

妇癌专题

· 临床研究 ·

人乳头瘤病毒 E6/E7 mRNA 及 p16/Ki-67 蛋白共表达在不同级别宫颈病变中的临床意义*

郭珍, 赵冬梅, 贾漫漫, 郭沛沛, 吴泽妮, 陈佩佩, 孙星媛, 张韶凯[△]

450008 郑州, 郑州大学附属肿瘤医院/河南省肿瘤医院 中心实验室(郭珍), 病理科(赵冬梅), 妇瘤科(贾漫漫), 癌症中心办公室(陈佩佩、孙星媛、张韶凯); 450014 郑州, 郑州大学第二附属医院 生殖医学科(郭沛沛); 100021 北京, 国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院 流行病室(吴泽妮)

[摘要] 目的: 探讨人乳头瘤病毒 E6/E7 mRNA 及 p16/Ki-67 蛋白在不同级别宫颈病变中的表达情况。方法: 收集在郑州大学第二附属医院妇科门诊就诊的妇女 537 例, 采用 APTIMA human papillomavirus (HPV) 实验和 CINtec PLUS 技术分别检测 E6/E7 mRNA 及 p16/Ki-67 蛋白, 所有妇女均行阴道镜活检和病理学检查。结果: 537 例妇女的平均年龄为 43.88 ± 10.97 岁。HPV mRNA 和 p16/Ki-67 阳性率均随着病理诊断级别的升高而增加 ($P < 0.001$), HPV mRNA 和 p16/Ki-67 在病理正常人群中的阳性率分别为 19.1% 和 13.1%, 在宫颈鳞癌 (squamous cell carcinoma, SCC) 中的阳性率分别为 100.0% 和 97.7%。与在不同病理级别中的阳性率趋势基本一致, HPV mRNA 与 p16/Ki-67 的阳性率也随着细胞学结果的严重程度增加而升高 ($P < 0.001$)。HPV mRNA 和 p16/Ki-67 在细胞学正常人群中的阳性率分别为 18.6% 和 14.2%, 在宫颈 SCC 中的阳性率分别为 100.0% 和 93.5%。结论: HPV mRNA 与 p16/Ki-67 蛋白共表达与宫颈病变程度呈正相关, 或可通过监测患者 HPV mRNA 和 p16/Ki-67 表达水平有效评估宫颈病变状况。

[关键词] 人乳头瘤病毒; E6/E7 mRNA; p16/Ki-67; 宫颈病变

[中图分类号] R737.33 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2019.02.004

引文格式: Guo Z, Zhao DM, Jia MM, et al. Co-expression of human papilloma virus E6/E7 mRNA and p16/Ki-67 protein in different phases of cervical lesions [J]. J Cancer Control Treat, 2019, 32(2): 124-129. [郭珍, 赵冬梅, 贾漫漫, 等. 人乳头瘤病毒 E6/E7 mRNA 及 p16/Ki-67 蛋白共表达在不同级别宫颈病变中的临床意义[J]. 肿瘤预防与治疗, 2019, 32(2): 124-129.]

Co-expression of Human Papilloma Virus E6/E7 mRNA and p16/Ki-67 Protein in Different Phases of Cervical Lesions

Guo Zhen, Zhao Dongmei, Jia Manman, Guo Peipei, Wu Zeni, Chen Peipei, Sun Xingyuan, Zhang Shaokai

Central Laboratory (Guo Zhen), Department of Pathology (Zhao Dongmei), Department of Gynecological Oncology (Jia Manman), Department of Cancer Prevention and Control (Chen Peipei, Sun Xingyuan, Zhang Shaokai), Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University, Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, Henan, China; Department of Reproductive Medicine, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, Henan, China (Guo Peipei); Department of Epidemiology, Nation Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China (Wu Zeni)

Corresponding author: Zhang Shaokai, E-mail: shaokaizhang@126.com

[收稿日期] 2018-12-03 **[修回日期]** 2019-01-21

[基金项目] * 国家自然科学基金(编号:81502475), 河南省科技攻关计划项目(编号:172102310067)

[通讯作者] [△]张韶凯, E-mail: shaokaizhang@126.com

This study was supported by National Natural Science Foundation of China (NO. 81502475) and Key Project of Science and Technology in Henan Province (NO. 172102310067).

[Abstract] Objective: To explore the clinical significance of human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA and p16/Ki-67 protein in different phases of cervical lesions. **Methods:** A total of 537 women were enrolled in the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University. E6/E7 mRNA and p16/Ki-67 were detected by APTIMA HPV assay and CINTec PLUS technology, respectively. All admitted women underwent colposcopy biopsy and pathological examination. **Results:** The mean age of 537 women was 43.88 ± 10.97 . The positive rates of HPV mRNA and p16/Ki-67 increased as pathologic diagnosis progressed ($P < 0.001$). For normal people, the positive rates of HPV mRNA and p16/Ki-67 were 19.1% and 13.1%, respectively. As for those with squamous cell carcinoma (SCC) of the cervix, the positive rates were 100.0% and 97.7%, respectively. The positive rates of HPV mRNA and p16/Ki-67 also increased as cytological results worsened ($P < 0.001$). The positive rates of HPV mRNA and p16/Ki-67 were 18.6% and 14.2% in the normal group, and those in the SCC of the cervix group were 100% and 93.5%, respectively. **Conclusion:** The expression of HPV mRNA and p16/Ki-67 protein are positively correlated with cervical lesions. The condition of cervical lesions can be effectively assessed by monitoring the expression level of HPV mRNA and p16/Ki-67 protein.

[Key words] Human papilloma virus; E6/E7 mRNA; p16/Ki-67; Cervical lesions

子宫颈癌发病率在全世界女性恶性肿瘤中居第四位。全世界每年大约有 53 万宫颈癌新发病例, 27.5 万死亡病例, 其中约 85% 的病例发生在卫生资源有限的发展中国家^[1]。目前世界上公认, 高危型人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 持续感染是子宫颈癌发生发展的主要危险因素^[2-4], 这使得高危型 HPV 检测成为一种有效的子宫颈癌筛查技术。然而, 用于人群早期筛查的 HPV DNA 检测无法分辨一过性感染和可引起子宫颈病变的持续性感染, 导致其特异度和阳性预测值较低, 故用于预测子宫颈癌前病变转归能力不理想。因此, 寻找更加客观准确的筛查标志物, 以提高对子宫颈癌前病变的预测效果, 减少不必要的转诊和过度治疗, 已成为目前子宫颈癌筛查亟待解决的关键问题。在子宫颈癌进展过程中, 常伴随一些分子水平的变化, 通过对分子标志物的检测, 可以在癌变进程早期阶段起到预警作用。其中, HPV 致癌基因 E6/E7 mRNA 反映了病毒的致癌活性, 而 p16/Ki-67 蛋白在细胞周期调控中发挥重要作用。HPV E6/E7 mRNA 和 p16/Ki-67 蛋白能分别从基因和蛋白两个层面反映疾病的进展状况, 在子宫颈癌的早期筛查方面具有应用前景。本研究对 HPV E6/E7 mRNA 和 p16/Ki-67 蛋白在不同级别宫颈病变中的阳性率情况进行分析, 为子宫颈癌的早期诊断和治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择郑州大学第二附属医院妇科就诊的 20 ~ 79 岁妇女作为研究对象, 对符合入选标准的对象采集标本进行相关检测。入选标准: (1) 年龄在 20 ~ 79 周岁的妇女; (2) 签署知情同意书, 同意采集用于本研究的宫颈上皮脱落细胞和宫颈组织; (3)

没有临床怀孕的可疑症状, 孕妇在妊娠结束后 8 周可参加研究; (4) 无宫颈外科手术史 (如子宫切除术)。排除标准: 不符合上述任何入选条件之一者。该研究已获得河南省肿瘤医院伦理委员会的批准 (编号: 2016007)。所有参与研究的妇女均已签署知情同意书。

1.2 问卷调查

由经统一培训的调查员对同意入组的妇女进行一对一问卷调查, 首先询问婚姻状况、宫颈癌病史、宫颈手术史等以判断是否纳入或排除该女性, 其次询问包括教育程度、吸烟饮酒史、月经史、生育史等一般情况。

1.3 妇科检查及标本收集

由妇科医生对符合入选标准的妇女进行妇科检查, 并采用扫帚样刷子收集宫颈脱落细胞标本, 置于转移介质 PreservCyt[®] 液体 (美国 Hologic 公司) 中, 待后续相关实验检测。同时, 由有经验的阴道镜医生对其进行阴道镜检查, 如果为阴道镜暴露充分且存在病变部位则异常处取活检, 若阴道镜暴露不充分则进行宫颈搔刮术 (endocervical curettage, ECC)。

1.4 实验室检测

以下所有检测和诊断过程均严格遵守盲法原则。

1.4.1 液基细胞学检测 (LBC, ThinPrep; Hologic-Cytec, Marlborough, Mass) 将采集到宫颈脱落细胞标本制片染色后按照 Bethesda 分类系统进行阅片诊断。分类包括: 无上皮内病变或恶性病变 (negative for intraepithelial lesion or malignancy, NILM)、意义不明的不典型鳞状细胞 (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US)、非典型鳞状细胞, 不排除高级别鳞状上皮内病变 (atypical squamous cell, cannot exclude high-grade squamous intra-

epithelial lesion, ASC-H)、不典型腺细胞 (Atypical glandular cells, AGC)、低度鳞状上皮内病变 (low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)、高度鳞状上皮内病变 (high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)、鳞癌 (squamous cell carcinoma, SCC)、原位腺癌 (adenocarcinoma in situ, AIS) 和腺癌 (adenocarcinoma, ADC)^[5]。LBC 结果判断为 NILM 时定义为正常。

1.4.2 HPV E6/E7 mRNA 检测 HPV E6/E7 mRNA 采用 APTIMA HPV 实验进行检测, 该实验主要包括 mRNA 的提取、扩增及扩增产物检测三个步骤。提取出的 mRNA 通过 TMA 法进行扩增, 该方法是利用 MMLV 反转录酶和 T7 核糖核酸聚合酶而进行的以反转录为基础的核酸扩增方法。MMLV 反转录酶可催化含有 T7 核糖核酸聚合酶启动子序列的 mRNA 反转录为 cDNA, 进而在 T7 核糖核酸聚合酶作用下, 反转录的 cDNA 为模板进一步合成 DNA 而完成 mRNA 的扩增。扩增后的产物通过 HPA 法进行检测, 该方法利用荧光探针特异性与扩增产物杂交, 选择剂淬灭未杂交探针上的荧光以区分杂交和未杂交探针, 然后光度计测量杂交混合物上的荧光光量子, 最终通过分析物的信号与截点比值 (S/CO) 来进行结果判定。

1.4.3 p16/Ki-67 双蛋白共表达检测 采用德国 mtm 实验室研发的一项名为 CINtec PLUS 的新技术, 利用免疫细胞化学双染法的原理进行检测, 细胞学医师在显微镜下阅片, 若视野中出现至少 1 个宫颈细胞的细胞质呈红色 (p16), 细胞核呈黄色或棕色 (Ki-67) 则判读为阳性; 其他为阴性^[6]。

1.4.4 病理诊断 阴道镜下所取的活检或 ECC 标本移送至郑州大学第二附属医院病理科制片并进行病理诊断, 报告采用宫颈上皮内瘤样病变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 分级报告系统。同时, 由郑州大学附属肿瘤医院有经验的病理医师对诊断结果进行复核, 若复核结果与初始判读结果不一致, 标本将送至中国医学科学院肿瘤医院进行最终判读。

1.5 统计分析方法

采用统计软件 SPSS 22.0 进行数据分析。符合正态分布的计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 进行统计描述, 组间比较采用方差分析; 计数资料采用率或百分比 (%) 进行统计描述, 组间比较采用 χ^2 检验。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞学与组织病理学诊断结果

共收集研究对象 537 例, 其平均年龄为 43.88 ± 10.97 岁。细胞学诊断结果显示: 183 人 (34.7%) 细胞学结果正常, 135 人 (25.1%) 被诊断为 ASC-US, 22 人 (4.1%) 被诊断为 ASC-H, 7 人 (1.3%) 被诊断为 AGC, 82 (15.3%) 人被诊断为 LSIL, 75 人 (14.0%) 被诊断为 HSIL, 31 人 (5.8%) 被诊断为 SCC, 2 人 (0.4%) 被诊断为 AIS。组织病理学诊断结果显示: 298 人 (55.5%) 病理学结果正常, 30 人 (5.6%) 被诊断为 CIN1, 48 人 (8.9%) 被诊断为 CIN2, 111 人 (20.7%) 被诊断为 CIN3, 43 人 (8.0%) 被诊断为宫颈鳞癌, 7 人 (1.3%) 被诊断为宫颈腺癌。详见表 1。

表 1 537 例研究对象液基细胞学和组织病理学诊断结果
Table 1. Diagnostic Results of Liquid-based Cytology and Histopathology in 537 Patients

LBC	Case (n)	Percent (%)	Histopathology	Case (n)	Percent (%)
Normal	183	34.7	Normal	298	55.5
ASC-US	135	25.1	CIN1	30	5.6
ASC-H	22	4.1	CIN2	48	8.9
AGC	7	1.3	CIN3	111	20.7
LSIL	82	15.3	SCC	43	8.0
HSIL	75	14.0	ADC	7	1.3
SCC	31	5.8	-	-	-
AIS	2	0.4	-	-	-

ASC-US: atypical squamous cells of undetermined significance; ASC-H: atypical squamous cell, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion; AGC: atypical glandular cells; LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: squamous intraepithelial lesion; SCC: squamous cell carcinoma; AIS: adenocarcinoma in situ; CIN: cervical intraepithelial neoplasia; ADC: adenocarcinoma.

2.2 不同病理级别人群中 HPV mRNA 与 p16/Ki-67 阳性检出情况比较

HPV mRNA 和 p16/Ki-67 阳性率均随着病理级别的增加而增加 (P < 0.001)。HPV mRNA 在病理正常人群中的阳性率为 19.1%, 在宫颈鳞癌中的阳性率为 100%。p16/Ki-67 在病理正常人群中的阳性率为 13.1%, 在宫颈鳞癌中的阳性率为 97.7%。详见表 2。

2.3 不同细胞学诊断结果中 HPV mRNA 与 p16/Ki-67 阳性检出情况比较

与在不同病理级别中的阳性率趋势基本一致, HPV mRNA 与 p16/Ki-67 的阳性率随着细胞学结果的严重程度增加而增加 (P < 0.001)。HPV mRNA 在细胞学正常人群中的阳性率为 18.6%, 在宫颈

SCC 中的阳性率为 100%。p16/Ki-67 在细胞学正常人群中的阳性率为 14.2% ,在宫颈 SCC 中的阳性率为 93.5%。详见表 3。

表 2 不同病理级别人群中 HPV mRNA 和 p16/Ki-67 的阳性率

Table 2. Positive Rates of HPV mRNA and p16/ ki-67 in Different Pathological Groups

Pathological result	mRNA			p16/Ki-67		
	Negative	Positive	Positive Rate (%)	Negative	Positive	Positive Rate (%)
Normal	241	57	19.1	259	39	13.1
CIN1	18	12	40.0	20	10	33.3
CIN2	6	42	87.5	10	38	79.2
CIN3	6	105	94.6	12	99	89.2
SCC	0	43	100.0	1	42	97.7
ADC	1	6	85.7	1	6	85.7
χ^2	276.6			288.8		
P	<0.001			<0.001		

CIN: cervical intraepithelial neoplasia; SCC: squamous cell carcinoma; ADC: adenocarcinoma.

表 3 不同液基细胞学诊断结果中 HPV mRNA 和 p16/Ki-67 的阳性率

Table 3. Positive Rates of HPV mRNA and p16/ ki-67 in Diagnostic Results of LBC

LBC	mRNA			p16/Ki-67		
	Negative	Positive	Positive Rate (%)	Negative	Positive	Positive Rate (%)
Normal	149	34	18.6	157	26	14.2
ASC-US	91	44	32.6	100	35	25.9
ASC-H	4	18	81.8	5	17	77.3
AGC	3	4	57.1	1	6	85.7
LSIL	23	59	72.0	31	51	62.2
HSIL	2	73	97.3	7	68	90.7
SCC	0	31	100.0	2	29	93.5
AIS	0	2	100.0	0	2	100
χ^2	213.646			209.794		
P	<0.001			<0.001		

ASC-US: atypical squamous cells of undetermined significance; ASC-H: atypical squamous cell, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion; AGC: atypical glandular cells; LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: squamous intraepithelial lesion; SCC: squamous cell carcinoma; AIS: adenocarcinoma in situ.

3 讨论

宫颈癌是妇科常见的恶性肿瘤之一,宫颈 HPV 持续感染是导致宫颈癌前病变及向宫颈癌发生、发展的关键因素^[7],但研究表明,HPV DNA 阳性者中有绝大多数是 HPV 一过性感染,约 70%~80% 的女性在一生中有可能感染 HPV,其中有 90% 的感染者可在 8~24 个月内自然清除,只有高危型 HPV 的持续性感染才有可能导致宫颈病变或宫颈癌^[8-10],这使得 HPV DNA 检测虽然具有较高敏感度,但是特异度相对较低^[11]。因此,寻找更有效的宫颈筛查方法迫在眉睫。

高危型 HPV 感染宫颈细胞后,通过非同源重组的方式将其 DNA 整合到宿主细胞基因组后,大量转录两个致癌基因 E6、E7 的 mRNA,导致 HPV E6/E7 癌蛋白高表达^[12-13]。E6、E7 癌蛋白分别通过与 p53 蛋白和 pRb 蛋白结合,使肿瘤抑制基因 p53 与 pRb 失活,损伤细胞 DNA,激活端粒酶活性,引起细胞过度增殖,触发细胞永生化和恶性转化,最终导致肿瘤发生^[14-17]。因此,将 HPV E6/E7 基因产物作为子宫颈癌筛查的分子标志物比 HPV DNA 更具特异性。本研究采用 2012 年美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的一项 HPV E6/E7 mRNA 检测技术 (APTIMA HPV),同时检测 14 种高危型别 HPV E6/

E7 mRNA。结果显示, HPV E6/E7 mRNA 阳性率随着宫颈组织病理学和细胞学分级的增高而增加($P < 0.001$), 提示, HPV E6/E7 mRNA 阳性率与宫颈病变严重程度密切相关, HPV E6/E7 mRNA 高表达, 可能促进宫颈病变的发生和发展。这与 Duvlis、Ratnam 等人的研究结果一致^[18-19]。

子宫颈癌进展过程中, 细胞周期相关蛋白可以从另一个侧面反映其与子宫颈病变的关系。其中, p16 蛋白是一种细胞周期依赖性蛋白激酶抑制剂, 可阻止细胞从 G1 期进入 S 期, 并在持续性 HPV 感染中过度表达, 引起细胞周期调控失常^[20]。Ki-67 是一种细胞核抗原和增殖标志物, 在细胞周期的 G1、S、G2、M 期均有表达, 在 G0 期缺失^[21]。2014 年世界卫生组织推荐, 对于诊断有争议的 CIN2, 可以采用 p16 免疫组化染色, p16 阳性的 CIN2 按照 CIN3 处理, p16 阴性的 CIN2 按照 CIN1 处理。Ki-67 免疫组化染色在 CIN2 的分流中也具有重要的意义。正常情况下, 同一细胞内 p16 和 Ki-67 不能同时表达, 而当细胞周期调控失常时, 特定细胞内则可同时表达 p16 和 Ki-67。因此, 可以将同时表达 p16INK4a 和 Ki-67 (简称 p16/Ki-67) 的宫颈上皮细胞作为细胞转化状态的一个指标。本研究采用 CINtec PLUS 新技术检测 p16/Ki-67 双蛋白共表达, 结果显示, p16/Ki-67 阳性率随着宫颈组织病理学和细胞学分级水平的升高而呈正相关($P < 0.001$), 这与相关研究的结果一致^[22-24]。由此可认为, p16/Ki-67 共表达阳性与宫颈病变程度密切相关, p16/Ki-67 双染检测可用于指导 CIN 的分级, 该方法能够区分出真正向宫颈癌进展的病变, 有效降低阴道镜的转诊率。

综上所述, HPV E6/E7 mRNA 和 p16/Ki-67 表达与宫颈病变程度密切相关, HPV 感染宫颈后的活化情况, 可以通过检测 E6/E7 mRNA 和 p16/Ki-67 的表达情况来反映, 对宫颈病变有一定的诊断效能。同时, p16/Ki-67 双重染色操作简单, 结果容易判读, 技术人员经过短期培训后即可独立进行, 故有望成为宫颈癌筛查及宫颈病变随访的检测方法。

作者声明: 本文第一作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;

利益冲突: 本文全部作者均认同文章无相关利益冲突;

学术不端: 本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统学

术不端检测;

同行评议: 经同行专家双盲外审, 达到刊发要求。

[参考文献]

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.
- [2] Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer [J]. J Clin Pathol, 2002, 55(4):244-265.
- [3] Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia [J]. JAMA, 2001, 286(24):3106-3114.
- [4] Castle PE, Wacholder S, Lorincz AT, et al. A prospective study of high-grade cervical neoplasia risk among human papillomavirus-infected women [J]. J Natl Cancer Inst, 2002, 94(18):1406-1414.
- [5] Wentzensen N, von Knebel DM. Biomarkers in cervical cancer screening[J]. Dis Markers, 2007, 23(4):315-330.
- [6] 王海瑞, 廖光东, 陈汶, 等. p16/Ki-67 免疫细胞化学双染在宫颈癌筛查中的应用价值[J]. 中华肿瘤杂志, 2017, 39(8):636-640.
- [7] Brisson M, Drolet M, Bénard E, et al. Effect of HPV on cervical cancer screening in Alberta [J]. CMAJ, 2016, 188(14):1035.
- [8] Moyer VA. Preventive Services Task Force. Screening for cervical cancer: U. S. Preventive Services Task Force recommendation statement [J]. Ann Intern Med, 2012, 156(12):880-891.
- [9] Saslow D, Solomon D, Lawson HW, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(3):147-172.
- [10] Arnold-Jan K, Susanne B, Janssen EA, et al. The relationship between syntactic structure analysis features, histological grade and high-risk HPV DNA in cervical intraepithelial neoplasia[J]. Cell Oncol, 2016, 26(3):135-141.
- [11] Burger EA, Kornør H, Klemp M, et al. HPV mRNA tests for the detection of cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review [J]. Gynecol Oncol, 2011, 120(3):430-438.
- [12] Tommasino M. The human papillomavirus family and its role in carcinogenesis [J]. Semin Cancer Biol, 2014, 26:13-21.
- [13] Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, et al. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions [J]. Cancer Res, 2008, 68(1):307-313.
- [14] Hang D, Gao L, Sun M, et al. Functional effects of sequence variations in the E6 and E2 genes of human papillomavirus 16 European and Asian variants [J]. J Med Virol, 2014, 86(4):618-626.
- [15] Ruttkay-Nedecky B, Jimenez Jimenez AM, Nejdil L, et al. Relevance of infection with human papillomavirus: the role of the p53 tumor suppressor protein and E6/E7 zinc finger proteins [J]. Int J

- Oncol, 2013, 43(6):1754-1762.
- [16] Longworth MS, Laimins LA. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2004, 68(2):362-372.
- [17] 李晓林,袁文娟,陈龙,等. 高危型 HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈机会性筛查中应用价值研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2017, 24(4):217-222.
- [18] 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.
- [19] Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, et al. Clinical performance of the PreTect HPV-proofer E6/E7 mRNA assay in comparison with that of the hybrid capture 2 test for identification of women at risk of cervical cancer [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(8):2779-2785.
- [20] Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of p16 (INK4A) as specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri [J]. Int J Cancer, 2001, 92(2):276-284.
- [21] Heatley MK. Ki67 protein: the immaculate deception? [J]. Histopathology, 2002, 40(5):483.
- [22] Yu LL, Chen W, Lei XQ, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual staining in detection of cervical precancer and cancers: a multicenter study in China [J]. Oncotarget, 2016, 7(16):21181-21189.
- [23] Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in colposcopy referral population [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(15):4154-4162.
- [24] 张睿怡,郭红燕,游珂,等. p16INK4a/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.



· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于研究生毕业论文投稿版权问题的声明

依照教育部门相关规定,研究生在读期间所撰写的学位论文,版权归属于所就读院校。据此,本刊规定凡研究生发表的与其学位论文密切相关的学术文章,均应在文章中明确写明版权单位,如作者同时具有其他单位的,可以一并列出。欢迎广大研究生将学位论文以论著、综述等形式投稿本刊,原则上稿件第一作者与学位论文完成人一致,稿件与学位论文重复率不能超过 20%。对于优秀研究生稿件,本刊将开通绿色通道,减免部分版面费,优先发表。

本刊编辑部