

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.04.020

❖ 临床研究 ❖

# 宫颈疾病患者 p16/Ki-67 表达状况及其与 HPV 感染的相关性

崔焱, 张瑜英, 潘琳

(北京和平里医院妇科, 北京 100013)

**【摘要】目的:** 分析宫颈疾病患者 p16/Ki-67 表达状况及其与人乳头状瘤病毒(HPV)感染的相关性。**方法:** 选取 150 例宫颈疾病患者为研究对象, 按照病理类型分为宫颈癌组( $n=20$ )、高度鳞状上皮内病变(HSIL)组( $n=35$ )、低度鳞状上皮内病变(LSIL)组( $n=45$ )和宫颈炎组( $n=50$ )。比较四组患者 p16/Ki-67 双染阳性率及 HPV 感染率; 分析 p16/Ki-67 阳性表达与 HPV 感染的相关性。**结果:** 四组患者 P16/Ki67 双染阳性率及 HPV 感染率比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 其中宫颈炎组低于宫颈癌组、HSIL 组及 LSIL 组( $P < 0.05$ ); LSIL 组低于宫颈癌组及 HSIL 组( $P < 0.05$ ); HSIL 组与宫颈癌组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。p16/Ki-67 阳性表达与 HPV 感染呈正相关( $r = 0.420, P < 0.05$ )。p16/Ki-67 双染阳性患者病变发生率高于双染阴性患者(35.7% vs. 6.5%), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.287, P = 0.012$ )。**结论:** p16/Ki-67 表达与 HPV 感染呈正相关, 临床应用 p16/Ki-67 双染检测可有效评估宫颈病变, 预测 LSIL 转归。

**【关键词】** HR-HPV 阳性感染; 低度鳞状上皮内病变; 高度鳞状上皮内病变; 宫颈癌; 宫颈炎; p16/Ki-67 双染阳性率

**【中图分类号】** R737.3 **【文献标志码】** A

## Expression of p16/Ki-67 in patients with cervical diseases and its correlation with HPV infection

CUI Yan, ZHANG Yu-ying, PAN Lin

(Department of Gynecology, Beijing Hepingli Hospital, Beijing 100013, China)

**【Abstract】 Objective:** To analyze the expression of p16/Ki-67 in patients with cervical diseases and its correlation with human papillomavirus (HPV) infection. **Methods:** 150 patients with cervical diseases were selected as the research objects. They were divided into cervical cancer group ( $n=20$ ), high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) group ( $n=35$ ), low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) group ( $n=45$ ) and cervicitis group ( $n=50$ ). The difference of p16/Ki-67 double staining positive rate and HPV infection rate in four groups and the correlation between p16/Ki-67 positive expression and HPV infection were observed. **Results:** The positive rate of p16/Ki67 double staining and HPV infection rate among the four groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The positive rate of p16/Ki67 double staining and HPV infection rate in cervicitis group were significantly lower than those in cervical cancer group, HSIL group and LSIL group ( $P < 0.05$ ), the LSIL group were significantly lower than the cervical cancer group and HSIL group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in p16/Ki67 double staining positive rate and HPV infection rate between HSIL group and cervical cancer group ( $P > 0.05$ ). The positive expression of p16/Ki-67 was positively correlated with HPV infection ( $r = 0.420, P < 0.05$ ). The incidence of lesions in patients with positive p16/Ki-67 double staining was 35.7%, which was significantly higher than that in patients with negative p16/Ki-67 double staining (6.5%), the difference was statistically significant ( $\chi^2 = 6.287, P = 0.012$ ). **Conclusion:** The expression of p16/Ki-67 is positively correlated with HPV infection. The clinical application of p16/Ki-67 double staining can effectively evaluate cervical lesions and predict the outcome of LSIL.

**【Key words】** HR-HPV positive infection; Low-grade squamous intraepithelial lesion; High-grade squamous intraepithelial lesion; Cervical cancer; Cervicitis; p16/Ki-67 double staining positive rate

宫颈病变主要分为宫颈癌和宫颈癌前病变, 其中低度鳞状上皮内病变(LSIL)通常在宫颈癌前发生, 在宫颈癌防治阶段发挥重要作用<sup>[1-2]</sup>。目前, 针对 LSIL 的诊断与分级仍然受多种主观因素影响, 对

临床治疗造成严重影响<sup>[3-4]</sup>。因此, 寻找一种准确、简便的检测方法, 以判断 LSIL 及预测其转归进展成为当前研究重点。早期临床主要依靠液基细胞学检查、HPV-DNA 检查等评估诊断宫颈病变情况, 但其

具有操作复杂、检查费用高等缺点,临床认可度相对较低<sup>[5]</sup>。近期有研究<sup>[6-7]</sup>表明,p16/Ki-67 双染阳性与宫颈病变存在密切关系,可准确诊断 LSIL 病变程度,在临床具有重要价值。P16 属于抑癌基因,可直接调控细胞周期,同时 Ki-67 是增殖细胞标记物,两者联合使用可在早期鉴别诊断宫颈病变。本研究旨在探讨宫颈疾病患者 p16/Ki-67 表达状况及其与 HPV 感染的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2017 年 12 月至 2020 年 5 月北京和平里医院收治的 150 例宫颈疾病患者为研究对象,按照病理类型分为宫颈癌组( $n=20$ )、高度鳞状上皮内病变(HSIL)组( $n=35$ )、低度鳞状上皮内病变(LSIL)组( $n=45$ 例)和宫颈炎组( $n=50$ )。宫颈癌组中,年龄 36~62 岁,平均( $45.11 \pm 2.01$ )岁;病程 1~3 年,平均( $1.91 \pm 0.52$ )年。HSIL 组中,年龄 38~64 岁,平均( $46.02 \pm 2.21$ )岁;病程 1~2.5 年,平均( $1.50 \pm 0.66$ )年。LSIL 组中,年龄 37~67 岁,平均( $45.99 \pm 2.08$ )岁;病程 1~4 年,平均( $1.99 \pm 0.74$ )年。宫颈炎组中,年龄 35~66 岁,平均( $44.98 \pm 2.11$ )岁;病程 1~3 年,平均( $1.87 \pm 0.69$ )年。本研究经伦理委员会批准,患者及家属知情并签署知情同意书。四组患者一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。纳入标准:(1)伴有宫颈疾病者;(2)年龄均>18 周岁;(3)病历资料均完整且有随访记录。排除标准:(1)术前接受放疗或免疫治疗;(2)合并免疫系统缺陷疾病;(3)存在急性妇科炎症者。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞学 p16/Ki-67 双染检测** 将细胞薄片固定于 95%乙醇中,浸润 30 min 后流水冲洗 1 min;使用 DAB 显色试剂盒(福建迈新生物有限公司)在 95℃下对细胞薄片进行 EDTA 8.0 热修复;20 min 后滴加过氧化物酶 100  $\mu$ L,室温孵育 10 min;滴加 p16/Ki-67 抗体(上海信裕生物科技有限公司/博士得生物有限公司)一抗 100  $\mu$ L,室温孵育 60 min,滴加酶标二抗 100  $\mu$ L,室温孵育 15 min;滴加 DAB 显色剂 100  $\mu$ L,室温孵育 5 min;使用苏木精衬染细胞核,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

**1.2.2 p16/Ki-67 双染结果判断** 在显微镜下观察,若 $\geq 1$ 个细胞质出现红色,且该细胞核呈红褐色或黄棕色为阳性;若 $\geq 1$ 个细胞质或细胞核单独显色或均不显色为阴性<sup>[8]</sup>。

**1.2.3 随访观察** 对 LSIL 患者进行随访,1 次/半

年,共两次,若发现异常则进行病理活检。LSIL 症状未消退,且持续出现 HSIL 病变为进展。

### 1.3 观察指标

(1)不同宫颈组织学诊断结果中 P16/Ki67 双染阳性率;(2)不同宫颈组织学诊断结果中 HPV 感染率;(3)p16/Ki-67 阳性表达与 HPV 感染的关系;(4)p16/Ki-67 双染检测结果与 LSIL 进展的关系。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件对数据进行分析与处理。计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验,相关性分析采用 Spearman 相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同宫颈组织学诊断结果中 P16/Ki67 双染阳性比较

宫颈癌组、HSIL 组、LSIL 组和宫颈炎组的 P16/Ki67 双染阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),其中宫颈炎组低于宫颈癌组、HSIL 组及 LSIL 组( $P<0.05$ );LSIL 组低于宫颈癌组及 HSIL 组( $P<0.05$ );HSIL 组与宫颈癌组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 不同宫颈组织学诊断结果中 P16/Ki67 双染阳性比较 $[n(\%)]$

组别	P16/Ki67 双染阳性率
宫颈癌组( $n=20$ )	19(95.0)
HSIL 组( $n=35$ )	31(88.6)
LSIL 组( $n=45$ )	14(31.1) <sup>#</sup>
宫颈炎组( $n=50$ )	1(2.0) <sup>*</sup>
$\chi^2$ 值	35.593
$P$ 值	<0.001

\* $P<0.05$ ,分别与宫颈癌组、HSIL 组及 LSIL 组相比;# $P<0.05$ ,分别与宫颈癌组及 HSIL 组相比。

### 2.2 不同宫颈组织学诊断结果中 HPV 感染率比较

宫颈癌组、HSIL 组、LSIL 组和宫颈炎组的 HPV 感染率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),其中宫颈炎组低于宫颈癌组、HSIL 组及 LSIL 组( $P<0.05$ );LSIL 组低于宫颈癌组及 HSIL 组( $P<0.05$ );HSIL 组与宫颈癌组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 不同宫颈组织学诊断结果中 HPV 感染率比较 $[n(\%)]$

组别	HPV 感染率
宫颈癌组( $n=20$ )	18(90.0)
HSIL 组( $n=35$ )	30(85.7)
LSIL 组( $n=45$ )	14(31.1) <sup>#</sup>
宫颈炎组( $n=50$ )	5(10.0) <sup>*</sup>
$\chi^2$ 值	35.131
$P$ 值	<0.001

\* $P<0.05$ ,分别与宫颈癌组、HSIL 组及 LSIL 组相比;# $P<0.05$ ,分别与宫颈癌组及 HSIL 组相比。

### 2.3 p16/Ki-67 阳性表达与 HPV 感染的关系

相关性分析显示, p16/Ki-67 阳性表达与 HPV 感染、宫颈病变呈正相关( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 p16/Ki-67 阳性表达与 HPV 感染、宫颈病变的关系

分类	p16/Ki-67 阳性表达	
	r 值	P 值
宫颈病变	0.368	0.008
HPV 感染	0.420	0.001

### 2.4 p16/Ki-67 双染检测结果与 LSIL 进展的关系

p16/Ki-67 双染阳性患者病变发生率高于双染阴性患者(35.7% vs. 6.5%), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.287, P = 0.012$ )。

## 3 讨论

宫颈癌在女性恶性肿瘤中较为常见, 其性生活过早、多产、HPV 感染等均可诱发<sup>[9-10]</sup>。临床显示, 宫颈癌的病变期相对较长, 且大多数宫颈癌都是有 LSIL 演变而来, 严重威胁患者的生命安全<sup>[11]</sup>。因此, 宫颈癌病变前的早期诊断对宫颈癌的预防和治疗发挥关键作用。目前, 临床多采用细胞学检测、HPV-DNA 检测等传统方法评估诊断疾病, 但敏感度不足, 可重复性较差, 极易发生漏诊或误诊情况, 难以大范围推广<sup>[12-14]</sup>。近年来, 肿瘤标志物在鉴别诊断肿瘤中发挥重要作用, 主要以 p16 和 Ki-67 为代表<sup>[15]</sup>。P16 作为一种调控基因可有效控制细胞增殖及细胞周期进展, 而 Ki-67 作为一种抑癌基因可直接调控细胞周期, 与 p16 相辅相成<sup>[16-17]</sup>。因此, P16/Ki67 双染检测可有效评估宫颈病变并预测 LSIL 转归进展, 临床应用较为广泛。

本研究显示, 宫颈癌、LSIL、HSIL 患者的 P16/Ki67 双染阳性率高于宫颈炎患者( $P < 0.05$ ), 且随着病变程度的加重, 其 P16/Ki67 双染阳性率也不断增加( $P < 0.05$ ), 原因是 p16 属于一种蛋白激酶抑制剂, 在对细胞周期的调控方面起着关键作用<sup>[18]</sup>。有研究表明, p16 与 HPV-DNA 的 E7 癌蛋白介导的视网膜母细胞瘤蛋白的功能性失活存在紧密的联系, 因此, P16 可准确评估致癌性 HPV-DNA 感染中的过度表达情况, 并进一步维持细胞周期的稳定性<sup>[19]</sup>。而 Ki-67 作为一种核抗原在增殖期细胞中表达较为强烈, 可有效提高细胞增殖的活性, 进而对肿瘤的转移、浸润、发生等生理过程进行更清晰的反映<sup>[20]</sup>。相关研究<sup>[21]</sup>发现, p16 过表达是使细胞周期出现阻滞的主要诱因, 而 Ki-67 属于新型肿瘤标志

物可有效对 HPV 转化感染介导的细胞周期进行调控。通常以同一细胞中 P16/Ki67 的双阳性作为判断 HPV 感染的标志物。而且 P16/Ki67 双阳性也可作为评估宫颈癌、LSIL、HSIL、宫颈炎患者是否存在 HPV 感染情况<sup>[22-23]</sup>。本研究显示, 宫颈癌、LSIL、HSIL 患者的 HPV 感染率高于宫颈炎患者( $P < 0.05$ ), 且 HPV 感染率随着宫颈病变程度的加重而增加( $P < 0.05$ ), 同 P16/Ki67 双染阳性率与宫颈病变程度的关系具有一致性。

为进一步探究 p16/Ki-67 双染检测结果与 LSIL 进展的关系, 本研究对 45 例 LSIL 患者定期进行随访, 结果发现, p16/Ki-67 双染阳性患者病变进展率为 35.7%, 是 p16/Ki-67 双染阴性患者的 5.49 倍, 说明 p16/Ki-67 双染检测对 LSIL 的转归预测具有一定的临床意义, 可帮助临床避免发生过度治疗的情况, 杜绝漏诊、误诊的出现<sup>[24]</sup>。相关性结果<sup>[25]</sup>表明, p16/Ki-67 阳性表达与 HPV 感染呈正相关, 说明 HPV 感染检测联合 p16/Ki-67 双染检测可明显提高诊断的灵敏度和特异度, 进而提高 LSIL、HSIL、早期宫颈癌的诊断率。

综上所述, p16/Ki-67 表达与 HPV 感染呈正相关, 临床应用 p16/Ki-67 双染检测可有效评估宫颈病变, 预测 LSIL 转归。

### 参考文献

- [1] 何鑫, 陶绘丞, 王淑珍, 等. 高危型人乳头瘤病毒阴性/不典型鳞状细胞和低度鳞状上皮内病变患者的随访观察[J]. 首都医科大学学报, 2015, 36(2): 205-211.
- [2] 闫小龙, 井明霞, 张眉, 等. 低度宫颈鳞状上皮内病变自然史的系统评价[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2016, 23(19): 1318-1324.
- [3] 董晶, 汪清, 张宏伟, 等. 外阴高级别及低级别鳞状上皮内病变的临床诊断分析[J]. 实用妇产科杂志, 2020, 36(8): 601-605.
- [4] Frega A, Pavone M, Sesti F, et al. Sensitivity and specificity values of high-risk HPV DNA, p16/ki-67 and HPV mRNA in young women with atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) or low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(24): 10672-10677.
- [5] 夏作利, 陈国荣, 潘丹, 等. HPV E6/E7 联合液基细胞学检查在宫颈癌前病变筛查中的意义[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(18): 3053-3056.
- [6] 詹晓芬, 王少洪, 吴璇, 等. HPV E6/E7 mRNA 联合 P16/ki67 免疫细胞化学双染色检测在不典型鳞状细胞(ASCUS)分流诊断中的作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(10): 937-941.
- [7] 官燕飞, 彭建明, 袁春雷, 等. P16/ki67 双标记和 HPV E6/E7 mRNA 检测及其联合应用在低级别鳞状上皮内病变细胞学分流诊断中的价值[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2020, 36(1): 63-68.

(下转第 500 页)