

• 论 著 •

P16、Ki-67 在鳞状上皮病变宫颈组织中的表达及其与 HPV 联合检测的意义

潘燕珍, 丁红梅

(云浮市人民医院妇产科, 广东云浮 527300)

摘要:目的 探讨 P16、Ki-67 在鳞状上皮病变宫颈组织中的表达及其与人乳头瘤病毒(HPV)联合检测的意义。方法 收集手术切除的宫颈组织 188 例。其中,宫颈癌 48 例(宫颈癌组),宫颈上皮内瘤变(CIN)100 例(CIN 组),慢性宫颈炎 40 例(宫颈炎组)。应用免疫组化检测宫颈组织中 P16、Ki-67 的表达情况,采用 PCR 技术检测宫颈组织中 HPV 感染情况。结果 宫颈癌组、CIN 组 P16、Ki-67 表达阳性率均高于宫颈炎组($P<0.05$),宫颈癌组 P16、Ki-67 表达阳性率均高于 CIN I 和 CIN II 组($P<0.05$),但宫颈癌组与 CIN III 组间比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。随着 CIN 级别的增高,P16、Ki-67 表达阳性率增高,CIN I ~ III 3 组间比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。宫颈癌组、CIN III 组 P16、Ki-67 过表达率均高于其他 3 组($P<0.05$);CIN I ~ III 3 组中 P16 和 Ki-67 过表达率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。P16 表达强度与 HPV 阳性率呈正相关($r_s=0.706, P=0.011$);Ki-67 表达强度与 HPV 阳性率呈正相关($r_s=0.695, P=0.021$)。结论 可以通过联合检测 HPV、P16、Ki-67 对 CIN、早期宫颈癌进行辅助诊断,并对 CIN 进展进行预测。

关键词:宫颈上皮内瘤变; 宫颈癌; Ki-67 基因; P16 基因; 人乳头瘤病毒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.20.009 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2015)20-2942-03

The expression of P16, Ki-67 in cervical squamous epithelial lesions and the significance of their detection combined with HPV

Pan Yanzhen, Ding Hongmei

(Department of Obstetrics and Gynecology, Yunfu People's Hospital, Yunfu, Guangdong 527300, China)

Abstract: Objective To study the expression of P16, Ki-67 in cervical squamous epithelial lesions and the significance of their detection combined with human papillomavirus(HPV). **Methods** 188 cases of cervical tissues from surgical excision were collected, including 48 cases of cervical cancer, 100 cases of cervical intraepithelial neoplasia(CIN), and 40 cases of chronic cervicitis, which were set as cervical cancer group, CIN group and cervicitis group, respectively. Expression of P16, Ki-67 in cervical tissue were detected by using immunohistochemistry, and the HPV infection were detected by using PCR technology. **Results** The positive expression rates of P16 and Ki-67 in cervical cancer, CIN group was significantly higher than those in cervicitis group($P<0.05$), and the positive expression rates of P16 and Ki-67 in cervical cancer group were higher than those in CIN I and CIN II group ($P<0.05$), but between the cervical cancer group and CIN III group there were no statistically significant difference($P>0.05$). With the increase of CIN level, the positive expression rates of P16 and Ki-67 increased, among the three CIN groups there were significant difference($P<0.05$). In cervical cancer group and CIN III group, the expression rates of P16 and Ki-67 were both significantly higher than the other 3 groups($P<0.05$). In CIN I - III groups, the over expression rates of P16 and Ki-67 were statistically different ($P<0.05$). The expression of P16 positively correlated with the positive rates of HPV infection ($r_s=0.706, P=0.011$); the expression of Ki-67 positively correlated with the positive rates of HPV infection($r_s=0.695, P=0.021$). **Conclusion** CIN and cervical cancer of early stage could be diagnosed and the pathological progress of CIN could be predicted by using the combined detection of P16, Ki-67 and HPV.

Key words: cervical intraepithelial neoplasia; cervical cancer; gene, Ki-67; gene, P16; human papillomavirus

人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌、宫颈上皮内瘤变(CIN)等常见宫颈病变的主要病因,高危型 HPV 感染在 CIN、宫颈癌的发病中起重要作用^[1]。P16 为一种抑癌基因,可参与细胞周期调控;Ki-67 为增殖细胞标记物之一,应用广泛^[2]。P16、Ki-67 在宫颈癌、CIN 组织标本中的表达情况对临床宫颈病变的早期鉴别诊断有重要意义^[3-6]。本研究检测了包括宫颈癌、CIN、宫颈炎的宫颈组织中 P16、Ki-67 的表达情况及 HPV 感染情况,旨在探讨联合检测 HPV、P16、Ki-67 对预测 CIN 进展的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2009 年 1 月至 2014 年 6 月本院妇科手

术中切除的宫颈标本 188 例。其中,宫颈癌 48 例(宫颈癌组),CIN 100 例(CIN 组),慢性宫颈炎 40 例(宫颈炎组)。标本来源的手术患者年龄 26~81 岁,中位年龄 35 岁。48 例宫颈癌均为高分化鳞癌,其中 Ia 期 16 例, Ib 期 20 例, II a 期 12 例;100 例 CIN 中, CIN I 26 例, CIN II 34 例, CIN III 40 例;以上病例均经病理检查确诊。

1.2 纳入和排除标准 年龄均为 18 周岁以上,符合行子宫切除或宫颈锥切的条件,术前未做放化疗,受试者知情同意,急性妇科炎症者排除在外。(1)宫颈癌和 CIN 组:术前活检诊断为 CIN I 及以上病变;(2)宫颈炎组:宫颈细胞学涂片排除宫颈癌前病变。

1.3 方法

1.3.1 自制组织芯片 取标本中有效组织制成 8 行 8 列正方形组织芯片蜡块备用。

1.3.2 免疫组化及 HPV 检测 用免疫组化 S-P 法检测 P16、Ki-67 蛋白的表达情况,采用 PCR 技术检测宫颈癌、CIN、宫颈炎组宫颈组织 HPV 感染情况,引物采用 MY09/MY11。小鼠抗人单克隆 P16 抗体、兔抗人单克隆 Ki-67 抗体、S-P 通用型试剂盒购于上海华大基因生物公司,HPV16/18 型 DNA 提取试剂盒购于上海华大基因生物公司,PCR 检测试剂盒购自上海英骏公司。严格按照说明书操作。阳性对照采用已确认为阳性的鳞癌组织切片。

1.4 结果评判 根据相关文献[1],P16 阳性为细胞核和/或细胞质着色,棕黄色细颗粒记为“+”,棕黄色粗颗粒记为“++”,棕褐色粗颗粒记为“+++”;Ki-67 阳性为细胞核着色,阳性细胞仅位于基底及副基底层或阳性细胞数不多于 5%者记为“-”,阳性细胞数为 6%~<25%者记为“+”,25%~<50%者记为“++”,≥50%者记为“+++”[1]。P16、Ki-67 表达为++及以上为过表达。

1.5 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计分析,计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验;相关性采用 Spearman 等级相关分析进行相关分析; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 P16 在早期宫颈癌、CIN 及宫颈炎组织中的表达情况 宫颈癌组、3 个 CIN 组的 P16 表达阳性率均高于宫颈炎组($P<0.05$);宫颈癌组 P16 表达阳性率高于 CIN I 和 CIN II 组($P<0.05$);宫颈癌组与 CIN III 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。随着 CIN 级别的增高,P16 表达阳性率增高。CIN I~III 3 组 P16 表达阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 P16 在早期宫颈癌、CIN 及宫颈炎中的表达情况						
组别	n	检测结果(n)				阳性率(%)
		-	+	++	+++	
宫颈炎组	40	40	0	0	0	0.00
CIN I 组	26	12	10	4	0	53.85 ^{ab}
CIN II 组	34	8	6	16	4	76.47 ^{ab}
CIN III 组	40	2	2	10	26	95.00 ^a
宫颈癌组	48	0	0	4	44	100.00 ^a

^a: $P<0.05$,与宫颈炎组比较;^b: $P<0.05$,与宫颈癌组比较。

2.2 Ki-67 在早期宫颈癌、CIN 及宫颈炎中的表达情况 宫颈癌组、3 个 CIN 组 Ki-67 表达阳性率均高于宫颈炎组($P<0.05$),宫颈癌组 Ki-67 表达阳性率高于 CIN I 和 CIN II 组($P<0.05$),但宫颈癌组与 CIN III 组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。随着 CIN 级别的增高,Ki-67 表达阳性率增高。CIN I~III 3 组 Ki-67 表达阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 宫颈癌、CIN 及宫颈炎组织中 P16、Ki-67 过表达的情况 宫颈癌组、CIN III 组中 P16、Ki-67 检测结果为++~+++所占比例(过表达率)均高于其余 3 组($P<0.05$),且 CIN I~III 组中 P16 和 Ki-67 过表达率的比较差异均有统计

学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 Ki-67 在早期宫颈癌、CIN 及宫颈炎中的表达情况						
组别	n	检测结果(n)				阳性率(%)
		-	+	++	+++	
宫颈炎组	40	36	4	0	0	10.00
CIN I 组	26	12	10	4	0	53.85 ^{ab}
CIN II 组	34	8	4	14	8	76.47 ^{ab}
CIN III 组	40	2	4	6	28	95.00 ^a
宫颈癌组	48	4	0	6	38	91.67 ^a

^a: $P<0.05$,与宫颈炎组比较;^b: $P<0.05$,与宫颈癌组比较。

表 3 早期宫颈癌、CIN 及宫颈炎中 P16、Ki-67 过表达情况 ^[n(%)]			
组别	n	P16 过表达	Ki-67 过表达
宫颈炎组	40	0(0.00)	0(0.00)
CIN I 组	26	4(15.38) ^a	4(15.38) ^a
CIN II 组	34	20(58.82) ^{ab}	22(64.71) ^{ab}
CIN III 组	40	36(90.0) ^{abc}	34(85.00) ^{abc}
宫颈癌组	48	48(100.0) ^{abc}	34(91.67) ^{abc}

^a: $P<0.05$,与宫颈炎组比较;^b: $P<0.05$,与 CIN I 组比较;^c: $P<0.05$,与 CIN II 组比较。

2.4 宫颈癌、CIN 及宫颈炎中 HPV 感染情况 宫颈癌组、3 个 CIN 组、宫颈炎组中 HPV 感染情况比较差异有统计学意义($P<0.05$),宫颈癌组 HPV 感染率高于 CIN I 和宫颈炎组($P<0.05$)。见表 4。

表 4 宫颈癌、CIN 及宫颈炎中 HPV 感染情况				
组别	n	HPV 阴性(n)	HPV 阳性(n)	感染率(%)
宫颈炎组	40	36	4	10.00
CIN I 组	26	18	8	30.76 ^a
CIN II 组	34	17	17	50.0 ^{ab}
CIN III 组	40	14	26	65.0 ^{ab}
宫颈癌组	48	12	36	75.0 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与宫颈炎组比较;^b: $P<0.05$,与 CIN I 组比较。

2.5 P16、Ki-67 在 HPV 阳性、HPV 阴性宫颈组织中的表达情况 对 188 例不同宫颈病变组织进行 HPV 检测,高危型 HPV 阳性 91 例、阴性 97 例;对 P16、Ki-67 表达强度与 HPV 感染情况进行相关性分析,P16 表达强度与 HPV 阳性率呈正相关($r_s=0.706,P=0.011$),Ki-67 表达强度与 HPV 阳性率呈正相关($r_s=0.695,P=0.021$)。

3 讨论

宫颈癌的发病及进展是个渐进的过程,其中癌前病变 CIN 在其发病过程中起重要作用^[7-9]。目前 CIN、早期宫颈癌的临床诊断方法均存在一定的不足之处,因此寻找一种新的较为理想的诊断方法对临床 CIN、宫颈癌病变的诊断及进展预测具有重要价值^[7]。增殖是细胞尤其是肿瘤细胞的重要生物行为,在恶性肿瘤的发病中起重要作用,为近期研究热点之一。与细胞增殖相关的标志物在胃癌、肠癌、乳腺癌等恶性肿瘤中存在过量表达,在女性生殖道肿瘤中也存在过量表达^[2,8-14]。Ki-67 为

细胞增殖标志物之一,Toll 等^[7]发现,宫颈癌女性宫颈组织中 Ki-67 存在过量表达现象.Loures 等^[11]发现,宫颈癌癌前病变 CIN 中 Ki-67 表达高于正常宫颈组织。本研究显示,早期宫颈癌、CIN 组织中 Ki-67 表达阳性率高于宫颈炎组织,宫颈癌、CINⅢ宫颈组织中 Ki-67 检测阳性率及过表达率并无明显差异,但进展期 CIN(CINⅡ~Ⅲ)患者宫颈组织中 Ki-67 过表达率明显高于 CINⅠ患者。有文献报道,宫颈炎组织中 Ki-67 表达全部阴性^[7],但亦有文献报道宫颈炎组织中 Ki-67 可有阳性表达,但表达率低^[11]。本研究中 Ki-67 在宫颈炎组织中检测阳性率为 10.00%,过表达率为 0.00%,与既往研究基本相符。本研究检测结果提示,Ki-67 过表达可用于进展期 CIN 的筛查与预测。

P16 为抑癌基因的一种,Uijterwaal 等^[2]研究发现,P16 可在肿瘤组织中高表达,但在非肿瘤组织中表达率极低,甚至可为阴性。本研究显示 P16 在宫颈炎组织中表达均为阴性,而在 CIN 组织中表达明显增强,这提示通过检测 P16 可以很好地鉴别宫颈炎与 CIN,P16 检测可作为 CIN 早期筛查的一种有效手段。P16 随着 CIN 级别的增高,其表达不断增强。Koo 等^[3]发现,P16 在 CIN 与正常宫颈鳞状上皮之间表达的差异非常明显,在不同级别 CIN 组织中其表达亦存在明显分层现象,P16 在低级别 CIN 组织中主要分布于中下层,而在高级别 CIN 组织中则分布于上层甚至全层。这表明,可以根据 P16 检测结果及分布情况对 CIN 进行分级,并可以较为准确地预测 CIN 病变的进展。

相关性分析结果显示,HPV 感染的阳性率与 P16、Ki-67 的表达均呈正相关。这表明,检测 HPV 感染的同时,联合检测 P16、Ki-67 等相关指标,可提高检测的特异性与灵敏度,进而提高 CIN、早期宫颈癌等宫颈病变的诊断率。

综上所述,P16、Ki-67 在不同级别的 CIN 中的表达存在很大差异,不同分期 CIN 中 HPV 感染率亦存在较大差异,因此临床上可以通过联合检测 HPV、P16、Ki-67 等指标对 CIN、早期宫颈癌进行辅助诊断,并对 CIN 进展进行预测。

参考文献

[1] Fu HL, Ma Y, Lu LG, et al. TET1 exerts its tumor suppressor function by interacting with p53-EZH2 pathway in gastric Cancer [J]. J Biomed Nanotechnol. 2014, 10(7):1217-1230.

[2] Uijterwaal MH, Witte BI, Van Kemenade FJ, et al. Triaging borderline/mild dyskaryotic Pap cytology with p16/Ki-67 dual-

stained cytology testing: cross-sectional and longitudinal outcome study[J]. Br J Cancer, 2014, 110(6):1579-1586.

[3] Koo YJ, Hahn HS, Lee IH, et al. Dual immunostaining of cervical cytology specimens with atypical squamous cells for p16/Ki-67 does not exclude the existence of a high-grade squamous intraepithelial lesion[J]. Virchows Arch, 2013, 463(5):689-696.

[4] 张楚悦, 吴丹, 王丽华. 生物学标志物在宫颈癌前病变诊断中的应用[J]. 国际肿瘤学杂志, 2013, 40(10):788-792.

[5] Byun SW, Lee A, Kim S, et al. Immunostaining of p16(INK4a)/Ki-67 and L1 capsid protein on liquid-based cytology specimens obtained from ASC-H and LSIL-H cases[J]. Int J Med Sci, 2013, 10(12):1602-1607.

[6] Ito S, Tase T, Satoh K, et al. Gastric-type endocervical glandular neoplasms associated with aberrant p16 expression and K-RAS gene mutation in Peutz-Jeghers syndrome[J]. Pathol Int, 2014, 64(6):283-288.

[7] Toll AD, Kelly D, Maleki Z. Utility of P16 expression and Ki-67 proliferation index in ASCUS and ASC-H pap tests[J]. Diagn Cytopathol, 2014, 42(7):576-581.

[8] 刘安丽, 贺生. 高危型 HPV 原位杂交检测和 P53、Ki-67 在宫颈鳞癌及子宫颈上皮内瘤变组织中的表达及意义[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(29):4611-4614.

[9] Reyes MC, Cooper K. Cervical Cancer biopsy reporting: a review [J]. Indian J Pathol Microbiol, 2014, 57(3):364-368.

[10] Suh DH, Kim JW, Kang S, et al. Major clinical research advances in gynecologic Cancer in 2013[J]. J Gynecol Oncol, 2014, 25(3):236-248.

[11] Loures LF, Cândido EB, Vidigal PV, et al. PTEN expression in patients with carcinoma of the cervix and its association with p53, Ki-67 and CD31[J]. Rev Bras Ginecol Obstet, 2014, 36(5):205-210.

[12] Vega-Peña A, Illades-Aguir B, Flores-Alfaro E, et al. Risk of progression of early cervical lesions is associated with integration and persistence of HPV-16 and expression of E6, Ki-67, and telomerase[J]. J Cytol, 2013, 30(4):226-232.

[13] 龙华泉, 陈世豪, 张伟坚. TCT 和 HR-HPV-DNA 检测在宫颈癌筛查中的价值[J]. 海南医学, 2012, 23(24):100-102.

[14] 王瑛, 李丽霞, 张亲凤, 等. 三亚地区农村妇女宫颈癌认知度和筛查状况分析[J]. 海南医学, 2013, 24(6):909-910.

(收稿日期:2015-04-18)

(上接第 2941 页)

学, 1984, 22(9):44-46.

[7] 余永雄, 陈唯, 陈洁, 等. 梧州市新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症筛查结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(16):1970-1971.

[8] 韦永琼, 郭健玉. 成都市新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症筛查分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(24):3366-3367.

[9] 何卫东, 杨宝圩, 廖冬妹, 等. 2 847 例新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的筛查与分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(4):498-499.

[10] 叶嘉玲, 田佩玲, 郑立新, 等. 7 488 例育龄人群 G6PD 缺乏症检查

结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2005, 13(7):33.

[11] 黄润明, 姚倩瑜. 东莞地区 2399 例育龄夫妇 G6PD 缺乏症的筛查结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2007, 15(2):95-96.

[12] 谭炳添, 周晓兰, 梁耀荣. 斗门地区育龄人群 G6PD 缺乏症检测结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(4):102.

[13] 吴志丽, 胡晓丽, 朱伟勇. 深圳市龙岗区 3 465 例育龄人群 G6PD 缺乏症筛查分析[J]. 吉林医学, 2011, 32(13):2616-2617.

[14] 姚英姿, 谭志伟, 杨孜, 等. 新生儿 G6PD 缺乏症筛查结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(4):498-500.

(收稿日期:2015-06-22)