

宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白与 HR-HPV 病毒定量的关系

王萍, 吕美丹, 黄文娟

永康市妇幼保健院妇产科, 浙江 永康 321300

摘要: **目的** 研究宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白与高危型人乳头状瘤病毒(HR-HPV)病毒定量的关系。 **方法** 以 2016 年 3 月-2018 年 3 月永康市妇幼保健院收治的宫颈癌患者 79 例为研究对象,作为宫颈癌组。另取同期于该院接受治疗的宫颈低度鳞状上皮内病变(LSIL)与宫颈高度鳞状上皮内病变(HSIL)患者各 50 例,作为 LSIL 组与 HSIL 组。再取同期于该院接受子宫切除术治疗的良性病变患者 50 例作为对照组。分别采用免疫组织化学法检测不同组织中 hPygo2 蛋白表达情况,采用第二代杂交捕获技术(HC2)法检测研究组、LSIL 组与 HSIL 组 HR-HPV 病毒定量情况。并分析宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白与 HR-HPV 病毒定量的相关性。 **结果** 宫颈癌组、HSIL 组、LSIL 组以及对照组的组织中 hPygo2 蛋白阳性表达率分别为 87.34%(69/79)、72.00%(36/50)、28.00%(14/50)、12.00%(6/50),呈逐渐降低趋势,差异有统计学意义($\chi^2=91.144, P<0.05$)。宫颈癌组、HSIL 组、LSIL 组 HR-HPV 病毒阳性表达率分别为 97.46%(77/79)、92.00%(46/50)、64%(32/50),呈逐渐降低趋势,差异有统计学意义($\chi^2=31.290, P<0.05$)。经 Spearson 秩相关性分析可得:宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白和 HR-HPV 病毒定量存在正相关关系($r_s=0.683, P<0.01$)。 **结论** 宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白存在明显高表达,且与 HR-HPV 病毒定量存在正相关。临床工作中可通过对上述两项指标进行联合检测,从而有利于诊断宫颈癌。

关键词: 宫颈癌; hPygo2 蛋白; 高危型人乳头状瘤病毒; 病毒定量

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2019)06-0732-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2019.06.027

宫颈癌属于临床上最为常见的女性生殖系统恶性肿瘤之一,其具体发病机制迄今为止尚未完全明确^[1]。宫颈癌发病早期无典型症状,多数患者就诊时便已发展至中晚期,错过了手术根治的最佳时机,预后较差,严重威胁患者生命和健康安全^[2]。因此,宫颈癌的早期有效诊断极为重要,亦是目前国内外研究的热点。随着近年来相关研究的逐渐深入,越来越多的学者发现高危型人乳头状瘤病毒(high-risk human papillomavirus, HR-HPV)持续感染是引发宫颈上皮内瘤变以及宫颈癌的重要病因^[3]。HR-HPV 可能是通过病毒基因蛋白影响细胞正常周期,导致宿主细胞异常增殖,进而诱发癌变。另有研究报道表明^[4],人 Pygopus2(human Pygopus2, hPygo2)蛋白作为核蛋白之一,在多种肿瘤细胞中均存在明显的过表达,主要发挥调节组织发育、染色质重塑以及转录激活等生物学功能。迄今为止,临床上关于宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白与 HR-HPV 相关性的研究并不多见。鉴于此,本文通过研究宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白与 HR-HPV 病毒定量的关系,旨在为临床宫颈癌患者的早期诊断、治疗以及预后评估提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 对象 选取 2016 年 3 月-2018 年 3 月永康市妇幼保健院收治并确诊为宫颈癌患者 79 例作为研究对象,作为宫颈癌组。年龄 31~72 岁,平均年龄(47.32±10.32)岁。另取同期于该院接受治疗的宫颈低度鳞状上皮内病变(LSIL)与宫颈高度鳞状上皮内病变(HSIL)患者各 50 例,作为 LSIL 组与 HSIL 组。其中 LSIL 组年龄 29~73 岁,平均年龄(47.57±10.48)岁; HSIL 组年龄 30~76 岁,平均年龄(48.01±10.50)岁。再取同期于该院接受子宫切除术治疗的良性病变患者 50 例作为对照组,年龄 28~74 岁,平均年龄(47.62±10.37)岁。各组年龄对比,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。纳入标准:(1)所有患者均符合《ACS/ASCCP/ASCP 宫颈癌预防及早期诊断筛查指南解读》^[5]相关诊断标准;(2)所有患者均经手术取病理组织检查确诊;(3)入院前未接受任何相关治疗;(4)临床病历资料完整;(5)年龄≥18 周岁。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤者;(2)伴有免疫性疾病者;(3)既往接受过化疗、放疗以及激素治疗者;(4)存在精神疾病或交流沟通障碍者。所有患者已同意,且医院伦理委员会予以批准。

1.2 研究方法 不同组织中 hPygo2 蛋白表达情况采用免疫组织化学法检测,具体方式严格按照试剂盒说明书进行,试剂盒购自福州迈型公司。其中主要仪器

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2015KY684)

作者简介:王萍(1982-),女,浙江湖州人,本科学历,主治医师,主要从事妇产科工作。

与试剂包括 BX51 正置显微镜与摄片系统(日本 Olympus 公司)、兔抗人 hPygo2 单克隆抗体(购自美国 Abcam 公司);DAB 显色试剂盒(购自福州迈型公司)。以 PBS 代替一抗作为阴性对照组。采用第二代杂交捕获技术(hybridcapture, HC2)法检测研究组、LSIL 组与 HSIL 组 HR-HPV 病毒定量情况,具体方式如下:由该院妇产科医生采用专用细胞采集器采集标本,并定量检测 13 种 HPV-DNA(具体为:HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 型),将每份检测样本的相对光单位和标准阳性对照平均值的比值记为样本中 HPV-DNA 含量,检测值 ≥ 1 相对光单位/标准阳性对照平均值为阳性,将 HPV 定量分级: <1 相对光单位/标准阳性对照平均值组,1~100 相对光单位/标准阳性对照平均值组,100~1 000 相对光单位/标准阳性对照平均值组, ≥ 1 000 相对光单位/标准阳性对照平均值组。

1.3 评价标准 免疫组织化学结果对 hPygo2 蛋白阳性判定如下^[6]:于显微镜下观察细胞核是否出现棕黄色颗粒,如有即为阳性细胞,如无即为阴性细胞。由本院 2 名经验丰富的病理科医师通过双盲法进行评估阅片。随机选取每张切片 5 个高倍视野,每个视野包含细胞 100 个。综合切片中的阳性细胞作所有细胞中的占比以及细胞着色强度情况,对结果进行判定。切片中阳性细胞占比评估标准:阳性细胞占比低于 10%记为 0 分;阳性细胞占比在 11%~25%之间记为 1 分;阳性细胞占比在 26%~50%之间记为 2 分;阳性细胞占比在 51%~75%之间记为 3 分;阳性细胞占比在 75%以上记为 4 分。细胞染色强度评分标准:无着色记为 0 分,浅棕色记为 1 分,棕黄色记为 2 分,深棕黄色记为 3 分。将着色强度评分与阳性细胞占比评分的乘积作为最终结果:其中 0~1 分记为阴性,2 分记为弱阳性,3~4 分记为阳性, ≥ 5 分记为强阳性。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 20.0 软件进行数据分析。观测资料主要为计数数据,组间比较采用卡方检验。hPygo2 蛋白与 HR-HPV 病毒定量的关系予以 Spearson 秩相关性分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织中 hPygo2 蛋白表达情况对比 宫颈癌组、HSIL 组、LSIL 组以及对照组的组织中 hPygo2 蛋白阳性表达率呈逐渐降低趋势,差异有统计学意义($\chi^2=91.144, P<0.05$),见表 1。

2.2 宫颈癌组、HSIL 组、LSIL 组 HR-HPV 病毒定量

情况对比 宫颈癌组、HSIL 及 LSIL 组 HR-HPV 病毒定量阳性表达率呈逐渐降低趋势,差异有统计学意义($\chi^2=31.290, P<0.05$),见表 2。

表 1 不同组别中 hPygo2 蛋白表达情况对比(例,%)

组别	例数	阴性	弱阳性	阳性	强阳性	阳性表达率(%)
宫颈癌组	79	10	18	21	30	69(87.34) ^{ab}
HSIL 组	50	14	10	15	11	36(72.00) ^b
LSIL 组	50	36	10	4	0	14(28.00)
对照组	50	44	6	0	0	6(12.00)

注:与 HSIL 组相比, a $P<0.001$;与 LSIL 组相比, b $P<0.001$ 。

表 2 宫颈癌组、HSIL 组、LSIL 组 HR-HPV 病毒定量情况对比($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	HR-HPV 定量 (相对光单位/标准阳性对照平均值)				阳性表达率(%)
		<1	1~100	100~1 000	≥ 1 000 组	
宫颈癌组	79	2	11	37	29	77(97.46) ^a
HSIL 组	50	4	17	16	13	46(92.00) ^a
LSIL 组	50	18	15	11	6	32(64.00)

注:与 LSIL 组相比, a $P<0.001$ 。

2.3 宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白和 HR-HPV 病毒定量的相关性分析 经 Spearson 秩相关性分析可得:79 例宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白与 HR-HPV 病毒定量存在正相关关系($r_s=0.683, P=0.000$)。见图 1。

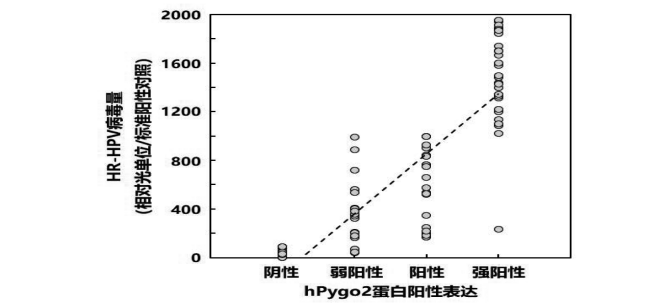


图 1 宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白和 HR-HPV 病毒定量的相关数据散点图

3 讨论

宫颈癌是临床上最为常见的女性生殖系统恶性肿瘤,发病率与死亡率均较高^[7-8]。患者早期临床表现包括不规则的阴道流血,可伴有白带异常与白带异味等。随着病程的逐渐延长,患者可能会出现贫血或其他与肿瘤相关的表现,对生命健康安全造成威胁^[9-10]。已有研究报道证实^[11-12],HR-HPV 持续感染和宫颈癌的发生、发展存在密切相关,而近年来对 HR-HPV 的研究逐渐深入,越来越多的学者认为大部分的 HR-HPV 在感染的 6~12 月会被免疫系统所清除,仅有 10%~30%持续感染发展至宫颈上皮内瘤变或宫颈癌^[13]。而 hPygo2 作为临床上新发现的一个核蛋白,其所编码的产物为含有 233 个氨基酸的蛋白,可能参与了肿瘤疾病的发生、发展过程,值得临床重点关注。

本文结果表明,宫颈癌组、HSIL 组、LSIL 组 HR-HPV 病毒定量呈逐渐降低趋势,表明随着 HR-HPV 病毒定量的逐渐升高,罹患宫颈癌的风险随之增加^[14-15]。张小燕等^[16]的研究结论中,HR-HPV 病毒定量与宫颈病变严重程度不存在相关性。笔者认为导致研究结论存在差异的主要原因有^[17-18]:①宫颈癌细胞中,整合状态的病毒比例升高,导致可被检测的病毒比例降低;②除 HR-HPV 病毒感染以外,吸烟、分娩次数、性行为等多种致病因素也可引起宫颈细胞癌变;③非规范化取样;④宫颈癌的恶性程度增加,癌组织中凋亡细胞、坏死细胞的比例增加,HPV 病毒丢失增加。本研究结果显示,宫颈癌组、HSIL 组、LSIL 组以及对照组样本组织中 hPygo2 蛋白阳性表达率呈逐渐降低趋势,证实 hPygo2 蛋白在宫颈癌组织中表达增加,与 Tzenov 等^[19]的研究结果一致,提示 hPygo2 高表达可能参与了宫颈癌的癌变及恶性进展过程。hPygo2 基因定位于 1 号染色体 q21.3,其编码蛋白 hPygo2 是 Wnt/ β -catenin 信号通路的功能蛋白,参与调节细胞周期、细胞增殖等过程。目前,关于 hPygo2 蛋白的研究,多集中在 Pygo2 蛋白 N 端和 C 端的转录激活作用和招募基因修饰酶方面,hPygo2 蛋白作为一种具有促癌功能的核蛋白,已被证实在乳腺癌、结肠癌等多种恶性肿瘤细胞中高表达,hPygo2 具有作为诊断子宫内膜癌靶标的潜能^[20-21]。本研究的 Spearson 秩相关性分析结果表明,宫颈癌组织中 hPygo2 蛋白和 HR-HPV 病毒定量存在正相关性,提示 hPygo2 蛋白水平,可在一定程度上为反映宫颈癌组织中 HPV 感染严重程度,此外,与 HR-HPV 病毒定量方法相比,免疫组织化学法检测 hPygo2 蛋白检测具有操作简单、价格低廉、假阳性率低等优势,在预测宫颈癌病情进展上具有一定价值。

综上所述,hPygo2 蛋白在宫颈癌组织中显著过表达,且和 HR-HPV 病毒定量呈正相关。临床工作中可通过对上述两项指标进行联合检测,从而有利于诊断宫颈癌。

参考文献

- [1] Xu HH, Wang K, Feng XJ, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes and relative risk of cervical cancer in China: a systematic review and meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(20): 15386-15397.
- [2] Odunyemi FT, Ndikom CM, Oluwatosin OA, et al. Effect of nursing intervention on mothers' knowledge of cervical cancer and acceptance of human papillomavirus vaccination for their adolescent daughters in Abuja-Nigeria[J]. *Asia Pac J Oncol Nurs*, 2018, 5(2): 223-230.
- [3] 农昌芬,金敏,张兴翔,等. HR-HPV E6/E7 mRNA 联合 TCT 检查在宫颈病变筛查中的应用[J]. *浙江临床医学*, 2018, 20(1): 131-133.
- [4] Talla SB, Brembeck FH. The role of Pygo2 for Wnt/ β -catenin signaling

- activity during intestinal tumor initiation and progression[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49): 80612-80632.
- [5] 钱敏,尤志学. ACS/ASCCP/ASCP 宫颈癌预防及早期诊断筛查指南解读[J]. *现代妇产科进展*, 2013, 22(7): 521-522.
- [6] Andrews PG, Kao KR. Wnt/ β -catenin-dependent acetylation of Pygo2 by CBP/p300 histone acetyltransferase family members[J]. *Biochem*, 2016, 473(22): 4193-4203.
- [7] 刘娟妮,陈琳,杨婷,等. RNAi 抑制 galectin-3 基因表达对宫颈癌细胞增殖及凋亡的影响机制[J]. *实用预防医学*, 2017, 24(12): 1525-1529.
- [8] 杜伟平,王丽,米思蓉,等. 延安市妇女 HPV 基因分型与高危 HPV/DNA 检测的临床研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(8): 989-991.
- [9] Cotton S, Brown RE, Nugent EK, et al. Quality improvement to demonstrate the lack of reliability of the human papillomavirus mRNA assay to identify women with latent human papillomavirus infections[J]. *Obstet Gynecol*, 2018, 131(4): 681-687.
- [10] 谭旭东,车爱文,陈淑萍,等. 同一样本中 Cervista 高危型 HPV 检测联合计算机辅助 TCT 检查在宫颈癌筛查中的应用价值[J]. *诊断病理学杂志*, 2017, 24(1): 49-51.
- [11] 余杨,付艳丽,邹晶晶,等. HR-HPV 载量联合细胞免疫指标预测宫颈癌变进程[J]. *中国热带医学*, 2018, 18(3): 212-216.
- [12] 韩钦,郭红燕,耿力,等. 宫颈癌机会性筛查人群中高危型 HPV 感染状况及其与宫颈病变关系的研究[J]. *实用妇产科杂志*, 2018, 34(3): 194-197.
- [13] 赵轩宇,孔为民,宋丹,等. 高危型人乳头状瘤病毒病毒载量与宫颈临床病理因素关系的研究[J]. *中国医师进修杂志*, 2017, 40(3): 193-196.
- [14] 王飞霞,杨瑞利,韩双,等. 细胞 DNA 定量分析联合 HR-HPV、SCCA、CYFRA21-1 检测在早期宫颈癌筛查中的价值[J]. *肿瘤学杂志*, 2018, 24(3): 281-284.
- [15] 张振华,李怡帆,卢雯平. 中医治疗晚期妇科恶性肿瘤验案三则[J]. *国际中医中药杂志*, 2017, 39(2): 167-169.
- [16] 张小燕,丁晓萍,叶梅,等. HR-HPV 病毒载量检测在宫颈细胞学异常患者中的应用价值[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2014, 15(3): 227-229.
- [17] 颜霞,唐海旭,吴萍,等. 高危型人乳头瘤病毒 E6/E7 mRNA 联合薄层液基细胞学检测对宫颈癌前病变筛查的临床价值[J]. *广西医学*, 2018, 40(7): 785-787.
- [18] 郭玲,朱晓燕,黄明,等. 宫颈癌组织中 DNA 甲基转移酶的表达及其与高危型人乳头瘤病毒感染关系的研究[J]. *广西医科大学学报*, 2018, 35(2): 197-200.
- [19] Tzenov YR, Andrews PG, Voisey K, et al. Human papilloma virus (HPV) E7-mediated attenuation of retinoblastoma (Rb) induces h Pygopus2 expression via Elf-1 in cervical cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(1): 19-30.
- [20] 张赛男,王观凤,郑丽娟,等. hPygo2 在宫颈癌中表达及其与 HR-HPV 感染的相关性研究[J]. *现代妇产科进展*, 2018, 27(5): 348-350.
- [21] 张赛男. hPygo2 在宫颈上皮内瘤变及宫颈癌中的表达及意义[D]. 广州:南方医科大学,2018.