关性; B: EMC6 的表达与肿瘤纯度及免疫细胞之间的相关性; C: EMC6 作为宫颈癌生物标志物的 ROC 曲线分析。

表 1 EMC6 与 C-myc、BCL-2 在宫颈组织中的比较 (n)

Tab. 1 Comparison of EMC6 with C-myc and BCL-2 in cervical tissues (n)

组别	n	EMC6 阳性	C-myc 阳性	Bcl-2 阳性
宫颈癌组	68	30	43	38
宫颈癌旁组	68	49	27	3
χ^2		10.903	7.536	42.773
P		0.001*	0.006*	<0.001*

*P < 0.05。

(P = 0.012), 而在分期、淋巴结转移、浸润深度等方面无显著差异 (P > 0.05), 见表 2。

2.6 EMC6 与 C-myc、BCL-2 阳性表达的相关性

通过 Phi 系数相关性分析结果显示, EMC6 与 C-myc (Phi = -0.367, P = 0.002) 及 EMC6 与 BCL-2 (Phi = -0.284, P = 0.019) 在宫颈癌组织中的阳性表达率均呈负相关关系, 见表 3。

2.7 EMC6 与 C-myc、BCL-2 的表达对宫颈癌患者总生存期的影响

68 例宫颈癌患者 (20 例死亡) 的生存分析统计结果显示, 与 EMC6 阳性表达组相比, EMC6 阴性表达组的生存期短, 见图 4A; 而 C-myc 与 BCL-2 均为阳性表达组较阴性表达组相比生存

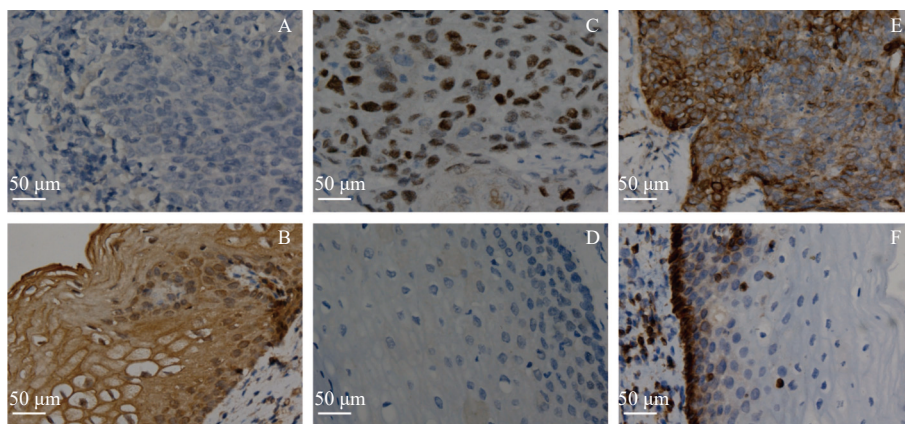


图 3 2 组中 EMC6 与 C-myc、BCL-2 的表达 (IHC 染色, ×400)

Fig. 3 Expression of EMC6, C-myc and BCL-2 in the two groups (IHC staining, ×400)

A、B: EMC6 在宫颈癌组织和宫颈癌旁组织中的表达; C、D: C-myc 在宫颈癌组织和宫颈癌旁组织中的表达; E、F: BCL-2 在宫颈癌组织和宫颈癌旁组织中的表达。

表 2 EMC6 与 C-myc、BCL-2 的蛋白表达与宫颈癌临床病理特征的关系 [n(%)]

Tab. 2 Relationship between the protein expression of EMC6, C-myc and BCL-2 and the clinicopathological features of cervical cancer [n(%)]

变量	n	EMC6			C-myc			Bcl-2		
		阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P	阳性	χ^2	P
年龄(岁)			0.299	0.584		0.148	0.700		8.961	0.003*
<50	36	17(47.2)			22(61.1)			14(38.9)		
≥50	32	13(40.6)			21(65.6)			24(75.0)		
病理类型			2.867	0.090		13.238	<0.001*		5.049	0.025*
鳞癌	50	19(38.0)			38(76.0)			32(64.0)		
腺癌	18	11(61.1)			5(27.8)			6(33.3)		
分期			0.141	0.707		2.264	0.132		0.753	0.385
I期	30	14(46.7)			16(53.3)			15(50.0)		
II期	38	16(42.1)			27(71.1)			23(60.5)		
淋巴结转移			0.044	0.833		0.921	0.337		0.090	0.764
有	24	11(45.8)			17(70.8)			14(58.3)		
无	44	19(43.2)			26(59.1)			24(54.5)		
浸润深度			1.849	0.174		2.264	0.132		1.849	0.174
≤1/2	30	16(53.3)			16(53.3)			14(46.7)		
>1/2	38	14(36.8)			27(71.1)			24(63.2)		
肿瘤大小(cm)			0.001	0.973		0.274	0.601		8.484	0.004*
<4	52	23(44.2)			32(61.5)			24(46.2)		
≥4	16	7(43.8)			11(68.8)			14(87.5)		
分化程度			1.074	0.300		0.014	0.906		6.271	0.012*
中分化	36	18(50.0)			23(63.9)			15(41.7)		
低分化	32	12(37.5)			20(62.5)			23(71.9)		

*P < 0.05。

表 3 EMC6 与 C-myc、BCL-2 在宫颈癌中表达的关系

Tab. 3 Relationship between EMC6 and C-myc and BCL-2 expression in cervical cancer

EMC6	C-myc		合计	Phi	P	Bcl-2		合计	Phi	P
	+	-				+	-			
+	13	17	30	-0.367	0.002*	12	18	30	-0.284	0.019*
-	30	8	38			26	12	38		
合计	43	25	68			38	30	68		

*P < 0.05。

期短, 见图 4B、4C。这提示 EMC6 低表达、C-myc 与 BCL-2 高表达可能与疾病进展和不良预后相关。

3 讨论

宫颈癌是全球女性健康的重要公共卫生问题, 尤其是在经济和医疗资源有限的国家, 其发病率和死亡率居高不下^[1]。高危型人乳头瘤病毒(high-risk human papillomavirus, hrHPV)的持续感染, 过

早的性行为或性伴侣较多、不良的生活习惯等因素的影响均加剧了宫颈癌的发病风险。研究显示^[9], 局部晚期宫颈癌在亚洲国家尤为常见, 且治疗效果有限, 这突显了对宫颈癌分子机制深入研究的迫切需求。探索新的治疗靶点和生物学机制对于发展宫颈癌的预防和管理策略至关重要。

3.1 EMC6 表达与宫颈癌的关系

近年研究表明, EMC6 在多种生物过程中发挥重要作用。在秀丽隐杆线虫中, EMC6 对乙酰胆碱受体的成熟和稳定至关重要^[10]。而在胃癌细

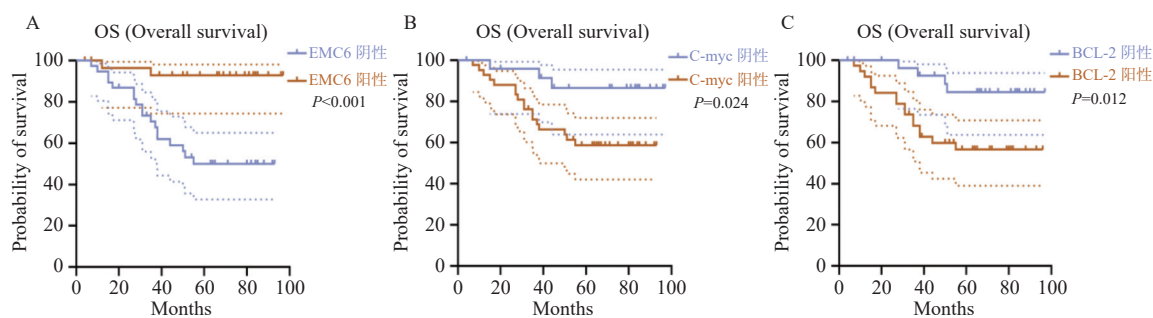


图4 宫颈癌中 EMC6 与 C-myc、BCL-2 的总体生存 K-M 曲线

Fig. 4 K-M curves of EMC6 vs. C-myc and BCL-2 in cervical cancer

A: EMC6 总体生存 K-M 曲线; B: C-myc 总体生存 K-M 曲线; C: BCL-2 总体生存 K-M 曲线。

胞中, EMC6 的异位过表达能够通过下调 ERK1/2 活性、降低 BCL-2 水平、增加 tBID 和 BAX 的表达以及降低线粒体膜电位, 进而诱导细胞凋亡^[11]。这些发现揭示了 EMC6 在调节细胞生长和凋亡中的潜在作用机制。本研究通过免疫组化技术验证了宫颈癌中 EMC6 蛋白的表达降低, 这一发现与生物信息学分析的结果相一致。尽管 EMC6 的表达与宫颈癌患者的临床病理特征之间无显著相关性, 这一结果可能暗示 EMC6 在宫颈癌中的作用可能不直接与传统的临床病理特征相关联, 而是通过其他机制影响宫颈癌的发展。这提示笔者 EMC6 可能参与宫颈癌的发病机制, 但其具体作用途径和影响因素需要进一步的探索。

3.2 C-myc 和 BCL-2 蛋白的表达与宫颈癌的关系

笔者的研究表明, C-myc 在宫颈鳞癌组织中的阳性表达率显著高于宫颈腺癌, 而 BCL-2 的表达则与年龄、肿瘤大小、肿瘤分化程度等临床病理特征相关。这些发现支持了 C-myc 和 BCL-2 在宫颈癌发生发展中的重要作用。C-myc 在其他癌症中的研究表明, 它不仅促进细胞增殖和抑制凋亡, 还参与 DNA 损伤修复、细胞侵袭和转移等过程^[12]。在胃癌、肺癌、乳腺癌等多种癌症中, C-myc 的过表达与较差的患者预后相关^[13-15]。BCL-2 作为另一个在多种癌症中常见的基因, 其表达升高同样与肿瘤的进展和治疗抵抗相关^[16]。笔者的结果表明, 在宫颈癌中, C-myc 在鳞癌组织中的高表达可能促进了肿瘤的生长和扩散。另一方面, BCL-2 的过表达在宫颈癌中与年龄、肿瘤大小、肿瘤分化程度等因素相关, 表明其可能在抑制细胞凋亡和促进肿瘤细胞生存中发挥作用。这些蛋白的表达差异不仅反映了宫颈癌的不同亚型和生物学行为, 而且为宫颈癌的精准治疗提供了潜在的生物标志物。

3.3 EMC6 与 C-myc、BCL-2 表达的相关性及其对预后的影响

本研究还发现 EMC6 与 C-myc、BCL-2 的表达呈负相关, 并且这些蛋白的表达与患者总生存期显著相关。实验结果提示, EMC6 可能通过调节 C-myc 和 BCL-2 的表达, 影响宫颈癌的进展和患者的预后。这种负相关性可能意味着 EMC6 在宫颈癌中的作用是通过抑制 C-myc 和 BCL-2 的过度激活来实现的。此外, EMC6 的低表达可能预示着宫颈癌患者预后不良, 因此, EMC6 可能成为宫颈癌患者预后评估和治疗决策的重要参考指标。

综上所述, 本研究揭示了 EMC6、C-myc 和 BCL-2 在宫颈癌中的表达模式及其与临床病理特征和预后的关系, 为宫颈癌的发病机制、诊断和治疗提供了新的见解, 并为进一步的研究和临床应用奠定了基础。

[参考文献]

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 Countries[J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Castle P E, Einstein M H, Sahasrabudhe V V. Cervical cancer prevention and control in women living with human immunodeficiency virus[J]. *Ca*, 2021, 71(6): 505.
- [3] Mayadev J S, Ke G, Mahantshetty U, et al. Global challenges of radiotherapy for the treatment of locally advanced cervical cancer[J]. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2022, 32(3): 436.
- [4] Hegde R S. The function, structure, and origins of the ER membrane protein complex[J]. *Annual Review of Bio-*

- chemistry, 2022, 91(1): 651–678.
- [5] Iyer A, Niemann M, Serricchio M, et al. The endoplasmic reticulum membrane protein complex localizes to the mitochondrial – endoplasmic reticulum interface and its subunits modulate phospholipid biosynthesis in *Trypanosoma brucei*[J]. *PLoS Pathogens*, 2022, 18(5): e1009717.
- [6] Cv D. c-Myc target genes involved in cell growth, apoptosis, and metabolism[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1999, 19(1): 1–11.
- [7] Cv D, Ka O, Ki Z, et al. The c-Myc target gene network[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2006, 16(4): 253–264.
- [8] Yip K W, Reed J C. Bcl-2 family proteins and cancer[J]. *Oncogene*, 2008, 27(50): 6398–6406.
- [9] Monk B J, Tan D S P, Chag ü i J D H, et al. Proportions and incidence of locally advanced cervical cancer: A global systematic literature review[J]. *International Journal of Gynecological Cancer*, 2022, 32(12): 1531.
- [10] Richard M, Boulin T, Robert V J, et al. Biosynthesis of ionotropic acetylcholine receptors requires the evolutionarily conserved ER membrane complex[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(11): E1055–E1063.
- [11] Li R, Wang X, Zhang X, et al. Ad5-EMC6 mediates anti-tumor activity in gastric cancer cells through the mitochondrial apoptosis pathway[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 513(3): 663–668.
- [12] Gao F yan, Li X tong, Xu K, et al. c-MYC mediates the crosstalk between breast cancer cells and tumor microenvironment[J]. *Cell Communication and Signaling : CCS*, 2023, 21(1): 28.
- [13] 杨雪, 程园园, 田瑞华. c-Myc、CDK12 在胃癌组织中的表达及临床意义 [J]. *中国实用医药*, 2024, 19(2): 11–14.
- [14] 蒲发晓, 任婷远, 王雁, 等. C-erbB-2 和 C-MYC 基因在非小细胞肺癌中的表达及其与预后的关系 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2023, 15(9): 1492–1495, 1500.
- [15] 周永清, 王先锋, 杜文杰, 等. 乳腺癌中 ING4 与 c-Myc 的表达及其临床意义 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2023, 39(5): 601–604.
- [16] Ffve S, Vca C, Gev C, et al. Correlation of Bcl-2 expression with prognosis and survival in patients with head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2023, 187: 104021.