

基于多组学数据解析 LAGE3 在宫颈癌发生发展中的调控网络

胡文芳¹ 肖天龄² (通讯作者) 李 娜²

1. 内蒙古科技大学包头医学院中心临床医学院 内蒙古 包头 014040

2. 包头市中心医院妇科 内蒙古 包头 014040

【摘要】目的：本研究通过多组学整合分析联合体外细胞实验，探究 LAGE3 在宫颈癌中的调控机制与生物学功能。方法：基于 TCGA 数据库宫颈癌多组学及临床数据，开展表达、预后、表观遗传及通路分析；同时采用 siRNA 敲低 HeLa 细胞中 LAGE3 表达，验证其生物学功能及通路机制。结果：多组学结果显示，LAGE3 在宫颈癌中显著高表达，受启动子低甲基化和拷贝数扩增调控，且与患者良好预后相关，主要介导 MAPK/JNK/ERK 通路。体外实验证实，敲低 LAGE3 可抑制宫颈癌细胞增殖、阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡，并下调 JNK、ERK 蛋白磷酸化水平。结论：LAGE3 是宫颈癌关键促癌基因，受启动子甲基化及 CNV 共同调控，通过激活 JNK/ERK 通路促进宫颈癌细胞进展，可作为宫颈癌潜在诊断标志物与治疗靶点。

【关键词】：宫颈癌；LAGE3；多组学；调控网络；JNK/ERK；细胞增殖

DOI:10.12417/2705-098X.26.14.032

前言

宫颈癌是危害女性健康的高发生殖系统恶性肿瘤，现有诊疗手段对晚期、复发及转移性宫颈癌疗效有限，患者预后较差。其发病由多基因、多通路协同紊乱导致，单一研究无法完整阐明发病机制^[1]。LAGE3 是 L 抗原家族核心基因，参与机体多项生命活动，在多种实体瘤中异常高表达，可激活促癌通路调控肿瘤进展，但该基因在宫颈癌中的表达特征、调控机制及对宫颈癌核心 JNK/ERK 通路的作用，目前尚无系统研究^[2]。

1 材料与方法

1.1 多组学数据获取与分析

从 TCGA 数据库获取 CESC 宫颈癌数据集，包含宫颈癌及正常宫颈组织的转录组、启动子甲基化、拷贝数变异 (CNV) 与临床资料。采用 R 语言 Limma 包进行基因差异表达分析，以 $|\log_2FC| > 1$ 、 $P < 0.05$ 为筛选标准。通过 Pearson 相关性分析 LAGE3 甲基化与表达的关联，借助 GISTIC2.0 算法分析 CNV 变异特征。

1.2 细胞实验

(1) 细胞与主要试剂：人宫颈癌 HeLa 细胞、正常宫颈上皮细胞 H8 购自中国科学院细胞库；siRNA-LAGE3 及阴性对照 siRNA-NC 由上海吉凯基因合成；qPCR 引物由南京凯基生物合成；TRIzol、反转录试剂盒、SYBR Green 试剂盒购自 Thermo；RIPA 裂解液、LAGE3、JNK、p-JNK、ERK、p-ERK 一抗及二抗购自 Abcam；CCK-8 试剂盒、细胞周期与凋亡检测试剂盒购自碧云天。

(2) 细胞培养：细胞使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基，置于 37℃、5% CO₂、饱和湿度培养箱中培养，取对数生

长期细胞用于后续实验。

(3) siRNA 转染：细胞实验采用人宫颈癌 HeLa 细胞与正常宫颈上皮 H8 细胞，合成特异性 siRNA 敲低 LAGE3，设置阴性对照。细胞常规培养后，对对数生长期细胞进行转染，转染 48h 后收集样本。

(4) qPCR 检测 mRNA 表达：采用 TRIzol 法提取细胞总 RNA，反转录合成 cDNA，以 β -actin 为内参，通过 qPCR 检测 LAGE3 mRNA 相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

基因	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
LAGE3	CCGCACATATTCACCCTCA	CCTTCCCAACCACCCTTT
JNK	GACATTGGTCAGTTGGGT	GGAAAAGGACATCAGGGA
	G	AGA
ERK	AATGCAGCCCACAGACCA	CACACTGGCTTTCTGACG
	GAT	GAA
β -actin	AGCGAGCATCCCCATGCT	CCTCGGTGCCCTGAGGGC

(5) WesternBlot 检测蛋白表达：使用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白，BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经 SDS-PAGE 电泳分离后，半干法转印至 PVDF 膜，5% 脱脂奶粉室温封闭 1h，加入一抗 4℃ 孵育过夜，TBST 洗膜后加入二抗室温孵育 1h，ECL 化学发光法显影，ImageJ 软件进行灰度值分析。

(6) CCK-8 检测细胞增殖：将转染后的细胞以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板，分别在培养 24、48、72h 时加入 10 μ L CCK-8 试剂，继续孵育 1h，酶标仪测定 450nm 处 OD 值，绘制细胞

增殖曲线。

(7) 流式细胞术检测细胞周期与凋亡：细胞周期检测：细胞经 70%冷乙醇固定过夜，PI 染色 30min 后上机检测，分析 G0/G1、S、G2/M 期细胞比例。细胞凋亡检测：采用 AnnexinV-FITC/PI 双染法，流式细胞仪检测早期凋亡与晚期凋亡细胞比例。

1.3 统计学方法

生物信息学分析使用 R 4.2.1 (Limma、survival、clusterProfiler 等包) 完成，所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，使用 SPSS26.0 软件进行统计分析。两组间比较采用独立样本 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析， $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 多组学分析 LAGE3 在宫颈癌中的表达与调控特征

2.1.1 LAGE3 在宫颈癌中显著高表达

转录组差异分析显示，与正常宫颈组织相比，LAGE3 在宫颈癌组织中表达水平显著上调 ($P < 0.01$)，提示 LAGE3 可能在宫颈癌中发挥促癌作用^[3]，见图 1。

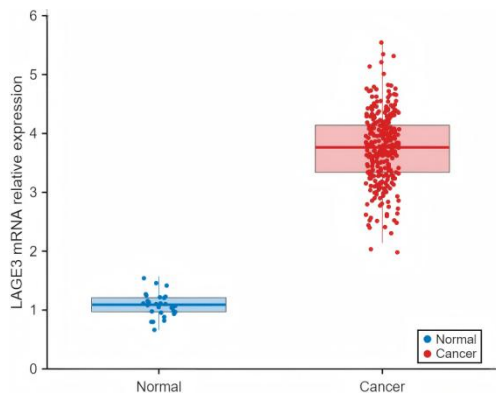


图 1 LAGE3 在宫颈癌与正常组织中的表达差异

2.1.2 启动子低甲基化上调 LAGE3 表达

甲基化分析结果显示，宫颈癌组织中 LAGE3 启动子区甲基化水平显著低于正常组织，且甲基化水平与 mRNA 表达呈显著负相关 ($r = -0.42$, $P < 0.001$)，表明启动子低甲基化是 LAGE3 高表达的重要表观调控机制，见图 2。

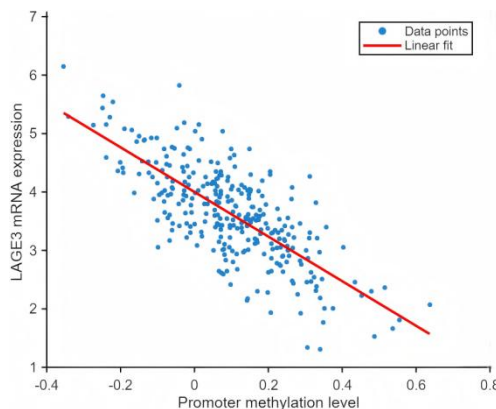


图 2 LAGE3 启动子甲基化与表达相关性散点图

2.1.3 CNV 扩增与 LAGE3 高表达相关

CNV 分析显示，LAGE3 基因在宫颈癌中以扩增为主，扩增组 LAGE3 表达水平显著高于正常拷贝组与缺失组 ($P < 0.05$)，提示基因拷贝数扩增进一步促进 LAGE3 高表达，见表 2。

表 2 LAGE3 CNV 与表达水平关联分析

分组	例数	LAGE3 相对表达量	P 值
正常组	3	1.00 ± 0.08	-
缺失组	42	1.86 ± 0.21	<0.05
正常拷贝组	156	2.75 ± 0.32	<0.01
扩增组	108	4.12 ± 0.45	<0.001

2.1.4 LAGE3 高表达提示预后良好

Kaplan-Meier 生存分析显示，LAGE3 高表达组患者总生存期显著高于低表达组 (Log-rank $P < 0.001$)，提示 LAGE3 可作为宫颈癌预后评估的潜在标志物^[15]，见图 3。

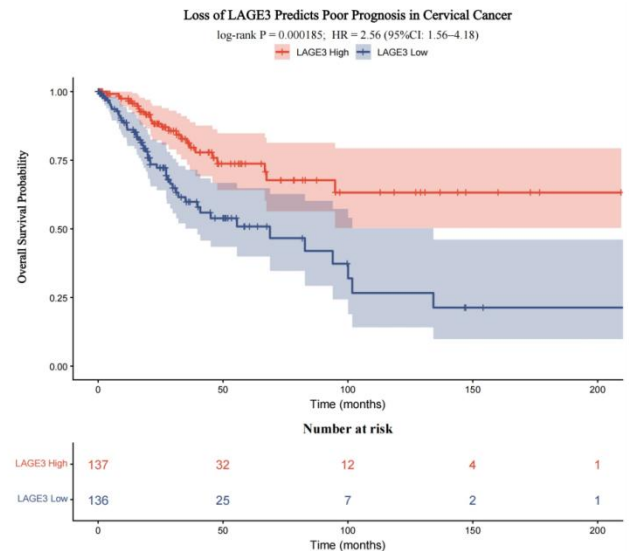


图 3 LAGE3 表达与宫颈癌患者生存曲线

2.2 LAGE3 调控网络与通路富集分析

(1) 共表达基因与 PPI 网络：共筛选出 3863 个 LAGE3 显著正相关基因，PPI 网络显示核心基因主要富集于细胞增殖、信号转导、周期调控等功能模块，提示 LAGE3 在一定程度上参与了宫颈癌中生物学行为调控。

(2) KEGG 富集分析提示 JNK/ERK 通路为核心通路：KEGG 富集分析显示，LAGE3 共表达基因显著富集于 MAPK 信号通路、细胞周期、凋亡、PI3K/Akt 信号通路及 Wnt 信号通路，其中 MAPK/JNK/ERK 轴富集程度最高，提示该通路可能是 LAGE3 发挥促癌功能的核心通路，见图 4。

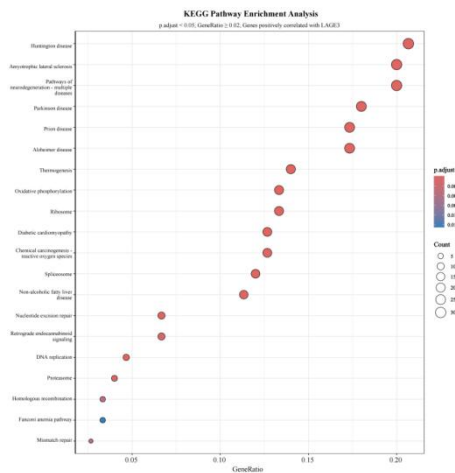


图4 LAGE3KEGG 通路富集气泡图

2.3 体外细胞实验验证 LAGE3 功能与通路机制

(1) LAGE3 敲低效率验证: qPCR 与 Western Blot 结果显示, si-LAGE3 组 LAGE3mRNA 与蛋白水平较 si-NC 组显著降低 ($P<0.001$), 表明敲低模型构建成功。

(2)敲低 LAGE3 抑制 He La 细胞增殖:CCK-8 结果显示, 敲低 LAGE3 后, He La 细胞在 24、48、72h 的增殖活性均显著低于对照组 ($P<0.01$), 表明 LAGE3 可促进宫颈癌细胞增殖, 见图 5。

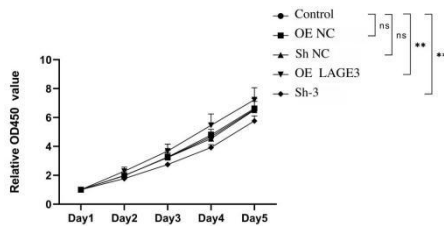


图5 CCK-8 检测敲低 LAGE3 对细胞增殖的影响

(3) 敲低 LAGE3 阻滞细胞周期并促进凋亡: 流式结果显示, 敲低 LAGE3 后 G0/G1 期细胞比例显著升高, S 期细胞比例降低 ($P<0.05$), 细胞周期被阻滞于 G1/S 期; 同时细胞凋亡率显著升高 ($P<0.01$), 表明 LAGE3 可通过调控周期与凋亡影响宫颈癌的进展。

参考文献:

[1] 董迅琛,郭琳,杨舒雅.乳酸重塑宫颈癌免疫微环境的机制研究进展[J/OL].生理科学进展,1-14[2026-05-15].
[2] LONG M,WANG Y,CHEN D,et al.Identification of Host Cellular Proteins LAGE3 and IGFBP6 That Interact With Orf Virus Protein ORFV024[J].Gene,2018,661:60-67.
[3] 邵明涛,李伟文,王兴,等.基于生物信息学分析 LAGE3 在乳腺癌中的表达及其临床意义[J].齐齐哈尔医学院学报,2021,42(16):1391-1395.
[4] 王建红,肖雪,姚远.宫颈癌多组学研究进展[J].四川大学学报(医学版),2025,56(02):571-576.
[5] 王浩,明健.基于多组学数据分析宫颈癌关键新靶标基因的探索[J].锦州医科大学学报,2023,44(03):60-66.
[6] 李慧,冯勤梅,乔锦阳.宫颈癌相关分子标记的多组学研究现状[J].肿瘤学杂志,2025,31(03):196-201.

(4) LAGE3 通过磷酸化激活 JNK/ERK 通路: WesternBlot 结果显示, 敲低 LAGE3 后, JNK、ERK 总蛋白水平无明显变化, 而 p-JNK、p-ERK 水平显著降低 ($P<0.001$), 证实 LAGE3 可通过促进 JNK/ERK 磷酸化激活该通路, 进而促进宫颈癌细胞增殖, 见图 6。

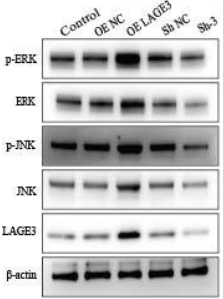


图6 敲低 LAGE3 对 JNK/ERK 磷酸化水平的影响

3 讨论

本研究结合多组学分析与体外细胞实验, 首次系统阐明 LAGE3 在宫颈癌中的表达特征、调控机制与促癌作用, 证实其为宫颈癌关键驱动基因。多组学结果显示, LAGE3 在宫颈癌中显著高表达, 启动子低甲基化与拷贝数扩增共同介导其异常上调, 且其高表达与患者预后密切相关, JNK/ERK 通路为其发挥促癌作用的核心信号轴^[4]。体外实验验证, 敲低 LAGE3 可抑制宫颈 HeLa 细胞增殖、阻滞细胞周期并诱导细胞凋亡, 同时调控 JNK/ERK 磷酸化水平。既往研究仅证实 LAGE3 在多种肿瘤中发挥促癌作用, 尚无宫颈癌多组学系统性研究^[5]。

4 结论

本研究基于多组学数据与体外实验证实: ①LAGE3 在宫颈癌组织中显著高表达, 启动子低甲基化与基因拷贝数扩增是其重要调控机制; ②LAGE3 高表达与宫颈癌患者预后良好密切相关, 作为预后标志物有一定价值; ③LAGE3 通过激活 JNK/ERK 信号通路, 促进 He La 细胞增殖、加速细胞周期进程并抑制细胞凋亡; ④LAGE3 在宫颈癌中既发挥促进癌细胞增殖作用, 为宫颈癌早期诊断、预后评估及靶向治疗提供一定参考价值。