

• 论 著 •

宫颈病变组织中 Ki-67、NF-κB 的表达与 HPV 感染的相关性研究

公维国¹, 徐金丽²

(1. 临沂市蒙阴县人民医院, 山东临沂 276200; 2. 青岛即墨市人民医院, 山东青岛 266200)

摘要:目的 探讨宫颈病变组织中 Ki-67 抗原(Ki67)、核转录因子 κB(NF-κB)的表达与人乳头瘤病毒(HPV)感染的相关性。方法 选取 2015 年 1 月至 2017 年 1 月在蒙阴县人民医院行手术切除或宫颈活检患者 70 例(宫颈标本 70 例)为研究对象,采用免疫细胞化学染色法检测病变组织 Ki-67、NF-κB 及增殖细胞核抗原(PCNA)的表达,并进行 Spearman 秩相关分析。结果 Ki-67、NF-κB 及 PCNA 在宫颈上皮内瘤变(CIN)和子宫颈浸润性鳞癌组织中的表达率显著高于慢性宫颈炎组织,差异具有统计学意义($P < 0.05$);Spearman 秩相关分析显示,Ki-67($r = 0.582, P < 0.05$)和 NF-κB($r = 0.603, P < 0.05$)与 PCNA 表达呈正相关,Ki-67 ($r = 0.601, P < 0.05$)、NF-κB($r = 0.596, P < 0.05$)和 PCNA($r = 0.647, P < 0.05$)与 HPV 感染呈正相关。结论 Ki-67、NF-κB 在不同宫颈病变组织中的阳性表达率具有差异,且与 HPV 感染相关,其可能参与宫颈病变过程,可以作为宫颈疾病的鉴别、诊断及评估指标。

关键词:宫颈病变; Ki-67 抗原; 核转录因子 κB; 增殖细胞核抗原; HPV 感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.18.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)18-2576-04

Study on the expression of Ki-67 and NF-κB in cervical lesion and their correlation with HPV infection

GONG Weiguo¹, XU Jinli²

(1. Mengyin People's Hospital, Linyi, Shandong 276200, China; 2. Jimo People's Hospital, Qingdao, Shandong 266200, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of Ki-67 and NF-κB in cervical lesion and their correlation with HPV infection. Methods 70 cases with surgically resected or cervical biopsy (70 cases cervical specimens) were selected as the research object from January 2015 to January 2017 in our hospital. The expression of Ki-67, NF-κB and PCNA were detected by immune cell chemical dyeing method, and making the correlation analysis by Spearman. Results The expression rate of Ki-67, NF-κB and PCNA in CIN and cervical invasive squamous carcinoma tissues were significantly higher than that of chronic cervicitis tissues. Spearman rank correlation analysis showed, there was a positively correlation of Ki-67 and PCNA ($r = 0.582, P < 0.05$), there was a positively correlation of NF-κB and PCNA ($r = 0.603, P < 0.05$), there was a positively correlation of Ki-67 and HPV infection ($r = 0.601, P < 0.05$), there was a positively correlation of NF-κB and HPV infection ($r = 0.596, P < 0.05$), here was a positively correlation of PCNA expression and HPV infection ($r = 0.647, P < 0.05$). Conclusion There is a difference of positive expression rate of Ki-67, NF-κB in different cervical lesions organizations, and Ki-67, NF-κB are associated with HPV infection, they might be involved in cervical lesions in the process, could be used as indexes for identification of cervical disease, diagnosis and evaluation.

Key words: cervical lesion; anti-Ki-67; NF-κB; PCNA; HPV infection

宫颈癌是一种临床常见的女性妇科恶性肿瘤,目前,研究认为宫颈上皮内瘤变(CIN)和人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌发生、发展的主要因素^[1-3]。Ki-67 抗原(Ki-67)是一种与增殖细胞相关的核抗原,其作为细胞增殖状态的标记抗原,阳性表达则反映癌细胞增殖活跃^[4-5]。核转录因子 κB(NF-κB)作为一种转录调控因子,在细胞中能够特异性结合 DNA,进而参与 RNA 转录过程,从而调控细胞周期,因此,认为其参与肿瘤形成^[6-7]。增殖细胞核抗原(PCNA)是一种细胞核内合成的蛋白质,其表达水平能够反映 DNA 的合成状况,因此,其可以用于评价细胞增殖^[8-9]。本研究选取在蒙阴县人民医院行手术切除或宫颈活检患者(宫颈标本 70 例)为研究对象,采用免疫细胞化学染色法检测 Ki-67、NF-κB 及 PCNA 的表达水平,探讨宫颈病变组织中 Ki-67、NF-κB 的表达与 HPV 感染的相关性,为临床诊断、治疗提供可靠依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2017 年 1 月在蒙阴县人民医院行手术切除或宫颈活检患者(宫颈标本 70 例)为研究对象,年龄 25~63 岁,平均 (45.62±5.48) 岁。其中慢性宫颈炎

14 例, CIN 37 例(CIN I 20 例, CIN II 13 例, CIN III 4 例),子宫颈浸润性鳞癌 19 例(I a 期 3 例, I b 期 6 例, II a 期 6 例, II b 期 4 例)。纳入标准:(1)确诊为 CIN I 以上患者;(2)无急性妇科炎症;(3)未行化学、免疫及放射治疗;(4)临床、病理资料完整。本研究获医院伦理委员会批准,所有患者自愿签署知情同意书。

1.2 方法 对病变组织进行石蜡包埋切片,采用免疫细胞化学染色法检测 Ki-67、NF-κB 及 PCNA 的表达。

1.3 仪器与试剂 显微镜 IX73(日本奥林巴斯),载玻片及盖玻片均购自江苏世泰实验器材有限公司, DAB 显色试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]货号 PA110、PCNA 鼠抗人单克隆抗体(上海新肽生物科技有限公司)、Ki-67 兔抗人单克隆抗体(上海沪峰化工有限公司)、NF-κB 鼠抗人单克隆抗体(上海康朗生物科技有限公司)、HPV 检测试剂盒[研域(上海)化学试剂有限公司]。

1.4 结果判断 每张切片取 3 个不重叠的视野,观察每个视野中的 1 000 个细胞,计算阳性细胞数百分率的平均值。NF-κB 及 PCNA 的阳性表达结果表现为细胞核染色呈棕黄色, Ki-

67 的阳性表达结果表现为细胞质、细胞核染色呈棕黄色。阳性细胞数百分率分为 4 个等级: 0~<10% 计为 -, 10%~<25% 计为 +, 25%~<50% 计为 ++, ≥50% 为 +++。

1.5 统计学处理 采用软件 SPSS20.0 进行数据统计分析, 计数资料以率 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验, 相关性采用 Spearman 秩相关分析, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Ki-67 在宫颈病变组织的表达 Ki-67 在 CIN 和子宫颈浸润性鳞癌组织中的表达率显著高于慢性宫颈炎组织, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。Ki-67 在不同宫颈病变组织中的免疫组化结果见图 1~3。

表 1 Ki-67 在宫颈病变组织的表达

类别	n	Ki-67(n)				阳性率 (%)
		-	+	++	+++	
慢性宫颈炎	14	7	4	2	1	50.00
CIN	37	7	14	8	7	81.08
CIN I	20	4	9	4	3	80.00
CIN II	13	3	5	4	4	76.92
CIN III	4	0	1	2	1	100.00
子宫颈浸润性鳞癌	19	0	2	11	6	100.00
I a 期	3	0	1	1	1	100.00
I b 期	6	0	1	3	2	100.00
II a 期	6	0	0	4	2	100.00
II b 期	4	0	0	3	1	100.00

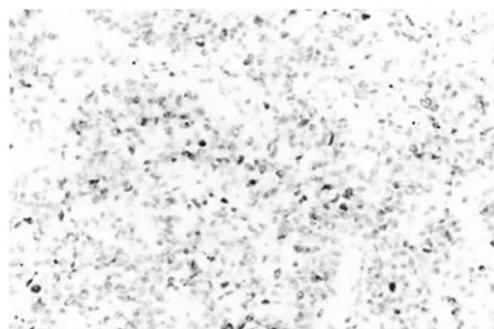


图 3 Ki-67 在宫颈鳞癌组织中的表达 (×200)

2.2 NF-κB 在宫颈病变组织的表达 NF-κB 在 CIN 和子宫颈浸润性鳞癌组织中的表达率显著高于慢性宫颈炎组织, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 2。NF-κB 在 CIN 及宫颈鳞癌组织中的免疫组化结果见图 4~5。

表 2 NF-κB 在宫颈病变组织的表达

类别	n	NF-κB(n)				阳性率 (%)
		-	+	++	+++	
慢性宫颈炎	14	8	3	2	1	42.86
CIN	37	13	6	3	15	64.86
CIN I	20	9	4	2	5	55.00
CIN II	13	3	2	0	8	76.92
CIN III	4	1	0	1	2	75.00
子宫颈浸润性鳞癌	19	5	3	5	6	73.68
I a 期	3	1	0	1	1	66.67
I b 期	6	2	1	1	2	66.67
II a 期	6	1	1	2	2	83.33
II b 期	4	1	1	1	1	75.00

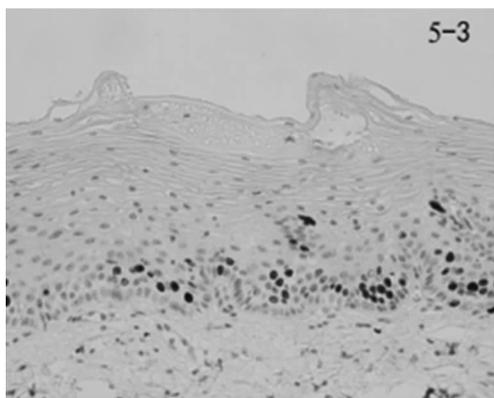


图 1 Ki-67 在慢性宫颈炎组织中的表达 (×400)

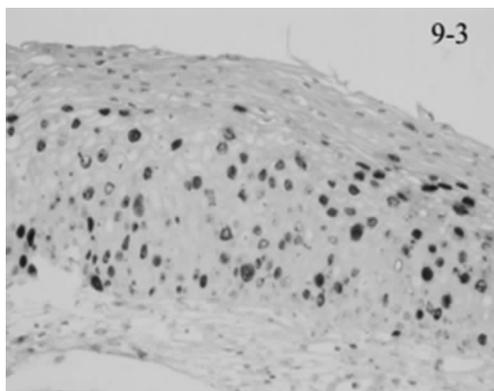


图 2 Ki-67 在 CIN 组织中的表达 (×400)

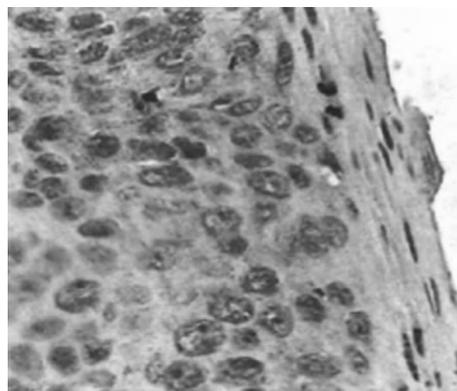


图 4 NF-κB 在 CIN 组织中的表达 (×40)

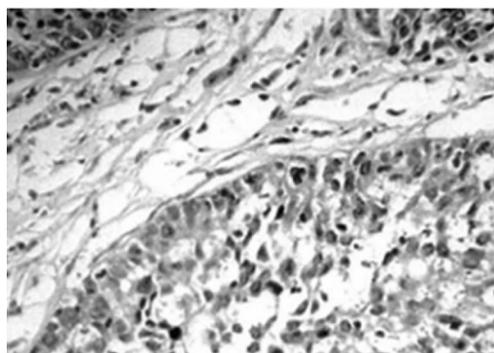


图 5 NF-κB 在宫颈癌组织中的表达 (×400)

2.3 PCNA 在宫颈病变组织的表达 PCNA 在 CIN 和子宫颈浸润性鳞癌组织中的表达率显著高于慢性宫颈炎组织, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 见表 3。PCNA 在 CIN 及宫颈鳞癌组织中的免疫组化结果见图 6~7。

表 3 PCNA 在宫颈病变组织的表达

类别	n	PCNA(n)				阳性率 (%)
		-	+	++	+++	
慢性宫颈炎	14	7	5	2	0	50.00
CIN	37	4	18	9	6	89.19
CIN I	20	3	12	4	1	85.00
CIN II	13	1	6	3	3	92.31
CIN III	4	0	1	2	1	100.00
子宫颈浸润性鳞癌	19	0	0	14	5	100.00
I a 期	3	0	0	2	1	100.00
I b 期	6	0	0	4	2	100.00
II a 期	6	0	0	5	1	100.00
II b 期	4	0	0	3	1	100.00

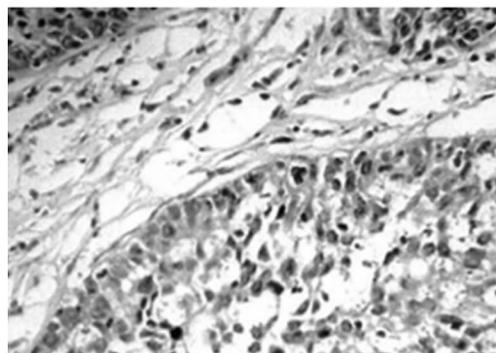


图 6 PCNA 在 CIN 中的表达(×200)

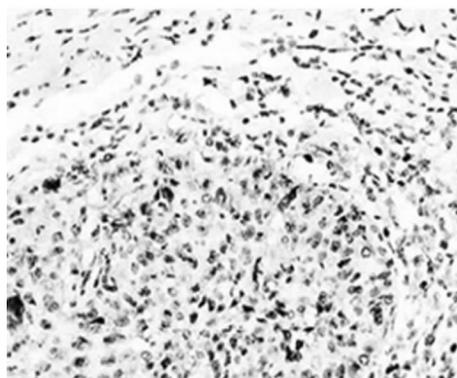


图 7 PCNA 在宫颈鳞癌组织中的表达(×200)

2.4 Ki-67、NF-κB 与 PCNA 表达的相关性 Spearman 秩相关分析结果显示, PCNA 表达与 Ki-67($r = 0.582, P < 0.05$)和 NF-κB($r = 0.603, P < 0.05$)呈正相关。

2.5 Ki-67、NF-κB 及 PCNA 与 HPV 感染的相关性 Spearman 秩相关分析结果显示, HPV 感染与 Ki-67($r = 0.601, P < 0.05$)、NF-κB($r = 0.596, P < 0.05$)和 PCNA($r = 0.647, P < 0.05$)表达呈正相关。

3 讨 论

宫颈病变是指在宫颈区域发生的各种病变, 其包括宫颈癌、HPV 亚临床感染等。宫颈癌的发生、发展与 CIN 和 HPV 感染有关。目前, 研究认为长期、持续性的 HPV 感染可能发展为宫颈癌, 而单纯的一过性 HPV 感染不会引起机体宫颈上皮发生癌变^[10]。根据机体宫颈黏膜上皮层次和 CIN 异型增殖

细胞分类, 可以将宫颈癌前病变分为 CIN I、CIN II 和 CIN III 3 个等级^[11]。由于 CIN 分级是根据上皮方向垂直位置的病理性核分裂象情况, 但是不同位置上的细胞以及上皮之间的差异只是数量上的变化, 而非性质上的差异。因此, 需要有效的诊断方式区分 CIN 病变和良性反应性增生, 从而减少误诊和漏诊。

Ki-67 在增殖细胞中, 参与调控细胞周期, 并且能够识别肿瘤细胞和正常细胞, 因此, 其可以作为细胞增殖的标记指标, 用于评估细胞的增生程度。研究报道, Ki-67 在宫颈癌活检组织中表达异常, 参与肿瘤的发生、发展、浸润、分期及转移^[12]。本研究结果显示, Ki-67 在 CIN 和子宫颈浸润性鳞癌组织中的表达率显著高于慢性宫颈炎组织, 且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。提示 Ki-67 表达增强与癌细胞增殖有关。

NF-κB 作为一种多功能转录因子, 能够调节多种基因的表达, 参与肿瘤的发生、发展。研究表明, NF-κB 能够抑制内皮细胞凋亡, 从而促进血管再生, 而新血管生成与肿瘤细胞增殖有关, 因此, NF-κB 促进肿瘤增生^[13]。本研究结果显示, NF-κB 在 CIN 和子宫颈浸润性鳞癌组织中的表达率显著高于慢性宫颈炎组织, 且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。提示 NF-κB 表达增强与癌细胞增殖有关。

研究表明, PCNA 与肿瘤临床分期、病理组织分级等相关, 因此可用于研究肿瘤细胞动力学^[14]。本研究结果显示, PCNA 在 CIN 和子宫颈浸润性鳞癌组织中的表达率显著高于慢性宫颈炎组织, 且差异具有统计学意义($P < 0.05$)。提示 PCNA 表达增强与癌细胞增殖有关。

Ki-67 在 G0 期以外, 各细胞增殖周期均有表达, 因而可以评判细胞的增生程度; NF-κB 则可以诱导相关基因的转录, PCNA 在细胞增殖的启动上可以发挥作用。而癌细胞的异常增殖常涉及正常细胞周期的调节失控, 相应遗传物质的复制、转录和翻译等。而以上指标可以作用于癌细胞增殖的不同阶段, 因而对于宫颈病变具有一定的诊断价值。

本研究结果显示, Ki-67、NF-κB 与 PCNA 表达呈正相关, 提示 Ki-67、NF-κB 与 PCNA 可联合用于检测宫颈病变情况, 提高诊断的敏感性。研究报道高危型 HPV 的 E7 癌蛋白能够使 PCNA 所依赖的 DNA 复制发生紊乱, 从而使 PHV 表达呈强阳性^[15]。本研究结果显示, Ki-67、NF-κB、PCNA 表达与 HPV 感染呈正相关。提示 Ki-67、NF-κB、PCNA 表达增强与 HPV 感染、宫颈癌诊断具有参考价值。推测在宫颈病变过程中, 伴随着肿瘤细胞增殖能力显著增强, 使得 Ki-67、NF-κB 及 PCNA 的表达量异常, 从而表现为 CIN 和 HPV 感染。

综上所述, Ki-67、NF-κB 在不同宫颈病变组织中的阳性表达率具有差异, 且与 HPV 感染相关, 其可能参与宫颈病变过程, 可以作为宫颈疾病的鉴别、诊断及评估指标。但是本研究纳入的样本数较少, 有待进一步大样本数据研究。

参考文献

[1] 曾新, 韩一栩, 吴丽香. HPV 在宫颈炎、宫颈癌前病变、宫颈癌中的检测意义分析[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(1): 127-128.
 [2] 程静新, 姚立丽, 李贺月, 等. 5 766 例宫颈癌临床特征分析[J]. 实用妇产科杂志, 2014, 30(10): 768-772.
 [3] 傅祝能, 吴荣辉, 孙海芳, 等. HPV 感染、宫颈炎、CIN 及宫颈癌患者的宫颈黏膜脱落细胞端粒酶定量研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2014, 28(1): 23-25.
 [4] Singh C, Manivel JC, Truskinovsky AM. (下转第 2581 页)

综上所述, VEGF 和 bFGF 在溃疡的愈合中发挥着重要的作用, 临床可以围绕这两种分子开展工作, 阐明其发挥修复作用的具体机制, 揭示其可能存在的相互作用分子, 可以为药物的研发及临床的诊断和治疗提供新的依据。

参考文献

- [1] Holland-Bill L, Christiansen CF, Gammelager H, et al. Chronic liver disease and 90-day mortality in 21,359 patients following peptic ulcer bleeding—a Nationwide Cohort Study[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2015, 41(6): 564-572.
- [2] Ng CT, Yip WK, Mohtarrudin N, et al. Comparison of invasion by human microvascular endothelial cell lines in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF) in a three-dimensional (3D) cell culture system [J]. *Malays J Pathol*, 2015, 37(3): 219-225.
- [3] Fleig WE, Stange EF, Winkler K. Is there a hepatogenic ulcer: prospective study of the incidence of peptic ulcer in portal hypertension[J]. *J Gastroenterol*, 1987, 25(Suppl 3): S47-51.
- [4] Bang CS, Baik GH, Kim JH, et al. Peptic ulcer disease in liver cirrhosis and chronic hepatitis; impact of portal hypertension[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2014, 49(9): 1051-1057.
- [5] Trebicka J, Wix C, Von Heydebrand M, et al. Expression of vasoactive proteins in gastric antral mucosa reflects vascular dysfunction in patients with cirrhosis and portal hypertension[J]. *Liver Int*, 2015, 35(4): 1393-1402.
- [6] Mclelland SM, Lunn KF, Duncan CG, et al. Relationship among serum creatinine, serum gastrin, calcium-phosphorus product, and uremic gastropathy in cats with chronic kidney disease[J]. *J Vet Intern Med*, 2014, 28(3): 827-837.
- [7] Seow JG, Lim YR, Shelat VG. Low serum albumin May predict the need for gastric resection in patients with perforated peptic ulcer[J]. *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2016, 11(2): 1-6.
- [8] Herkel J. Regulatory T cells in hepatic immune tolerance and autoimmune liver diseases[J]. *Dig Dis*, 2015, 33(Suppl 2): S70-74.
- [9] Chang SS, Hu HY. H. pylori eradication lower ulcers in cirrhosis[J]. *J Dig Dis*, 2014, 15(8): 451-458.
- [10] Du Y, Zhao W, Lu L, et al. Study on the antiulcer effects of *Veronicastrum axillare* on gastric ulcer in rats induced by ethanol based on tumor necrosis factor- α (TNF- α) and endothelin-1 (ET-1)[J]. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2013, 3(12): 925-930.
- [11] Tanaka M, Kanazashi M, Maezawa T, et al. Abnormalities in three-dimensional capillary architecture and imbalance between vascular endothelial growth factor-A and thrombospondin-1 in soleus muscle of ovariectomized rat[J]. *Acta Histochem*, 2015, 117(7): 605-611.
- [12] Tarnawski AS, Ahluwalia A, Jones MK. Angiogenesis in gastric mucosa; an important component of gastric erosion and ulcer healing and its impairment in aging[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(Suppl 4): S112-123.
- [13] Guo ZY, Yao GD, Fu LP, et al. Effect of recombinant human endostatin on the expression of c-Myc and bFGF in mouse gastric cancer cells[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 5258-5265.

(收稿日期: 2017-03-02 修回日期: 2017-05-12)

(上接第 2578 页)

- et al. Variability of pathologists' utilization of p16 and Ki-67 immunostaining in the diagnosis of cervical biopsies in routine pathology practice and its impact on the frequencies of cervical intraepithelial neoplasia diagnoses and cytohistologic correlations[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2014, 138(1): 76-87.
- [5] 马莉娟, 何金彩, 柴泽英. 细胞分化抑制因子-1 与细胞增殖核抗原 Ki-67 在宫颈癌中的表达及相关性研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(8): 627-630.
- [6] Ma XF, Zhang J, Shuai HL, et al. IKK beta/NF-kappa B mediated the low doses of bisphenol A induced migration of cervical cancer cells[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2015, 573: 52-58.
- [7] Yuan J, Wu CF, Huang ML, et al. TSP50 depends on its threonine protease activity and its interactions with TNF- α -induced NF- κ B for its role in human cervical tumorigenesis[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71(2): 891-896.
- [8] Park JM, Yang SW, Yu KR, et al. Modification of PCNA by ISG15 plays a crucial role in termination of Error-Prone translesion DNA synthesis[J]. *Mol Cell*, 2014, 54(4): 626-638.
- [9] Unek G, Ozmen A, Mendilcioglu I, et al. Immunohistochemical distribution of cell cycle proteins p27, p57, cyclin D3, PCNA and Ki67 in normal and diabetic human placentas[J]. *J Mol Histol*, 2014, 45(1): 21-34.
- [10] 杨燕芬, 邱毅, 佟雁, 等. HPV 多重感染与宫颈病变的关系研究[J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(2): 254-256.
- [11] 徐静, 李磊, 张丽, 等. 不同 CIN 分级宫颈病变组织中 hTERT 基因表达及意义[J]. *山东医药*, 2014, 54(14): 43-45.
- [12] 魏聪, 刘远程, 王友强, 等. 宫颈病变中 PCNA、Ki-67 的表达及其与 HPV 感染的相关性分析[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(22): 3873-3876.
- [13] 付敏, 杨彪, 杨宗桥. 人乳头状瘤病毒感染与宫颈病变临床价值的研究[J]. *中国妇幼保健*, 2014, 29(18): 2875-2877.
- [14] 金士杰, 陶秀坤, 李存肖, 等. P16 表达与宫颈病变的相关性及临床意义[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(18): 2944-2945.
- [15] 董永学. 宫颈病变 PCNA、Ki-67 表达检测及其与 HPV 感染相关性研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(21): 3083-3085.

(收稿日期: 2017-02-21 修回日期: 2017-05-02)