

• 论 著 •

端粒酶协同蛋白 1 在宫颈鳞状上皮病变组织中的表达情况 及其与高危型 HPV E6/E7 的相关性分析*

陈娟¹, 冯俊明^{1△}, 李明松¹, 童阔¹, 何福果¹, 徐开梅¹, 姚海波²

1. 重庆市璧山区人民医院病理科, 重庆 402760; 2. 四川省成都市妇女儿童中心医院
病案统计室, 四川成都 611731

摘要:目的 探讨端粒酶协同蛋白(TP1)在宫颈鳞状上皮病变组织中的表达情况及其与高危型人乳头瘤病毒(HPV)E6/E7 的相关性。方法 选取 2018 年 12 月至 2019 年 12 月在重庆市璧山区人民医院行高危型 HPV E6/E7 mRNA 检测, 结果为阳性且进行过宫颈病理学检查的 141 例患者作为研究对象。以病理检查结果将上述患者分为 5 组, 即慢性宫颈炎组、宫颈上皮内瘤变(CIN) I 组、CIN II 组、CIN III 组及鳞状细胞癌(SCC)组。对这 5 组患者的病理组织标本进行 TP1 免疫组织化学染色, 分析 TP1 的表达强度与 HPV E6/E7 mRNA 的相关性。结果 CIN I、CIN II、CIN III、SCC 组的 TP1 阳性率均高于慢性宫颈炎组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。TP1 的表达强度与宫颈鳞状上皮病变严重程度呈正相关(Kendall's tau-b = 0.592, $P < 0.05$)。CIN II 组的 HPV E6/E7 mRNA S/CO 值高于 CIN I 组, 差异有统计学意义($H = 29.842$, $P < 0.05$)。TP1 的表达强度与 HPV E6/E7 mRNA S/CO 值无相关性($H = 1.783$, $P > 0.05$)。结论 宫颈鳞状上皮病变组织中, TP1 的表达强度随着宫颈鳞状上皮病变严重程度的增加而增加, 提示 TP1 可能起着促肿瘤形成的作用, 但其作用机制可能与 HPV E6/E7 无关。

关键词: 端粒酶协同蛋白 TP1; 宫颈鳞状上皮; 高危型人乳头瘤病毒

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.06.017

中图法分类号: R737.33

文章编号: 1673-4130(2022)06-0717-04

文献标志码: A

The expression of telomerase associated protein 1 in cervical squamous epithelial lesions and its correlation with high-risk HPV E6/E7*

CHEN Juan¹, FENG Junming^{1△}, LI Mingsong¹, TONG Kuo¹, HE Fuguo¹, XU Kaimei¹, YAO Haibo²

1. Department of Pathology, Bishan People's Hospital, Chongqing 402760, China; 2. Medical Records
Statistics Office, Chengdu Women's and Children's Central Hospital, Chengdu, Sichuan 611731, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression of human telomerase associated protein 1 (TP1) in cervical squamous epithelial neoplasia and its correlation with high-risk human papillomavirus (HPV) E6/E7. **Methods** A total of 141 patients who were positive for high-risk HPV E6/E7 mRNA and had undergone cervical biopsy in Bishan People's Hospital from December 2018 to December 2019 were enrolled in the study. They were divided into 5 groups according to the results of tissue examination: chronic cervicitis group, cervical intraepithelial neoplasia(CIN) I group, CIN II group, CIN III group and squamous cell carcinoma (SCC) group. TP1 immunohistochemical staining was performed on the pathological tissue samples of these 5 groups of patients, and the correlation between the expression intensity of TP1 and HPV E6/E7 mRNA was analyzed. **Results** The positive rates of TP1 in the CIN I, CIN II, CIN III, SCC groups were higher than those in the chronic cervicitis group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The expression intensity of TP1 was positively correlated with the severity of cervical squamous epithelial lesions (Kendall's tau-b = 0.592, $P < 0.05$). The HPV E6/E7 mRNA S/CO value of CIN II group was higher than that of CIN I group, and the difference was statistically significant ($H = 29.842$, $P < 0.05$). The expression intensity of TP1 was not correlated with the HPV E6/E7 mRNA S/CO value ($H = 1.783$, $P > 0.05$). **Conclusion** In cervical squamous epithelial lesions, the expression intensity of TP1 increases with the severity of cervical squamous epithelial lesions, suggesting that TP1 may play a role in promoting tumor formation, but its mechanism

* 基金项目: 重庆市自然科学基金联合实施项目(cstc2019jcyj-msxmX0804)。

作者简介: 陈娟, 女, 主治医师, 主要从事癌干细胞的相关研究。△ 通信作者, E-mail: 1145167096@qq.com。

本文引用格式: 陈娟, 冯俊明, 李明松, 等. 端粒酶协同蛋白 1 在宫颈鳞状上皮病变组织中的表达情况及其与高危型 HPV E6/E7 的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(6): 717-719.

may be not directly related to HPV E6/E7.

Key words:telomerase associated protein 1; cervical squamous epithelium; high-risk human papilloma-virus

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一,研究已经证实宫颈上皮持续感染高危型人乳头瘤病毒(HPV)是导致宫颈癌发生发展的最主要原因^[1]。高危型 HPV 的持续感染最终导致宫颈上皮内环境发生改变,如抑癌基因的失活、相关癌基因的激活、端粒酶的高表达等^[2-3],最终导致宫颈上皮细胞异常增生、癌变。端粒酶活化与细胞分裂、增殖及永生化紧密相关,在肿瘤的发生发展中起重要作用。端粒酶是一种由人端粒酶 RNA 组分(hTERC)、人端粒酶反转录酶(hTERT)及端粒酶协同蛋白 1(TP1)3 部分亚基构成的具有反转录酶活性的核糖核蛋白。端粒酶被激活后,可促使 hTERC、hTERT 及端粒酶相关蛋白异常表达,细胞发生永生化,最终导致肿瘤的发生^[4-5]。有研究报道,hTERC 及 hTERT 的激活与宫颈癌的发生发展具有显著相关性,并与宫颈上皮内瘤变(CIN)的严重程度呈正相关^[6-8]。但国内关于 TP1 与 CIN 变相关性的报道较少。本研究探讨了 TP1 在宫颈鳞状上皮病变组织中的表达情况,分析了 TP1 表达与 HPV E6/E7 的相关性,旨在为临床判断 CIN 级别提供有价值的实验室检测指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用回顾性研究的方法,将 2018 年 12 月至 2019 年 12 月在重庆市璧山区人民医院行高危型 HPV E6/E7 mRNA 检测,结果为阳性且进行过宫颈病理学检查的患者纳入研究。纳入标准:宫颈病理组织标本直径>2 mm。排除标准:宫颈病理组织标本直径<2 mm 且富含大量黏液,不适宜做病理诊断及免疫组织化学染色的标本。经过筛选,本研究共纳入 141 例患者,年龄 17~75 岁。以组织病理学检测结果将纳入研究的患者分为 5 组:慢性宫颈炎组 19 例、CIN I 组 24 例、CIN II 组 14 例、CIN III 组 44 例及鳞状细胞癌(SCC)组 40 例,各组间年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经该院伦理委员会审查通过,所提交的研究方案符合医学伦理原则和赫尔辛基宣言的各项要求。

1.2 方法

1.2.1 高危型 HPV E6/E7 mRNA 检测 高危型 HPV E6/E7 mRNA 检测试剂盒购自郑州科蒂亚生物技术有限公司,用于定性检测人宫颈上皮脱落细胞中 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68 型 HPV E6/E7 致癌基因片段 mRNA,操作步骤严格按照试剂盒说明书执行,若 S/CO 值 ≥ 1 ,则 HPV E6/E7 mRNA 检测结果为阳性。

1.2.2 TP1 免疫组织化学染色及结果判读 对 5 组患者的宫颈病理组织标本进行 TP1 免疫组织化学染

色,相关试剂和一抗 TP1 购买于 Santa Cruz 公司,通用型二抗购自福州迈新生物科技有限公司,操作步骤严格按试剂说明书执行。结果判读标准如下,阳性染色细胞:TP1 表达于染色质,呈棕色颗粒状;阴性:无阳性细胞;弱阳性(+):阳性染色细胞数 $\leq 25\%$;中阳性(++):阳性染色细胞数 $>25\%$ 且 $\leq 50\%$;强阳性(+++):阳性染色细胞数 $>50\%$ 。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计学分析。不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,两两比较采用 Bonferroni 校正 P 值;计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验,两两比较采用 χ^2 检验;有序分类变量之间的相关性分析选择 Kendall's tau-b 等级相关系数进行分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

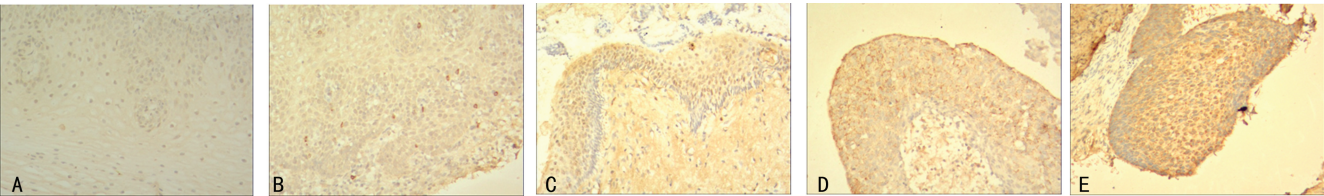
2.1 不同病变组间 TP1 阳性率比较 各组间 TP1 阳性率差异有统计学意义($\chi^2=28.432, P<0.001$),见表 1。两两比较显示,CIN I 组、CIN II 组、CIN III 组及 SCC 组的 TP1 阳性率均高于慢性宫颈炎组,差异均有统计学意义($P<0.05$);而 CIN I 组、CIN II 组、CIN III 组及 SCC 组间 TP1 阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 不同病变组间 TP1 阳性率比较				
组别	<i>n</i>	TP1 表达情况		
		阴性(<i>n</i>)	阳性(<i>n</i>)	阳性率(%)
慢性宫颈炎组	19	10	9	47.4
CIN I 组	24	3	21	87.5
CIN II 组	14	1	13	92.8
CIN III 组	44	0	44	100.0
SCC 组	40	0	40	100.0

2.2 TP1 与宫颈鳞状上皮病变严重程度的相关性 TP1 的表达强度与宫颈鳞状上皮病变严重程度呈正相关(Kendall's tau-b=0.592, $P<0.001$)。各组病理组织 TP1 染色情况见图 1。

2.3 各组间 HPV E6/E7 mRNA 表达情况 各组间 HPV E6/E7 mRNA S/CO 值比较差异有统计学意义($H=10.806, P<0.05$),进一步两两比较显示,CIN II 组的 S/CO 值高于 CIN I 组,差异有统计学意义($H=29.842, P<0.05$),见表 2。

2.4 TP1 的表达强度与 HPV E6/E7 mRNA S/CO 值的相关性分析 TP1 表达强度与对应的 HPV E6/E7 mRNA S/CO 值之间无相关性($H=1.783, P>0.05$),见表 3。



注:A 为慢性宫颈炎组结果为阴性的标本;B 为 CIN I 组结果为+的标本;C 为 CIN II 组结果为++的标本;D 为 CIN III 组结果为+++的标本;E 为 SCC 组结果为+++的标本。

图 1 TP1 在不同宫颈上皮病变中的免疫组化结果

表 2 HPV E6/E7 mRNA S/CO 值在 5 组间的比较

$[M(P_{25}, P_{75})]$

组别	n	S/CO 值
慢性宫颈炎组	19	12.90(11.53, 17.80)
CIN I 组	24	10.67(9.09, 14.97)
CIN II 组	14	14.45(12.30, 19.69)*
CIN III 组	44	11.46(10.77, 13.60)
SCC 组	40	10.96(11.23, 14.11)

注:与 CIN I 组比较, **P*=0.015。

表 3 不同 TP1 表达强度的 HPV E6/E7 mRNA S/CO 值比较结果分析

$[M(P_{25}, P_{75})]$

TP1 表达强度	n	S/CO 值
—	14	11.69(10.33, 18.01)
+	74	12.42(10.56, 15.33)
++	29	11.08(10.60, 12.87)
+++	24	13.48(10.72, 15.44)

3 讨 论

高危型 HPV 的持续感染可导致宫颈鳞状上皮细胞内 hTERT 及 hTERT 激活并参与调节酪氨酸蛋白酶信号传递,使端粒酶活性提高,促进 HPV E6/E7 的致癌作用,从而加快或加重 CIN 的发生、发展^[8-10]。有文献报道,端粒酶活性的提高还可见于乳腺癌、乳腺上皮癌、胃癌、卵巢癌组织^[11-13]。

TP1 作为组成端粒酶的亚基之一,在端粒酶的活化及肿瘤细胞形成过程中具有调节作用^[14]。赵瑞皎等^[15]在卵巢良性和恶性上皮性肿瘤中发现 TP1 的表达水平与端粒酶活性之间无明显相关性,但恶性上皮性肿瘤中 TP1 的表达强度高于卵巢良性上皮性肿瘤。宫颈鳞状上皮病变中 TP1 的表达情况目前鲜有报道。本研究表明,CIN I 组、CIN II 组、CIN III 组及 SCC 组 TP1 阳性率均高于慢性宫颈炎组,提示 TP1 可能参与了宫颈鳞状上皮异型增生及癌变过程,且 TP1 的表达强度与宫颈鳞状上皮病变严重程度呈正相关。因此,笔者推测 TP1 在宫颈鳞状上皮癌变过程中具有促肿瘤作用。

本研究还发现,CIN II 组 HPV E6/E7 mRNA S/CO 值高于 CIN I 组,而其余组间两两比较差异无统计学意义(*P*>0.05),提示 CIN I 组中的高危型 HPV 感染可能处于可逆阶段,此阶段由于人体的自身免疫作用能清除掉部分未被整合到宫颈上皮细胞内的

HPV DNA;而 CIN II 组中的高危型 HPV 感染可能已不可逆,人体自身清除病毒能力有限。而 HPV-DNA 复制增强,最终导致宫颈鳞状上皮高度异型增生乃至癌变^[16]。故在 CIN I 阶段清除或阻止 HPV DNA 与宫颈上皮细胞 DNA 整合对抑制 CIN 进一步发展至关重要。最新研究发现,当 HPV DNA 与人体细胞 DNA 发生整合以后,鳞状上皮癌变的风险明显增加,可表现出非 HPV 依赖性的癌变过程,在这个过程中其他促癌途径发挥着比 HPV E6/E7 更为重要的作用,如端粒酶的活化^[17]。

TP1 的表达程度随着宫颈鳞状上皮病变严重程度的增加而增加,提示 TP1 在宫颈鳞状上皮癌变过程中可能起着促肿瘤的作用,但 TP1 的表达与 HPV E6/E7 mRNA S/CO 值无相关性,这提示 TP1 的促肿瘤机制可能与 HPV E6/E7 无关,笔者推测其促肿瘤机制可能与端粒酶活性增加有关,但需要进行更深入的研究。

参考文献

[1] LIU Y, FAN P, YANG Y, et al. Human papillomavirus and human telomerase RNA component gene in cervical cancer progression[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):15926.

[2] NACHAJOVA M, BRANY D, DVORSKA D. Telomerase and the process of cervical carcinogenesis[J]. Tumour Biol, 2015, 36(10):7335-7338.

[3] NOWAK J A. Telomerase, cervical cancer, and human papillomavirus[J]. Clin Lab Med, 2000, 20(2):369-382.

[4] ANNUNZIATA C, PEZZUTO F, GREGGI S, et al. Distinct profiles of TERT promoter mutations and telomerase expression in head and neck cancer and cervical carcinoma[J]. Int J Cancer, 2018, 143(5):1153-1161.

[5] WIJAYA A B, HIDAYATULLAH F, SETYABUDHI V, et al. Profile of POT1 as telomerase shelterin component discriminates between cervical cancer and normal cervical cells[J]. Turk J Med Sci, 2017, 47(2):417-423.

[6] 任秀苗. 人乳头状病毒 E6 蛋白及人类端粒酶反转录酶在宫颈癌组织中的表达及其意义[J]. 肿瘤研究与临床, 2012, 4(24):274-276.

[7] TIWARI D, RAY DAS C, SULTANA R, et al. Impact of modulation of telomerase and cancer stem-cell marker OCT4 axis in cervical cancer pathogenesis with underlying HPV16 infection[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(4):2782-2791.

(下转第 725 页)

参考文献

[1] 白秀堂. 阿奇霉素联合头孢呋辛钠加氨溴索治疗儿童肺炎支原体肺炎临床观察[J]. 中国药物与临床, 2017, 17(11): 1676-1678.

[2] JO D S. Wanted: the best second option to treat macrolide-unresponsive Mycoplasmal pneumonia in children[J]. J Korean Med Sci, 2018, 33(43): e281.

[3] 袁玉屏, 倪军. 血清 PCT、CRP 检测对细菌性肺炎的诊断和病情评估的价值[J]. 医学临床研究, 2019, 35(7): 1393-1395.

[4] 王小娟, 施金俏, 匡跃敏. 降钙素原和血清淀粉样蛋白 A 检测在恶性血液病早期细菌感染中的意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(10): 1240-1243.

[5] 刘春国, 邵嘉佳, 王凌. 降钙素原联合临床肺部感染评分在非发酵杆菌呼吸机相关性肺炎中的应用[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(5): 761-763.

[6] HUBER B M, MEYER SAUTEUR P M, UNGER W W J, et al. Vertical transmission of Mycoplasma pneumoniae infection[J]. Neonatology, 2018, 114(4): 332-336.

[7] KALRA L, SMITH C J, HODSOLL J, et al. Elevated C-reactive protein increases diagnostic accuracy of algorithm-defined stroke-associated pneumonia in afebrile patients[J]. Int J Stroke, 2019, 14(2): 167-173.

[8] ABO-HAGAR H H, ABO-ELEZZ A A E, MEHREZ M, et al. Diagnostic efficacy of serum amyloid a protein and soluble intercellular adhesion molecule 1 in pediatric ventilator-associated pneumonia [J]. J Intensive Care Med,

2019, 34(6): 503-510.

[9] 张丽芳. 血清降钙素原和内毒素检测在感染性肺炎患儿诊断中的临床应用价值[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(7): 92-95.

[10] 查巍, 李林. SAA、CRP 与 WBC 联合检测对儿童急性呼吸道感染细菌与肺炎支原体感染的鉴别诊断价值[J]. 安徽医学, 2020, 41(4): 64-67.

[11] 富琤, 沙俊. 肺炎支原体 IgM、IgG 和血清 CRP、PCT 水平在小儿支原体肺炎诊疗中的检测价值[J]. 川北医学院学报, 2020, 35(2): 157-159, 182.

[12] ALCOPA G, KEITEL K, MASPOLI V, et al. A three-step diagnosis of pediatric pneumonia at the emergency department using clinical predictors, C-reactive protein, and pneumococcal PCR[J]. Eur J Pediatr, 2017, 176(6): 815-824.

[13] 罗明鑫, 华山, 魏文, 等. 支原体肺炎患儿血清中早期淀粉样蛋白 A 和 D-二聚体的水平及临床意义[J]. 中华全科医学, 2020, 18(5): 90-93.

[14] GUO S, MAO X, LIANG M. The moderate predictive value of serial serum CRP and PCT levels for the prognosis of hospitalized community-acquired pneumonia[J]. Respir Res, 2018, 19(1): 193.

[15] 关敏, 白雪梅. 几种常见炎症因子在小儿重症肺炎支原体肺炎中的临床意义[J]. 中国小儿急救医学, 2020, 27(5): 371-374.

(收稿日期: 2021-10-16 修回日期: 2022-01-21)

(上接第 719 页)

[8] 张晓莹. 宫颈癌中端粒酶的表达与 HPV E6/E7 基因的研究[J]. 河南科技大学学报(医学版), 2007, 26(1): 78-80.

[9] 金晓维, 毛高平, 周平, 等. 新的端粒酶相关蛋白 T-STAR 在胃癌组织中的表达[J]. 第四军医大学学报, 2007, 28(19): 1796-1798.

[10] VLIET-GREGG P A, ROBINSON K L, LEVAN J, et al. NFX1-123 is highly expressed in cervical cancer and increases growth and telomerase activity in HPV 16E6 expressing cells[J]. Cancer Lett, 2019, 449(1): 106-113.

[11] CHELLAPANDIAN P, MYNENI S, RAVIKUMAR D, et al. Knowledge on cervical cancer and perceived barriers to the uptake of HPV vaccination among health professionals[J]. BMC Womens Health, 2021, 21(1): 65.

[12] VISWANATH P, BATSIOS G, MUKHERJEE J, et al. Non-invasive assessment of telomere maintenance mechanisms in brain tumors[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 92.

[13] MINASI S, BALDI C, PIETSCH T, et al. Telomere elongation via alternative lengthening of telomeres (ALT) and telomerase activation in primary metastatic medullo-

blastoma of childhood[J]. J Neurooncol, 2019, 142(3): 435-444.

[14] MOSWEU M, MOTADI L, MOELA P. Investigating the effects of RBBP6 gene expression on telomerase activity in cervical cancer cells[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 10725-10734.

[15] 赵瑞皎, 李锦军, 苏兵, 等. 卵巢良性和恶性上皮性肿瘤中端粒酶蛋白表达及活性研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2001, 2(11): 161-165.

[16] AMADOR-MOLINA A, HERNANDEZ-VALENCIA JF, LAMOYI E, et al. Role of innate immunity against human papillomavirus (HPV) infections and effect of adjuvants in promoting specific immune response[J]. Viruses, 2013, 5(11): 2624-2642.

[17] RAKISLOVA N, ALEMANY L, CLAVERO O, et al. HPV-independent precursors mimicking high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) of the vulva[J]. Am J Surg Pathol, 2020, 44(11): 1506-1514.

(收稿日期: 2021-09-23 修回日期: 2021-12-31)