

· 基础研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2026.01.006

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250926.1826.004\(2025-09-28\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250926.1826.004(2025-09-28))

HOXA 基因在前列腺癌临床诊断中的价值及其对癌细胞增殖、迁移和侵袭的调控作用*

向先才^{1,2} 张俊峰³ 曲巍^{1,4△}

(1. 锦州医科大学研究生学院, 辽宁锦州 121000; 2. 湖北民族大学附属民大医院, 湖北恩施 435000; 3. 恩施土家族苗族自治州中心医院泌尿外科, 湖北恩施 445000; 4. 湖北省中西医结合医院泌尿外科, 武汉 430015)

[摘要] **目的** 探究同源异型盒 A 簇(HOXA)基因在前列腺癌(PCa)中的临床诊断价值及其对 PCa 细胞增殖、迁移和侵袭的影响。**方法** 从 TCGA 数据库获取 499 例 PCa 和 52 例健康标本数据。使用 R 语言中的“limma”包以 $|\log_2 \text{fold change (FC)}| > 2$ 且校正后 $P < 0.05$ 为标准, 分析差异表达的 HOXA 基因。通过 Kaplan-Meier 法计算差异表达的 HOXA 基因与 PCa 患者预后的关系。通过 CIBERSORT 去卷积算法计算肿瘤浸润免疫细胞(TIICs)水平。收集 PCa 组织和癌旁正常组织, qPCR 和 Western blot 分别检测两者 HOXA2、HOXA9、HOXA10 mRNA 和蛋白表达水平并进行比较分析。取 LNCaP 细胞, 分别转染 si-NC、si-HOXA2、si-HOXA9、si-HOXA10 (si-NC 组、si-HOXA2 组、si-HOXA9 组、si-HOXA10 组)。采用细胞计数试剂盒-8(CCK-8)、划痕实验和 Transwell 侵袭实验分别检测沉默 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因对 PCa 细胞增殖、迁移、侵袭的影响。**结果** PCa 组织中 HOXA1、HOXA2、HOXA7、HOXA13 基因表达水平明显低于正常前列腺组织 ($P < 0.05$), HOXA9、HOXA10 基因表达水平明显高于正常前列腺组织 ($P < 0.05$)。HOXA10 基因高表达与 PCa 患者不良预后有关 ($P < 0.05$), 而 HOXA2、HOXA9 基因低表达与 PCa 患者不良预后有关 ($P < 0.05$)。HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因表达水平与 PCa 组织中 TIICs 水平有关 ($P < 0.05$)。临床试验结果显示, PCa 组织中 HOXA2、HOXA9 mRNA 和蛋白表达水平明显高于癌旁正常组织 ($P < 0.05$), 而 HOXA10 mRNA 和蛋白表达水平明显低于癌旁正常组织 ($P < 0.05$)。沉默 HOXA2 基因和 HOXA9 基因明显抑制了 PCa 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 并降低了 IL-10 和 PD-L1 的表达水平, 而沉默 HOXA10 基因明显提高了 PCa 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 并提高了 IL-10 和 PD-L1 的表达水平 ($P < 0.05$)。**结论** HOXA 基因家族成员在 PCa 中具有临床诊断价值, HOXA2、HOXA9、HOXA10 对 PCa 细胞生物学行为和免疫抑制具有调控作用。

[关键词] 前列腺癌; 同源异型盒 A 簇; 免疫; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R737 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2026)01-0029-10

Value of homeobox A cluster genes in clinical diagnosis of prostate cancer and their regulatory effects on proliferation, migration and invasion of prostate cancer cells*

XIANG Xiancai^{1,2}, ZHANG Junfeng³, QU Wei^{1,4△}

(1. Graduate School, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121000, China; 2. Affiliated Minda Hospital of Hubei Nationality University, Enshi, Hubei 435000, China; 3. Department of Urologic Surgery, Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi, Hubei 445000, China; 4. Department of Urologic Surgery, Hubei Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Wuhan, Hubei 430015, China)

[Abstract] **Objective** To explore the value of homeobox A cluster (HOXA) genes in the clinical diagnosis of prostate cancer (PCa) and their effects on proliferation, migration and invasion. **Methods** The data in 499 cases of PCa and 52 healthy samples were obtained from the TCGA database. The “limma” package in R language was used to analyze the differentially expressed HOXA family genes based on the criterion that $P < 0.05$ after correction of $\log_2 \text{fold change (FC)} > 2$. The Kaplan-Meier method was used to calculate the relationship between differential HOXA family members and the prognosis of PCa patients. The tumor-infiltrating immune cells (TIICs) level was calculated by using the CIBERSORT deconvolution algorithm. The PCa

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(82260791)。△ 通信作者, E-mail: quwei@aliyun.com。

tissues and paracancerous normal tissues were collected to detect the expression levels of mRNA and protein expression levels of HOXA2, HOXA9 and HOXA10 by qPCR and Western blot and conducted the comparative analysis. The LNCaP cells were taken and transfected into si-NC, si-HOXA2, si-HOXA9 and si-HOXA10 respectively (si-NC group, si-HOXA2 group, si-HOXA9 group and si-HOXA10 group). The effects of silencing HOXA2, HOXA9 and HOXA10 genes on the PCa cell proliferation, migration and invasion were assessed through CCK-8, cell wound scratch assay and Transwell assay. **Results** The expression levels of HOXA1, HOXA2, HOXA7 and HOXA13 genes in PCa tissue were significantly lower than those in the normal prostate tissue ($P < 0.05$), while the expression levels of HOXA9 and HOXA10 genes were significantly higher than those in the normal prostate tissue ($P < 0.05$). The high expression of HOXA10 was associated with the poor prognosis in PCa patients ($P < 0.05$), while low expressions of HOXA2 and HOXA9 were associated with the poor prognosis in PCa patients ($P < 0.05$). HOXA2, HOXA9 and HOXA10 were correlated with the TIICs level in PCa tissue ($P < 0.05$). The clinical trial results showed that the expression levels of HOXA2 and HOXA9 mRNA and protein in PCa tissue were significantly higher than those in the paracancerous normal tissues ($P < 0.05$), while the expression levels of HOXA10 mRNA and protein were significantly lower than those in the paracancerous normal tissue ($P < 0.05$). Silencing HOXA2 and HOXA9 genes significantly inhibited the proliferation, migration and invasion abilities of PCa cells, and reduced the expression levels of IL-10 and PD-L1, while silencing HOXA10 gene significantly increased the proliferation, migration and invasion abilities of PCa cells and increased the expressions of IL-10 and PD-L1 ($P < 0.05$). **Conclusion** HOXA family members have clinical diagnostic value in PCa, and HOXA2, HOXA9 and HOXA10 have the regulatory effects on the biological behaviors and immunosuppression of PCa cells.

[**Key words**] prostate cancer; homeobox A cluster; immunity; migration; invasion

前列腺癌(prostate cancer, PCa)是男性生殖系统中最为常见的恶性肿瘤,已成为男性因肿瘤致死的第三大原因^[1]。目前,前列腺特异性抗原被用作 PCa 筛查、诊断和预后评估的主要生物标志物,然而,仅依赖前列腺特异性抗原作为生物标志物在 PCa 的诊断和预后评估中存在明显局限性^[2-3]。寻找能够有效预测 PCa 发生和进展的新型生物标志物具有重要意义。

哺乳动物拥有 39 个同源异型盒 A 簇(homeobox A cluster, HOXA)基因,它们排列成 4 个线性簇,每个线性簇包含 9~11 个基因^[4]。基于同源性,这些基因被划分为 13 个旁系同源组。HOXA 基因在许多器官的正常发育过程具有十分重要的作用,包括中枢神经系统、轴向骨、四肢、肠道、血液、泌尿道及内生殖器和外生殖器^[5]。近年来,HOXA 基因在多种肿瘤中的表达和功能被报道,例如,HOXA4 基因表达水平在胶质瘤中明显升高,其高表达预示临床预后不佳^[6]。然而,HOXA 基因在 PCa 中的功能鲜有报道。因此,本研究旨在探讨 HOXA 基因在 PCa 患者中的表达谱及其对 PCa 预后的意义,并基于细胞实验分析其对 PCa 细胞的影响,从而为 PCa 患者寻找新型生物标志物奠定理论依据。

1 材料与方法

1.1 数据来源

从 TCGA 数据库中获取 HOXA 基因表达数据的预处理信息,从中选择与 PCa 相关的临床标本数据集,此数据集包含 499 例 PCa 和 52 例健康标本及这些标本对应的临床数据。

1.2 细胞与材料

PCa 细胞系 LNCaP 购自美国模式培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)公司。RPMI-1640 培养基购自美国 Life Technologies 公司。si-HOXA2、si-HOXA9、si-HOXA10 质粒和 Lipofectamine 3000 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司。PrimeScript II first-strand cDNA 合成试剂盒购自日本 TaKaRa 公司。RIPA 裂解液试剂盒、SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。HOXA2、HOXA9、HOXA10、IL-10 和程序性死亡配体 1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)抗体购自英国 Abcam 公司。

1.3 临床标本

收集 2022 年 4 月至 2024 年 4 月湖北民族大学附属民大医院 PCa 患者 60 例,收集患者 PCa 组织和癌旁正常组织。PCa 患者纳入标准:(1)年龄 35~65 岁;(2)经临床病理学诊断确诊为 PCa。排除标准:(1)非首次确诊;(2)入组前接受过激素治疗或者免疫治疗;(3)合并其他类型癌症。本研究已通过湖北民族大学附属民大医院医学伦理委员会批准[审批号:(科)伦审第 2024(124)号],患者均知情同意。

1.4 方法

1.4.1 差异表达的 HOXA 家族成员分析

使用 R 语言中的“limma”包完成 PCa 与健康标本之间差异表达的 HOXA 基因的数据分析,设定阈值为 $|\log_2 \text{fold change (FC)}| > 2$ 且校正后 $P < 0.05$ 。

1.4.2 免疫细胞浸润评估

通过 CIBERSORT 去卷积算法计算来自 TCGA 数据库的 PCa 标本和来自 GTEx 数据库的健康前列

腺标本中的肿瘤浸润免疫细胞 (tumor-infiltrating immune cells, TIICs) 水平。CIBERSORT 利用了白细胞遗传标志矩阵, 该矩阵包含 547 个生物标志物基因。用于量化 22 种 TIICs。并使用 Pearson 相关分析评估 HOXA 基因与 TIICs 水平间的相关性。其中 HOXA 基因以其中位表达水平值为界线, 将患者分为 HOXA 基因高、低表达两组。

1.4.3 细胞培养、转染与分组

将 LNCaP 细胞置于 10 cm 培养皿, 用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基, 于 37 °C、含 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。根据说明书采用 Lipofectamine 3000 试剂盒对 LNCaP 细胞转染 si-HOXA2、si-HOXA9、si-HOXA10 及阴性对照序列 si-NC (分别命名 si-HOXA2 组、si-HOXA9 组、si-HOXA10 组、si-NC 组)。具体步骤为: 当 LNCaP 细胞汇合度达到约 70% 时, 向其中加入 50 nmol 的 si-HOXA2、si-HOXA9、si-HOXA10 及 si-NC, 用无血清培养基培养 6 h。然后, 更换为新鲜的完全培养基。转染 48 h 后, 收集细胞用于后续实验。

1.4.4 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 评估细胞增殖活力

将已完成转染的 LNCaP 细胞以每孔 5×10^3 /L 的细胞密度均匀接种于 96 孔板内, 并置于 37 °C、含 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 48 h。待细胞充分贴壁生长后, 向每孔添加适量 CCK-8 试剂, 确保试剂覆盖所有细胞, 置于 37 °C、含 5% CO₂ 的细胞培养箱中孵育 2 h, 使试剂与细胞充分反应。最后, 在 450 nm 波长处测定各孔的吸光度 [$A_{(450)}$] 值, 该数值直接反映了细胞的增殖活力。

1.4.5 划痕实验评估细胞迁移能力

将转染后的 LNCaP 细胞在 6 孔板中培养至单层细胞状态。使用 200 μ L 移液枪枪头在尺子辅助下, 在细胞层上平稳且准确地划出一条直线划痕。清洗后, 向各孔中加入无血清培养基, 拍照记录。然后, 将 6 孔板置于 37 °C、含 5% CO₂ 的细胞培养箱中继续培养。24 h 后再次拍摄并记录划痕形态。

1.4.6 Transwell 侵袭实验评估细胞侵袭能力

首先, 将稀释后的 Matrigel 基质胶均匀涂布于 Transwell 小室底部膜的上室, 并置于 37 °C 环境中使其凝胶化。随后, 吸去残余液体, 加入含牛血清 ALB 的无血清培养基进行水化处理。将转染后的 LNCaP 细胞进行撤血清饥饿处理 12 h, 然后消化、离心, 弃去培养液, PBS 洗涤后用无血清培养基重悬。将细胞悬液加入 Transwell 小室上室, 下室加入完全培养基, 然后将整个系统置于 37 °C、含 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 24 h。培养结束后, 取出小室, 去除上室中未侵袭的细胞, 对下室中已侵袭的细胞进行固定、染色和计数, 以此来评估细胞的侵袭能力。

1.4.7 qPCR

利用 TRIzol 试剂盒从临床组织标本和细胞中提

取总 RNA。采用 PrimeScript II first-strand cDNA 合成试剂盒将总 RNA 反转录成 cDNA。在 Applied Biosystems 7500 实时 PCR 系统上, 使用 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒进行 qPCR。反应条件: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 40 个循环。并采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算各基因表达水平, 以 GAPDH 为内参。引物序列如下, HOXA2: 正向 5'-AGC CCC TCC AAA AGA GGG A-3', 反向 5'-ATG TAT CAG CGA CAG GGG GA-3'; HOXA9: 正向 5'-GAA CTC CCA GCA CGC AGA AT-3', 反向 5'-GTG GAC CAG GAG TAC CTT GC-3'; HOXA10: 正向 5'-TTT GGT CGA CTC GCT CAT CA-3', 反向 5'-GCT GCC TCA TTG CGC TTG-3'; IL-10: 正向 5'-GGT TGT CGT CTC ATT CTG AAA GA-3', 反向 5'-GGT AGA GGA CCC AAG TTC GTT AAG A-3'; PD-L1: 正向 5'-ACG CAT TTA CTG TCA CGG TTC-3', 反向 5'-GGA GAG CTG GTC CTT CAA CAG-3'; GAPDH: 正向 5'-CCA CAT CGC TCA GAC ACC AT-3', 反向 5'-TGA AGG GGT CAT TGA TGG CAA-3'。

1.4.8 Western blot 检测

使用 RIPA 裂解液试剂盒提取细胞总蛋白。接着, 将提取的蛋白样品加载到 8%~12% 的梯度凝胶上, 通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 分离蛋白。电泳完成后, 使用 5% BSA 溶液进行封闭。然后, 将膜分别与特定的一抗于 4 °C 条件下孵育过夜, 包括 HOXA2、HOXA9、HOXA10、IL-10、PD-L1 抗体 (1:800 稀释)。次日, 使用与一抗相对应的二抗与膜于室温下共同孵育 2 h, 最后电化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL) 试剂盒显影, 分析蛋白条带灰度值。

1.5 统计学处理

生物信息学部分统计分析通过 R3.5.3 语言程序完成。其余实验采用 SPSS20.0 软件对数据进行统计分析, 采用 Kaplan-Meier 检验分析 HOXA 基因高表达和低表达间的生存差异。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; 计数资料以例数和百分比表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HOXA 基因在 PCa 标本中的表达状态

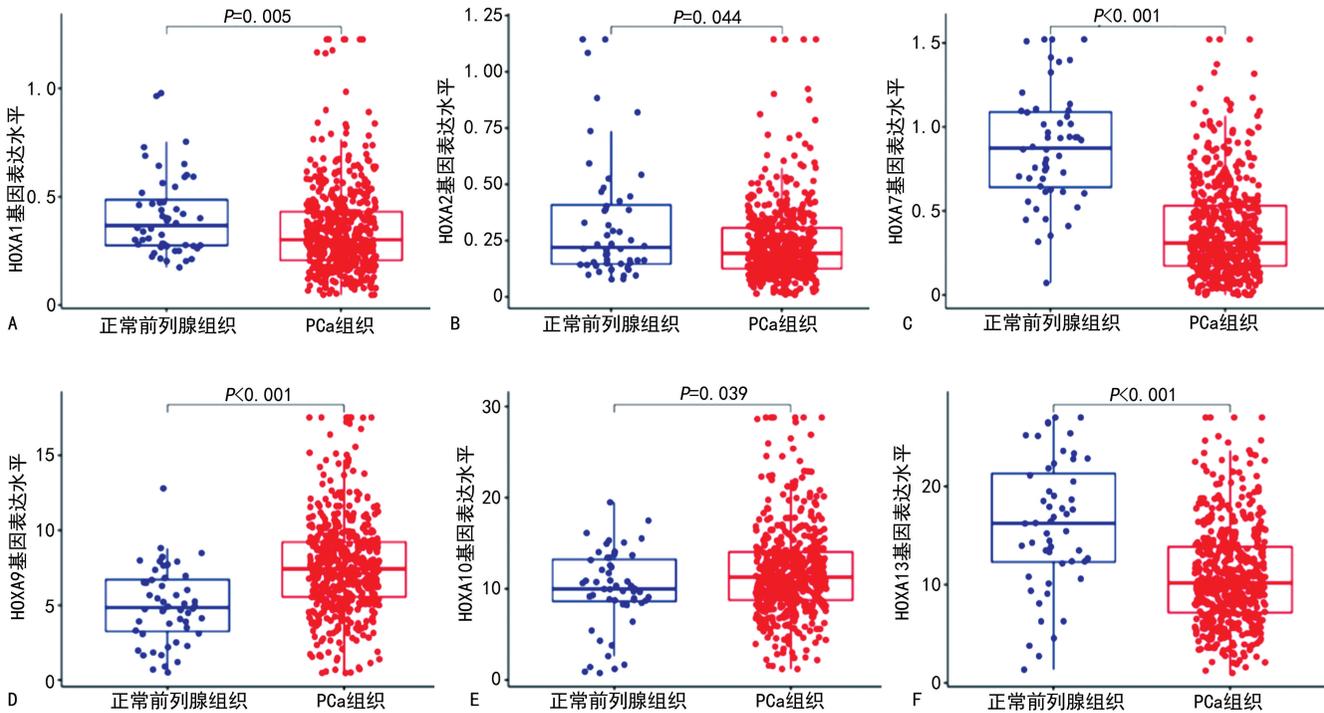
PCa 组织中 HOXA1、HOXA2、HOXA7、HOXA13 基因表达水平明显低于正常前列腺组织 ($P < 0.05$), HOXA9、HOXA10 基因表达水平明显高于正常前列腺组织 ($P < 0.05$), 见图 1。

2.2 HOXA 基因在 PCa 预后判断中的价值

基于 TCGA 数据库数据, Kaplan-Meier 法分析结果显示, HOXA10、HOXA11 基因表达水平越高, PCa 患者总生存率越小 ($P = 0.011, 0.006$),

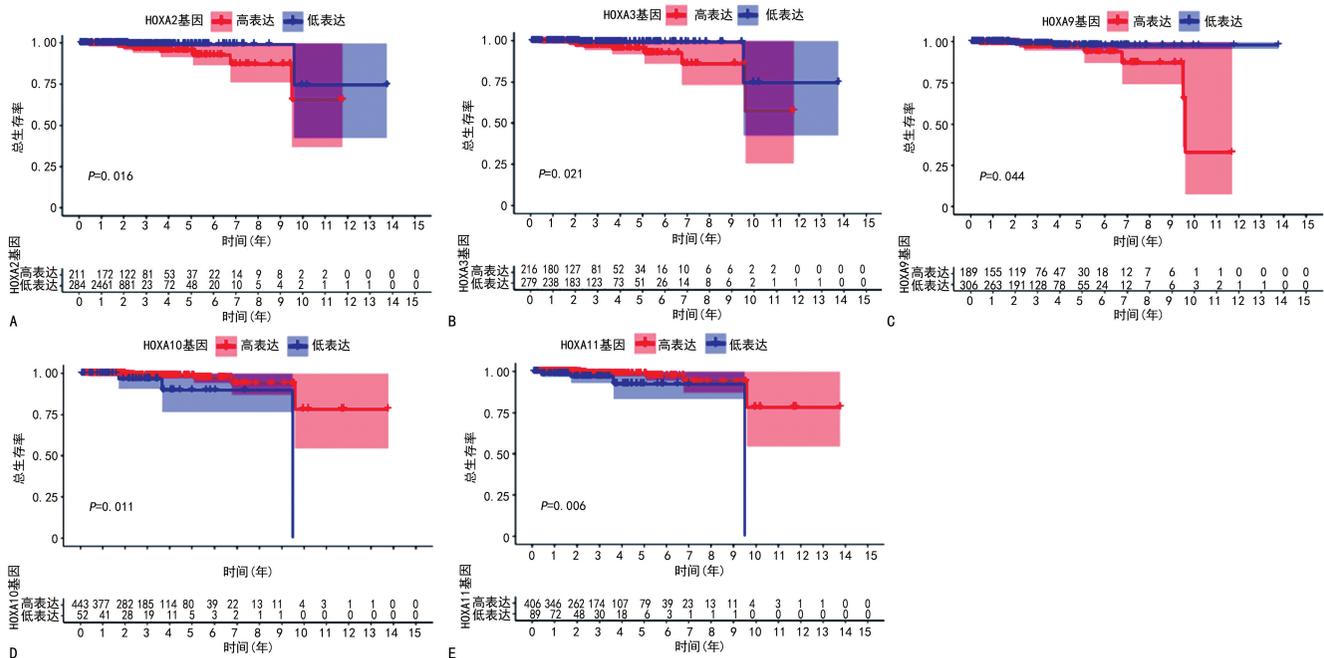
HOXA2、HOXA3、HOXA9 基因表达水平越高, PCa 患者总生存率越高 ($P=0.016, 0.021, 0.044$), 见图 2。HOXA2、HOXA3、HOXA6 基因表达水平越高, PCa 患者无进展生存率越小 ($P < 0.05$), 而

HOXA10、HOXA13 基因表达水平越高, PCa 患者无进展生存率越高 ($P=0.010, 0.016$), 见图 3。其余 HOXA 基因与 PCa 患者预后则无明显相关性。



A: HOXA1 基因; B: HOXA2 基因; C: HOXA7 基因; D: HOXA9 基因; E: HOXA10 基因; F: HOXA13 基因。

图 1 HOXA 基因在 PCa 组织和正常前列腺组织中的表达比较



A: HOXA2 基因; B: HOXA3 基因; C: HOXA9 基因; D: HOXA10 基因; E: HOXA11 基因。

图 2 HOXA 基因高表达和低表达患者的总生存率分析

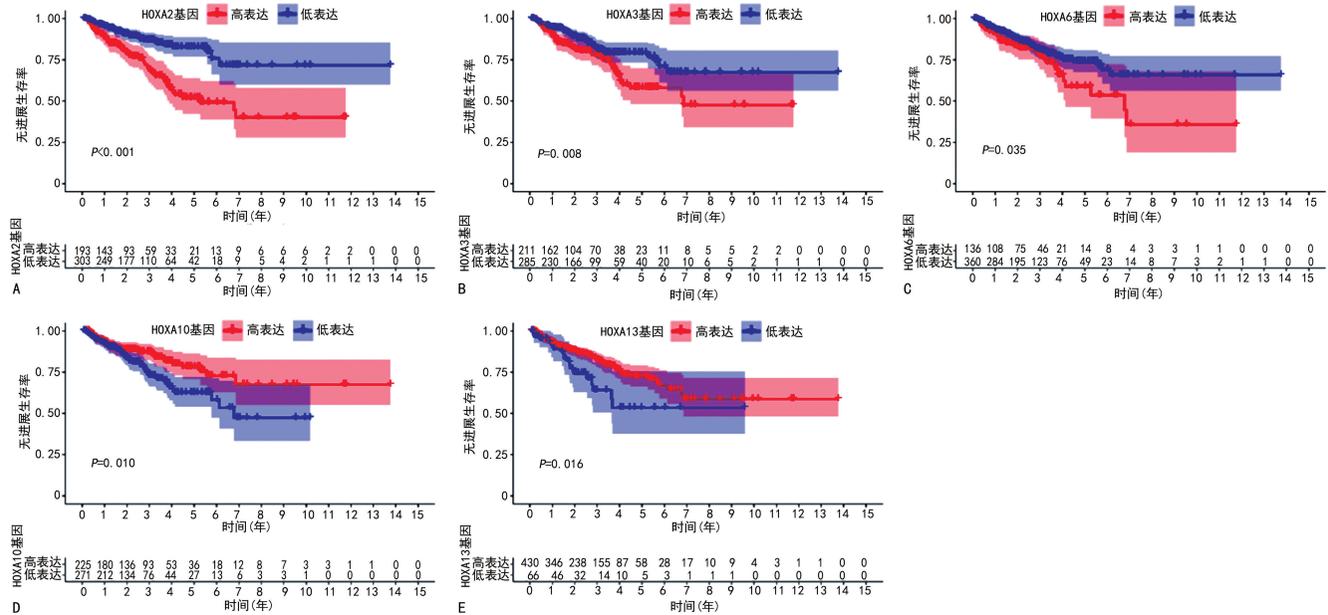
2.3 HOXA 基因与 TIICs 的相关性

TCGA 数据库与 GTEX 数据库分析结果显示, PCa 中 HOXA 基因家族成员表达与肿瘤免疫微环境有关。同时, PCa 组织和非肿瘤组织中不同 TIICs 水

平也存在差异。其中, HOXA2 基因表达水平与调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)及 CD8⁺ T 细胞水平呈正相关 ($P < 0.05$), 而与 CD4⁺ T 细胞、M1 巨噬细胞、静息肥大细胞、中性粒细胞及静息树突细胞

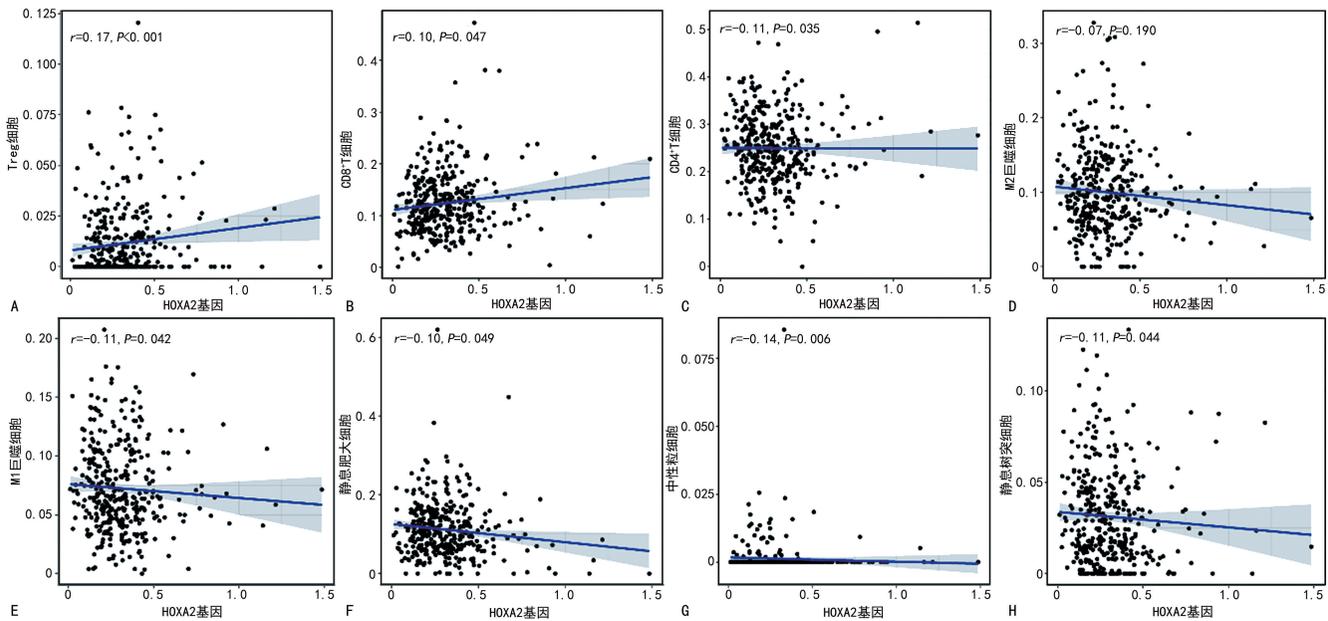
水平呈负相关($P < 0.05$),而与 M2 巨噬细胞水平无关($P > 0.05$),见图 4。此外,HOXA9 基因表达水平与激活的肥大细胞及激活的树突细胞水平呈负相关($P < 0.05$),而与静息肥大细胞及 M0 巨噬细胞水平

呈正相关($P < 0.05$),见图 5。此外,还发现 HOXA10 基因表达水平与记忆 B 细胞和 M2 巨噬细胞水平呈负相关($P < 0.05$),而与静息肥大细胞水平呈正相关($P < 0.05$),见图 6。



A: HOXA2 基因; B: HOXA3 基因; C: HOXA6 基因; D: HOXA10 基因; E: HOXA13 基因。

图 3 HOXA 基因高表达和低表达患者的无进展生存率分析



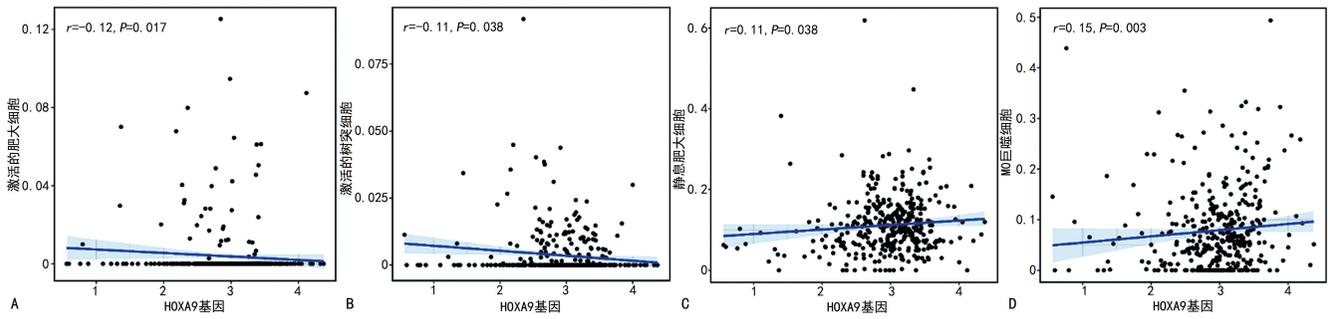
A: HOXA2 基因表达水平与 Treg 细胞水平的相关性; B: HOXA2 基因表达水平与 CD8⁺ T 细胞水平的相关性; C: HOXA2 基因表达水平与 CD4⁺ T 细胞水平的相关性; D: HOXA2 基因表达水平与 M2 巨噬细胞水平的相关性; E: HOXA2 基因表达水平与 M1 巨噬细胞水平的相关性; F: HOXA2 基因表达水平与静息肥大细胞水平的相关性; G: HOXA2 基因表达水平与中性粒细胞水平的相关性; H: HOXA2 基因表达水平与静息树突细胞水平的相关性。

图 4 HOXA2 基因表达水平与 8 种 TILs 水平的相关性分析

2.4 HOXA2、HOXA9、HOXA10 在 PCa 临床标本中的表达特点

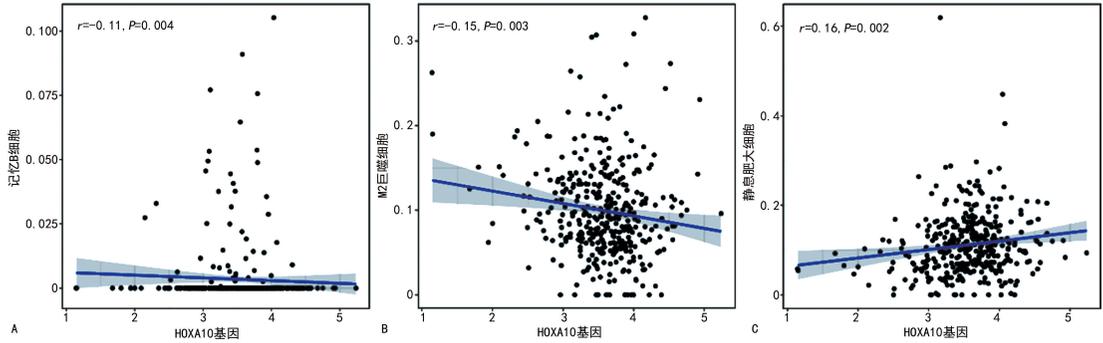
基于生物信息学分析和免疫浸润分析,发现 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因与 PCa 预后及免疫浸润有关,因此,本研究主要分析 HOXA2、HOXA9、

HOXA10 在 PCa 临床标本的表达特点。qPCR 和 Western blot 结果显示,PCa 组织中 HOXA2、HOXA9 mRNA 和蛋白表达水平明显高于癌旁正常组织($P < 0.05$),而 HOXA10 mRNA 和蛋白表达水平明显低于癌旁正常组织($P < 0.05$),见图 7。



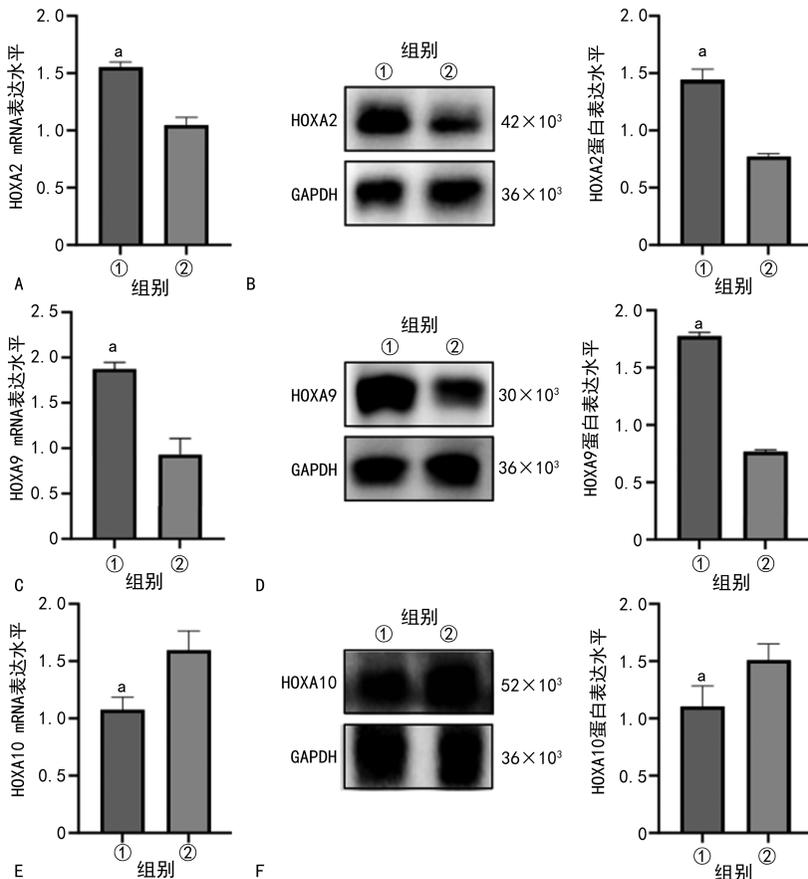
A: HOXA9 基因表达水平与激活的肥大细胞水平的相关性; B: HOXA9 基因表达水平与激活的树突细胞水平的相关性; C: HOXA9 基因表达水平与静息肥大细胞水平的相关性; D: HOXA9 基因表达水平与 M0 巨噬细胞水平的相关性。

图 5 HOXA9 基因表达水平与 4 种 TIICs 水平的相关性分析



A: HOXA10 基因表达水平与记忆 B 细胞水平的相关性; B: HOXA10 基因表达水平与 M2 巨噬细胞水平的相关性; C: HOXA10 基因表达水平与静息肥大细胞水平的相关性。

图 6 HOXA10 基因表达水平与 3 种 TIICs 水平的相关性分析



A, B: qPCR 及 Western blot 检测 PCa 及癌旁正常组织 HOXA2 mRNA 和蛋白表达水平; C, D: qPCR 及 Western blot 检测 PCa 及癌旁正常组织 HOXA9 mRNA 和蛋白表达水平; E, F: qPCR 及 Western blot 检测 PCa 及癌旁正常组织 HOXA10 mRNA 和蛋白表达水平; ①: PCa 组织; ②: 癌旁正常组织; ^a: $P < 0.05$, 与癌旁正常组织比较。

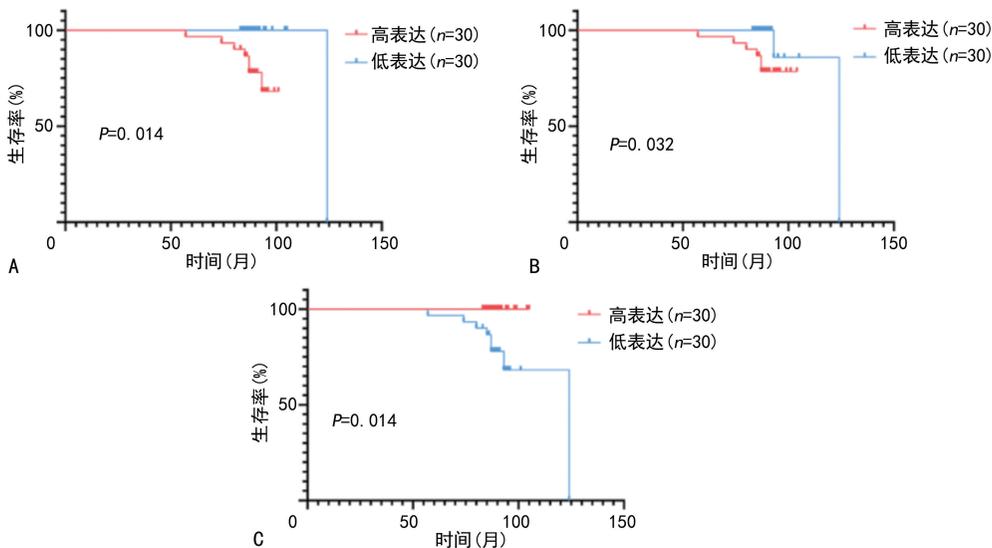
图 7 HOXA2、HOXA9、HOXA10 mRNA 和蛋白在 PCa 组织和癌旁正常组织中的表达水平比较

2.5 HOXA2、HOXA9、HOXA10 与 PCa 患者生存率间的关系

临床研究显示,HOXA2、HOXA9 高表达 PCa 患者的生存率明显低于 HOXA2、HOXA9 低表达患者($P < 0.05$),HOXA10 高表达 PCa 患者的生存率明显高于 HOXA10 低表达患者($P < 0.05$),见图 8。

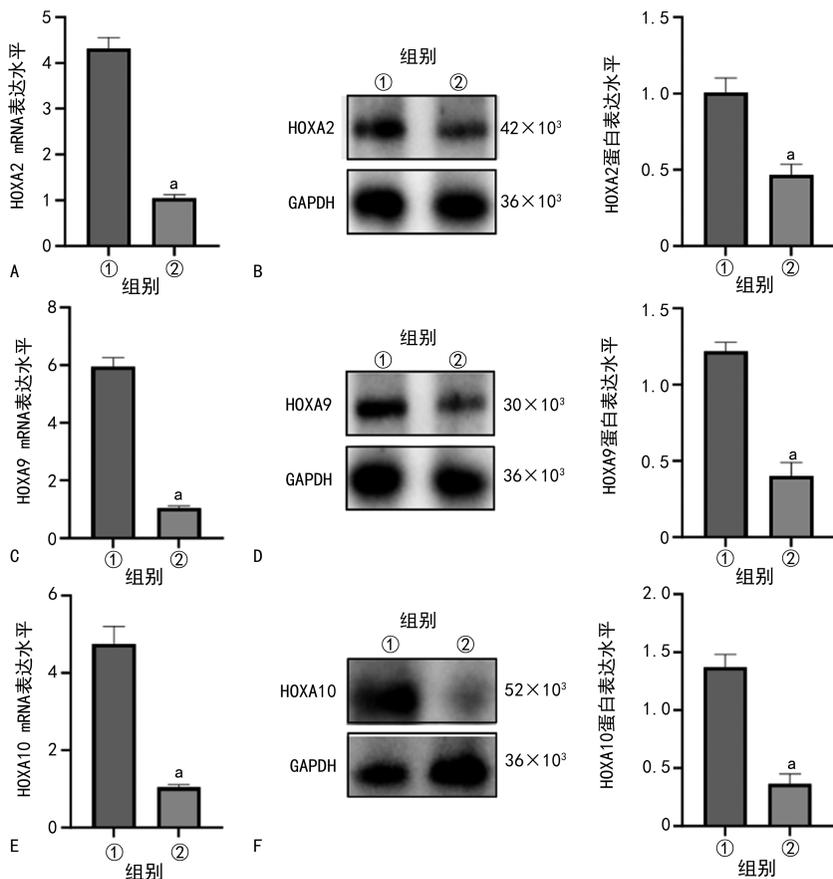
2.6 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因沉默效果

评价
为分析 HOXA2、HOXA9、HOXA10 对 PCa 细胞的影响,构建沉默 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因表达的 LNCaP 细胞系。转染操作后,si-HOXA2 组、si-HOXA9 组、si-HOXA10 组 PCa 细胞对应的 HOXA2、HOXA9、HOXA10 mRNA 和蛋白表达水平明显低于 si-NC 组($P < 0.05$),见图 9。



A:HOXA2 与 PCa 患者生存率间的关系;B:HOXA9 与 PCa 患者生存率间的关系;C:HOXA10 与 PCa 患者生存率间的关系。

图 8 HOXA2、HOXA9 和 HOXA10 与 PCa 患者生存率间的关系

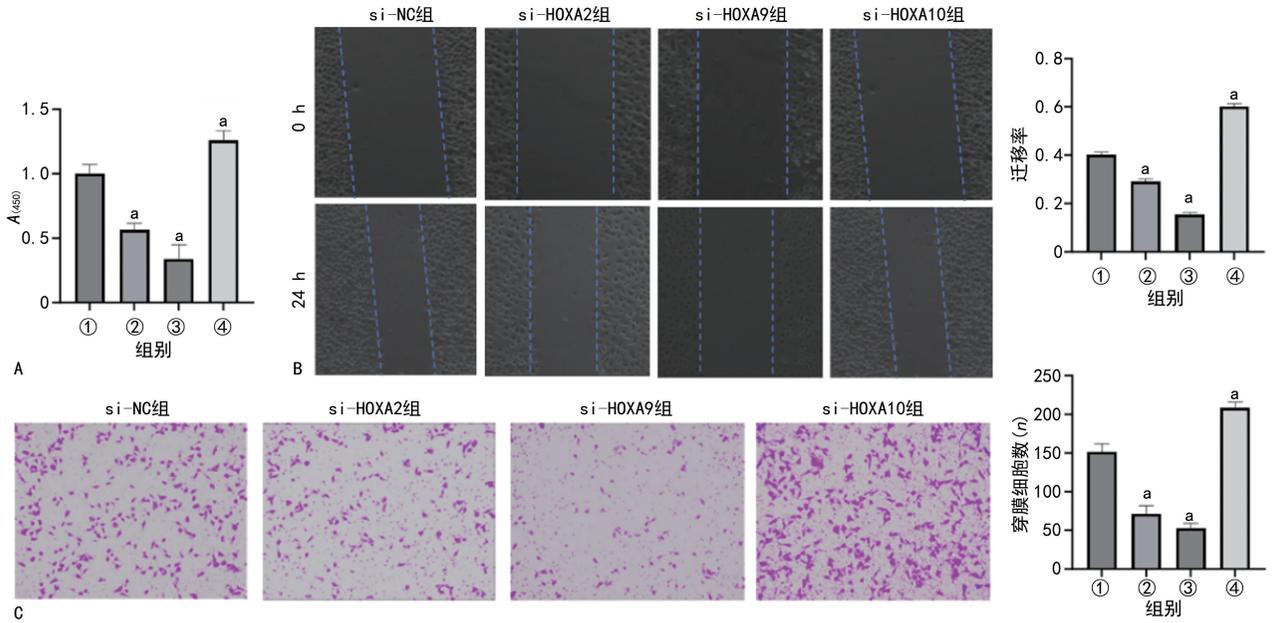


A,B:转染后 PCa 细胞中 HOXA2 mRNA 和蛋白表达水平分析;C,D:转染后 PCa 细胞中 HOXA9 mRNA 和蛋白表达水平分析;E,F:转染后 PCa 细胞中 HOXA10 mRNA 和蛋白表达水平分析;①:si-NC 组;②:si-HOXA2 组;^a: $P < 0.05$,与 si-NC 组比较。

图 9 沉默 HOXA2、HOXA9 和 HOXA10 基因的 PCa 细胞的构建

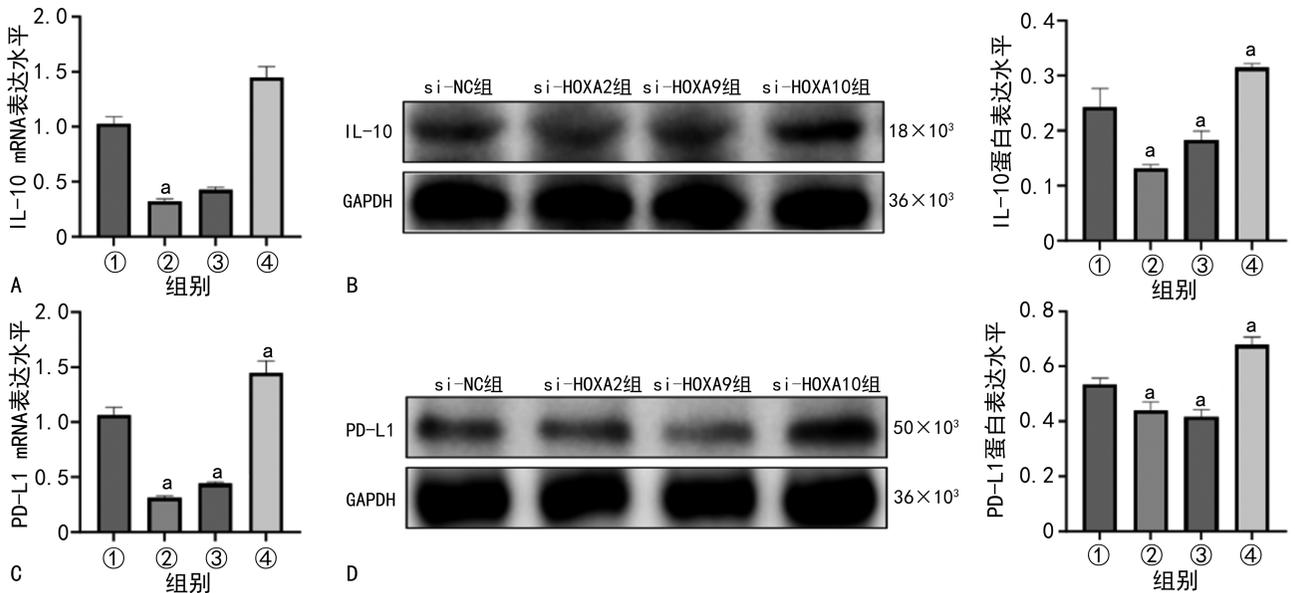
2.7 沉默 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因对 PCa 细胞增殖活性、迁移能力和侵袭的影响

CCK-8 实验、划痕实验、Transwell 侵袭实验结果表明, si-HOXA2 组、si-HOXA9 组 PCa 细胞的增殖活性、迁移能力和侵袭能力明显低于 si-NC 组 ($P < 0.05$), 而 si-HOXA10 组 PCa 细胞的增殖活性、迁移能力和侵袭能力明显高于 si-NC 组 ($P < 0.05$), 见图 10。



A: CCK-8 实验定量分析 (100×); B: 划痕实验及定量分析 (200×); C: Transwell 侵袭实验及定量分析; ①: si-NC 组; ②: si-HOXA2 组; ③: si-HOXA9 组; ④: si-HOXA10 组; ^a: $P < 0.05$, 与 si-NC 组比较。

图 10 沉默 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因对 PCa 细胞增殖、迁移和侵袭的影响



A、B: qPCR 及 Western blot 检测各组细胞 IL-10 mRNA 和蛋白表达水平; C、D: qPCR 及 Western blot 检测各组细胞 PD-L1 mRNA 和蛋白表达水平; ①: si-NC 组; ②: si-HOXA2 组; ③: si-HOXA9 组; ④: si-HOXA10 组; ^a: $P < 0.05$, 与 si-NC 组比较。

图 11 沉默 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因对 PCa 免疫的影响

3 讨论

癌症严重威胁着人类健康, 分子生物标志物对肿瘤治疗和预后预测十分重要^[7]。本研究通过深入挖

2.8 沉默 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因对 PCa 免疫的影响

qPCR、Western blot 结果显示, si-HOXA2 组、si-HOXA9 组 PCa 细胞 IL-10 和 PD-L1 mRNA 和蛋白表达水平明显低于 si-NC 组 ($P < 0.05$), 而 HOXA10 组 IL-10 和 PD-L1 mRNA 和蛋白表达水平明显高于 si-NC 组 ($P < 0.05$), 见图 11。

掘 TCGA 数据库, 明确鉴别出了在 PCa 中表达失调的 6 个 HOXA 基因, 具体为 HOXA1、HOXA2、HOXA7、HOXA9、HOXA10、HOXA13 基因。现有

研究显示 HOXA1 具有诱导宫颈癌的糖酵解和促进癌症进展的作用^[8], 并且与食管癌^[9]、膀胱癌^[10]的进展有关。LIU 等^[11]的研究表明 HOXA2 异常高表达是胶质瘤患者预后不良的独立因素。HOXA7 通过调节髓系抑制细胞促进结直肠癌的转移^[12], 并且 HOXA7 也是铁死亡相关的肺腺癌脑转移的潜在驱动因素^[13]。对于 HOXA9, 一项临床研究显示高水平的 HOXA9 表达可预测高级别浆液型卵巢癌患者的化疗反应和预后^[14]。MISHRA 等^[15]的研究发现 HOXA10 具有抑癌作用, HOXA10 的缺失会导致子宫内膜增生, 并为其发展为子宫内膜癌提供动力。然而也有研究结果显示 HOXA10 通过直接激活经典核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路促进胰腺癌进展^[16]。此外, DONG 等^[17]的研究揭示, HOXA13 在 PCa 组织中的表达水平明显高于正常前列腺组织, HOXA13 表达水平升高预示着患者预后不良。然而, 关于 HOXA 基因在 PCa 中的具体功能, 目前尚缺乏相关报道。

本研究也深入探究了 HOXA 基因在 PCa 中的临床应用价值, 结果显示, HOXA1、HOXA2、HOXA3、HOXA9、HOXA10 基因的表达水平与 PCa 患者的总生存率相关。此外, HOXA2、HOXA3、HOXA6、HOXA10、HOXA13 基因表达水平与 PCa 患者的无进展生存率相关。已有研究报道了 HOXA 基因在诸如口腔鳞癌和白血病等癌症中的预后评估价值^[18-19]。结合本次的研究结果, 提示 HOXA 基因具有作为 PCa 患者新型生物标志物的潜力, 可能为 PCa 的临床诊断、治疗及预后评估提供新的思路 and 方向。

随着分子层面研究的不断深入, 发现肿瘤微环境在癌症调节中的作用^[20]。本研究聚焦 HOXA2、HOXA9、HOXA10 这 3 个基因, 探讨它们与肿瘤免疫浸润间的潜在联系, 发现 HOXA2 基因的表达水平与多种免疫细胞状态相关, 包括 CD8⁺T 细胞、Tregs、CD4⁺T 细胞、M1 巨噬细胞、静息肥大细胞、中性粒细胞及静息树突细胞; HOXA9 基因的表达则与激活的肥大细胞、激活的树突细胞、静息肥大细胞及 M0 巨噬细胞水平紧密相关; HOXA10 基因也与记忆 B 细胞和 M2 巨噬细胞水平相关。这提示 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因在调节 PCa 的免疫浸润过程中发挥着重要作用。

基于上述生物信息学分析和免疫浸润分析结果, 发现 HOXA2、HOXA9、HOXA10 基因与 PCa 预后及免疫浸润有关, 为了验证上述生物信息结果, 本研究首先检测了 HOXA2、HOXA9、HOXA10 在 PCa 临床标本中的表达特点。结果显示, 与癌旁正常组织比较, PCa 组织中 HOXA2、HOXA9 mRNA 和蛋白表达水平明显升高, 而 HOXA10 mRNA 和蛋白表达水平明显降低。CCK-8 实验、划痕实验、Transwell 侵袭实验结果表明, 沉默 HOXA2 基因和 HOXA9 基因表达抑制了 PCa 细胞的增殖活性、迁移能力和侵袭能力, 而沉默 HOXA10 基因则提高了 PCa 细胞的增殖

活性、迁移能力和侵袭能力。此外, 沉默 HOXA2、HOXA9 基因表达明显降低了 IL-10 和 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达水平, 而沉默 HOXA10 基因则提高了 IL-10 和 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达水平。IL-10 可由肿瘤细胞、巨噬细胞、T 细胞等分泌以实现免疫抑制。而 PD-L1 则主要由肿瘤细胞表达, 通过识别和结合巨噬细胞、T 细胞、自然杀伤细胞膜上的 PD-1 来抑制免疫细胞的杀伤力, 从而诱导免疫抑制。LI 等^[21]研究发现 HOXA2 的高表达是导致免疫浸润异常和提高 PCa 对比卡鲁胺耐药的关键基因之一。而 HOXA9 在卵巢癌中的高表达会诱导腹膜巨噬细胞获得 M2 肿瘤促进表型^[22]。同时自然杀伤细胞活性和甲基化 HOXA9 ctDNA 可作为接受程序性死亡受体-1 (programmed cell death protein-1, PD-1)/PD-L1 抑制剂治疗的非小细胞肺癌患者的预后生物标志物^[23]。综合生物信息学分析发现 HOXA10 在低级别胶质瘤免疫细胞浸润中也发挥关键调控作用^[24], 这些发现有力地支持了本研究的结果。

然而, 本研究也存在一些不足之处。首先, TCGA 数据库中的数据主要来自欧洲、非洲人群, 将研究结果外推至其他地区需要进一步验证。生物信息学分析检测的是基因水平的数据, 而临床和细胞实验则侧重基因和蛋白的表达, 因此, 临床和细胞实验可能与生物信息学分析的结果各有侧重, 应重点关注临床研究结果。此外, 虽然本研究收集了汉族人的 PCa 标本进行分析, 但是 HOXA2、HOXA9、HOXA10 与 PCa 患者临床病理特点和预后间的关系仍需要扩大标本量进行分析。此外, 虽然本研究进行了初步的细胞实验来证实 HOXA2、HOXA9、HOXA10 在 PCa 中的功能, 但是其调控 PCa 增殖、迁移和侵袭及免疫抑制的作用和分子机制仍需进一步的体内外实验进行深入分析。

综上所述, 本研究分析了 HOXA 基因家族成员在 PCa 中的临床诊断价值, 明确了 HOXA2、HOXA9、HOXA10 对 PCa 细胞生物学行为和免疫抑制的调控作用。本研究为 HOXA 基因家族成员预测 PCa 预后和发展的作用提供了新的启示, 为开发新的针对 HOXA 基因的 PCa 治疗方案提供了新的思路和理论基础。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.
- [2] DE KOUCHKOVSKY I, CHAN E, SCHLOSS C, et al. Diagnosis and management of neuroendocrine prostate cancer [J]. Prostate, 2024, 84

- (5):426-440.
- [3] CORNFORD P, VAN DEN BERGH R C N, BR-IERS E, et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-ISUP-SIOG guidelines on prostate cancer-2024 update. part I : screening, diagnosis, and local treatment with curative intent [J]. *Eur Urol*, 2024, 86(2):148-163.
- [4] WILDERMAN A, D'HAENE E, BAETENS M, et al. A distant global control region is essential for normal expression of anterior HOXA genes during mouse and human craniofacial development [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):136.
- [5] MURPHY S E, BOETTIGER A N. Polycomb repression of HOX genes involves spatial feedback but not domain compaction or phase transition [J]. *Nat Genet*, 2024, 56(3):493-504.
- [6] YU Z, LIU Z, LIAN X, et al. High expression of HOXA4 in patients with glioma indicates unfavorable clinical outcomes [J]. *Cell Cycle*, 2022, 21(22):2387-2402.
- [7] SIEGEL R L, GIAQUINTO A N, JEMAL A. Cancer statistics, 2024 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(1):12-49.
- [8] ZHANG Z, PENG J, LI B, et al. HOXA1 promotes aerobic glycolysis and cancer progression in cervical cancer [J]. *Cell Signal*, 2023, 109:110747.
- [9] CHEN L, LUO C, XU Y, et al. Circ_0058063 regulates the development of esophageal cancer through miR-377-3p/HOXA1 axis [J]. *Anticancer Drugs*, 2023, 34(4):495-506.
- [10] CHEN S, SHU G, WANG G, et al. HOXA1 promotes proliferation and metastasis of bladder cancer by enhancing SMAD3 transcription [J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 239:154141.
- [11] LIU Z, SHEN F, WANG H, et al. Abnormally high expression of HOXA2 as an independent factor for poor prognosis in glioma patients [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(13):1632-1640.
- [12] DANG Y, YU J, ZHAO S, et al. HOXA7 promotes the metastasis of KRAS mutant colorectal cancer by regulating myeloid-derived suppressor cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1):88.
- [13] CHEN Q, PAN Q, GAO H, et al. MiR-17-5p/HOXA7 is a potential driver for brain metastasis of lung adenocarcinoma related to ferroptosis revealed by bioinformatic analysis [J]. *Front Neurol*, 2022, 13:878947.
- [14] LI X, ZHANG H, HUO Y. High HOXA9 gene expression predicts response to chemotherapy and prognosis of high-grade serous ovarian cancer patients [J]. *J Int Med Res*, 2022, 50(11):3000605221135864.
- [15] MISHRA A, GANGULI N, MAJUMDAR S S, et al. Loss of HOXA10 causes endometrial hyperplasia progressing to endometrial cancer [J]. *J Mol Endocrinol*, 2022, 69(3):431-444.
- [16] LI J, CHANG J, WANG J, et al. HOXA10 promote pancreatic cancer progression via directly activating canonical NF- κ B signaling pathway [J]. *Carcinogenesis*, 2022, 43(8):787-796.
- [17] DONG Y, CAI Y, LIU B, et al. HOXA13 is associated with unfavorable survival and acts as a novel oncogene in prostate carcinoma [J]. *Future Oncol*, 2017, 13(17):1505-1516.
- [18] WANG D. Promotive effects of HOXA10 antisense RNA on the stemness of oral squamous cell carcinoma stem cells through a microRNA-29a/MCL-1/phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B axis [J]. *Arch Oral Biol*, 2021, 126:105114.
- [19] CHEN S, QIN Z, HU F, et al. The role of the HOXA gene family in acute myeloid leukemia [J]. *Genes (Basel)*, 2019, 10(8):621.
- [20] MA Y, KROEMER G. The cancer-immune dialogue in the context of stress [J]. *Nat Rev Immunol*, 2024, 24(4):264-281.
- [21] LI Y, WANG H, PAN Y, et al. Identification of bicalutamide resistance-related genes and prognosis prediction in patients with prostate cancer [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14:1125299.
- [22] KO S Y, LADANYI A, LENGYEL E, et al. Expression of the homeobox gene HOXA9 in ovarian cancer induces peritoneal macrophages to acquire an M2 tumor-promoting phenotype [J]. *Am J Pathol*, 2014, 184(1):271-281.
- [23] WEN S W C, NEDERBY L, ANDERSEN R F, et al. NK cell activity and methylated HOXA9 ctDNA as prognostic biomarkers in patients with non-small cell lung cancer treated with PD-1/PD-L1 inhibitors [J]. *Br J Cancer*, 2023, 129(1):135-142.
- [24] WANG T, LIU M, JIA M. Integrated bioinformatic analysis of the correlation of HOXA10 expression with survival and immune cell infiltration in lower grade glioma [J]. *Biochem Genet*, 2023, 61(1):238-257.