

荧光原位杂交 hTERC 基因扩增检测在宫颈癌早期诊断中的应用

李就文, 陈木林, 陈昌达, 田学武, 林 洁, 梁 伍 (广东省东莞市常平医院 523573)

【摘要】 目的 探讨荧光原位杂交技术检测 hTERC 基因在子宫颈上皮内瘤变(CIN)和宫颈癌中的拷贝数扩增情况,了解其在宫颈癌早期诊断应用。**方法** 收集 2008 年 6 月至 2010 年 6 月在本医院就诊的 396 例宫颈脱落细胞,以生理盐水制片和液基细胞学(TCT)低渗法制片,应用荧光标记探针 GLP TERC/CSP 300 m,用荧光原位杂交(FISH)技术进行 hTERC 基因拷贝数的检测,并分析检测结果的临床效应性。**结果** 在 396 例临床标本中,正常宫颈细胞中表达率为 1.012%(阈值);宫颈癌组的阳性率为 93.65%(59/63)、CIN 总阳性率为 65.82%(104/158),宫颈癌组分别与正常组和炎性反应/CIN I 组 3.01%(4/133)相比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$);CIN II 组的阳性表达率为 60.24%(50/83),CIN III 组的阳性率为 72.0%(54/75),CIN II 组、CIN III 组分别与正常和炎性反应/CIN I 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$);CIN III 组、CIN III 组与宫颈癌组比较,差异也均有统计学意义($P < 0.01$);hTERC 基因在宫颈癌细胞株 hela 和正常骨髓淋巴细胞中基因扩增呈阳性。**结论** hTERC 基因参与宫颈上皮内瘤变和宫颈癌的发生发展,作为宫颈上皮内瘤变及宫颈癌的标志物,hTERC 的阳性表达率与宫颈细胞癌前病变具有严重程度相关。hTERC 基因的检测可作为提高宫颈癌早期诊断率的重要手段和癌前病变治疗的重要依据。

【关键词】 荧光原位杂交; hTERC 基因; 基因扩增; 宫颈癌

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.24.004

中图分类号:R730.45

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)24-2696-02

Application of amplification of hTERC gene detected by fluorescence in situ hybridization in early diagnosis of cervical cancer

LI Jiu-wen, CHEN Mu-lin, CHEN Chang-da, TIAN Xue-wu, LIN Jie, LIANG Wu. Changping Hospital, Dongguan, Guangdong 523573, China

【Abstract】 Objective To investigate the amplification of hTERC gene detected by fluorescence in situ hybridization technique in cervical intraepithelial neoplasia(CIN)and cervical cancer and to understand its application to early diagnosis of cervical cancer. **Methods** Cervical exfoliated cells in 396 cases in our hospital from June 2008 to June 2010 were collected, treated with normal saline and TCT. To use fluorogenic mark probe 300 of GLP TERC/CSP and fluorescence in situ hybridization(FISH)for detecting hTERC gene copies. The clinical effect of detection results was analyzed. **Results** In 396 clinical samples, the expressing rate was 1.012% in the normal cervical cells(threshold value). The positive rate of the cervical cancer group was 93.65%(59/63), the CIN total positive rate was 65.82%(104/158), the difference had statistical significance compared with normal and inflammation / CIN I group(3.01%(4/133)respectively($P < 0.01$). The positive expression rate of group CIN II was 60.24%(50/83), the positive rate of CIN III was 72.0%(54/75); comparing CIN II and CIN III groups with cervical cancer group, the difference also had statistics significance($P < 0.01$). The amplification of hTERC gene showed positive in cervical cancer cell lines hela and normal bone marrow lymphocytes. **Conclusion** HTERC gene participates in the occurrence and development of CIN and cervical cancer, as their marker, the positive expression rate of hTERC is related with the degree of precancerous of cervical cells. The detection of hTERC gene may be as the important measure to increase the early diagnostic rate of cervical cancer and provide the important basis for treating precancerous.

【Key words】 fluorescence in situ hybridization; hTERC; gene amplification; cervical cancer

近年来随着 FISH 技术所应用的探针种类的不断增多,特别是全 Cosmid 探针及染色体原位抑制杂交技术的出现,使 FISH 技术不仅在细胞遗传学方面,而且还广泛应用于肿瘤学研究,如基因诊断、基因定位等。FISH 技术的更大优点是可以在间期细胞核上观察到 DNA 扩增的直接证据,而且间期细胞核所显示出的扩增 DNA 荧光信号其数量多少及荧光强度常与 DNA 扩增的水平有关。为了探讨荧光原位杂交技术检测 hTERC 基因在子宫颈上皮内瘤变(CIN)和宫颈癌中的拷贝

数扩增情况,本研究针对 396 例脱落细胞进行荧光原位杂交 hTERC 基因扩增检测,并分析其临床效应性,取得良好的效果,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 396 例研究对象均来自本院 2008 年 6 月至 2010 年 6 月妇科门诊和住院的患者,经病理诊断确诊,其中健康人 42 例,炎性反应/CIN I 133 例、CIN II 83 例、CIN III 75 例,宫颈癌 63 例。

1.2 方法 将收集到的脱落细胞标本以生理盐水制片和 TCT 低渗法制片,应用荧光标记探针 GLP TERC/CSP 300 m,用荧光原位杂交技术进行 hTERC 基因拷贝数的检测,分别用 3 号染色体着丝粒为对照,以及 1 株宫颈癌细胞和正常骨髓淋巴细胞为阳性对照,正常宫颈细胞为阴性对照。并分析检测结果的临床效应性。

1.3 统计学处理 计数资料的比较,采用 χ^2 检验进行分析,采用软件 SPSS14.0 进行统计。

2 结 果

在 396 例临床标本中,正常宫颈细胞中表达率为 1.012% (阈值);宫颈癌组的阳性率为 93.65% (59/63)、CIN II 组的阳性表达率为 60.24% (50/83),CIN III 组的阳性率为 72.0% (54/75),炎性反应/CIN I 组为 3.01% (4/133),CIN 总阳性率为 65.82% (104/158)。CIN II 组与正常细胞组比较, $\chi^2 = 42.17, P < 0.01$; CIN II 组与炎性反应/ CIN I 组比较, $\chi^2 = 89.28, P < 0.01$; CIN III 组与正常细胞组比较, $\chi^2 = 56.16, P < 0.01$; CIN III 组与炎性反应/ CIN I 组比较, $\chi^2 = 113.52, P < 0.01$; CIN II 组与 CIN III 组比较, $\chi^2 = 2.42, P > 0.05$ 。癌细胞组与正常细胞组比较, $\chi^2 = 89.78, P < 0.01$; 癌细胞组与炎性反应/ CIN I 组比较, $\chi^2 = 164.64, P < 0.01$; 癌细胞组与 CIN II 组比较, $\chi^2 = 21.13, P < 0.01$; 癌细胞组与 CIN III 组比较, $\chi^2 = 10.82, P < 0.01$, 详见表 1。hTERC 基因在宫颈癌细胞株 hela 和正常骨髓淋巴细胞中基因扩增呈阳性。

表 1 396 例宫颈脱落细胞荧光原位杂交 hTERC 基因扩增检测结果的比较

组别	n	hTERC 基因扩增表达	
		阳性	%
正常细胞组	42	0	0.00
炎性反应/ CIN I 组	133	4	3.01
CIN II 组	83	50	60.24
CIN III 组	75	54	72.00
癌细胞组	63	59	93.65

3 讨 论

随着分子生物学的发展,人们运用 FISH 技术检测宫颈脱落细胞中 3 号染色体长臂 26.3 位点端粒酶基因的扩增,发现它与宫颈病变有着密切的关系^[1]。DNA 扩增通常表现为异常的显带区域 (ABRS) 或异染质区 (HSRS) 以及无着丝微小体 (DM), 这些基因扩增的细胞遗传学表现在许多恶性肿瘤中。搞清楚肿瘤细胞中 DNA 链 (基因) 的扩增, 有助于了解肿瘤恶性增生过程。在肿瘤细胞中某些肿瘤基因 (oncogene) 的扩增, 可作为预测肿瘤进展及预后的临床指征。如 FISH 技术能有效地在染色体上定位扩增的特定 DNA, 特别是当细胞遗传学发现在 HSRS 或 ABRS 来源及位置, 推测可能扩增的肿瘤基因, 从而有目的检测某些基因, 并能很快得到直接清晰的基因扩增的信息。Cherif 等在结肠腺癌细胞中, 采用 FISH 技术发现 C-myc 的扩增, 而且 C-myc 扩增链是重排在 19 号染色体的长臂上。染色体上策细带的丢失, 普通显带不易发现, 用特

定的基因探针检测时, 在正常应该有荧光信号的部位如不出现信号, 表示有染色体的丢失。用 Ankyrin 基因作试验, 检测遗传性球形红细胞增多症患者的染色体和间期细胞, 发现有这个基因的缺失。有学者用 FISH 技术在 37 例 B 细胞淋巴瘤中发现 21 例 (56.8%) 存在 6q23-24 的缺失, 故认为这一改变对淋巴瘤诊断有实际应用价值。研究发现, 宫颈细胞由非典型性发育异常向宫颈癌转变的过程中几乎都伴有 3 号染色体长臂扩增。有学者采用 FISH 技术检测液基细胞学样本, 发现 3q26.3 扩增比例在宫颈高度病变与鳞癌中占较高百分率, 而在正常宫颈与非典型鳞状上皮细胞中不出现显著扩增^[1-3]。采用荧光标记的探针, 与被检测样本中的 DNA 杂交后, 在荧光显微镜下检测荧光信号而得出结果。因此, 对 hTERC 基因扩增的检测有助于宫颈癌的筛查及早期诊断, 而检测基因扩增的标准方法即为 FISH^[4-6]。

本研究显示, 在 396 例临床标本中, 正常宫颈细胞中表达率为 1.012% (阈值); 宫颈癌组的阳性率为 93.65% (59/63)、CIN II 组的阳性表达率为 60.24% (50/83), CIN III 的阳性率为 72.0% (54/75), 炎性反应/ CIN I 组为 3.01% (4/133), CIN 总阳性率为 65.82% (104/158)。由统计数据中可以知道, 宫颈癌细胞 hTERC 基因扩增表达较高, hTERC 基因参与宫颈上皮内瘤变和宫颈癌的发生发展。作为宫颈上皮内瘤变及宫颈癌的标志物, hTERC 的阳性表达率与宫颈细胞癌前病变具有严重程度相关。因此, hTERC 基因的检测可作为提高宫颈癌早期诊断率的重要手段和癌前病变治疗的重要依据。

参考文献

[1] Heselmeyer HK, Sommerfeld K, White NM, et al. Genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in pap smears predicts the development of cervical cancer[J]. Am J Pathol, 2005, 166: 1229-1238.

[2] Garaway NP, Khanna A, Dawlett M, et al. Gain of the 3q26 region in cervicovaginal and squamous cell carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 2008, 110: 37-42.

[3] Andersson S, Wallin KL, Hellstrom AC, et al. Frequent gain of the human telomerase gene TERC at 3q26 in cervical adenocarcinoma[J]. Br J Cancer, 2006, 95 (3): 331-338.

[4] 李静然, 魏丽惠, 刘宁, 等. 应用双色间期 FISH 技术中宫颈脱落细胞取材及制片方法的探讨[J]. 中国妇产科临床杂志, 2007, 8(6): 435-438.

[5] 仇丽红, 史宏灿, 钱建军, 等. 荧光原位杂交和基因组半定量法检测乳腺癌组织中 c-erbB-2 基因扩增[J]. 实用临床医药杂志, 2007, 11(6): 27-31.

[6] 杨京晶, 梁梅英, 魏丽惠, 等. FISH 技术在先天畸形胎儿基因诊断中的应用探讨[J]. 中国妇产科临床杂志, 2008, 9(2): 128-130.