

P16^{INK4A} 联合 HPV L1 壳蛋白检测在宫颈鳞状上皮内病变诊断中的应用

潘琼慧 郑 翔 何海珍 朱雪燕 胡仙清 朱雪琼

摘 要 **目的** 初步探讨 P16^{INK4A} 联合 HPV L1 壳蛋白检测在宫颈鳞状上皮内病变诊断中的应用价值。**方法** 选择在温州市人民医院就诊患者,收集 69 例宫颈鳞状上皮内病变标本,行 P16^{INK4A}、HPV L1 壳蛋白检测,分析 P16^{INK4A}、HPV L1 壳蛋白及 P16^{INK4A} 联合 HPV L1 壳蛋白在各级宫颈病变中的表达差异。**结果** P16^{INK4A} 在 LSIL 组、HSIL 组、SCC 组中的阳性率分别为 45.5%、85.2%、100.0%。同 LSIL 组比较,P16^{INK4A} 在 HSIL 组及 SCC 组阳性率明显升高($P < 0.01$)。HPV L1 壳蛋白在 LSIL 组、HSIL 组、SCC 组中的阳性率分别为 63.6%、18.5%、0%, HPV L1 壳蛋白在 LSIL 组中阳性率明显低于 HSIL 组及 SCC 组($P < 0.01$)。随着宫颈病变加重,P16 + /L1 - 阳性率有升高趋势($P < 0.01$),P16 - /L1 + 阳性率有下降趋势($P < 0.01$)。LSIL 组中 P16 + /L1 - 阳性率明显低于 HSIL 组和 SCC 组($P < 0.01$),SCC 组 P16 + /L1 - 阳性率较 HSIL 组有明显提高($P < 0.05$)。LSIL 组中 P16 - /L1 + 阳性率明显低于 HSIL 组和 SCC 组($P < 0.01$)。P16 + /L1 - 较 P16^{INK4A}、HPV L1 壳蛋白单一检测筛查 HSIL + 特异性明显升高($P < 0.01$)。**结论** P16^{INK4A} 联合 HPV L1 壳蛋白有望成为诊断宫颈鳞状上皮内病变的有效指标。

关键词 宫颈上皮内瘤变 周期素依赖激酶抑制剂 p16 L1 壳蛋白 HPV

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.05.026

Application of P16^{INK4A} Combined with HPV L1 Protein Detection in the Diagnosis of Cervical Squamous Intraepithelial Lesions. Pan Qionghui, Zheng Xiang, He Haizhen, et al. Department of Gynecology, the Third Clinical Institute Affiliated to Wenzhou Medical University, Wenzhou People's Hospital, Zhejiang 325000 China

Abstract **Objective** To preliminary study the value of P16^{INK4A} combined with HPV L1 protein detection in the diagnosis of cervical squamous intraepithelial lesions. **Methods** A total of 69 gynecological outpatients that were found in Wenzhou People's Hospital were enrolled in the group. The expression of P16^{INK4A} and L1 HPV protein in 69 cases of cervical lesions were detected. The expression of P16^{INK4A} combined with HPV L1 in different levels of cervical lesions analyze was. **Results** The positive rate of P16^{INK4A} in the LSIL group, HISL group, and SCC group was 45.5%, 85.2%, 100%. Compared with the LSIL group, the positive rate of P16^{INK4A} in HSIL group and SCC group was significantly higher($P < 0.01$). The positive rate of HPV L1 protein in the LSIL group, HISL group, and SCC group was 63.6%, 18.5%, 0%. Compared with the LSIL group, the positive rate of HPV L1 protein in HSIL group and SCC group was significantly higher($P < 0.01$). With the increase of cervical lesions, the positive rate of P16 + /L1 - expression was increased($P < 0.01$). The positive rate of P16 - /L1 + expression was decreased ($P < 0.05$). The positive rate of P16 + /L1 - in LSIL group was significantly lower than that in HSIL and SCC group ($P < 0.01$). There was statistical difference between HSIL group and SCC group ($P < 0.05$). The positive rate of P16 - /L1 + in LSIL group was significantly lower than that in HSIL and SCC group ($P < 0.01$). P16 + /L1 - compared with P16^{INK4A} or L1 (-) screening of HSIL + specificity was significantly higher ($P < 0.01$). **Conclusion** P16^{INK4A} combined with HPV L1 protein is expected to be an effective marker for the diagnosis of cervical squamous intraepithelial lesions.

Key words Cervical intraepithelial neoplasia; Cyclin - dependent kinase inhibitor p16; HPV L1 capsid proteins; Human papilloma-virus

世界卫生组织(World Health Organization, WHO)

提出宫颈癌为感染性肿瘤。宫颈癌前病变主要原因是持续感染人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV),特别是高危型人乳头状瘤病毒(high risk - human papillomavirus, HR - HPV)。然而,并非所有的 HPV 感染必然导致宫颈上皮内瘤变甚至于宫颈癌。大多数宫颈 HPV 持续感染 8 ~ 10 个月能自行消

基金项目:浙江省温州市科技局基金资助项目(Y20140327)

作者单位:325000 温州医科大学温州市第三临床学院、温州市人民医院妇产科(潘琼慧、何海珍、朱雪燕、胡仙清),病理科(郑翔);温州医科大学附属第二医院妇产科(朱雪琼)

通讯作者:朱雪琼,电子邮箱:zjwzzxq@163.com

退^[1]。目前,HPV DNA 检测在宫颈病变筛查中发挥重要作用。尽管 HPV 检测具有较高的敏感度和阴性预测值,但其特异性较低。因此,寻找能准确检测宫颈癌前病变的标志物,从而在宫颈癌前病变作出正确诊断显得尤为重要。HPV L1 壳蛋白检测可一定程度上鉴别 HPV 的一过性感染或持续感染,因此临床上有广泛应用。P16^{INK4A}是细胞周期的有效调控者,也是抑制肿瘤生长的关键成分,P16^{INK4K}可作为 HPV 表达与活动的指标,作为宫颈上皮内瘤变早期诊断的辅助标志物有一定的临床意义。

本研究通过检测 69 例宫颈上皮鳞状细胞病变标本中 P16^{INK4A}、HPV L1 壳蛋白表达,进一步探究 P16^{INK4A}联合 HPV L1 壳蛋白检测在宫颈鳞状上皮内病变诊断中的应用价值。

资料与方法

1. 临床资料及标本收集:选择 2014 年 10 月 ~ 2015 年 9 月于温州市人民医院就诊,行 HPV DNA 分型,液基细胞学(liquid based cytology, TCT)检查,选取 TCT ≥ 无明确诊断意义的鳞状上皮细胞病变(atypical squamous cells of unknown significance, ASCUS)伴高危型 HPV 阳性或 TCT 正常伴 HPV 16/18 阳性,转诊阴道镜检查患者,行 HPV L1 壳蛋白检测,对可疑病灶进行阴道镜下定位活检。病理检查证实宫颈病变的 69 例患者为研究对象,患者年龄 21 ~ 77 岁,平均年龄 43.58 ± 1.39 岁。所有患者均无急性生殖道炎症及其他妇科肿瘤,排除其他脏器部位肿瘤。入选所有参与者告知详细细节并签订知情同意书,本研究经笔者医院伦理委员会批准。

2. 研究方法:对入组 69 例标本应用北京中杉生物技术有限公司生产鼠抗人 P16 单克隆抗体采用免疫组化 EnVision 二步法在组织切片中检测 P16^{INK4A}表达,应用赛特试剂公司生产鼠抗人 HPV L1 单克隆抗体采用非放射性核素标记核酸杂交技术及免疫细胞化学法在液基细胞学标本中检测 HPV L1 壳蛋白的表达。

3. 诊断标准:(1)TCT 诊断标准:采用美国新柏氏薄层液基细胞学技术,并通过 TBS - 2001 (the Bethesda System)分级系统进行细胞学诊断,将其分为 6 组,分别为未见上皮内病变/恶性细胞组(NILM)、无明确诊断意义的鳞状上皮细胞病变组(ASCUS)、低度鳞状上皮内病变组(LSIL)、不能排除高度鳞状上皮内病变组(ASC - H)、高度鳞状上皮内病变组(HSIL)、鳞状细胞癌(SCC)。(2)HPV DNA 分型诊断:HPV 分型检测试剂盒由凯普生物化学有限公司

生产,采用导流杂交基因芯片技术进行检测,此种方法可一次性快速检测占我国人群 HPV 感染 95% 的 21 种 HPV 亚型的基因分型,其中包括 13 种高危亚型 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、5 种低危亚型 6、11、42、43、44、3 种中国人群常见亚型 53、66 和 CP8304 型。(3)病理诊断标准:切片行常规 HE 染色,根据 WHO 第 4 版《女性生殖器官肿瘤分类》,分为低级别鳞状上皮内病变(low - grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(high - grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)及宫颈鳞状细胞癌(cervical squamous cell carcinoma, SCC)。(4)P16^{INK4A}判断标准:阳性结果判定:阳性细胞计数:阳性细胞数百分比(%) = (视野阳性细胞数/视野总细胞数) × 100% 计算,≤ 5% 为 0 分,6% ~ 25% 为 1 分,26% ~ 50% 为 2 分, > 50% 为 3 分, > 80% 为 4 分;着色强度:深棕色为 3 分,浅棕色为 2 分,浅黄色为 1 分,无着色为 0 分。将阳性百分率和着色强度两项评分的乘积进行统计分析。≤ 1 分为阴性, > 1 分为阳性。所有切片均用盲法计数。(5) HPV L1 壳蛋白判断标准:只要有 1 个被红染的细胞核即判断为 HPV L1 壳蛋白阳性,反之为阴性。

4. 统计学方法:数据分析采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,正态性用 Kolmogorov - Smirnov 检验,本研究数据不符合正态分布,非正态分布的多组间计数采用 Kruskal - Wallis H 检验,两两比较采用 Mann - Whitney U 检验,用 Bonferroni 进行校正;组间分类变量差异的比较,采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验;两样本数据的相关性用 Spearman 等级相关;两样本数据比较采用传统列联表,计算敏感度、特异性和阴/阳性预测值,两组比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. P16^{INK4A}、HPV L1 壳蛋白在各级宫颈病变中的表达情况:(1)69 例妇女病理确诊 LSIL 33 例, HSIL 27 例, SCC 9 例。P16^{INK4A}在各级宫颈病理中评分不符合正态性检验($P < 0.05$, 表 1)。(2)各级宫颈病变组织中 P16^{INK4A}表达,3 组间评分差异有统计学意义($H = 26.961, P < 0.01$), P16^{INK4A}评分 HSIL 组及 SCC 组高于 LSIL 组($H = 168.50, P < 0.01; H = 11.50, P < 0.01$)。但 HSIL 与 SCC 组间差异无统计学意义($H = 87.50, P > 0.05$, 表 2)。P16^{INK4A}在 SCC 及 HSIL 组中表达高于 LSIL 组,但 HSIL 与 SCC 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。(3)P16^{INK4A}在

各级宫颈病变中的阳性率分别为 45.5% (33/15)、85.2% (23/27)、100% (47/69), P16^{INK4A}阳性率在各组中比较差异有统计学意义($\chi^2 = 15.638, P = 0.000$)。LSIL 组中 P16^{INK4A}阳性率分别与 HSIL 组及 SCC 组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 10.094, P = 0.001; \chi^2 = 8.591, P = 0.003$),明显低于 HSIL 组及 SCC 组,但 HSIL 组与 SCC 组间比较差异无统计学意义($P = 0.553$)。随着宫颈病变的加重,P16^{INK4A}阳性率有上升趋势。P16^{INK4A}的表达与宫颈病变的严重程度呈正相关($r = 0.473, P < 0.01$),详见图 1、图 2。

(4) HPV L1 壳蛋白在各级宫颈病变中的阳性率分别

为 63.6% (21/33)、18.5% (5/27)、0% (0/9), HPV L1 壳蛋白阳性率在各组中差异有统计学意义($\chi^2 = 20.181, P = 0.000$)。LSIL 组中 HPV L1 壳蛋白阳性率分别与 HSIL 及 SCC 组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 13.184, P = 0.000; \chi^2 = 9.624, P = 0.002$),明显高于于 HSIL 和 SCC 组,但 HSIL 与 SCC 组间比较差异无统计学意义($P = 0.302$)。随着宫颈病理病变的加重,HPV L1 壳蛋白阳性率有下降趋势,且 HPV L1 壳蛋白与宫颈病变的严重程度呈负相关($r = -0.525, P < 0.01$),详见图 3、图 4。

表 1 各级宫颈病变中 P16^{INK4A}评分分布情况

组别	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	合计(n)
LSIL	6	12	2	5	5	0	2	0	1	0	0	0	0	33
HSIL	3	1	1	1	3	0	8	0	1	4	0	0	5	27
SCC	0	0	0	0	1	0	3	0	0	3	0	0	2	9
合计	9	13	3	6	9	0	13	0	2	7	0	0	7	69

表 2 各级宫颈病变中 P16^{INK4A}表达情况

组别	n	中位数(四分位距)	平均秩次
LSIL	33	1(1.0~3.5)	22.45
HSIL	27	6(4.0~9.0)	44.00*
SCC	9	9(6~10.5)	54.00*
合计	69	4(1.0~6.0)	

与 LSIL 比较,* $P < 0.01$

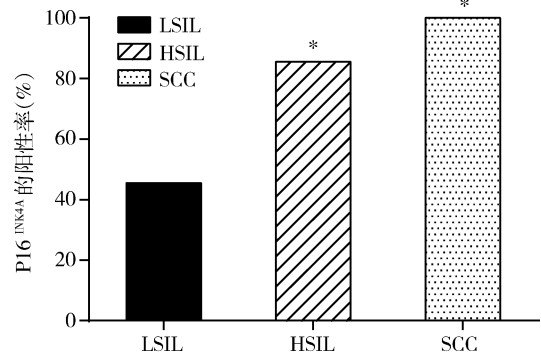


图 1 P16^{INK4A}在各级宫颈病变中的表达差异
与 LSIL 比较,* $P < 0.01$

2. P16^{INK4A}与 HPV L1 壳蛋白联合检测在各级宫颈病变中的表达:LSIL 中主要为 P16 -/L1 + 表达占 39.4%,HSIL 及 SCC 中主要为 P16 +/L1 - 表达,分别为 70.4% 及 100%。随着宫颈病变的增加,P16 +/L1 - 的表达率明显升高,P16 -/L1 + 表达率明显降低。P16 +/L1 -、P16 -/L1 + 阳性率 3 组差异有统计学意义($P < 0.01$)。LSIL 组中 P16 +/L1 - 阳性率明

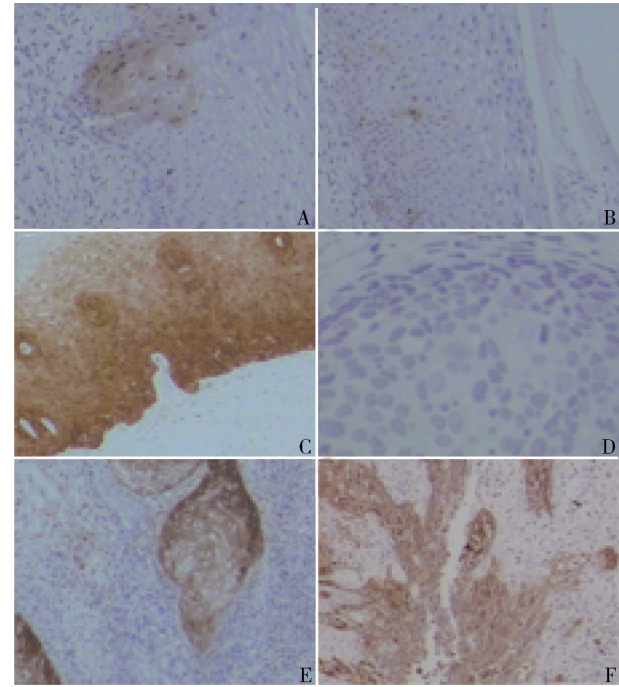


图 2 P16^{INK4A}在宫颈上皮内的表达差异
(EnVision, ×200)

A. P16^{INK4A}在 LSIL 中阳性表达;B. P16^{INK4A}在 LSIL 中阴性表达;
C. P16^{INK4A}在 HSIL 中阳性表达;D. P16^{INK4A}在 HSIL 中阴性表达;
E、F. P16^{INK4A}在 SCC 中阳性表达

显低于 HSIL 和 SCC 组($\chi^2 = 14.614, P = 0.000; \chi^2 = 15.423, P = 0.000$),SCC 组较 HSIL 组有明显提高($\chi^2 = 5.323, P = 0.021$)。LSIL 组中 P16 -/L1 + 阳性

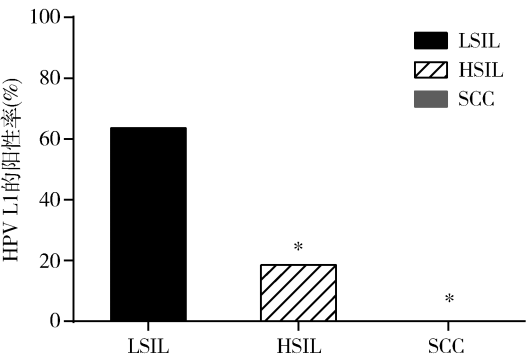


图 3 HPV L1 壳蛋白在各级宫颈病变中的表达差异
与 LSIL 比较, * $P < 0.01$

率明显高于 HSIL 和 SCC 组 ($\chi^2 = 10.574, P = 0.001$; $\chi^2 = 7.721, P = 0.005$), 但 HSIL 组与 SCC 组间比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.585, P = 0.444$), 详见表 3、图 5。

3. $P16^{INK4A}$ 、HPV L1 壳蛋白及 $P16/L1$ 筛查宫颈病变的诊断效能: 由表 4 可见, $P16^{INK4A}$, $L1(-)$ 及 $P16+/L1-$ 筛查 HSIL + 敏感度、阴性预测值相当, 但特异性及阳性预测值及准确度升高, 特异性 3 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。 $P16+/L1-$ 较 $P16^{INK4A}$ 、HPV L1 壳蛋白单一检测筛查 HSIL + 特异性明显升高 ($\chi^2 = 7.791, P = 0.005$; $\chi^2 = 12.158, P = 0.000$)。

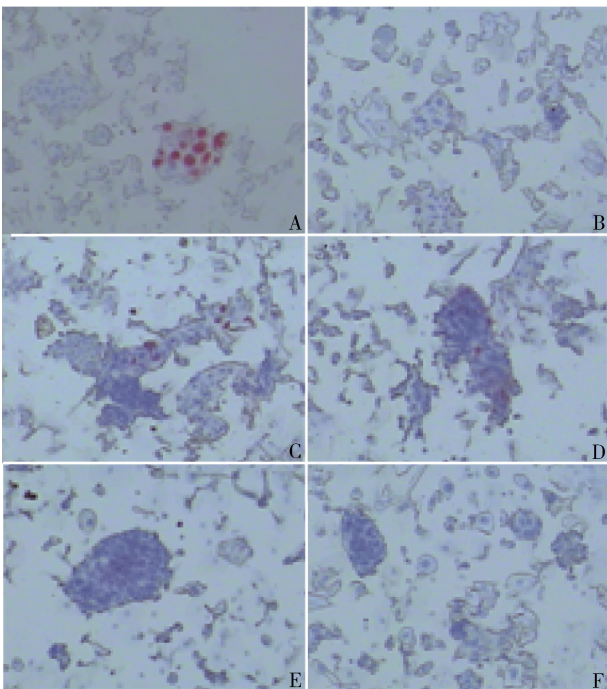


图 4 HPV L1 壳蛋白在宫颈上皮内的表达差异
(免疫组化, $\times 200$)

A. HPV L1 壳蛋白在 LSIL 中阳性表达; B. HPV L1 壳蛋白在 LSIL 中阴性表达; C、D. HPV L1 壳蛋白在 HSIL 中阳性表达; E. HPV L1 壳蛋白在 HSIL 中阴性表达; F. HPV L1 壳蛋白在 SCC 中阴性表达

表 3 $P16^{INK4A}$ 与 HPV L1 壳蛋白联合检测在各级宫颈病变中的表达情况 n (%)

组别	n	P16 + /L1 +	P16 + /L1 -	P16 - /L1 +	P16 - /L1 -
LSIL	33	8 (24.2)	7 (21.2)	13 (39.4)	5 (15.2)
HSIL	27	4 (14.8)	19 (70.4) *	1 (3.7) *	4 (11.1)
SCC	9	0 (0)	9 (100) *#	0 (0) *	0 (0)
合计	69	12 (17.4)	35 (50.7)	14 (20.3)	11 (11.6)
χ^2		3.098	28.719	14.330	2.712
P		0.212	0.000	0.001	0.258

与 LSIL 比较, * $P < 0.01$; 与 HSIL 比较, # $P < 0.05$

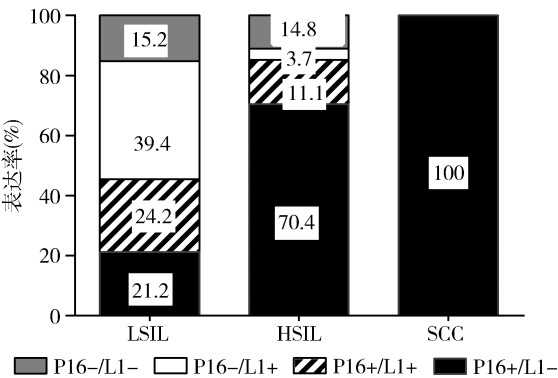


图 5 $P16^{INK4A}$ 与 HPV L1 壳蛋白联合检测在
各级宫颈病变中的表达情况

表 4 $P16^{INK4A}$ 、 $L1(-)$ 及 $P16+/L1-$ 筛查
HSIL + 的诊断效能 (%)

组别	敏感度	特异性	阳性预 测值	阴性预 测值	准确性
$P16^{INK4A}$	88.9	57.6	68.1	81.8	71.0
$L1(-)$	86.1	63.6	72.1	80.8	75.4
$P16+/L1-$	77.8	78.8 *	80.0	76.5	78.3
χ^2	1.815	13.238	2.211	0.285	0.602
P	0.404	0.001	0.331	0.867	0.740

与 $P16^{INK4A}$ 或 $L1(-)$ 比较, * $P < 0.01$

讨 论

$P16^{INK4A}$ 为 p16 基因编码的抑制蛋白, 是抑制肿瘤生长的关键成分, $P16^{INK4A}$ 在 cyclinD - CDK 4/6 -

Rb - E2F 细胞周期调节途径中起着负反馈的作用^[2]。Krishnappa 等^[3]研究发现, P16^{INK4A}在宫颈炎、CIN、宫颈癌中的阳性率为 0%、72%、100%, 认为 P16^{INK4A}可用于宫颈病变的鉴别诊断。国内研究同样证实 P16^{INK4A}在宫颈上皮内瘤变(CIN)及 SCC 中显著高表达。Roelens 等^[4]研究显示 P16^{INK4A}在宫颈 ASCUS 及 LSIL 中, 诊断 CIN2+ 及 CIN3+ 的诊断效能, 敏感度为 83.2%、83.8%, 特异性为 71.0%、65.7%。P16^{INK4A}筛查宫颈高级别病变能力相较 HR-HPV 检测, 敏感度较低但特异性显著升高。肛门生殖道鳞状上皮病变术语项目研究所建议 P16^{INK4A}可作为常规 HE 病理的辅助诊断手段^[5]。理由为: ①对于常规 HE 切片无法鉴别的 HSIL 及类似宫颈良性病变联合 P16^{INK4A}可加以识别; ②当 HE 诊断为 CIN2 时, 若 P16^{INK4A}阳性可认为高级别病变, 反之 P16^{INK4A}阴性可认为低级别病变; ③当不同的病理医师诊断不一致时, 包括 CIN2、CIN3, 推荐 P16^{INK4A}明确诊断, 提高不同观察者之间的诊断一致性; ④对于 ≤CIN1 但细胞学为 HSIL、ASC-H、ASCUS/HPV16(+)、P16^{INK4A}可减少诊断 HSIL 的漏诊率。本研究发现随着宫颈病理病变的加重, P16^{INK4A}阳性率有上升趋势。认为 P16^{INK4A}在诊断宫颈上皮内瘤变有一定的临床意义, 尤其在 LSIL 及 HSIL 之间。

HPV 由环状双链 DNA 核心及蛋白衣壳组成。HPV L1 壳蛋白是公认的免疫反应攻击 HPV 病毒和病毒感染细胞的主要靶位, 可保护病毒的 DNA, 起到免疫逃逸的作用。Huang 等^[6]研究发现, HPV L1 壳蛋白随着宫颈病变加重 L1 壳蛋白的表达下降, 呈负相关($P < 0.01$)。冷海娜等^[7]研究发现, HPV L1 壳蛋白在 CIN1 的阳性率大于 CIN2 和 CIN3 组($P < 0.01$), 可为临床上处理 CIN1 提供指导意义。本研究发现, HPV L1 壳蛋白随着宫颈病理病变的加重, HPV L1 壳蛋白阳性率有下降趋势。认为 HPV L1 壳蛋白在区别 LSIL 及 HSIL 上有一定的临床意义。P16^{INK4A}蛋白表达可作为 HPV 活动的指标。研究发现 HPV 持续感染的宿主细胞中 HPV L1 壳蛋白消失, HPV L1 壳蛋白的表达可以预测宫颈病变的生物学行为。单个 P16^{INK4A}或 HPV L1 壳蛋白特异性虽然相较 HR HPV DNA 高, 但也只有 60% 左右, 研究发现, P16^{INK4A}联合 HPV L1 壳蛋白检测在特异性优于任何一项单独检测。因此 P16^{INK4A}联合 HPV L1 壳蛋白以甄别宫颈鳞状上皮内病变。

Alshenawy^[8]研究发现 P16/L1 筛查 CIN3 敏感度

及特异性最佳。本研究同样提示 P16+/L1- 在诊断特异性的优势。Ungureanu 等^[9]研究发现, P16/L1 诊断宫颈病变的准确性为 91%, 高于其中任何一种的单独检测。本研究发现, P16+/L1- 准确性有所升高, 但比较差异无统计学意义, 可能为数据偏少数据偏倚可能。李莉等^[10]研究发现, CIN3 和 SCC 呈 P16+/L1- 表达, 而大部分 CIN1 为 P16-/L1+ 或 P16-/L1-, 认为 P16+/L1- 提示子宫颈鳞状上皮内瘤变有进展的可能。国内研究同样发现 HPV L1 壳蛋白的阳性率随子宫颈病变发展而呈降低的趋势, P16^{INK4A}则呈现增高趋势^[11,12]。临床上应加强 P16+/L1- 患者的临床干预及临床随访。Izadi-Mood 等^[13]研究认为 L1/P16 对于评估疾病进展风险有意义, 对于 P16+/L1+、P16+/L1- 病例认为有疾病进展风险需要密切随访, P16-/L1- 而没有明显宫颈病变认为随访间隔可延长, 而 P16-/L1+ 需要近期随访。Huang 等^[6]研究发现, 随着宫颈病变加重, P16+/L1- 的表达增加, P16+/L1- 在 CIN2+ 与 CIN1 比较差异有统计学意义。P16+/L1+、P16-/L1+、P16-/L1- 同宫颈病变的严重程度呈负相关, P16+/L1- 同宫颈病变的严重程度呈正相关。Negri 等^[14]研究 A 组 CIN1 和 CIN3 共存标本, B 组 CIN 1 标本, 结果显示所有 CIN 1 标本中 P16+/L1-96.29% 集中在 A 组, 明显高于 B 组, 证实 P16+/L1- 提示 CIN 有进展可能。

综上所述, LSIL 中主要为 P16-/L1+ 表达, HSIL 及 SCC 中主要为 P16+/L1- 表达。随着宫颈病变的增加, P16+/L1- 的表达率明显升高, P16-/L1+ 表达率明显降低。认为 P16^{INK4A}联合 HPV L1 壳蛋白检测可提高宫颈上皮内瘤变诊断的特异性, 在鉴别 LSIL、HSIL、HSIL 及 SCC 有一定的临床意义, 可为宫颈上皮内瘤变提供新的临床诊断手段, 但其临床应用推广尚需大量的临床资料积累。

参考文献

- 1 Balan R, Simion N, Giusca SE, *et al.* Immunohistochemical assessment of p16, COX-2 and EGFR in HPV-positive cervical squamous intraepithelial lesions [J]. Rom J Morphol Embryol, 2011, 52 (4): 1187-1194
- 2 Von Knebel Doeberitz M, Reuschenbach M, Schmidt D, *et al.* Iomarkers for cervical cancer screening: the role of p16 (INK4a) to high-light transforming HPV infections [J]. Expert Rev Proteomics, 2012, 9 (2): 149-163
- 3 Krishnappa P, Mohamad IB, Lin YJ, *et al.* Expression of P16 in high-risk human papillomavirus related lesions of the uterine cervix in a government hospital, Malaysia [J]. Diagn Pathol, 2014, 9: 202

(转第 69 页)

代谢紊乱综合征。能量摄入过多及其导致的氧化应激在发病过程中起着至关重要的作用^[5,6]。本研究采用高脂饮食诱导代谢综合征模型,大鼠体重和脂肪系数、血糖(FPG)、血脂(TC、TG、LDL-C/HDL-C)均升高,与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$),这些数据显示已成功建立代谢综合征大鼠模型。在此研究中,绿茶多酚干预发挥了减重及调节血糖血脂的积极效应。这与以前的报道一致^[7]。

本研究发现,高脂饮食大鼠肾脏组织中 HMGCS2 表达水平低于正常饮食组大鼠,GTPs 能上调其表达。新近研究表明,酮体可以通过降低活性氧化物而抑制下游的氧化应激,从而达到对神经系统的保护作用^[8]。蛋白组学研究证实,脑卒中易感型自发性高血压大鼠肾脏组织 HMGCS2 蛋白表达明显低于自发性高血压大鼠,氯贝特能上调其表达,增加其肾脏组织的抗氧化能力,并提高其存活率^[9]。由此可见,HMGCS2 作为生酮过程关键酶,不仅与抗氧化关系密切,还可能与生存有关。

为进一步探索 HMGCS2 蛋白表达的调控机制,笔者的研究中还检测了 HMGCS2 的上游蛋白 - Sirt3 的表达。Sirt3 是主要的线粒体去乙酰化酶,能够对乙酰化的线粒体蛋白进行脱乙酰基,维持和调节线粒体的正常生理功能,对于缓解和降低因氧化应激负荷引起的疾病发生具有重要意义。Sirt3 主要位于肾脏、肝脏等的线粒体中,研究证明,HMGCS2 的乙酰化受 Sirt3 控制,Sirt3^{-/-}小鼠饥饿时生酮水平降低^[10]。在笔者的研究水平下,未发现 Sirt3 蛋白表达差异有统计学意义。

综上所述,高脂饮食大鼠肾脏 HMGCS2 蛋白表

达水平会降低,绿茶多酚干预能增加其表达从而发挥对肾脏的抗氧化保护作用,关于 HMGCS2 表达调控的具体机制还需进一步探索。

参考文献

- 1 Shaafi S, Mahmoudi J, Pashapour A, *et al.* Ketogenic diet provides neuroprotective effects against ischemic stroke neuronal damages [J]. *Adv Pharm Bull*, 2014, 4(2):479-481
- 2 Kang MY, Park YH, Kim BS, *et al.* Preventive effects of green tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) on diabetic nephropathy [J]. *Yonsei Med J*, 2012, 53(1):138-144
- 3 张婉慧,叶晓蕾,田翀,等.绿茶多酚对高糖高脂饮食大鼠肾纤维溶酶原激活物抑制剂表达的影响[J]. *营养学报*, 2011,33(3):270-273
- 4 Marinou K, Tousoulis D, Antonopoulos AS, *et al.* Obesity and cardiovascular disease: from pathophysiology to risk stratification [J]. *Int J Cardiol*, 2010,138(1):3-8
- 5 Chen Y, Gu L, Zhou C, *et al.* Relapsed APL patient with variant NPM - RARalpha fusion responded to arsenic trioxide - based therapy and achieved long - term survival [J]. *Int J Hematol*, 2010, 91(4):708-710
- 6 Huang Y, Li W, Su ZY, *et al.* The complexity of the Nrf2 pathway: beyond the antioxidant response [J]. *J Nutr Biochem*, 2015, 26(12):1401-1413
- 7 Sae - Tan S, Grove KA, Lambert JD. Laboratory studies on weight control and prevention of metabolic syndrome by green tea [J]. *Pharmacol Res*. 2011, 64(2):146-154
- 8 Kim DY, Abdelwahab MG, Lee SH, *et al.* Ketones prevent oxidative impairment of hippocampal synaptic integrity through KATP channels [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4):e0119316-e0119329
- 9 Ying Chen - Jiang, Noguchi Takanori, Aso Hiroaki, *et al.* The role of cytochrome p - 450 in salt - sensitive stroke in stroke - prone spontaneously hypertensive rats [J]. *Hypertens Res*, 2008, 31(9):1821-1827
- 10 Tadahiro Shimazu, Matthew D. Hirschey, *et al.* SIRT3 deacetylates mitochondrial 3 - hydroxy - 3 - methylglutaryl CoA synthase 2 and regulates ketone body production [J]. *Cell Metabolism*, 2010, 12(6):654-661

(收稿日期:2016-10-23)

(修回日期:2016-11-01)

(接第 108 页)

- 4 Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel Doeberitz M, *et al.* p16INK4a immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta - analysis [J]. *Cancer Cytopathol*, 2012, 120(5):294-307
- 5 宗丽菊,张友忠.关于女性下生殖道 HPV 相关鳞状上皮病变术语的解读[J]. *现代妇产科进展*, 2015,2:138-139
- 6 Huang MZ, Li HB, Nie XM, *et al.* An analysis on the combination expression of HPV L1 capsid protein and p16INK4a in cervical lesions [J]. *Diagn Cytopathol*, 2010,38(8):573-578
- 7 冷海娜,高清梅,张艳. HPV L1 壳蛋白在预测宫颈上皮内瘤变转归中的价值探讨[J]. *中国实用医刊*, 2015,42(9):66-67
- 8 Alshenawy HA. Evaluation of p16, human papillomavirus capsid protein L1 and Ki - 67 in cervical intraepithelial lesions: potential utility in diagnosis and prognosis [J]. *Pathol Res Pract*, 2014, 210(12):916-921
- 9 Ungureanu C, Socolov D, Anton G, *et al.* Immunocytochemical expression of p16INK4a and HPV L1 capsid proteins as predictive mark-

ers of the cervical lesions progression risk [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2010,51(3):497-503

- 10 李俐,黄文斌,黄悦,等. 子宫颈病变中 HPV L1 蛋白和 p16 的表达 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2009,25(6):576-579
- 11 宋艳,李青,李凌,等. L1 壳蛋白和 p16INK4a 蛋白在宫颈病变中的表达及意义 [J]. *中华肿瘤学杂志*, 2013,34(5):352-355
- 12 欧雪峰. 子宫颈病变中 HPV L1 蛋白和 p16 的表达与临床意义 [J]. *海南医学院学报*, 2011,17(5):592-597
- 13 Izadi - Mood N, Sarmadi S, Eftekhari Z, *et al.* Immunohistochemical expression of p16 and HPV L1 capsid proteins as predictive markers in cervical lesions [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2014, 289(6):1287-1292
- 14 Negri G, Bellisano G, Zannoni GF, *et al.* p16 ink4a and HPV L1 immunohistochemistry is helpful for estimating the behavior of low - grade dysplastic lesions of the cervix uteri [J]. *Am J Surg Pathol*, 2008,32(11):1715-1720

(收稿日期:2016-09-30)

(修回日期:2016-10-06)