

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2010.12.021

C-myc、HPV16/18DNA 在宫颈癌及癌前病变中的表达及其相关性

何志连*, 余立群

Expression of C-myc and HPV16/18 in Cervical Carcinoma and Cervical Intraepithelial Neoplasia and Their Relationship

HE Zhi-lian*, YU Li-qun

Department of Obstetrics and Gynecology, The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China (* Present: The Third Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330008, China)

Corresponding Author: YU Li-qun, E-mail: yuliquan48@sina.com

Abstract: Objective To investigate the expression of C-myc and HPV16/18 DNA in cervical carcinoma and cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and their relationship with clinicopathology. **Methods** 10 cases of normal cervical epithelium, 20 cases of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and 30 cases of cervical carcinoma were included. The expression of C-myc gene was evaluated by immunohistochemistry (Maxvision). The expression of HPV16/18 DNA was determined by hybridization in situ. **Results** (1) The positive expression rate of C-myc was 20% (2/10) in normal cervical epithelium, 45% (9/20) in CIN and 66.7% (20/30) in cervical carcinoma respectively. The positive expression rate of HPV16/18 DNA was 10% (1/10) in normal, 50% (10/20) in CIN and 73.3% (22/30) in cervical carcinoma respectively. Their difference were all significant ($P < 0.05$). (2) The positive expression rate of C-myc elevated with FIGO, histological grade and the lymph node metastasis. Their difference was significant ($P < 0.05$). (3) HPV16/18DNA was positively correlated with C-myc in cervical carcinoma. **Conclusion** (1) High-risk HPV was positively correlated with C-myc in cervical carcinoma, supporting that C-myc gene is a target gene of high-risk HPV. (2) HPV had the vital clinical significance of disease-screen and early diagnosis. (3) C-myc had important value to appraisal of the cervical carcinoma treatment result and estimate of the prognostic.

Key words: C-myc genes; HPV16/18; Cervical cancer; CIN

摘要:目的 研究 C-myc 和 HPV16/18 DNA 在宫颈癌及癌前病变中的表达及其相关性。**方法** 采用免疫组织化学 Maxvision 法检测 20 例宫颈上皮内瘤变 (CIN)、30 例宫颈癌 (CC) 及 10 例正常宫颈组织中 C-myc 的表达,采用原位杂交方法检测三者 HPV16/18DNA 的表达情况。**结果** (1) C-myc 在正常宫颈组织、CIN 及宫颈癌中阳性表达率分别为 20% (2/10)、45% (9/20) 和 66.7% (20/30), HPV16/18DNA 在以上各组阳性表达率分别为 10% (1/10)、50% (10/20) 和 73.3% (22/30), 各组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。 (2) C-myc 阳性表达随 FIGO 分期、病理学分级、淋巴结转移而升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。 (3) 在宫颈癌组织中 HPV16/18 的表达与 C-myc 呈正相关。**结论** (1) 宫颈癌中高危型 HPV 与 C-myc 的表达呈明显正相关, 支持 C-myc 基因是高危型 HPV 靶基因的说法。 (2) 高危型 HPV 对宫颈癌的筛查、早期诊断有重要的临床意义。 (3) C-myc 对宫颈癌治疗效果的评价及预后的判断有重要的价值。

关键词: C-myc 基因; HPV16/18; 宫颈癌; 宫颈上皮内瘤变

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2010)12-1413-03

收稿日期: 2010-06-17; 修回日期: 2010-10-05

基金项目: 江西省卫生厅课题资助项目 (20071078)

作者单位: 330006 南昌, 南昌大学第二附属医院妇产科

(* 现工作单位: 330008 南昌, 南昌大学第三附属医院妇产科)

通信作者: 余立群, E-mail: yuliquan48@sina.com

作者简介: 何志连 (1977-), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事妇科疾病的基础与临床研究

0 引言

近年来的研究显示人乳头瘤病毒 (Human papilloma virus, HPV) 持续感染在宫颈癌的发生及进展中起主要作用。但仅 HPV 的感染并不足以致癌, 还必须与其他协同因素^[1], C-myc 是一类参与细

胞增殖与分化的原癌基因,可以使被调节的基因激活或转录增强,通过抑制作用可以解除生长抑制基因对细胞无限生长的抑制,进一步促进细胞增殖及恶性转化。本研究对 C-myc、HPV16/18 DNA 在宫颈癌(Cervical Carcinoma,CC)及癌前病变中的表达及其在宫颈肿瘤发生、发展中的作用进行初步探讨。

1 资料与方法

1.1 研究对象

标本选取 2004—2008 年期间在南昌大学一、二附院病理科确诊的宫颈癌存档蜡块 30 例,宫颈上皮内瘤变(Cervical intraepithelial neoplasia,CIN) 20 例作为实验组,并随机选择正常宫颈组织 10 例作为对照组。年龄 22~66 岁,平均 40.3 岁。宫颈癌中高分化(G1)8 例,中分化(G2)10 例,低分化(G3)12 例。CIN 标本按细胞学异常的程度分为 3 级:Ⅰ级 6 例,Ⅱ级 8 例,Ⅲ级 6 例。正常宫颈组织 10 例。宫颈癌分期按 FIGO2000 年修订的标准,Ⅰ、Ⅱ期来自于宫颈癌根治术后的标本,Ⅲ~Ⅳ则为放疗前的活检标本,所有标本均经病理检查确诊,所有癌症病例取材前均未行化疗或放疗等特殊治疗。

1.2 实验试剂和检测方法

C-myc 鼠抗人单克隆抗体,HPV16/18 原位杂交试剂盒购自福建迈新生物技术有限公司。C-myc 采用免疫组织化学 Maxvision 法检测,HPV16/18 以原位杂交方法检测,根据说明书进行常规操作。C-myc 阳性对照为已知 C-myc 阳性的乳腺癌的组织切片,均以 PBS 代替一抗做阴性对照片。HPV16/18 阳性对照为试剂盒中 HPV16/18DNA 阳性模板的宫颈鳞癌组织切片,阴性对照为正常宫颈组织。

1.3 染色结果的判断

C-myc 蛋白染色为浅黄色至棕褐色颗粒,存在于细胞核/质中。每张切片在 400 倍显微镜下选 5~10 个视野,每个视野 100~200 个癌细胞共计数 1 000 个细胞,染色结果根据染色的强度和范围评分,采用计分的方法:先按染色强度评分:0 分:无染色;1 分:弱染色(浅黄色);2 分:中等强度染色(棕黄色);3 分:强染色(棕褐色)。再按阳性细胞的百分比进行评分:1 分:阳性细胞数<10%;2 分:阳性细胞数 10%~50%;3 分:阳性细胞数>50%。两项评分相乘所得的积为得分:得分≤3 为表达缺失或减弱,得分>3 为阳性。HPV16/18 阳性为鳞状上皮中上层细胞核中有棕褐色颗粒,凡细胞核中出现明显的棕黄色颗粒为 HPV16/18 阳性细胞,随机选择 10 个高倍视野,计数 1 000 个细胞,计算阳性细胞百分率。<5%为(-),5%~10%(+),11%~50%(++),

>50%(+++)。

1.4 统计学方法

所有数据经 SPSS13.0 统计软件进行处理,样本率的比较用卡方检验及 Fisher 精确检验,指标间的相关性采用 Spearman 等级相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 C-myc、HPV16/18 DNA 在宫颈组织中的表达

宫颈癌中 C-myc、HPV16/18 阳性表达率均明显高于 CIN 组和正常宫颈组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1,图 1、2。

表 1 C-myc、HPV16/18 DNA 在不同宫颈组织中的表达

Table 1 The expression of C-myc,HPV16/18 DNA in different tissues of the cervix

Groups	n	C-myc		HPV16/18	
		+ Positive rate (%)	+ Positive rate (%)	+ Positive rate (%)	+ Positive rate (%)
CC	30	20	66.7	22	73.3
CIN *	20	9	45*	10	50*
Normal conral	10	2	20*	1	10*

Note: * : $P < 0.05$ vs. CC

2.2 C-myc、HPV16/18 DNA 表达与宫颈癌患者临床病理参数的关系

C-myc 在伴有淋巴结转移者的阳性表达率高于无淋巴结转移者,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。HPV16/18DNA 阳性表达率各组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2,图 1、2。

表 2 C-myc、HPV16/18 DNA 表达与宫颈癌患者临床病理参数的关系

Table 2 Expression of C-myc,HPV16/18 DNA in CC and their correlation with clinicopathologic features

Clinicopathologic features	n	C-myc Positive rate (%)	HPV16/18 Positive rate (%)
FIGO stage			
Ⅰ~Ⅱ	23	13(56.5)	17(73.9)
Ⅲ~Ⅳ	7	7(100)*	5(71.4)
Histsological grade			
G1	8	3(37.5)	5(62.5)
G2	10	6(60) [○]	7(70)
G3	12	11(91.6) [○]	10(83.3)
Lymph node metastasis			
Yes	6	6(100) [△]	5(83.3)
No	17	7(41.1)	12(70.5)

Note: * : $P < 0.05$ vs. stage Ⅰ~Ⅱ; [○] : $P < 0.05$ vs. G1; [△] : $P < 0.05$ vs. no lymph node metastasis

2.3 C-myc 与 HPV16/18 表达的相关性

HPV16/18 表达阳性的 22 例宫颈癌中,C-myc 表达阳性为 18 例,HPV16/18 表达阴性的 8 例宫颈

癌中, C-myc 表达阴性为 6 例, HPV16/18 表达与 C-myc 表达情况呈明显正相关。(Spearman 等级相关系数 $r_s = 0.553, P = 0.002$)。

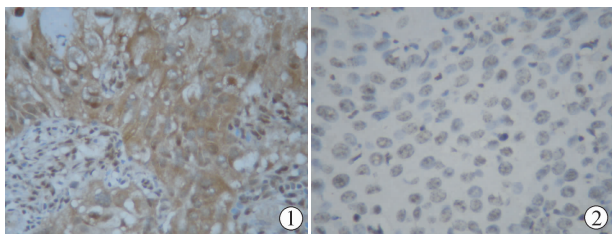


图 1 宫颈癌组织中 C-myc 呈强阳性表达 (Maxvision×400)

Figure 1 Positive expression of C-myc in CC(Maxvision×400)

图 2 宫颈癌组织中 HPV16/18 阳性表达(原位杂交×400)

Figure 2 Positive expression of HPV16/18 DNA in CC

(hybridization in situ×400)

3 讨论

3.1 C-myc 基因与宫颈肿瘤

在多数情况下, C-myc 基因特异地识别其靶基因 DNA 序列中的 CACGTG 核心序列(E 盒)并与之结合,使被调节的基因激活或转录增强^[2],通过抑制作用可以解除生长抑制基因对细胞无限生长的抑制,进一步促进细胞增殖及恶性转化。阮永华等^[3]研究发现,在正常宫颈、CIN、宫颈鳞癌组织中, C-myc 的阳性表达率分别为 0、42.9% 及 75.7%。C-myc 的表达强度随恶性程度的增高而增强,且 CIN Ⅲ级比 CIN Ⅱ级和 CIN Ⅰ级表达强,说明 C-myc 的过表达在宫颈癌的发生发展过程中可能起着重要的作用。同时也发现, C-myc mRNA 在宫颈癌的表达率显著高于 CIN,且表达强度随着宫颈癌恶性程度的增加而增加,提示 C-myc 的表达在一定程度上反映了肿瘤的分化程度。本研究结果提示: C-myc 在宫颈癌的发生发展中起着重要的作用,与其临床病理特征有着密切的关系,提示在宫颈癌的发生发展过程中 C-myc 表达与否及表达强弱可作为临床分期、宫颈癌恶性程度高低的一项组织学指标,可作为宫颈癌早期诊断和监测预后的指标,同时也为临床早期复发提供线索。

3.2 高危型 HPV 与宫颈肿瘤

目前,宫颈癌是全球女性第二大癌症相关死亡的病因,而高危型人乳头瘤病毒(HPV)持续感染是宫颈癌发生发展的必要条件^[4-6],这一观点已为国内外大多数学者所接受。目前认为,整合后的 DNA 发生致癌作用的主要基因为 E6、E7 和 E2。致癌基因 E6、E7 在直接转化细胞的同时,与细胞周期调控蛋白相互作用,干扰正常细胞周期调控从而导致细胞无限制生长引起癌变。HPV16/18 致癌的关键在于 E6、E7 转化基因及其产物。王秋兰^[7]研究提示, HPV16 DNA 在宫颈癌中的表达,明显高于正

常宫颈组织。本研究结果表明,随着宫颈疾病级别的升高, HPV16/18 阳性表达率也逐渐升高,而与宫颈癌其他临床病理特征(临床分期、组织学类型、细胞分化、淋巴结转移)无关,从而认为 HPV16/18 可成为在临床上对宫颈癌的早期诊断、筛查一个指标。

3.3 C-myc 基因与高危 HPV 在宫颈癌发生、发展中的作用

C-myc 基因及产物在宫颈癌的发生过程中与 HPV 关系密切。细胞在正常生理条件下, PRb(retinoblastoma protein) 与 E2F 细胞因子结合,减少了游离 E2F 的数量,游离 E2F 能激活 C-myc 蛋白,激活的 C-myc 蛋白具有使细胞由 G₀ 期向 S 期转化的功能。HPV 的病毒蛋白 E7 在细胞内结合 PRb,游离 E2F 数量增加, C-myc 蛋白的活性增加,结果导致大量 G₀ 期细胞提前进入细胞周期,组织学表现为细胞过度增生,不典型增生甚至癌变。本研究可见: HPV16/18 表达与 C-myc 表达情况呈明显正相关。推测高危型 HPV 感染可能是通过改变 C-myc 起到致癌作用,支持 C-myc 基因是 HPV16/18 的靶基因的说法,由此认为 C-myc 的激活是 HPV16/18 作用的直接结果。但是他们间相互作用的机制和方式还需进一步研究。

总之,宫颈癌变过程中 C-myc 的过度表达起到关键的作用,而高危型 HPV 感染是诱发因素,联合二者的表达情况,对宫颈癌的筛查、早期诊断和治疗、预后评估都起着重要作用。

参考文献:

- [1] 陈丽萍,刘润花,赵富玺. 宫颈癌组织中 MCM4、CDC6 的表达及其与 HPV_(16/18)感染的相关性 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2008, 15(4): 374-377.
- [2] Sauv e S, Tremblay L, Lavigne P. The NMR solution structure of a mutant of the Max b/HLH/LZ free of DNA: insights into the specific and reversible DNA binding mechanism of dimeric transcription factors[J]. J Mol Biol, 2004, 342(3): 813-832.
- [3] 阮永华,魏万里,张华献,等. 宫颈癌组织中癌基因 C-myc 与抑癌基因 p16 的对比分析[J]. 癌症, 2003, 22(6): 602-606.
- [4] Hernández-Hernández DM, Omelas-Bernal L, Guido-Jiménez M, et al. Association between high-risk human Papillomavirus DNA load and precursor lesions of cervical cancer in Mexican women[J]. Gynecol Oncol, 2003, 90(2): 310-317.
- [5] Venturoli S, Cricca M, Bonvicini F, et al. Human papillomavirus DNA testing by PCR-ELISA and hybrid capture II from a single cytological specimen: concordance and correlation with cytological resul[J]. J Clin Virol, 2002, 25(2): 177-185.
- [6] 李淑敏,章文华,吴令英,等. 人乳头瘤病毒负荷量与子宫颈癌及其癌前病变关系的初步研究[J]. 中华妇产科杂志, 2004, 34(6): 42-44.
- [7] 王秋兰,张俊会. 宫颈癌中 HPV16 感染与 IL-6 表达的关系 [J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(1): 77-80.

[编辑:黄园玲;校对:贺文]