

• 论 著 •

宫颈病变 PCNA、Ki-67 表达检测及其与 HPV 感染相关性研究*

董永学

(广东省云浮人民医院病理科, 广东云浮 527300)

摘要:目的 探讨宫颈癌、宫颈上皮内瘤变(CIN)组织增殖细胞核抗原(PCNA)、Ki-67 表达水平及其与人乳头瘤病毒(HPV)感染的关系。方法 选择接受手术治疗的宫颈病变患者 140 例,其中宫颈癌 36 例,CIN74 例,以慢性宫颈炎 30 例作为对照组。采用免疫组织化学 S-P 法检测宫颈组织标本 PCNA、Ki-67 表达情况,采用聚合酶链反应检测宫颈组织 HPV 感染情况。结果 宫颈癌组、CIN 组 PCNA、Ki-67 表达阳性率高于对照组,宫颈癌组、CIN II ~ III 组 PCNA、Ki-67 阳性率高于 CIN I 组($P < 0.05$)。宫颈癌组、CIN 组 PCNA、Ki-67 过表达检出率高于对照组,CIN II ~ III 组 PCNA、Ki-67 过表达检出率高于 CIN I 组($P < 0.05$)。PCNA 表达强度与 HPV 感染呈正相关(相关系数为 0.706, $P < 0.05$),Ki-67 表达强度与 HPV 感染呈正相关(相关系数为 0.695, $P < 0.05$)。结论 早期宫颈癌及不同 CIN 分期病变组织 PCNA、Ki-67 表达水平差异较大,不同 CIN 分期病变组织 HPV 感染率亦存在较大差异,可联合检测 HPV、PCNA、Ki-67 等指标对早期宫颈癌、CIN 进行辅助诊断。

关键词:宫颈癌; 宫颈上皮内瘤变; 增殖细胞核抗原; Ki-67; 人乳头瘤病毒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.21.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)21-3083-03

Expression of PCNA and Ki-67 in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia and the correlation with HPV infection*

Dong Yongxue

(Department of Pathology, People's Hospital of Yunfu, Yunfu, Guangdong 527300, China)

Abstract: Objective To study the expression of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) and Ki-67 in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia(CIN), and the correlation with human papilloma virus(HPV) infection. **Methods** A total of 140 patients, receiving cervical resection, were enrolled, including 36 cases of cervical cancer, 74 cases of CIN, and 30 cases of chronic cervicitis as control group. Immunohistochemical detection of PCNA and Ki-67, and polymerase chain reaction detection of HPV were performed in cervical specimens. **Results** Positive rate of PCNA and Ki-67 in cervical cancer group and CIN group were significantly higher than control group, and those of CIN II - III group were higher than CIN I group ($P < 0.05$). In cervical cancer group and CIN group, detection rates of over-expression of PCNA and Ki-67 were significantly higher than control group, and those of CIN II - III group were higher than CIN I group. The expression of PCNA and Ki-67 were positively correlated with HPV infection, with correlation coefficient of 0.706 and 0.695 ($P < 0.05$). **Conclusion** There could be difference of the expression of PCNA and Ki-67 between cervical cancer and different levels of CIN, and in different levels of CIN, the HPV infection rate might be also different. HPV, PCNA, Ki-67 and other indicators should be combined detected for the diagnosis of cervical cancer and CIN.

Key words: cervical carcinoma; cervical intraepithelial neoplasia; proliferating cell nuclear antigen; Ki-67; human papillomavirus

人乳头瘤病毒(HPV)感染是诱发宫颈癌、宫颈上皮内瘤变(CIN)等常见宫颈病变的主要因素^[1]。增殖细胞核抗原(PCNA)合成于细胞核内,细胞核增殖相关抗原 Ki-67 也是增殖细胞标记物之一^[2]。探讨 PCNA、Ki-67 与宫颈病变的关系对深入研究疾病发病机制极为重要^[3-6]。本研究检测了宫颈癌、CIN 等宫颈病变组织 PCNA、Ki-67 表达水平及 HPV 感染情况,旨在探讨 PCNA、Ki-67 与宫颈癌、CIN 的关系,及其与 HPV 感染的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 1 月至 2014 年 6 月于本院行子宫切除术或宫颈锥切术的宫颈病变患者 140 例,年龄 27~76 岁,其中宫颈癌 36 例,CIN 74 例,以慢性宫颈炎 30 例作为对照组。36 例宫颈癌患者均为高分化鳞癌,其中 I 期 16 例,II a 期 20

例。74 例 CIN 患者中,CIN I 期 40 例,CIN II ~ III 期 34 例。所有患者均经组织病理学检查确诊。宫颈癌、CIN 患者纳入标准:适合行子宫切除术或宫颈锥切术治疗者;术前活检组织病理学检查确诊为 CIN I 期及以上病变;术前未接受放化疗;无急性妇科炎症等其他合并症;对本研究知情同意^[1]。慢性宫颈炎患者纳入标准:适合行子宫切除术或宫颈锥切术治疗者;术前活检组织病理学检查排除宫颈癌前病变;术前未接受放化疗;无急性妇科炎症等其他合并症;对本研究知情同意^[1]。

1.2 方法 采用免疫组织化学 S-P 法检测病变组织 PCNA、Ki-67 表达。细胞核中见到棕黄色颗粒判为 PCNA、Ki-67 阳性。采用半定量法判断结果,按阳性细胞在肿瘤细胞中所占比例分为 4 级,0%~10%为“-”,10%~25%为“+”,25%~50%为“++”,大于 50%为“+++”,++~+++为过表

* 基金项目:广东省云浮市卫生局 2014 年度科研计划项目(20140514)。 作者简介:董永学,男,主治医师,主要从事临床病理学研究。

达^[1]。采用聚合酶链式反应(PCR)检测病变组织 HPV 感染情况,引物采用 MY09/MY11^[1]。小鼠抗人 PCNA 单克隆抗体、兔抗人 Ki-67 单克隆抗体、S-P 通用型试剂盒购自广州安必平医药科技公司,HPV DNA 检测试剂盒购自广州永健华医疗器械有限公司。组织标本以 10% 甲醛溶液固定,石蜡包埋切片,阳性对照采用已确认为阳性的鳞癌组织切片^[1]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以例数、百分率表示,组间比较采用卡方检验或 Fisher 确切概率法,采用 Spearman 等级相关分析进行相关性分析。 $P<0.05$ 为比较差异或分析参数有统计学意义。

2 结 果

2.1 各研究组 PCNA、Ki-67 阳性率比较 宫颈癌组、CIN 组 PCNA、Ki-67 表达阳性率高于对照组($P<0.05$),且宫颈癌组、CIN II 组、CIN III 组 PCNA、Ki-67 表达阳性率高于 CIN I 组($P<0.05$),见表 1~2。

表 1 各研究组 PCNA 表达检测结果						
组别	<i>n</i>	—(<i>n</i>)	+(<i>n</i>)	++(<i>n</i>)	+++(<i>n</i>)	阳性率(%)
对照组	30	24	6	0	0	20.0
CIN I 组	40	14	12	12	2	65.0
CIN II 组	16	0	2	8	4	100.0
CIN III 组	18	0	2	12	6	100.0
宫颈癌组	36	0	0	14	22	100.0

表 2 各研究组 Ki-67 表达检测结果						
组别	<i>n</i>	—(<i>n</i>)	+(<i>n</i>)	++(<i>n</i>)	+++(<i>n</i>)	阳性率(%)
对照组	30	28	2	0	0	6.7
CIN I 组	40	16	14	10	0	60.0
CIN II 组	16	2	5	7	2	87.5
CIN III 组	18	0	7	9	2	100.0
宫颈癌组	36	0	4	18	14	100.0

2.2 各研究组 PCNA、Ki-67 过表达情况 免疫组织化学检测结果显示,宫颈癌组、CIN 组 PCNA、Ki-67 过表达检出率高于对照组($P<0.05$),CIN II~III 组 PCNA、Ki-67 过表达检出率高于 CIN I 组(PCNA:88.2% *vs.* 35.0%,Ki-67:58.8% *vs.* 25.0%, $P<0.05$),见表 3。相关性分析显示,PCNA 表达强度与 Ki-67 表达强度呈正相关(相关系数为 0.728, $P<0.05$)。

表 3 各研究组 PCNA、Ki-67 过表达检出率					
组别	<i>n</i>	PCNA(++~+++)		Ki-67(++~+++)	
		<i>n</i>	检出率(%)	<i>n</i>	检出率(%)
对照组	30	0	0.0	0	0.0
CIN I 组	40	14	35.0*	10	25.0*
CIN II~III 组	34	30	88.2*#	20	58.8*#
宫颈癌组	36	36	100.0*#	32	88.9*#

*: $P<0.05$,与对照组比较;#: $P<0.05$,与 CIN I 组比较。

2.3 PCNA、Ki-67 与 HPV 感染相关性分析 140 例宫颈病变组织检出 HPV 阳性 80 例,HPV 阴性 60 例,HPV 阳性、阴性患者 PCNA、Ki-67 检测结果见表 4。相关性分析结果显示,

PCNA 表达强度与 HPV 感染呈正相关(相关系数为 0.706, $P<0.05$),Ki-67 表达强度与 HPV 感染呈正相关(相关系数为 0.695, $P<0.05$),见表 4。

表 4 HPV 阳性、阴性患者 PCNA、Ki-67 检测结果(<i>n</i>)									
组别	<i>n</i>	PCNA				Ki-67			
		—	+	++	+++	—	+	++	+++
HPV 阳性组	80	2	28	32	18	0	8	38	34
HPV 阴性组	60	26	20	14	0	12	38	10	0

3 讨 论

宫颈癌的发生、发展是渐进的过程,其中癌前病变 CIN 在其发病过程中起重要作用^[7-9]。目前,宫颈癌及 CIN 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。大量研究显示,与细胞增殖相关的标志物在胃癌、肠癌、乳腺癌等恶性肿瘤组织的表达水平均较高,新近研究也显示,相关增殖标志物在女性生殖道肿瘤组织中也存在过表达^[10-15]。有研究显示,宫颈癌组织 PCNA 存在过表达,CIN 病变组织 PCNA 表达水平也高于正常宫颈组织^[2,6]。本研究显示,宫颈癌、CIN 组织 PCNA 表达阳性率高于宫颈炎病变组织,与上述文献报道基本一致。本研究中,宫颈癌、CIN 患者宫颈组织 PCNA 阳性率及过表达检出率比较差异并无统计学意义($P>0.05$),但 CIN II~III 期患者宫颈组织检测结果显示,进展期 CIN 组织 PCNA 阳性率及过表达检出率均高于 CIN I 期患者($P<0.05$)。PCNA 的优点在于敏感性高,但特异性差,在未发生病变的宫颈组织中亦可表达,因此不适合应用于不同宫颈病变的鉴别诊断。但本研究检测结果亦显示,PCNA 过表达用于预测 CIN II~III 期病变的灵敏度可达 100.0%,因此可将其用于 CIN 筛查,但有必要与其他指标联合检测以提高诊断特异性。

Ki-67 为应用广泛的细胞增殖标志物之一。Vega-Pena 等^[12]发现,早期宫颈癌病变组织存在 Ki-67 过表达。Loures 等^[11]亦发现,CIN 病变组织 Ki-67 水平远高于正常宫颈组织及非肿瘤性病变宫颈组织。本研究显示,宫颈癌、CIN 病变组织 Ki-67 表达阳性率高于宫颈炎病变组织,与上述文献报道基本一致。本研究中,宫颈癌、CIN III 期病变组织 Ki-67 阳性率及过表达检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$),但 CIN II~III 期病变组织 Ki-67 阳性率及过表达检出率明显高于 CIN I 期病变组织($P<0.05$)。有文献报道宫颈炎组织可不表达 Ki-67^[7],但亦有研究显示,宫颈炎组织可表达 Ki-67,但阳性率较低^[11]。本研究中,宫颈炎病变组织 Ki-67 检测阳性率为 6.7%,无过表达者,与既往研究基本相符。本研究结果提示,Ki-67 过表达用于预测 CIN II~III 期病变及宫颈癌的灵敏度可达 100.0%,因此可将其用于早期宫颈癌、CIN 病变进展的筛查与预测。

相关性分析结果显示,HPV 感染与 PCNA、Ki-67 表达水平均呈现相关,说明在进行 HPV 检测的同时,应联合检测 PCNA、Ki-67 等相关指标,提高检测特异性与敏感性,进而提高 CIN 等宫颈病变的诊断率。

综上所述,早期宫颈癌及不同 CIN 分期病变组织 PCNA、Ki-67 表达水平差异较大,不同 CIN 分期病变组织 HPV 感染

率亦存在较大差异,因此可通过 HPV、PCNA、Ki-67 等指标的联合检测对早期宫颈癌、CIN 进行辅助诊断。

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] Goel MM, Mehrotra A. Immunohistochemical expression of MIB-1 and PCNA in precancerous and cancerous lesions of uterine cervix[J]. Indian J Cancer, 2013, 50(3): 200-205.
- [3] 迟秋君,梁冠盈,付瑶,等. 子宫颈癌有无 HPV 感染和 PCNA、Ki-67, p53 表达与临床病理变化相关性分析[J]. 实用肿瘤学杂志, 2014, 16(2): 108-113.
- [4] 张楚悦,吴丹,王丽华,等. 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] Chen ZY, Liang K, Lin Y, et al. Study of the UTMD-based delivery system to induce cervical cancer cell apoptosis and inhibit proliferation with shRNA targeting survivin[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(1): 1763-1777.
- [6] Madhumati G, Kavita S, Anju M, et al. Immunohistochemical expression of cell proliferating nuclear antigen(PCNA) and p53 protein in cervical cancer[J]. J Obstet Gynaecol India, 2012, 62(5): 557-561.
- [7] Goel MM, Mehrotra A. Immunohistochemical expression of MIB-1 and PCNA in precancerous and cancerous lesions of uterine cervix[J]. Indian J Cancer, 2013, 50(3): 200-205.

- [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] 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.
- [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, Candido 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-Pena A, Illades-Aguar 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] 张敏鸽. 高危 HPV 与宫颈癌发生的相关性[J]. 实用癌症杂志, 2012, 27(6): 670-672.
- [14] 劳芝英. HPV、TCT 及阴道镜对宫颈癌筛查的意义[J]. 实用癌症杂志, 2014, 17(7): 826-828, 831.
- [15] Reyes MC, Cooper K. Cervical cancer biopsy reporting: a review [J]. Indian J Pathol Microbiol, 2014, 57(3): 364-368.

(收稿日期: 2015-05-28)

(上接第 3082 页)

时进行细菌耐药性监测,并根据药敏实验结果合理用药^[18]。ICU 在加强环境卫生、手卫生、呼吸机治疗管理的基础上,应做好目标监测,加强标本送检工作,不断优化治疗方案以缩短用药疗程,防止或延缓新的耐药菌株的产生。

参考文献

- [1] 陈佰义,何礼贤,胡必杰,等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识[J]. 中国医药科学, 2012, 2(8): 3-8.
- [2] 胡鑫,胡昭宇,曹雁,等. ICU 鲍曼不动杆菌感染的流行状况及耐药性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(9): 1081-1083.
- [3] 谭湘淑,韩新鹏,葛淑华. 呼吸重症监护病房 2008~2011 年鲍曼不动杆菌的耐药性变迁及同源性分析[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2013, 34(3): 371-374.
- [4] 郭勇,薛杨勇,唐建国. 重症监护病房鲍曼不动杆菌感染[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(2): 172-175.
- [5] Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen[J]. Clin Microbiol Rev, 2008, 21(3): 538-582.
- [6] Zhou H, Yang Q, Yu YS, et al. Clonal spread of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii among different cities of China[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(12): 4054-4057.
- [7] 王清,刘琪. 837 株鲍曼不动杆菌感染临床分布及耐药性调查[J]. 中国消毒学杂志, 2014, 31(4): 377-379.
- [8] 习慧明,徐英春,朱德妹,等. 2010 年中国 CHINET 鲍曼不动杆菌

耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(2): 98-104.

- [9] 朱任媛,张小江,杨启文,等. 2011 年 ICU 来源细菌耐药监测[J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 28(12): 905-909.
- [10] Karageorgopoulos DE, Falagas ME. Current control and treatment of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii infections [J]. Lancet Infect Dis, 2008, 8(12): 751-762.
- [11] 徐惠,马智超,罗明,等. 某三甲综合性医院 20 年间出院患者年龄结构变迁[J]. 中国卫生统计, 2013, 30(5): 758-759.
- [12] Munoz-Price LS, Weinstein RA. Acinetobacter infection [J]. N Engl J Med, 2008, 358(12): 1271-1281.
- [13] 何发明,范晶,余泽波,等. ICU 中痰标本来源的鲍曼不动杆菌的临床意义分析[J]. 中国抗生素杂志, 2012, 37(5): 357-361.
- [14] 周玉,丛玉隆,曲芬. 鲍曼不动杆菌耐药机制及治疗策略研究进展[J]. 传染病信息, 2014, 27(3): 184-188.
- [15] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2011 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5): 321-329.
- [16] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2012 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(5): 321-330.
- [17] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2013 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(5): 365-374.
- [18] Chen CM, Liu PY, Ke SC, et al. Investigation of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii isolates in a district hospital in Taiwan[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 63(4): 394-397.

(收稿日期: 2015-04-25)