

惠州龙门地区妇女宫颈病变中 p16INK4a 蛋白与 KGFR 的表达及意义

王永良¹, 陈美才² (1. 广东省惠州市龙门县人民医院 516800; 2. 广州金域医学检验中心有限公司 510330)

【摘要】 目的 探讨 p16INK4a 蛋白、角质细胞生长因子受体(KGFR)在惠州龙门地区妇女宫颈病变中的表达及意义。**方法** 选取 2013 年 6 月至 2014 年 6 月于惠州市龙门人民医院就诊的 180 例妇女,按照病例诊断结果将所有研究对象分为宫颈鳞癌组(40 例),宫颈上皮内瘤变(CIN)Ⅱ/Ⅲ组(45 例),CIN I 组(48 例),健康及慢性炎症组(47 例)。采用免疫组织化学链霉素抗生物素蛋白过氧化酶连结(SP)法对 p16INK4a 蛋白及 KGFR 的表达进行检测,并比较分析不同病理分期的表达差异。**结果** 宫颈鳞癌组、CIN Ⅱ/Ⅲ组、CIN I 组、健康及慢性炎症组的 p16INK4a 蛋白表达阳性率分别为 90.0%、82.2%、29.2%、0.0%,KGFR 表达阳性率分别为 87.5%、84.4%、52.1%、42.6%。p16INK4a 蛋白与 KGFR 在宫颈组织中的表达随着病理分期的上升而增加,组间 p16INK4a 蛋白及 KGFR 表达阳性率比较差异均有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 惠州龙门地区妇女宫颈病变中 p16INK4a 蛋白、KGFR 均有不同程度的表达,且与宫颈病变进展密切相关。

【关键词】 宫颈病变; p16INK4a; 角质细胞生长因子受体

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.06.044 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)06-0825-02

宫颈癌是目前第 2 高发的女性肿瘤,其发病率仅次于乳腺癌,已成为中青年妇女的重要死因,据统计全世界每年约有 27 万人死于宫颈癌,其中发展中国家占 85%^[1]。宫颈癌的发展与多个抑癌基因的失活密切相关。其中 p16INK4a 基因位于 9p21,直接参与细胞从 G₁ 到 S 期的调节,如失去该调控作用,细胞将会去分化而形成肿瘤^[2]。而角质细胞生长因子受体(KGFR)则与上皮源性肿瘤的发展相关,目前已证实 KGFR 在各种上皮源性肿瘤中表达。p16INK4a、KGFR 在不同地区人群的表达各有差异,本研究主要探讨惠州龙门地区妇女宫颈病变中 p16INK4a、KGFR 的表达及意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 6 月至 2014 年 6 月于该院妇产科就诊的妇女 180 例,其中宫颈鳞癌患者 40 例(宫颈鳞癌组),平均年龄(48.32±8.22)岁,平均身高(158.12±4.26)cm,平均体质量(48.13±6.74)kg,平均体质量指数(BMI)(21.64±3.24)kg/m²;宫颈上皮内瘤样变(CIN)Ⅱ/Ⅲ患者 45 例(CIN Ⅱ/Ⅲ组),平均年龄(47.25±8.72)岁,平均身高(159.54±4.47)cm,平均体质量(50.25±5.59)kg,平均 BMI(22.61±3.42)kg/m²;CIN I 患者 48 例(CIN I 组),平均年龄(49.72±7.45)岁,平均身高(158.74±4.79)cm,平均体质量(51.80±5.56)kg,平均 BMI(23.61±7.67)kg/m²;健康及慢性炎症患者 47 例(健康及慢性炎症组),平均年龄(48.52±6.62)岁,平均身高(159.82±5.15)cm,平均体质量(50.26±7.87)kg,平均 BMI(26.24±7.88)kg/m²。所有研究对象的病理诊断均由 2 位病理专家进行复核,且均未经过任何化疗治疗。各组年龄、身高、体质量和 BMI 等一般资料比较差异均无统计学意义

($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测 采用免疫组织化学链霉素抗生物素蛋白过氧化酶连结(SP)法对 p16INK4a、KGFR 蛋白进行检测。切片厚度为 2 μm,60 ℃ 恒温过夜后脱蜡,乙醇梯度脱水后分别进行:蒸馏水洗片,抗原修复,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗,过氧化氢阻断内源性过氧化物酶,PBS 再冲洗,加基因科技(上海)有限公司生产的鼠单抗人 p16INK4a (1:100),美国 Santa Cruz 公司产生的 KGFR(1:200),4 ℃ 过夜,PBS 冲洗,生物素化后加入二抗(羊抗鼠),PBS 冲洗,加入链霉素抗生物素-过氧化物酶,北京中杉金桥生物公司产生的二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木精复染,脱水透明,中性树胶封片。阴性对照以 PBS 液代替一抗,余下操作同上。

1.2.2 结果判读 光学显微镜下,每张切片取 5~10 个视野,每个视野计数 150 个细胞。KGFR 于细胞质或细胞膜表达,P16INK4a 蛋白于细胞质或细胞核表达。判断标准:以阳性细胞小于 5% 为阴性,5%~25% 为弱阳性,26%~50% 为中性,51%~75% 为强阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据处理与统计学分析;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

p16INK4a 蛋白与 KGFR 在宫颈组织中的表达随着病理分期的上升而增高,组间 p16INK4a 蛋白与 KGFR 表达阳性率比较差异均有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 P16INK4a 蛋白与 KGFR 表达与不同病理分期宫颈组织学类型的关系[n(%)]

组别	n	p16INK4a		KGFR	
		阳性率	阴性率	阳性率	阴性率
宫颈鳞癌组	40	36(90.0)	4(10.0)	35(87.5)	5(12.5)
CIN Ⅱ/Ⅲ组	45	37(82.2)	8(17.8)	38(84.4)	7(15.6)

续表 1 P16INK4a 蛋白与 KGFR 表达与不同病理分期宫颈组织学类型的关系 $[n(\%)]$

组别	n	p16INK4a		KGFR	
		阳性率	阴性率	阳性率	阴性率
CIN I 组	48	14(29.2)	34(70.8)	25(52.1)	23(47.9)
健康及慢性炎症组	47	0(0.0)	47(100.0)	20(42.6)	27(57.4)

3 讨 论

人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌最重要的病因,高危型 HPV 与宫颈鳞状上皮内病变的发生密切相关^[3],用基因分型等技术可在 99.17% 的宫颈癌标本中检出高危型 HPV,其中以 HPV16、18 型最为常见。HPV16 型多见于鳞癌,HPV18 型则多见于腺癌^[4]。近年来研究显示,抑癌基因 p16INK4a 几乎在所有 HPV 阳性的宫颈病变中表达^[5]。

p16INK4a 蛋白由抑癌基因 INK4a 编码,被证实为直接调控细胞周期的抑癌基因。p16INK4a 通过与 CDK4 和 CDK6 结合发挥调节作用,调控细胞增殖。Braganca 等^[6]研究发现,79.2% 的宫颈癌患者 p16INK4a 表达阳性,该抑癌基因参与宫颈癌的整个病理过程,随着宫颈病变程度的增加,p16INK4a 蛋白的表达也越来越明显。Guo 等^[7]研究显示,p16INK4a 基因对 CIN 的预测较 HPV 基因分型更为敏感。本研究对本地区宫颈病变妇女的 p16INK4a 蛋白进行检测,同样表明 p16INK4a 蛋白与病变的严重程度密切相关。

角质细胞生长因子(KGF)属于纤维母细胞生长因子家族,主要参与间质细胞与上皮细胞间的相互作用,与 KGFR 特异结合,促进上皮细胞分化、增殖和迁移。KGFR 属于跨膜酪氨酸激酶,由成纤维细胞生长因子受体 2(FGFR2)剪接而成,主要在上皮细胞内表达。通过与成纤维细胞生长因子受体 1(FGFR1)、FGFR3、FGFR10 等受体结合发挥作用。越来越多的研究发现,KGFR 与众多上皮源性肿瘤密切相关,其中结肠癌和胰腺癌中 KGFR 的表达早已经被证实,表明其在肿瘤演变中起着促进作用。Kurban 等^[8]发现,在宫颈癌的 CaSKi 和 HeLa 细胞株中检测到 KGFR,而在 ME-180 细胞株中并未发现,KGFR 在正常宫颈上皮及平滑肌上几乎无表达,宫颈癌上皮储备细胞和鳞状细胞 KGFR 的阳性率高达 86%,而其他非肿瘤区域及非上皮细胞和储备细胞中则未见 KGFR 表达。本研究结果提示,KGFR 的表达与宫颈病变程度有关,再次证明 KGFR 在宫颈癌的发生、发展中起着重要定作用,可与 p16INK4a 蛋白一同作为预测因子。

综上所述,本研究初步证实 KGFR 与 p16INK4a 在本地宫颈病变妇女有一定的表达,且与病变严重程度密切相关。为使结果更加可靠,并为宫颈癌筛查及治疗提供可靠的依据与评估指标,将进一步增大样本量进行研究。

参考文献

- [1] 张兴亮. 基因变异与宫颈癌发病风险的关联: Meta 分析及流行病学证据[D]. 济南: 山东大学, 2012.
- [2] Bracken AP, Kleine-Kohlbrecher D, Dietrich N, et al. The Polycomb group proteins bind throughout the INK4a-ARF locus and are disassociated in senescent cells[J]. Genes Dev, 2007, 21(5): 525-530.
- [3] 马英, 于成银, 冷志, 等. HPV 感染与宫颈鳞状上皮内病变及宫颈癌关系探讨[J]. 重庆医学, 2004, 33(7): 1011-1013.
- [4] Altekruse SF, Lacey JV Jr, Brinton LA, et al. Comparison of human papillomavirus genotypes, sexual, and reproductive risk factors of cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma: Northeastern United States[J]. Am J Obstet Gynecol, 2003, 188(3): 657-663.
- [5] Ishikawa M, Fujii T, Saito M, et al. Overexpression of p16 INK4a as an indicator for human papillomavirus oncogenic activity in cervical squamous neoplasia[J]. Int J Gynecol Cancer, 2006, 16(1): 347-353.
- [6] Braganca JF, Sarian LO, Pitta DR, et al. Expression of p16 and cervical infection with high-risk human papillomavirus are not related to p53 activity in cervical intraepithelial neoplasia[J]. Int J Gynecol Cancer, 2008, 18(5): 1060-1064.
- [7] Guo M, Hu L, Baliga M, et al. The predictive value of p16 (INK4a) and hybrid capture human papillomavirus testing for high-grade cervical intraepithelial neoplasia[J]. Am J Clin Pathol, 2004, 122(6): 894-901.
- [8] Kurban G, Ishiwata T, Kudo M, et al. Expression of keratinocyte growth factor receptor (KGFR/FGFR2 IIIb) in human uterine cervical cancer[J]. Oncol Rep, 2004, 11(5): 987-991.

(收稿日期: 2014-08-01 修回日期: 2014-12-02)

医学统计工作的基本内容

按工作性质及其先后顺序, 可将医学统计工作分为实验设计、收集资料、整理资料、分析资料。实验设计是开展某项医学研究工作的关键, 包括医学专业设计和统计学设计, 医学专业设计的内容包括研究对象纳入和排除标准、样本含量、获取样本的方法、分组原则、观察(检测)指标、统计方法等。收集资料的方法包括各种试验、检测或调查, 要求资料完整、准确、及时、有足够数量、具有代表性和可比性等。整理资料包括原始资料的检查与核对、对资料进行分组与汇总等。分析资料即对资料进行统计学分析, 包括进行统计描述和统计推断。