

不同宫颈组织中 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白表达及其与 HPV16/18 感染的关系

孙 军¹, 胡俊波¹, 陈洪雷², 李蓓芸², 夏和顺³

Correlation between PIK3CA, PTEN and p16 Protein Expression and Human Papillomavirus Infection in Different Cervical Tissues

Sun Jun¹, Hu Junbo¹, Chen Honglei², Li Peiyun², Xia Heshun³

1. Department of Pathology, The Maternal and Child Health Hospital of Hubei Province, Wuhan 430070, China; 2. Department of Pathology, School of Medicine, Wuhan University; 3. Department of Pathology, Hubei Cancer Hospital

Corresponding Author: Xia Heshun, E-mail: xiaheshun@yahoo.com.cn

Abstract: Objective To evaluate correlations between PIK3CA, PTEN and p16 protein expression, and human papillomavirus (HPV) infection in the normal cervix epithelium, cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and cervix squamous cell carcinoma (SCC). **Methods** The immunohistochemical staining PV-9000 method was used to detect the expression of PIK3CA, PTEN and p16 protein and high-risk HPV16/18 infection was detected by chromogenic in situ Hybridization in 30 cases of SCC (SCC group), 21 cases of CIN I (CIN I group), 51 cases of CIN II ~ III (CIN II ~ III group), and 22 cases of normal cervix tissues (control group). **Results** PIK3CA and p16 protein expression rate and HPV16/18 infection rate were gradually increased, but PTEN protein expression rate was gradually decreased along with the malignant transformation of cervical epithelium. The differences of PIK3CA, PTEN, p16 protein and HPV16/18 prevalence in cervical cancer and CIN II ~ III group were significant, compared with control group or CIN I group, ($P < 0.05$). In cervical intraepithelial neoplasia tissues, PIK3CA positive rate (76.47%, 39 cases) in CIN II ~ III was significant higher than that in CIN I (42.86%, 9 cases), $P = 0.006$. PTEN and p16 protein positive rates were similar in different CIN groups. In 81 cases of human CIN II ~ III and squamous cell carcinoma, PIK3CA showed a significant positive correlation to p16 protein ($P = 0.000$, $r = 0.544$). PIK3CA, p16 protein were negative correlated to PTEN protein expression ($P < 0.05$). In 47 HPV16/18 positive specimens, PIK3CA, and p16 protein expressions almost were positive correlation ($P < 0.01$), but 37 cases of PTEN protein expression were negative, ($P = 0.116$). **Conclusion** PIK3CA, PTEN, p16 protein expression and high-risk HPV infection were closely related to the development of cervical cancer. Combined detection of PIK3CA, PTEN, p16 protein and high-risk HPV might be a molecular marker for SCC early diagnosis. The over-expressions of PIK3CA and p16 protein were related with high-risk human papillomavirus infection.

Key words: Cervical cancer; PIK3CA; PTEN; p16 protein; Human papillomavirus

摘 要: 目的 探讨 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白在正常宫颈上皮、宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)和宫颈鳞癌组织中的表达,以及 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白表达与人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染之间的关系。**方法** 采用免疫组织化学二步法在 22 例健康者宫颈组织、72 例宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)和 30 例宫颈鳞癌组织中检测 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白的表达,显色原位杂交方法检测高危型 HPV16/18 的感染。**结果** PIK3CA 和 p16 蛋白表达阳性率和 HPV16/18 的感染率均随着宫颈上皮逐渐恶变而上升,PTEN 蛋白表达却呈现相反的结果。PIK3CA、PTEN、p16 蛋白和 HPV16/18 的感染率在宫颈鳞癌和 CIN II~III 组中的表达分别与对照组和 CIN I 组相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。在宫颈上皮内瘤变组织中,39 例(76.47%)CIN II~III 中显示

PIK3CA 阳性,仅有 9 例(42.86%)CIN I 中显示 PIK3CA 阳性,两组间差异有统计学意义($P = 0.006$),而 PTEN 和 p16 蛋白在宫颈上皮内瘤变不同组别中相比差异均无统计学意义。在 81 例 CIN II~III 和鳞癌组织中,PIK3CA 和 p16 蛋白呈显著正相关关系($P = 0.000$, $r = 0.544$)。PIK3CA、p16 蛋白与 PTEN

收稿日期:2011-05-24;修回日期:2011-08-31

作者单位:1. 430070 武汉,湖北省妇幼保健院病理科;2. 武汉大学基础医学院病理学教研室;3. 湖北省肿瘤医院病理科

通信作者:夏和顺, E-mail: xiaheshun@yahoo.com.cn

作者简介:孙军(1956-),女,本科,主任医师,主要从事女性生殖系统病理、乳腺病理及围产期病理研究

蛋白表达之间,两者均呈显著负相关($P < 0.05$)。HPV16/18 阳性的 47 例标本中,PIK3CA 和 p16 蛋白几乎均呈阳性表达,呈显著正相关($P < 0.01$),但 PTEN 蛋白却有 37 例呈阴性表达,无显著相关($P = 0.116$)。结论 PIK3CA、PTEN、p16 蛋白表达以及高危型 HPV 感染与宫颈癌的发生发展均密切相关。PIK3CA、PTEN、p16 蛋白和高危型 HPV 感染联合检测,可作为宫颈癌早期癌变的分子标志物。高危型 HPV 感染可能有助于 PIK3CA 和 p16 蛋白的高表达。

关键词:宫颈癌;PIK3CA;p16;PTEN;人乳头瘤病毒

中图分类号:R737.33 文献标识码:A

文章编号:1000-8578(2012)02-0189-06

0 引言

宫颈癌是女性较常见的恶性肿瘤,随着人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染增多,宫颈癌发病率有明显上升趋势,且患者趋于年轻化。因此,寻找宫颈癌的病因,明确其发病机制对进一步预防、早期诊治宫颈癌是十分必要的。宫颈癌也被认为是与癌基因激活和抑癌基因失活有关的多步骤的发展过程。磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚单位 α 基因(phosphoinositide-3-kinase catalytic α polypeptide gene, PIK3CA)是 20 世纪 90 年代发现的一种癌基因,它编码的蛋白是 PIK3CA 即 PI3-K p110 α 。由于基因突变导致的 PIK3CA 过表达被证明是致癌性的,可引起 PI3K 的催化活性增强,促使细胞癌变^[1]。PTEN 基因编码的蛋白表现出脂质磷酸酶活性和蛋白磷酸酶活性,是迄今为止发现的第一个具有磷酸酶活性的抑癌基因。p16 基因是迄今发现的第一个直接作用于细胞周期、抑制细胞分裂的基因,它的缺失与突变在许多肿瘤的发生和发展过程中起重要作用。关于 PIK3CA、PTEN 和 p16 联合检测以及与 HPV 感染的关系在人宫颈病变组织中的研究国内外鲜见相关报道。本研究在人正常宫颈组织、宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)和宫颈鳞癌组织中利用免疫组织化学二步法检测 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白的表达,显色原位杂交方法检测高危型 HPV16/18 的感染以及 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白表达与 HPV16/18 感染之间的相关性,为宫颈癌的发生发展及早期检测提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 资料

原发宫颈鳞癌活检组织标本 30 例,患者年龄 24~70 岁,平均 46 岁,术前均未进行放疗或化疗。所有标本均取自湖北省妇幼保健院病理科 2007—2008 年存档蜡块。另取 2008 年石蜡包埋的宫颈组织 94 例:低级别宫颈上皮内瘤样病变(LSIL, CIN I)21 例,高级别宫颈上皮内瘤样病变(HSIL,

CIN II~III)51 例,及因子宫肌瘤切除的正常宫颈组织 22 例作为对照标本。

兔抗人 PI3-K p110 α 单克隆抗体(Cell Signaling Technology)、鼠抗人 PTEN、p16 抗体、HPV16/18 型原位杂交试剂盒(Pan Path 公司),即用型 PV-9000 二步法免疫组织化学检测试剂盒、购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

采用免疫组织化学二步法检测 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白表达。实验步骤严格按试剂盒说明书进行。用 PBS 代替一抗作阴性对照,以已知阳性片作阳性对照。采用显色原位杂交方法检测宫颈病变组织中 HPV16/18 感染的情况,实验步骤严格按试剂盒说明书进行。以 HPV16/18 阳性宫颈组织切片作阳性对照,以阴性对照液代替 HPV16/18 探针作为阴性对照。

1.3 结果判断

观察结果采用双盲法。PI3-K p110 α 和 PTEN 蛋白阳性染色位于胞质。p16 蛋白定位于胞核和胞质。高倍镜下随机选 4 个视野,结合阳性细胞百分率和染色强度进行半定量分级,然后取平均值。染色强度判定标准:胞质内无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;阳性细胞百分率判定:阳性细胞百分率 $< 5\%$ 为 0 分, $5\% \sim 25\%$ 为 1 分, $> 25\% \sim 50\%$ 为 2 分, $> 50\% \sim 75\%$ 为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分。两项结果相加 < 2 分为阴性(-), $2 \sim 3$ 分为弱阳性(+), $4 \sim 5$ 分为中度阳性(++), $6 \sim 7$ 分为强阳性(+++)。原位杂交结果判断:以细胞核出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性。

1.4 统计学方法

采用 χ^2 检验和四格表的精确概率法判断 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白表达与宫颈不同病变组织之间的关系,并运用 Spearman 等级相关系数来判断 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白表达与 HPV 感染之间的相互关系。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。所有数据均在 SPSS 13.0 软件上进行。

2 结果

2.1 PIK3CA 的蛋白表达

PIK3CA 蛋白(p110 α)在不同宫颈病变组织中表达见图 1。PIK3CA 蛋白在 30 例宫颈鳞癌组织中高表达,阳性率为 83.33%,与对照组和 CIN I 分别比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。在宫颈上皮内瘤变组织中,39 例(76.47%)CIN II~III 中显示 p110 α 阳性,而仅有 9 例(42.86%)CIN I 中显示 p110 α 阳性,两组间差异有统计学意义($P = 0.006$)。对照组和 CIN I 组中均无 p110 α 强阳性,对照组中仅有 4 例(18.18%)正常宫颈上皮呈 p110 α 阳性表达,与 CIN II~III 相比,差异也有统计学意义($P = 0.000$),见表 1。

表 1 PIK3CA 在不同宫颈病变组织中的表达
Table 1 The expression of PIK3CA in tissues with different cervical lesions

Groups	n	PIK3CA			
		+	++	+++	%
Control	22	3	1	0	18.18
CIN I	21	8	1	0	42.86
CIN II ~ III	51	23	10	6	76.47
SCC	30	9	11	5	83.33

Note: SCC: squamous cell carcinoma

2.2 PTEN 的蛋白表达

PTEN 蛋白在不同宫颈病变组织中表达见图 2。对照组、CIN I、CIN II ~ III、宫颈鳞癌组织中 PTEN 阳性表达率分别为 81.82%、61.90%、37.25%、16.67%，阳性表达率逐渐下降。CIN II ~ III、宫颈鳞癌组分别与对照组比较，PTEN 表达的差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。CIN I 与宫颈鳞癌组比较，PTEN 表达的差异也有统计学意义 ($P = 0.001$)；而在 CIN II ~ III 组与宫颈鳞癌组、CIN I 组与 CIN II ~ III 组、CIN I 组与对照组之间分别比较，PTEN 表达的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。此外，PTEN 蛋白在 CIN II ~ III 组和宫颈鳞癌组中均无强阳性表达，见表 2。

表 2 PTEN 在不同宫颈病变组织中的表达
Table 2 The expression of PTEN in tissues with different cervical lesions

Groups	n	PTEN			
		+	++	+++	%
Control	22	9	6	3	81.82
CIN I	21	10	2	1	61.90
CIN II ~ III	51	14	5	0	37.25
SCC	30	3	2	0	16.67

2.3 p16 的蛋白表达

p16 蛋白阳性表达主要定位于胞核和胞质，在不同宫颈病变组织中表达见图 3。对照组 p16 蛋白表达阳性率仅为 13.63%，随着 CIN 级别增高，p16 蛋白表达阳性率逐渐升高。对照组与另外 3 组比较，p16 蛋白阳性率差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。CIN I 组与宫颈鳞癌组比较，p16 蛋白表达的差异也有统计学意义 ($P = 0.002$)；CIN II ~ III 组与 CIN I 组、宫颈鳞癌组分别比较，p16 蛋白表达的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 3。

表 3 p16 在不同宫颈病变组织中的表达
Table 3 The expression of p16 in tissues with different cervical lesions

Groups	n	p16			
		+	++	+++	%
Control	22	2	1	0	13.63
CIN I	21	9	3	1	66.67
CIN II ~ III	51	21	13	8	82.35
SCC	30	8	12	9	96.67

2.4 HPV16/18 DNA 的表达

HPV-DNA 主要定位于胞核，在不同宫颈病变组织中表达情况见图 4。对照组中 HPV-DNA 无表达，从 CIN I 级到宫颈鳞癌，HPV-DNA 的表达情况依次为 23.81%、56.86%、60.00%。HPV-DNA 含量在 CIN 病变及宫颈鳞癌中均显著高于对照组 ($P < 0.05$)，且在 CIN II ~ III 组、宫颈鳞癌组分别与 CIN I 组相比，差异也有统计学意义 ($P = 0.011$)，但在 CIN II ~ III 组与宫颈鳞癌组之间，HPV-DNA 表达差异无统计学意义 ($P = 0.782$)，见表 4。

表 4 HPV16/18 在不同宫颈病变组织中的表达
Table 4 The expression of HPV16/18 in tissues with different cervical lesions

Groups	n	p16		
		%	++	+++
Control	22	22	0	0
CIN I	21	16	5	23.81
CIN II ~ III	51	22	29	56.86
SCC	30	12	18	60.00

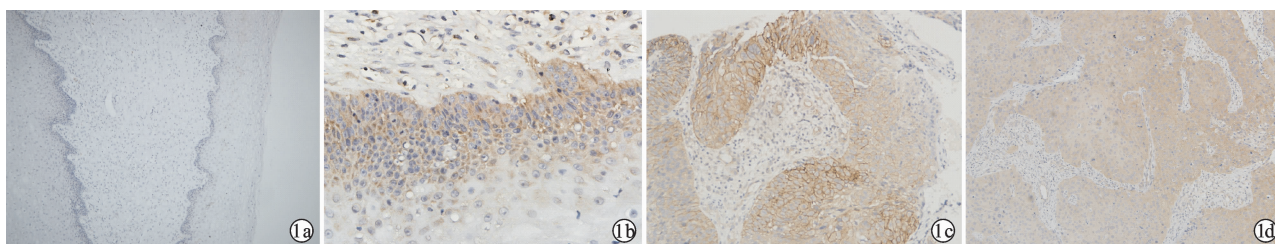
2.5 宫颈 CIN II ~ III 和鳞癌组织中 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白表达与 HPV 感染的关系

在 81 例人宫颈 CIN II ~ III 和鳞癌组织中，PIK3CA 和 p16 蛋白共同阳性表达 62 例，共同阴性表达 8 例，两者呈显著正相关 ($P = 0.000$, $r = 0.544$)；而 71 例 p16 蛋白呈阳性表达，其中 54 例 PTEN 却呈阴性表达；10 例 p16 蛋白呈阴性表达，其中 7 例 PTEN 却呈阳性表达，两者呈显著负相关 ($P = 0.002$, $r = -0.332$)；64 例 PIK3CA 蛋白呈阳性表达，其中 51 例 PTEN 却呈阴性表达；17 例 PIK3CA 蛋白呈阴性表达，其中 11 例 PTEN 却呈阳性表达，两者呈显著负相关 ($P = 0.000$, $r = -0.396$)；HPV16/18 阳性的 47 例标本中，PIK3CA 和 p16 蛋白几乎均呈阳性表达，呈显著正相关 ($P < 0.01$)，但 PTEN 蛋白却有 37 例呈阴性表达，无显著相关 ($P = 0.116$)，见表 5。

3 讨论

3.1 宫颈不同病变组织中 PIK3CA 蛋白表达的意义

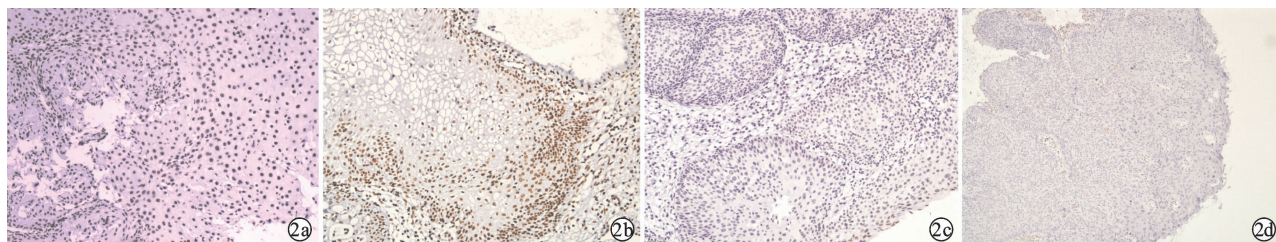
PIK3CA 定位于 3 号染色体 3q26.3，其编码 IA 类磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3-K) 的 p110 α 催化亚基，可促使丝/苏氨酸蛋白激酶 (Akt) 活化，从而促进细胞增殖，抑制细胞凋亡。PIK3CA 已被证实是一种癌基因，人类多种恶性肿瘤如卵巢癌、结肠癌、头颈部鳞癌和甲状腺癌等都存在该基因的扩增^[2]。Ma 等^[3]研究发现在 PIK3CA 基因扩增的宫颈癌细胞系中，其编码蛋白产物 p110 α 表达增强，催化活性增高，因此认为 PIK3CA 是宫颈鳞癌的癌基因。



1a:the negative in normal cervix tissues;1b:positive in CIN I;1c:positive in CIN II~III;1d:positive in cervix squamous cell carcinoma

图 1 PIK3CA 在不同宫颈病变组织中的表达 (IHC $\times 200$)

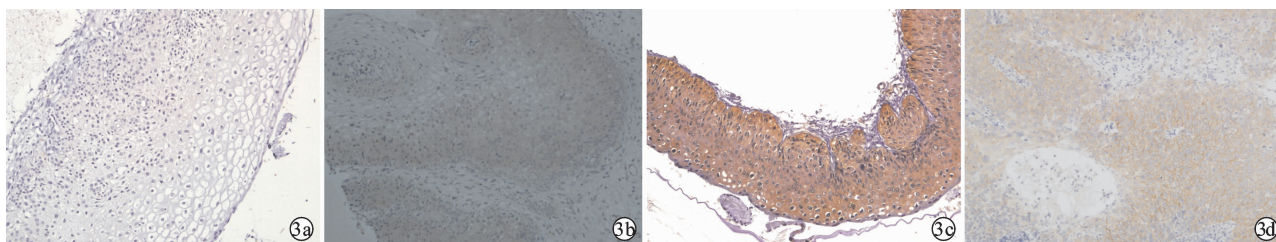
Figure 1 The expression of PIK3CA in tissues with different cervical lesions(IHC $\times 200$)



2a:positive in normal cervix tissues;2b:positive in CIN I;2c:weak positive in CIN II~III;2d:negative in cervix squamous cell carcinoma

图 2 PTEN 在不同宫颈病变组织中的表达 (IHC $\times 200$)

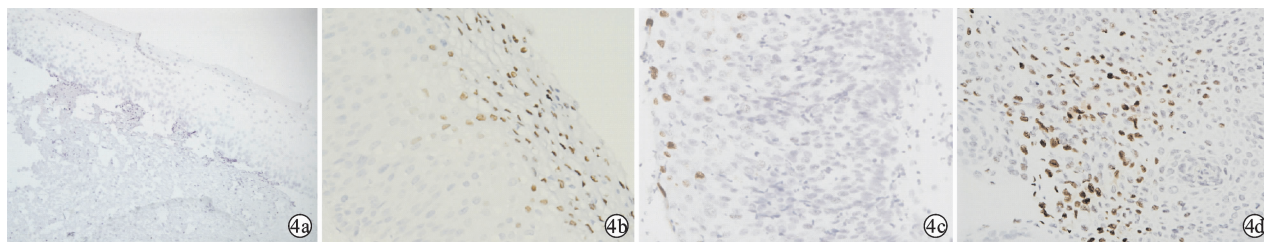
Figure 2 The expression of PTEN in tissues with different cervical lesions(IHC $\times 200$)



3a:negative in normal cervix tissues;3b:weak positive in CIN I;3c:positive in CIN II~III;3d:positive in cervix squamous cell carcinoma

图 3 p16 在不同宫颈病变组织中的表达 (IHC $\times 200$)

Figure 3 The expression of p16 in tissues with different cervical lesions(IHC $\times 200$)



4a:negative in normal cervical(ISH $\times 200$);4b:positive in CIN I (ISH $\times 400$);4c:positive in CIN II ~ III (ISH $\times 400$);
4d:positive in cervical cancer(ISH $\times 400$)

图 4 在不同宫颈病变组织中 HPV16/18 DNA 含量的检测

Figure 4 The expression of HPV16/18 DNA in tissues with different cervical lesions

表 5 宫颈 CIN II ~ III 和鳞癌组织中 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白表达与 HPV 感染的关系

Table 5 The correlation between expressions of PIK3CA、PTEN and p16 and high-risk human papillomavirus infection in CIN II ~ III and SCC

Groups	n	HPV16/18		r	P	p16		r	P	PTEN		r	P
		-	+			-	+			-	+		
PIK3CA	-	17	15	2		8	9			6	11		
	+	64	19	45	0.483	2	62	0.544	0.000	51	13	-0.396	0.000
PTEN	-	57	20	37		3	54						
	+	24	14	10	0.172	7	17	-0.322	0.002				
p16	-	10	9	1									
	+	71	25	46	0.365								

本研究结果显示,PIK3CA 蛋白在 30 例宫颈鳞癌组织中高表达,阳性率为 83.33%,这种异常增高表达在宫颈恶性转化过程中就已开始,因为宫颈癌组与对照组和 CIN I 分别相比,差异均有统计学意义,并且在宫颈上皮内瘤变组织中,39 例(76.47%) CIN II ~ III 中显示 p110 α 阳性,而仅有 9 例(42.86%) CIN I 中显示 p110 α 阳性,两组间差异也有统计学意义。此外,对照组和 CIN I 组中均无 p110 α 强阳性,对照组中仅有 4 例(18.18%)正常宫颈上皮呈 p110 α 阳性表达,与 CIN II ~ III 相比,差异也有统计学意义。表明 PIK3CA 高表达是宫颈鳞癌形成过程中的早期事件,参与宫颈癌变过程,PIK3CA 表达增高意味着低级别宫颈病变患者的恶化风险增强,因此 PIK3CA 可能是预测低级别宫颈病变高危风险敏感的生物学指标。Goto 等^[4]以宫颈液基细胞学标本为研究对象进行免疫组织化学研究结果表明,PIK3CA 可以作为宫颈早期上皮病变中肿瘤形成的相关标志,与本实验结果一致。

3.2 宫颈不同病变组织中 PTEN 蛋白表达的意义

PTEN 基因定位于人类染色体 10q23.3 位点,是第一个具有磷酸酶活性的肿瘤抑制基因,编码 PTEN 蛋白具有双特异磷酸酶活性,抑制 PI3-K/AKT 信号转导途径,在细胞的生长、增殖、浸润、迁移、抑制肿瘤血管生成等方面有重要作用。PTEN 在宫颈癌中的表达及与宫颈癌临床病理特征和预后的关系,目前研究结论尚不一致。Lee 等^[5]采用免疫组织化学法检测 63 例 CIN、85 例 SCC 及 12 例正常宫颈,发现 PTEN 阳性表达率随病变进展而逐级降低,认为 PTEN 基因在宫颈癌的发生发展中有重要作用,但并非独立的预后因素。Cheung 等^[6]分析 10 例高级别 CIN 和 62 例 SCC,认为宫颈病变中 PTEN 蛋白表达的减少与启动子甲基化有关,可能是宫颈癌发生发展中的早期事件,可作为重要的预后因子。

本研究中对照组、CIN I、CIN II ~ III、宫颈鳞癌组织中 PTEN 阳性表达率分别为 81.82%、61.90%、37.25%、16.67%,在上述组织中,PTEN 阳性表达率逐渐下降。CIN II ~ III、宫颈鳞癌组分别与对照组比较,PTEN 表达的差异均有统计学意义($P < 0.01$);CIN I 与宫颈鳞癌组比较,PTEN 表达的差异也有统计学意义($P = 0.001$);表明宫颈癌的进展中伴有 PTEN 蛋白表达的缺失。此外,PTEN 蛋白在 CIN II ~ III 组和宫颈鳞癌组中均无强阳性表达,与文献报道一致^[6]。

3.3 宫颈不同病变组织中 p16 蛋白表达的意义

p16 基因是抑癌基因,其缺失、突变和甲基化存

在于多种人肿瘤细胞,提示其与肿瘤的发生、发展密切相关^[7]。在宫颈癌的研究中,p16 蛋白在宫颈癌中呈高表达^[8],可作为宫颈癌早期病变的辅助标志物之一。

本实验研究结果显示,正常宫颈组织中,p16 蛋白表达阳性率仅为 13.63%,随着 CIN 级别增加,p16 蛋白表达阳性率逐渐升高,并且与 CIN I 组、CIN II ~ III 组和宫颈鳞癌组分别比较,p16 蛋白阳性率差异均有统计学意义($P < 0.01$)。CIN I 组与宫颈鳞癌组比较,p16 蛋白表达的差异也有统计学意义($P = 0.002$),这表明 p16 蛋白表达在宫颈上皮细胞恶性转化前已出现,并随着宫颈癌前病变级别进展而增加。Mulvany 等^[9]应用免疫组织化学 SP 法探讨了 CIN 及子宫颈鳞癌中 p16 蛋白的表达及其意义,结果显示:p16 阳性表达率从子宫颈正常组、CIN I 组、CIN II 组、CIN III 组到子宫颈 SCC 呈上升趋势,与子宫颈正常组比较,p16 的阳性表达率差异均有统计学意义。Jedpiya-wongse 等^[10]在泰国人群中采用 SP 免疫组织化学技术对 53 例不同病变程度的宫颈癌组织标本进行 p16 蛋白表达检测,结果显示:宫颈癌组织的细胞质和细胞核中均能检测到 p16 蛋白的高免疫反应,这与其他文献的研究结果相同^[9-10]。以上提示 p16 蛋白的高表达是子宫颈正常组织→CIN→癌发生过程中的早期事件。说明 p16 蛋白的检测作为诊断子宫颈癌前病变及子宫颈鳞癌的指标,可提高子宫颈鳞癌的早期诊断率。

3.4 宫颈不同病变组织中 HPV16/18 感染的意义

宫颈癌的 HPV 类型在不同的国家间存在差异,然而,在超过 70%的国家中,宫颈癌仅由两种类型的 HPV 感染所致,它们分别是 HPV16 和 HPV18。

本研究采用显色原位杂交技术检测不同宫颈病变中 HPV16/18 DNA 的感染率,结果显示,从 CIN I 到宫颈鳞癌,HPV16/18 的检出率依次为 23.81%(5/21)、56.86%(29/51)、60%(18/30),其检出率在 CIN 到宫颈鳞癌的演变过程中随病变程度的加重而增加,并且 HPV-DNA 含量在 CIN 病变及宫颈鳞癌中均显著高于对照组,同时在 CIN II ~ III 组、宫颈鳞癌组分别与 CIN I 组相比,差异也有统计学意义。Munoz 等^[11]的研究结果与其一致,进一步证实了宫颈癌的发生与 HPV16/18 感染密切相关。

3.5 在宫颈 CIN II ~ III 和鳞癌组织中 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白表达与 HPV 感染的关系

本研究发现在 81 例人宫颈 CIN II ~ III 和鳞癌

组织中,PIK3CA 和 p16 蛋白共同阳性表达 62 例,共同阴性表达 8 例,两者呈显著正相关;而 71 例 p16 蛋白呈阳性表达,其中 54 例 PTEN 却呈阴性表达;10 例 p16 蛋白呈阴性表达,其中 7 例 PTEN 却呈阳性表达,两者呈显著负相关;64 例 PIK3CA 蛋白呈阳性表达,其中 51 例 PTEN 却呈阴性表达;17 例 PIK3CA 蛋白呈阴性表达,其中 11 例 PTEN 却呈阳性表达,两者也呈显著负相关。表明 PIK3CA、PTEN 和 p16 蛋白三者联合检测有 CIN II ~ III 进展到宫颈鳞癌的预警作用。

HPV 是宫颈癌最主要的危险因素,但不是独立致癌因子。HPV 感染后可能引起信号转导途径异常而使宫颈癌发生。关于 HPV 与 PIK3CA 表达在宫颈病变之间关系的文献报道鲜见。本研究发现 HPV16/18 阳性的 47 例标本中,PIK3CA 蛋白有 45 例也呈阳性表达,两者呈显著正相关,提示 HPV 感染相关的宫颈病变激活了 PI3-K,从而增加了 PIK3CA 的蛋白表达,与 Yarbrough 等^[12]在头颈鳞癌中的研究报道类似。本研究还发现 HPV16/18 阳性的 47 例标本中,PIK3CA 蛋白有 46 例也呈阳性表达,两者呈显著正相关,与 Lakshmi 等^[13]报道一致,表明 HPV 感染有助于 p16 蛋白过表达,其机制可能为 HPV E7 蛋白使 Rb 失活,使其对 p16 的负反馈调节作用丧失,从而导致 p16 在宫颈鳞癌前病变和宫颈癌中过度表达。也有文献报道,在宫颈病变中 p16 蛋白表达与 HPV 感染无关^[14]。本研究并未发现 PTEN 蛋白表达与 HPV 感染之间的关系,与国内赵先兰等^[15]的文献报道一致,值得进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Cui B, Zheng B, Zhang X, et al. Mutation of PIK3CA: possible risk factor for cervical carcinogenesis in older women[J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(2): 409-416.
- [2] Woenckhaus J, Steger K, Sturm K, et al. Prognostic value of PIK3CA and phosphorylated AKT expression in ovarian cancer[J]. *VirchowsArch*, 2007, 450(4): 387-395.
- [3] Ma YY, Wei SJ, Lin YC, et al. PIK3CA as an oncogene in cervical cancer[J]. *Oncogene*, 2000, 19(23): 2739-2744.
- [4] Goto T, Takano M, Sasa H, et al. Clinical significance of immunocytochemistry for PIK3CA as a carcinogenesis-related marker on liquid-based cytology in cervical intraepithelial neoplasia[J]. *Oncol Rep*, 2006, 15(2): 387-391.
- [5] Lee JS, Choi YD, Lee JH, et al. Expression of PTEN in the progression of cervical neoplasia and its relation to tumor behavior and angiogenesis in invasive squamous cell carcinoma[J]. *J Surg Oncol*, 2006, 93(3): 233-240.
- [6] Cheung TH, Lo KW, Yim SF, et al. Epigenetic and genetic alternation of PTEN in cervical neoplasm[J]. *Gynecol Oncol*, 2004, 93(3): 621-627.
- [7] Tsai CH, Yang CC, Chou LS, et al. The correlation between alternation of p16 gene and clinical status in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2001, 30(9): 527-531.
- [8] Kurshumliu F, Thorns C, Gashi-Luci L. p16INK4A in routine practice as a marker of cervical epithelial neoplasia[J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 115(1): 127-131.
- [9] Mulvany NJ, Allen DG, Wilson SM. Diagnostic utility of p16INK4a: a reappraisal of its use in cervical biopsies[J]. *Pathology*, 2008, 40(4): 335-344.
- [10] Jedpiyawongse A, Homcha-em P, Karalak A, et al. Immunohistochemical overexpression of p16 protein associated with cervical cancer in Thailand[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2008, 9(4): 625-630.
- [11] Muñoz N, Bosch FX, Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(6): 518-527.
- [12] Yarbrough WG, Whigham A, Brown B, et al. Phosphoinositide kinase-3 status associated with presence or absence of human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinomas[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, 69(2 Suppl): S98-101.
- [13] Lakshmi S, Rema P, Somanathan T. p16ink4a is a surrogate marker for high-risk and malignant cervical lesions in the presence of human papillomavirus[J]. *Pathobiology*, 2009, 76(3): 141-148.
- [14] Lin ZH, Shen XH, Jin Z, et al. Human papillomavirus genotyping by oligonucleotide microarray and p16 expression in uterine cervical intraepithelial neoplasm and in invasive carcinoma in Korean women[J]. *Pathol Int*, 2005, 55(8): 491-496.
- [15] Zhao XL, Cheng SX, Kong XD. Expression and Significance of p16^{INK4A} and PTEN in High-risk Human Papillomavirus-related Cervical Cancer[J]. *Chin J Cancer*, 2007, 26(5): 480-483.

[赵先兰,程淑霞,孔祥东. P16^{INK4A}和 PTEN 在高危型 HPV 相关宫颈癌组织中的表达及意义[J]. 癌症, 2007, 26(5): 480-483.]

[编辑:刘红武;校对:安 凤]