

• 肿 瘤 •

TSHR、HPV16 E6 蛋白在老年宫颈癌组织中表达及与疾病发生发展的关系

张娟¹ 李娜娜² 陈蕊³ 李国浩⁴ 沈承承⁵ 王鸿雁⁶

(济南市妇幼保健院 1 妇产科,山东 济南 250000; 2 产科病房; 3 山东省卫生健康宣传教育中心健康促进科; 4 山东省精神卫生中心儿童青少年二病区; 5 济南市妇幼保健院妇科; 6 山东大学)

〔摘要〕 目的 检测宫颈癌组织中促甲状腺激素受体(TSHR)和人乳头瘤病毒(HPV)16 E6蛋白表达情况,并分析其与宫颈癌发生发展的关系。方法 手术切除的宫颈鳞癌组织标本102例为研究组,收集宫颈炎组织标本100例为对照组,利用免疫组织化学链霉菌抗生物素过氧化物酶(SP)法检测所有受试者宫颈组织TSHR和HPV16 E6蛋白表达情况。结果 研究组HPV16 E6蛋白阳性率、TSHR蛋白阳性率均显著高于对照组($P < 0.05$); TSHR蛋白表达与宫颈癌患者年龄、临床分期、肿瘤体积及淋巴结转移无关($P > 0.05$); 肿瘤分化程度越高,TSHR阳性率越高($P < 0.05$); HPV16 E6蛋白表达与TSHR表达情况呈明显正相关($P < 0.05$); TSHR阳性表达患者3年总生存率显著低于TSHR阴性表达者($P < 0.05$); 肿瘤体积、淋巴结转移、TSHR阳性表达是影响患者预后的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 HPV16 E6蛋白与病情进展无关,TSHR蛋白表达与宫颈癌进展有关,二者共同影响患者预后。

〔关键词〕 人乳头瘤病毒-16 E6蛋白; 促甲状腺激素受体; 宫颈癌

〔中图分类号〕 R737.33 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 1005-9202(2021)05-0963-04; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2021.05.021

宫颈癌是女性最常见的生殖道恶性肿瘤之一,近年来年轻患者的发病率持续上升,严重影响女性的健康^[1]。宫颈癌的发生及治疗越来越受重视,其发病是多种因素综合作用的结果,与早婚、早育、多产、病毒感染有关。随着分子病毒学发展,有研究发现,人乳头瘤病毒(HPV)是引起宫颈癌的重要致病因子^[2]。其中HPV16 E6基因能编码具有转化活性的原癌蛋白质,可诱发强烈的T细胞效应,对宫颈癌病变至关重要^[3]。按与癌症发生的关系将HPV分为低危型、中危型和高危型,E6、E7作为HPV16主要的致癌基因,可使抑癌基因失活,激活原癌基因,破坏细胞周期,导致细胞增殖和凋亡失调,导致肿瘤形成^[3]。促甲状腺激素受体(TSHR)是调控甲状腺细胞生长、分化的主要受体,在肺癌、结肠癌、前列腺癌等肿瘤组织中高表达^[4]。已有研究表明,TSHR和HPV16可能在宫颈癌发生中起协同作用,共同参与疾病发生发展。目前关于其在宫颈癌组织中表达情况的相关研究还较少,本研究通过检测宫颈癌肿瘤组织HPV16 E6蛋白及TSHR蛋白表达情况,旨在探讨其与宫颈癌发生发展的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集2013年12月至2015年6月济南市妇幼保健院手术切除的宫颈癌组织标本102例为研究组,平均年龄(68.69±5.48)岁,病理标本均经病理科确诊为鳞癌组织。纳入标准:①诊断符合国际妇产科联合会(FIGO)分类标准和世界卫生组织(WHO)分级标准^[5]的鳞状宫颈癌患者;②患者术前未接受放射治疗、化疗及生物免疫治疗;③患者及家属签署知情同意书。排除严重肝、肾疾病、糖尿病患者。收集宫颈炎组织标本100例为对照组,平均年龄(67.52±4.68)岁。两组年龄无统计学差异($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 所有宫颈组织于离体后30 min内取材,-80℃保存。

1.2.2 HPV16 E6蛋白及TSHR蛋白表达情况检测

利用免疫组织化学链霉菌抗生物素过氧化物酶(SP)法检测所有受试者宫颈组织TSHR和HPV16 E6蛋白表达情况,SP试剂盒及显色剂均购自北京中山生物技术有限公司,操作步骤按试剂盒要求进行,HPV16 E6蛋白阳性对照为试剂盒中HPV16 E6蛋白阳性模板的宫颈鳞癌组织切片,阴性对照为正常宫颈组织;TSHR用磷酸盐缓冲液代替一抗做空白对照。HPV16 E6蛋白阳性表达定义为细胞质内出现棕黄色颗粒,TSHR阳性表达定义为细胞膜或细胞质出现棕黄色颗粒;组织切片由2名经验病理

基金项目:国家自然科学基金(81502238)

通信作者:沈承承(1987-),女,硕士,主要从事妇科研究。

第一作者:张娟(1988-),女,硕士,住院医师,主要从事妇产科学研究。

科医师采用双盲法阅片,染色学评分:高倍镜下随机选择 5 个视野,每个视野计数 200 个细胞,其中阳性细胞率: >75% 评分 3 分,26% ~ 75% 评分 2 分,5% ~ 25% 评分为 1 分,<5% 评分 0 分。评分 1 分以上为阳性表达。

1.3 统计学分析 采用 SPSS20.0 软件进行 χ^2 检验、Spearman 相关分析、Kaplan-Meier 法、Log-Rank 检验、COX 回归分析。

2 结果

2.1 两组 HPV16 E6 蛋白与 TSHR 蛋白表达情况比较 宫颈癌组织中 HPV16 E6 蛋白 (66.67% (68/102)) 与 TSHR 蛋白表达阳性率 (68.63% (70/102)) 均显著高于对照组 (20.00% (20/100) 和 27.00% (27/100), $P < 0.05$)。见图 1 表 1。

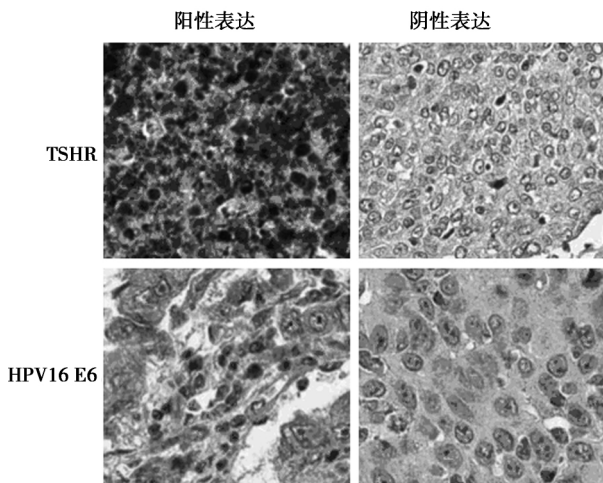


图 1 宫颈癌组织中 HPV16 E6 蛋白与 TSHR 蛋白表达情况 (SP 法, $\times 200$)

表 1 不同特征宫颈癌患者肿瘤组织 HPV16 E6 蛋白及 TSHR 蛋白阳性表达比较 (n)

特征	n	HPV16 E6 蛋白	χ^2/P 值	TSHR	χ^2/P 值	
年龄(岁)	≤75	73	46	1.018/0.313	51	0.036/0.849
	>75	29	22	7	19	
临床分期	< II 期	72	48	0.053/0.818	50	0.002/0.967
	≥ II 期	30	20		20	
肿瘤分化	低分化	43	33	2.659/0.103	30	4.197/0.040
	中高分化	59	35		40	
肿瘤体积 (cm ³)	≥4	28	23	3.255/0.071	23	1.686/0.194
	<4	74	45		47	
淋巴结转移	有	17	15	3.185/0.074	8	3.288/0.070
	无	85	53		62	

2.2 宫颈癌患者肿瘤组织 HPV16 E6 蛋白及 TSHR 蛋白表达与临床资料比较 HPV16 E6 阳性表达与

宫颈癌患者年龄、临床分期、病理分级、肿瘤体积及淋巴结转移无关 ($P > 0.05$); TSHR 阳性表达与宫颈癌患者年龄、临床分期、肿瘤体积及淋巴结转移无关 ($P > 0.05$); 肿瘤分化程度越高, TSHR 蛋白表达阳性率越高 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 宫颈癌患者肿瘤组织 HPV16 E6 蛋白、TSHR 表达相关性 HPV16 E6 蛋白阳性表达的 68 例宫颈癌患者中, TSHR 表达阳性为 59 例, 而 HPV 阴性表达的 34 例中, TSHR 表达阴性为 22 例, HPV16 E6 蛋白表达与 TSHR 表达情况明显正相关 ($r_s = 0.533$, $P = 0.002$)。

2.4 宫颈癌肿瘤组织 HPV16 E6 蛋白、TSHR 蛋白表达对患者 3 年存活情况的影响 整理随访资料发现, 术后 3 年, 共有 61 例 (40.20%) 患者幸存。Kaplan-Meier 生存分析表明, HPV16 E6 蛋白阳性表达患者 3 年总生存率为 55.88%, 与 HPV16 E6 蛋白阴性表达者 (67.65%) 无显著差异 ($\chi^2 = 1.791$, $P > 0.05$); TSHR 蛋白阳性表达患者 3 年总生存率为 51.429%, 显著低于 TSHR 阴性表达者 (78.125%; $\chi^2 = 6.315$, $P < 0.05$)。见图 2。

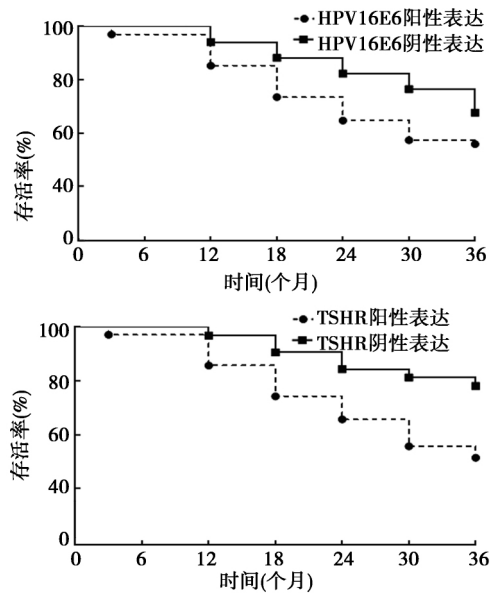


图 2 宫颈癌肿瘤组织 HPV16 E6 蛋白、TSHR 蛋白表达对患者 3 年存活情况的影响

2.5 影响宫颈癌患者预后危险因素分析 单因素分析显示, 肿瘤体积、淋巴结转移、TSHR 表达情况均是影响宫颈癌预后的危险因素。多因素分析表明, 肿瘤体积、淋巴结转移、TSHR 蛋白阳性表达是影响患者预后的独立危险因素 (均 $P < 0.05$)。见表 2。

表2 影响宫颈癌患者预后危险因素分析

变量	单因素分析			多因素分析		
	HR 值	95% CI	P 值	HR 值	95% CI	P 值
年龄 (>75 岁 vs ≤75 岁)	1.164	0.517 ~ 2.620	0.215	1.709	0.857 ~ 3.407	0.327
肿瘤体积 (≥4 cm ³ vs <4 cm ³)	3.063	1.835 ~ 5.113	0.012	2.729	1.292 ~ 5.765	0.023
淋巴结转移 (有 vs 无)	2.804	1.215 ~ 6.469	0.007	1.653	1.265 ~ 2.161	0.016
临床分期 (Ⅲ ~ Ⅳ vs Ⅰ ~ Ⅱ)	1.629	0.567 ~ 4.678	0.149	1.114	0.293 ~ 4.234	0.218
肿瘤分化 (中高分化 vs 低分化)	1.020	0.255 ~ 4.079	0.319	1.281	0.573 ~ 2.864	0.265
HPV16 E6 蛋白表达 (阳性 vs 阴性)	1.683	0.950 ~ 2.983	0.162	1.834	0.771 ~ 4.362	0.219
TSHR 表达 (阳性 vs 阴性)	3.061	1.747 ~ 5.362	0.028	1.533	1.153 ~ 2.039	0.021

3 讨论

宫颈癌在发展中国家发病率居高不下,在妇科恶性肿瘤中死亡率高居第2位,严重威胁女性健康^[6]。宫颈癌的发生、发展是正常宫颈上皮细胞由增生到癌变的极其复杂过程,由多种因素参与调控。大量研究表明,HPV感染与宫颈癌发生、发展关系密切,高危型HPV能在体内激活使端粒延长的端粒酶,诱导细胞永生^[7]。目前发现约有13种高危型HPV型,以HPV16最为常见,70%的宫颈癌与感染HPV16或HPV18相关^[8]。TSHR调控甲状腺细胞生长、分化,其水平异常可能与肿瘤发生有关。

HPV基因组为环状双链DNA,包括早期区、晚期区和长控制区,其中早期区维持基因复制、胞内病毒高拷贝数、编码病毒蛋白,含有E1、E2、E4、E6、E7共6个基因^[9]。HPV的致癌作用与HPV DNA整合有关,感染病毒后,宿主细胞与病毒核酸整合,整合后的DNA通过致癌基因E6、E7与细胞周期调控蛋白相互作用,干扰细胞周期调控,使细胞无限增殖,发展为癌细胞^[10]。有研究表明,感染高危型HPV的宫颈癌患者宫颈组织E6、E7编码的蛋白可上调端粒酶活性,导致未分化的上皮细胞永生^[11]。本研究结果表明感染HPV16 E6蛋白与宫颈癌发病密切相关,与上述研究结果一致。另有研究表明,HPV16编码的E6原癌蛋白可通过E6结合蛋白与抑癌基因蛋白p53结合,促进p53降解,有利于肿瘤生成、发展^[12,13]。HPV16致癌作用是一个复杂的过程,目前尚未完全清楚,有待进一步研究。本研究还提示HPV16感染可能只是宫颈癌的致癌启动因子,与病情进展及预后无显著相关性。

TSHR通过与促甲状腺激素(TSH)结合后调控甲状腺功能、促进甲状腺滤泡细胞的生长分化,是糖蛋白激素家族成员之一,在甲状腺细胞的增殖、代谢调控中起主导作用^[14]。TSH可通过细胞膜表面的TSHR刺激甲状腺激素合成和分泌,而甲状腺激素在维持女性正常生殖内分泌功能及性腺发育中起关键作用^[15]。TSHR蛋白在多种恶性肿瘤组织中高表

达,提示其过表达可能与肿瘤增殖分化有关^[16]。有研究发现,TSHR蛋白在甲状腺乳头状癌组织中高表达^[17,18]。本研究结果提示TSHR蛋白过表达与宫颈癌发生有关。TSHR蛋白阳性表达可反映患者预后不良,对TSHR阳性表达患者加强术后监测,改变治疗方案,可能避免不良预后。单因素分析结果表明TSHR蛋白阳性表达与宫颈癌的发生密切相关。Spearman相关分析显示,HPV16 E6蛋白与TSHR蛋白表达情况明显正相关,HPV16 E6蛋白作为HPV16病毒转录翻译的主要蛋白之一,一定程度可反映HPV16病毒感染情况,提示HPV16感染与TSHR蛋白表达协同作用,共同参与癌症发生和发展,影响患者预后,但其具体机制不清楚,尚有待研究。

4 参考文献

- 黄璇,张询. 宫颈癌预后相关分子标志物的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2016; 43(9): 806-810.
- Bosch FX, Robles C, Diaz M, et al. HPV-FASTER: broadening the scope for prevention of HPV-related cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2016; 13(2): 119-32.
- Volpi CC, Ciniselli CM, Gualeni AV, et al. In situ hybridization detection methods for HPV16 E6/E7 mRNA in identifying transcriptionally active HPV infection of oropharyngeal carcinoma: an updating[J]. Human Pathol, 2018; 4(74): 32-42.
- Slattery ML, Herrick JS, Mullany LE, et al. The co-regulatory networks of tumor suppressor genes, oncogenes, and miRNAs in colorectal cancer[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2017; 56(11): 769-87.
- 沈铿, 孙建衡, 曹泽毅, 等. 国际妇产科联盟妇科肿瘤2009年分期的临床意义研讨[J]. 中华妇产科杂志, 2010; 45(22): 15-6.
- 刘付东, 刘荣海, 孙晓凯, 等. 2011-2014年盐城市女性乳腺癌和宫颈癌流行趋势分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017; 24(16): 1109-12.
- 朱丽娟, 周树林, 江希萍. 重组人干扰素α2b联合洁悠神对宫颈持续HPV感染患者端粒酶与HPV16/18 E6蛋白表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2017; 27(25): 23-7.
- 韩钦, 郭红燕, 耿力. 宫颈癌机会性筛查人群中高危型HPV感染状况及其与宫颈病变关系的研究[J]. 实用妇产科杂志, 2018; 34(3): 194-7.
- 徐启英, 郭桂兰, 沙仁高娃. 人子宫颈癌基因在子宫颈上皮内瘤

变和子宫颈鳞癌中的表达及其与 HPV16 整合状态的关系 (J). 中国妇产科临床杂志 2016; 17(6): 505-7.

10 Basu P ,Banerjee D ,Mittal S *et al.* Sensitivity of APTIMA HPV E6/E7 mRNA test in comparison with hybrid capture 2 HPV DNA test for detection of high risk oncogenic human papillomavirus in 396 biopsy confirmed cervical cancers (J). *J Med Virol* 2016; 88(7): 1271-8.

11 简洁 杨嘉洁 李婉宜 等. 人乳头瘤病毒 16 型 E5 蛋白在宫颈癌中表达及其作用的研究进展 (J). 现代预防医学 2017; 44(5): 950-3.

12 Martinezzapien D ,Ruiz FX ,Poirson J *et al.* Structure of the E6/E6AP/p53 complex required for HPV-mediated degradation of p53 (J). *Nature* 2016; 529(7587): 541-5.

13 王庆西. 老年宫颈癌组织中人乳头状瘤病毒 16-E6、p53 mRNA 表达及其与放疗敏感性的相关性 (J). 中国老年学杂志 2017; 37(22): 5622-4.

14 马晓丹 毛晓健. 促甲状腺素受体基因与甲状腺功能亢进症相关性研究进展 (J). 中华实用儿科临床杂志 2016; 31(8): 634-7.

15 Shinderman-Maman E ,Chen W ,Moskovich D *et al.* Molecular insights into the transcriptional regulatory role of thyroid hormones in ovarian cancer (J). *Mol Carc* 2017; 57(1): 97-105.

16 Shih YL ,Huang YH ,Lin KH *et al.* Identification of functional thyroid stimulating hormone receptor and TSHR gene mutations in hepatocellular carcinoma (J). *Anticancer Res* 2018; 38(5): 2793-802.

17 王占龙 封凯. 甲状腺乳头状癌组织中 TSHR、NIS 基因启动子区甲基化状态与临床病理特征的关系 (J). 山东医药 2017; 57(34): 83-5.

18 Liu T R ,Su X ,Qiu W S *et al.* Thyroid-stimulating hormone receptor affects metastasis and prognosis in papillary thyroid carcinoma (J). *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2016; 20(17): 3582-91.

(2020-02-15 修回)
(编辑 杜娟)

低剂量氯丙嗪在老年晚期难治性癌痛患者中应用及安全性

杨影¹ 侯俊杰¹ 李孝男¹ 李晓男¹ 江显卓¹ 方艳秋¹ 倪志强¹ 周颖¹ 刘宁²

(1 吉林省人民医院, 吉林 长春 130021; 2 吉林省中医药科学院第一临床医院普外科)

〔摘要〕 目的 探讨低剂量氯丙嗪在老年晚期难治性癌痛患者中应用及安全性。方法 30 例老年患者为联合组,接受氯丙嗪片联合奥施康定(盐酸羟考酮缓释片)止痛治疗,同期临床特点相同的对照组 28 例,继续当前止痛治疗,两组出现爆发痛,均应用奥诺美(盐酸羟考酮胶囊)进行解救,之后将过去 24 h 羟考酮药物总剂量转化为奥施康定维持治疗,动态评估疗效及不良反应。比较两组数字分级法(NRS)评分,平均日使用奥施康定增加量,不良反应发生率及生活质量等。结果 联合组在治疗后 2 w 的 NRS 评分下降,平均日使用奥施康定增加量低于对照组。生活质量改善及药物起效时间较对照组缩短,有统计学差异($P < 0.01$);两组均出现嗜睡、恶心呕吐、排尿困难不良反应,差异有统计学差异($P < 0.01$);联合组口干 2 例(6.7%),对照组未出现;其余如便秘、体位性低血压等两组无显著性差异($P > 0.05$)。结论 氯丙嗪在难治性癌痛患者中应用安全,增加镇痛疗效,能减少羟考酮药物的应用,从而下调了羟考酮相关的不良反应。

〔关键词〕 氯丙嗪; 姑息性镇静; 癌痛

〔中图分类号〕 R73 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 1005-9202(2021)05-0966-03; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2021.05.022

由于难治性癌痛在肿瘤晚期机制复杂,常常受多因素影响,虽然针对病因的介入治疗有效,但仍有疼痛复发概率,另外出现难治性疼痛多为肿瘤终末期患者,机体条件很难坚持介入过程,也不能耐受介入治疗产生的神经不可逆的损伤。而内科治疗中,最佳镇痛药物如吗啡等强阿片类药物对难治性癌痛也不能有效控制。这部分患者,由于缺乏有效治疗

手段,往往长时间经历难以控制的重度疼痛,苦不堪言,不仅严重影响晚期癌症患者生活质量,还会对肾上腺皮质激素分泌产生影响,导致患者血压升高,心率增快,出现并发症,并且长期的疼痛会让患者产生焦虑、抑郁,甚至有自杀倾向。有效控制难治性癌痛,成为临床棘手问题^[1]。欧洲肿瘤内科学会癌痛治疗指南中指出,针对这一部分患者,可给予适当的姑息性镇静(PS)治疗^[2,3],PS 主要应用于肿瘤终末期患者,应用适当的镇静药物以降低患者意识达到缓解疼痛目的,并且不会影响患者生存期^[4,5]。由于镇静药物与强阿片类药物联合时镇静作用的叠加,能否使患者真正临床获益而备受争议,尤其老年患者,因机体各器官功能下降,耐受性较差等因素^[6],限制了临床应用。本研究针对 PS 药物氯丙嗪低剂量应用在老年

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20180414037GH, 20200201528JC); 吉林省生物治疗与基因诊断重点实验室建设专项(20122113); 吉林省卫健委项目(2017Q003 2020Z023 2020J109)

通信作者: 方艳秋(1968-),女,博士,教授,主要从事肿瘤免疫治疗研究。

第一作者: 杨影(1980-),女,硕士,主治医师,主要从事肿瘤靶向治疗研究。