

5 年间 MP 感染率高低不一,差异显著。从统计数据来看,2012 年有爆发流行的迹象,具体原因仍需进一步研究。2012 年以后感染率逐渐回落,但是否呈逐年下降的趋势还有待进一步观察。

总之,柳州地区 MP 总体感染情况比较严重,幼儿、青壮年及女性人群感染率较高,感染全年均可发生,存在季度性差异,同时近几年感染率波动较大,应注意密切监测。

参考文献

[1] 刘洋,李敏.肺炎支原体肺炎发病机制研究进展[J].临床儿科杂志,2011,29(2):196-198.
[2] 余春梅,王斌,陈静.重庆南岸地区急性呼吸道感染儿童肺炎支原体临床感染特点分析[J].检验医学与临床,2013,11(14):1816-1817.
[3] 黄海樱,陈波,周强,等.广州地区不同人群肺炎支原体感染的流行病学调查分析[J].中华医院感染学杂志,2015,2(2):300-302.
[4] 李军良.2012-2013 年秦皇岛地区成人肺炎支原体流行情况分析[J].预防医学情报杂志,2015,31(7):508-510.
[5] 李晶,郑跃杰,邓继岩,等.2004-2005 年深圳市儿童肺炎

支原体感染流行病学分析[J].广东医学,2007,28(7):1160-1161.
[6] 陈妙,邓在春,范明亮,等.2009-2011 年宁波鄞州区肺炎支原体感染流行病学分析[J].中华医院感染学杂志,2013,23(17):4129-4131.
[7] 姜邦蓉,闫河,古兰谦,等.北海地区肺炎支原体感染者流行病学分析[J].右江医学,2013,41(3):380-381.
[8] Nariai A. Mycoplasma pneumoniae infection in hospitalized children with acute pneumonia under the Mycoplasma epidemic[J]. Kansenshogaku Zasshi,2004,78(6):496-502.
[9] 刘引,王子才,方洁,等.肺炎支原体 IgM 测定的临床意义[J].临床儿科杂志,2005,23(8):560-561.
[10] 郭红波,季伟,王美娟.苏州地区儿童肺炎支原体感染的流行病学分析[J].江苏医药,2010,36(2):160-162.
[11] 贾文祥.医学微生物学[M].2 版.成都:四川大学出版社,2009:167-168.

(收稿日期:2017-02-06 修回日期:2017-04-06)

• 临床研究 •

HPV、P16 和 Ki67 检测对早期宫颈上皮内瘤变和宫颈癌辅助诊断价值的分析

黄影蓓,张燕菲,陈 鹏

(广州市花都区妇幼保健院(胡忠医院)妇科,广州 510800)

摘要:目的 研究人乳头瘤病毒(HPV)、P16 和 Ki67 对早期宫颈上皮内瘤变和宫颈癌辅助诊断的价值。方法 随机在该医院收集患者共 212 例,患者疾病类型包括宫颈炎、宫颈上皮内瘤变(CIN,包括 CIN I、CIN II 和 CIN III)、宫颈癌,根据疾病类型共分为 5 组。对 HPV、P16 和 Ki67 检测对判断不同类型、不同严重程度宫颈疾病的价值进行了分析及相关性评价。结果 HPV 感染率由高到低依次为宫颈癌组、CIN III 组、CIN II 组、CIN I 组和宫颈炎组,除宫颈癌组与 CIN III 组间比较外,其余组间两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。P16 阳性率及过表达率由高到低均依次为宫颈癌组、CIN III 组、CIN II 组、CIN I 组和宫颈炎组,除宫颈癌组与 CIN III 组间比较外,其余组间两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。Ki-67 阳性率及过表达率由高到低依次为宫颈癌组、CIN III 组、CIN II 组、CIN I 组和宫颈炎组,除宫颈癌组与 CIN III 组间比较外,其余组间两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。P16 和 Ki67 两者的表达情况与 HPV 感染率存在正相关性。结论 HPV、P16 和 Ki67 三者与宫颈疾病的严重程度存在联系,可根据以上 3 种检测的情况预测宫颈疾病的进展和恶化,对临床治疗有一定指导作用。

关键词:HPV; P16; Ki67; 宫颈上皮内瘤变; 宫颈癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.052 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)13-1852-03

随着宫颈疾病的进展,患者体内可出现 P16 和 Ki67,两者均与细胞的增殖有关,可以调控细胞周期,为增殖细胞核抗原,两者的过表达可显示细胞的增殖状态^[1]。本文研究的目的在于分析人乳头瘤病毒(HPV)、P16 和 Ki67 三者在判断宫颈疾病恶性程度中的价值,探讨筛查三者的必要性。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 于 2013 年 6 月至 2015 年 6 月随机在本医院科室选择 212 例患有宫颈疾病的妇女,方法为统计学随机抽签,宫颈疾病类型分别有宫颈炎、宫颈上皮内瘤变(CIN,包括 CIN I、CIN II、CIN III)和宫颈癌,分别有 52、37、39、41、43 例,所有患者均已行病理及涂片等明确诊断,且癌症并未化疗,本研究通过伦理委员会批准,所有患者签署知情同意书。5 组患者的年龄范围为 37~79 岁,平均(52.6±8.4)岁,比较 5 组患

者的年龄信息,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 使用的免疫组化 S-P 试剂盒采购于上海华大基因生物公司,抗体分别为兔抗人单克隆 Ki-67 抗体、小鼠抗人单克隆 P16 抗体;PCR 试剂购自德国凯捷公司。具体方法:首先制作石蜡切片,取得患者组织,经过甲醛固定、石蜡包埋后,进行切片、染色、比较,严格按照试剂盒或仪器说明书进行^[2]。PCR 方法主要检测 HPV 感染情况,使用 MY09/MY11 引物,具体过程按照试剂说明书进行。

1.3 显微镜观察标准 本试验采用一、十号表明 P16 和 Ki67 在细胞内的阳性率,过表达的标准为十十及以上^[3]。P16 则以细胞核和胞浆内颗粒的大小和颜色分别,一表明无颜色而大小正常,十说明颜色以为棕黄色,大小未变,十十颜色变化为棕黄色且颗粒较粗,十十十颜色已然成为棕褐色而颗粒也较大;

Ki67 按照位于基底层和副基底层的数量进行评估,从++至+一的细胞数量分别为>50%、26%~50%、6%~25%以及≤5%^[4]。

1.4 统计学处理 本研究采用 SPSS 18.0 软件进行统计,统计的方式有描述性统计、方差分析等,组间对比用 χ^2 检验,计量资料采用 *t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同恶化程度的宫颈疾病 HPV 感染情况 宫颈疾病的恶化程度不同,HPV 的感染也会不尽相同,在 5 组患者中,HPV 感染率最高的为宫颈癌组,最低为宫颈炎组,差异有统计学意义(*P*<0.05);CIN 三组患者的感染率处于中间,高于宫颈炎组,且组内比较差异也较大,具有统计学意义(*P*<0.05);但 CINⅢ与宫颈癌的差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 1。

表 1 不同宫颈疾病中 HPV 的感染情况比较

组别	<i>n</i>	阴性(<i>n</i>)	阳性(<i>n</i>)	感染率(%)
宫颈炎组	52	48	4	7.69
CINⅠ组	37	27	10	27.03*
CINⅡ组	39	19	20	51.28*#
CINⅢ组	41	10	31	75.61*#△
宫颈癌组	43	10	33	76.74*#△

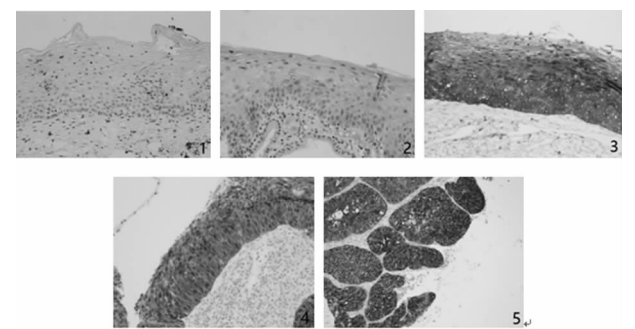
注:与宫颈炎组患者比较,**P*<0.05;与 CINⅠ组患者比较,#*P*<0.05;与 CINⅡ组比较,△*P*<0.05。

2.2 宫颈疾病患者中 P16 的表达比较 CIN 三组和宫颈癌组患者的表达明显高于宫颈炎组,且 CIN 分期靠后较靠前高,差异有统计学意义(*P*<0.05),CINⅢ与宫颈癌的比较差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 2、图 1。

表 2 宫颈疾病患者中 P16 表达的比较

组别	<i>n</i>	结果类型(<i>n</i>)				阳性率(%)
		—	+	++	+++	
宫颈炎组	52	52	0	0	0	0.00
CINⅠ组	37	17	14	6	0	54.05*
CINⅡ组	39	10	11	9	9	74.36*#
CINⅢ组	41	1	6	12	22	97.56*#△
宫颈癌组	43	0	0	2	41	100.00*#△

注:与宫颈炎组患者比较,**P*<0.05;与 CINⅠ组患者比较,#*P*<0.05;与 CINⅡ组比较,△*P*<0.05。



注:1 为宫颈炎组(—,×400);2 为 CINⅠ组(+,×400);3 为 CINⅡ组(++ ,×400);4 为 CINⅢ组(+++ ,×400);5 为宫颈癌组(+++ ,×400)。

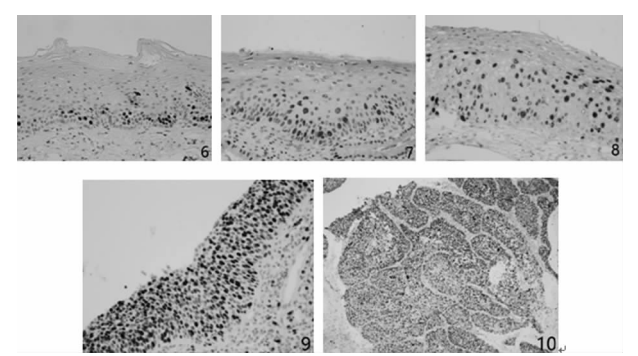
图 1 各组宫颈组织切片中 P16 的表达

2.3 Ki-67 在不同宫颈疾病中的表达比较 宫颈炎患者中 Ki-67 的表达量最少,宫颈癌最多,除 CINⅢ和宫颈癌的表达不存在统计学差异(*P*>0.05)外,其他组两两比差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 3、图 2。

表 3 不同宫颈疾病中 Ki-67 的表达比较

组别	<i>n</i>	结果分析(<i>n</i>)				阳性率(%)
		—	+	++	+++	
宫颈炎组	52	49	3	0	0	5.77
CINⅠ组	37	19	13	5	0	48.65*
CINⅡ组	39	9	10	11	9	76.92*#
CINⅢ组	41	3	4	13	21	92.68*#△
宫颈癌组	43	4	0	1	38	90.70*#△

注:与宫颈炎组患者比较,**P*<0.05;与 CINⅠ组患者比较,#*P*<0.05;与 CINⅡ组比较,△*P*<0.05。



注:6 为宫颈炎组(—,×400);7 为 CINⅠ组(+,×400);8 为 CINⅡ组(++ ,×400);9 为 CINⅢ组(+++ ,×400);10 为宫颈癌组(+++ ,×400)。

图 2 各组宫颈组织切片中 Ki-67 的表达情况

2.4 P16 和 Ki67 过表达情况的比较 CINⅢ组和宫颈癌组患者的 P16 和 Ki67 过表达量的比较,CIN 各内的过表达率均存在显著差异,以 CINⅢ最明显,其与宫颈癌组的过表达率均显著高于其他分组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 4。

表 4 P16 和 Ki67 过表达率的比较[n(%)]

组别	<i>n</i>	P16 过表达	Ki67 过表达
宫颈炎组	52	0(0.00)	0(0.00)
CINⅠ组	37	6(16.22)*	5(13.51)*
CINⅡ组	39	18(46.15)*#	20(51.28)*#
CINⅢ组	41	34(82.93)*#△	34(82.93)*#△
宫颈癌组	43	43(100.00)*#△	39(90.70)*#△

注:与宫颈炎组患者比较,**P*<0.05;与 CINⅠ组患者比较,#*P*<0.05;与 CINⅡ组比较,△*P*<0.05。

2.5 3 组数据之间的关系情况分析 分别以 P16 和 Ki67 作为因变量,以 HPV 感染为自变量,采用相关性分析后可知,HPV 感染与 P16 和 Ki67 存在相关性。见表 5。

表 5 不同数据的相关性分析

指标	P16		Ki67	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
HPV 感染	0.712	0.011	0.718	0.010
CIN 分级	0.711	0.012	0.720	0.009

续表 5 不同数据的相关性分析

指标	P16		Ki67	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
P16	—	—	0.676	0.023
Ki67	0.659	0.025	—	—

注：—表示该项无数据。

3 讨 论

宫颈癌的发病率正在以高速上升,不仅对患者本身造成严重伤害,且对家庭、社会造成不必要的麻烦,随着宫颈癌年轻化的趋势越来越明显,降低生活质量^[5]。宫颈癌应早发现、早诊断、早治疗,经过多年的研究可知,宫颈癌存在上皮内瘤变到癌症逐渐转变的过程,在发展过程中,如何准确判断疾病进展、了解严重程度对于治疗的帮助非常大^[6]。宫颈癌和上皮内瘤变的发生与 HPV 感染的关系密切,尤其高危型 HPV 的感染,引起宫颈恶性疾病的概率更高^[7]。HPV 感染导致宫颈从健康走向癌前病变、最终形成恶性肿瘤的原因主要与其极强的 DNA 整合作用有关,在其作用下可改变宫颈细胞的细胞周期,产生恶性细胞,形成宫颈癌^[8]。随着人们对癌症研究的越来越深入,对宫颈癌的研究也逐渐进入佳境,其中以 P16 和 Ki67 的探讨最为重要。Ki67 与癌症的关系已被多数学者证明,且其表达的水平代表了癌症的恶性程度及浸润等情况,此种蛋白与细胞增殖有明确关系,能够有效地表现肿瘤细胞的增殖能力,由于 Ki67 的特性使得其被人们利用到对肿瘤恶性程度等的评估方面,能够有效判断肿瘤的转移情况^[9]。P16 蛋白在正常情况下通过阻止抑癌基因视网膜母细胞瘤基因磷酸化,从而抑制 DNA 合成,达到抑制细胞恶性增殖的作用。而近年来研究发现 P16 基因及其产物在 HPV 相关肿瘤中与其抑癌基因作用不相符,在大多数原发性恶性肿瘤中缺失,但在宫颈癌及高级别上皮内瘤变中出现了 P16 蛋白的过表达^[10]。

在本次研究中,通过分析 HPV、P16 和 Ki67 与宫颈疾病之间的关系,了解检测以上三种指标对判断宫颈疾病的价值,结果显示,212 例宫颈疾病患者中,宫颈炎-CIN-宫颈癌的转变会引起 2 种指标的变化,随着恶性程度的加重,P16 和 Ki67 细胞的阳性率均明显上升,宫颈炎患者为最低,明显低于 CINⅢ和宫颈癌患者,差异具有统计学意义($P<0.05$),除 CINⅢ组和宫颈癌组差异较小,无统计学意义($P>0.05$),各个分组对比均有显著差异,具有统计学意义($P<0.05$)。且 HPV 感染率和 P16 和 Ki67 之间存在相关性,共同检测的价值更高。三种指标均有不同的特点,现将各项指标特点总结如下,HPV 感染基本在 CIN 和宫颈癌中均有显著升高,特异性较差,对于判断 CIN 和宫颈癌之间的区别价值较低;P16 是一种早期恶性病变的指标,能够在早期有效地判断,并采取积极治疗措施,对遏制疾病进展,促进肿瘤治疗均有显著优势^[11];Ki67 对于判断肿瘤的恶性程度及转移情况非常有利,对肿瘤增殖、浸润的评估价值较高;三种指标的特点明确,均具有非常高的利用价值,同时检测可有效了解患者宫颈情况,立体式判断疾病进展^[12]。笔者认为宫颈癌与其他恶性肿瘤在 P16 蛋白表达上的差异可能与 HPV 的致癌机制有关,当患者宫颈受到 HPV 感染时,整合基因中的 E7 基因编码的蛋白促使 P53 和 pRB 蛋白释放,使

宿主细胞进入永生状态,导致宫颈上皮瘤变,而 p16 作为 Rb 信号通路的重要成员,接受 Rb 的负反馈抑制。HPV 产生的 E7 蛋白过量生成抑制了 E2F 与 Rb 的结合,Rb 失活从而间接导致 P16 蛋白的过度表达,因此可将弥漫而高水平的 P16 蛋白表达视为持续性 HPV 感染的标志。而 Ki67 与以上两者的关系并未明确,尚无探讨。

综上所述,HPV、P16 和 Ki67 三者存在着相辅相成、互相促进宫颈恶变的作用,且三者存在不同特点,联合检测三种指标对判断宫颈疾病的恶性程度、转移情况等具有显著优势,可推荐。

参考文献

[1] 潘燕珍,丁红梅. 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[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(20):2942-2944.

[2] 李素红,刘玲玲,连婧,等. 凋亡异常与人乳头瘤病毒感染在宫颈癌发生中的意义[J]. 中国药物与临床,2012,12(1):8-11.

[3] 覃碧芳,金燕,邱佩嫦,等. 不同分级宫颈上皮内瘤变组织中 HPV 基因检测及 P16、Ki-67 表达[J]. 白求恩医学杂志,2015,13(2):173-174.

[4] 林文毅,陈颖,王世凤,等. p16、p53、Ki-67 在宫颈上皮内病变诊断中的临床病理意义[J]. 中国计划生育和妇产科,2015,7(8):71-73.

[5] 贾艳艳,陈志龙,史惠蓉. 人乳头瘤病毒 L1 蛋白在宫颈病变中的表达及其意义[J]. 中国计划生育和妇产科,2014,6(6):36-39.

[6] 张燕,王一,王建华,等. p16、Ki-67 在 440 例宫颈病变中的表达及其病理诊断价值[J]. 诊断病理学杂志,2013,20(3):171-175.

[7] Grabowska AK, Riemer AB. The invisible enemy: how human papillomaviruses avoid recognition and clearance by the host immune system[J]. Open Virol J, 2012, 6(28):249-256.

[8] 李焱,岳瑞芹,王红英. STMN1 联合 P16、Ki67 蛋白检测对宫颈高级别上皮内瘤变的诊断价值[J]. 中国妇产科临床杂志,2015,16(5):399-401.

[9] 赵义,杨义军,涂海健. 宫颈病变中 PCNA、Ki-67 的表达及其与高危型 HPV 感染的相关性分析[J]. 海南医学院学报,2015,21(4):523-526.

[10] 周静. 病灶组织 HPV、PCNA 和 nm23 检测在宫颈癌分型中的价值[J]. 中国老年学杂志,2013,33(7):1545-1546.

[11] 刘嵘,李天,何泓,等. 宫颈癌新辅助化疗前后 uPA、VEGF 和 Ki-67 的表达及其临床意义[J]. 华中科技大学学报(医学版),2013,42(6):712-714.

[12] 董永学. 宫颈病变 PCNA、Ki-67 表达检测及其与 HPV 感染相关性研究[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(21):3083-3085.