

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.33.009

宫颈癌组织中 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的表达及其临床意义

刘丽娜¹ 刘 爽² 李 瑶¹ 杨永秀^{1,3,△}

(1 兰州大学第一临床医学院 甘肃 兰州 730000; 2 兰州军区兰州总医院妇产科 甘肃 兰州 730000;

3 兰州大学第一医院妇产科 甘肃 兰州 730000)

摘要 目的:检测宫颈癌组织中微小染色体维持蛋白-5(minichromosome maintenance protein 5, MCM5)与 P16^{INK4A} mRNA 的表达,并探讨其在宫颈癌中的临床意义。**方法:**采用实时荧光定量 PCR (real-time PCR)检测 40 例宫颈鳞状细胞癌、15 例低度宫颈上皮内瘤变(CIN I)、20 例高度宫颈上皮内瘤变(CIN II-III)中 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的相对表达量,并以 20 例正常宫颈组织作为对照,分析其与宫颈癌临床病理特征的关系。**结果:**(1)随着宫颈病变程度的加重, MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的表达量逐渐增高。宫颈癌组织中 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的表达量分别是正常宫颈组织的(3.026±1.210)倍和(2.540±0.718)倍,差异具有统计学意义(P<0.05)。宫颈癌组织中 MCM5 mRNA 的表达量明显高于 CIN I、CIN II-III(P<0.05), CIN I、CIN II-III 中 MCM5 mRNA 的表达量均显著高于正常宫颈组织,差异具有统计学意义(P<0.05),而 CIN I 与 CIN II-III 比较差异无统计学意义(P>0.05);宫颈癌组织中 P16^{INK4A} mRNA 的表达量为正常宫颈组织的(2.54±0.86)倍,差异有统计学意义(P<0.05),亦显著高于 CIN I,差异具有统计学意义(P<0.05),但与 CIN II-III 比较差异无统计学意义(P>0.05)。(2)在宫颈癌组织中, MCM5 mRNA 的表达量与肿瘤的临床期别、分化程度显著相关(P<0.01),但与患者的年龄无关(P>0.05); P16^{INK4A} mRNA 的表达量与肿瘤的临床期别、年龄均无关(P>0.05),但与肿瘤的分化程度相关(P<0.01)。**结论:** MCM5、P16^{INK4A} 的高表达可能在宫颈癌的发展中起重要作用。MCM5 基因检测有助于区分癌前病变和宫颈癌,有望成为宫颈癌肿瘤增生的新标志物。P16^{INK4A} 的检测在宫颈病变筛查中具有重要意义,有助于 CIN 的分级并预测转归,从而提高宫颈癌筛查率。

关键词:微小染色体维持蛋白 5; P16^{INK4A}; 宫颈鳞癌; 实时荧光定量 PCR

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)33-6437-04

Expression and Clinical Significance of MCM5 and P16^{INK4A} mRNA in Cervical Squamous Cell Cancer

LIU Li-na¹, LIU Shuang², LI Yao¹, YANG Yong-xiu^{1,3,△}

(1 The First Clinical Medicine College of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu, 730000, China; 2 Department of gynecology and obstetrics, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Area Command, Lanzhou, Gansu, 730000, China; 3 Department of gynecology and obstetrics of the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu, 730000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and clinical significance of minichromosome maintenance protein 5 (MCM5) and P16^{INK4A} mRNA in cervical cancer tissue. **Methods:** The expression of mRNA of MCM5 and P16^{INK4A} in 40 cases of cervical squamous cell cancer, 15 cases of CIN I, 20 cases of CIN II-III, 20 cases of normal cervical tissues (control group) were examined by Real-time PCR, their relationship with clinical pathological parameters of cervical carcinoma were analyzed. **Results:** (1) The expression of MCM5 and P16^{INK4A} mRNA gradually augmented with the headway of the cervical lesion. The relative quantification of MCM5 and P16^{INK4A} mRNA in cervical cancer was (3.026±1.210) and (2.540±0.718) times that of MCM5 and P16^{INK4A} in normal cervical tissue (P<0.05). MCM5 expression was obviously higher in cervical cancer than those of CIN I and CIN II-III (P<0.05), and MCM5 expression was obviously higher in CIN I, CIN II-III than that of normal cervical tissue (P<0.05). But there was no significant difference between CIN I and CIN II-III (P>0.05). The expression of mRNA of P16^{INK4A} were higher in cervical cancer than those of CIN I and normal cervical tissue (P<0.05), but there was no significant difference between cervical cancer and CIN II-III (P>0.05). (2) The expression of MCM5 mRNA in cervical squamous cell carcinoma was positively correlated with clinical stage and the differentiation degree of cervical cancer (P<0.01), which was not correlated with the age (P>0.05). P16^{INK4A} expression exhibited no correlation with the clinical stage and age of patients (P>0.05), while that was positively correlated with the differentiation degree (P<0.01). **Conclusion:** The overexpression of MCM5 and P16^{INK4A} may play important roles in the genesis and progression of cervical cancer. MCM5 may be useful to distinguish CIN and cancer, and used as new marker of proliferation of cervical cancer. Detection of P16^{INK4A} was of great significance in screening of cervical lesions, which may be useful to distinguish the grade of CIN and improve the rate of early diagnosis.

Key words: MCM5; P16^{INK4A}; Cervical cancer; Real-time PCR

Chinese Library Classification: R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)33-6437-04

作者简介: 刘丽娜(1986-),女,硕士研究生,主要研究方向:妇科肿瘤,

电话 13639322639, E-mail: 410675941@qq.com

△通讯作者: 杨永秀, E-mail: yongxiuyang@163.com

(收稿日期: 2014-03-02 接受日期: 2014-03-28)

前言

宫颈癌是全球女性生殖道最常见的恶性肿瘤之一,其在发展中国家的发病率居女性恶性肿瘤的首位,也是导致女性癌症第二大死亡原因^[1]。近年来,采用宫颈基液细胞学及 HPV 检测筛查宫颈癌在很大程度上降低了宫颈癌的发病率和死亡率,但其特异性不理想。目前,宫颈病变没有特异性的诊断指标,寻找高敏感性、特异性分子标志物完善宫颈癌的筛查方案有着重要的临床意义。

微小染色体维持蛋白-5 (minichromosome maintenance protein 5, MCM5) 是微小染色体维持蛋白家族的成员之一,也是近年来肿瘤研究中新的细胞增殖生物指标。MCM5 在 DNA 复制起始、延伸中发挥重要的作用,对确保 S 期细胞的稳定性具有重要的作用^[2]。肿瘤的发生与细胞周期的调节失控有关, P16^{INK4A} 作为抑癌基因直接参与细胞周期调控,其在人类多种肿瘤中表达缺失,在宫颈癌中的表达结果却不尽相同。大多数研究从蛋白水平检测不同宫颈组织中二者的表达情况,因蛋白由基因的转录翻译决定,是基因的表达产物,故本研究在此研究背景中进一步采用 real-time PCR 技术从基因水平检测不同宫颈组织中 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的表达情况,旨在探讨二者联合检测在宫颈病变的诊断和分级中的临床价值和意义,为早期诊断宫颈上皮内瘤变(CIN)、预测其转归及宫颈癌的早期诊断、进展和预后的评估提供可靠的生物学指标。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集 2012 年 8 月至 2013 年 5 月在兰州大学第一医院妇产科住院经宫颈活检的患者的新鲜宫颈组织标本 75 例,其中 CIN I 15 例, CIN II-III 20 例, 宫颈鳞癌 40 例, 鳞癌患者平均年龄 41 岁(≤40 岁 16 例, >40 岁 24 例)。病理分级: 9 例高分化鳞癌(G1), 23 例中分化鳞癌(G2), 8 例低分化鳞癌(G3)。临床分期(按国际妇产科联盟 FIGO1996 年标准): 5 例 Ia 期, 10 例 Ib 期, 9 例 IIa 期, 16 例 IIb 期。所有均为初治病例,均未进行过化疗、放疗。另取同期因子宫肌瘤或子宫脱垂行全子宫切除术患者的非癌变新鲜宫颈组织标本 20 例作为对照组。切除的宫颈标本均经术后病理证实诊断。所有组织标本离体后迅速放入液氮中,后转入 -80℃ 冰箱中冻存。

1.2 主要试剂、仪器和引物

RNAiso Plus RNA 提取试剂、PrimeScriptTM RT MasterMix 逆转录试剂盒、SYBR Premix EX TaqTM II 荧光 Real-Time PCR 试剂盒都购自大连宝生物公司。Real time-PCR 仪(LightCycler480)。引物 MCM5 和 P16^{INK4A} 由大连宝生物公司设计并合成,内参 β -actin 有上海生物工程公司设计合成。MCM5 上游引物: 5'-GAGATGCCAGACACATGCAG-3', 下游引物: 5'-ATGGAGTAGATGCCCATGATGCTA-3', 产物大小 95bp; P16^{INK4A} 上游引物: 5'-CCCCACTACCGTAAATGTCCA-3', 下游引物: 5'-CTAAGTCATAGTCCGCTAGAAGCA-3', 产物大小: 114bp; β -actin 上游引物: 5'-TCGTGCGTGACATTAAGG-3', 下游引物: 5'-AGGAAGGAAGGCTGGAAG-3'。

1.3 SYBR Green Real-time PCR 法检测 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的

NA 的表达

1.3.1 组织总 RNA 的提取和 cDNA 的合成 取 50 mg 待测宫颈组织放入研钵中,加入 1 mL Plus RNA 提取液,严格按照说明书操作提取组织总 RNA, 用紫外分光光度计测定其纯度, D(260)/D(280)值在 1.8~2.1 之间,之后进行逆转录,按照逆转录试剂盒说明操作,每 10 μ L 反应体系中加入 500 ng 总 RNA,反应体系为 20 μ L, 反转录条件: 37℃, 15 min; 85℃, 5 sec; 4℃。反应后 cDNA 置于 -20℃ 冰箱保存备用。

1.3.2 SYBR 实时荧光定量 PCR 及数据处理 应用 LightCycler480 实时荧光定量 PCR 仪检测 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的相对表达量, 按照 TAKARA 荧光定量 PCR 试剂盒操作说明进行, 20 μ L PCR 反应体系: 其中 cDNA 含量为 2 μ L, 反应条件为 95℃ 预变性 30 s; PCR 反应 40 个循环, 95℃ 5 s, 60℃ 20 s。循环结束后, 绘制溶解曲线 95℃ 1 min, 65℃ 15 s; 降温 37℃ 30 s。由 LightCycle Real-Time PCR 软件自动记录荧光曲线并分析计算出 Ct 值。采用相对定量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量, 根据以下公式计算: $\Delta\Delta Ct = (\text{目的基因 } Ct \text{ 值} - \text{对应内参 } Ct \text{ 值}) - (\text{目的基因的 } Ct - \text{内参 } Ct)_{\text{对照组的均值}}$, 以 β -actin 作为内参, 以正常对照作为基准, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示实验组宫颈组织中 mRNA 的表达量相对于对照组的变化倍数^[3]。

1.4 统计学方法

应用 SPSS16.0 统计软件, 各组数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 两组间比较采用 t 检验或 Mann-Whitney U 秩和检验; 多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 秩和检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PCR 扩增产物的特异性分析

基因及内参的溶解曲线均显示为锐利的单一峰形, 无其他非特异峰形, 说明扩增产物特异, 无引物二聚体或非特异性产物产生, 见图 1)。

2.2 不同宫颈组织中 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的表达情况

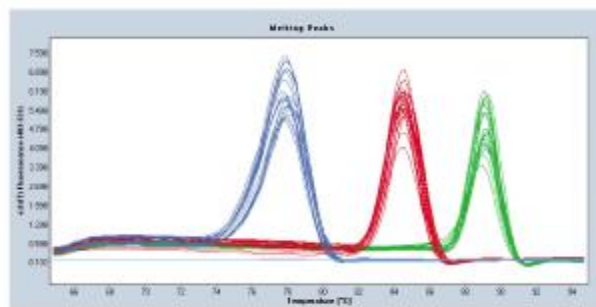


图 1 MCM5、P16^{INK4A} 和 β -actin real-time PCR 产物的溶解曲线图

Fig. 1 The melting curve of real-time PCR for MCM5, P16^{INK4A} and β -actin

以正常宫颈组织中 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的表达量作为标准, MCM5 mRNA 的表达量从正常宫颈组织、CIN I、CIN II-III 到宫颈癌逐渐增高, 四组间差异具有统计学意义 ($\chi^2=55.030$, $P < 0.01$)。宫颈鳞癌组织中 MCM5 mRNA 的表达量为正常宫颈组织的 (3.03 ± 1.21) 倍, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。宫颈癌组织中

MCM5 mRNA 的表达量显著高于 CIN I、CIN II-III, 差异均有统计学意义($P<0.01$)。CIN I、CIN II-III 宫颈组织中 MCM5 mRNA 的表达量均显著高于正常宫颈组织, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 而 CIN I 与 CIN II-III 比较差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 1。

从正常宫颈组织、CIN I、CIN II-III 到宫颈癌组织, 其 P16^{INK4A} mRNA 的表达量逐渐增高, 四组间差异有统计学意义

($\chi^2=44.147, P<0.01$)。宫颈癌组织中 P16^{INK4A} mRNA 的表达量为正常宫颈组织的(2.54 ± 0.86)倍, 差异有统计学意义($P<0.05$), 其亦显著高于 CIN I, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 但与 CIN II-III 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。在正常宫颈组织与 CIN I 的 P16^{INK4A} mRNA 的表达量比较, 差异无统计学意义($P=0.194, P=0.100$), 见表 1。

2.3 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 表达水平与宫颈鳞癌临床病理特

表 1 不同宫颈组织中 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的相对表达量

Table 1 Expression of MCM5 and P16^{INK4A} mRNA in different cervical tissues(means $\pm$ s)

分 组 Group	n	MCM5mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	Z 或 t	P	P16 ^{INK4A} mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	Z 或 t	P
Normal tissue	20	1.000			1.000		
CIN I	15	1.488 $\pm$ 0.309 ^a	-3.897	<0.001	1.469 $\pm$ 0.904 ^a	-1.299	0.194
CIN II-III	20	1.500 $\pm$ 0.219 ^{ab}	-0.112	0.911	2.203 $\pm$ 0.143 ^{bc}	-3.348	0.001
Cervical Cancer	40	3.026 $\pm$ 1.210 ^{acd}	-4.460	<0.001	2.540 $\pm$ 0.718 ^{bcd}	-1.644	0.100

注: MCM5: a: 与正常宫颈组织比较 $P<0.05$; b: CIN I 与 CIN II-III 间比较 $P>0.05$; c: 宫颈癌与 CIN I 间比较 $P<0.05$; d: 宫颈癌与 CIN II-III 间比较 $P<0.05$; P16^{INK4A}: a: CIN I 与正常宫颈组织比较 $P>0.05$; b: 与正常宫颈组织比较 $P<0.05$; c: 与 CIN I 比较 $P<0.05$; d: 宫颈癌与 CIN II-III 比较 $P>0.05$

Note: MCM5: a: vs normal tissues, $P<0.05$; b: CIN I vs CIN II-III, $P>0.05$; c: cervical cancer vs CIN I, $P<0.05$; d: cervical cancer vs CIN II-III, $P<0.05$; P16^{INK4A}: a: CIN I vs normal tissues, $P>0.05$; b: vs normal tissues, $P<0.05$; c: vs CIN I, $P<0.05$; d: cervical cancer vs CIN II-III, $P>0.05$

征的关系

在宫颈癌组织中, 不同年龄宫颈癌患者 MCM5 mRNA 的表达量比较差异无统计学意义($P>0.05$), II a ~ II b 期宫颈癌患者 MCM5 mRNA 的表达量显著高于 I a ~ I b 期, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。MCM5 mRNA 的表达量随病理学分级的不同而改变, 差异均有统计学意义($\chi^2=15.488, P<0.05$)。其中高分化癌(G₁)中 MCM5 mRNA 的表达量低于中分化(G₂)、低分化癌(G₃), 差异均具有统计学意义($P<0.05$), 而 G₂ 与 G₃ 间 MCM5 mRNA 表达量无统计学差异($P=0.857$), 见表 2。

宫颈癌组织中 P16^{INK4A} mRNA 的表达量与患者的年龄无关($P>0.05$)。I a ~ I b 期宫颈癌组织中 P16^{INK4A} mRNA 的表达量高于 II a ~ II b 期, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。G₁、G₂ 到 G₃ 宫颈癌中 P16^{INK4A} mRNA 的表达量呈逐渐下降趋势, 三组间差异有统计学意义 ($\chi^2=21.570, P<0.05$), G₁ 宫颈癌中 P16^{INK4A} mRNA 的表达量明显高于 G₂、G₃, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 但 G₂ 与 G₃ 宫颈癌中 P16^{INK4A} mRNA 的表达量差异无统计学意义($P=0.114$), 见表 2。

表 2 宫颈癌组织中 MCM5 和 P16^{INK4A} mRNA 的相对表达量与患者临床病理特征的关系

Table 2 Correlation of the mRNA expression of MCM5 and P16^{INK4A} with the clinicopathologic parameters of cervical cancer(means $\pm$ s)

Clinicopathologic feature	n	MCM5mRNA			P16 ^{INK4A} mRNA		
		$2^{-\Delta\Delta Ct}$	Z	P	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	Z	P
Age							
< 40	16	2.971 $\pm$ 1.16			2.424 $\pm$ 0.74		
$\geq$ 40	24	3.063 $\pm$ 1.27	-0.232	0.818	2.617 $\pm$ 0.71	-8.33	0.410
clinical stage							
Ia ~ Ib	15	1.769 $\pm$ 0.33			2.814 $\pm$ 0.66		
II a ~ II b	25	3.780 $\pm$ 0.86	-4.624	<0.001	2.375 $\pm$ 0.71	1.94	0.060
Histopathologic classification							
G1	9	1.689 $\pm$ 0.50			3.503 $\pm$ 0.27		
G2	23	3.287 $\pm$ 1.20	-3.584	<0.001	2.350 $\pm$ 0.37	8.40	<0.001
G3	8	3.708 $\pm$ 0.32 ^a	-9.730	<0.001	2.003 $\pm$ 0.84 ^a	-3.37	0.001

注: MCM5: a: 低分化和中分化比较 $P=0.857>0.05$,

P16^{INK4A}: a: 低分化和中分化比较 $P=0.114>0.05$ 。

Note: MCM5: a: G3 vs G2, $P=0.857>0.05$,

P16^{INK4A}: a: G3 vs G2, $P=0.114>0.05$ 。

3 讨论

CIN 是宫颈癌的前驱病变,其具有自然消退与进展为宫颈癌两种结果。目前采用的 TCT 细胞学、hr-HPV 检测等提高了宫颈癌的筛查率,但都不能判断 CIN 的转归,故在癌前病变及癌变早期能够寻找发现高特异性、敏感性生物标记物,尤为重要。联合可靠的细胞增殖标记物,作为宫颈上皮肿瘤性增生与非肿瘤性增生鉴别诊断的标记物,进一步完善宫颈癌的筛查。从而可有效的诊断、判断 CIN 转归,同时提高宫颈癌早期诊断的准确性,可达到早期治疗、判断其预后,提高生存率。

宫颈癌变的过程中出现很多分子表达异常,MCM5 与 DNA 的复制及细胞的增殖有关。有研究显示 MCM5 是反映细胞增殖活性程度的可靠指标^[4]。随着细胞周期的变化,MCM 蛋白的 mRNA 表达水平亦随之改变,在 G1/S 期达到峰值,进入静止期(G0 期)或细胞分化、衰老时,其表达下降或无表达,故其可作为反映细胞增殖活性的特异分子标记物^[5,6]。本实验显示:MCM5 mRNA 在正常宫颈组织、CIN I、CIN II-III 组到 SC,表达量逐渐升高,四组间表达差异具有统计学意义。陈玮等^[7]研究结果与本研究一致。亦有研究显示,MCM 蛋白水平比 Ki-67、PCNA 传统增殖标记物更敏感而特异的反应细胞增殖情况^[8,9]。提示 MCM5 在低级病变、高级病变及癌中表达量均有改变,跟宫颈病变本身增殖活性程度增高一致。MCM5 在 SC 中的表达量明显高于 CIN I 和 CIN II-III,差异均有统计学意义,正常宫颈组织与 CIN I 之间有差异,而 CIN I 与 CIN II-III 之间差异无统计。提示 MCM5 可作为宫颈病变细胞增殖标记物,MCM5 的增高不但标志着恶性细胞的增殖而且也标志着非典型性细胞和潜在恶性细胞的增生。因此推断 MCM5 可成为区分宫颈正常黏膜、宫颈上皮内瘤变及宫颈鳞癌的细胞增殖标记物,可成为宫颈癌前病变及宫颈癌诊断及鉴别的指标。本实验显示,在宫颈组织中随着肿瘤恶性程度的增加,MCM5 基因表达水平升高,即低、中分化组明显高于高分化组。提示 MCM5 能够反映肿瘤中增生细胞的情况,与肿瘤的恶性程度有关,检测 MCM5 的表达水平有助于判断宫颈癌患者的预后。

P16^{INK4A} 是直接参与细胞周期调控的抑癌基因,其与细胞周期蛋白 D 竞争性结合 CDK4 和 CDK6,阻止细胞尤其是带有损伤 DNA 的细胞从 G1 期进入 S 期,即通过 cyclinD-CDK4/6-pRb-E2F 途径完成抑制细胞周期^[10]。多种肿瘤的发生与 P16^{INK4A} 的表达缺失有关,而在宫颈癌的研究中结论存在异议。本研究从基因水平检测不同宫颈组织中 P16^{INK4A} 的 mRNA 的表达量,结果显示:P16^{INK4A} 基因表达量随着宫颈病变程度的加重而升高,且在正常宫颈组织、CIN I、CIN II-III 及宫颈癌组织之间表达量有差异,表明其在 CIN 及 SC 中高表达并参与宫颈病变的演变过程。与 Goncalves 等^[11]和曹永成等^[12]的研究显示 P16 基因在宫颈癌中呈低表达,与本实验结果相反。但更多研究为过表达,如 Mulvany^[13]和 Braganca^[14]等人研究结果与本实验结果一致。考虑 P16^{INK4A} 的高表达与 HPV 感染有关,HPV 病毒基因 E7 与 Prb 结合,导致正常的 P16^{INK4A} 蛋白反馈性增高,但其生理功能丧失。在本实验中 P16^{INK4A} 的 mRNA 的表达量在 CIN I 中已明显升高,并随癌前病变级别的进展而增加,且其表达量在宫颈的低级病变与高级病变中存在差异,提示 P16^{INK4A} 的高表达是宫颈癌发生的早期事件,其表达变化出现在宫颈上皮细胞恶性转化过程。本研究显示:P16^{INK4A} 在 CIN

I 与 CIN II-III 之间表达量有差异,亦有研究显示:P16^{INK4A} 在低级内瘤变中表达阳性者比阴性者更容易向高级宫颈病变发展^[15-20]。Nasioutziki M 等^[21]研究提出,P16^{INK4A} 的检测较 HPV DNA 更有助于宫颈低级病变的检出,且在宫颈癌前病变及癌的筛查中有较高的敏感性、特异性和阳性预测值。故可推断 P16^{INK4A} 与 CIN 的分级密切相关,有助于 CIN 的诊断及分级,在预测宫颈病变进展中有着重要的意义,因此其可成为宫颈癌前病变及宫颈癌筛查的有效生物标记物。在本实验中,p16INK4A 基因在宫颈癌病理分化中,其在低分化组表达明显低于高分化组,提示 p16INK4A 基因的表达下调可能与宫颈癌的进展有关,且与不良预后有关。因此可能成为病情进展和判断预后的客观指标之一。

国内很少有从基因水平检测宫颈病变中 MCM5 和 p16^{INK4A} 的表达情况,故本实验从分子水平进行研究,为二者在宫颈病变诊断价值中提供可靠依据。

综上所述,MCM5 和 P16^{INK4A} 二者联合检测可成为 CIN 的诊断、分级及判断其转归的指标;其与 HPV 联合检测对宫颈癌及癌前病变的鉴别诊断、宫颈癌的早期诊断、预测病情进展及预后具有临床重要意义。

参考文献 (References)

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008:GLOBOCAN 2008 [J]. International Journal of Cancer, 2010, 127(12): 2893-917
- [2] Bai JM, Luche DD, Hunter T, et al. Minichromosome maintenance proteins interact with checkpoint and recombination proteins to promote S-phase genome stability[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(5):1724-1738
- [3] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_T} Method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408
- [4] Schaarschmidt D, Ladenburger EM, Keller C, et al. Human Mcm proteins at a replication origin during the G1 to S phase transition[J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30(19): 4176-4185
- [5] Madine MA, Swietlik M, Pelizon C, et al. The roles of the MCM, ORC, and Cdc6 proteins in determining the replication competence of chromatin in quiescent cells[J]. J Struct Biol, 2000, 129(2-3): 198-210
- [6] Suzuki S, Kurata M, Abe S, et al. Overexpression of MCM2 in myelodysplastic syndromes: association with bone marrow cell apoptosis and peripheral cytopenia [J]. Exp Mol Pathol, 2012, 92(1): 160-166
- [7] 陈玮,赵涌.MCM5 和 Ki67 在宫颈上皮内瘤变及宫颈癌组织中表达及意义[J].第三军医大学学报,2007,29(14): 1436-1439
Chen Wei, Zhao Yong. Expressions of MCM5 and Ki67 in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer and their clinical significance[J]. Third Military Medical university, 2007, 29(14):1436-1439
- [8] Saydam O, Senol O, Schaaij-Visser TB, et al. Comparative protein profiling reveals minichromosome maintenance (MCM) proteins as novel potential tumor markers for meningiomas [J]. J Proteome Res, 2010, 9(1): 485-494
- [9] Kohler CU, Kreuter A, Rozynkowski MC, et al. Validation of different replication markers for the detection of beta-cell proliferation in human pancreatic tissue[J]. Regul Pept, 2010, 162(1-3): 115-121

(下转第 6445 页)

- [4] Iurisci I, Tinari N, Natoli C, et al. Concentrations of galectin-3 in the sera of normal controls and cancer patients[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(4): 1389-1393
- [5] Nio J, Takahashi-Iwanaga H, Morimatsu M, et al. Immunohistochemical and in situ hybridization analysis of galectin-3, a beta-galactoside binding lectin, in the urinary system of adult mice[J]. Histochem Cell Biol, 2006, 126(1): 45-56
- [6] Saussez S, Decaestecker C, Mahillon V, et al. Galectin-3 upregulation during tumor progression in head and neck cancer [J]. Laryngoscope, 2008, 118(9): 1583-1590
- [7] Miranda FA, Hassumi MK, Guimaraes MC, et al. Galectin-3 overexpression in invasive laryngeal carcinoma, assessed by computer-assisted analysis [J]. J Histochem Cytochem, 2009, 57(7): 665-673
- [8] Saleh HA, Feng J, Tabassum F, et al. Differential expression of galectin-3, CK19, HBME1, and Ret oncoprotein in the diagnosis of thyroid neoplasms by fine needle aspiration biopsy [J]. Cytojournal, 2009, 6: 18
- [9] 琚晨焰, 胡小云, 张文昌, 等. 胃癌组织中 Galectin-3 和 VEGF 的表达及其临床意义[J]. 南昌大学学报:医学版, 2010, 50(3): 25-28
Ju Chen-yan, Hu Xiao-yun, Zhang Wen-chang, et al. Galectin-3 and VEGF expression in gastric cancer tissue and its clinical significance [J]. Journal of Nanchang university: medicine, 2010, 50(3): 25-28
- [10] Wongkham S, Junking M, Wongkham C, et al. Suppression of galectin-3 expression enhances apoptosis and chemosensitivity in liver fluke-associated cholangiocarcinoma [J]. Cancer Sci, 2009, 100(11): 2077-2084
- [11] Matarrese P, Fusco O, Tinari N, et al. Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties[J]. Int J Cancer, 2000, 85(4): 545-554
- [12] Ivaska J, Heino J. Adhesion receptors and cell invasion: mechanisms of integrin-guided degradation of extracellular matrix [J]. Cell Mol Life Sci, 2000, 57(1): 16-24
- [13] Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting[J]. FEBS J, 2011, 278(1): 16-27
- [14] Zheng H, Takahashi H, Murai Y, et al. Expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF are closely linked to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma [J]. Anticancer Res, 2006, 26(5A): 3579-3583
- [15] Osinsky SP, Ganusevich II, Bubnovskaya LN, et al. Hypoxia level and matrix metalloproteinases-2 and -9 activity in Lewis lung carcinoma: correlation with metastasis [J]. Exp Oncol, 2005, 27(3): 202-205
- [16] Lee HJ, Rhee SK. Growth-suppressing activity of the transfected Cx26 on BICR-M1Rk breast cancer cell line [J]. J Microbiol Biotechnol, 2011, 21(5): 477-482
- [17] Eugenin EA, Branes MC, Berman JW, et al. TNF-alpha plus IFN-gamma induce connexin43 expression and formation of gap junctions between human monocytes/macrophages that enhance physiological responses[J]. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 2003, 170(3): 1320-1328
- [18] Nangia-Makker P, Raz T, Tait L, et al. Ocimum gratissimum retards breast cancer growth and progression and is a natural inhibitor of matrix metalloproteases[J]. Cancer Biol Ther, 2013, 14(5): 417-427
- [19] Ochieng J, Fridman R, Nangia-Makker P, et al. Galectin-3 is a novel substrate for human matrix metalloproteinases-2 and-9 [J]. Biochemistry, 1994, 33(47): 14109-14114
- [20] Zucker S, Cao J, Chen WT. Critical appraisal of the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment [J]. Oncogene, 2000, 19(56): 6642-6650

(上接第 6440 页)

- [10] Szalmá s A, KÓ nya J. Epigenetic alterations in cervical carcinogenesis[J]. Semin Cancer Biol, 2009, 19(3): 144-152
- [11] Goncalves MA, Le Discorde M, Simoes RT, et al. Classical and non-classical HLA molecules and p16 (INK4a) expression in precursors lesions and invasive cervical cancer [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2008, 141(1): 70-74
- [12] 曹永成, 耿明, 郑金锋, 等. P16, P15 及 PCNA 在子宫颈癌中的表达及临床病理意义[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(04): 21-22
Cao Yong-cheng, Geng Ming, Zheng Jin-feng, et al. Expression and clinical significance of P16, P15 and PCNA in uterine cervical carcinoma [J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2008, 16(4): 21-22
- [13] Mulvany NJ, Allen DG, Wilson SM. Diagnostic utility of p16INK4a: a reappraisal of its use in cervical biopsies[J]. Pathology, 2008, 40(4): 335-344
- [14] Braganca JF, Sarian LO, Pitta DR, et al. Expression of p16 and cervical infection with high-risk human papillomavirus are not related to p53 activity in cervical intraepithelial neoplasia [J]. Int J Gynecol Cancer, 2008, 18(5): 1060-1064
- [15] Smedts F, Ramaekers FC, Hopman AH. CK17 and p16 expression patterns distinguish (atypical) immature squamous metaplasia from high-grade cervical intraepithelial neoplasia[J]. Histopathology, 2008, 52(4): 515-516; author reply 516-517
- [16] Iaconis L, Hyjek E, Ellenson LH, et al. p16 and Ki-67 immunostaining in atypical immature squamous metaplasia of the uterine cervix: correlation with human papillomavirus detection [J]. Arch Pathol Lab Med, 2007, 131(9): 1343-1349
- [17] Meyer JL, Hanlon DW, Andersen BT, et al. Evaluation of p16INK4a expression in ThinPrep cervical specimens with the CINtec p16^{INK4a} assay: correlation with biopsy follow-up results[J]. Cancer, 2007, 111(2): 83-92
- [18] Guo M, Baruch AC, Silva EG, et al. Efficacy of p16 and ProExC immunostaining in the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma[J]. Am J Clin Pathol, 2011, 135(2): 212-220
- [19] Tosun G, Sendag F, Zeybek B, et al. Immunohistochemical expressions of p16 and p53 proteins in cervical intraepithelial neoplasia and in benign cervical tissue [J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2010, 31(6): 627-631
- [20] Dijkstra MG, Heideman DA, de Roy SC, et al. p16 (INK4a) immunostaining as an alternative to histology review for reliable grading of cervical intraepithelial lesions [J]. J Clin Pathol, 2010, 63(11): 972-977
- [21] Nasioutziki M, Daniilidis A, Dinas K, et al. The evaluation of p16^{INK4a} immunoexpression/immunostaining and human papillomavirus DNA test in cervical liquid-based cytological samples [J]. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21(1): 79-85