

[文章编号] 1000-2200(2009)03-0220-02

· 临床医学 ·

p16 在宫颈上皮内瘤变、宫颈癌的表达及其临床意义

万俊¹, 余宁珠², 崔满华²

[摘要]目的:探讨 p16 在宫颈癌发生发展过程中的表达及其临床意义。方法:以 10 例正常宫颈组织为对照,采用免疫组化化学法检测 46 例宫颈上皮内瘤变,41 例宫颈癌组织中 p16 的表达水平。结果:宫颈上皮内瘤变组织中 p16 呈中高表达,与对照组无统计学意义($P > 0.05$);p16 在宫颈癌组织中呈低表达,与对照组均有统计学意义($P < 0.05$)。在宫颈癌组织中 p16 的表达与淋巴结转移和细胞分化程度有关($P < 0.05$)。结论:p16 表达异常参与宫颈癌的发生发展;p16 的缺失可能与宫颈癌的恶性生物学行为有关;p16 的检测可作为评价宫颈癌恶性程度及判断预后的重要指标。

[关键词] 宫颈肿瘤;宫颈上皮内瘤变;p16;细胞周期调控

[中国图书资料分类法分类号] R 737.33 **[文献标识码]** A

Expression of p16 in cervical intraepithelial neoplasia , cervical cancer and its significance

WAN Jun¹, YU Ning-zhu², CUI Man-hua²

(1. Department of Pediatrics, Nanjing Maternal & Child Health Hospital of NJMU, Nanjing Jiangsu 210004;

2. Department of Obstetrics and Gynecology, Second Hospital, Jilin University, Changchun Jilin 130041, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of p16 in the carcinogenesis of cervical cancer. **Methods:** The expression of p16 in the tissue of 46 cases of cervical intraepithelial neoplasia and 41 cases of uterine cervix cancer were examined by using immunohistochemical method SABC. Ten cases of normal tissues acted as control. **Results:** Expression of p16 in the tissue of cervical intraepithelial neoplasia was higher than that in the control ($P > 0.05$), and that low in the tissue of cervical cancer was lower than that in the control ($P < 0.05$). In the cervical cancer group, the expression of p16 was correlated to the histological grade, clinical stage and lymph node metastasis ($P < 0.05$). **Conclusions:** The results suggest that p16 may play an important role in the carcinogenesis of cervical cancers. The low expression of p16 is correlated to the malicious biological behaviors of cervical cancers. p16 may be used as an important maker to evaluate the malignancy degree and the prognosis of cervical cancer.

[Key words] cervical cancer; cervical intraepithelial neoplasia; p16; regulation of cell cycle

宫颈癌是全球妇女恶性肿瘤中仅次于乳腺癌的第二个最常见的恶性肿瘤,宫颈上皮内瘤变(CIN)是与宫颈浸润癌相关的一组癌前病变,其反映宫颈癌发生发展中的连续过程^[1]。近年研究认为,肿瘤是一类细胞周期性疾病^[2,3]。在细胞增殖周期中,最主要的调控点是G₁期与S期之间的调控点。因而,一旦通过这个点,细胞周期进程变得不可逆^[4]。此调控点受控于细胞周期蛋白(cyclins)和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子(CKIs)对细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)的正负调节作用^[5],即正常细胞对G₁→S期的调控同时需要cyclin D1的正调控和p16的负调控。p16的失活,可能引起细胞异常增殖和分化失控^[6,7],最终导致肿瘤的发生。

本研究采用免疫组化测定宫颈癌及CIN组

织中p16,旨在探讨宫颈癌变过程中p16的变化,为临床早期评估宫颈上皮内瘤变的恶变倾向,监测病情,判断预后提供可靠的依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源 取吉林大学第二医院妇产科2000年1月~2003年8月妇科手术切除,并经病理证实的标本,宫颈浸润癌41例(其中鳞癌32例,腺癌9例);CIN 1级11例,CIN 2级11例,CIN 3级24例。41例手术前均未做放疗、化疗。年龄28~65岁。临床分期依据国际妇产科联盟(FIGO)1995年制定的标准,本资料41例宫颈浸润癌的临床分期为I~III期(I期12例,II期19例,III期10例),其中有25例病理检查证实有不同程度的盆腔淋巴结转移。此外,选择正常宫颈组织12例作对照。

1.2 试剂及方法 取常规固定、包埋的组织块标本,以5 μm厚连续切片数张备用,分别用于HE染色和免疫组化染色。

试剂:鼠抗人p16单克隆抗体(MAB-0223),DAB显色试剂盒均由福州迈新公司生产,操作按说

[收稿日期] 2007-07-10

[作者单位] 1. 江苏省南京市妇幼保健院 妇科,210004;2. 吉林大学第二医院 妇产科,吉林 长春 130041

[作者简介] 万俊(1977-),女,硕士研究生,主治医师。

说明书进行,用已知阳性的肺癌组织标本做 p16 阳性对照, PBS 代替一抗做阴性对照。

1.3 结果判定 p16 胞核染色以棕黄色颗粒为阳性细胞。400 倍显微镜下每张载玻片计数 1 000 个细胞。依据染色阳性细胞所占细胞总数的百分数评分(A): <5% 为 0 分, 5% ~ 25% 为 1 分, 26% ~ 50% 为 2 分, >50% 为 3 分;按染色强度评分(B): 无色为 0 分, 弱染色为 1 分, 中等染色为 2 分, 强染色为 3 分;总分(A+B) ≥ 3 分为阳性表达, < 3 分为阴性表达^[8]。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验和秩和检验。

2 结果

2.1 不同组织中 p16 的表达比较 p16 定位于正常宫颈上皮细胞和阳性病例细胞核中, 基底层和基底旁层细胞中表达较弱, 但中间层和浅表层表达增强, 我们的观察与国外报道^[9]一致。p16 在正常组(见图 1)、CIN 组(见图 2)和子宫颈癌组(见图 3~6)的阳性表达率分别为 91.7%、54.3% 和 31.7%, 差异有统计学意义($P < 0.005$) (见表 1)。

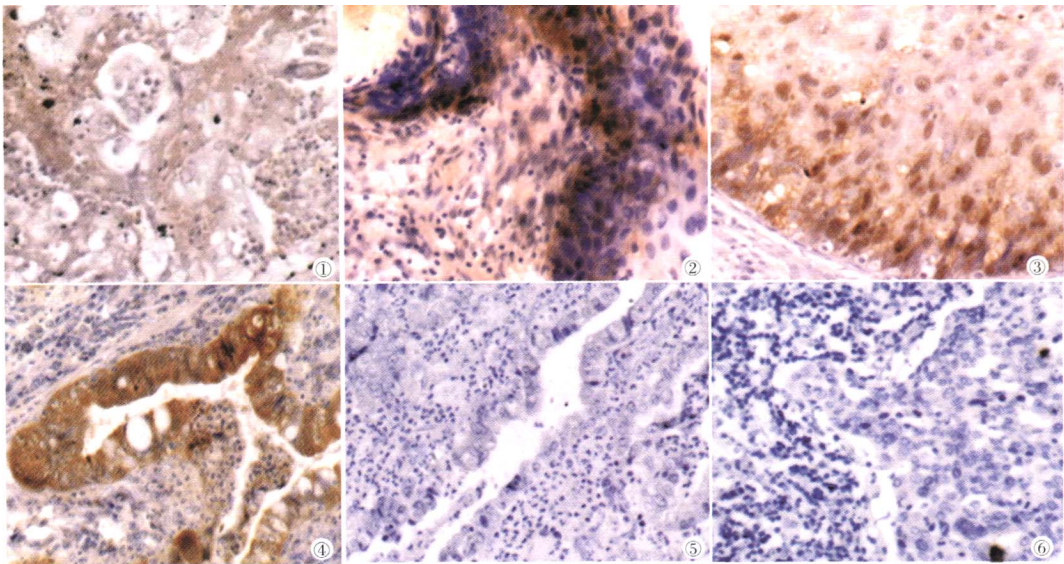


图 1 p16 在正常组织中的表达(SP ×400) 图 2 p16 在宫颈 CINⅢ中的表达(SP ×400) 图 3 p16 在宫颈原位癌中的表达(SP ×400) 图 4 p16 在子宫颈癌(中分化)中的表达(SP ×400) 图 5 p16 在宫颈腺癌(低分化)中的表达(SP ×400) 图 6 p16 在宫颈鳞癌(低分化)中的表达(SP ×400)

表 1 3 组 p16 正常宫颈病变组织中的表达比较(n)

分组	p16 表达			χ^2	P
	n	-	+ 阳性率(%)		
正常子宫颈	12	1	11 91.7	14.16	<0.005
CIN 组	46	21	25 54.3		
子宫颈癌	41	28	13 31.7		
合计	99	50	49 49.5		

2.2 p16 在 CIN 组织中的表达 p16 在组内的表达也随病变的进展阳性率逐渐降低, 分别为 72.7%, 54.5%, 45.8%, 但无统计学意义($P > 0.05$) (见表 2)。

2.3 p16 的表达与子宫颈癌临床病理特征及临床分期的关系 在子宫颈癌组织中 p16 的表达与细胞分化程度有关, 高分化组表达阳性率高于低、中分化组($P < 0.05$); 与子宫颈癌是否存在淋巴结转移有关, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与子宫颈癌的临

床分期关系不大($P > 0.05$); 与子宫颈癌的病理分型无关, 差异无统计学意义($P > 0.05$) (见表 3)。

表 2 CIN 分级与 p16 的表达关系(n)

分组	p16 表达			χ^2	P
	n	-	+ 阳性率(%)		
CIN 1	11	3	8 72.7	2.20	>0.05
CIN 2	11	5	6 54.5		
CIN 3	24	13	11 45.8		
合计	46	21	25 54.3		

3 讨论

近年越来越多的研究表明, 细胞生长周期的失调在人类肿瘤的发生中起重要作用。抑癌基因 p16 是 1994 年美国 Kamb 等^[10]首次报道的一种新型抑癌基因。在细胞周期中 p16 既是固有的调节者, 又

表3 子宫颈癌临床病理参数与p16的表达关系(n)

临床病理参数	n	p16 表达		χ^2	P
		+	阳性率(%)		
病理分型					
鳞癌	32	10	31.3	0.08	>0.05
腺癌	9	3	3/9		
临床分期					
I 期	12	5	41.7	2.89 Δ	>0.05
II 期	19	7	36.8		
III 期	10	1	10.0		
淋巴结转移					
转移	25	4	16.0	5.56	<0.05
未转移	16	9	56.3		
细胞分化程度					
高分化	9	6	6/9	7.28 Δ	<0.05
中分化	17	5	29.4		
低分化	15	2	13.3		

Δ 示 H_c 值

是抑制肿瘤生长的关键成分,从而使细胞生长失控向癌变发展^[11]。有研究报道,p16 基因缺失与肿瘤的转移和病程进展有密切关系,它在不同类型肿瘤的发生发展中可能起着不同作用^[12]。

本研究中 CIN 组内,p16 的表达也随着 CIN 1→CIN 2→CIN 3 的演进,阳性率逐渐降低,CIN 1 组阳性率明显高于 CIN 3 组,但差异无统计学意义($P > 0.05$),可能与例数过少有关,或与实验中出现的假阳性率有关。后 3 组中阳性率之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。宫颈上皮内瘤样病变的转归问题一直是多年来临床十分关注的问题,通常 CIN 1 时,可出现好转和恢复,随着不典型程度的加重,则回复正常和保持不变者区分率降低,而发展为原位癌者则升高^[13]。本组数据也可以表明有这样的趋势,CIN 1 阳性率最高,而 CIN 2 及 CIN 3 较接近,说明在中、重度宫颈不典型增生组织中,p16 可能已经发生了一定数量上的失活或突变,但还没达到质变的程度,这还需要我们去收集大量样本作更进一步的研究。

本研究中正常宫颈组织中 p16 表达最强,子宫颈癌组织中有低表达,且显著低于 CIN 组和正常宫颈组织组($P < 0.05$)。在子宫颈癌组中低分化组 p16 表达显著低于高、中分化组,p16 在淋巴转移组中的表达明显低于无淋巴转移者($P < 0.05$)。说明 p16 低表达与子宫颈癌的发生有关,是肿瘤恶性侵袭的进展性标志,表明子宫颈癌中可能存在 p16 基因的缺失和突变,且在不同分化程度的肿瘤组织

中存在明显不同,可以推测 p16 基因在子宫颈癌组织中表现为失活,是子宫颈癌发生发展过程中较晚的分子事件。这可能提示临床医生可以把 p16 作为判断子宫颈癌预后的一个指标。另外,本资料中 p16 的阳性表达率与子宫颈癌的临床分期无关($P > 0.05$),但出现这样的结果可能和临床诊断有关,因为子宫颈癌的临床分期是以术前诊断为准,这样就存在着与实际分期不一致的可能。

[参 考 文 献]

- [1] 曹泽毅主编. 中华妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999:1755-1761.
- [2] Ganchevska PC, Sarafian VS. Cell cycle-molecular mechanisms and therapeutic perspectives in oncology [J]. Folia Med (Plovdiv), 2004, 46(1): 9-14.
- [3] Shiozawa T, Shiohara S, Kanai M, et al. Expression of the cell cycle regulator p27 (Kip1) in normal squamous epithelium, cervical intraepithelial neoplasia, and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Immunohistochemistry and functional aspects of p27 (Kip1) [J]. Cancer, 2001, 92(12): 3005-3011.
- [4] Michalides RJ. Cell cycle regulators: mechanisms and their role in aetiology, prognosis, and treatment of cancer [J]. J Clin Pathol, 1999, 52(8): 555-568.
- [5] Tsuda H, Hashiguchi Y, Nishimura S, et al. Relationship between HPV typing and abnormality of G₁ cell cycle regulators in cervical neoplasm [J]. Gynecol Oncol, 2003, 91(3): 476-485.
- [6] Volgareva G, Zavalishina L, Andreeva Y, et al. Protein p16 as a marker of dysplastic and neoplastic alterations in cervical epithelial cells [J]. BMC Cancer, 2004, 4: 58.
- [7] Weinberg RA. The retinoblastoma protein and cell cycle control [J]. Cell, 1995, 81(3): 323-330.
- [8] Cheung TH, Lo KW, Yu MM, et al. Aberrant expression of p21 (WAF1/CIP1) and p27^(KIP1) in cervical carcinoma [J]. Cancer Lett, 2001, 172(1): 93-98.
- [9] Trunk MJ, Dallenbach-Hellweg G, Ridder R, et al. Morphologic characteristics of p16^{INK4a}-positive cells in cervical cytology samples [J]. Acta Cytol, 2004, 48(6): 771-782.
- [10] Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types [J]. Science, 1994, 264(5157): 436-440.
- [11] Rotterová P, Nenutil R, Rotter L, et al. The detection of p16 protein in uterine cervix lesions [J]. Ceska Gynekol, 2005, 70(4): 295-298.
- [12] Parwani AV, Smith Sehdev AE, Kurman RJ, et al. Cervical adenoid basal tumors comprised of adenoid basal epithelioma associated with various types of invasive carcinoma: clinicopathologic features, human papillomavirus DNA detection, and p16 expression [J]. Hum Pathol, 2005, 36(1): 82-90.
- [13] 石一复主编. 宫颈疾病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 152-153.