

绝经后妇女宫颈糜烂组织 hTERC 基因表达的临床意义

彭湃 段清 魏殿军

作者单位:300211 天津市,天津医科大学第二医院检验科

【摘要】 目的 探讨绝经后妇女宫颈糜烂组织中人类染色体末端酶(human telomerase RNA component, hTERC)基因的表达及其临床意义。**方法** 选择 2015 年 2 月至 2015 年 8 月于我院就诊的绝经 1 年及以上妇女经肉眼观为宫颈糜烂的患者 60 例,根据宫颈糜烂程度分为宫颈轻度糜烂组(19 例)、中度糜烂组(23 例)、重度糜烂组(18 例)。另收集同期健康查体的宫颈光滑妇女 40 例为对照组。所有受检者均行阴道镜下宫颈活检,作出组织病理学诊断,采用荧光原位杂交技术检测宫颈组织中 hTERC 基因表达情况。**结果** 随着宫颈糜烂程度的加重,宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN) III 及宫颈癌的阳性率呈逐渐升高的趋势,各组间不同病理分级的阳性率差异均有统计学意义(P 均 < 0.05);宫颈糜烂组与对照组宫颈活检组织标本均可见 hTERC 基因表达的细胞;在 100 例受检者中,56 例 hTERC 基因扩增阳性,阳性表达率为 56.00%(56/100)。在对照组、轻度糜烂组、中度糜烂组及重度糜烂组中 hTERC 基因的阳性表达率分别为 10.00%(4/40)、68.42%(13/19)、91.30%(21/23)及 100.00%(18/18),四组间比较差异具有统计学意义($\chi^2= 41.283, P< 0.05$);且宫颈活检组织中 hTERC 基因与宫颈糜烂有较好的相关性,相关系数 r 为 0.936($P= 0.000$)。宫颈活检组织中 hTERC 基因对宫颈糜烂的诊断性能较好,灵敏度及特异性分别为 87.03%和 83.33%。**结论** 宫颈糜烂的患者其组织学诊断多样化,糜烂程度越高,发生 CIN 及宫颈癌的可能性越大,hTERC 基因表达水平亦有随之升高的趋势。

【关键词】 绝经后;妇女;宫颈糜烂;宫颈上皮内瘤样病变;人类染色体末端酶基因

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.01.003

Clinical significance of hTERC expression in post-menopausal women with cervical erosion

PENG Pai, DUAN Qing, WEI Dian-jun. Department of Clinical Laboratory, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

【Abstract】 Objective To explore the clinical significance and expression of the human telomerase RNA component (hTERC) gene in postmenopausal women with cervical erosion. **Methods** 60 cases postmenopausal women with cervical erosion by naked eye view from February 2015 to August 2015 in our hospital were collected, and they were divided into mild cervical erosion group (19 cases), moderate erosion group (23 cases), severe erosion group (18 cases). 40 cases patients with no cervical erosion were collected as the control group at the same time. All the subjects were all detected by colposcopy and cervical biopsy. The hTERC gene expression was detected by fluorescence in situ hybridization (FISH) technique. **Results** All the patients were divided into normal, cervicitis, cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I, CIN II, CIN III and cervical cancer according to the results of cervical biopsy pathology. The positive rates of CIN III and cervical cancer showed a increasing trend along with the severity of disease. There were statistical significance in the differences of positive rate of different pathology degree among all the groups (P all < 0.05). The samples of each cervical erosion group and control group all showed hTERC gene expression. There were 56 cases patients showed hTERC gene expression, the positive rate was 56.00%(56/100). The positive rates of control group, mild cervical erosion group, moderate erosion group and severe erosion group were 10.00%(4/40), 68.42%(13/19), 91.30%(21/23) and 100.00%(18/18), and the difference had statistical significance ($\chi^2= 41.283, P< 0.05$). There was positive correlation between cervical erosion and hTERC gene expression ($r= 0.936, P= 0.000$). The sensitivity and specificity of hTERC gene in cervical erosion diagnosis were 87.03% and 83.33%, respectively. **Conclusion** Cervical erosion patients with the naked eye diagnosed show diverse histological diagnosis, the higher the degree of erosion, the greater the likelihood of CIN and cervical cancer, and hTERC gene expression levels with an increasing trend there.

【Key words】 Postmenopausal; Women; Cervical erosion; Cervical intraepithelial neoplasia; Human telomerase RNA component gene

绝经后妇女宫颈病变有其自身的特点,多无明显自觉症状,肉眼拟诊为宫颈糜烂时,阴道镜下病理活检结果包括:正常、宫颈炎、宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)、宫颈癌。随着老年人口的增加,老年宫颈癌患者也相应增加^[1]。CIN发展为原位癌、浸润癌的风险分别是正常人群的20倍和7倍^[2]。宫颈浸润癌的高发年龄为50~55岁,是绝经后妇女的发病高峰期^[3]。宫颈细胞由非典型性发育异常向宫颈癌转变过程中几乎都伴有3号染色体长臂扩增,其中涉及的最重要的基因可能是人类染色体末端酶(human telomerase RNA component, hTERC)基因,其有望成为非典型细胞癌变的基因^[4]。本文研究通过比较各宫颈糜烂组不同病理分级的阳性率及检测hTERC基因的表达情况,探讨绝经后妇女宫颈糜烂的组织学特点及hTERC基因在宫颈糜烂组织中的表达及临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料 随机抽取2015年2月至2015年8月于我院就诊的肉眼观为宫颈糜烂的患者60例,按照《妇产科学》第七版诊断标准^[5]将宫颈糜烂患者分为轻度糜烂组(19例)、中度糜烂组(23例)、重度糜烂组(18例)。同期选取40例宫颈光滑者为对照组,所有研究对象均签署知情同意后接受宫颈活检。所有对象年龄50~65岁,中位年龄53.5岁,均有性生活史,子宫和双侧附件均正常,排除有阴道炎性病变、宫颈充血、宫颈息肉、囊肿、宫颈举摆痛、性交后出血者。

1.2 主要仪器与试剂 hTERC/CSP3DNA双色荧光探针(购自北京金菩嘉医疗科技有限公司)。hTERC DNA探针作为检测探针,杂交到3号染色体长臂3q26.3,荧光信号为红色(四甲基罗丹明);CSP3 DNA作为对照探针,杂交到3号染色体着丝粒(3p11.1-q11.1),荧光信号为绿色(细胞绿)。

1.3 方法

1.3.1 组织病理学检查 采用光学电子阴道镜对全

部受检对象进行阴道镜下活检^[6]。10%中性福尔马林固定组织。送病理科做切片、HE染色后做出组织学诊断。

1.3.2 荧光原位杂交技术 (fluorescence in situ hybridisation, FISH)检测hTERC基因表达 宫颈组织蜡块标本,用FISH技术检测hTERC基因表达。按照FISH检测试剂盒说明书操作。每个样本观察100个细胞,计数其中hTERC基因阳性表达细胞数目和信号模式,绘制受试者工作特征曲线,确定宫颈糜烂组织hTERC基因的阳性界值。本实验宫颈活检组织hTERC基因的阳性临界值为11%,如图1所示,超过此阈值为标本hTERC基因表达阳性。

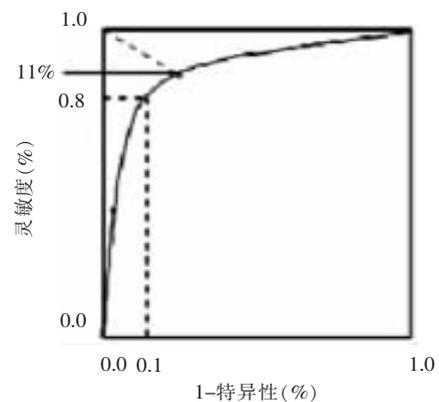


图1 hTERC基因诊断

宫颈糜烂的受试者工作特征曲线

1.4 统计学处理 采用SPSS 17.0统计软件对数据进行统计学分析。计数资料采用百分率表示,计数资料的比较采用 χ^2 检验;hTERC基因与宫颈癌糜烂程度的相关性采用Spearman相关性分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各宫颈糜烂组不同病理分级的阳性率结果比较 按照宫颈活检及组织病理学检测结果,可分为正常、宫颈炎、CIN I、CIN II、CIN III及宫颈癌。由表1可见,随着宫颈糜烂程度的加重,CIN III及宫颈癌阳性率呈逐渐升高趋势,各组间不同病理分级的阳

表1 各宫颈糜烂组不同病理分级的阳性率结果比较[n(%)]

组别	例数	正常、宫颈炎	CIN I级	CIN II级	CIN III级	宫颈癌
对照组	40	12(30.00)	13(32.50)	10(25.00)	4(10.00)	1(2.50)
轻度糜烂组	19	4(21.05)	6(31.58)	4(21.05)	3(15.79)	2(10.53)
中度糜烂组	23	2(8.70)	4(17.39)	7(30.43)	6(26.07)	5(21.74)
重度糜烂组	18	1(5.56)	2(11.11)	3(16.67)	5(27.78)	7(38.89)
χ^2 值	-	0.145	0.176	0.243	0.149	0.183
P值	-	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

性率差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

2.2 宫颈活检组织 hTERC 基因表达情况 单个间期细胞核中红色及绿色信号各 2 个为正常细胞,单个间期细胞核中绿色信号不少于 2 个、红色信号多于 2 个为 hTERC 基因阳性表达细胞。宫颈糜烂组与对照组宫颈活检组织标本与 hTERC/CSP3DNA 双色荧光探针杂交后,均可清晰的看到红色及绿色的探针杂交信号亮点,见图 2、3。

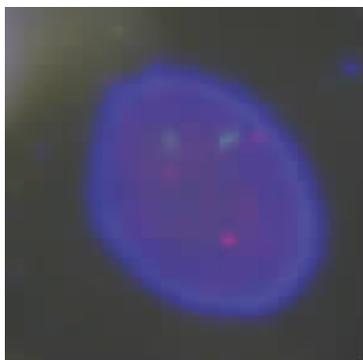


图 2 hTERC 基因阳性表达细胞

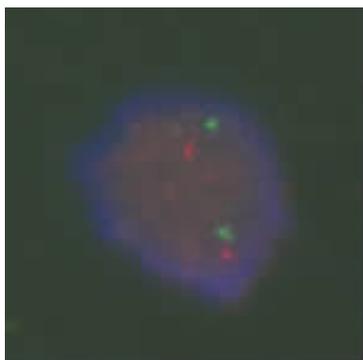


图 3 正常细胞

2.3 宫颈糜烂组织 hTERC 基因的阳性表达率结果 在 100 例受检者中,56 例 hTERC 基因扩增阳性,阳性表达率为 56.00%(56/100)。在对照组、轻度糜烂组、中度糜烂组及重度糜烂组 hTERC 基因的阳性表达率分别为 10.00%(4/40)、68.42%(13/19)、91.30%(21/23)及 100.00%(18/18),四组间比较差异具有统计学意义($\chi^2=41.283, P<0.05$),见表 2。

2.4 hTERC 基因与宫颈糜烂严重程度的相关性分析 Spearman 相关性分析结果显示,宫颈活检组织

中 hTERC 基因与宫颈糜烂有较好的相关性,相关系数 r 为 0.936($P=0.000$)。

2.5 hTERC 基因诊断宫颈糜烂的灵敏度及特异性 宫颈活检组织中 hTERC 基因对宫颈糜烂的诊断性能较好,其灵敏度及特异性分别为 87.03%和 83.33%。

3 讨论

宫颈糜烂是妇科临床工作中最常用的诊断术语,以往一直被认为是慢性宫颈炎最常见的病理类型。随着阴道镜及病理学的发展,人们逐渐认识到“宫颈糜烂”的形成是因卵巢分泌的雌激素使原始鳞-柱交界外移至宫颈阴道部所致,由于肉眼观似糜烂,过去称为宫颈糜烂,而非病理学中上皮脱落的真性糜烂。妇女绝经后雌激素水平下降,宫颈萎缩,原始鳞-柱交接部退回至宫颈管内,绝经后妇女应表现为光滑的宫颈,然而在临床工作中经常会发现绝经后妇女仍存在“宫颈糜烂”。由于对宫颈糜烂认识上的不同,对宫颈糜烂的治疗国内外存在不同的观念。国外学者主张对宫颈糜烂无临床症状者不须治疗,仅做细胞学筛查,若细胞学异常,则根据细胞学检测结果进行相应处理。国内部分学者认为,宫颈柱状上皮抵抗力低,病原体易进入发生炎症,采用各种治疗方法破坏异位的柱状上皮,使宫颈阴道部全部被新生的鳞状上皮所覆盖,减少异常化生及感染的机会,以减少宫颈癌的发生。因宫颈糜烂的发生与宫颈癌形成机制不明,虽然宫颈内膜外移是诱发感染的危险因素,但是到底是先有宫颈内膜外移后诱发感染、恶变,还是先有感染后诱发宫颈内膜外移,目前尚无定论,也未见相关报道。

本文研究结果显示,随着糜烂程度的加重, CIN III 及宫颈癌的阳性率呈逐渐升高的趋势,各组间不同病理分级的阳性率差异均有统计学意义(P 均 <0.05),进一步表明绝经后妇女的宫颈糜烂程度与 CIN 及宫颈癌的发生有关,宫颈糜烂程度越重,发展为宫颈癌的可能性越大。但本文研究中有 1 例宫颈光滑的患者也检出宫颈癌,提示对于绝经期妇女,肉眼观正常亦不能排除宫颈癌的发生,对于高危

表 2 宫颈糜烂组织 hTERC 基因的阳性表达率结果[n(%)]

组别	例数	正常、宫颈炎	CIN I 级	CIN II 级	CIN III 级	宫颈癌	总阳性率
对照组	40	0(0.00)	0(0.00)	1(2.50)	2(5.00)	1(2.50)	4(10.00)
轻度糜烂组	19	2(10.53)	4(21.05)	3(15.79)	2(10.53)	2(10.53)	13(68.42)
中度糜烂组	23	2(8.70)	3(13.04)	6(26.09)	5(21.74)	5(21.74)	21(91.30)
重度糜烂组	18	1(5.56)	2(11.11)	3(16.67)	5(27.78)	7(38.89)	18(100.00)

人群,应进一步做宫颈脱落细胞学检查或组织病理学检查以排除诊断。

早在 1914 年 Boveri 就提出染色体异常是肿瘤发生的基础。近年来,美国 NIH 针对宫颈癌的研究表明,宫颈细胞由非典型性发育异常向宫颈癌转变的过程中,几乎都伴有 3 号染色体长臂扩增^[6]。其中,涉及到的最重要的基因是 hTERT 基因,位于 3q26.3。该基因为端粒酶的重要组成部分。有研究^[7]证明,单一外源性 TERC 就能增强细胞的增殖潜能及端粒酶的活性,并延长端粒的长度,所以说 hTERT 基因在端粒酶活性的上调中起着重要作用。端粒酶的激活与细胞的增殖有关,是许多肿瘤发生的必经之路,是宫颈癌形成的早期事件。另有学者研究^[8]认为,hTERT 基因的检测可以作为宫颈癌的遗传学诊断手段,对 hTERT 基因扩增的检测有助于宫颈癌的筛查及早期诊断。本文应用 FISH 技术检测宫颈糜烂活检组织中 hTERT 基因的表达,结果显示,在 100 例受检者中,56 例 hTERT 基因扩增阳性,阳性表达率为 56.00%(56/100)。在对照组及宫颈糜烂各组患者中均可见到 hTERT 基因的阳性表达,在对照组、轻度糜烂组、中度糜烂组以及重度糜烂组中 hTERT 基因的阳性表达率分别为 10.00%(4/40)、68.42%(13/19)、91.30%(21/23)及 100.00%(18/18),呈逐渐升高的趋势,且四组间比较差异具有统计学意义($\chi^2=41.283, P<0.05$),提示随着宫颈糜烂程度的加重,hTERT 基因的阳性表达率逐渐升高,18 例重度宫颈糜烂患者均有 hTERT 基因的阳性表达,说明 hTERT 基因的阳性表达率与宫颈病变的严重程度相关。本文研究对 hTERT 基因的表达与宫颈糜烂程度的相关性分析结果显示,二者的相关系数 r 为 0.936($P=0.000$),进一步验证了宫颈糜烂严重程度与 hTERT 基因的表达相关。说明 hTERT 基因的表达水平可用于宫颈糜烂及 CIN 的辅助诊断,与相关研究^[8]报道一致。

FISH 技术检测宫颈糜烂活检组织 hTERT 基因的扩增对宫颈癌的辅助诊断具有较高的敏感性及特异性,Heselmeyer-Haddad 等^[9]报道其敏感性为 92%,特异性为 91%。本文研究结果显示,宫颈活检组织中 hTERT 基因阳性表达诊断宫颈糜烂的灵敏度及特异性分别为 87.03%和 83.33%,略低于上述研究结果,推测可能与标本采集、制作,试剂选择及地域差异有关。但足以说明 hTERT 基因阳性表达对宫颈糜烂有较好的诊断价值。

宫颈癌是目前唯一可早期发现并可预防的妇科

恶性肿瘤,绝经后妇女是该病发病的高危人群。据研究^[10]显示,绝经后宫颈癌发病占宫颈癌发病总数的 30%。宫颈糜烂是妇科常见病、多发病,且有发展为宫颈癌的可能,对于绝经后宫颈糜烂患者尤其要加强重视,宫颈糜烂程度越高,发展为 CIN 及宫颈癌的可能性越大。本文研究结果表明 hTERT 基因阳性表达与宫颈糜烂程度呈正相关,可用于 CIN 及宫颈癌的辅助诊断,对绝经后妇女宫颈糜烂的早期筛查、早期诊断有较好的临床应用价值。

4 参考文献

- 1 张金芝,李淑敏,董元焕,等.绝经后妇女宫颈糜烂样表现防癌筛查的临床意义.天津医药,2012,40:1068-1070.
- 2 Siebers AG, Massuger LF, Bulten J. Referral compliance, outcome and predictors of CIN after repeated borderline cervical smears in the Netherlands. Cytopathology, 2007, 18: 96-104.
- 3 Nancy P, Caraway AK, Marilyn D, et al. Gain of the 3q26 region in cervicovaginal liquid-based pap preparations is associated with squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinoma. Gynecologic Oncology, 2012, 110: 37-42.
- 4 Heselmeyer-Haddad K, Janz V, Castle PE, et al. Detection of genomic amplification of the human telomerase gene (TERT) in cytologic specimens as a genetic test for the diagnosis of cervical dysplasia. Am J of Pathol, 2013, 163: 1406-1416.
- 5 乐杰,主编.妇产科学.第 7 版.北京:人民卫生出版社,2008,92-99.
- 6 Naravan G, Bourdon V, Chaganti S, et al. Gene dosage alterations revealed by cDNA microarray analysis in cervical cancer: identification of candidate amplified and overexpressed genes. Genes Chromosomes Cancer, 2007, 46: 373-384.
- 7 Li Y, Ye F, Lu WG, et al. Detection of human telomerase RNA gene in cervical cancer and precancerous lesions: comparison with cytological and human papillomavirus DNA test findings. Int J Gynecol Cancer, 2010, 20: 631-637.
- 8 Kloth JN, Oosting J, Van W, et al. Combined array comparative genomic hybridization and single nucleotide polymorphism loss of heterozygosity analysis reveals complex genetic alterations in cervical cancer. BMC Genomics, 2007, 8: 53-66.
- 9 Heselmeyer-Haddad K, Sommerfeld K, White NM, et al. Genomic amplification of the human telomerase gene (TERT) in pap smears predicts the development of cervical cancer. Am J Pathol, 2005, 166: 1229-1238.
- 10 沈铿,郎景和,主编.妇科肿瘤面临的问题和挑战.第 1 版.北京:人民卫生出版社,2002,37-43.

(收稿日期:2016-02-25)

(本文编辑:李霏)