

特约评述

DOI:10.12211/2096-8280.2025-084

单细胞转录组联合生物传感——宫颈癌分子诊断方法
研发新框架

鄢震^{1,2}, 赵超³, 安佳慧^{1,2}, 谢文菁^{1,2}, 彭汉勇^{1,2}, 张晓波⁴, 李明珠³, 陈新^{1,2}, 徐丽^{1,2}, 谢群慧^{1,2},
魏丽惠³

(¹ 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与环境毒理全国重点实验室, 北京 100085; ² 中国科学院大学资源与环境学院, 北京 100049; ³ 北京大学人民医院妇产科, 北京 100044; ⁴ 北京大学人民医院病理科, 北京 100044)

摘要: 宫颈癌 (cervical cancer) 作为全球性女性健康威胁之一, 其精准诊疗是临床的迫切需求。现行的“三阶梯”宫颈癌筛查策略虽然已将宫颈癌的主要致病因素之一——高危型人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 感染纳入其中, 但因 HPV 感染并非宫颈癌患病的充分必要条件, 筛查的假阳性率较高, 容易导致过度诊疗, 急需发展有效且功能明确的宫颈癌分子标志物 (molecular markers), 辅助临床诊疗, 提高诊断的精准度。目前宫颈癌分子标志物的发现与转化过程中存在两个瓶颈问题: 一是现有分子标志物研发技术手段对其功能解析的分辨率不足, 难以克服肿瘤异质性的干扰; 二是现有分子标志物检测方法在灵敏度和定量可靠性等方面的不足, 导致了对其临床功能的验证和临床转化的限制。本文提出了一种联合单细胞转录组 (single cell RNA sequencing, scRNA-seq) 与生物传感 (biosensing) 技术的研究框架, 以推动更高功能分辨率的宫颈癌分子标志物的发现, 和面向临床应用的分子诊断方法的技术转化。该框架引入了目前先进单细胞转录组以及基于合成生物学原理设计的生物传感系统, 如面向分子标志物的定量和组织分布研究的高灵敏的原位杂交技术和 CRISPR-Cas 介导的核酸检测新技术, 这些技术作为关键的“转化引擎”, 可为宫颈癌的早期发现和精准诊疗赋能。该多技术联合策略有望建立更具临床应用价值的宫颈癌分子诊断分层体系, 推动宫颈癌诊疗从单纯的“病毒筛查”向“分子精准诊断”跨越, 最终改善患者的预后管理与生存质量。

关键词: 宫颈癌; 癌症分子标志物; 生物传感; 单细胞转录组; 精准诊疗

中图分类号: Q81 **文献标志码:** A

收稿日期: 2025-08-04 修回日期: 2025-10-11

基金项目: 国家重点研发计划 (2024YFA0918802); 北京市通州区科学技术委员会项目 (KJ2024CX060); 中国科学院 B 类先导专项 (XDB0750300)

引用本文: 鄢震, 赵超, 安佳慧, 谢文菁, 彭汉勇, 张晓波, 李明珠, 陈新, 徐丽, 谢群慧, 魏丽惠. 单细胞转录组联合生物传感——宫颈癌分子诊断方法研发新框架[J]. 合成生物学, 2026, 7(1): 113-128

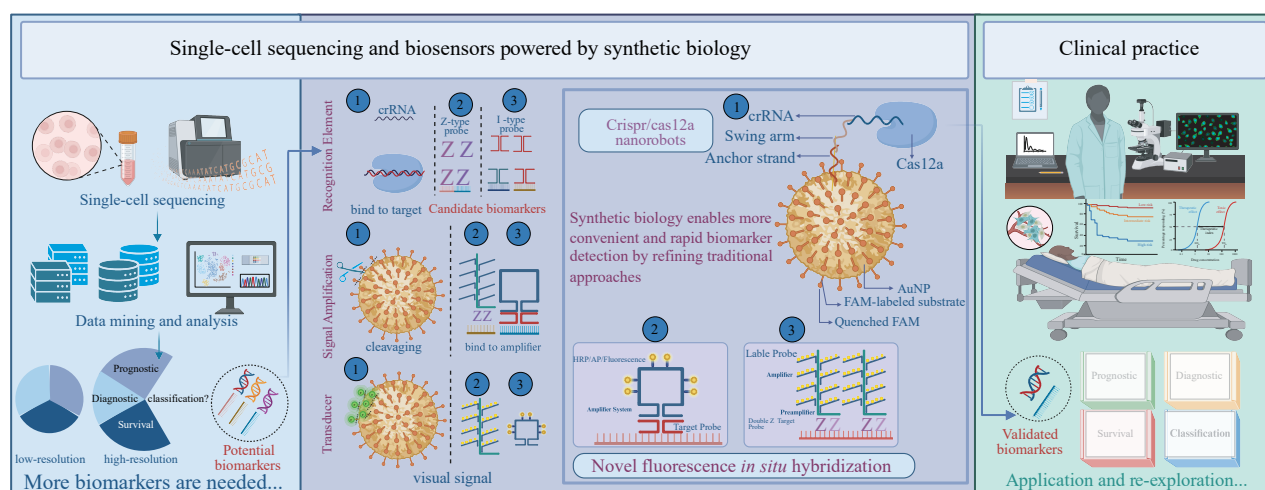
Citation: YAN Zhen, ZHAO Chao, AN Jiahui, XIE Wenjing, PENG Hanyong, ZHANG Xiaobo, LI Mingzhu, CHEN Xin, XU Li, XIE Qunhui, WEI Lihui. Single-cell transcriptome combined with biosensing: a new framework to develop molecular diagnostic methods for cervical cancer [J]. Synthetic Biology Journal, 2026, 7(1): 113-128

Single-cell transcriptome combined with biosensing: a new framework to develop molecular diagnostic methods for cervical cancer

YAN Zhen^{1, 2}, ZHAO Chao³, AN Jiahui^{1, 2}, XIE Wenjing^{1, 2}, PENG Hanyong^{1, 2}, ZHANG Xiaobo⁴,
LI Mingzhu³, CHEN Xin^{1, 2}, XU Li^{1, 2}, XIE Qunhui^{1, 2}, WEI Lihui³

(¹State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Toxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; ²College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³Department of Obstetrics and Gynecology, Peking University People's Hospital, Beijing, 100044, China; ⁴Department of Pathology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China)

Abstract: Cervical cancer remains a significant global threat to women's health, responsible for approximately 600 000 new cases and 310 000 deaths worldwide in 2020. This highlights the urgent clinical need for more precise diagnosis and treatment. The current "three-step" screening strategy incorporates testing for high-risk human papillomavirus (HPV), one of the primary causative agents for cervical cancer. However, this approach is hampered by a high false-positive rate, as HPV infection is not sufficient and necessary conditions for the onset and progression of cervical cancer; only a small proportion of infected women can develop cervical intraepithelial neoplasia (CIN) or cancer, which often leads to overdiagnosis and overtreatment. Consequently, there is a pressing need, emphasized by recent WHO guidelines, to develop effective and functionally well-defined molecular biomarkers to improve the precision of clinical triage and diagnosis. This review addresses two critical bottlenecks impeding the discovery and translation of such biomarkers. The first is the lower effectiveness of existing technologies to overcome the challenge of tumor heterogeneity, where the molecular signals of critical malignant cell subpopulations are often obscured in bulk tissue analyses. The second bottleneck is the limitation of current detection methods used for validation, which often lack of the sensitivity, quantitative reliability, and throughput required for robust clinical verification. To overcome these obstacles, we propose a research framework that integrates single-cell omics with advanced biosensing technologies. This framework first leverages single-cell transcriptomics to decipher tumor heterogeneity at an unparalleled resolution, enabling the discovery of higher-quality biomarker candidates by identifying gene expression signatures unique to the specific subgroup of cells driving malignant progression. Subsequently, these candidates are validated using biosensing systems engineered through synthetic biology principles, such as high-sensitivity *in situ* hybridization for quantitative tissue analysis and novel CRISPR-Cas-mediated nucleic acid detection technologies. These advanced platforms may offer programmable, ultra-sensitive, and highly specific detection of biomarkers in clinical samples. By synergizing high-resolution discovery with high-fidelity validation, this framework may not only facilitate a more complete characterization of novel biomarkers, but also provides a direct pathway for translating these biosensing platforms into scalable clinical diagnostic kits. These technologies may serve as key drivers to enhance the early detection and precise management of cervical cancer.



Keywords: cervical cancer; cancer molecular markers; biosensing; single-cell transcriptome; precision medicine

宫颈癌 (cervical cancer) 是全世界范围内常见的妇科恶性肿瘤之一, 2020 年全球宫颈癌新发病例数达 60 万例, 死亡人数达 31 万例, 是女性癌症死亡的第四大原因^[1]。据统计, 1990—2019 年间, 中国女性宫颈癌年龄标化发病率由 9.21/10 万增加到 12.06/10 万, 发病率最高年龄段从 70~79 岁下降至 50~59 岁^[2], 呈现出宫颈癌发病年轻化和疾病负担上升的趋势。因此, 定期对年轻女性进行宫颈癌风险筛查, 并采取有效的早期预防和控制措施十分重要。

随着生物医学技术的发展和病因研究的不断深入, 宫颈癌已成为可预防、可治疗的恶性肿瘤。持续的人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 感染是宫颈癌发病的主要原因之一, 超过 90% 的宫颈癌病例是由 HPV 感染引起的^[3], 而其中超过 85% 的病例归因于高危型 HPV 感染^[4], 如高危型 HPV16 和 18 感染病例占据了 70% 以上^[5]。此外, 绝大多数的浸润性宫颈鳞癌都是由宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 转化而来, 并且与高危型 HPV 感染相关。目前普遍认可的宫颈癌的发病机制是高危型 HPV 病毒持续感染造成癌基因 *E6* 和 *E7* 整合到细胞基因组, 其产生的蛋白质进一步抑制了抑癌基因 *p53* 和 *pRb* 的表达, 使得宿主细胞凋亡失控、细胞增殖加剧, 最终导致宫颈上皮细胞向癌前病变 (如 CIN) 转变, 甚至发生向癌细胞的恶性转化^[6-7]。

根据上述机制, 临床上主要采用“三阶梯”式的宫颈癌筛查流程。第一阶梯为液基细胞学 (thinprep cytologic test, TCT) 和 HPV 核酸分子 (DNA 或 mRNA) 的联合筛查^[8]; 第二阶梯为阴道镜检查, 当细胞学和 HPV 联合筛查结果为意义不明的非典型鳞状细胞 (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) 及以上级别的病变和/或 HPV 阳性的患者, 将进行阴道镜下活检; 获取可疑部位组织进行病理检查, 即进入第三阶梯, 组织病理学检查。上述筛查方案可以提高对高级别癌前病变筛查的灵敏度, 但同时也降低了特异性, 从而导致不必要的阴道镜转诊^[9];

另外, 由于仅有一小部分的 HPV 感染患者会发展为 CIN 或宫颈癌^[10], 说明 HPV 感染并非宫颈癌发生的充分必要条件。因此, 在 2020 年世界卫生组织 (WHO) 发布的最新的宫颈癌癌前病变筛查和治疗指南中, 不仅强调 HPV 的 DNA 检测及高危亚型分析是宫颈癌癌前病变筛查的关键方法, 还指出与辅助分诊手段相结合, 发展不依赖于组织学确诊的“筛查、分诊和治疗”策略是未来进一步提高宫颈癌早筛灵敏性和特异性的一个重要研究方向^[11]。由此, 宫颈癌与癌前病变的新型辅助诊断方法, 尤其是用于分诊的分子标志物研究成为宫颈癌早筛技术研究的重要内容。

癌症分子标志物 (cancer molecular markers) 从基础研究走向临床应用, 需经历标志物的发现和基于患者样本的临床验证等关键步骤。但是, 由于肿瘤异质性和种属差异性等问题, 癌症分子标志物由实验室研究向临床应用的转化的过程往往障碍重重。随着组学技术的发展, 基于单细胞技术的多组学研究手段应运而生, 并开始在多个领域助力精准的细胞亚群和特征性标志物的识别, 为克服肿瘤异质性带来的癌症分子标志物研究的难题、发展具有不同分诊功能的分子标志物创造了条件。而如何实现对分子标志物的灵敏测定则是实现临床转化应用的另一个关键步骤, 合成生物学时代的生物传感 (biosensing)、基因编辑等前沿技术的快速发展使得分子标志物的识别和检测能力的大幅提升成为可能, 为开发新型诊断工具、实现有效的临床转化提供了技术支撑。可以想见, 基于单细胞的先进组学技术与合成生物学手段的结合, 将有望在分子标志物的技术创新方面展现出巨大潜力, 以推动宫颈癌早期诊断、预防和控制技术的发展。

1 宫颈癌分子诊断技术的发展现状

1.1 宫颈癌的分子标志物概述

癌症分子标志物 (或称生物标志物) 是指可

测量的生物指标,如DNA、RNA、蛋白质或代谢物等,它们能够为癌症的诊断、预后判断、治疗反应预测等提供关键信息。其检测既可通过组织活检进行,也可利用血液、尿液或唾液等体液样本实现检测^[12]。根据癌症分子标志物的临床指示功能的不同,可分为诊断标志物、预后标志物和对特定治疗手段反应的预测标志物等。

在宫颈癌的整个病程中,已发现诸多分子标志物在多种癌细胞表型相关的生物进程中发挥作用,可作为用于宫颈癌诊断、预后评估和药物治疗评估的潜在分子标志物。这些潜在宫颈癌分子标志物可按其在癌症进程中的功能归纳为七大类(表1),包括HPV感染及癌变、细胞周期与增殖、细胞凋亡、上皮分化、侵袭和转移、癌干细胞和血管生成相关的分子标志物,Volkova等发表的综述对这七类潜在的宫颈癌分子标志物进行了系统性的总结^[13]。HPV感染及癌变相关分子标志物,主要包括宫颈上皮细胞中的HPV DNA、病毒致癌基因表达产物E6/E7 mRNA和作为HPV E7介导的下游效应指标p16INK4a(以下简称为p16)蛋白,对这些标志物的检测可明确指示高危型HPV(16/18/31/33等)的感染情况^[13-15]。细胞周期与增殖调控相关分子标志物主要以p53和Ki-67等为代表,其中p53在DNA损伤后可介导细胞周期阻滞或细胞凋亡,其突变的累积则可提示肿瘤进展^[15-16];Ki-67是经典的细胞增殖标志物,辅以Ki-67检测

的诊断方法可显著提高对高级别鳞状上皮内病变及癌变的识别准确性^[15, 17-21]。细胞凋亡相关分子标志物主要以BCL-2/BAX等为代表,它们的表达失衡反映了肿瘤细胞逃逸凋亡的能力^[22-24]。上皮分化相关分子标志物,如CK7、CK8、CK17和CK19等,其表达模式的改变可提示宫颈鳞状或腺状上皮的分化程度,可以反向指示肿瘤的恶性程度^[25-26]。侵袭与转移相关分子标志物有*E-cadherin*基因和*CD44*及*MMP*家族(如*MMP-2/9*)基因等,*E-cadherin*基因表达下调指示上皮-间质转化^[16, 27],而*CD44*及*MMP*家族(如*MMP-2/9*)基因表达上调则指示基质降解增强与肿瘤细胞远端转移^[28-29]。癌症干细胞标志物,如ALDH1A1和OCT4与肿瘤干性、耐药及复发相关,可用于早期检测和疗效监测^[30]。血管生成标志物,如VEGF可通过诱导新生血管促进肿瘤进展,而内源性抑制剂TSP-1则发挥拮抗作用,二者共同构成抗血管生成治疗评估的潜在靶点^[31-34]。

在宫颈癌的早期筛查和疾病诊治过程中,从宫颈脱落细胞、宫颈病变组织及血清中检测上述标志物的基因或蛋白的表达水平,将有助于宫颈癌风险人群的分流、临床分期以及预后判断。目前已有部分分子标志物已进入临床应用阶段。检测高危型HPV DNA或其致癌基因E6/E7的表达,是识别宫颈病变风险的第一步。p16/Ki-67是一种相对客观的肿瘤诊断辅助检测方法,p16/

表1 现有宫颈癌分子标志物分类

Table 1 Current classification of molecular markers for cervical cancer

类别	代表分子标志物	主要功能与意义
HPV感染及癌变	HPV DNA; E6/E7 mRNA; p16	持续性人乳头瘤病毒感染 病毒致癌基因表达 通过E7-RB通路破坏导致p16过表达
细胞周期与增殖	p53; Ki-67	p53: 突变累积提示肿瘤进展 Ki-67: 经典的细胞增殖标志物, 高表达是细胞增殖活跃的标志
细胞凋亡	BCL-2/BAX	表达失衡反映肿瘤细胞逃逸凋亡的能力
上皮分化	CK7; CK8; CK17; CK19	表达模式的改变可反向指示肿瘤的恶性程度 部分细胞角蛋白(如CK7、CK17)有鉴别病变类型及进展趋势的潜力
侵袭和转移	<i>E-cadherin</i> ; <i>CD44</i> ; <i>MMP</i> 家族	<i>E-cadherin</i> 下调: 指示上皮-间质转化 <i>CD44/MMP</i> 上调: 指示基质降解增强与远端转移
癌干细胞	ALDH1A1; OCT4	与肿瘤干性、耐药及复发相关, 可用于早期检测和疗效监测
血管生成	VEGF; TSP-1	共同构成抗血管生成治疗的评估靶点 VEGF: 诱导新生血管, 促进肿瘤进展 TSP-1: 内源性抑制剂

Ki-67 双重免疫组化染色检测, 已在多个国家获批应用于宫颈癌的临床诊断, 对于细胞学检查结果异常的女性, p16/Ki-67 双染也是一个有效的临床分流工具^[35-36]。目前已知的 p16/Ki-67 检测的原理是, p16 可以将编码 E6 和 E7 的病毒基因整合到宿主基因组中, 导致 p16 在向高级别宫颈病变转化的上皮细胞中的表达量增加^[37]; Ki-67 表达存在于增殖活跃的细胞周期阶段 (包括 G1 期、S 期、G2M 期) 而在静息阶段 G0 期不表达, 因此 Ki-67 高表达是细胞增殖活跃的标志^[38]。已有多项研究证实 p16/Ki-67 检测具有多重临床意义。Ki-67 和 p16 的表达水平与宫颈病变程度呈正相关, 检测 p16 和 Ki-67 的蛋白表达水平, 可用于区分短期内转化风险高或转化风险低的病灶^[39]; 相较于传统的液基细胞学方法, p16 和 Ki-67 的蛋白表达的联合检测可以提高 CIN2+ 病变筛查的灵敏度^[20]; 对于 CIN2+ 病变筛查的特异性约为 68%, 高于细胞学筛查 (38%) 和高危 HPV 检测 (22%) 的特异性^[40]。p16/Ki-67 的实例说明, 发展针对潜在分子标志物的宫颈癌分子诊断方法, 开展宫颈癌的早期筛查、诊断、预后评估与转移预测等临床功能研究是分子标志物实现临床转化的必经阶段。而其他潜在宫颈癌分子标志物虽在实验室研究和初步临床研究中展示出一定的肿瘤指示功能, 但由于临床研究尚不充分, 暂未纳入临床应用范围, 如血清 SCC-Ag (鳞状细胞癌抗原), 其术前水平可预测淋巴结转移的风险, 术后水平的变化则可能与疾病复发和患者生存率相关^[41-42]; 部分细胞角蛋白 (如 CK7、CK17) 的表达模式具有鉴别宫颈病变类型及进展趋势的潜力等^[25]。

综上所述, 在 HPV DNA 检测成为 WHO 推荐的筛查金标准后, 如何对庞大的 HPV 阳性人群进行精准分流, 已成为宫颈癌防治的关键挑战。现有单一标志物 (如 p16/Ki-67) 尚存局限, 因此开发能精准评估病变风险的分子标志物组合, 是避免过度诊疗、提升筛查特异性的根本出路。这正是合成生物学发挥作用的契机, 其工程化设计思路有望为精准分诊这一世界性难题提供革命性的解决方案。

1.2 宫颈癌分子标志物的新进展与挑战

尽管近年来高通量多组学技术的迅猛发展为宫颈癌分子标志物的发现提供了前所未有的数据支撑, 且部分候选标志物已通过临床队列与体内外实验获得了较高的循证等级, 但其向临床应用的转化进程仍显著滞后。核心瓶颈在于: 其一, 现有研究多聚焦于标志物的表达差异与预后关联, 但在特定临床指示功能方面缺乏系统化、精细化的解析, 未能提供面向进一步临床转化所需的精准数据; 其二, 验证阶段的样本规模与数据维度仍不足以支撑临床级检测的稳健性要求, 尤其缺乏足够规模的临床队列的独立验证; 其三, 少数已完成功能验证的标志物受制于检测方法的技术瓶颈, 尚未实现从实验室检测方法向可规模化生产的诊断试剂盒的跨越, 导致其临床应用价值难以兑现。

除了 1.1 部分内容中提及的具有一定潜力和已有应用的宫颈癌诊疗分子标志物, 表 2 总结了近 15 年来已通过较完善的体内外细胞实验、动物实验和初步临床样品实验验证的宫颈癌相关的 16 个有待进一步临床验证的分子标志物, 这些标志物的生物学功能及其在肿瘤发生发展过程中的作用机制已得到初步阐明, 相关的临床意义也逐渐显现, 在宫颈癌的早期诊断、疗效监测和预后评估等方面具有潜在应用价值。从参与的肿瘤调控机制来看, 这 16 个基因呈现出明显的功能分化模式, 促癌相关基因占主导, 共 14 个基因 (约占 87.5%), 包括 *APOC1*、*E2F8*、*FABP5*、*KLF5*、*HSPA2*、*ITGA3*、*LPCAT1*、*MYO1B*、*NRP1*、*PAK5*、*POU5F1B*、*SEPTIN9*、*SND1* 和 *STAT3*; 相比之下, 仅有 2 个抑癌相关基因 *FSTL1* 和 *RHCG* 得到了较充分的实验验证。在功能分布上, 这些基因展现出高度的功能域重叠性的特征。所有基因均参与“细胞黏附、侵袭与转移”的调控。12 个基因 (约占 75%) 被证实参与细胞增殖、凋亡及分化相关过程, 仅 *ITGA3*、*NRP1*、*PAK5* 和 *SND1* 四个促癌相关基因目前缺乏直接证据。这一高度一致性表明细胞侵袭转移能力的获得是宫颈癌恶性进展的关键生物学特征。值得注意的是, *ITGA3* 表现出血管生成相关的独特功能, 而 *MYO1B*、*SEPTIN9* 与 HPV 感染相关的促癌作用有关。

表2 潜在的宫颈癌及癌前病变相关分子标志物

Table 2 Potential molecular markers implicated in cervical cancer and precancerous lesions.

基因	Ensembl ID	调控	功能				参考文献
			HPV感染 及癌变	细胞增殖、 凋亡及分化	细胞黏附、 侵袭与转移	血管生成相关	
<i>APOC1</i>	ENSG00000130208	促进		✓	✓		[43]
<i>E2F8</i>	ENSG00000129173	促进		✓	✓		[44]
<i>FABP5</i>	ENSG00000164687	促进		✓	✓		[45]
<i>KLF5</i>	ENSG00000102554	促进		✓	✓		[46]
<i>HSPA2</i>	ENSG00000126803	促进		✓	✓		[47]
<i>ITGA3</i>	ENSG00000005884	促进			✓	✓	[48]
<i>LPCAT1</i>	ENSG00000153395	促进		✓	✓		[49]
<i>MYO1B</i>	ENSG00000128641	促进	✓	✓	✓		[50]
<i>NRP1</i>	ENSG00000099250	促进			✓		[51]
<i>PAK5</i>	ENSG00000101349	促进			✓		[52]
<i>POU5F1B</i>	ENSG00000212993	促进		✓	✓		[53]
<i>SEPTIN9</i>	ENSG00000184640	促进	✓	✓	✓		[54]
<i>SND1</i>	ENSG00000197157	促进			✓		[55]
<i>STAT3</i>	ENSG00000168610	促进		✓	✓		[56]
<i>FSTL1</i>	ENSG00000163430	抑制		✓	✓		[57]
<i>RHCG</i>	ENSG00000140519	抑制		✓	✓		[58]

此外，一批更新型的宫颈癌相关分子标志物也已逐渐被识别，但这些标志物目前仅停留于公共数据库的分析，只在实验室层面进行了一定验证，临床验证较少，缺乏生物学功能和临床意义，目前仅在探索阶段^[59-76]。这些分子标志物中，同样也是促癌相关分子标志物占大多数，包括UBE2S、SQSTM1、SFN、S100A10、ODC1、JUN、HSPB1、FOXQ1、ELF3、EGR1、CLDN4等；而抑癌相关标志物相对较少，主要包括ACTG1、RhoB、KLF4、KLF2、FOS、CDKN1C、ATF3等。从功能角度分析，这些分子标志物主要集中在两个核心生物学过程中：一是细胞增殖、凋亡及分化调控；二是细胞黏附、侵袭与转移机制。值得注意的是，部分标志物表现出独特的与肿瘤进展相关的功能：ATF3和ODC1与HPV感染及癌变过程有关，S100A10参与肿瘤微环境的代谢重编程，ATF3涉及氧化应激反应和DNA损伤修复通路。这些新型分子标志物研究的重要不足集中在临床功能的验证层面。

随着数据驱动及机器学习等标志物功能预测手段的引入，新型分子标志物的发现模式发生了一定的转变，“公共数据库/组学数据集-体外模型”

的研究模式成为标志物发现早期的新技术路线，其中的组学研究多源于传统的群体转录组测序(bulk RNA sequencing)技术。但是，该技术显示的是每个组织/细胞样品中，细胞群体的各基因表达的平均信号，可能掩盖单细胞层面的基因表达特征，尤其在具有高度异质性的肿瘤组织内，肿瘤进展相关的特征细胞亚群的信息往往不易被发现。此外，尽管一些新标志物的发现过程结合了宫颈癌病人的公共数据库的信息挖掘，可以得到特定人群的回溯性队列数据，但公共数据库缺乏中国宫颈癌患者的系统性信息，往往需要辅助中国人群的临床队列的系统性验证，而免疫组化为核心的传统技术在灵敏度和定量可靠性等方面的局限性在一定程度上限制了新标志物临床验证和临床功能的研究。这不仅是新型分子标志物进一步转化的瓶颈问题，也是前述具备较完善实验验证的新标志物未能进入临床应用阶段的主要原因之一。

可见，为满足WHO对宫颈病变精准分诊的迫切需求，克服分子标志物“实验室到临床”的转化障碍至关重要。这要求我们：第一，建立更高分辨率的标志物发现技术，以筛选出能克服肿瘤

异质性、精准进行风险分层的靶点；第二，发展高灵敏、高可靠的临床定量检测方法，确保标志物在分诊应用中的有效性。最终目的，是构建一个从“发现”到“验证”再到“临床分诊应用”的完整闭环，将前沿研究真正转化为临床效益。

2 单细胞测序技术为面向临床应用的宫颈癌分子标志物的发现赋能

基于传统的组学和分子生物学技术的癌症分子标志物发现通常始于对群体转录组数据的差异表达基因 (differentially expressed gene, DEG) 的分析，以鉴定出在肿瘤与正常组织间显著变化的基因集。随后，研究人员通过不同的数据库挖掘和生物分析流程对基因集中的备选分子标志物的临床功能进行预测与分析，如：通过生存分析 (如 Kaplan-Meier 分析) 检验这些关键基因与患者临床预后 (例如总生存期) 的关联性^[77]；或利用这些基因构建预后特征模型，并依据模型评分对患者进行风险分层^[64]；或通过构建共表达网络来揭示影响疾病进展的核心转录因子等^[78]。由此筛选获得潜在分子标志物，以便进入“体外模型-体内模型-临床验证”系统实验验证模式。然而，以上策略受限于群体转录组数据在分辨率方面的内在缺陷，往往造成后续验证工作，尤其是临床验证的较高的不一致性和不确定性。因此，对标志物功能的分辨率不足成为当前分子标志物发现领域，尤其是面向临床应用的标志物发现的主要瓶颈之一，而借助能够拆解肿瘤内部异质性的“单细胞级”分辨率的先进技术是解决这一问题的有效途径。

2.1 面向肿瘤异质性难题的解决——原理与技术的先进性

在精准医疗背景下，理想的癌症分子标志物应能动态、精确地反映从癌前病变到浸润癌的演进过程。然而，发现此类标志物的最大挑战在于肿瘤的异质性。宫颈癌组织是多种细胞类型的复杂混合体，其异质性不仅存在于不同患者或肿瘤之间，更体现在同一病灶内部的细胞状态差异，

而高危 HPV 感染的型别、持续与整合状态等因素进一步加剧了这一复杂性。驱动癌变的关键分子信号往往仅限于特定的细胞亚群，在组织层面的常规检测中，这些关键信号极易被大量背景细胞“稀释”或掩盖，导致我们对癌变过程的分子机制了解有限。因此，突破肿瘤异质性的限制，必须依赖单细胞分析技术。它能在单个细胞的分辨率上精确解析分子特征，从而锁定驱动疾病发展的关键细胞亚群及其特有的高价值标志物。

单细胞转录组测序 (single cell RNA sequencing, scRNA-seq) 技术是在单个细胞分辨率上解析基因表达和分子特征的高通量测序手段，可以根据细胞的异质性将某一组织分成不同的细胞亚群，进而对不同的细胞亚群进行独立分析并揭示细胞亚群间的相互作用以及与癌症及癌前病变的关系。它已成为研究细胞异质性的有力工具^[78]，通过获取相对少量的代表性样本，识别关键细胞群并挖掘潜在的分子标志物，进而可利用机器学习算法及数据库挖掘等手段对这些发现进行验证，为癌症发病机制的深入研究开辟了新的途径。

2.2 面向宫颈癌分子标志物的发现——实践的可行性

已有一系列研究利用 scRNA-seq 技术尝试突破宫颈癌异质性的难题。例如在腺癌和鳞癌这两种组织学亚型鉴定方面，有学者通过单细胞测序解析宫颈鳞癌发病和进展的细胞及分子特征，发现 KRT14 是一种在正常宫颈鳞状细胞中高表达的标志物，而在早期和晚期鳞癌中表达较低；与之相反，恶性鳞状细胞标志物 (KRT17) 和典型增殖标志物 (CDKN2A、MKI67 和 TOP2A) 的表达贯穿癌前病变 (CIN) 和宫颈癌进展的全过程，并呈现逐渐上升的趋势^[79]。在此基础上，有学者进一步揭示了宫颈鳞癌、HPV 和非 HPV 腺癌的肿瘤及免疫微环境异质性，初步验证了 KRT14 和 CLDN3 可以帮助准确鉴定鳞癌和腺癌^[80]。在宫颈病变恶性转化方面，有研究利用 scRNA-seq 联合空间转录组学，从分子角度描述了 HPV 诱导的从 HPV 感染的正常宫颈向癌前病变以及宫颈癌的持续性恶性转化的过程，并提出了期间免疫重塑的分子机制，鉴定了 3 个独特的宫颈上皮细胞群，包括

“SLC5A8+DERL3+HPV 正常群”、“VSIG1+CASC9+HPV 高级别癌前病变群”和“CASP14+CALML5+HPV 肿瘤群”。其中的“SLC5A8+DERL3+HPV 正常群”特异性表达肿瘤抑制基因 *SLC5A8*，该基因可抑制细胞增殖并调节细胞凋亡^[81]。在宫颈癌预后方面，有研究通过 scRNA-seq 鉴定出 Epi_10_CYSTM1 上皮亚群、FOXP3⁺ 调节性 T 细胞及 CD66⁺ 促肿瘤中性粒细胞，并发现 SLC26A3 高表达、FOXP3 富集及 CD66 升高均与宫颈腺癌患者更差的预后显著相关^[82]。同样的，也有研究通过鉴定上皮细胞 (C1 - C7)、炎症型癌相关成纤维细胞 (iCAF)、肌成纤维型 CAF (myCAF) 及 CD8⁺T 细胞 (CXCR4⁺、PDCD1⁺、MKI67⁺) 四大细胞群，并发现 S-H 亚型标志基因集 (*MMP1*、*IGFBP3* 等) 预示最短总生存期，而 S-I 亚型标志基因集 (*HLA-DMA*、*CXCL10* 等) 与最长总生存期显著相关^[82]。

综上所述，scRNA-seq 技术在实践中已被证明是发现宫颈癌关键分子标志物的高度可行且强大的工具。其核心优势在于能够克服肿瘤异质性难题，在单细胞分辨率下精确描绘宫颈癌发生、发展及转移过程中不同细胞群体的分子动态变化。通过对比分析健康组织、癌前病变及不同阶段、不同亚型宫颈癌样本，该技术已成功鉴定出具有诊断分型价值的标志物、指示恶性转化阶段的标志细胞群与基因、预测患者预后的细胞亚群和基因特征。这些发现不仅深入解析了宫颈癌的复杂生物学机制，更重要的是，它们直接来源于对临床样本的高精度解析，所鉴定的标志物在组织分型、疾病进展监测、预后评估和潜在治疗靶点筛选等方面展现出更明确的转化应用潜力。因此，单细胞测序为系统性地、精准地挖掘宫颈癌多层次分子标志物提供了可靠的技术路径。

3 生物传感技术为宫颈癌分子诊断方法的创建赋能

3.1 基于分子标志物基因原位表达检测的现有技术

scRNA-seq 技术以其高分辨率特征可以为我们筛选出众多潜在的宫颈癌分子标志物，但要将这

些“发现”转化为可靠的临床诊断工具，则必须依赖于精准、可重复的标志物表达检测技术。基因表达定量在此环节扮演着承上启下的关键角色，它旨在确认这些候选标志物在大量临床样本中的实际表达水平及其作为诊断或预后指标的潜能。当前的主流技术包括实时荧光定量 PCR (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)、免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 和荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 等^[83-86]，每项技术都有各自的优势与局限。

在传统的基因定量技术中，RT-qPCR 因其灵敏、特异、快速和定量能力而应用最广。该技术以 RNA 为模板，先通过逆转录合成 cDNA，再以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。扩增时，通过实时监测荧光信号的强度变化 [循环阈值 (cycle threshold, CT 值)]，在扩增过程中，每一个反应管内的荧光信号强度达到设定的阈值时，所经历的扩增循环次数，以 CT 值作为基因表达定量水平的参数，即可准确反推出目标基因的初始含量。例如，在新冠病毒检测中，就是通过检测病毒 RNA 的 CT 值来判断其浓度^[87-88]。

IHC 技术因其能在组织原位直观展示特定蛋白的表达与分布而应用广泛。该技术基于抗原抗体特异性结合的原理，先用一级抗体识别并结合组织切片中的目标蛋白，再利用标记了酶 (如辣根过氧化物酶) 的二级抗体与一级抗体结合。最后，通过加入底物发生显色反应，使目标蛋白所在位置呈现出清晰的颜色标记。例如，宫颈病变诊断中，通过检测 p16 蛋白弥漫性强阳性染色确认高危型 HPV 感染，结合 Ki-67 双染检测评估 HSIL/CIN2⁺ 恶性转化风险^[89]。

荧光原位杂交 (FISH) 是一种在完整的细胞或组织中，对特定核酸序列进行原位定位与分析的技术^[90]。其基本原理是利用荧光标记探针与目标序列的特异性杂交。为了提高检测灵敏度，尤其是在检测低丰度 RNA 时，研究者开发了多种信号放大策略。图 1 便展示了一种典型的信号放大技术^[91]，它通过设计多级探针的级联杂交来显著增强荧光信号。然而，尽管这类先进技术提升了检测的灵敏度，但 FISH 方法在检测通量和精确定量方面仍存在固有的局限性。一方面，其检测通量

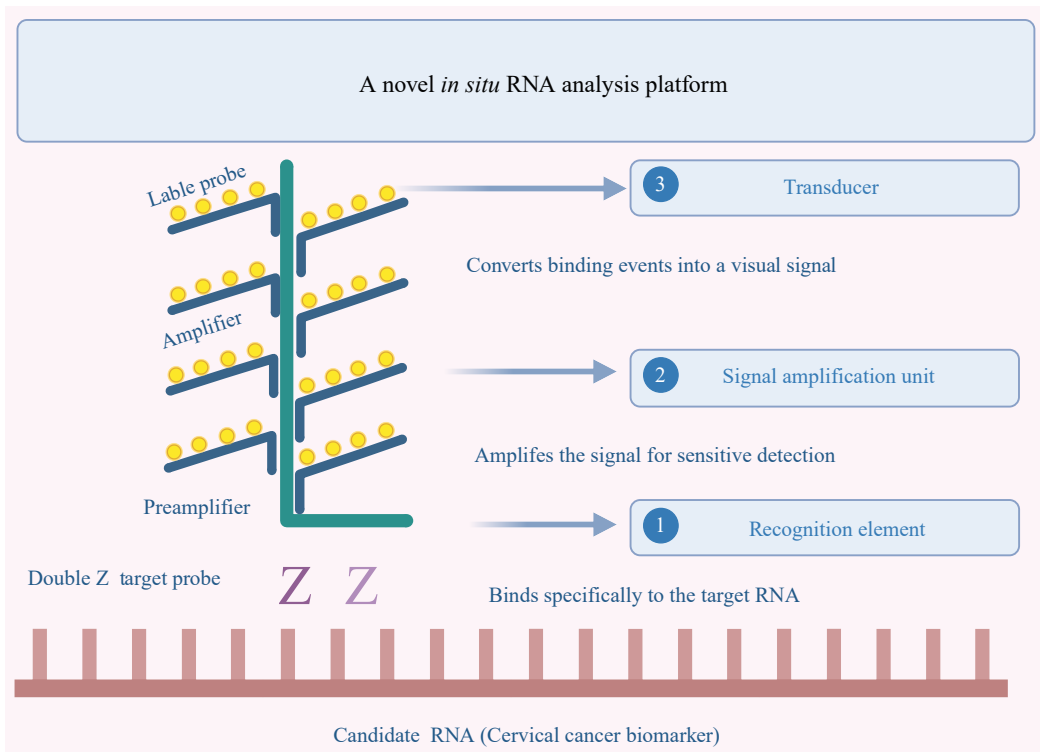


图1 一种改装的新型探针组荧光原位杂交技术（根据RNAscope修改）^[91]

Fig. 1 A novel probe set for the fluorescence *in situ* hybridization (FISH) technology^[91]

较低，一次实验能同时分析的靶标数量有限，难以满足高通量筛选的需求；另一方面，该方法对靶标的精确定量能力有限，其信号输出易受背景噪声、信号猝灭以及复杂酶促或杂交放大过程中潜在变异性的影响，因此通常被认为是一种半定量而非精确的定量工具。

为给新一代标志物提供更可靠的临床证据，需要突破传统技术的瓶颈。传统RT-qPCR因完全丢失空间信息且依赖相对定量，难以反映复杂的组织异质性；而免疫组化则因其流程和结果判读标准化不足，使其在精确定量上存在缺陷，这两种技术均难以满足高定量要求的临床验证需求。FISH技术提供了一个更优的方案。FISH能够在保留细胞与组织完整形态的前提下，对包括石蜡包埋组织、穿刺活检样本、细胞涂片及冰冻切片在内的多种临床样本进行检测，实现对特定基因或RNA分子的精准原位定位与拷贝数分析。然而，FISH技术本身也存在着明显的局限：其通量极低，一次通常只能检测少数几个已知的目标分子，无法满足对复杂疾病进行多靶标、高通量分析的需求。此外，其操作流程相对复杂、耗时较

长，也限制了其在未来大规模临床筛查中的应用潜力。

3.2 面向分子标志物基因原位表达检测的潜在生物传感技术

传统分子标志物检测方法已难以满足精准诊断的需求。合成生物学为此提供了新思路，不再被动“检测”分子，而是主动“设计”分子机器来执行诊断任务^[92]。其中，经工程化改造的CRISPR/Cas系统是关键突破，它凭借高特异性、高灵敏度且可编程的特点，被开发为强大的分子诊断工具，有望克服传统方法的局限，为标志物的快速、精准、低成本临床应用提供可能^[93-94]。

CRISPR系统源于细菌和古菌的适应性免疫机制^[95-96]，用于抵御外源遗传物质的入侵。其作用过程大致分为两步^[97]：首先，在“适应与成熟”阶段，系统会捕获入侵者的部分基因序列，并将其转录、加工成一段向导RNA（crRNA）。随后，在“干扰”阶段，crRNA会引导Cas蛋白（如Cas9或Cas12a）在细胞内寻找并切割与向导序列互补的靶

标核酸。正是基于这一精准的引导-切割机制，该系统被改造为强大的基因编辑工具。其中，Class II 的 Cas9 和 Cas12a 因其结构简单、操作便捷，已成为应用最广的主力工具^[98-100]；而 Cas13a 则实现了对 RNA 的精确调控，进一步拓展了 CRISPR 的应用边界。CRISPR/Cas 系统已在病毒性疾病的检测与治疗领域展现出巨大潜力^[101]。在诊断方面，该技术通过设计特异性引导 RNA (gRNA) 来靶向病毒基因组，指导 Cas 蛋白进行切割以产生可识别的信号，这一原理已成功应用于 HIV、寨卡病毒及 SARS-CoV-2 的检测^[101]。更有先进的平台，如利用金纳米粒子 (AuNP) 搭载 CRISPR/Cas12a 系统的纳米机器人，不仅实现了在活细胞内对 RNA 的高灵敏度检测与成像，还能在血清等复杂样本中稳定存在，有效抵抗核酸酶的降解^[102-104]。在治疗方面，为满足更精细的基因操作需求，科学家们也开发出多种强大的 CRISPR 衍生工具，例如，碱基编辑器 (base editor, BE) 能精准完成 12 种单碱基替换 (如 C→T)，且无需切断 DNA 双链，可精准地修正单个碱基错误^[105-108]；引导编辑 (prime editing, PE) 与基因打靶 (gene targeting, GT)，能够在基因组特定位点精确地插入、删除或替换致病的 DNA 片段^[109-110]。还能够通过表观遗传编辑器 (epigenetic editors, EE/PEE) 可编程地调控

DNA 甲基化等表观遗传修饰，以治疗相关疾病^[111]。

图 2 展示了一种新型的由 RNA 激活的 CRISPR/Cas12a 纳米机器装置^[103-104]，该装置以金纳米颗粒 (AuNP) 为支架，通过精确组装 DNA 底物链和 crRNA-Cas12a 核糖核蛋白复合物 (RNP) 来实现其功能。具体来说，首先，crRNA 通过摆臂链 (swing arm) 和锚定链 (anchor strand) 与 AuNP 支架相连，crRNA-Cas12a RNP 作为感应元件能够特异性地与目标 miRNA 结合，从而激活 Cas12a 的非特异性切割活性。随后，作为信号放大单元的 AuNP，其表面布满了高密度的单链 DNA (ssDNA) 底物，ssDNA 的 3' 端标记有作为信号输出单元的荧光基团 (FAM)，该信号输出单元在连接完整时，荧光处于猝灭状态。最后，当 Cas12a 被激活，通过非特异性切割 AuNP 表面连接荧光基团的 ssDNA 后，荧光基团被激活，产生显著的荧光信号。从而实现对目标 miRNA 的高灵敏度和高特异性原位检测，为研究基因表达模式和细胞内 RNA 分布提供了强大的工具。

这项技术不仅可以在传统的体外检测中分析纯化的 DNA 和 RNA 样本，更能直接在复杂的生物环境如血清和活细胞内实时、高灵敏地对特定 RNA 进行原位成像和定量，能够将宫颈癌标志物

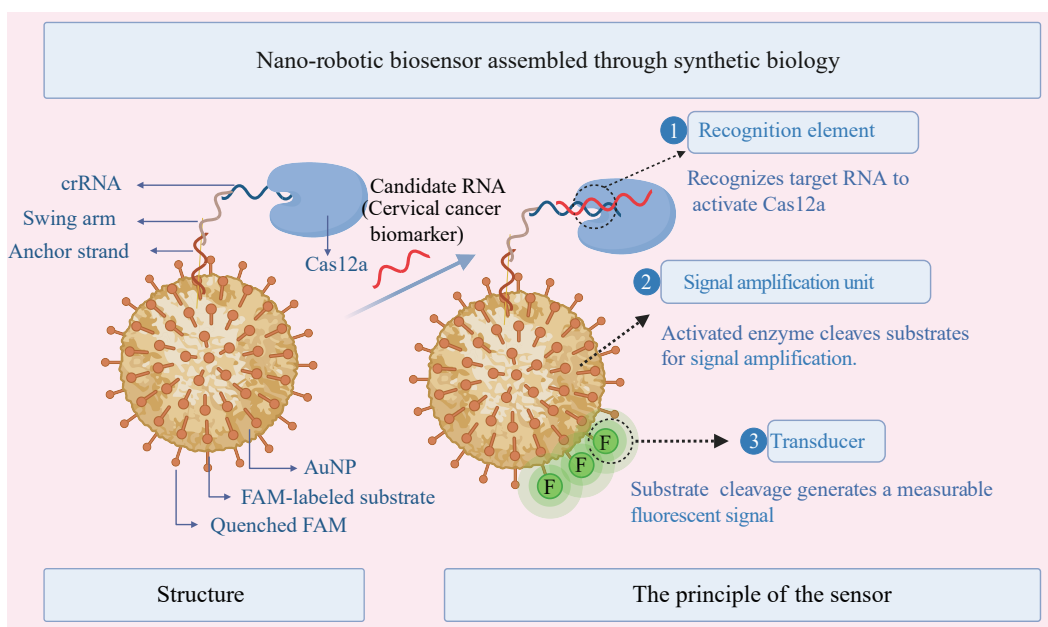


图 2 金纳米颗粒包裹的 CRISPR/Cas12a 生物传感器 (根据 CRISPR nanorobot 原理图修改)^[103-104]

Fig. 2 A nano-robotic biosensor featuring a CRISPR/Cas12a system assembled on gold nanoparticles^[103-104]

的研究从传统的“静态、群体、终点式”分析，升级为“动态、单细胞、实时可视化”的验证。它不仅能帮助发现新的、更可靠的RNA标志物，更能在活细胞和接近生理的条件下，以前所未有的分辨率和维度，验证这些标志物的生物学功能和临床相关性，极大地推动宫颈癌的早期诊断、疗效监测和个性化治疗研究。

4 基于单细胞转录组与合成生物学传感的宫颈癌分子诊断新策略

合成生物学是一门交叉融合学科，通过工程化的设计、改造乃至从头合成生物体系，为解决传统单一技术难以应对的复杂健康问题提供了全新的、高灵敏度和高特异性的解决方案。合成生物学的策略和技术已应用在代谢疾病诊疗、癌症的靶向治疗等临床医学领域^[112-114]。在宫颈癌防治领域，WHO的最新指南确立了以HPV DNA检测为核心的筛查策略。这一重大转变在提高筛查灵敏度的同时，也带来了一个紧迫的临床挑战：如何对庞大的HPV阳性人群进行精准的风险分层与分流，以避免不必要的阴道镜检查 and 过度治疗。传统的分子标志物体系难以完全满足这一全新的“筛查与分诊”临床需求。因此，本文旨在探讨，合成生物学与先进生物医学技术将如何为这一临床瓶颈提供有效的技术支撑，从而贯穿宫颈癌“筛查-分诊-治疗”的全周期管理。

为克服“实验室研究-临床应用”之间的转化障碍，并精准响应临床对高效分诊工具的需求，可从以下两个层面提高宫颈癌分子标志物发现及转化研究的精度和有效性：

一方面，单细胞转录组联合生物传感的新框架通过整合两种前沿技术，可提升分子标志物发现的精准度与验证的可靠性，从而更加精确地认识分子标志物的临床功能。首先，在标志物的发现阶段，单细胞转录组测序技术能够协助突破肿瘤异质性的限制，在单个细胞的层面上精准锁定驱动宫颈癌发生发展的关键细胞亚群，并从中鉴定出比传统方法特异性更高、与疾病进程关联更紧密的标志物候选分子。这从源头上保证了标志物发现的“高质量”。

其次，在关键的验证阶段，合成生物学设计的生物传感系统（如CRISPR-Cas介导的核酸检测或高灵敏度原位杂交技术）能对目标分子进行快速、原位且高灵敏度的检测，能够直接在临床样本（如组织切片）上对scRNA-seq发现的标志物进行精准的原位定量与定位分析。这种高保真度的验证方法，使得研究人员可以获得更可靠的大规模临床队列验证数据，以进一步确证这些标志物在早期筛查、诊断分型或预后判断等特定临床场景下的功能和价值。从而构建起功能完备、证据等级更高的宫颈癌分子标志物研发体系。

另一方面，单细胞转录组与生物传感的结合直接打通了从标志物验证到临床产品转化的路径，为开发新型诊断试剂盒提供了核心技术。从实验室研究到临床应用的转化瓶颈之一，在于缺乏能够将新标志物转化为可规模化生产的体外诊断产品的技术平台。在验证阶段所使用的CRISPR生物传感器或新型原位杂交探针等，其本身就是诊断试剂盒的核心技术原型。这些由合成生物学驱动的检测技术具有高度可编程、可模块化和易于标准化的特点。因此，一旦某个或某组标志物通过了充分的临床验证，就可以迅速地将相应的生物传感检测方案优化和固化，最终开发出可规模化生产的诊断试剂盒，从而推动分子标志物研究从实验室到临床应用的跨越。

总之，本文所提出的联合先进单细胞转录组以及基于合成生物学原理设计的生物传感技术的宫颈癌分子诊断方法研发新框架（图3），旨在直接回应WHO新指南下宫颈癌防治的临床核心需求。它以单细胞分辨率的标志物发现技术和高灵敏的生物传感技术作为关键的“转化引擎”，目标是开发出能够精准分流HPV阳性人群的新一代分子诊断工具，为实现“筛查、分诊和治疗”新策略提供强大的技术支撑，最终提升宫颈癌精准防控的水平。随着该框架与人工智能及微流控技术的深度融合，有望催生出具备逻辑运算能力的智能化即时检测产品。这不仅能为实现“筛查、分诊和治疗”新策略提供强大的技术支撑，更将以低成本、高精度的优势，加速全球消除宫颈癌目标的实现，最终惠及广大女性群体。

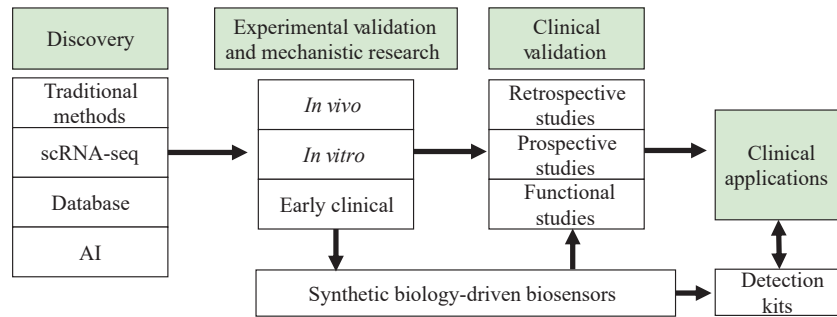


图3 单细胞转录组联合生物传感研究新框架流程图

Fig. 3 Flowchart for a new research framework integrating scRNA-seq and biosensing

参 考 文 献

- [1] WU J, JIN Q Y, ZHANG Y M, et al. Global burden of cervical cancer: current estimates, temporal trend and future projections based on the GLOBOCAN 2022[J]. Journal of the National Cancer Center, 2025, 5(3): 322-329.
- [2] SHEN X, CHENG Y Q, REN F P, et al. The burden of cervical cancer in China[J]. Frontiers in Oncology, 2022, 12: 979809.
- [3] CROSBIE E J, EINSTEIN M H, FRANCESCHI S, et al. Human papillomavirus and cervical cancer[J]. The Lancet, 2013, 382(9895): 889-899.
- [4] BANSAL A, SINGH M P, RAI B. Human papillomavirus-associated cancers: a growing global problem[J]. International Journal of Applied & Basic Medical Research, 2016, 6(2): 84-89.
- [5] VOELKER R A. Cervical cancer screening[J]. The Journal of the American Medical Association, 2023, 330(20): 2030.
- [6] KOMDEUR F L, PRINS T M, VAN DE WALL S, et al. CD103⁺ tumor-infiltrating lymphocytes are tumor-reactive intraepithelial CD8⁺ T cells associated with prognostic benefit and therapy response in cervical cancer[J]. Oncoimmunology, 2017, 6(9): e1338230.
- [7] MEDDA A, DUCA D, CHIOCCA S. Human papillomavirus and cellular pathways: hits and targets[J]. Pathogens, 2021, 10(3): 262.
- [8] GÜZEL C, VAN STEN-VAN 'T HOFF J, DE KOK I M C M, et al. Molecular markers for cervical cancer screening[J]. Expert Review of Proteomics, 2021, 18(8): 675-691.
- [9] BOUVARD V, WENTZENSEN N, MACKIE A, et al. The IARC perspective on cervical cancer screening[J]. The New England Journal of Medicine, 2021, 385(20): 1908-1918.
- [10] FONTHAM E T H, WOLF A M D, CHURCH T R, et al. Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2020, 70(5): 321-346.
- [11] 胡尚英, 赵雪莲, 张勇, 等. 《预防宫颈癌: WHO 宫颈癌前病变筛查和治疗指南(第二版)》解读[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(34): 2653-2657.
- [12] SARHADI V K, ARMENGOL G. Molecular biomarkers in cancer[J]. Biomolecules, 2022, 12(8): 1021.
- [13] VOLKOVA L V, PASHOV A I, OMELECHUK N N. Cervical carcinoma: oncobiology and biomarkers[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(22): 12571.
- [14] BALASUBRAMANIAM S D, BALAKRISHNAN V, OON C E, et al. Key molecular events in cervical cancer development [J]. Medicina, 2019, 55(7): 384.
- [15] NAKAMURA M, OBATA T, DAIKOKU T, et al. The association and significance of p53 in gynecologic cancers: the potential of targeted therapy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(21): 5482.
- [16] BABICHENKO I. New methods of immunohistochemical diagnostic of tumor grows [J]. RUDN Journal of Medicine, 2008, (4): 94-99.
- [17] VAN ZUMMEREN M, LEEMAN A, KREMER W W, et al. Three-tiered score for Ki-67 and p16^{ink4a} improves accuracy and reproducibility of grading CIN lesions[J]. Journal of Clinical Pathology, 2018, 71(11): 981-988.
- [18] SILVA D C, GONÇALVES A K, COBUCCI R N, et al. Immunohistochemical expression of p16, Ki-67 and p53 in cervical lesions—a systematic review[J]. Pathology-Research and Practice, 2017, 213(7): 723-729.
- [19] MITILDZANS A, ARECHVO A, REZEBERGA D, et al. Expression of p63, p53 and Ki-67 in patients with cervical intraepithelial neoplasia[J]. Turk Patoloji Dergisi, 2017, 33(1): 9-16.
- [20] CHEN C C, HUANG L W, BAI C H, et al. Predictive value of p16/Ki-67 immunocytochemistry for triage of women with abnormal Papanicolaou test in cervical cancer screening: a systematic review and meta-analysis[J]. Annals of Saudi Medicine, 2016, 36(4): 245-251.
- [21] PIRI R, GHAFARI A, AZAMI-AGHDASH S, et al. Ki-67/MIB-1 as a prognostic marker in cervical cancer—a systematic review with meta-analysis[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2015, 16(16): 6997-7002.
- [22] SOOD S, PATEL F D, SRINIVASAN R, et al. Chemoradiation lesions for cervical cancer prevention, second edition” [J]. National Medical Journal of China, 2021, 101(34): 2653-2657.

- therapy induces *in vivo* changes in gene promoter methylation & gene transcript expression in patients with invasive cervical cancer[J]. The Indian Journal of Medical Research, 2018, 147(2): 151-157.
- [23] KILIC S, CRACCHIOLO B, GABEL M, et al. The relevance of molecular biomarkers in cervical cancer patients treated with radiotherapy[J]. Annals of Translational Medicine, 2015, 3(18): 261.
- [24] QIN C L, CHEN X H, BAI Q, et al. Factors associated with radiosensitivity of cervical cancer[J]. Anticancer Research, 2014, 34(9): 4649-4656.
- [25] YAO T T, LU R B, ZHANG Y Z, et al. Cervical cancer stem cells[J]. Cell Proliferation, 2015, 48(6): 611-625.
- [26] DABBS D J. Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications[M]. Amsterdam: Elsevier, 2017.
- [27] LI B H, SHI H Y, WANG F F, et al. Expression of E-, P- and N-cadherin and its clinical significance in cervical squamous cell carcinoma and precancerous lesions[J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0155910.
- [28] SOLOVYEVA N I, TIMOSHENKO O S, GUREEVA T A, et al. Matrix metalloproteinases and their endogenous regulators in squamous cervical carcinoma (review of the own data)[J]. Biomeditsinskaia Khimiia, 2015, 61(6): 694-704.
- [29] TIMOSHENKO O S, GUREEVA T A, KUGAEVSKAIA E V, et al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) and the regulators of its activity as invasive factors in squamous cell cervical carcinomas[J]. Biomeditsinskaia Khimiia, 2014, 60(6): 683-688.
- [30] TULAKE W, YUEMAIER R, SHENG L, et al. Upregulation of stem cell markers ALDH1A1 and OCT4 as potential biomarkers for the early detection of cervical carcinoma[J]. Oncology Letters, 2018, 16(5): 5525-5534.
- [31] NAGY V M, BUIGA R, BRIE I, et al. Expression of VEGF, VEGFR, EGFR, COX-2 and MVD in cervical carcinoma, in relation with the response to radio-chemotherapy[J]. Romanian Journal of Morphology and Embryology, 2011, 52(1): 53-59.
- [32] YANNI A, LI Y, ZHAO S P. The expression and underlying angiogenesis effect of DPC4 and VEGF on the progression of cervical carcinoma[J]. Oncology Letters, 2018, 15(2): 2534-2540.
- [33] VAN TRAPPEN P O, STEELE D, LOWE D G, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D, and their receptor VEGFR-3, during different stages of cervical carcinogenesis[J]. The Journal of Pathology, 2003, 201(4): 544-554.
- [34] BELFORT-MATTOS P N, DE AZEVEDO FOCCHI G R, RIBALTA J C L, et al. Immunohistochemical expression of VEGF and podoplanin in uterine cervical squamous intraepithelial lesions[J]. Disease Markers, 2016, 2016(1): 8293196.
- [35] 李晓, 汪辉, 李静然, 等. p16/Ki-67 双染检测用于子宫颈癌筛查异常人群分流的专家共识[J]. 中国妇产科临床杂志, 2025, 26(2): 188-192.
- LI X, WANG H, LI J R, et al. Expert consensus on the application of p16/Ki-67 double staining test in the shunt of abnormal population in cervical cancer screening[J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology, 2025, 26(2): 188-192.
- [36] 李明珠, 魏丽惠. 高危型 HPV 持续阳性人群的分流和管理[J]. 中国妇产科临床杂志, 2025, 26(1): 1-2.
- LI M Z, WEI L H. Triage and management of persistently positive high-risk HPV populations[J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology, 2025, 26(1): 1-2.
- [37] SARWATH H, BANSAL D, HUSAIN N E, et al. Introduction of p16(INK4a) as a surrogate biomarker for HPV in women with invasive cervical cancer in Sudan[J]. Infectious Agents and Cancer, 2017, 12: 50.
- [38] VON KNEBEL DOEBERITZ M, REUSCHENBACH M, SCHMIDT D, et al. Biomarkers for cervical cancer screening: the role of p16INK4a to highlight transforming HPV infections[J]. Expert Review of Proteomics, 2012, 9(2): 149-163.
- [39] IKENBERG H, BERGERON C, SCHMIDT D, et al. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study[J]. Journal of the National Cancer Institute, 2013, 105(20): 1550-1557.
- [40] ZHANG R Y, GE X F, YOU K, et al. p16/Ki67 dual staining improves the detection specificity of high-grade cervical lesions[J]. The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, 2018, 44(11): 2077-2084.
- [41] CHARAKORN C, THADANIPON K, CHAJINDARATANA S, et al. The association between serum squamous cell carcinoma antigen and recurrence and survival of patients with cervical squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis[J]. Gynecologic Oncology, 2018, 150(1): 190-200.
- [42] ZHOU Z Q, LI W B, ZHANG F Q, et al. The value of squamous cell carcinoma antigen (SCCA) to determine the lymph nodal metastasis in cervical cancer: a meta-analysis and literature review[J]. PLoS One, 2017, 12(12): e0186165.
- [43] SHI X, WANG J, DAI S Q, et al. Apolipoprotein C1 (APOC1): a novel diagnostic and prognostic biomarker for cervical cancer[J]. OncoTargets and Therapy, 2020, 13: 12881-12891.
- [44] KIM L K, PARK S-A, EOH K J, et al. E2F8 regulates the proliferation and invasion through epithelial-mesenchymal transition in cervical cancer[J]. International Journal of Biological Sciences, 2020, 16(2): 320-329.
- [45] WANG W, CHU H J, LIANG Y C, et al. FABP5 correlates with poor prognosis and promotes tumor cell growth and metastasis in cervical cancer[J]. Tumor Biology, 2016, 37(11): 14873-14883.
- [46] MA D, CHANG L Y, ZHAO S, et al. KLF5 promotes cervical cancer proliferation, migration and invasion in a manner partly dependent on TNFRSF11a expression[J]. Scientific Reports,

- 2017, 7: 15683.
- [47] GARG M, KANOJIA D, SAINI S, et al. Germ cell-specific heat shock protein 70-2 is expressed in cervical carcinoma and is involved in the growth, migration, and invasion of cervical cells[J]. *Cancer*, 2010, 116(16): 3785-3796.
- [48] DU Q Q, WANG W, LIU T Y, et al. High expression of integrin $\alpha 3$ predicts poor prognosis and promotes tumor metastasis and angiogenesis by activating the c-src/extracellular signal-regulated protein kinase/focal adhesion kinase signaling pathway in cervical cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10: 36.
- [49] GAO F F, CHEN J L, ZHANG T T, et al. LPCAT1 functions as an oncogene in cervical cancer through mediating JAK2/STAT3 signaling[J]. *Experimental Cell Research*, 2022, 421(1): 113360.
- [50] ZHANG H R, LAI S Y, HUANG L J, et al. Myosin 1b promotes cell proliferation, migration, and invasion in cervical cancer[J]. *Gynecologic Oncology*, 2018, 149(1): 188-197.
- [51] YANG L, LIU L, ZHU Y H, et al. Neuropilin-1 is associated with the prognosis of cervical cancer in Henan Chinese population[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2019, 12: 2911-2920.
- [52] HUO F C, PAN Y J, LI T T, et al. PAK5 promotes the migration and invasion of cervical cancer cells by phosphorylating SATB1[J]. *Cell Death & Differentiation*, 2019, 26(6): 994-1006.
- [53] YU J W, ZHANG J L, ZHOU L L, et al. The octamer-binding transcription factor 4 (OCT4) pseudogene, POU domain class 5 transcription factor 1B (POU5F1B), is upregulated in cervical cancer and down-regulation inhibits cell proliferation and migration and induces apoptosis in cervical cancer cell lines[J]. *Medical Science Monitor*, 2019, 25: 1204-1213.
- [54] JIAO X L, ZHANG S Y, JIAO J, et al. Promoter methylation of SEPT9 as a potential biomarker for early detection of cervical cancer and its overexpression predicts radioresistance [J]. *Clinical Epigenetics*, 2019, 11(1): 120.
- [55] ZHAN F L, ZHONG Y Y, QIN Y N, et al. SND1 facilitates the invasion and migration of cervical cancer cells by Smurf1-mediated degradation of FOXA2[J]. *Experimental Cell Research*, 2020, 388(1): 111809.
- [56] WU L, SHEN B W, LI J P, et al. STAT3 exerts pro-tumor and anti-autophagy roles in cervical cancer[J]. *Diagnostic Pathology*, 2022, 17(1): 13.
- [57] LIU Z, ZHANG H, HU X X. Analysis of the expression and mechanism of follistatin-like protein 1 in cervical cancer[J]. *Oncology Reports*, 2023, 50(6): 215.
- [58] WANG D G, LI T M, LIU X. RHCG suppresses cervical cancer progression through inhibiting migration and inducing apoptosis regulated by TGF- $\beta 1$ [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 503(1): 86-93.
- [59] DU N Y, LI D J, ZHAO W, et al. Stratifin (SFN) regulates cervical cancer cell proliferation, apoptosis, and cytoskeletal remodeling and metastasis progression through LIMK2/cofilin signaling[J]. *Molecular Biotechnology*, 2024, 66(11): 3369-3381.
- [60] ZHAO Y C, WANG T J, SHE L Z, et al. S100A10 overexpression correlates with adverse prognosis, tumor microenvironment, and aggressive behavior *in vitro* and *in vivo* of cervical cancer[J]. *Journal of Cancer*, 2023, 14(15): 2931-2945.
- [61] WANG S Z, CHEN X J. Identification of potential biomarkers in cervical cancer with combined public mRNA and miRNA expression microarray data analysis[J]. *Oncology Letters*, 2018, 16(4): 5200-5208.
- [62] ESCOBAR-HOYOS L F, YANG J, ZHU J W, et al. Keratin 17 in premalignant and malignant squamous lesions of the cervix: proteomic discovery and immunohistochemical validation as a diagnostic and prognostic biomarker[J]. *Modern Pathology*, 2014, 27(4): 621-630.
- [63] LI Z G, CHEN J H, ZHAO S B, et al. Discovery and validation of novel biomarkers for detection of cervical cancer[J]. *Cancer Medicine*, 2021, 10(6): 2063-2074.
- [64] AN R, MENG S L, QIAN H. Identification of key pathways and establishment of a seven-gene prognostic signature in cervical cancer[J]. *Journal of Oncology*, 2022, 2022: 4748796.
- [65] LAI Y Q, ZHOU B B, TAN Q Q, et al. LINC00116 enhances cervical cancer tumorigenesis through miR-106a/c-Jun pathway [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2020, 121(3): 2247-2257.
- [66] LIU J, HAN B, HU X, et al. Identification of N6-methyladenosine-associated ferroptosis biomarkers in cervical cancer[J]. *Hereditas*, 2025, 162(1): 53.
- [67] BODZEK P, SZYMALA B, DAMASIEWICZ-BODZEK A, et al. Are IgG antibodies to heat shock proteins HSP27 and HSP60 useful markers in endometrial cancer and cervical cancer?[J]. *Ginekologia Polska*, 2021, 92(11): 760-766.
- [68] WU X, PENG L, ZHANG Y Q, et al. Identification of key genes and pathways in cervical cancer by bioinformatics analysis[J]. *International Journal of Medical Sciences*, 2019, 16(6): 800-812.
- [69] WANG T Y, ZHANG L, MEI S, et al. Single-cell RNA sequencing highlights the unique tumor microenvironment of small cell neuroendocrine cervical carcinoma[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2025, 23(1): 19.
- [70] ZHAO J H, LI H X, YUAN M. EGR1 promotes stemness and predicts a poor outcome of uterine cervical cancer by inducing SOX9 expression[J]. *Genes & Genomics*, 2021, 43(5): 459-470.
- [71] BHATTACHARJEE R, DAS S S, BISWAL S S, et al. Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: molecular pathways and targeted therapeutic strategies[J]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2022, 174: 103675.
- [72] 狄晨红, 金帆. 密封蛋白4与高危型人乳头瘤病毒联合检测对于高级别鳞状上皮内病变及宫颈鳞癌的诊断价值[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2018, 47(4): 344-350.

- DI C H, JIN F. Value of combined detection of claudin 4 and high-risk human papilloma virus in high-grade squamous intraepithelial lesion and cervix squamous cell carcinoma[J]. Journal of Zhejiang University (Medical Sciences), 2018, 47(4): 344-350.
- [73] ROYCHOWDHURY A, PAL D, BASU M, et al. Promoter methylation and enhanced SKP2 are associated with the downregulation of CDKN1C in cervical squamous cell carcinoma[J]. Cellular Signalling, 2023, 109: 110735.
- [74] LIZANO M, CARRILLO-GARCÍA A, DE LA CRUZ-HERNÁNDEZ E, et al. Promising predictive molecular biomarkers for cervical cancer (Review) [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2024, 53(6): 50.
- [75] NADERZADEH E, KARGAR M, MOKHTARI M J, et al. Activating transcription factor 3 induces oxidative stress and genotoxicity, transcriptionally modulating metastasis-related gene expression in human papillomavirus-infected cervical cancer[J]. Virology Journal, 2025, 22(1): 46.
- [76] WANG J, SU Y, TIAN Y J, et al. Characterization of DNA hydroxymethylation profile in cervical cancer[J]. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 2019, 47(1): 2706-2714.
- [77] DAI F F, CHEN G T, WANG Y Q, et al. Identification of candidate biomarkers correlated with the diagnosis and prognosis of cervical cancer *via* integrated bioinformatics analysis[J]. OncoTargets and Therapy, 2019, 12: 4517-4532.
- [78] TANIM M T H, NATH S D, KHAN S F, et al. Transcriptomes of cervical cancer provide novel insights into dysregulated pathways, potential therapeutic targets, and repurposed drugs[J]. Cancer Treatment and Research Communications, 2024, 39: 100808.
- [79] LIU C, ZHANG M, YAN X L, et al. Single-cell dissection of cellular and molecular features underlying human cervical squamous cell carcinoma initiation and progression[J]. Science Advances, 2023, 9(4): eadd8977.
- [80] QIU J J, QU X Y, WANG Y M, et al. Single-cell landscape highlights heterogenous microenvironment, novel immune reaction patterns, potential biomarkers and unique therapeutic strategies of cervical squamous carcinoma, human papillomavirus-associated (HPVA) and non-HPVA adenocarcinoma[J]. Advanced Science, 2023, 10(10): 2204951.
- [81] GUO C Y, QU X Y, TANG X Y, et al. Spatiotemporally deciphering the mysterious mechanism of persistent HPV-induced malignant transition and immune remodelling from HPV-infected normal cervix, precancer to cervical cancer: integrating single-cell RNA-sequencing and spatial transcriptome[J]. Clinical and Translational Medicine, 2023, 13(3): e1219.
- [82] PENG Y, YANG J, AO J X, et al. Single-cell profiling reveals the intratumor heterogeneity and immunosuppressive microenvironment in cervical adenocarcinoma[J]. eLife, 2025, 13: RP97335.
- [83] DING H, MEI X L, LI L T, et al. RUNX1 ameliorates rheumatoid arthritis progression through epigenetic inhibition of LRRCL15[J]. Molecules and Cells, 2023, 46(4): 231-244.
- [84] ARTIKA I M, DEWI Y P, NAINGGOLAN I M, et al. Real-time polymerase chain reaction: current techniques, applications, and role in COVID-19 diagnosis[J]. Genes, 2022, 13(12): 2387.
- [85] GINZINGER D G. Gene quantification using real-time quantitative PCR an emerging technology hits the mainstream [J]. Experimental Hematology, 2002, 30(6): 503-512.
- [86] KIM K, RYU T Y, LEE J, et al. Epigenetic silencing of CHOP expression by the histone methyltransferase EHMT1 regulates apoptosis in colorectal cancer cells[J]. Molecules and Cells, 2022, 45(9): 622-630.
- [87] WAGNER E M. Monitoring gene expression: quantitative real-time RT-PCR[J]. Methods in Molecular Biology, 2013, 1027: 19-45.
- [88] HARSHITHA R, ARUNRAJ D R. Real-time quantitative PCR: a tool for absolute and relative quantification[J]. Biochemistry and Molecular Biology Education, 2021, 49(5): 800-812.
- [89] WALTERS A E, LECHAGO J, BOSE S. P16 and Ki67 immunostaining is a useful adjunct in the assessment of biopsies for HPV-associated anal intraepithelial neoplasia[J]. The American Journal of Surgical Pathology, 2006, 30(7): 795-801.
- [90] MOTER A, GÖBEL U B. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms[J]. Journal of Microbiological Methods, 2000, 41(2): 85-112.
- [91] WANG F, FLANAGAN J, SU N, et al. RNAscope: a novel *in situ* RNA analysis platform for formalin-fixed, paraffin-embedded tissues[J]. The Journal of Molecular Diagnostics, 2012, 14(1): 22-29.
- [92] DAVID F, DAVIS A M, GOSSING M, et al. A perspective on synthetic biology in drug discovery and development-current impact and future opportunities[J]. SLAS Discovery, 2021, 26(5): 581-603.
- [93] ABDEEN A A, COSGROVE B D, GERSBACH C A, et al. Integrating biomaterials and genome editing approaches to advance biomedical science[J]. Annual Review of Biomedical Engineering, 2021, 23: 493-516.
- [94] BLACK J B, PEREZ-PINERA P, GERSBACH C A. Mammalian synthetic biology: engineering biological systems [J]. Annual Review of Biomedical Engineering, 2017, 19: 249-277.
- [95] BHAYA D, DAVISON M, BARRANGOU R. CRISPR-Cas systems in bacteria and Archaea: versatile small RNAs for adaptive defense and regulation[J]. Annual Review of Genetics, 2011, 45: 273-297.
- [96] ISHINO Y, SHINAGAWA H, MAKINO K, et al. Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product[J]. Journal of Bacteriology, 1987, 169(12): 5429-5433.

- [97] HILLE F, RICHTER H, WONG S P, et al. The biology of CRISPR-Cas: backward and forward[J]. *Cell*, 2018, 172(6): 1239-1259.
- [98] CONG L, RAN F A, COX D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems[J]. *Science*, 2013, 339(6121): 819-823.
- [99] ZETSCHE B, GOOTENBERG J S, ABUDAYYEH O O, et al. Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas system[J]. *Cell*, 2015, 163(3): 759-771.
- [100] TSUCHIDA C A, ZHANG S Y, DOOST M S, et al. Chimeric CRISPR-CasX enzymes and guide RNAs for improved genome editing activity[J]. *Molecular Cell*, 2022, 82(6): 1199-1209.e6.
- [101] GHOUNEIMY A, MAHAS A, MARSIC T, et al. CRISPR-based diagnostics: challenges and potential solutions toward point-of-care applications[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2023, 12(1): 1-16.
- [102] FENG W, PENG H Y, XU J Y, et al. Integrating reverse transcription recombinase polymerase amplification with CRISPR technology for the one-tube assay of RNA[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(37): 12808-12816.
- [103] YUAN A J, SUN T R, CHEN L Y, et al. CRISPR/Cas12a Corona nanomachine for detecting circulating tumor nucleic acids in serum[J]. *Analytical Chemistry*, 2024, 96(50): 20074-20081.
- [104] YUAN A J, SHA R, XIE W J, et al. RNA-activated CRISPR/Cas12a nanorobots operating in living cells[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2024, 146(39): 26657-26666.
- [105] LI C, ZONG Y, WANG Y P, et al. Expanded base editing in rice and wheat using a Cas9-adenosine deaminase fusion[J]. *Genome Biology*, 2018, 19(1): 59.
- [106] TAN J T, ZENG D C, ZHAO Y C, et al. PhicABEs: a PAM-less/free high-efficiency adenine base editor toolbox with wide target scope in plants[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(5): 934-943.
- [107] CHEN L W, PARK J E, PAA P, et al. Programmable C: G to G: C genome editing with CRISPR-Cas9-directed base excision repair proteins[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 1384.
- [108] LI C, ZHANG R, MENG X B, et al. Targeted, random mutagenesis of plant genes with dual cytosine and adenine base editors[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(7): 875-882.
- [109] LU Y M, TIAN Y F, SHEN R D, et al. Targeted, efficient sequence insertion and replacement in rice[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(12): 1402-1407.
- [110] LIN Q P, ZONG Y, XUE C X, et al. Prime genome editing in rice and wheat[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(5): 582-585.
- [111] PAN C T, SRETENOVIC S, QI Y P. CRISPR/dCas-mediated transcriptional and epigenetic regulation in plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2021, 60: 101980.
- [112] NISSIM L, BAR-ZIV R H. A tunable dual-promoter integrator for targeting of cancer cells[J]. *Molecular Systems Biology*, 2010, 6: 444.
- [113] KYO S, TAKAKURA M, FUJIWARA T, et al. Understanding and exploiting hTERT promoter regulation for diagnosis and treatment of human cancers[J]. *Cancer Science*, 2008, 99(8): 1528-1538.
- [114] KEMMER C, GITZINGER M, DAOUD-EL BABA M, et al. Self-sufficient control of urate homeostasis in mice by a synthetic circuit[J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28(4): 355-360.



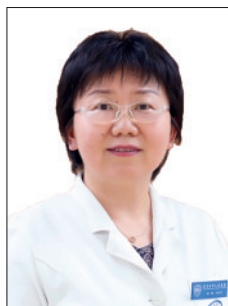
通讯作者: 谢群慧(1976—),女,副研究员,硕士生导师。研究方向为持久性有机污染物的神经毒理机制、环境健康问题相关的生物标志物、基于分子毒理机制的毒性评估方法与技术等。
E-mail: qhxie@rcees.ac.cn



共同通讯作者: 魏丽惠(1944—),女,主任医师,教授,博士生导师。研究方向为妇科疾病诊治及恶性肿瘤研究,擅长宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌诊疗。
E-mail: weilhpku@163.com



第一作者: 鄢震(1998—),男,硕士研究生。研究方向为环境分子毒理学,网络毒理学。
E-mail: zhenyan_st@rcees.ac.cn



共同第一作者: 赵超(1976—),女,主任医师。研究方向为宫颈癌前病变的筛查及诊断治疗,尤其是阴道镜检查、宫颈锥切手术治疗及妇科腹腔镜、宫腔镜手术治疗等。
E-mail: zhaochaocjr@163.com