

·实验室研究·

p16/mcm2 双染在宫颈上皮内瘤变的诊断价值及其与高危型HPV感染的关系

王海瑞 廖光东 江宇 李雨聪 乔友林 陈汶

100730 北京,中国医学科学院北京协和医学院公共卫生学院(王海瑞、江宇);
610041 成都,四川大学华西第二医院妇产科(廖光东);400030 重庆,重庆市癌症中心/重庆市肿瘤医院妇瘤科(李雨聪);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学研究室(乔友林、陈汶)

通信作者:陈汶, Email:chenwen@cicams.ac.cn

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2017.09.020

【摘要】目的 研究p16/mcm2免疫细胞化学双染在宫颈病变中的表达及其与HPV感染的关联,并探讨其在宫颈癌筛查中的应用价值。**方法** 将2015年5—12月参加宫颈癌筛查并行高危型HPV(HR-HPV)检测和液基细胞学检查的1 127名女性纳入研究,对留存细胞学标本进行p16/mcm2免疫细胞化学双染检测,并与宫颈组织病理学结果进行比较。**结果** p16/mcm2在HPV16/18阳性组和其他HR-HPV阳性组的表达风险均高于HPV阴性组,OR值分别为15.95(95%CI: 9.59~26.51)、10.53(95%CI: 7.41~14.98);p16/mcm2阳性率随宫颈上皮内瘤变(CIN)级别的升高而升高,且在CIN2组、CIN3组中均高于良性病变组($P<0.05$);p16/mcm2阳性者中检出CIN2及以上(CIN2+)和CIN3及以上(CIN3+)病变的灵敏度分别为86.1%、92.0%,特异度分别为46.1%、44.4%;在细胞学诊断为非典型鳞状细胞和低度鳞状上皮内病变人群中检出CIN2+和CIN3+病变的灵敏度分别为85.7%、87.5%,特异度分别为45.5%、44.1%。**结论** p16/mcm2双染灵敏度高于细胞学检查,特异度优于HPV检测,可识别宫颈高度病变和指导CIN的分级,有望成为新的宫颈癌筛查标志物。

【关键词】 p16; mcm2; 宫颈上皮内瘤变; 人乳头瘤病毒; 宫颈癌筛查

Diagnostic value of p16/mcm2 dual staining in cervical intraepithelial neoplasia and its association with high-risk HPV infection Wang Hairui, Liao Guangdong, Jiang Yu, Li Yucong, Qiao Youlin, Chen Wen

School of Public Health, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China (Wang HR, Jiang Y); Department of Gynecology and Obstetrics, the West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China (Liao GD); Department of Gynecological Oncology, Chongqing Cancer Center/Cancer Hospital, Chongqing 400030, China (Li YC); Department of Epidemiology, National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China (Qiao YL, Chen W)

Corresponding author: Chen Wen, Email: chenwen@cicams.ac.cn

【Abstract】Objective To study the expression of p16/mcm2 immunocytochemical dual staining in cervical lesions and its association with high-risk HPV infection, and discuss its clinical value in cervical cancer screening. **Methods** From May to December 2015, a total of 1 127 women receiving cervical cancer screening, high-risk HPV (HR-HPV) test and liquid-based cytology test were included in the study. p16/mcm2 immunocytochemical dual staining was performed on residual cytology specimens and the results were compared with histopathology results. **Results** p16/mcm2 had a higher expression risk in HPV16/18 group and other HR-HPV group compared with HPV negative group, with OR of 15.95 (95%CI: 9.59~26.51) and 10.53 (95%CI: 7.41~14.98), respectively. The positive rate of p16/mcm2 increased with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) severity, and was higher in both CIN2 group and CIN3 group than in benign lesion group ($P<0.05$). The overall sensitivity of p16/mcm2 to detect CIN2+ and CIN3+ lesions were 86.1% and 92.0%, respectively, and the overall specificity were 46.1% and 44.4%, respectively. In group with cytologic diagnoses of atypical squamous cells (ASC) and low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), the sensitivity to detect CIN2+ and CIN3+ lesions were 85.7% and 87.5%, respectively, and the specificity were

45.5% and 44.1%, respectively. **Conclusions** p16/mcm2 dual staining has higher sensitivity than cytology test and better specificity than HPV test. It can identify high-grade cervical lesions and guide the classification of CIN. p16/mcm2 might be used as an innovative biomarker for cervical cancer screening.

[Key words] p16; mcm2; Cervical intraepithelial neoplasia; HPV; Cervical cancer screening

宫颈癌是危害女性健康的主要恶性肿瘤之一。全国肿瘤防治办公室发布的最新数据表明,我国宫颈癌发病率仍呈上升趋势,农村地区增速更快,且趋于年轻化^[1]。高危型HPV(HR-HPV)检测和液基细胞学检查(LBC)是目前宫颈癌筛查的主要方法^[2]。然而单一的HPV检测无法区分持续性感染和一过性感染;细胞学检查灵敏度有限,阅片依赖于专业的细胞学医生。p16蛋白是一种细胞周期依赖性蛋白激酶抑制剂,是视网膜母细胞瘤蛋白(pRb)介导的G₁/S期转化控制的一部分,可在持续性HR-HPV感染中过度表达并引起细胞周期调控失常^[3];微小染色体维持蛋白2(mcm2)是一种细胞增殖标志物,参与DNA的合成,可表达于除G₀期以外的细胞周期各阶段^[4]。本研究将从筛查人群角度评价p16/mcm2表达在宫颈病变的应用价值,并探讨其与HR-HPV感染的关系。

对象与方法

1. 研究对象:选取2015年5—12月在重庆市万州区和四川省双流县妇幼保健院参加宫颈癌筛查并行HPV分型检测和液基细胞学检查的1 127名女性为研究对象。入选标准:年龄21~64岁;无临床怀孕可疑症状;无宫颈疾病史,宫颈完整;理解研究程序,自愿参加研究。本研究经中国医学科学院肿瘤医院伦理委员会批准,且获得研究对象知情同意。

2. 研究方法:

(1)标本采集与处理:在筛查现场,妇科医生用宫颈细胞取样刷收集宫颈脱落细胞,并转移到PreservCyt(美国Hologic公司)细胞保存液中。若样本存在较多血液、黏液,则用消化液(冰醋酸:清洗液=1:9)进行前处理。在HPV检测结束后方可进行细胞学制片。制片后,应立即拧紧瓶盖,确保样本瓶紧固密封以防交叉污染。剩余标本4℃保存,1个月内运输至中国医学科学院肿瘤医院中心实验室制备第二张宫颈细胞薄片进行p16/mcm2双染。

(2)液基细胞学检查:使用ThinPrep2000膜式制片系统制片,根据2001年版TBS描述性诊断系统,将细胞学诊断分为未见上皮内病变细胞或恶性细胞(negative for intraepithelial lesion or malignancy, NILM)、不明意义的非典型鳞状细胞(atypical

squamous cell of undetermined significance, ASC-US)、非典型鳞状细胞,不排除高度病变(atypical squamous cell-cannot exclude HSIL, ASC-H)、非典型腺细胞(atypical glandular cell, AGC)、低度鳞状上皮内病变(low-grade intraepithelial lesion, LSIL)和高度鳞状上皮内病变(high-grade intraepithelial lesion, HSIL)。其中ASC-US及以上(ASC-US、ASC-H、AGC、LSIL、HSIL)为细胞学阳性。

(3)HR-HPV DNA检测:采用HPV分型核酸测定试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司)和cobas 4800检测试剂盒(罗氏诊断产品上海有限公司)进行HR-HPV DNA检测。前者可具体分型,后者仅对HPV16和HPV18型别分型,并可检出其他12种HR-HPV亚型(31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66和68型)。上海之江HPV检测试剂盒含14种型别的特异性引物及荧光探针,应用PCR结合Taqman技术,将纯化后的DNA、阳性和阴性对照各4 μl加入到含36 μl反应液的PCR管并置于ABI7000荧光PCR仪上,按照操作规范设置循环参数,荧光通道选择FAM和VIC,根据Ct值报告HPV型别;罗氏HPV检测首先按照说明书提取DNA,收集后将已自动加样的PCR板移至cobas 4800分析仪中进行PCR扩增和荧光检测,读取Ct值报告结果。

(4)p16/mcm2免疫细胞化学染色:p16和mcm2单克隆抗体均来自福州迈新生物技术开发有限公司,工作浓度分别为1:50和1:100,采用SP法进行免疫细胞化学标记。宫颈薄片经乙醇固定、抗原修复后置于0.5% H₂O₂中阻断内源性过氧化物酶,以PBS代替一抗作阴性对照,进行一抗、二抗孵育,DAB显色,苏木素复染,最后中性树胶封片,光学显微镜下阅片。若视野中至少出现一个细胞的细胞质呈红色(p16)且细胞核呈棕黄色或棕褐色(mcm2),则判为p16/mcm2双染检测阳性(图1);若无细胞质和细胞核同时着色,则为阴性。

3. 统计学分析:使用SPSS 19.0软件进行统计学分析,计数资料比较采用χ²检验或Fisher确切概率法;p16/mcm2表达与HR-HPV的关系使用logistic回归模型分析;以组织病理学诊断为金标准,计算各筛查和分流方法的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值,并进行受试者工作特征(ROC)曲线分析,计

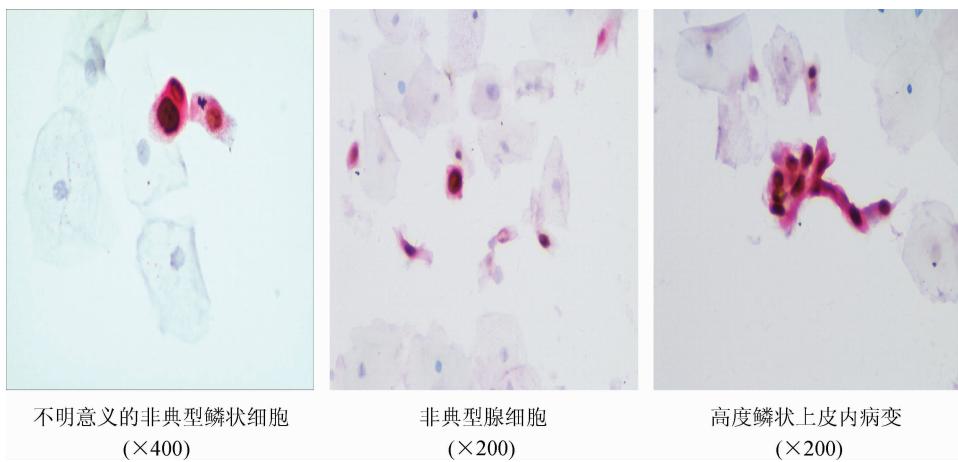


图1 不同细胞 p16/mcm2 双染结果

算曲线下面积(AUC)。所有检验均采用双侧检验且检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

1. 基线信息: 入组的1 127名女性年龄21~64岁, 平均46.4岁, 其中HR-HPV阳性者505例(44.8%), 细胞学ASC-US及以上者207例(18.4%)。142例标本因细胞量不足及细胞溶解, 影响p16/mcm2双染阅片而被剔除。纳入对象与剔除对象在HPV阳性率和细胞学阳性率方面均衡可比, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。共收集到985份有效宫颈细胞标本, 每例均有HPV、细胞学和p16/mcm2结果, 其中284例有病理结果。

2. p16/mcm2表达与HR-HPV感染的关系: 985份标本含HPV阴性540份、阳性445份(45.2%)。p16/mcm2在HR-HPV阳性人群的表达高于阴性人群, 差异有统计学意义(55.5%和9.8%, $\chi^2=240.5$, $P<0.001$)。根据HPV感染型别将研究对象分为3组, 结果显示, p16/mcm2阳性率在HPV阴性组、其他HR-HPV别组、HPV16/18型别组呈递增趋势, 分别为9.8%、53.4%和63.4%。非条件logistic回归分析结果显示, p16/mcm2在其他HR-HPV型别组和HPV16/18型别组的表达均高于HPV阴性组, OR值分别为10.53(95%CI: 7.41~14.98)和15.95(95%CI: 9.59~26.51), 且p16/mcm2在HPV16/18阳性组的表达风险是其他HR-HPV阳性组的1.5倍, 见表1。

3. p16/mcm2表达与宫颈癌变的关系: 284份病理结果中有良性病变199份、宫颈上皮内瘤变1级(CIN1)42份、CIN2 18份、CIN3 25份, 相应的p16/mcm2阳性率分别为53.3%、57.1%、77.8%和92.0%(表2)。经分析, CIN2组和CIN3组的p16/mcm2阳

表1 985份宫颈细胞标本p16/mcm2表达与HR-HPV感染的关系

组别	份数	p16/mcm2	χ^2 值	P值	OR值(95%CI)
HPV阴性	540	53(9.8)			1.00
其他HR-HPV阳性	352	188(53.4)	205.4	<0.001	10.53(7.41~14.98)
HPV16/18阳性	93	59(63.4)	156.7	<0.001	15.95(9.59~26.51)

注:括号外数据为例数,括号内数据为百分比(%);其他HR-HPV:HPV 31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66和68型别任一阳性,且HPV16/18阴性

表2 p16/mcm2表达与宫颈癌变的关系

组别	例数	p16/mcm2	χ^2 值	P值	OR值(95%CI)
良性病变	199	106(53.3)			1.00
CIN1	42	24(57.1)	0.21	0.647	1.17(0.60~2.29)
CIN2	18	14(77.8)	4.01	0.045	3.07(1.12~9.65)
CIN3	25	23(92.0)	13.64	<0.001	10.09(2.32~43.94)

注:括号外数据为例数,括号内数据为百分比(%);良性病变、CIN1、CIN2和CIN3组的比较: $\chi^2=16.61$, $P<0.001$; 趋势 $\chi^2=15.42$, $P<0.001$; CIN: 宫颈上皮内瘤变

性率均高于良性病变组, 差异有统计学意义; 在CIN1组与良性病变组、CIN2组与CIN3组的差异均无统计学意义。随宫颈病变程度的加重, p16/mcm2表达所致OR值逐渐升高(趋势检验 $\chi^2=15.42$, $P<0.001$)。

4. p16/mcm2、HR-HPV与LBC在宫颈组织病理学中的诊断价值: 284份病理结果中, 有CIN2及以上(CIN2+)标本43例, CIN3及以上(CIN3+)标本25例。p16/mcm2在CIN2+人群的灵敏度和特异度分别为86.1%、46.1%, ROC的AUC为0.661(95%CI: 0.581~0.740); 在CIN3+人群的灵敏度和特异度分别为92.0%、44.4%, ROC的AUC为0.682(95%CI: 0.591~0.773)。经分析, p16/mcm2检出CIN2+和CIN3+病变的灵敏度均高于LBC, 特异度均高于HR-HPV, 差异有统计学意义(表3)。

5. p16/mcm2、HR-HPV在ASC和LSIL人群中对CIN2+和CIN3+的诊断价值: 有160名女性的细胞学诊断结果为非典型鳞状细胞(ASC)和低度鳞状

表3 p16/mcm2、HR-HPV和LBC在宫颈组织病理学中的诊断价值

检测方法	灵敏度(%)	特异度(%)	PPV(%)	NPV(%)
CIN2+(n=43)				
p16/mcm2	86.1	46.1	22.2	94.9
HR-HPV	95.4	14.5	16.6	94.6
LBC	72.1	47.8	19.8	90.6
CIN3+(n=25)				
p16/mcm2	92.0	44.4	13.8	98.3
HR-HPV	100.0	14.3	10.1	100.0
LBC	76.0	46.7	12.1	95.3

注:括号内数据为人数; CIN: 宫颈上皮内瘤变; LBC: 液基细胞学检查; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值

上皮内病变(LSIL),包括14例CIN2+和8例CIN3+。该人群中p16/mcm2检出CIN2+病变的灵敏度和特异度分别为85.7%、45.5%,检出CIN3+病变的灵敏度和特异度分别为87.5%、44.1%(表4)。经分析,p16/mcm2检出CIN2+、CIN3+病变的特异度均高于HR-HPV,差异有统计学意义,而灵敏度与HR-HPV的差异均无统计学意义。该人群 p16/mcm2 阳性率为 53.8% (86/160),提示若 p16/mcm2 用作 ASC 及 LSIL 人群的分流可降低近一半的阴道镜转诊。

表4 p16/mcm2、HR-HPV在ASC和LSIL人群中对CIN2+和CIN3+的诊断价值

检测方法	灵敏度(%)	特异度(%)	PPV(%)	NPV(%)
CIN2+(n=14)				
p16/mcm2	85.7	45.5	16.4	96.2
HR-HPV	85.7	22.3	12.1	92.6
CIN3+(n=8)				
p16/mcm2	87.5	44.1	9.6	98.1
HR-HPV	100.0	22.9	8.1	100.0

注:括号内数据为人数; ASC: 非典型鳞状细胞; LSIL: 低度鳞状上皮内病变; CIN: 宫颈上皮内瘤变; PPV: 阳性预测值; NPV: 阴性预测值

讨 论

我国开展宫颈癌筛查工作的妇幼保健院级别不同,技术水平差异较大,细胞学诊断水平参差不齐^[5]。建立完善的准入、培训和考核机制需要漫长的过程,简单有效的标志物辅助手段可在更短时间内提高异常细胞检出率和阅片一致率。因此,探索p16/mcm2标志物在宫颈病变的应用价值对预防宫颈癌前病变和宫颈癌具有重要意义。

既往研究大多评价p16或mcm2单独染色在宫颈癌筛查的应用价值^[6-7]。p16/mcm2免疫细胞化学双染应用于宫颈癌筛查具有一定的创新性。美国BD公司的ProEx™C可检测宫颈细胞的拓扑异构酶

II_a(TOP2A)和mcm2,如Depuydt等^[8]的研究发现ProEx™C可作为细胞学ASC-US的分流方法,且能增加阳性预测值;Roche公司的CINtec Plus技术可同时检测宫颈细胞的p16和Ki-67抗原,该技术已在国际上应用于宫颈癌筛查和分流^[9]。尽管ProEx™C和CINtec Plus识别不同抗原,但作为与细胞周期密切相关的调节蛋白,Ki-67和mcm2表达水平均能客观反映肿瘤细胞的增殖状态。许冰等^[10]在宫颈组织学标本中对比了Ki-67和mcm2的应用价值,发现mcm2在高度宫颈病变的阳性率和染色强度均高于Ki-67;Guo等^[11]研究发现,p16/ProEx™C双染在CIN2+、CIN3+人群的特异度分别为100%、93%,均高于p16和ProEx™C单独染色。

本研究结果显示,p16/mcm2在HPV16/18型别的表达风险是HPV阴性的15.95倍,在其他HR-HPV型别的表达风险是HPV阴性的10.53倍,而在HPV16/18型别的表达风险是其他HR-HPV的1.5倍,与已有研究结果一致^[12]。由于HR-HPV的E6癌蛋白能够结合并降解抑癌基因p53,激活端粒酶,E7癌蛋白可通过取代E2F转录因子而与pRB结合,导致细胞S期诱导异常,促使p16和mcm2在宫颈上皮内瘤变中过表达^[13-14],因此,p16/mcm2在HPV阳性,尤其是HPV16/18型别阳性的表达可提示宫颈癌前病变风险的升高。

本研究结果显示,p16/mcm2表达随病理诊断级别的升高而增强,其阳性率在CIN2组和CIN3组均高于良性病变组,与Guo等^[11]研究中的p16/ProEx C报道一致,表明p16/mcm2指导CIN分级的可行性。本研究结果显示p16/mcm2在CIN2+和CIN3+人群的灵敏度高于细胞学检查,特异度高于HR-HPV检测。与Shi等^[15]研究中的ProEx C相比,p16/mcm2具有更高的灵敏度;与其研究中的p16/ProEx C相比,p16/mcm2灵敏度略低,但特异度更高。原因可能与研究设计和研究人群有关。因为本研究纳入的是筛查人群,只有细胞学结果异常或HPV阳性者才进行阴道镜检查,而p16/mcm2单独阳性者需随访,尚无病理结果,会潜在降低其灵敏度。此外,p16/mcm2在ASC和LSIL人群中检出CIN2+、CIN3+病变的灵敏度与HR-HPV相似,而特异度高于后者。该人群中,p16/mcm2检测CIN2+病变的灵敏度同Yu等^[16]研究中的p16/Ki-67相似,且高于郭会芹等^[6]研究中的mcm2单独染色。

本研究样本量较少,研究结果可能存在偶然性因素;其次,本研究为横断面研究,细胞学和HPV检

测结果正常而p16/mcm2阳性者尚无随访病理结果。因此,为准确评价p16/mcm2对宫颈癌前病变的诊断价值,尚需进行前瞻性队列研究,以提供更为可靠的证据。

综上所述,p16/mcm2表达与各种HR-HPV尤其是HPV16/18型别的致癌活性直接相关。p16/mcm2诊断宫颈高度病变的灵敏度高于细胞学检查,特异度优于HPV检测,同时可用作ASC和LSIL人群的分流方法,并极大降低了阴道镜转诊率。p16/mcm2检测是体外诊断,操作简单且无创,阅片不依赖于细胞形态学,普通医师易于掌握,是具有良好应用前景的宫颈癌筛查标志物。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Chen WQ, Zheng RS, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA A Cancer J Clin, 2016, 66 (2) : 115–132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [2] Peirson L, Fitzpatrick-Lewis D, Ciliska D, et al. Screening for cervical cancer: a systematic review and Meta-analysis [J]. Syst Rev, 2013, 2(1):35. DOI: 10.1186/2046-4053-2-35.
- [3] Klaes R, Friedrich T, Spitzkovsky D, et al. Overexpression of p16 (INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri [J]. Int J Cancer, 2001, 92(2) : 276–284. DOI: 10.1002/ijc.1174.
- [4] Lorenzato M, Caudroy S, Bronner C, et al. Cell cycle and/or proliferation markers: what is the best method to discriminate cervical high-grade lesions? [J]. Human Pathol, 2005, 36 (10) : 1101–1107. DOI: 10.1016/j.humpath.2005.07.016.
- [5] 宋波,吴久玲,宋莉,等.2012年我国农村妇女宫颈癌检查状况分析[J].中国妇幼卫生杂志,2015,6(1):1–4.
Song B, Wu JL, Song L, et al. Analysis on the status of cervical cancer screening for rural women in 2012 [J]. Chin J Women Child Health, 2015, 6(1):1–4.
- [6] 郭会芹,赵焕,李楠,等. MCM2免疫细胞化学检测在宫颈癌筛查中的意义[J]. 中华肿瘤防治杂志,2009,16(16):1213–1216. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcp.2009.16.006.
Guo HQ, Zhao H, Li N, et al. Usefulness of MCM2 in cervical carcinoman screening [J]. Chin J Cancer Prev Treat, 2009, 16 (16):1213–1216. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcp.2009.16.006.
- [7] Denton KJ, Bergeron C, Klement P, et al. The sensitivity and specificity of p16^{INK4a} cytology vs. HPV testing for detecting high-grade cervical disease in the triage of ASC-US and LSIL pap cytology results [J]. Am J Clin Pathol, 2010, 134(1):12–21.
- DOI: 10.1309/AJCP3CD9YKYFJDQL.
- [8] Depuydt CE, Makar AP, Ruymbeke MJ, et al. BD-ProExC as adjunct molecular marker for improved detection of CIN2 + after HPV primary screening [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2011, 20 (4) : 628–637. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0818.
- [9] Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study [J]. J Natl Cancer Inst, 2013, 105 (20) : 1550–1557. DOI: 10.1093/jnci/djt235.
- [10] 许冰,姜彦多,王继红,等. MCM2与Ki67在宫颈癌中表达的对比研究[J]. 中外健康文摘,2012,9(18):60–62. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5085.2012.18.050.
Xu B, Jiang YD, Wang JH, et al. Comparative study of MCM2 and Ki67 expression in cervical squamous cell carcinoma [J]. World Health Dig, 2012, 9(18):60–62. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5085.2012.18.050.
- [11] Guo M, Baruch AC, Silva EG, et al. Efficacy of p16 and ProEx C immunostaining in the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma [J]. Am J Clin Pathol, 2011, 135 (2) : 212–220. DOI: 10.1309/AJCP1LLX8QM DXHHO.
- [12] Zheng J. Diagnostic value of MCM2 immunocytochemical staining in cervical lesions and its relationship with HPV infection [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(1):875–880.
- [13] Halloush RA, Akpolat I, Jim Zhai Q, et al. Comparison of ProEx C with p16INK4a and Ki-67 immunohistochemical staining of cell blocks prepared from residual liquid-based cervicovaginal material [J]. Cancer Cytopathol, 2008, 114 (6) : 474–480. DOI: 10.1002/cncr.23951.
- [14] Ghittomi R, Accardi R, Hasan U, et al. The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses [J]. Virus Genes, 2010, 40 (1) : 1–13. DOI: 10.1007/s11262-009-0412-8.
- [15] Shi JH, Liu HY, Wilkerson M, et al. Evaluation of p16INK4a, minichromosome maintenance protein 2, DNA topoisomerase II α , ProEX C, and p16INK4a/ProEX C in cervical squamous intraepithelial lesions [J]. Human Pathol, 2007, 38 (9) : 1335–1344. DOI: 10.1016/j.humpath.2007.01.025.
- [16] 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. DOI: 10.18632/oncotarget.8307.

(收稿日期:2017-01-26)

(本文编辑:万玉立)