

FHIT、C-myc 在宫颈癌中的表达及其与高危型 HPV 感染的相关性

宋春丽,呼君瑜,李美艳,田芬,王菊荣,焦茹,刘平
(邯郸市中心医院,河北 邯郸 056000)

摘要: [目的] 探讨脆性组氨酸三联体 (fragile histidine traid, FHIT)、C-myc 在宫颈癌中的表达及与高危型人乳头状瘤病毒 (high-risk HPV, HR-HPV) 感染的相关性。[方法] 采用免疫组化 SP 法检测 50 例宫颈癌组织 (cervical cancer)、70 例宫颈上皮内瘤变 (CIN) 和 30 例正常宫颈组织中 FHIT 和 C-myc 的表达情况,并分析其与宫颈癌临床病理特征的关系。采用 HC-II 法检测 HR-HPV 感染情况。[结果] (1) 正常宫颈组织、CIN 组及宫颈癌组中 FHIT 的阳性表达率分别为 93.3%、67.1%、22.0% ($P<0.05$), C-myc 的阳性表达率分别为 16.7%、47.1%、76.0% ($P<0.05$)。 (2) FHIT 表达与 FIGO 分期、病理学分级相关 ($P<0.05$), C-myc 表达与 FIGO 分期相关 ($P<0.05$)。 (3) HR-HPV 在正常宫颈组织、CIN 组及宫颈癌组中的感染率分别为 3.33%、28.57%、84.0%。 FHIT 与 C-myc 的表达呈负相关 ($r=-0.622, P<0.05$), FHIT 表达与 HR-HPV 感染呈负相关, C-myc 表达与 HR-HPV 感染呈正相关。[结论] 联合检测 FHIT、C-myc 表达以及 HR-HPV 感染情况,可能可为早期宫颈癌诊断提供参考依据。

关键词: FHIT; C-myc; HR-HPV; 宫颈癌;

中图分类号: R737.33 中图分类号: A 文章编号: 1004-0242(2016)05-0395-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2016.05.A015

Expression of FHIT and C-myc in Cervical Cancer and Its Correlation with High-Risk HPV Infection

SONG Chun-li, HU Jun-yu, LI Mei-yan, et al.

(Handan Municipal Central Hospital, Handan 056000, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of fragile histidine triplet (FHIT) and C-myc in cervical cancer and its correlation with high-risk HPV (HR-HPV) infection. [Methods] The expression of FHIT and C-myc was detected by immunohistochemical SP method in 50 specimens of cervical cancer, 70 specimens of cervical intraepithelial neoplasm (CIN) and 30 specimens of normal cervical tissue. HR-HPV infection was detected by HC-II method. The relationship of FHIT and C-myc expression with clinicopathological features of cervical cancer and HR-HPV infection was analyzed. [Results] The positive expression rate of FHIT and C-myc in normal cervical tissue, CIN and cervical cancer was 93.3%, 67.1%, 22.0%, and 16.7%, 47.1% and 76.0%, respectively ($P<0.05$). The expression of FHIT was correlated with FIGO stage and pathological classification of cervical cancer ($P<0.05$). The expression of C-myc was correlated with FIGO stage ($P<0.05$). The infection rate of HR-HPV in normal cervical tissue, CIN and cervical cancer was 3.33%, 28.57%, 84.0%, respectively. FHIT expression was negatively correlated with C-myc expression ($r=-0.622, P<0.05$). FHIT expression was negatively correlated with HR-HPV infection ($P<0.05$), while C-myc expression was positively correlated with HR-HPV infection ($P<0.05$). [Conclusion] The combined detection of FHIT, C-myc expression and HR HPV infection may provide important information for early diagnosis of cervical cancer.

Key words: FHIT; C-myc; HR-HPV; cervical cancer;

众所周知, 宫颈癌的发生与 HPV 感染关系密切, 但原癌基因被激活和抑癌基因的失活在宫颈癌

的发生、发展中亦起到重要作用。FHIT 基因是一种抑癌基因, 位于 3P14.2 区域, 该基因跨越人类染色体脆性部位 FRA3B, 在细胞周期调节和凋亡中发挥作用。C-myc 基因是一种可使细胞无限增殖、获永生化功能、促进细胞分裂的基因, 与多种肿瘤的发生发

收稿日期: 2015-11-21; 修回日期: 2016-01-20

基金项目: 邯郸市科技局科技计划项目 (1323108087-13)

通讯作者: 宋春丽, E-mail: 24436708@qq.com

展有关。研究发现 FHIT、C-myc 在多种肿瘤组织中呈异常表达,但两者在宫颈癌中相互作用的关系目前尚不明确。本实验采用免疫组化方法对宫颈癌组织中 FHIT 和 C-myc 的表达进行检测,并检测 HR-HPV 感染,结合临床病理资料,探讨 FHIT 和 C-myc 在宫颈癌中的表达及与 HPV 感染之间的关系,为宫颈癌的早期诊断提供实验室依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源及处理

本研究资料取邯郸市中心医院 2012 年 1 月至 2015 年 9 月手术切除及活检的宫颈组织石蜡包埋标本 150 例为研究对象。30 例正常宫颈标本取自因子宫良性病变行子宫切除术的患者。宫颈上皮内瘤变(CIN)70 例均取自门诊宫颈活检,其中 CIN I 15 例、CIN II 20 例、CIN III 35 例。宫颈癌 50 例来自门诊活检及病房手术切除,按 FIGO 临床分期标准: I 期 16 例、II 期 24 例、III~IV 期 10 例;肿瘤分化程度:高分化(G₁) 14 例、中分化(G₂) 26 例、低分化(G₃) 10 例;在手术的宫颈癌患者中,有淋巴结转移 5 例,无淋巴结转移 21 例;宫颈鳞状细胞癌 46 例,腺癌 4 例。全部标本均经病理确诊,术前未经过放、化疗及肿瘤药物治疗。

1.2 主要试剂

FHIT 兔抗人多克隆抗体、C-myc 鼠抗人单克隆抗体、SP 试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。DAB 显色试剂购自武汉博士德生物工程公司。

1.3 免疫组织化学染色

采用免疫组织化学 SP 法,实验步骤按试剂盒说明书进行,以柠檬酸缓冲液高温高压进行抗原修复,DAB 显色,自来水充分冲洗;梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。PBS 代替一抗作空白对照,阳性对照为随试剂盒附带的阳线切片。

1.4 结果判定

所有切片的观察均经 3 名病理科医生独立在光镜下完成。每张切片选取 5 个高倍(400 倍)视野,每个视野观察 100 个细胞。FHIT 蛋白的表达产物定位于细胞浆,C-myc 蛋白的阳性表达产物定位于细胞核,以出现棕黄色颗粒为阳性。按染色强度计分,0 分为无色,1 分为淡黄色,2 分为黄色,3 分为棕黄色;按阳性细胞所占百分比计分,阳性细胞数≤10%为 0 分(-),阳性细胞数 10%~25%为 1 分(+),阳性细胞数 25%~50%为 2 分(++),阳性细胞数 50%~75%为 3 分(+++),阳性细胞数>75%为 4 分(++++)。0~3 分为表达阴性,≥3 分为表达阳性。

1.5 HR-HPV 检测

采用凯普公司提供的快速导流杂交技术检测系统进行检测,试剂盒由凯普公司提供,可以一次检测 6、11、42、43、44、16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、CP8304 等 21 种 HPV 基因型。

1.6 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件包对数据进行统计学处理,阳性率的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法,相关性检验采用 Spearman 等级相关, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FHIT、C-myc 在宫颈组织中的表达

FHIT 在正常宫颈组织、CIN 组及宫颈癌组中的阳性表达率分别为 93.3%、67.1%、22.0%,3 组之间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。C-myc 在正常宫颈组织、CIN 组及宫颈癌组中的阳性表达率分别为 16.7%、47.1%、76.0%,3 组之间比较差异有统计学意义($\chi^2=27.060, P<0.001$)。见 Table 1, Figure 1~2。

2.2 FHIT、C-myc 表达与宫颈癌临床病理特征的关系

FHIT 蛋白在宫颈癌 I 期、II 期、III 期的阳性表达率分别为 43.8%、12.5%、10.0%,差异有统计学意

Table 1 Expression of FHIT, C-myc in cervical cancer, CIN and normal cervical tissue

Group	n	FHIT				C-myc			
		+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P
Normal cervical	30	28	2	6.349	0.005 [#]	5	25	7.036	<0.001 [#]
CIN	70	47	23	22.028	<0.001 [△]	33	37	8.894	<0.001 [△]
Cervical cancer	50	11	39	35.385	<0.001 [*]	38	12	24.220	<0.001 [*]

Note: [#]: Normal cervical vs CIN; [△]: CIN vs Cervical cancer; ^{*}: Normal cervical vs Cervical cancer

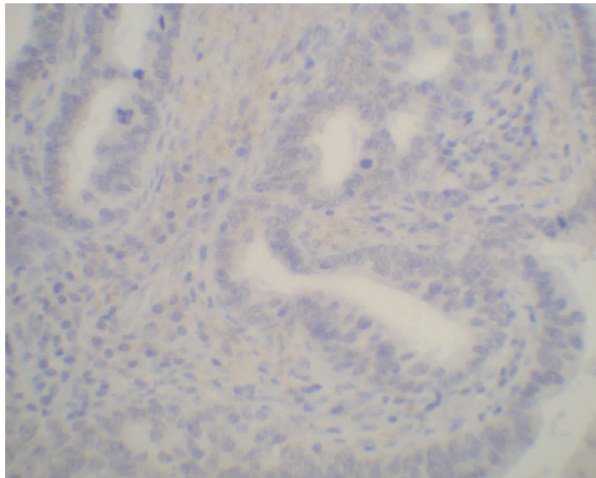


Figure 1 The positive expression of FHIT in cervical cancer (SP×200)

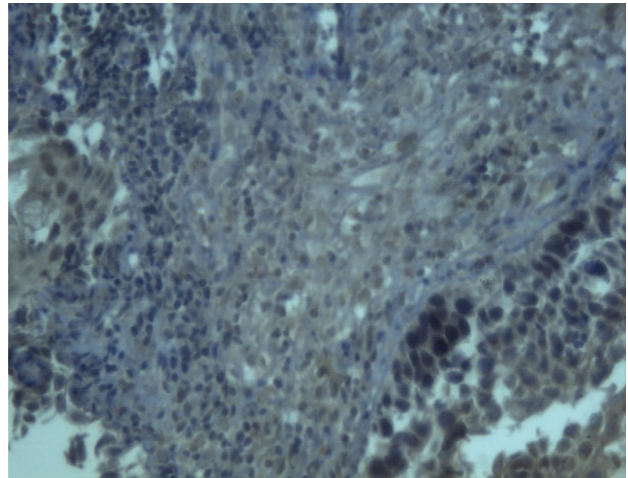


Figure 2 The positive expression of C-myc in cervical cancer (SP×200)

义($P<0.05$),在高分化、中分化、低分化宫颈癌中的阳性表达率分别为 50.0%、11.5%、10.0%,差异有统计学意义($P<0.05$),在无淋巴结转移及有淋巴结转移宫颈癌中阳性表达率分别为 42.9%、20.0%,差异无统计学意义($P>0.05$)。C-myc 蛋白在宫颈癌 I 期、II 期、III~IV 期的阳性表达率分别为 43.8%、87.5%、90.0%,差异有统计学意义($P<0.05$),在高分化、中分化、低分化宫颈癌中的阳性表达率分别为 71.4%、76.9%、80.0%,差异无统计学意义($P>0.05$),在无淋巴结转移及有淋巴结转移宫颈癌中阳性表达率分别为 76.2%、100%,差异无统计学意义($P>0.05$)。见 Table 2。

2.3 HR-HPV 感染率

正常宫颈组织、CIN 组及宫颈癌组中 HR-HPV 的感染率分别为 3.33%(1/30)、28.57%(20/70) 和 84.0%(42/50)。

2.4 宫颈癌中 FHIT、C-myc 表达的相关性及与 HR-HPV 感染的相关性

在 50 例宫颈癌中,FHIT 与 C-myc 同时表达阳性 10 例,同时表达阴性 5 例,Spearman 相关分析显示 FHIT 与 C-myc 的表达呈负相关($r=-0.622,P<0.001$)。

Table 2 The relationship of FHIT and C-myc expression with the clinicopathological features of cervical cancer

Clinicopathological features	n	FHIT				C-myc			
		+	-	χ^2	P	+	-	χ^2	P
FIGO staging				6.512	0.039			11.214	0.004
I	16	7	9			7	9		
II	24	3	21			21	3		
III~IV	10	1	9			9	1		
Differentiation				8.894	0.012			0.260	0.878
High	14	7	7			10	4		
Middle	26	3	23			20	6		
Poorly	10	1	9			8	2		
Lymph node metastasis				-	0.617			-	0.545
No	21	9	12			16	5		
Yes	5	1	4			5	0		

Table 3 The correlation of FHIT and C-myc expression in cervical cancer

FHIT	C-myc		Total
	+	-	
+	10	1	11
-	28	11	39
Total	38	12	50

FHIT 的表达与 HR-HPV 感染呈负相关($P<0.05$),C-myc 的表达与 HR-HPV 感染呈正相关($P<0.05$)。见 Table 3。

3 讨论

恶性肿瘤的发生是一个多步骤、多因素的过程,

与癌基因的激活和抑癌基因的失活关系密切。人乳头瘤病毒(HPV)感染与宫颈癌的发生、发展密切相关,但仅有 HPV 感染并不必然引起宫颈癌,其他宿主因素包括改变肿瘤抑制基因的活动可能导致致癌过程^[1]。到目前为止,多种人类原发肿瘤组织和细胞系中,尤其是暴露于环境致癌物的器官上皮肿瘤中经常发现有 *FHIT* 基因高比例的缺失,包括胃癌、结肠癌、乳腺癌、宫颈癌和头颈部肿瘤等。近年来,人们从转录、翻译等不同水平研究了 *FHIT* 与宫颈癌的关系。文献报道在宫颈癌中有 44%~71%的 *FHIT* 基因的转录异常和表达异常,而且在宫颈癌前病变和原位癌中也有 *FHIT* 的异常转录和表达,表明 *FHIT* 基因的异常改变参与了宫颈癌的发生和发展。研究表明 *FHIT* 基因 CpG 岛甲基化是 *FHIT* 基因失活的主要机制,是与宫颈癌的发生有密切关系的早期事件^[2,3]。本研究显示 *FHIT* 在正常宫颈组织、CIN 组及宫颈癌组中的阳性表达率分别为 93.3%、67.1%、22.0%,在宫颈癌中的表达明显低于 CIN 组及正常宫颈组织,说明 *FHIT* 在宫颈癌中发生了缺失,与其他研究结果一致^[4-6]。且发现 *FHIT* 表达与临床分期、病理分级关系密切,*FHIT* 的低表达主要见于期别较高、低分化癌者,提示其与宫颈癌潜在的恶性生物学行为密切相关,在宫颈癌的发生、发展中可能起重要作用。有研究表明 HPV 16 感染、*FHIT* 基因甲基化和叶酸缺乏可能促进宫颈癌的进展,*FHIT* 基因可能是一个有效的宫颈癌的预防和治疗标记^[7]。张玲等^[8]的研究结果表明,CIN I、CIN II、CIN III 及宫颈癌组 HPV 感染率显著高于正常子宫组织及子宫炎症组织,而 *FHIT* 阳性表达率显著低于子宫炎症组织。李菲^[9]的研究结果显示,*FHIT* 表达与病理分级、临床分期及淋巴结转移相关,在正常宫颈组、LSIL、HSIL 及宫颈癌组织中,*FHIT* 表达与 HPV 感染呈负相关。

C-myc 基因是 *myc* 基因家族的重要成员之一,*C-myc* 基因既是一种可易位基因,又是一种多种物质调节的可调节基因,也是一种可使细胞无限增殖、获永生功能、促进细胞分裂的基因,与多种肿瘤发生发展有关。*C-myc* 基因的扩增和过度表达可能是某些宫颈癌发生中的早发事件,约 1/3 的早期浸润性癌和某些 CIN III 出现 *C-myc* 的过度表达,但并未在正常宫颈上皮和低级别 CIN 中发现,在早期癌中

C-myc 的扩增和预后较差有关^[10]。研究表明,在宫颈癌中 *C-myc* 蛋白的表达在有周围组织浸润、淋巴结转移和远处转移时显著升高,其阳性表达随期别的增加而升高^[11,12]。何志连等^[13]研究结果显示:*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),且随 FIGO 分期、病理学分级、淋巴结转移而升高。本研究显示,*C-myc* 在正常宫颈组织、CIN 组及宫颈癌组中的阳性表达率分别为 16.7%、47.1%、76.0%,且随 FIGO 分期、病理学分级、淋巴结转移而升高。*C-myc* 对早期诊断宫颈癌、观察病情提供指导。季雯婷等^[14]的研究结果显示,*h-TERC* 和 *C-myc* 基因检测单独筛查宫颈癌时,灵敏度虽低于 TCT 和 HPV 检测,但其特异度较高,当联合筛查时,TCT 或 HPV 检测联合 *C-myc* 基因检测,灵敏度和特异度均有不同程度的上升,在 HPV 筛查的基础上下,对 HPV 阳性的患者再行 *C-myc* 的筛查,诊断特异度上升至 77.8%。故联合检测 HPV 和 *C-myc* 基因,可以对宫颈癌的早期预测提供实验室依据。

本研究发现,宫颈癌中 *FHIT* 与 *C-myc* 表达呈负相关,*FHIT* 蛋白的表达随着宫颈病变程度的加重而下降,而 *C-myc* 蛋白的表达随着宫颈病变程度的加重而上升,*FHIT* 的表达与 HR-HPV 感染呈负相关,*C-myc* 的表达与 HR-HPV 感染呈正相关,三者联合检测可能可以作为早期预测宫颈癌的一种方法。

参考文献:

- [1] Bai LX, Wang JT, Ding L, et al. Folate deficiency and *FHIT* hypermethylation and HPV 16 infection promote cervical cancerization [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(21): 9313-9317.
- [2] Banzai C, Nishino K, Quan J. Promoter methylation of *DAPK1*, *FHIT*, *MGMT*, and *CDKN2A* genes in cervical carcinoma[J]. *Int J Clin Oncol*, 2014, 19(1): 127-132.
- [3] Siegel EM, Riggs BM, Delmas AL. Quantitative DNA methylation analysis of candidate genes in cervical cancer [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0122495.
- [4] Wang HJ, Liu YL, Tang FX, et al. Survivin, *FHIT* and bFGF expression in cervical squamous carcinoma tissues and significance [J]. *Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2012, 28 (5) : 384-386. [王会娟, 刘玉玲, 汤福想, 等. survivin, *FHIT* 及 bFGF 在宫颈鳞癌组织中的表达及意义[J]. *实用妇产科杂志*, 2012, 28(5): 384-386.]

- [5] Li HX, Li M, Wang XJ. The expression of FHIT, HPV16E6 and incidence of cervical squamous carcinoma association study [J]. International Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2011, 38 (4) : 332-334. [李惠新, 李敏, 王小娇. FHIT 基因、HPV16E6 的表达与宫颈鳞癌发病的相关性研究[J]. 国际妇产科学杂志, 2011, 38(4): 332-334.]
- [6] Hou J, Yang YX, Jing RC. Fhit, survivin in cervical intraepithelial neoplasia disorders and the expression and clinical significance of cervical squamous cell carcinomas [J]. Journal of Modern Cancer Medicine, 2008, 16 (2) : 265-268. [侯洁, 杨永秀, 景茹草. Fhit, survivin 在宫颈上皮内瘤样病变与宫颈鳞癌中的表达与临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2008, 16(2): 265-268.]
- [7] Bai Neyaz MK, Hussain S, Hassan MI. Novel missense mutation in FHIT gene; interpreting the effect in HPV-mediated cervical cancer in Indian women [J]. Mol Cell Biochem, 2010, 335(1-2): 53-8.
- [8] Zhang L, Fu K, Shen AF, et al. FHIT and TSLC1 gene expression with cervical cancer and the research of human papilloma virus infection [J]. Chinese Journal of Hospital Infection, 2014, 24 (14) : 3597-3599. [张玲, 傅珂, 申爱方, 等. FHIT 和 TSLC1 基因表达与宫颈癌发生及人乳头状瘤病毒感染的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(14): 3597-3599.]
- [9] Li F. Histidine triplet with cervical cancer and lung cancer suppressor 1 gene expression and the correlation of papilloma virus infection [J]. Journal of Clinical Medicine, 2015, 19 (7) : 97-100. [李菲. 组氨酸三联体及肺癌抑制因子 1 基因表达与宫颈癌发生及乳头状瘤病毒感染的相关性[J]. 实用临床医药杂志, 2015, 19(7): 97-100.]
- [10] Wu XH. Practical gynecologic oncology [M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 2005. 22. [吴小华主译. 实用妇科肿瘤学[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2005. 22.]
- [11] Ji WT, Lou WH, Hong ZP. H-TERC gene and C-myc gene expression and its correlation with cervical HPV infection lesions [J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2013, 29 (8) : 662-665. [季雯婷, 楼微华, 洪祖蓓. h-TERC 基因及 C-myc 基因的表达及其与 HPV 感染宫颈病变的相关性 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2013, 29(8): 662-665.]
- [12] Mariani L, Venuti A. HPV vaccine: an overview of immune response, clinical protection, and new approaches for the future [J]. J Transl Med, 2010, 8(1): 105.
- [13] He ZL, Yu LQ. C-myc, HPV16/18 DNA expression in cervical cancer and precancerous lesions and its correlation [J]. Cancer Prevention and Control Research, 2010, 37 (12) : 1413-1415. [何志连, 余立群. C-myc、HPV16/18DNA 在宫颈癌及癌前病变中的表达及其相关性[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(12): 1413-1415.]
- [14] Ji WT, Lou WH, Hong ZP, et al. TCT, HPV, h-TERC gene and C-myc joint inspection application value in screening of cervical disease research [J]. Progress in Modern Obstetrics and Gynecology, 2014, 23 (2) : 105-108, 112. [季雯婷, 楼微华, 洪祖蓓, 等. TCT、HPV、h-TERC 基因和 C-myc 基因联合检测在宫颈疾病筛查中应用价值研究[J]. 现代妇产科进展, 2014, 23(2): 105-108, 112.]

《中国肿瘤》关于提交“作者投稿无学术不端行为承诺书”的申明

本刊已开通网上在线投稿系统(<http://www.chinaoncology.cn>), 作者登录网站后, 请在左上角选择《中国肿瘤》, 选中后进入首页, 首次投稿作者请先注册, 在完成稿件上传、作者信息填写等程序后, 请您在网站首页(<http://www.chinaoncology.cn>)“下载中心”栏中下载《中国肿瘤》的“作者投稿无学术不端行为承诺书文档”, 填写后 1 周内连同单位介绍信、基金证明复印件快递寄至本刊编辑部, 本刊确认收到上述材料后, 该文稿才能进入审稿编辑流程。