

hTERC 基因与宫颈癌发生、发展相关性

牛艳昕 王 楠

摘 要 目的 探讨分析人染色体端粒酶基因(hTERC)与宫颈癌发生、发展相关性。**方法** 选取笔者医院妇科收治的经阴道镜宫颈活检结果异常的患者 173 例,再选择同期行宫颈检查无异常的 40 例作为正常对照,采用荧光原位杂交技术(FISH)检测受试者宫颈脱落细胞标本 hTERC 基因的表达情况,并分析 HPV 感染与 hTERC 阳性率之间的关系。**结果** 正常对照组 hTERC 阳性率 7.50%、CIN I 患者 hTERC 阳性率 15.79%、CIN II 患者 hTERC 阳性率 46.15%、CIN III 患者 hTERC 阳性率 68.63%、宫颈癌患者 hTERC 阳性率 91.11%,随着宫颈脱落细胞病变的进程,hTERC 阳性率显著递增($P < 0.05$);高危型 HPV 感染合并 hTERC 阳性患者其癌前病变及癌比例为 100.00%,显著高于高危型 HPV 感染的 hTERC 阳性患者以及无高危型 HPV 感染患者($P < 0.05$)。**结论** hTERC 基因扩增参与到了宫颈癌的发生、发展过程当中,随着宫颈病变分级的增加而呈上升趋势,hTERC 基因阳性表达对宫颈癌的早期诊断具有一定的临床价值。

关键词 人染色体端粒酶基因 宫颈癌 宫颈病变 相关性

中图分类号 R737

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.06.038

Correlation between the Human Telomerase Gene (hTERC) and the Generation and Progression of Cervical Cancer. Niu Yanxin, Wang Nan. Jinhua People's Hospital, Zhejiang 321000, China

Abstract Objective To investigate the correlation between the human telomerase gene (hTERC) and the generation and progression of cervical cancer. **Methods** A total of 173 patients with abnormal results of cervical biopsy by colposcopy were selected, meanwhile the 40 normal cases were selected as control group. The expression of hTERC gene was detected by fluorescence in situ hybridization (FISH), and the relationship between the HPV infection and the positive rate of hTERC was analyzed. **Results** The positive rate of hTERC in the control group was 7.50%, which was respectively 15.79%, 46.15%, 68.63%, and 91.11% in the CIN I group, CIN II group, CIN III group, and cervical cancer group. The positive rate of the hTERC was significantly increased during the progression of cervical exfoliative cell lesions ($P < 0.05$). The precancerous lesion and cancer rate in patients with high-risk HPV infection and positive hTERC was 100%, significantly higher than that of patients with high-risk HPV infection as well as positive hTERC and also non high-risk HPV infected patients ($P < 0.05$). **Conclusion** hTERC gene amplification is involved in the development of cervical cancer, and increase with cervical lesions rising, and the positive expression of hTERC gene is valuable to the early diagnosis of cervical cancer.

Key words Human telomerase gene; Cervical cancer; Cervical lesions; Correlation

宫颈癌是仅次于乳腺癌的第 2 位致女性死亡的常见恶性肿瘤,近年来报道显示,我国宫颈癌发生率逐年上升且发病年龄呈年轻化趋势^[1]。为了有效降低宫颈癌的发生率以及患者的病死率,宫颈癌的早期诊断和治疗便显得尤为重要。宫颈上皮内瘤变是目前明确的癌前病变,在向恶性肿瘤的演变过程当中,多种癌基因、侵袭相关基因的表达差异具有显著差异^[2]。人染色体端粒酶 RNA(human telomerase RNA component, hTERC)位于 3 号染色体长臂,hTERC 基因扩增可阻止细胞的凋亡,hTERC 的异常扩增可引发肿瘤^[3]。目前研究报道已经证实,hTERC 基因在肺鳞癌、骨髓癌、子宫颈腺癌或鳞癌等中均存在异常

扩增,认为 hTERC 异常扩增与肿瘤的发展有关^[4,5]。本研究探讨分析 hTERC 与宫颈癌发生、发展相关性。

资料与方法

1. 临床资料:选取 2013 年 3 月~2016 年 3 月笔者医院妇科收治的经阴道镜宫颈活检结果异常的患者 173 例,患者年龄 23~65 岁,平均年龄 37.42 ± 6.33 岁。173 例患者均无妊娠期、无宫颈手术史、初次性阴道镜检查、无子宫切除史、无宫颈 CIN 病史。将上述 173 例患者作为研究组,经阴道镜宫颈活检病理确诊,宫颈上皮内瘤变患者 135 例,包括 CIN I 患者 39 例、CIN II 患者 51 例、CIN III 患者 45 例,浸润性宫颈癌患者 38 例。此外再选择同期行宫颈检查无异常的 40 例作为正常对照组,正常对照组非妊娠期、无子宫切除史、无宫颈 CIN 病史、无宫颈手术史,年龄

25 ~ 63 岁,平均年龄 36.28 ± 8.32 岁。正常对照组宫颈脱落细胞均由液基细胞学制片,并由笔者医院两位病理科医师分别阅片,均一致认为无异常。

2. 细胞标本采集:使用引导窥器撑开患者阴道,将宫颈暴露出来,轻轻擦拭宫颈表面黏液以及血性分泌物后,将薄层液基细胞宫颈刷插入受试者宫颈口,均匀旋转宫颈刷 5 ~ 8 周后取出,放于 TCT 保存液瓶中备用。

3. TCT 低渗制片及 FISH 检测:将 TCT 保存液离心 10min(300r/min),加入 5ml 胶原酶,然后放置于 37℃ 水浴,离心后加入去离子水低渗 40min,再次离心去上清后加入 5ml 固定液,固定 10min 后重复离心再固定,两次固定完成后根据细胞数量加入适量固定液,将细胞吹打悬浮,滴片,自然干燥,置于 56℃ 下烤片 2h。涂片预处理以及 FISH 操作步骤严格按照试剂盒使用说明书进行。

4. FISH 信号判断及阈值建立:使用 Olympus 荧光显微镜观察细胞的荧光夹杂信号,对图片 CSP3 以及 hTERC 基因双色探针的杂交情况进行分析,采用 FISH 分析软件进行图像分析。结果判定:红色信号以及绿色信号分别为 2 个判断为正常细胞;红色信号 > 2 个、绿色信号 ≥ 2 个判定为 hTERC 基因扩增。阈值建立:通过对 40 例正常标本进行检测分析,每例标本计数 100 个细胞,计算出现 2 个以上 hTERC 信号细胞的百分比,并计算阈值,阈值 = 均数 + 3 × 标准差。将其余样本计数分别于阈值相比较,若 > 阈值则判断为阳性,若 < 阈值则判定为阴性。

5. 统计学方法:采用统计学软件包 SPSS 22.0 统

计学软件进行数据统计分析,两组计数资料比较采用 χ^2 检验,3 组及以上计数资料比较采用秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. 不同病理分级患者 hTERC 基因阳性表达比较:正常对照组 hTERC 阳性率 7.50%、CIN I 患者 hTERC 阳性率 15.79%、CIN II 患者 hTERC 阳性率 46.15%、CIN III 患者 hTERC 阳性率 68.63%、宫颈癌患者 hTERC 阳性率 91.11%,随着宫颈脱落细胞病变的进程,hTERC 阳性率显著递增($P < 0.05$),CIN II、CIN III 以及宫颈癌患者 hTERC 阳性率均显著高于正常对照组($P < 0.05$),见表 1。

表 1 不同病理分级患者 hTERC 基因阳性表达比较

组别	<i>n</i>	hTERC 阳性例数	hTERC 阳性率(%)	χ^2	<i>P</i>
正常对照组	40	3	7.50	83.886	<0.05
CIN I	38	6	15.79		
CIN II	39	18	46.15 *		
CIN III	51	35	68.63 *		
宫颈癌	45	41	91.11 *		
合计	213	103	48.36		

与正常对照组比较,* $P < 0.05$

2. 不同病理分级患者高危型 HPV 感染及 hTERC 基因表达情况分析:对 213 例受试者进行 HPV 感染检测,其中高危型 HPV 感染 75 例,分析高危型 HPV 感染与 hTERC 基因扩增相比较,高危型 HPV 感染合并 hTERC 阳性患者其癌前病变及癌比例为 100.00%,显著高于高危型 HPV 感染的 hTERC 阳性患者以及无高危型 HPV 感染患者($P < 0.05$),见表 2。

表 2 不同病理分级患者高危型 HPV 感染与 hTERC 基因表达情况分析

组别	<i>n</i>	正常对照例数(<i>n</i>)	癌前病变及癌例数(<i>n</i>)	癌前病变及癌比例(%)	χ^2	<i>P</i>
hTERC(-)HPV(-)	35	19	16	45.71	46.815	<0.05
hTERC(-)HPV(+)	62	18	44	70.97		
hTERC(+)HPV(-)	13	3	10	76.92		
hTERC(+)HPV(+)	103	0	103	100.00		
合计	213	40	173	81.22		

讨 论

近些年来,随着现代医疗技术的发展,宫颈细胞学筛查以及 HPV 检查在临床中普及,目前宫颈癌的检出率大大提高,从而有效降低了宫颈癌患者的病死率。但是由于细胞学筛查检测重复性较差,并且受到检测者主观性影响较强,虽然目前已经开始运用 HPV-DNA 检测方法,但是由于大部分女性 HPV 感

染并不是永久性的,因此采取该种手段检测仍不能较好对预测疾病^[6]。端粒作为真核细胞染色体末端的重复片段,其作用在于维持染色体的完整性及其稳定性,端粒酶作为一种反转录酶,能够以自身的 RNA 作为模板合成端粒 DNA^[7]。学者研究显示,宫颈细胞由非典型性发育异常向宫颈癌转变的过程中,几乎均伴有 hTERC 基因的扩增^[8]。

荧光原位杂交(FISH)技术利用碱基的互补性,使用标记有荧光素的探针与DNA样本进行杂交,通过荧光显微镜观察荧光信号从而发现DNA样本是否存在异常^[9]。FISH技术具有操作简单、重复性好,受环境条件影响较小等临床有点,目前已经将其广泛运用于多种基因相关疾病的诊断当中^[10,11]。本研究采用FISH技术检测各组受试者hTERC基因扩增情况,结果显示,正常对照组hTERC阳性率7.50%、CIN I患者hTERC阳性率15.79%、CIN II患者hTERC阳性率46.15%、CIN III患者hTERC阳性率68.63%、宫颈癌患者hTERC阳性率91.11%,随着宫颈脱落细胞病变的进程,hTERC阳性率显著递增($P < 0.05$)。这与国内外相关报道结果相似,表明hTERC基因在宫颈癌以及CIN II、CIN III中异常表达,且随着宫颈组织学病变程度的增加,hTERC基因的阳性表达率也不断增加^[12,13]。而对于CIN I患者,其hTERC阳性表达率与正常对照组比较差异无统计学意义,提示可能CIN I还并不属于宫颈癌变的阶段,而仅为鳞状上皮细胞代谢的一种暂时性的异型改变,因此临床上CIN I患者其自然缓解率较高。

有研究者对宫颈癌的病因机制进行研究认为,HPV感染较端粒酶基因水平上调更早,HPV感染是端粒酶发生活化的原因,并推测端粒酶基因激活可能是HPV致癌机制中的一个重要环节^[14,15]。本研究结果显示,高危型HPV感染合并hTERC阳性患者其癌前病变及癌比例为100%,显著高于高危型HPV感染的hTERC阳性患者以及无高危型HPV感染患者($P < 0.05$)。表明高危型HPV感染以及hTERC基因扩增与宫颈癌的发生、发展均有着一定的联系,提示hTERC基因阳性表达对宫颈癌的早期诊断具有一定的临床意义。

综上所述,hTERC基因扩增参与到了宫颈癌的发生、发展过程当中,随着宫颈病变分级的增加而呈上升趋势,hTERC基因阳性表达对宫颈癌的早期诊断具有一定的临床意义。

参考文献

- 1 赵惠明. hTERC基因在不同类型宫颈脱落细胞中的表达及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2014, 11(19): 5396 - 5397
- 2 郑良楷, 孔令员, 周裕林, 等. hTERC基因与LCT、HPV检测在宫颈高级别病变筛查中的价值[J]. 医学研究杂志, 2014, 43(11): 88 - 92, 118
- 3 徐静, 李磊, 张丽, 等. 不同CIN分级宫颈病变组织中hTERC基因表达及意义[J]. 山东医药, 2014, 7(14): 43 - 45
- 4 Li T, Tang L, Bian D, *et al.* Detection of hTERC and c - MYC genes in cervical epithelial exfoliated cells for cervical cancer screening[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(5): 1289 - 1297
- 5 李帆, 王治洁, 帅翰林, 等. hTERC基因与高危型人乳头瘤病毒分型的相关性研究[J]. 医学分子生物学杂志, 2015, 7(1): 17 - 20
- 6 丽红, 贺昕红, 龙燕, 等. hTERC基因在宫颈上皮内瘤样病变治疗后监测的相关性研究[J]. 首都医科大学学报, 2015, 12(6): 946 - 952
- 7 杨莹莹, 潘景, 孙春意, 等. hTERC基因表达及其和HPV感染在宫颈病变中的关系[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(16): 2654 - 2656
- 8 易利红. hTERC基因与宫颈癌前病变及宫颈癌发生发展关系的探究[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(11): 1141 - 1144
- 9 Zheng X, Liang P, Zheng Y, *et al.* Clinical significance of hTERC gene detection in exfoliated cervical epithelial cells for cervical lesions[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2013, 23(5): 785 - 790
- 10 周平, 邓娟红, 黄雨华, 等. hTERC基因扩增在子宫颈非典型不成熟鳞状上皮化生及其与类似病变鉴别中的作用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(4): 452 - 454
- 11 杨梅, 高琨, 王燕娇, 等. 宫颈端粒酶hTERC基因的表达和人乳头瘤病毒的型别关系的临床研究[J]. 广西医科大学学报, 2014, 31(4): 581 - 583
- 12 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
- 13 马会, 舒丽莎, 刘云春, 等. hTERC基因在持续性HPV感染的宫颈组织中的表达[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(16): 2576 - 2578
- 14 杨萍, 董瑞卿, 杨安强, 等. 荧光原位杂交法检测人端粒酶RNA基因在子宫颈病变筛查中的意义[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(18): 2939 - 2942
- 15 孙佳星, 王莹, 肖琳, 等. hTERC基因在预测宫颈上皮内瘤变I进展和转归中的价值[J]. 实用妇产科杂志, 2015, 31(9): 680 - 683

(收稿日期: 2017 - 01 - 09)

(修回日期: 2017 - 03 - 24)

欢迎订阅 欢迎赐稿