

腺激素及孕酮值对妊娠结局的预测价值[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(21): 3461-3463.

[14] Wald NJ, Bestwick JP, George LM, et al. Screening for pre-eclampsia using serum placental growth factor and endoglin with Down's syndrome Quadruple test markers [J]. J Med Screen, 2012, 19(2): 60-67.

[15] Forest JC, Charland M, Masse J, et al. Candidate biochem-
• 临床探讨 •

ical markers for screening of pre-eclampsia in early pregnancy[J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(6): 973-984.

[16] 罗莉, 陈江鸿. 早发型重度子痫前期终止妊娠时机及分娩方式与围生儿结局的关系研究[J]. 中国全科医学, 2011, 14(3): 267-268.

(收稿日期: 2015-12-25 修回日期: 2016-02-20)

P16 蛋白与人乳头瘤病毒分型检测在子宫黏液腺癌伴双侧卵巢转移中的诊断价值

秦雪梅

(四川省遂宁市第三人民医院检验科 629000)

摘要:目的 探讨应用免疫组化标记 P16 蛋白联合检测人乳头瘤病毒(HPV)分型在对子宫颈黏液腺癌伴双侧卵巢转移的鉴别和诊断中的价值。方法 收集遂宁市第三人民医院 2010 年 3 月至 2013 年 12 月收治的 30 例双侧卵巢转移性癌症患者的资料, 根据患者转移灶来源的不同分为宫颈癌转移组与其他癌转移组, 分析其临床病理特征, 并对所有患者的子宫颈癌与卵巢转移癌灶进行病理活检组织分析, 包括 P16 蛋白等多项标志物在内的免疫组化分析、HPV 分型检测。结果 宫颈癌转移组 4 例患者可观察到子宫颈不同程度的糜烂、肥大, 伴有阴道流血或接触性出血, 双侧卵巢肿大, 卵巢内有大小不一的癌转移灶; 对其进行病理组织活检可在镜下观察到腺体明显增多、腺体在子宫颈间质内浸润性生长、不同程度的异形性腺体细胞, 在患者阴道与宫颈交界处、卵巢内、闭孔淋巴结等处均可观察到明显转移灶; 免疫组化显示 4 例患者均强阳性表达 P16 蛋白、Ki-67, 2 例患者还强阳性表达 CK7; 4 例患者的子宫颈癌与卵巢转移癌 HPV 分型如下: 例 1 为 HPV16、18、33/16、33 型; 例 2 为 HPV16、18、31/18、33 型; 例 3 为 HPV16、18、58/16、18 型; 例 4 为 HPV16、18/18、58 型。其余癌转移组患者虽有卵巢转移癌灶, 且在宫颈脱落物检查中检测到 HPV16 型或 HPV18 型存在, 但无 P16 蛋白表达、未在卵巢转移灶检测到 HPV 病毒存在。结论 依据 P16 蛋白的表达与 HPV 的分型检测, 可辅助诊断子宫颈黏液腺癌伴双侧卵巢转移, 对其治疗与预后判断有积极意义。

关键词: P16 蛋白; HPV 分型检测; 子宫黏液腺癌伴双侧卵巢转移; 诊断价值

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.12.055 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)12-1724-03

卵巢转移癌在卵巢癌中发病率较高, 占卵巢癌的 6%~28%^[1-3]。卵巢转移癌来源较多, 主要见于大网膜种植性转移、大肠癌血道转移、子宫内腺癌转移、宫颈癌的血道及淋巴结转移等。子宫颈癌转移盆腔、阴道多见, 但临床上少见转移至卵巢, 更少见转移至双侧卵巢^[4-5]。本研究选取 2010 年 3 月至 2013 年 12 月收治 30 例双侧卵巢转移癌患者, 其中 4 例患者转移灶来源于子宫颈癌。为与其他转移性卵巢癌区分, 本研究对其进行乳头瘤病毒(HPV)分型检测与免疫组化 P16 蛋白表达研究, 准确将其区分, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2010 年 3 月至 2013 年 12 月收治 30 例双侧卵巢转移癌患者, 根据患者转移灶来源的不同分为宫颈癌转移组与其他癌转移组, 其中宫颈癌转移组 4 例, 年龄 31~46 岁, 平均(41.0±2.0)岁; 病程 1.0~3.5 年, 平均(2.0±0.3)年。其他癌转移组 26 例, 年龄 28~54 岁, 平均(40.0±2.5)岁; 病程 1.0~5.0 年, 平均(2.5±0.5)年。两组患者年龄、病程等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本制作与观察 所有患者的活体取材标本均经多聚甲醛溶液固定, 脱水后经包埋剂包埋, 其后进行石蜡切片, 置光学显微镜下进行观察^[6]。

1.2.2 免疫组化标记 P16 蛋白 对所有患者的病理切片进行免疫组化操作, 即进行免疫组化染色, 一抗为 P16 蛋白单克

隆抗体, 购于南京建成生物技术公司; 阴性对照统一采用缓冲液代替一抗操作。其后根据其显色强弱鉴别 P16 蛋白表达的强弱, 标准如下: (1) 强阳性表达表现为免疫组化标记后, 标本被染成棕黄色的范围大于 75%; (2) 阳性表达表现为免疫组化标记后, 标本被染成棕黄色的范围为 10%~75%; (3) 阴性表达表现为免疫组化标记后, 标本被染成棕黄色的范围在 10% 以下^[7-8]。

1.2.3 HPV 检测与分型 HPV 分型检测技术采用原位杂交技术, 对所有患者标本进行 HPV 分型检测。HPV 探针购于南京建成生物技术公司, 其探针包括 HPV16、18、31、33、58 型等。对 HPV 分型检测的步骤按照生物试剂盒说明书进行, 若检测标本的细胞核中出现点状物, 则证明标本被感染了 HPV 某一类型, 具体分型参见说明书。

1.3 统计学处理 本次研究所有数据均采用 SPSS19.0 软件进行统计分析, 计数资料组间比较采用 χ^2 检验, 检验标准 $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肉眼观察结果 宫颈癌转移组肉眼观察结果显示, 4 例患者均有不同程度的宫颈糜烂与出血点, 双侧卵巢体积大小为 12 cm×11 cm×3 cm 以上, 癌灶无包膜, 不可滑动, 一侧癌灶呈菜花状、一侧呈蕈状; 其他癌转移组肉眼观察结果显示, 患者宫颈无糜烂、无出血现象, 双侧卵巢体积小于 12 cm×11 cm×3 cm, 两侧卵巢均无包膜, 推动时不易相对滑动, 癌灶多呈菜花型、溃疡型。

2.2 镜下观察结果

2.2.1 宫颈癌转移组宫颈与卵巢癌灶病理活检取材镜下结果 见图 1、2、3。由图 1 可见,宫颈内膜不典型增生,异形性细胞增多,腺上皮腺体明显增多;由图 2 可见,卵巢表面癌灶,可见大片异形性腺体细胞,腺体被破坏,血管被侵袭;由图 3 可见,卵巢深处癌灶,可见纤维明显增生,血管正常结构被破坏。

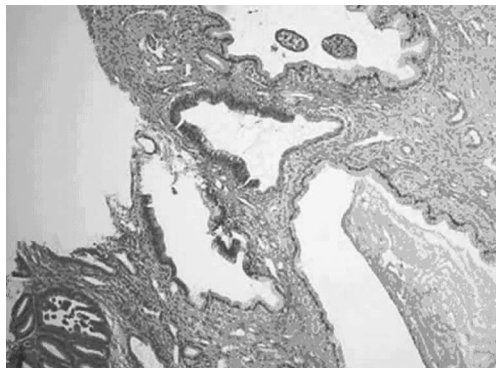


图 1 宫颈内膜不典型增生

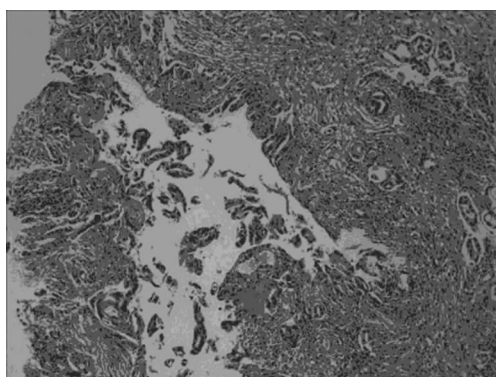


图 2 卵巢表面癌灶

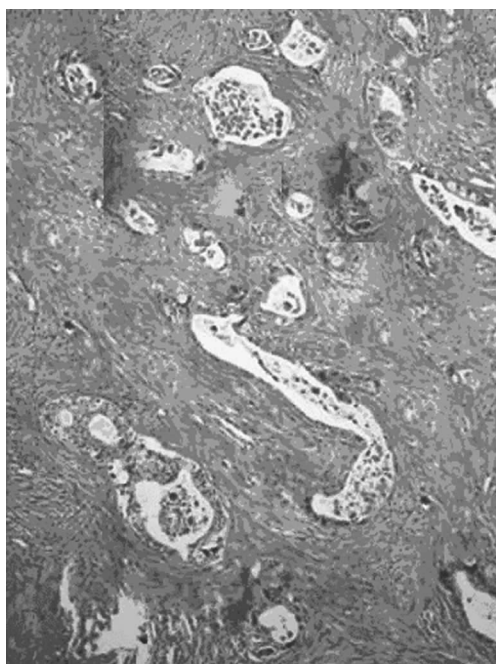


图 3 卵巢深处癌灶

2.2.2 其他癌转移组宫颈与卵巢病理活检结果 见图 4、5。由图 4 可见,宫颈组织镜下未见异常,表皮磷化细胞层未出现腺体等结构,未见异形性细胞;由图 5 可见,腺癌表现为印戒细胞癌,细胞里充满黏液空泡把核挤向一边,细胞异形性较大。

胞癌,细胞里充满黏液空泡把核挤向一边,细胞异形性较大。

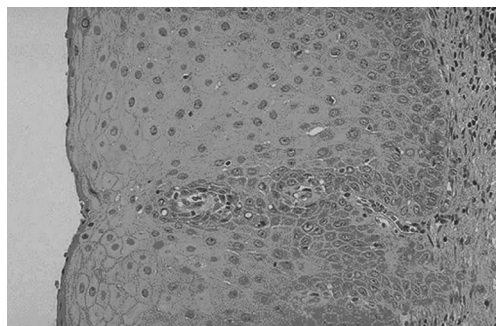


图 4 宫颈组织

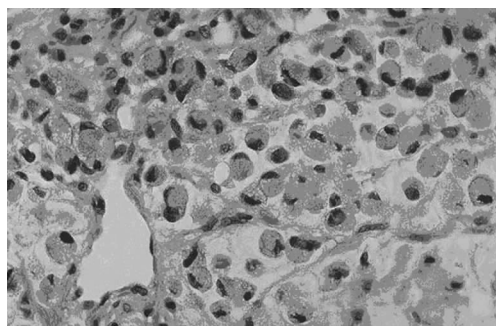


图 5 宫颈癌灶组织

2.3 两组患者免疫组化标记 P16 蛋白表达结果 见表 1。由表 1 可见,宫颈癌转移组其卵巢细胞均强阳性表达 P16 蛋白,并且同时表达 Ki-67,另有 2 例患者还强阳性表达 CK7,差异有统计学意义($P < 0.05$);其他癌转移组患者其卵巢癌灶细胞均不强阳性表达 P16 蛋白,仅有 1 例出现阳性表达,表达 Ki-67 与 CK7 患者各有 1、2 例,差异有统计学意义($P < 0.05$)。无患者同时表达 3 种标记物中两种及以上。

表 1 两组患者免疫组化标记 P16 蛋白表达结果(n)

组别	n	表达 P16 蛋白			表达 Ki-67	表达 CK7
		强阳性	阳性	阴性		
宫颈癌转移组	4	4	0	0	4	2
其他癌转移组	26	0	1	25	1	2

2.4 两组患者 HPV 分型检测结果 见表 2。由表 2 可见,宫颈癌转移组患者 HPV 分型检测其 HPV16、18 型感染均为阳性,而非宫颈癌转移组患者 HPV16、18 型感染阳性例数分别为 8、6 例,但是未检出同时表达 HPV16、18 型的患者。两组患者均有其他型别 HPV 感染,但组间数据对比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 两组患者 HPV 分型检测结果(n)

组别	n	HPV16 型		HPV18 型		其他型别 HPV (HPV31、33、58 型)	
		阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性
宫颈癌转移组	4	0	4	0	4	0	4
其他癌转移组	26	18	8	20	6	2	24
χ^2		6.296		7.328		2.170	
P		0.042		0.031		0.062	

3 讨 论

宫颈癌的生长、浸润、转移是一个极其复杂的过程,其转移至卵巢的概率较小^[9-13]。我国沈扬眉等^[14]曾报道过 3 例宫颈癌转移至双侧卵巢的病例。对卵巢与宫颈癌的正确来源区分清除是制订其后期治疗与判断患者预后情况的标准,但是原发于宫颈癌的卵巢转移癌与原发于消化道的卵巢转移癌较难区分,尤其是宫颈转移至卵巢的癌灶。在光镜下宫颈黏液性腺癌与原发于卵巢的黏液性腺癌都表现为腺体增加、异形性细胞出现,难以区分清除是来源于宫颈原发癌还是原发于卵巢的癌症^[15]。

本研究选取本院 2010 年 3 月至 2013 年 12 月收治 30 例双侧卵巢转移癌患者,30 例患者中仅有 4 例患者为宫颈癌转移至双侧卵巢。30 例患者的标本大体结构与镜下结构都基本相似,大体上都表现为卵巢中的包块,推挤时不易发生相对滑动,宫颈癌转移患者有出血点,镜下均表现为腺体增生、细胞呈不同程度异形性。因此需做进一步处理区分其来源。P16 蛋白是一种近来新发现的抑癌基因的表达产物,主要通过抑制细胞内的周期蛋白依赖性蛋白激酶 4/6 活性而抑制细胞基因磷酸化的活化路径,达到抑制癌症细胞周期蛋白的表达,使细胞的分化周期处于 G1 期而达到抑制癌细胞增殖的作用^[16]。另一方面,宫颈癌的发生与 HPV16、18、31、33 型的感染存在密切的联系,尤其是 HPV16、18 型的基因是一种病毒癌基因,其与宫颈上皮细胞基因整合后,可编码使肿瘤抑制基因封闭和失活的蛋白,并可活化细胞周期蛋白 E 导致上皮细胞失控性增加^[17]。因此,基于上述 2 点设计了本次研究来探讨是否能通过检测 P16 蛋白的表达与 HPV16、18 型的感染来判断卵巢转移癌的来源。本研究发现,宫颈癌转移组患者标本均强阳性表达 P16 蛋白,而非宫颈癌转移组仅 1 例阳性表达 P16 蛋白,其余均不表达($P < 0.05$)。除此之外宫颈癌转移组患者还表达 Ki-67,另有 2 例表达 CK7,非宫颈癌组患者表达 Ki-67 与 CK7 的患者分别为 1、2 例,且不是阳性表达 P16 蛋白的患者($P < 0.05$)。在 HPV 感染上,宫颈癌转移组患者均有 HPV16、18 型感染,而非宫颈癌转移组虽有 HPV16、18 型感染,但互不重合,即无 1 例患者同时感染两种病毒($P < 0.05$)。两组患者均感染有其他型别的 HPV,但是相互之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

综上所述,P16 蛋白的表达与 HPV 的分型检测,可辅助诊断子宫颈黏液腺癌伴双侧卵巢转移,对其治疗与预后判断有积极意义。

参考文献

- [1] Schorge JO, Knowles LM, Lea JS. Adenocarcinoma of the cervix[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2004, 5(2): 119-127.
- [2] Vinh-Hung V, Bourgain C, Vlastos G, et al. Prognostic value of histopathology and trends in cervical cancer: a SEER population study[J]. *BMC Cancer*, 2007, 23(7): 164-169.
- [3] 何慧仪, 卢丽娜, 杜洪, 等. Ki-67、Survivin、p16 表达在宫

颈癌和宫颈腺癌前病变诊断中的意义[J]. *中国妇幼保健*, 2006, 21(13): 1825-1827.

- [4] 郑益红, 雷英, 赖姨梅. 伴双侧卵巢转移的宫颈微小偏离型腺癌 2 例临床病理观察[J]. *赣南医学院学报*, 2013, 33(6): 882-883.
- [5] de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(11): 1048-1056.
- [6] Dahlström LA, Ylitalo N, Sundström K, et al. Prospective study of human papillomavirus and risk of cervical adenocarcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(8): 1923-1930.
- [7] 何惠华, 刘汉忠, 涂宁芳, 等. 宫颈腺癌合并鳞状上皮内瘤变人乳头状瘤病毒亚型感染与 P16 蛋白表达的关系[J]. *中华医院感染学杂志*, 2014, 24(23): 5799-5801.
- [8] Tornesello ML, Losito S, Benincasa G, et al. Human papillomavirus (HPV) genotypes and HPV16 variants and risk of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 121(1): 32-42.
- [9] 李道成, 梁立治. 原发于胃肠道的卵巢转移癌 22 例临床分析[J]. *肿瘤学杂志*, 2000, 11(21): 23-25.
- [10] Weller SC, Stanberry LR. Estimating the population prevalence of HPV[J]. *JAMA*, 2007, 297(8): 876-878.
- [11] 陈金石, 李隆玉, 李凌. HPV16/18 感染与多肿瘤抑制基因 p16 在宫颈腺癌中的关系探讨[J]. *中国妇幼保健*, 2013, 28(26): 4282-4284.
- [12] 宋艳, 邓国华, 沈贵华, 等. p16 和人乳头瘤病毒检测在宫颈腺癌和子宫内膜腺癌中的鉴别意义[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2012, 19(2): 113-117.
- [13] Liu S, Semenciw R, Mao Y. Cervical cancer: the increasing incidence of adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma in younger women[J]. *CMAJ*, 2001, 164(8): 1151-1152.
- [14] 沈扬眉, 何英, 徐炼, 等. p16 及 HPV 分型检测在子宫颈黏液腺癌伴双侧卵巢转移中的诊断价值[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2014, 30(8): 858-861.
- [15] 李红浪, 熊炳贤, 王梦龙. 胃肠道癌卵巢转移 46 例临床病理特点及预后分析[J]. *中国实用外科杂志*, 2005, 25(3): 157-159.
- [16] Odida M, Sandin S, Mirembe F, et al. HPV types, HIV and invasive cervical carcinoma risk in Kampala, Uganda: a case control study[J]. *Infect Agent Cancer*, 2011, 6(1): 8-13.
- [17] 吴斌, 于晓红. 子宫颈腺癌中 HPV 感染与发病年龄的临床分析[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015, 31(5): 514-517.

(收稿日期: 2015-12-18 修回日期: 2016-02-28)