

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.030

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.030>

## p16, E6/E7 蛋白与宫颈癌及癌前病变相关性的研究进展

曹洁琼<sup>1</sup>, 王晓宇<sup>1</sup> 综述 赵焯<sup>2</sup> 审校

(山西医科大学 1. 第一临床医学院; 2. 第一医院妇科, 太原 030000)

**[摘要]** 宫颈癌是女性最常见的、发病率较高、但完全可以通过筛查早期发现并进行有效防治的恶性肿瘤。在宫颈病变中, 高危型HPV病毒的持续感染是导致其发生发展的明确病因, 近年来, p16, HPV E6/E7蛋白在明确宫颈病变的发病机制、诊断、临床分流等方面的作用备受关注。

**[关键词]** 宫颈病变; p16; HPV E6/E7; 免疫组织化学分析

## Research progress in correlation between p16, E6/E7 proteins and cervical cancer and precancerous lesions

CAO Jieqiong<sup>1</sup>, WANG Xiaoyu<sup>1</sup>, ZHAO Ye<sup>2</sup>

(1. First Clinical Medical College; 2. Department of Gynecology, First Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030000, China)

**Abstract** Cervical cancer is the most common malignant tumor in women with high incidence, but can be detected early and effectively prevented by screening. In cervical lesions, the persistent infection of high-risk HPV virus is a clear cause of its development. In recent years, the role of P16 and HPV E6/E7 proteins in the pathogenesis, diagnosis and clinical shunt of cervical lesions has attracted much attention.

**Keywords** cervical lesions; p16; HPV E6/E7; immunohistochemical analysis

低度鳞状上皮内病变/宫颈上皮内瘤变1(lower-grade squamous intraepithelial lesions/cervical intraepithelial neoplasia 1, LSIL/CIN1)因其可自然消退, 当前被视作感染性病变。HSIL/CIN2~3因临床诊断的不明确性以及恶性潜能的不同, 可能进入过度治疗的误区<sup>[1]</sup>。为使宫颈病变的诊断进一步得到明确, 当前已涌现出众多生物学标志物, p16, HPV E6/E7蛋白作为相关的免疫组织学标志物备受瞩目。近年来大量研究<sup>[2-5]</sup>证实: p16基因突变可导致细胞周期失控, HPV E6/E7可作用于肿瘤抑制因子p53, PRB影响细胞内多条信

号转导途径, 且它们的阳性表达率与HR-HPV感染及宫颈病变程度具有一定关系, 对于明确宫颈病变的诊断大有裨益。

### 1 p16, E6/E7 蛋白与宫颈癌及癌前病变

#### 1.1 p16 基因、蛋白与宫颈病变

p16基因是20世纪90年代Kamb等<sup>[2]</sup>发现的可介入到细胞分裂周期的抗癌基因, 通过对肿瘤细胞增殖、分裂进行负向调节, 抑制肿瘤细胞的复制。因p16基因片段少, 故更易操作于基

收稿日期 (Date of reception): 2019-05-24

通信作者 (Corresponding author): 赵焯, Email: 643818223@qq.com

因诊疗工作。p16在生物学组织中广泛存在, Kamb等<sup>[2]</sup>已从多种恶性肿瘤组织中检测出50%以上的p16基因纯合子缺失、无义错义、移码突变等。p16是一种有前景的生物标志物, 因其表达增加既提示致癌HPV的存在, 也反映了它破坏了正常的细胞周期功能, 可能是致癌HPV感染的有用诊断标志物<sup>[6-9]</sup>。Sherr等<sup>[10]</sup>证明: p16蛋白作用于细胞分裂周期关键酶之一的CDK4, 与细胞周期素D1竞争性结合CDK4/CDK6, 使细胞处于G<sub>1</sub>期。p16基因缺失可导致细胞进入恶性增殖, 加剧肿瘤发生。更重要的是, 在一些形态学正常的上皮细胞中, 也会出现p16染色阳性, 体现了细胞在发生形态学异常之前已经发生的分子水平的异常, 这个特点使p16免疫组织化学拥有了较高的灵敏度<sup>[11-12]</sup>。近来有研究<sup>[13]</sup>表明: 部分生物学物质如5-Aza-dC可刺激宫颈癌细胞, 逆转p16及MGMT甲基化, 增强5-Aza-DC和放疗的抗增殖作用, 这一发现为宫颈癌的治疗提供了新的思路。

### 1.2 HPV E6/E7 与宫颈病变

高危型HPV持续感染造成高级别病变可导致宿主细胞不够成熟或宿主基因组的紊乱, 病毒合成衣壳鞘蛋白受阻, 阻断HPV DNA的扩增, 高级别CIN病变和浸润性鳞癌细胞中不一定总能检查到HPV DNA<sup>[14]</sup>。因此, 如果在临床上一味依赖于HPV DNA的检测, 可能造成漏诊率的提高, 不利于及时发现病变。E6, E7为HPV基因早期区E中重要的非结构蛋白, 可促进细胞永生化和恶性转化<sup>[15]</sup>。HR-HPV感染宿主细胞后, HPV的E7和E6蛋白表达, E6蛋白作用于p53, 通过影响细胞内多条信号转导通路, 造成细胞G<sub>1</sub>/S检测点失活, 使基因突变及外源DNA整合到宿主染色体的概率增大, 细胞周期失控。这些生物学过程导致了肿瘤的发生<sup>[3]</sup>。E7蛋白与视网膜母细胞瘤基因蛋白(retinoblastoma protein, PRB)结合, 激活转录因子(adenovirus E2 transcription factor, E2F), 使RB-E2F复合体解离<sup>[4]</sup>, 抑制它们的凋亡作用, 导致HR-HPV的癌蛋白表达增多, 进而导致宫颈病变发生发展。已有学者<sup>[16]</sup>提出用免疫组织化学法检测E6的表达是确定癌症的诊断和/或预后的有用指标。E6蛋白在检测CIN2/3时具有高度特异性, 但其敏感性较低<sup>[17-18]</sup>。若HPV16/18 E6作为CIN2分流的参考指标, 需要进一步的对比分析其在宫颈病变组织中的表达特点。

### 1.3 p16 与 HPV E6/E7

p16阳性表达与HR-HPV感染呈正相关, p16高表达与HPV的致癌活性呈正相关<sup>[19]</sup>。E6与p16表达强度的相关性在CIN2中最强, 以强阳性表达最为显著, 提示两者可能存在某些内在关联。对p16和HPV16/18 E6诊断CIN2<sup>+</sup>的敏感性及其特异性进行了比较, 结果提示两者呈阳性表达时E6对CIN2<sup>+</sup>的诊断效能最佳, p16的敏感性高于E6, 但特异性低于E6<sup>[20]</sup>。HPV的一过性感染不会影响细胞周期调控。HPV持续感染可导致p16蛋白发生转化, HPV E7蛋白通过灭活Rb减弱对p16的抑制作用。HPV持续感染后, 细胞内p16过度表达。p16-CDK-Rb串联体在HPV感染患者体内可以竞争特异性结合而失活, 阻断后续细胞G<sub>1</sub>-S期的转化及合成DNA的启动<sup>[21]</sup>, 造成宫颈组织的永生生化病变。

### 1.4 p16, HPV E6/E7 用于诊断宫颈病变的相关研究

2014年世界卫生组织(WHO)<sup>[22]</sup>发表了《女性生殖器官肿瘤分类》明确推荐: 使用“宫颈上皮内病变, CIN”和“-鳞状上皮内病变, -SIL”相结合的二级分类系统进行诊断。但实践过程中, CIN的分级诊断的唯一依据为病变所累及上皮层的范围, 导致很多患者的阴道镜宫颈活检病理处于CIN2~3中间模棱两可的状态<sup>[23]</sup>。Reuschenbach等<sup>[24]</sup>的荟萃分析表明: 在单独的HE染色形态学中加入p16<sup>INK4a</sup>免疫组织化学可提高病理学家之间对CIN2<sup>+</sup>诊断的一致性, 支持在模棱两可的CIN2中使用p16<sup>INK4a</sup>。赵健等<sup>[25]</sup>研究表明: 随着宫颈病变程度的增加, E7和p16蛋白的阳性率均显著升高。p16, E6/E7蛋白在宫颈病变的组织中的表达具有一定的规律性: p16蛋白为弥漫阳性, 而E7蛋白的阳性表达为片灶状。同时HPV E7蛋白表达水平随CIN级别提升也显著增强。患者年龄越大, E7蛋白的阳性率、染色强度越大。众多研究表明: 两个或以上免疫组织化学分析对于诊断疾病严重程度的灵敏度与特异度均高于单个免疫组织化学分析, 差异具有统计学意义。在张睿怡等<sup>[26-27]</sup>的研究中, 免疫化学双染检出CIN2及以上宫颈病变的灵敏度、特异度均明显高于高危型HPV检测和细胞学检查, 反映宫颈CIN病变级别差异, 可降低误诊率, 提高诊断阳性预测值。亦有研究表明: p16<sup>INK4a</sup>在鳞癌及腺癌中的表达率差异无统计学意义( $P < 0.01$ ), 但鳞癌的强表达占鳞癌总数的55.43%, 在腺癌中仅占15.15%; p16<sup>INK4a</sup>蛋白表达与年龄、组织学类

型、分化程度、淋巴结转移、参数浸润、血管转移及临床分期无关<sup>[28]</sup>。HR-HPV E6/E7 mRNA 检测诊断宫颈癌具有高度相关性, 其敏感性和特异性较高。在 50 岁以上的患者中, 检测的敏感性和特异性随着年龄的增加而增加<sup>[29]</sup>。有研究<sup>[30]</sup>表明: 联合检测 HPV E6/E7 mRNA 和 p16/Ki-67 明显提高对意义不明确的不典型鳞状细胞(atypical squamous cells of undetermined significance, ASCUS)分流诊断的灵敏度, 保持了较好的特异度。Areán-Cuns 等<sup>[31]</sup>通过对 1 865 位 HPV 阳性妇女进行检测并与细胞学 p16/Ki-67 双染色检测比较, 认为 HPV E6/E7 mRNA 比 p16/Ki-67 出现的时间要早, 尤其在宫颈病变比较轻的组织中表现明显, 而宫颈病变发展到比较严重的 HSIL 和宫颈癌病变中, 两个生物学指标几乎能同步表达在病变组织中。然而, 这些研究均处于进展阶段, 仍有待于实验及临床的反复检验。

### 1.5 p16, HPV E6/E7 用于预测宫颈病变预后的相关研究

p16, HPV E6/E7 不仅可用于宫颈病变的诊断, 其预测宫颈病变预后亦有意义。一项纳入 427 例病例的研究表明: 恶性肿瘤组 p16 自身抗体水平明显高于健康对照组和良性肿瘤组, I 期宫颈癌患者 p16 自身抗体水平最高, 特异性 >90% 的敏感性为 20.3%, 说明抗 p16 自身抗体可能是宫颈癌早期预后的一系列潜在生物标志物之一<sup>[32-34]</sup>。宫颈癌组织中 p16 蛋白的阳性表达率较高, 其阳性表达可能与宫颈癌患者的分化程度、淋巴结转移有关, p16 蛋白阴性表达患者的生存情况更优, p16 蛋白可作为评价宫颈癌患者病情和预后的有效指标<sup>[35]</sup>。有研究<sup>[5]</sup>中的 Kaplan-Meier 生存率分析显示: HR-HPV E6-DNA 低载量组患者 1, 3, 5 年生存率分别为 95.66%, 89.31%, 74.30%; 而高载量患者 1, 3, 5 年生存率分别是 89.10%, 62.61%, 51.36%, 高载量组的生产率明显低于低载量组 ( $P < 0.05$ ), 说明 HPV16-E6 在分子水平上进行病情监测、制订治疗措施、评估预后均有重要价值。

## 2 结语

p16, E6/E7 蛋白的异常表达与恶性肿瘤(尤其是宫颈病变)的发生发展、分化程度、广泛转移及不良预后等息息相关, 这为日后临床工作中对于宫颈癌前病变“过渡性”“模糊性”诊断的

进一步明确起到了良好的辅助作用, 亦能防止过度治疗带来的不必要的损伤及医疗资源的浪费。但可惜的是目前临床上尚缺这方面的大样本研究分析, 这可作为日后临床研究开展的一个重点。相信随着对 p16, E6/E7 蛋白研究的不断深入, 对于宫颈癌及癌前病变的认识不断加深, 可以为临床实践提供更多新的思路。

## 参考文献

- Martin CM, O'Leary John J. Histology of cervical intraepithelial neoplasia and the role of biomarkers[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2011, 25(5): 605-615.
- Kamb A. Cyclin-dependent kinase inhibitors and human cancer[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 1998, 22(7): 139-148.
- Choudhury AD, Choudhury MD, Chetia P, et al. An in silico appraisal of azoic and disulphide derivatives for anticancer activity against HPV E6 oncoprotein to medicate cervical cancer[J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2014, 17(1): 36-38.
- Shen Y, Gong J, He Y, et al. Quantivirus® HPV E6/E7 RNA 3.0 assay (bdNA) is as sensitive, but less specific than Hybrid Capture 2 test[J]. J Virol Methods, 2013, 187(2): 288-293.
- 程莹星, 黄勇. HPV16-E6-DNA 对宫颈癌预后价值分析[J]. 河北医学, 2017, 23(12): 1944-1948.  
CHENG Yingxing, HUANG Yong. The prognostic value of HPV16-E6-DNA for cervical cancer[J]. Hebei Med, 2017, 23(12): 1944-1948.
- Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies[J]. Am J Surg Pathol, 2010, 34(8): 1077-1087.
- Van zummeren M, Leeman A, Kremer WW, et al. Three-tiered score for Ki-67 and p16(ink4a) improves accuracy and reproducibility of grading CIN lesions[J]. Clin Pathol, 2018, 71(11): 981-988.
- Nicol AF, Golub JE, e Silva JR, et al. An evaluation of p16(INK4a) expression in cervical intraepithelial neoplasia specimens, including women with HIV-1[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2012, 107(5): 571-577.
- Cheah PL, Looi LM, Teoh KH, et al. p16(INK4a) is a useful marker of human papillomavirus integration allowing risk stratification for cervical malignancies[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(2): 469-472.
- Sherr CJ, Beach D, Shapiro GI. Targeting CDK4 and CDK6: From Discovery to Therapy. Cancer Discov, 2016, 6(4): 353-367.
- Thursky K, Lingaratnam S, Jayarajan J, et al. Implementation of a whole of hospital sepsis clinical pathway in a cancer hospital: impact on sepsis management, outcomes and costs[J]. BMJ Open Qual, 2018, 7(3): e000355.
- Odunyemi FT, Ndikom CM, Oluwatosin OA. Effect of nursing

- intervention on mothers' knowledge of cervical cancer and acceptance of human papillomavirus vaccination for their adolescent daughters in abuja nigeria[J]. *Asia Pac J Oncol Nurs*, 2018, 5(2): 223-230.
13. Chen GD, Qian DY, Li ZG, et al. Down-regulation of p16 and MGMT promotes the anti-proliferative and proapoptotic effects of 5-Aza-dC and radiation on cervical cancer cells[J]. *Cell Biochem Funct*, 2017, 35(8): 488-496.
  14. 刘从容. HPV感染的宫颈病理学进展[J]. *现代妇产科进展*, 2011, 20(5): 337-339.  
LIU Congrong. Progress in cervical pathology of HPV infection[J]. *Progress in Obstetrics and Gynecology*, 2011, 20(5): 337-339.
  15. Duvlis S, Popovska-Jankovic K, Arsova ZS, et al. HPV E6/E7 mRNA versus HPV DNA biomarker in cervical cancer screening of a group of Macedonian women[J]. *J Med Virol*, 2015, 87(9): 1578-1586.
  16. Lin HP, Wang YP, Chiang CP. Expression of p53, MDM2, p21, heat shock protein 70, and HPV 16/18 E6 proteins in oral verrucous carcinoma and oral verrucous hyperplasia[J]. *Head Neck*, 2011, 33(3): 334-340.
  17. Hariri J, Oster A. The negative predictive value of p16INK4a to assess the outcome of cervical intraepithelial neoplasia 1 in the uterine cervix[J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2007, 26(3): 223-228.
  18. Conesa-Zamora P, Domenech-Peris A, Orantes-Casado FJ, et al. Effect of human papillomavirus on cell cycle-related proteins p16, Ki-67, Cyclin D1, p53, and Pro Ex C in precursor lesions of cervical carcinoma: a tissue microarray study[J]. *Am J Clin Pathol*, 2009, 132(3): 378-390.
  19. 朱瑞娟, 汤显斌, 王铁延, 等. HR-HPV感染及p16表达在ASC-H中的意义[J]. *中国妇幼保健*, 2018, 33(15): 3539-3541.  
ZHU Ruijuan, TANG Xianbin, WANG Tieyan, et al. Significance of HR-HPV infection and p16 expression in ASC-H[J]. *Maternal and Child Health Care of China*, 2018, 33(15): 3539-3541.
  20. 陈艺璇. 基于宫颈病变中HPV16/18 E6、p16、Ki-67表达特征探讨三者对CIN2的临床分流价值[D]. 郑州: 郑州大学, 2019.  
CHEN Yixuan. Expression of HPV16/18 E6, p16 and Ki-67 in cervical lesions and their clinical diversion value of CIN2[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2019.
  21. Capobianco G, Lutzoni R, Wenger JM, et al. P16 immunostaining and HPV testing in histological specimens from the uterine cervix[J]. *European Journal of Gynaecological Oncology*, 2013, 34(3): 227-230.
  22. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, et al. WHO classification of tumours of female reproductive organs[M]. Lyon: IARC Press, 2014.
  23. 沈丹华. 宫颈鳞状细胞前驱病变命名及其相应临床处理原则——基于《第四版世界卫生组织女性生殖系统肿瘤分类》[J]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2016, 12(4): 379-382.  
SHEN Danhua. Squamous epithelial precursors of uterine cervix and its clinical management guidelines: World Health Organization Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th Edition[J]. *Chinese Journal of Obstetrics & Gynecology and Pediatrics*, 2016, 12(4): 379-382.
  24. Reuschenbach M, Wentzensen N, Dijkstra MG, et al. p16INK4a immunohistochemistry in cervical biopsy specimens: a systematic review and meta-analysis of the interobserver agreement[J]. *Am J Clin Pathol*, 2014, 142(6): 767-772.
  25. 赵健, 贺丹, 王晓, 等. 宫颈病变中人乳头瘤病毒来源E7蛋白表达及意义研究[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2018, 34(6): 654-657.  
ZHAO Jian, HE Dan, WANG Xiao, et al. Analysis of the expression of HPV-derived E7 protein in cervical lesions and evaluation of its clinical significance[J]. *Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics*, 2018, 34(6): 654-657.
  26. 张睿怡, 郭红燕, 游珂, 等. p16~(INK4a)/Ki67免疫细胞化学双染在检出宫颈癌及癌前病变中的作用[J]. *肿瘤预防与治疗*, 2017, 30(6): 427-432.  
ZHANG Ruiyi, GUO Hongyan, YOU Ke, et al. Detection of cervical cancer or precancerous lesion by p16INK4a/Ki67 dual stain cytology[J]. *Journal of Cancer Control and Treatment*, 2017, 30(6): 427-432.
  27. 靳情, 严威, 朱国勇, 等. HPV阳性宫颈CIN患者联合检测Ki67、P16、INp63基因表达的临床价值[J]. *中国计划生育学杂志*, 2018, 26(8): 718-721.  
JIN Qing, YAN Wei, ZHU Guoyong, et al. Clinical value of detection of Ki67, P16, and INp63 gene expression for patients with cervical HPV positive and CIN[J]. *Chinese Journal of Family Planning*, 2018, 26(8): 718-721.
  28. Cai S, Han K. Research on expression and importance of p53, p16 and VEGF-C in cervical cancer[J]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 2015, 44(7): 639-645.
  29. Pruski D, Millert-Kalinska S, Lewek A, et al. Sensitivity and specificity of HR HPV E6/E7 mRNA test in detecting cervical squamous intraepithelial lesion and cervical cancer[J]. *Ginekol Pol*, 2019, 90(2): 66-71.
  30. 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.  
ZHAN Xiaofen, WANG Shaohong, WU Xuan, et al. The role of HPV E6/E7 mRNA combined with P16/ki67 immunocytochemistry in the diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance(ASCUS)[J]. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2018, 34(10): 937-941.
  31. Areán-Cuns C, Mercado-Gutiérrez M, Paniello-Alastruey I, et al. Dual staining for p16/ki67 is a more specific test than cytology for triage of HPV-positive women[J]. *Virchows Arch*, 2018, 473(5): 599-606.
  32. Huangfu M, Liu L, Xu S, et al. Detecting of p16 Autoantibody as a

- potential early diagnostic serum biomarker in patients with cervical cancer[J]. Clin Lab, 2016, 62(6): 1117-1120.
33. Cai S, Han K. Research on expression and importance of p53, p16 and VEGF-C in cervical cancer[J]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris), 2015, 44(7): 639-645.
34. 杨然, 冯磊. 宫颈癌中P16和Twist基因的表达与预后的关系[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(15): 2322-2324.
- YANG Ran, FENG Lei. Relationship between expression of P16 and Twist genes and prognosis in cervical cancer[J]. Maternal and Child Health Care of China, 2015, 30(15): 2322-2324.
35. 李伟英, 范长玲, 张敏, 等. p16蛋白在宫颈癌中的表达及其与患者临床特征和预后的关系[J]. 癌症进展, 2019, 17(10): 1222-1224.
- LI Weiyong, FAN Changling, ZHANG Min, et al. The expression of p16 protein in cervical cancer and the relationship with clinical characteristics and prognosis[J]. Oncol Prog, 2019, 17(10): 1222-1224.

本文引用: 曹洁琼, 王晓宇, 赵焯. p16, E6/E7蛋白与宫颈癌及癌前病变相关性的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(2): 443-447. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.030

**Cite this article as:** CAO Jieqiong, WANG Xiaoyu, ZHAO Ye. Research progress in correlation between p16, E6/E7 proteins and cervical cancer and precancerous lesions[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2020, 40(2): 443-447. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.02.030