

论著·临床研究

联合检测 P16 和 Ki-67 在宫颈鳞状上皮内病变分级诊断中的临床病理意义^{*}

姚 瑶,印永祥,赵 华[△]

(南京医科大学附属无锡妇幼保健院病理科,江苏无锡 214002)

摘要:目的 探讨 P16 和 Ki-67 在不同级别宫颈鳞状上皮内病变中的表达情况及临床病理意义。方法 收集 2016 年 1 月至 2017 年 11 月该院收治的 214 例患者的宫颈活检或 LEEP 术锥切标本作为研究对象,其中慢性宫颈炎 42 例,低级别鳞状上皮内病变(LSIL)103 例,高级别鳞状上皮内病变(HSIL)69 例。采用 SP 法分别进行 P16、Ki-67 的免疫组织化学染色,检测其在不同宫颈组织中的表达情况。**结果** P16 和 Ki-67 在慢性宫颈炎、LSIL、HSIL 患者中阳性表达率均逐渐升高,两两比较,差异均有统计学意义($\chi^2=23.11, 54.15, 36.82, 30.49, P<0.05$);P16 和 Ki-67 阳性表达与宫颈上皮内病变级别呈正相关($r=0.79, 0.87, P<0.05$);P16 和 Ki-67 在慢性宫颈炎及各级别宫颈上皮内病变中的阳性表达具有关联性($\chi^2=27.56, P<0.05$)。**结论** 联合检测 P16 和 Ki-67 在宫颈上皮内病变的分级诊断、临床评估及治疗中具有重要意义。

关键词:基因,p16; Ki-67 抗原; 宫颈上皮内瘤样病变; 宫颈肿瘤; 免疫组织化学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.23.016 **中图法分类号:**R737.33;R446.6

文章编号:1673-4130(2018)23-2908-04

文献标识码:A

Clinical and pathological significance of combined detection of P16 and Ki-67 in grading diagnosis of cervical squamous intraepithelial lesions^{*}

YAO Yao, YIN Yongxiang, ZHAO Hua[△]

(Department of Pathology, Wuxi Maternal and Child Health Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi, Jiangsu 214002, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of P16 and Ki-67 in cervical squamous intraepithelial lesions of different grades and their clinicopathological significance. **Methods** From January 2016 to November 2017, 214 cases of cervical biopsy or LEEP conization specimens were collected, including 42 cases of chronic cervicitis, 103 cases of low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) and 69 cases of high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL). The expression of P16 and Ki-67 in different cervical tissues was detected by SP immunohistochemical staining. **Results** The positive rates of P16 and Ki-67 in patients with chronic cervicitis, LSIL and HSIL increased gradually, and there were significant differences between the two groups ($\chi^2=23.11, 54.15, 36.82, 30.49, P<0.05$). The positive expressions of P16 and Ki-67 were positively correlated with the grade of cervical intraepithelial lesions ($r=0.79, 0.87, P<0.05$). The positive expressions of P16 and Ki-67 were positively correlated with the grade of cervical intraepithelial lesions ($r=0.79, 0.87, P<0.05$). Positive expression was correlated with cervical intraepithelial lesions at all levels ($\chi^2=27.56, P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of P16 and Ki-67 is of great significance in the grading diagnosis, clinical evaluation and treatment of cervical intraepithelial lesions.

Key words: genes, p16; Ki-67 antigen; cervical intraepithelial neoplasia; uterine cervical neoplasms; immunohistochemistry

宫颈癌是女性第二大常见恶性肿瘤,严重危害女性健康。目前,有研究证实,宫颈癌的发生是从宫颈

上皮病变开始的一个渐进性过程,该过程可能持续几年甚至几十年,但并非所有宫颈上皮病变均会发展为

* 基金项目:无锡市卫生健康委员会妇幼健康成果技术推广项目(FYTG2016-2);无锡市卫生健康委员会科技成果和适宜技术推广项目(T201645);无锡市卫生健康委员会“科教强卫工程”资助项目(ZDRCPY006)。

作者简介:姚瑶,女,医师,主要从事妇科肿瘤方面的研究。 △ 通信作者,E-mail:18921116888@189.cn。

本文引用格式:姚瑶,印永祥,赵华.联合检测 P16 和 Ki-67 在宫颈鳞状上皮内病变分级诊断中的临床病理意义[J].国际检验医学杂志,2018,39(23):2908-2910.

癌,部分病例可能消退或逆转^[1-2]。因此,宫颈癌前病变早期诊断的准确性显得尤为关键。2012 年,宫颈上皮内瘤变(CIN)3 级分类法被宫颈低级别鳞状上皮内病变(LSIL) 和高级别鳞状上皮内病变(HSIL) 替换^[3]。HSIL 包含了 CIN2 和 CIN3,被认为是宫颈癌的癌前病变。宫颈上皮内病变的诊断主要依靠组织学,但存在一致性及重复性差等问题。近年来,多项研究表明,生物标志物 P16 和 Ki-67 的表达及变化在宫颈上皮内病变的发生、发展及预后中具有重要作用。本研究通过对不同级别宫颈上皮内病变组织进行 P16 和 Ki-67 免疫组织化学(免疫组化)联合检测,分析二者的表达及与病变级别的关系,旨在为提高病理诊断的准确性提供客观依据。

1 资料与方法

1.1 标本收集 收集 2016 年 1 月至 2017 年 11 月本院收治的 214 例患者的宫颈活检或 LEEP 术锥切标本作为研究对象,其中慢性宫颈炎 42 例,LSIL 103 例,HSIL 69 例。患者年龄 22~69 岁,所有患者在术前均未经治疗。

1.2 方法 将标本常规蜡块切片,免疫组织化学染色应用 SP 法,DAB 显色,使用光镜进行检查。检测试剂(单克隆抗体 P16、多克隆抗体 Ki-67)均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。实验步骤及操作过程均遵守相关规范,具体操作步骤严格按试剂盒说明书进行。结果判定标准:P16 阳性表达定位于细胞核

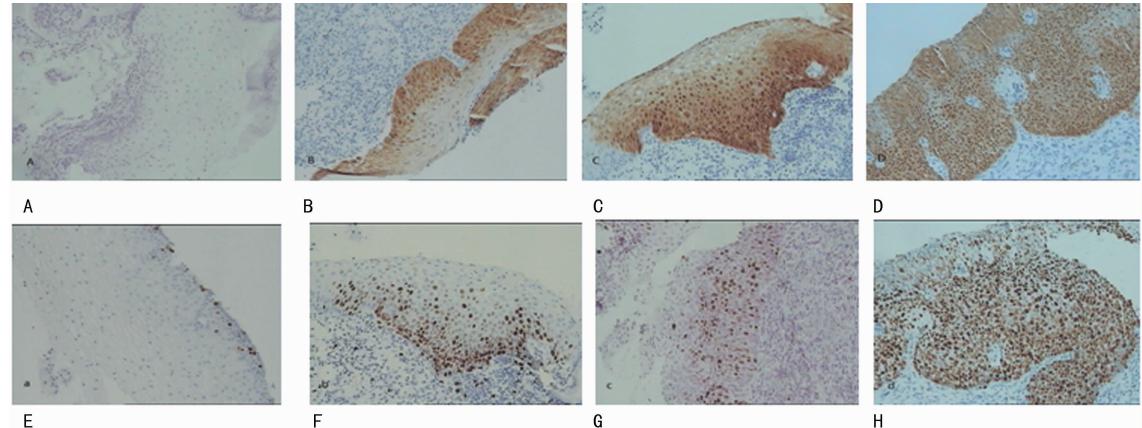
或细胞核伴细胞质,显微镜下见:(-) 为全层细胞无阳性表达;(+) 为阳性细胞分布于上皮基底层或小灶区表达;(++) 为阳性细胞片状或灶性分布,定位于宫颈鳞状上皮下的 1/3~2/3;(+++) 为阳性细胞片状、弥散性分布,定位于宫颈鳞状上皮下的 2/3 乃至全层。Ki-67 阳性表达定位于细胞核,显微镜下见:(-) 为阳性表达局限于上皮的基底或基底旁层,(+) 为阳性细胞的数目<25%;(++) 为阳性细胞的数目为 25%~50%;(+++) 为阳性细胞的数目>50%。

1.3 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Spearman 等级相关进行相关性分析,采用配对四格表进行关联性分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 P16 和 Ki-67 在慢性宫颈炎及各级别宫颈上皮内病变中的表达比较 P16 和 Ki-67 随宫颈上皮内病变级别升高表达率逐渐上升,在慢性宫颈炎及各级别宫颈上皮内病变中的阳性表达比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),两两比较,差异有统计学意义($\chi^2=23.11, 54.15, 36.82, 30.49, P<0.05$)。见图 1,表 1、2。

2.2 P16 和 Ki-67 的表达与宫颈病变级别的相关性分析 P16 和 Ki-67 阳性表达均与宫颈病变级别呈正相关($r=0.79, 0.87, P<0.05$)。



注:A 为 P16 在慢性宫颈炎中阴性表达(-);B 为 P16 在 LSIL 中阳性表达(+);C 为 P16 在 LSIL 中阳性表达(++) ;D 为 P16 在 HSIL 中阳性表达(+++);E 为 Ki-67 在慢性宫颈炎中阴性表达(-);F 为 Ki-67 在 LSIL 中阳性表达(+);G 为 Ki-67 在 LSIL 中阳性表达(++) ;H 为 Ki-67 在 HSIL 中阳性表达(+++)

图 1 P16 和 Ki-67 在慢性宫颈炎及各级别宫颈上皮内病变中的表达比较(SP, 200×)

表 1 P16 和 Ki-67 在慢性宫颈炎及各级别宫颈上皮内病变中的表达比较(n)

类型	n	P16 阳性				Ki-67 阳性			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
慢性宫颈炎	42	40	2	0	0	38	4	0	0
LSIL	103	55	43	4	1	36	46	21	0
HSIL	69	0	8	16	45	0	0	9	60

表2 P16和Ki-67在慢性宫颈炎及各级别宫颈上皮内病变中阳性率比较

类型	n	P16				Ki-67			
		阳性(n)	阳性率(%)	χ^2	P	阳性(n)	阳性率(%)	χ^2	P
慢性宫颈炎	42	2	4.76	23.11	<0.05	4	9.52	36.82	<0.05
LSIL	103	48	46.60	54.15	<0.05	67	65.05	30.49	<0.05
HSIL	69	69	100.00			69	100		

2.3 P16 和 Ki-67 在慢性宫颈炎及各级别宫颈上皮内病变中表达的关联性 在慢性宫颈炎及各级别宫颈上皮内病变中 P16 与 Ki-67 的阳性表达具有相关性 ($\chi^2=27.56, P<0.05$)。见表 3。

表3 P16和Ki-67在慢性宫颈炎及各级别宫颈上皮内病变中的表达的关联性(n)

P16	Ki-67		合计	χ^2	P
	阳性	阴性			
阳性	110	20	130	27.56	<0.05
阴性	29	55	84		
合计	139	75	214		

3 讨论

宫颈上皮内病变是宫颈癌的前期改变。不同级别宫颈上皮内病变患者预后及转归不尽相同,有研究表明,大部分 LSIL 在合理治疗或消除刺激因素后将消退;而 HSIL 多呈持续性、进行性发展^[4]。由于对不同级别宫颈上皮内病变患者实施的治疗、干预方法不同,要求病理医生对不同患者的标本提供准确的病理分级诊断,使临床治疗更明确,有效降低宫颈癌发病率。但有资料显示,不同的病理医生对同一病例的诊断一致性较差^[5],因此,近年来,有专家建议,采用生化标志物来辅助诊断。

P16 基因是参与细胞周期调控的抑癌基因,其编码产物为抑制蛋白 P16INK4 蛋白(简称 P16)。当内外致癌因素(如 HPV 病毒持续感染)作用于宫颈上皮细胞时 P16 基因失活,导致细胞增殖失调,产生异型变化,最终发展为肿瘤细胞^[6]。

以往有研究表明,P16 在 HSIL 中的表达显著高于 LSIL^[7-8]。本研究结果显示,P16 阳性表达情况在宫颈上皮内病变中随病变级别升高而上升,与相关文献的结果一致^[8-9]。还有研究表明,在 P16 表达呈阴性的 LSIL 中有较高的病情消退倾向,而 P16 表达呈阳性的 LSIL 则更倾向于发展成为 HSIL^[10]。因此,检测 P16 表达情况,不但可使宫颈上皮内病变的诊断准确性大幅提高,对区分 LSIL 和 HSIL 具有重要作用,还可为宫颈癌前病变的早期诊断和评估进展提供准确、客观的依据,具有重要的临床病理意义。

Ki-67 是在增殖期细胞中发现的一种核抗原,该抗原参与细胞周期调控,与细胞增殖密切相关,被广泛认为是能准确、可靠反映肿瘤细胞增殖能力的客观标志物^[11-12]。本研究结果显示,Ki-67 阳性表达情况

在慢性宫颈炎及宫颈上皮内病变中差异显著,且阳性程度与宫颈上皮内病变级别呈正相关,提示宫颈上皮内病变的进展过程是细胞增殖强度逐渐加大的过程,该现象在 HSIL 中表现更加明显。杨其昌等^[13]和丁莉莉等^[14]的研究结果与本研究结果一致,提示在宫颈上皮内病变发展过程中 Ki-67 阳性表达程度与宫颈上皮内病变严重程度相关,因此,Ki-67 可作为指导宫颈癌前病变早期诊治的指标。

在宫颈上皮内病变的病理诊断中 P16 和 Ki-67 的免疫组织化学染色均具有辅助分级诊断意义,但由于 Ki-67 广泛存在于增殖细胞中,许多慢性宫颈炎和 LSIL 组织中的基底与腺体亦可见 Ki-67 的表达,因此,易产生误诊^[15]。单独使用 P16 免疫组织化学染色诊断 HSIL 具有较大优势,但该标志物对 LSIL 的灵敏度和特异度较差。本研究结果显示,P16 和 Ki-67 阳性表达在宫颈上皮内病变中具有相关性,提示在宫颈上皮内病变及宫颈癌的发生、发展过程中,此 2 种生物标志物可能起到了一定的协同作用。因此,联合检测 P16 和 Ki-67 可作为宫颈上皮内病变分级诊断的辅助方法,能更好地评估宫颈上皮内病变的发展、转归和预后。

4 结论

宫颈上皮内病变是多基因、多因素共同作用的结果,准确、客观的病理诊断对患者进一步治疗和预后评价具有重大影响。近年来的研究以及本研究结果显示,联合检测 P16 和 Ki-67 提高了宫颈上皮内病变分级诊断的一致性、准确性和客观性,有助于达到对患者治疗方案的个体化,减少过度治疗,改善其预后。

参考文献

- [1] 叶洪楠,游珂,郭艳利,等. P16~(INK4a)及 Ki-67 免疫细胞化学检测对 ASC-US 中高级别病变检出的意义[J]. 肿瘤预防与治疗, 2014, 27(1): 6-11.
- [2] PAQUETTE C, MILLS A M, STOLER M H. Predictive value of cytokeratin 7 immunohistochemistry in cervical low-grade squamous intraepithelial lesion as a marker for risk of progression to a high-grade lesion[J]. Am J Surg Pathol, 2016, 40(2): 236-243.
- [3] WAXMAN A G, CHELMOW D, DARRAGH T M, et al. Revised terminology for cervical histopathology and its implications for management of high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix [J]. Obstet Gynecol, 2012, 120(6): 1465-1471. (下转第 2915 页)

传播的病原微生物感染,避免接触不利的物理、化学物质,加强优生优育知识的宣传教育,提高产前筛查和诊断技术,尽可能地减少染色体非整倍体疾病患儿的出生,是预防胎儿染色体非整倍体疾病的重要措施。

参考文献

- [1] 吴丹,钱云柯,吴秀娟,等.唐氏综合征影响因素的病例对照研究[J].中国儿童保健杂志,2015,23(1):61-63.
- [2] 吴怡,程蔚蔚.出生缺陷概况及产前筛查[J].中国计划生育和妇产科,2016,8(1):29-33.
- [3] 郑芳秀,周琴,陈英苹,等.高通量基因测序在胎儿性染色体非整倍体产前检测中的应用价值[J].南京医科大学学报(自然科学版),2015,35(12):1796-1798.
- [4] DERBANT A U, YANIK F F, INEGL GÜMÜ L, et al. Impact of thrombophilias on first and second trimester maternal serum markers for aneuploidy[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2012, 25(11):2177-2181.
- [5] 郭可欣,杨丽,邓涛,等.NIPT 用于胎儿染色体微缺失/微重复检测的进展[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(10):10-12.
- [6] 陆蓉,许建娟.孕妇外周血游离胎儿 DNA 诊断胎儿染色体异常的研究进展[J].中国优生与遗传杂志,2013,21(8):1-3.
- [7] COPPEDÈ F. Risk factors for Down syndrome[J]. Arch Toxicol, 2016, 90(12):2917-2929.
- [8] KARMILOFF-SMITH A, AL-JANABI T, D'SOUZA H, et al. The importance of understanding individual differ-
- [9] ROSARIO R, FILIS P, TESSYMAN V, et al. FMRP Associates with Cytoplasmic Granules at the Onset of Meiosis in the Human Oocyte[J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0163987.
- [10] SHI W L, LIU Z Z, WANG H D, et al. Integrated miRNA and mRNA expression profiling in fetal hippocampus with Down syndrome[J]. J Biomed Sci, 2016, 23(1):48.
- [11] ROWSEY R, KASHEVAROVA A, MURDOCH B, et al. Germline mosaicism does not explain the maternal age effect on trisomy[J]. Am J Med Genet A, 2013, 161A(10):2495-2503.
- [12] SIMCHEN M J, TOI A, BONA M, et al. Fetal hepatic calcifications: prenatal diagnosis and outcome[J]. Am J Obstet Gynecol, 2002, 187(6):1617-1622.
- [13] 周凤荣,陈志欣,张蓬,等.山东省围产儿出生缺陷危险因素的病例对照研究[J].中国儿童保健杂志,2005,13(5):398-400.
- [14] ASKARI S G, KHATBASREH M, EHRAMPOUSH M H, et al. The relationship between environmental exposures and hormonal abnormalities in pregnant women: An epidemiological study in Yazd, Iran[J]. Women Birth, 2018, 31(3):e204-209.
- [15] 赵小平,余红,黄燕,等.唐氏综合征患儿出生率升高的影响因素分析[J].中国妇幼保健,2010,25(26):3785-3786.

(收稿日期:2018-05-18 修回日期:2018-08-25)

(上接第 2910 页)

- [4] 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.
- [5] DALLA PALMA P, GIORGI ROSSI P, COLLINA G, et al. The reproducibility of CIN diagnoses among different pathologists: data from histology reviews from a multi-center randomized study[J]. Am J Clin Pathol, 2009, 132(1):125-132.
- [6] TINACCI G, BIGGERI A, PELLEGRINI A, et al. The use of digital images to evaluate the interobserver agreement on cervical smear readings in Italian cervical cancer screening[J]. Cytopathology, 2011, 22(2):75-81.
- [7] WU J, LI X J, ZHU W, et al. Detection and pathological value of papillomavirus DNA and p16INK4a and p53 protein expression in cervical intraepithelial neoplasia[J]. Oncol Lett, 2014, 7(3):738-744.
- [8] 胡幸,符青云,何凯宁,周劲媛,等.P16 和 Ki-67 免疫组化检测在宫颈上皮内病变病理诊断中的应用[J].广东医科大学学报,2018,36(1):61-63.
- [9] JIN G, LANLAN Z, LI C, et al. Pregnancy outcome following loop electrosurgical excision procedure (LEEP) a systematic review and meta-analysis[J]. Arch Gynecol

Obstet, 2014, 289(1):85-99.

- [10] 徐本群,马娟,周琼,等.P16 与 Ki67 的表达在子宫颈上皮内瘤变组织学诊断与分级中的临床意义[J].安徽医药,2013,17(9):1540-1542.
- [11] SARI ASLANI F, SAFAEI A, POURJABALI M, et al. Evaluation of Ki67, p16 and CK17 markers in differentiating cervical intraepithelial neoplasia and benign lesions [J]. Iran J Med Sci, 2013, 38(1):15-21.
- [12] 雷蕾,叶斌,王西川.p16、p53 和 Ki67 在宫颈癌中的表达及其临床意义[J].实用医院临床杂志,2014,11(4):123-125.
- [13] 杨其昌,朱燕,刘宏斌,等.宫颈上皮内瘤变 p16(INK4a) 和 p53 及 Ki-67 表达及其诊断价值探讨[J].中华肿瘤防治杂志,2011,18(16):1255-1258.
- [14] 丁莉莉,牛海艳,杨丞,等.P16 和 Ki-67 在宫颈鳞状上皮内病变中的表达[J].重庆医学,2018,47(7):969-971.
- [15] VAN BAARS R, GRIFFIN H, WU Z, et al. Investigating diagnostic problems of CIN1 and CIN2 associated with high-risk HPV by combining the novel molecular biomarker PanHPVE4 with P16INK4a[J]. Am J Surg Pathol, 2015, 39(11):1518-1528.

(收稿日期:2018-04-30 修回日期:2018-08-19)