

# p16INK4a 及其与宫颈癌前疾病关系的研究现状

刘旭利<sup>1</sup> 赵建武<sup>2\*</sup>

1. 四川天府新区人民医院 四川成都 610213

2. 贵州省人民医院妇科 贵州贵阳 550002

**摘要：**细胞周期调节的失控从而导致肿瘤细胞的无限增殖，这是最终导致肿瘤发生的一大原因。抑癌基因 p16 表达的 p16INK4a 是一种 CDK4/CDK6 抑制因子，通过影响 Rb 通路进而抑制细胞 DNA 合成，在细胞周期调控中有重要意义。本文就 P16INK4a 的结构、功能及其与宫颈癌前疾病关系做一综述。

**关键词：**p16INK4a；液基薄层细胞学检查；高危型人乳头瘤病毒检测；宫颈上皮内瘤变

宫颈癌是我国女性常见的恶性肿瘤之一。近年来宫颈癌的发病率和死亡率逐年上升，呈年轻化的趋势。众所周知，宫颈癌发病的主要原因是 HPV 的持续性感染，是公认的可早期发现并预防的恶性肿瘤。2020 年 11 月世界卫生组织（WHO）正式启动“加速消除宫颈癌全球战略”，提出到 2030 年实现“90-70-90”的目标，最终到本世纪末实现全球宫颈癌发病率降低至 4/10 万以下的宫颈癌消除<sup>[1]</sup>。但很少有人能实现“90-70-90”的目标，因此早期发现宫颈癌前病变并预测其癌变风险，提供恰当的临床指导仍是目前解决宫颈癌这一卫生难题的重要突破点。目前我国临床上常用的筛查方案有液基薄层细胞学检查（Thinprep cytologic test, TCT）、高危型人乳头瘤病毒（high risk human papillomavirus, HR-HPV）检测、TCT 联合 HR-HPV 筛查。TCT 的结果判读有一定主观性，对专业技术人才依赖性强，在欠发达地区难以展开大范围的筛查。HR-HPV 的敏感性强，特异性低，且难以辨别患者是一过性还是持续性 HPV 感染的状态，这易造成感染者焦虑紧张心理。目前认为 TCT 联合 HR-HPV 筛查是最佳的筛查方案，但难以在欠发达地区实现大范围高质量的宫颈癌筛查，因此因地制宜寻找一种简单快速、成本低且兼具高敏感度及高特异度的筛查方法迫在眉睫。近年来，随着分子生物学的发展，P16INK4a 被广泛证明与肿瘤发生发展密切相关，其相关指标在肿瘤诊断、治疗及预后中也发挥着重要作用，本文简要综述了 P16INK4a 的结构、功能及其与宫颈癌前疾病的关系。

## 1 p16INK4a 的结构

1993 年，Serrano 等人<sup>[2]</sup>在研究细胞周期素依赖激

酶 4（CDK4）相关蛋白时，首次发现 CDK4 的抑制因子 p16INK4a 蛋白，并克隆了 p16INK4a 的 cDNA。1994 年，Kamb A<sup>[3]</sup>等人发现 p16INK4a 位于第 9 号染色体短臂 2 区 1 带（9p21），包括三个外显子和两个内含子，共同编码一种相对分子量约为 16kd 的蛋白质，又称 p16INK4a 蛋白。

## 2 p16INK4a 的功能

p16INK4a 基因通过 cyclinD-CDK4/6-pRb-转录因子（transcription 2 factor, E2F）途径影响细胞周期。cyclinD-CDK4/6-pRb-E2F 是真核细胞 DNA 合成前期（G1 期）到 DNA 合成期（S 期）的一条重要途径，cyclin D1 与 CDK4/6 结合后导致视网膜神经母细胞瘤蛋白（Rb）磷酸化，磷酸化的 Rb 与 E2F 分离，游离的 E2F 进入细胞核内，使细胞从 G1 期进入 S 期。p16INK4a 基因编码的 p16INK4a 蛋白通过竞争性结合 CDK4/CDK6 影响 Rb 的磷酸化，抑制 E2F 依赖性基因的转录，从而阻止细胞从 G1 期进入 S 期，进而抑制细胞的过度增殖，防止恶性肿瘤的发生<sup>[4]</sup>。p16INK4a 基因是一种多肿瘤抑制基因（multiple tumor suppressor, MTS1），一方面，其基因的缺失及突变会造成细胞的过度增殖从而导致肿瘤的发生。另一方面，失活的 Rb 会释放出 E2F，这会促进细胞的增殖，同时，游离的 E2F 会负反馈的增加 p16INK4a 的表达来限制 Rb 的进一步失活，形成了 p16-pRb 负反馈系统<sup>[5]</sup>。p16INK4a 基因的过表达在宫颈病变组织中却普遍存在，这一现象可能与 p16-pRb 负反馈系统的存在有关。

## 3 p16INK4a 在宫颈癌前疾病中的研究进展

### 3.1 p16INK4a 与 HPV 感染

80% 的女性一生中会感染 HPV，90% 的患者在 2 年内

通过人体免疫反应可消除,部分可发展为持续性 HPV 感染。宫颈癌的发生与持续 HPV 感染密切相关, HPV 持续感染后将 E6/E7 DNA 整合至宫颈上皮细胞基因,通过宿主细胞转录出 E6/E7 mRNA,进一步翻译出癌蛋白 E6/E7 DNA,癌蛋白 E7 蛋白通过与 E2F 竞争性结合 pRb,功能失活的 Rb 释放出游离的 E2F,游离的 E2F 增多,从而导致细胞增殖失控,又负反馈的引起 p16INK4a 表达上调。因此 p16INK4a 蛋白过度表达预示着 HPV 持续感染后病毒基因整合至宿主细胞,最终造成细胞增殖失控,可作为 HPV E6/E7 蛋白活性的替代物。p16INK4a 表达的阳性程度越高,HPV 感染的发生率越大。HPV 检测被广泛用于宫颈癌的初筛,但其特异度较低,因此 HPV 初筛后高质量的二次分流对于提高宫颈高级别病变检出特异度及减少阴道镜转诊率至关重要。兰晓卉<sup>[6]</sup>等人发现,在其余 12 种 HPV 阳性人群分流中,p16INK4a 免疫细胞化学染色法的特异度优于 TCT。通过检测细胞 p16INK4a 蛋白表达情况可对 HPV 感染患者进一步分流,减少 HPV 感染者的焦虑情绪及对 HPV 感染者的过度诊疗。

### 3.2 p16INK4a 与 TCT 检查

TCT 通过细胞涂片观察细胞形态以判断病变程度,是目前主要的宫颈癌筛查方法之一。TCT 易受主观因素影响,尤其是对意义不明确的非典型鳞状细胞 (atypical squamous cell of undetermined significance, ASC-US) 的诊断。国外一项荟萃分析表明,单独使用 TCT 的灵敏度在 62.5% ~ 72.9%,仍不理想<sup>[7]</sup>。肿瘤的发生与抑癌基因的失活及突变密切相关,且基因层面的变化要远早于细胞形态学层面的变化。因此,p16INK4a 蛋白作为抑癌基因 p16INK4a 的产物,是一种可更早发现宫颈癌前病变的生物标志物。Tsoumpou I<sup>[8]</sup>研究发现,p16INK4a 蛋白阳性表达情况与 TCT 结果严重程度呈正相关关系。叶洪楠<sup>[9]</sup>等人研究发现,在 ASC-US 的分流方法中,p16INK4a 免疫细胞化学染色比高危型 HPV 拥有更高特异度,为 TCT 中的 ASC-US 提供了有效的分流管理策略,避免了漏诊或不必要的医疗干预。

### 3.3 p16INK4a 在宫颈癌前疾病的诊断及预后价值

经组织病理学诊断的 LSIL/CIN I 是 HPV 一过性感染的表现,大多可自然消退或不再进展。HSIL 包括 CIN II 及 CIN III。研究发现,CIN III 如果不予以处理,平均 13 年有 23% 的几率进展为宫颈癌,是目前临床上宫颈癌前病变干

预的主要人群,但组织形态及风险介于 CIN I 和 CIN III 之间的 CIN II 患者的管理一直存在争议<sup>[10]</sup>。因此有效的筛查及预测其癌变风险指标对后续的临床诊疗有重要的意义。研究发现,p16INK4a 蛋白在宫颈病变组织中表现出过度表达的状态,其表达的情况与宫颈病变的严重程度呈正相关关系,且对于疾病未来继续进展的风险有较高的预测价值<sup>[11]</sup>。Zhao F<sup>[12]</sup>等人在分析评价不同宫颈筛查方法临床应用价值时发现,单项评价时,P16 检测 HSIL+ 的灵敏度及特异度最高,TCT 的灵敏度最低。联合筛查时,P16+HPV 联合筛查检出 HSIL+ 的灵敏度最高,P16+TCT 联合筛查特异度最高,可见不论是单项筛查或是联合筛查 P16 检查对识别 HSIL+ 都更有价值。目前临床上病理学家可用 p16INK4a 免疫组化染色法辅助 CIN II 诊断,阴性者为 LSIL,阳性者为 HSIL,可明显提高 HSIL 的诊断率,避免不必要的有创干预,为后续临床诊疗提供重要依据<sup>[13]</sup>。黄丽萍<sup>[14]</sup>等人研究表明,p16INK4a 蛋白阳性的 CIN II 患者疾病进展情况是 p16INK4a 蛋白阴性的 CIN II 患者的 4.79 倍。刘静云<sup>[15]</sup>等人通过建立蛋白复发预测模型发现,p16INK4a 高表达是 CIN II-III 锥切术后患者复发的独立危险因素,其预测复发的灵敏度和特异度分别为 71.4% 和 84%。

## 4 结语及展望

p16INK4a 蛋白作为抑癌基因产物,可间接反应 HPV 感染后细胞基因整合致病的状态,可作为 HPV 的特异度较高的替代物,亦可作为预测疾病进展的一个重要指标,具有巨大前景。p16INK4a 免疫细胞化学染色作为新一代宫颈癌筛查方案,具有价格低廉、方便快捷、结果易判读、客观性强及高特异度、敏感度等特点,有望改变目前的宫颈癌筛查格局,为实现加速消除宫颈癌全球战略提供另一方案。

### 参考文献:

- [1] World Health Organization. Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem [EB/OL]. [2020.11.17]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240014107>.
- [2] Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature*. 1993 Dec 16;366(6456):704-707.
- [3] Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor

types. *Science*. 1994 Apr 15;264(5157):436-440.

[4] Guo T, Chai X, Liu Q, et al. Downregulation of P16 promotes cigarette smoke extract-induced vascular smooth muscle cell proliferation via preventing G1/S phase transition. *Exp Ther Med*. 2017 Jul;14(1):214-220.

[5] Tam SW, Shay JW, Pagano M. Differential expression and cell cycle regulation of the cyclin-dependent kinase 4 inhibitor p16Ink4. *Cancer Res*. 1994 Nov 15;54(22):5816-5820.

[6] 兰晓卉, 杨琦, 邹颖刚, 等. p16INK4a 免疫细胞化学染色对不同基因型 HPV 感染者的分流价值 [J]. *吉林大学学报 (医学版)*, 2021,47(2):421-429.

[7] Koliopoulos G, Nyaga VN, Santesso N, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Aug 10;8(8):CD008587.

[8] Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, et al. p16(INK4a) immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*. 2009 May;35(3):210-220.

[9] 叶洪楠, 游珂, 郭艳利, 等. P16INK4a 及 Ki-67 免疫细胞化学检测对 ASC-US 中高级别病变检出的意义 [J]. *肿瘤预防与治疗*, 2014,27(1):6-11.

[10] Gustafsson L, Adami HO. Natural history of cervical neoplasia: consistent results obtained by an identification technique. *Br J Cancer*. 1989 Jul;60(1):132-141.

[11] Zuberi Z, Mremi A, Chilongola JO, et al. Expression analysis of p16 and TOP2A protein biomarkers in cervical cancer lesions and their correlation with clinico-histopathological characteristics in a referral hospital, Tanzania. *PLoS One*. 2021 Oct 27;16(10): e0259096.

[12] Zhao F, Ma D, Wang T, et al. The Application of Liquid-Based Cytological Detection for P16, Cytologic Evaluation and High-Risk Human Papillomavirus Testing in Cervical Cancer Screening: A Clinical Evaluation. *Int J Womens Health*. 2022 Jul 28; 14:965-973.

[13] Wright Thomas C, Stoler Mark H, Ferenczy Alex, et al. The CERTAIN Study Results: Adjunctive p16 Immunohistochemistry Use in Cervical Biopsies According to LAST Criteria. *The American journal of surgical pathology*, 2021,45(10).

[14] 黄丽萍, 林霞. P16 蛋白表达在分流宫颈上皮内瘤变 II 中的临床意义 [J]. *中国医药导报*, 2018,15(02):83-86.

[15] 刘静云, 吕志红, 徐芳, 等. 微管蛋白及 P16 蛋白在宫颈上皮内瘤变 II ~ III 级患者宫颈环形电切术后复发预测模型的应用分析. *中国医学装备*, 2022,19(6):101-105.

#### 作者简介:

刘旭利 (1996—), 女, 汉族, 研究生学历, 妇科肿瘤。

通讯作者: 赵建武, 男, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 妇科肿瘤。