

· 临床研究 ·

Bmi-1 及 p16 在宫颈癌变过程中的表达及意义

伍 艺

(重庆市妇幼保健院 400013)

摘要:目的 探讨 Bmi-1、p16 蛋白在正常宫颈、子宫颈癌和癌前病变中的表达及其与临床病理特征的关系。方法 采用免疫组织化学技术(SP法)对正常宫颈 10 例、CIN I、CIN II、CIN III 及原位癌共 48 例,宫颈癌 32 例中的 Bmi-1 和 p16 的表达情况进行检测。用 Western blot 检测法对 18 例宫颈癌及癌旁宫颈组织中 Bmi-1、p16 的表达情况进行检测。结果 在宫颈癌的癌变过程中,Bmi-1 的阳性率呈递增趋势,p16 的阳性率呈递减趋势(均 $P < 0.05$)。Bmi-1 和 p16 的表达与宫颈癌患者的年龄及淋巴结是否转移无明显关系,但却与病理学分级相关(P 值分别为 0.002、0.003)。宫颈癌组织中 Bmi-1 的蛋白含量明显高于癌旁组织($P = 0.001$),而 p16 的蛋白含量明显低于癌旁组织($P = 0.003$)。结论 联合检测 Bmi-1 和 p16 的表达水平,可以在一定程度上显示宫颈上皮内瘤变向宫颈癌转化的潜能。

关键词: Bmi-1; p16; 子宫颈癌; 宫颈上皮内瘤变

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.22.039

中图分类号: R737.33; R730.45

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)22-3090-02

Expression of Bmi-1 and p16 in cervical carcinoma carcinogenesis progression and its significance

WU Yi

(Chongqing Gynecologic and Obstetric Hospital, Chongqing 400013, China)

Abstract: Objective To study the expressions of Bmi-1 and p16 in tissues of normal, cervical intraepithelial neoplasia (CIN I, CIN II, CIN III) and cervical cancer. **Methods** The expressions of Bmi-1 and p16 in tissues of 10 cases of normal cervical epithelium, 48 cases of CIN I-III and 32 cases cervical cancer were detected by immunohistochemical (S-P) method. The expressions of the two proteins in 18 freshly-taken cervical carcinoma and adjacent cervical tissue specimens were detected by Western Blot. **Results** The positive rates of Bmi-1 expression showed a gradual increase in cervical cancer progression, but p16 expression showed a gradual decrease. No obvious correlation was found in the expression of the two proteins with regard to the age of the patients or pelvic lymph node metastasis. However, the expression of Bmi-1 and p16 had a correlation with pathological stage ($P = 0.002, 0.003$). The levels of Bmi-1 in cervical cancer were higher than those in the paraneoplastic tissue ($P = 0.002, 0.003$), but the levels of p16 were lower. **Conclusion** To detect the expression of the levels of the two proteins could suggest, to some extent, the potential transformation of cervical intraepithelial neoplasia to cervical cancer.

Key words: Bmi-1; p16; cervical carcinoma; cervical intra epithelial neoplasia

宫颈癌是严重危害妇女健康与生命的常见病,居女性癌症死亡第 2 位,占女性生殖系统恶性肿瘤的首位。近年来,国内外研究表明,宫颈上皮肿瘤的发生、发展及预后与多种基因的变化密切相关。

近年来的研究表明,Bmi-1 在胃癌、结肠癌^[1-2]、肺癌、乳腺癌^[3]等多种肿瘤中均有高表达^[4]。p16 基因又称多肿瘤抑制基因(multiple tumor suppressor, MTS1),是继 p53 基因之后的又一重要的抑癌基因^[5]。近年来的研究表明在多种肿瘤中 p16 基因表达降低,如乳腺癌^[6]、食管癌^[7]、胃癌^[8]、大肠癌。有研究表明在一些肿瘤中有 Bmi-1 基因表达增高并同时伴有 p16 基因的低表达。研究者发现 Bmi-1 基因与 p16 蛋白在小鼠淋巴瘤的发生过程中起协同作用。有学者发现 Bmi-1 mRNA 的表达水平在大肠癌组织中较癌旁组织显著升高,高表达的组织中 p16 蛋白明显低表达^[9]。

但有关 Bmi-1、p16 与宫颈肿瘤关系的研究较少,本研究旨在检测 Bmi-1 基因和 p16 基因在正常宫颈、宫颈上皮肿瘤、宫颈癌中的表达水平,探讨二者在宫颈肿瘤中表达的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 87 份宫颈组织标本均来自本院 2008~2009 年子宫颈活检和手术切除的病理标本。年龄 23~68 岁,平均 43.3 岁。经病理证实正常宫颈上皮组织 7 例,CIN I 级 10 例,CIN II 级 21 例,CIN III 级及原位癌组织 17 例,宫颈癌组织 32

例。均未做化学、免疫及放射治疗。

1.2 试剂与方法 鼠抗人 Bmi-1 单克隆抗体、鼠抗人 p16 单克隆抗体、羊抗鼠 IgG 均购自 Santa Cruz 公司。免疫组织化学 SP 试剂盒,购自北京中杉金桥生物技术有限公司。裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、ECL 发光试剂盒均购自碧云天生物技术有限公司。免疫组化 SP 法按试剂盒要求进行操作。用已知阳性切片作阳性对照,PBS 代替一抗作阴性对照。Western blot 检测,于 4℃ 下,取宫颈癌组织及癌旁组织各 0.5~1.0 g,加入裂解缓冲液,粉碎匀浆后,4℃ 静置 24 h,再于 4℃ 下 12 000 r/min 离心 20 min,提取总蛋白,并进行蛋白定量。经 10% SDS-PAGE 电泳、转印、5% 脱脂奶粉封闭,Bmi-1 (1:1 000)、p16 (1:1 000) 4℃ 下孵育过夜;二抗 (1:5 000) 室温下孵育 2 h,ECL 显色。

1.3 结果判断 免疫组化结果:Bmi-1 阳性表达定位于细胞核和细胞质,细胞核或细胞质出现棕黄色为染色阳性细胞。p16 阳性同样定位于细胞核和细胞质,胞核或胞质出现棕黄色颗粒为阳性细胞。空白阴性对照的细胞不显色,阳性对照的细胞核和细胞质呈黄色、棕黄色或棕褐色。具体分类依染色细胞数及强弱而定,着色强度:无色(-)定为 0 分、浅黄色(+)定为 1 分、黄色及更深颜色(++)定为 2 分;阳性细胞数:≤50% 定为 0 分,>50%~75% 定为 1 分,>75% 定为 2 分。两项得分相乘结果大于或等于 2 定为阳性。Western blot 检测结果经

自动电泳凝胶成像分析仪进行,并进行灰度值测定。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件,进行 χ^2 检验、*t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Bmi-1 及 p16 蛋白在各宫颈组织中的表达 p16 及 Bmi-1 在正常子宫颈组织、CIN I、CIN II、CIN III 及原位癌、子宫颈组织中表达的阳性率见表 1。由表 1 可见,Bmi-1 蛋白的阳性率基本呈递增趋势;p16 蛋白的阳性率呈递减趋势。

表 1 Bmi-1、p16 在宫颈各组病变中的蛋白表达

病理组织学类型	n	Bmi-1		p16	
		+(n)	阳性率(%)	+(n)	阳性率(%)
正常宫颈组织	7	0	0.0	7	100.0
CIN I	10	1	10.0	9	90.0
CIN II	21	5	23.8	17	80.9
CIN III 及原位癌	17	7	41.2	10	58.8
宫颈癌	32	22	68.8	12	37.5

2.2 Bmi-1 及 p16 蛋白与宫颈癌临床指标的关系 结果见表 2。

表 2 Bmi-1 与 p16 在 32 例宫颈癌中的表达及其与临床的关系

项目	n	Bmi-1			p16		
		+(n)	阳性率(%)	P	+(n)	阳性率(%)	P
年龄							
<35	7	5	0.714	1.00	6	0.857	0.006
≥35	25	17	0.680		6	0.240	
临床分期							
I、II 期	15	6	0.400	0.002	10	0.666	0.003
III 期	17	16	0.941		2	0.118	
淋巴结转移							
有	12	10	0.833	0.248	2	0.166	0.075
无	20	12	0.600		10	0.500	

2.3 Western blot 检测 Bmi-1、p16 蛋白在宫颈癌及癌旁组织的表达 Bmi-1 蛋白在宫颈癌癌旁组织中表达极少,而在宫颈癌组织中表达明显。相反 p16 蛋白在宫颈癌癌旁组织中表达明显,而在宫颈癌组织中表达减少。两种蛋白含量在宫颈癌与癌旁宫颈组织的差异均具有明显统计学意义($P<0.01$),见表 3。

表 3 Bmi-1、p16 在 18 例宫颈癌及癌旁组织中的平均灰度分析($\bar{x}\pm s$)

检测指标	癌组织	癌旁组织	t	P
Bmi-1	106.50±6.03	98.52±5.73	3.839	0.001
p16	97.96±5.94	104.96±5.50	3.388	0.003

3 讨 论

近年来,子宫颈癌发病率呈年轻化倾向,35 岁以下子宫颈癌的发病率出现上升趋势^[10],且以中晚期患者为多,预后较差。以往关于宫颈肿瘤的研究提示,其发病与多种因素有关,例如人乳头状瘤病毒感染、多产、初产年龄、性行为、经济状况、吸烟、长期使用避孕药等^[11]。但近年来研究发现宫颈肿瘤是

多基因、多因素协同作用所导致的。因此致宫颈肿瘤的基因作用是研究热点。

Bmi-1 蛋白属 Ploycomb 组蛋白(ploycomb-group, PcG)家族,是多梳基因家族中的一个癌基因。Bmi-1 基因位于人染色体 10p13,DNA 大小为 4.9 kb,mRNA 为 3 199 bp,含 10 个外显子,326 个氨基酸编码序列。

p16 基因是位于染色体 9p21 区的肿瘤抑制基因,是近年来发现的第一个直接参与细胞周期调控的抑癌基因,其编码的 p16 蛋白依赖激酶 K4 或 K6 的抑制因子,直接调控细胞周期 G~S 期,是人类恶性肿瘤最为常见的分子事件。研究表明,p16 在对宫颈良性癌变、CIN 或癌的鉴别诊断中优于目前所用的其他免疫组化抗体^[12]。

本研究中发现在正常宫颈组织中 Bmi-1 阳性表达率为 0,而 p16 阳性表达率为 100%。在宫颈上皮内瘤变组织中 Bmi-1 阳性表达率逐渐增高,p16 阳性表达率逐渐降低。在宫颈癌中 Bmi-1 阳性表达率明显增高,p16 阳性表达率明显降低。另外这两种基因在 CIN III 级及原位癌组与宫颈癌组间差异有统计学意义,提示两种基因在早期判断宫颈肿瘤有一定的作用。为进一步探讨这两种基因表达与宫颈恶性潜能的关系,本研究分析了两种蛋白表达在不同临床病理指标间的差异,结果发现这两种基因的表达与肿瘤的临床分期及组织学分级相关,且组织学分级越低,Bmi-1 蛋白的阳性表达率越高,而 p16 阳性表达率却越低。另外本研究发现,Bmi-1 蛋白在宫颈癌组织中的表达明显高于癌旁组织,而 p16 在宫颈癌旁组织中的表达明显高于癌组织,这也说明 Bmi-1 具有抑制子(repressor)的功能,可以阻断细胞周期中的 p16 基因的位点,促进细胞转化和肿瘤形成。

肿瘤的发生、发展是一个多步骤的过程,往往是在致病因素作用同时,多种基因同时或先后协调作用的结果。本研究发现,Bmi-1、p16 基因与人体宫颈肿瘤发生、发展密切相关,Bmi-1 和 p16 均参与子宫颈癌前病变、癌变的发生和发展。临床上多种基因的同时监测,将有利于监控宫颈癌的发生、发展及预后的评估。

综上所述,检测 Bmi-1、p16 基因对判定宫颈癌生物学行为、预后和指导治疗具有重要意义。Bmi-1、p16 基因有望成为基因治疗的新靶点。

参考文献:

- [1] 谭启富,李龄,吴承远. 癫痫外科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:107.
- [2] Huang KH, Liu JH, Li XX, et al. Association of Bmi-1 mRNA expression with differentiation, metastasis and prognosis of gastric carcinoma [J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao,2007,27(7):973.
- [3] 冯艳,宋立兵,郭宝红,等. Bmi-1 在乳腺癌组织中的表达及意义[J]. 癌症,2007,26(2):154.
- [4] Breuer RH, Snijders PJ, Sutedja GT, et al. Expression of the P16 (INK4a) gene product, methylation of the p16 (INK4a) promoter region and expression of the ploycomb-group gene BMI-1 in squamous cell lung carcinoma and premalignant endobronchial lesions[J]. Lung Cancer, 2005,48(3):299.
- [5] 姚尧. Bmi-1、p16 基因与实体瘤关系的研究进展[J]. 实用医学杂志,2009,25(18):3162. (下转第 3094 页)

绪。虽然致伤因素、热缺血时间、年龄、离断部位等均被认为是形成血管危象的主要因素。但越来越多的临床工作者认为,患者的不良情绪与血管危象密切相关、也是影响再植成活率重要因素^[1-3,11]。医学心理学认为:创伤与手术,对患者是一种强烈刺激,机体会产生一种非特异性时相性反应-应激,使患者产生抑郁、焦虑、敌对、自卑等负性心理因素,通过心理-神经内分泌调节轴的作用,人体血液中肾上腺素、儿茶酚胺等缩血管物质水平显著升高,血液黏度升高,凝血机制启动,可导致血管痉挛或栓塞^[12]。随着我国经济的迅猛发展、各种竞争的加剧,人们面临的各种社会压力骤增,在遭遇突然的创伤、手术后,这种不良情绪无疑会显著增加,同时也更会影响其应对方式的选择^[13],提示再植术后患者的心理护理应予以更加重视。本研究术后不良情绪水平高于其他报道^[14],除社会压力因素外,是否由于学历结构不同^[15],有待进一步探讨。

3.2 断指再植患者应采取适当的心理干预,以降低血管危象的发生率 本研究实验组病例在施加心理干预后,与对照组相比较,术后焦虑、抑郁情绪明显下降($P < 0.01$),其血管危象发生率亦较对照组显著下降($P < 0.05$)。提示适当的心理干预可明显减轻再植患者的不良情绪、降低血管危象的发生率,从而提高断指成活率。然而对每个再植患者都进行专业心理干预是一项极其繁琐的工作,牵涉大量人力、精力,受当地医院的条件、技术水平制约,不利于基层医院开展。本组病例血管危象大多发生在高焦虑、抑郁水平患者。建议有条件单位可建立再植患者不良情绪常模,对显著高于常模者,进行重点、针对性干预;对其他患者只做好耐心的解释工作、劝慰等一般的心理护理。

3.3 男、女性别不同,在未作心理干预的对照组之间血管危象发生率差异无统计学意义。这与其他报道有所差异^[16],可能与样本量不足有关,有待进一步研究。断指再植术后血管危象好发于术后 2 周,高发于术后 1 周^[9],本实验从提高断指再植成活率角度,仅进行为期 2 周的心理干预研究。本组病例心理干预 2 周后,虽较干预前焦虑、抑郁情绪明显下降,但仍高于常模,故有条件科室,2 周后仍须予以适当心理疏导,以达到功能直至身心全面康复。尽管本研究从创伤手术后存在不良情绪角度说明心理干预在降低断指再植血管危象发生率方面有其重要意义,但适应证的选择及血管吻合质量绝不容忽视,仍是决定断指成活的主要因素。

参考文献:

- [1] 修平,李政平,徐林. 外伤断指后不良心理状态对断指再植成活率的影响[J]. 中国心理卫生杂志,2005,19(2): 100.
- [2] Back SM, Kim SS. Ten- digit and nine- digit replantation (4case) [J]. Briplast Surg,1992,45:407.
- [3] 康庆林,卢全中,潘风雨,等. 手指多段离断再植与功能康复[J],中国矫形外科杂志,1999,6(10):752.
- [4] 汪向东,王希林,马弘. 心理卫生评定量表手册[M]. 增订版. 北京:中国心理卫生出版社,1999:235.
- [5] 马弘. 状态-特质焦虑问卷[J]. 中国心理卫生杂志,1999,(增刊):238.
- [6] Wells-fedeman, Congnitive Theraph[J]. Nursing North Am,2001,36(1):93.
- [7] Kennerley H. 战胜焦虑[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000:55.
- [8] 程国良. 手指再植与再造[M]. 2 版,北京:人民卫生出版社,2005:118.
- [9] 张明园. 精神科评定量表手册[M]. 长沙:湖南科学技术出版社,1998:35.
- [10] 郑晓华,舒良,赵吉凤,等. 状态-特质焦虑问卷在长春的测试报告[J],中国心理卫生杂志,1993,7(2):60.
- [11] 刘晓芳. 断指再植患者术后发生血管危象的原因分析及处理对策[J]. 中华显微外科杂志,2005,28(3): 274.
- [12] 金惠铭. 病理生理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002: 108.
- [13] 廖建梅,任辉,黎宁. 创伤住院患者心理健康状况及应对方式的调查研究[J]. 重庆医学,2009,38(21),2711.
- [14] 张桂花,杨美华,沈丽萍,等. 97 例断指再植患者的心理相关因素分析[J]. 新医学学刊,2008,5(7):1131.
- [15] 曹显科,康庆林,王新民,等. 断指再植患者的心理健康动态测评相关因素分析[J]. 现代康复,2001,5(11):34.
- [16] 陈淑琴. 断指再植术后血管危象多因素分析及预防[J]. 中华护理杂志,2009,44(12):1075.

(收稿日期:2010-05-08 修回日期:2010-08-09)

(上接第 3091 页)

- [6] 谢明,李建平. 抑癌基因 p16 突变与乳腺癌的相关研究 [J]. 中国现代医药杂志,2007,9(4):123.
- [7] 刘海民,李小环,张亚冰,等. Cyclin D1、Rb 和 p16 基因在食管癌早期癌组织中的表达及其相关性研究[J]. 肿瘤基础与临床,2007,20(2):122.
- [8] Sarbia M, Gedden H, Klump B, et al. Hypermethylation of tumor suppressor genes (p16INK4A, p16ARF and APC) in adenocarcinomas of the upper gastrointestinal tract [J]. Int J Cancer,2004,111(2):224.
- [9] 王丽琼,张曦,许瑞吉,等. 周期素 D1 与 p16 蛋白及 Rb 基因在大肠癌中的表达及意义[J]. 云南医药,2007,5(28):

434.

- [10] 倪风云,张梅月. 子宫颈癌发病年轻化临床回顾性分析 [J]. 实用诊断与治疗杂志,2004,18(4):337.
- [11] Rostad B, Schei B, Da Costa F. Risk factors for cervical cancer in Mozambican women[J]. Int J Gynecol Obstet, 2003,80(1):63.
- [12] 郭东辉,刘智慧,范幼奇,等. p16、cyclin 在宫颈鳞状上皮内病变诊断中的应用[J]. 诊断病理学杂志,2004,11(3): 162.

(收稿日期:2010-05-15 修回日期:2010-05-25)