

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.12.019

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220125.1113.004.html\(2022-01-26\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220125.1113.004.html(2022-01-26))

端粒酶相关蛋白1在宫颈鳞状上皮病变中的表达*

陈娟,冯俊明[△],李明松,雷雪,黄鄂

(重庆市璧山区人民医院病理科 402760)

[摘要] **目的** 探讨端粒酶相关蛋白1(TP1)在宫颈鳞状上皮病变中的表达及意义。**方法** 选取2019年1—12月在该院行宫颈活检的100例患者为研究对象,以组织病理检查结果为标准将其分为3组:慢性宫颈炎组29例、低级别鳞状上皮内病变组34例、高级别鳞状上皮内病变组37例,并对3组患者的组织活检标本进行TP1免疫组织化学染色及端粒酶活性检测。**结果** 低级别鳞状上皮内病变组及高级别鳞状上皮内病变组的TP1阳性率均高于慢性宫颈炎组,差异有统计学意义($\chi^2=10.343, P_{校正}=0.002; \chi^2=34.545, P_{校正}<0.001$);低级别鳞状上皮内病变组与高级别鳞状上皮内病变组的TP1阳性率无明显差异($\chi^2=4.870, P_{校正}=0.085$)。TP1的表达与宫颈鳞状上皮病变级别呈正相关(Kendall's tau-b=0.773, $P<0.001$),TP1的表达随着宫颈鳞状上皮病变级别的增高而升高。端粒酶活性在慢性宫颈炎组、低级别鳞状上皮内病变组及高级别鳞状上皮内病变组逐渐增强,差异有统计学意义($P<0.05$)。TP1表达强度-、+、++、+++所对应的端粒酶活性逐渐增强,差异有统计学意义($P=0.028$)。**结论** TP1高表达可能增强了端粒酶的活性,从而促进宫颈鳞状上皮病变进一步发展。

[关键词] 端粒酶相关蛋白1;宫颈炎;鳞状上皮内病变;端粒酶活性**[中图分类号]** R737.33**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)12-2066-04

Expression of telomerase associated protein 1 in cervical squamous epithelial neoplasia*

CHEN Juan, FENG Junming[△], LI Mingsong, LEI Xue, HUANG E

(Department of Pathology, Bishan People's Hospital, Chongqing 402760, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and significance of the telomerase-associated protein 1 (TP1) in cervical squamous epithelial neoplasia. **Methods** A total of 100 patients who underwent the cervical biopsy in this hospital from January to December 2019 were selected as the research objects. According to the results of histopathological examination, the patients were divided into three groups: 29 cases in the cervical chronic inflammation group, 34 cases in the low-grade squamous intraepithelial neoplasia group and 37 cases in the high-grade squamous intraepithelial neoplasia group. TP1 immunohistochemical staining and telomerase activity detection were performed on the tissue biopsy specimens of the three groups. **Results** The positive rate of TP1 in the low-grade squamous intraepithelial neoplasia group and the high-grade squamous intraepithelial neoplasia group was significantly higher than that in the cervical chronic inflammation group, and there were statistically significant differences ($\chi^2=10.343, P_{adjusted}=0.002; \chi^2=34.545, P_{adjusted}<0.001$). There was no significant difference in the positive rate of TP1 in the low-grade squamous intraepithelial neoplasia group and the high-grade squamous intraepithelial neoplasia group ($\chi^2=4.870, P_{adjusted}=0.085$). The expression of TP1 was positively correlated with the grade of cervical squamous epithelial lesions (Kendall's tau-b=0.773, $P<0.001$), and the expression of TP1 increased with the grade of cervical squamous epithelial lesions. The telomerase activity increased gradually in the cervical chronic inflammation group, the low-grade squamous intraepithelial neoplasia group and the high-grade squamous intraepithelial neoplasia group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The telomerase activity corresponding to the expression intensity of TP1 (-, +, ++, +++) increased gradually, and the difference was statistically significant ($P=$

* 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(1986—),主治医师,硕士,主要从事癌干细

胞的研究。 [△] 通信作者, E-mail:1145167096@qq.com。

0.028)。**Conclusion** The high expression of TP1 may enhance the activity of telomerase, thereby promoting the further development of cervical squamous epithelial neoplasia.

[Key words] telomerase-associated protein 1; cervicitis; squamous intraepithelial lesion; telomerase activity

端粒酶是一种具有反转录酶活性的核糖核蛋白,由人端粒酶 RNA 组分(human telomeric RNA component, hTERC)、人端粒酶反转录酶(human telomeric reverse transcriptase, hTERT)及端粒酶相关蛋白(telomerase-associated protein, TP)3 部分亚基构成^[1-2]。该三组分可调节端粒酶活性,其中任一组分发生改变便会影响端粒酶活性^[2-3]。研究证明,在正常人体组织中端粒酶活性受到抑制,在恶性肿瘤中却被激活。而端粒酶的活化直接影响细胞的分裂、增殖,端粒酶活性的增强可使细胞获得无限增殖能力,最终导致细胞的病变,乃至癌变^[3-4]。现已有文献报道,端粒酶活性的增强会加快肺癌^[5-6]、脑胶质母细胞瘤^[7-9]及胰腺癌^[10]的发展,并提示一个不理想的预后。

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一,现已有文献报道宫颈癌的发生、发展与 hTERC 及 hTERT 的激活呈正相关,宫颈鳞状上皮内病变级别越高,其活性越强^[11-12]。而端粒酶相关蛋白(TP1)在宫颈鳞状上皮病变的作用尚少见相关研究。本研究旨在探索 TP1 在不同级别宫颈鳞状上皮病变中(慢性宫颈炎、低级别鳞状上皮内病变及高级别鳞状上皮内病变)的表达情况及其与端粒酶活性的关系,探讨其在宫颈鳞状上皮病变中的可能作用及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用回顾性研究的方法,收集 2019 年 1—12 月在本院行宫颈活检的 100 例女性患者为研究对象,年龄 22~77 岁,平均(43.26±10.09)岁。以组织病理检查结果为标准将其分为 3 组:慢性宫颈炎组 29 例、低级别鳞状上皮内病变组 34 例、高级别鳞状上皮内病变组 37 例,对 3 组患者的组织活检标本进行 TP1 免疫组织化学染色及端粒酶活性检测。纳入标准:在本院已行宫颈组织活检,且活检组织标本最大径≥2 mm;排除标准:宫颈活检组织标本最大径<2 mm 或富含大量黏液的活检标本。本研究经本院伦理委员会审核并通过(2019-KY-07)。

1.2 方法

1.2.1 TP1 免疫组织化学染色

TP1 免疫组织化学试剂一抗购自美国 Santa Cruz 公司,浓度为 1.0 mg/μL,无核水稀释到 10 ng/μL,采用 SP 免疫组织化学染色法,通用型二抗购自福州迈新生物技术开发有限公司。操作步骤严格按照说明书执行。结果判读:TP1 阳性表达于核浆,棕色颗粒状。无阳性细胞判为-,阳性细胞数≤25%判为+,阳性细胞数>25%~50%判为++,阳性细胞

数>50%阳性为+++。细胞阳性率=20 个高倍镜下(400 倍)阳性细胞数/20 个高倍镜下细胞总数×100%。

1.2.2 端粒酶活性检测

端粒重复序列扩增-ELISA(TRAP-PCR-ELISA)检测 3 组标本中端粒酶活性,试剂盒购自美国 Boehringer mannheim 公司,按说明书操作。测定波长 450 nm(A₄₅₀)和 630 nm(A₆₃₀)处吸光度值,吸光度差值(ΔA)=A₄₅₀-A₆₃₀,ΔA 值代表细胞端粒酶活性。阳性对照由试剂盒提供,阴性对照为端粒酶提取物加 1 mg/L RNaseA,37 °C 孵育 20 min。

1.3 统计学处理

采用 SPSS25.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,多组间比较采用方差分析,等级资料比较选择 Kruskal-Wallis *H* 检验;计数资料采用例数或率描述,比较选择 χ^2 检验,两两比较采用 Bonferroni 校正 *P* 值;有序分类变量之间的相关性分析选择 Kendall's tau-*b* 等级相关系数分析;检验水准 $\alpha=0.05$ 。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TP1 在宫颈鳞状上皮病变中的阳性率比较

不同组别宫颈鳞状上皮病变的 TP1 阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=30.328, P<0.001$);两两比较显示,低级别鳞状上皮内病变组及高级别鳞状上皮内病变组 TP1 阳性率均高于慢性宫颈炎组,差异有统计学意义($\chi^2=10.343, P_{校正}=0.002; \chi^2=34.545, P_{校正}<0.001$);低级别鳞状上皮内病变组与高级别鳞状上皮内病变组 TP1 阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2=4.870, P_{校正}=0.085$),见表 1。

表 1 TP1 在宫颈鳞状上皮病变不同组别中的表达情况

组别	n	TP1(n)				阳性率 [n(%)]
		-	+	++	+++	
慢性宫颈炎组	29	16	13	0	0	13(44.8)
低级别鳞状上皮内病变组	34	2	28	3	1	32(94.1)
高级别鳞状上皮内病变组	37	0	12	17	8	37(100.0)

2.2 TP1 与宫颈鳞状上皮病变级别的相关性

慢性宫颈炎组 TP1-,低级别鳞状上皮内病变组 TP1+,高级别鳞状上皮内病变组 TP1++~+++。TP1 的表达与宫颈鳞状上皮病变级别呈正相关(Kendall's tau-*b*=0.773, $P<0.001$),随着宫颈鳞状上皮病变级别的增高,TP1 表达增强,见图 1。

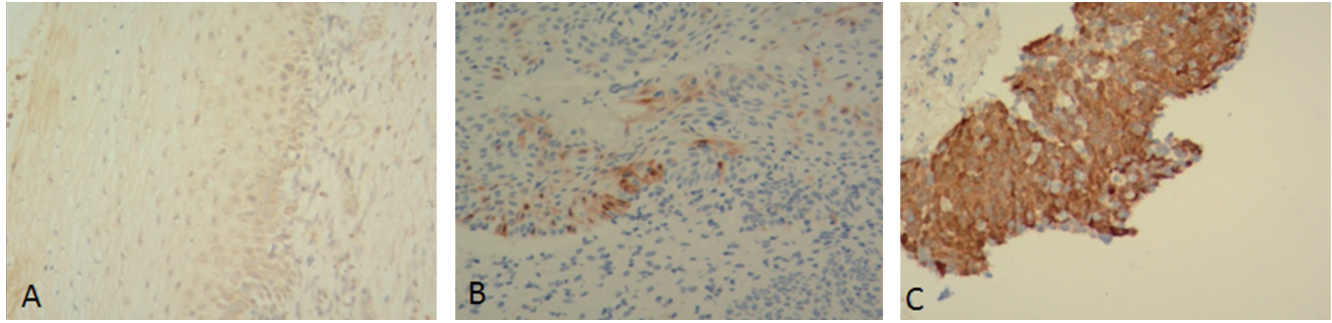
2.3 端粒酶活性检测结果

端粒酶活性在阳性对照为 1.37±0.04,阴性对照为 0.06±0.01,在慢性宫颈炎组(0.36±0.04)、低级

别鳞状上皮内病变组(1.02 ± 0.07)及高级别鳞状上皮内病变组(1.75 ± 0.05)逐渐增强,差异有统计学意义($F = 10.863, P < 0.05$)。

2.4 TP1 的表达强度与端粒酶活性的相关性

TP1 表达一、+、++、+++对应的端粒酶活性分别为 0.12 ± 0.03 、 0.90 ± 0.03 、 1.36 ± 0.04 、 1.79 ± 0.12 ,差异有统计学意义($H = 10.992, P = 0.028$),TP1 表达强度增强对应的端粒酶活性逐渐增强。



A:慢性宫颈炎组(-);B:低级别鳞状上皮内病变组(+);C:高级别鳞状上皮内病变组(++~+++)

图1 TP1 在不同组别中的免疫组织化学染色结果(SP, $\times 200$)

3 讨论

宫颈癌是妇科常见恶性肿瘤,发病主要与高危型人乳头瘤病毒(HPV)持续感染有关,目前通过宫颈癌筛查基本可以做到早发现、早诊断、早治疗。虽然现在临床上已有宫颈癌疫苗,但仍有少部分 HPV 高危型感染患者病情发展迅速,或发现时已经到了宫颈癌晚期,其原因目前尚不清楚。有文献报道,端粒酶 hTERC 及 hTERT 两组分被激活,使端粒酶活性增加,从而进一步增强高危型 HPV 在宫颈病变中的致癌作用^[13],其可能机制为端粒酶活性增加,参与调节酪氨酸蛋白酶信号传递,激活 HPVE6/E7 癌基因,有助于在潜伏期将 HPVE6/E7 癌基因整合到宿主端粒中,并能有效抑制抑癌基因 P53 及视网膜母细胞瘤(RB)肿瘤抑制蛋白的活性,细胞周期失去调控从而抑制细胞凋亡,使高危型 HPV 病毒能在宿主中持续存活,从而导致宫颈鳞状上皮病变^[14],进一步加快癌变过程。

端粒酶协同蛋白 TP1 作为端粒酶三组分之一,在肿瘤细胞形成过程中的作用尚缺乏文献报道。赵瑞皎等^[15]发现,TP1 在卵巢恶性浆液性上皮性肿瘤中的表达强于良性浆液性上皮性肿瘤,而与端粒酶活性无相关性,提示 TP1 可能通过某未知的途径促进了肿瘤的发展。而在 KATZENELLENBOGEN^[16]的研究中发现,HPVE6 可以通过多重机制使端粒酶活性增加,如通过抑制 Maz 及锌指转录因子 Sp1 的活性,从而使 TP1 表达上调,加快了宫颈鳞状上皮病变的进一步发展。在本研究中,低级别鳞状上皮内病变组及高级别鳞状上皮内病变组 TP1 阳性率均明显高于慢性宫颈炎组,而低级别鳞状上皮内病变组及高级别鳞状上皮内病变组 TP1 阳性率无明显差异,同样提示 TP1 可能通过某种途径参与了 HPV 的感染途径,而主要可能在 HPV 持续感染、DNA 整合过程起着重要的作用^[14]。TP1 的表达与宫颈鳞状上皮病变级别呈正相关,随着宫颈鳞状上皮病变级别的增高而表达增强,提示 TP1 在宫颈鳞状上皮癌变过程中起着促进作用。

在本研究中发现,端粒酶活性信号在慢性宫颈炎组、低级别鳞状上皮内病变组及高级别鳞状上皮内病变组是逐渐增强的,并且 TP1 的表达与端粒酶活性呈正相关,提示 TP1 高表达可能增强了端粒酶的活性,从而促进或加快了宫颈鳞状上皮病变进一步发展,异型增生,乃至癌变。

综上所述,TP1 随着宫颈鳞状上皮病变级别的增高而表达上调,且与端粒酶活性存在正相关性,提示 TP1 高表达可能增强了端粒酶的活性,从而促进宫颈鳞状上皮病变进一步发展,甚至永生、癌变,但 TP1 可否作为宫颈鳞状上皮病变判断级别及预后的一个指标还需进一步探索和实验证明。

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] KUGLIK P, KASIKOVA K, SMETANA J, et al. Molecular cytogenetic analyses of hTERC (3q26) and MYC (8q24) genes amplifications in correlation with oncogenic human papillomavirus infection in Czech patients with cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinomas [J]. Neoplasma, 2015, 62(1): 130-139.
- [3] ZHU Y E, HAN Y, TIAN T, et al. MiR-21-5p, miR-34a, and human telomerase RNA component as surrogate markers for cervical cancer progression[J]. Pathol Res Pract, 2018, 214(3): 374-379.
- [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] LIU T, ULLENBRUCH M, YOUNG C Y, et al. Telomerase and telomere length in pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49(2): 260-268.
- [6] ARISH N, PETUKHOV D, WALLACH S. The role of telomerase and telomeres in interstitial lung diseases; from molecules to clinical implications [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(12): 2996.
- [7] 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.
- [8] MINASI S, BALDI C, PIETSCH T, et al. Telomere elongation via alternative lengthening of telomeres (ALT) and telomerase activation in primary metastatic medulloblastoma of childhood[J]. *J Neurooncol*, 2019, 142(3): 435-444.
- [9] DUAN X F, ZHAO Q. TERT-mediated and AT-RX-mediated Telomere Maintenance and Neuroblastoma[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2018, 40(1): 1-6.
- [10] ACKERMANN S, FISCHER M. Telomere maintenance in pediatric cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23): 5836.
- [11] BIN H, RUIFANG W, RUIZHEN L, et al. De-
- tention of HPV L1 capsid protein and hTERT gene in screening of cervical cancer[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2013, 16(6): 797-802.
- [12] TIWARI D, RAY D 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.
- [13] 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(12): 10725-10734.
- [14] VLIET-GREGG P A, ROBINSON K L, LEV AN 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: 106-113.
- [15] 赵瑞皎, 李锦军, 苏兵, 等. 卵巢良性和恶性鳞状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] KATZENELLENBOGEN R. Telomerase Induction in HPV Infection and Oncogenesis [J]. *Viruses*, 2017, 9(7): 180.

(收稿日期: 2021-11-18 修回日期: 2022-02-06)

(上接第 2065 页)

- and strain analysis of a muscular left ventricular diverticulum [J]. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2019, 20(2): 49-50.
- [9] BEJIQI R, RETKOCERI R, MALOKU A, et al. Giant apical left ventricular diverticulum in a health teenager; report of a case within the context of a literature review [J]. *Med Arch*, 2020, 74(6): 478-481.
- [10] BHARDWAJ B, KUMAR S, WEBEL R, et al. Multimodality detection of multiple left ventricular diverticula: a case report and brief review of the literature [J]. *Echocardiography*, 2019, 36(1): 184-188.
- [11] HAEGELI L M, ERCIN E, STEFFEL J, et al. Incidence and prognosis of ventricular arrhythmias in patients with congenital left ventricular aneurysms or diverticula [J]. *Am J Med*, 2015, 128(6): 653. e1-653. e6.
- [12] CHILD N, MUHR T, SAMMUT E, et al. Prevalence of myocardial crypts in a large retrospective cohort study by cardiovascular magnetic resonance [J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2014, 16(1): 66.
- [13] SHARMA A, KUMAR S. Overview of left ventricular outpouchings on cardiac magnetic resonance imaging [J]. *Cardiovasc Diagn Ther*, 2015, 5(6): 464-470.
- [14] VELIYEV V, SAHRATOV H, MUSAYEVA T. Isolated congenital left ventricular diverticulum presenting as stable angina pectoris and surgical treatment [J]. *Kardiochir Torakochirurgia Pol*, 2019, 16(1): 44-46.
- [15] YAO M, WANG R, YE W, et al. Surgical treatment of congenital left ventricular diverticulum [J]. *J Thorac Dis*, 2021, 13(1): 291-298.

(收稿日期: 2021-11-18 修回日期: 2022-02-08)