

生物标志物在子宫颈癌筛查中的应用进展

徐书航 化定超 王新宇

【摘要】 子宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,通过筛查来发现并治疗癌前病变达到子宫颈癌的二级预防。主要的筛查手段为宫颈脱落细胞学检查或高危人乳头瘤病毒检测,有导致漏诊风险或部分人群的过度治疗。生物标志物作为新型筛查手段有广阔的应用前景。本文就生物标志物 P16 蛋白、P16/ki-67、DNA 甲基化标志物、HPV L1 蛋白、microRNAs 和细胞角蛋白在子宫颈癌筛查中的研究进展作一综述。

【关键词】 子宫颈癌 筛查 生物标志物

随着子宫颈癌筛查的普及和癌前病变的处理进一步规范,子宫颈癌的发生率和死亡率大大降低,美国癌症统计报告显示,2017 年全美地区子宫颈癌新发病例 13 240 例,死亡人数 4 170 例^[1]。目前子宫颈癌筛查主要依靠宫颈脱落细胞学检查和高危人乳头瘤病毒 (high-risk human papillomavirus, HR-HPV) 检测,然而宫颈脱落细胞学检查灵敏度较低,仅 60% 左右,HR-HPV 检测虽有较好的灵敏度,但特异度较低。两种筛查方式的不足易导致漏诊或部分患者的过度治疗。即使在发达国家,依靠目前的筛查手段仍不能达到完全消灭子宫颈癌的目的,仍需探索更有效的技术来优化筛查。

研究发现,HR-HPV 感染宿主细胞后,诱导细胞发生一系列分子表达和功能的改变,继而发生形态学改变。因此,人们设想通过对这些分子变化的检测来帮助筛查子宫颈癌,从而更有效地提高癌前病变的检出率,避免不必要的阴道镜转诊。随着研究的深入,已发现有一些生物标志物与子宫颈癌的发生、发展密切相关,为进一步的临床应用打下了基础。本文就目前的相关研究进展作一综述。

1 P16INK4A 蛋白

P16 蛋白属于细胞周期蛋白依赖激酶抑制蛋白

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.8.2019-34

基金项目:国家重点研发计划重大慢性非传染性疾病防控研究重点专项(2016YFC1302900);

作者单位:310006 杭州,浙江大学医学院附属妇产科医院妇科(徐书航、化定超、王新宇);浙江省女性生殖健康研究重点实验室(王新宇)

通信作者:王新宇, E-mail: wangxy@zju.edu.cn

(CDK inhibitor, CKI), 由染色体 9p21 上 CDKN2A 基因编码。P16 通过竞争性结合细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinases 4, CDK4) 对细胞周期起负向调节作用^[2]。在子宫颈癌病变过程中, HPV 感染宿主细胞后整合至宿主细胞 DNA 导致病毒癌基因 E6 和 E7 的持续高表达, 继而使 P16 蛋白呈现过度表达的状态。大量研究证明, P16 的阳性率随子宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 级别的增高而增高, 且与 CIN 进展的危险性相关^[3], 提示 P16 蛋白作为生物标志物分流 CIN 的可能性。

美国病理学会 (CAP) 和美国阴道镜与宫颈病理学会 (ASCCP) 在 2012 年共同发布的下生殖道鳞状上皮病变术语 (LAST) 中, 建议将 P16 免疫组化染色用于 CIN2 的分层管理, P16 阳性的处理同 CIN3, 阴性的可以随访, 且当 P16 阳性有连续大块状深棕色染色时, 提示高级别鳞状上皮内病变 (high-grade squamous intraepithelial lesions, HSIL) 可能性大^[4]。Clinton 等^[5]通过回顾性研究发现应用 LAST 指南后, P16 的使用率从 2.8% 提高到 6.2%, HSIL 阳性预测值从 48% 提高到 76%。目前普遍认为 P16 联合 HE 染色能提高病理医师诊断 CIN2+ 的一致性^[2]。然而, Pacchiarotti 等^[6]研究认为 P16 对组织学诊断的重复性几乎不产生影响。

此外, HPV 阳性且 P16 阳性女性需要立即转诊阴道镜, 若阴道镜检查为阴性, 应每年随访; 而 HPV 阳性但 P16 阴性女性可以不用行阴道镜检查, 2~3 年随访一次。针对 HPV 阴性但组织学诊断为 CIN2~3 的女性, 若同时 P16 阴性, HSIL 的诊断应更为慎重^[7]。Pabuccu 等^[8]通过研究认为 P16 或许能够作为分流非典型鳞状上皮-不除外高度病变 (atypical squamous cell cannot ex-

clude high-grade squamous intraepithelial lesion, ASC-H)的一个有效手段。

然而在 P16 的实际临床应用中,还存在着一些问题。尽管大多数 P16 染色结果是明确的阳性或者阴性,仍有一部分结果是模棱两可的,即仅满足部分阳性的条件。这些模棱两可的 P16 免疫反应结果是否能作为感染致癌性 HPV 或判断病灶进展危险性的依据仍有待研究。Liu 等^[9]研究认为在预测致癌性 HPV 感染和 HSIL 的发生上,模棱两可的 P16 结果弱于阳性结果,但比阴性结果强。Clark 等^[10]通过对 262 例女性的宫颈活检结果进行研究,发现其中有 50 例过度诊断为 HSIL,原因可能是当 P16 染色图案为非块状时,将这样的病例归为 HSIL,或将 P16 免疫组化法应用于病理诊断为 LSIL 的女性,提示除了对结果判读模糊不定外,可能还存在着 P16 过度使用的问题。为了更准确有效地应用 P16,需要对 P16 结果进行标准化,即能对染色结果模糊不定的情况做出准确的判断,并且需要对 LAST 指南进行相应的补充,避免因为判断失误导致错诊或漏诊。

2 P16/ki-67

抗原 Ki-67 是一种核蛋白,它在除了 G0 以外的细胞周期中均有表达。在正常生理情况下,ki-67 在宫颈鳞状上皮细胞基层的表达是有限的,ki-67 的过表达意味着细胞处于增殖期。P16/ki67 在正常宫颈鳞状上皮细胞中互相拮抗,两者共表达意味着细胞周期发生异常^[11]。P16/Ki-67 双染细胞学检测 CIN2+ 和巴氏涂片检查相比有更高的灵敏度,与 HPV 检查相比有更高的特异度^[12],提示其作为 CIN2+ 筛查手段的可能性。

研究发现,在宫颈细胞学异常人群中,P16/ki-67 双染细胞学检查与 HPV DNA 检测相比有更好的分流能力^[13],且费用效能比更高^[14]。而双染细胞学与巴氏细胞学相比分流 HPV 阳性女性的特异度稍低,但灵敏度更高^[15]。

虽然 P16/ki-67 双染检查能显著提高诊断准确性,然而在低级别鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesions, LSIL)和意义不明确的非典型鳞状上皮(atypical squamous cells of undetermined significance, ASCUS)人群中进行危险分层的结果却不尽如人意,尤其是在长期的临床观察过程中^[13]。Ziemke 等^[16]推测可能与生物学因素有关,如年龄、阈值、重复性等,于是对 1 141 例女性在宫颈细胞学检查时同时行 P16/ki-67 免疫组化染色(IHC),通过平均 19 个月的随访发现,<30 岁的女性检测出 CIN2/HSIL 的特异度小于>30 岁的女性;以 10 个 P16/ki-67 标记细胞作为阳性标准比 1

个有更高的特异度;有 28.4% 的结果与第一次试验结果不相符。提示 P16/ki-67 要进行有效应用还需要在具体检测方法上加以规范。

3 DNA 甲基化标记物

DNA 甲基化是在 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的作用下,将 S-腺苷甲硫氨酸上的甲基加到胞嘧啶的 5 号碳原子上。大多数的甲基化发生在 CpG 岛二核苷酸,常位于启动子区域。抑癌基因(tumor suppressor genes, TSG)启动子区甲基化导致抑癌基因失活是宫颈癌发生、发展过程中的一个重要机制^[17]。

目前已有大量待测基因甲基化研究,但是准确度不够理想。联合多种甲基化生物标志物,从而达到较高的灵敏度和特异度是目前的研究趋势。此外,甲基化标志物检测能够提供客观、非形态学的结果,能够采用自我采样样本进行检测,联合现有筛查方法能够大大提高筛查效率,未来仍需要大样本前瞻性临床试验来对研究结果进行进一步验证。

3.1 配对盒基因 1(PAX1) Kan 等^[18]研究结果显示 PAX1 基因甲基化水平检测 CIN3+ 病灶的灵敏度和特异度分别达到了 86% 和 85%,联合巴氏涂片检查灵敏度和特异度为 89% 和 83%,不必要的阴道镜转诊能减少至少 60%。Li 等^[19]和 Wang^[20]分别比较了 HC2 HPV 检测和 MS-HRM 法检测 PAX1 基因甲基化在 ASCUS 和 ASC-H 中分流 CIN2+ 的能力,结果显示后者检测能力更强。此外, Nikolaidis 等^[21]对 7 项研究行 Meta 分析显示, PAX1 基因的甲基化检测更高级别宫颈病变的特异度比 HPV DNA 检测更高。

3.2 细胞黏附分子 1(CADM1)和 T 淋巴细胞成熟相关蛋白(MAL) Verhoef 等^[22]对 364 例 HPV 阳性女性宫颈刮片进行了 RCT 研究,结果显示双标志物 CADM1/MAL 甲基化分流 CIN2+ 的能力与细胞学检查相似,甲基化水平随着病灶严重程度的增加而增加,且两者联合能提高灵敏度,虽然特异度降低,但 53.6% 的阴道镜检查率仍在接受范围内。已有研究认为宫颈刮片中 CADM1/MAL 基因甲基化水平还和高危 HPV 的持续感染相关,高危 HPV 感染持续>5 年的高级别 CIN 与感染持续<5 年的相比,明显有更高的 CADM1/MAL 基因甲基化水平。提示双标志物检测能够分流出长期存在的更晚期的高级别 CIN 病灶。van Baars 等^[23]进一步研究了在多种 HPV 持续感染或多种级别病灶同时存在的宫颈中 CADM1/MAL 基因甲基化水平,发现其是病灶特异性的,且宫颈刮片中甲基化水平往往代表着最差病灶的水平。

3.3 双标志物 MAL/miR-124-2 双标记物 MAL/miR-124-2 的检测能够通过自采样样本进行,但其灵敏度同细胞学检测相似,仅仅依靠前者进行分流也会导致不必要的阴道镜检查,故 Verhoef 等^[24]希望通过研究提高 MAL/miR-124-2 甲基化分析的特异度。通过对 1 019 例自采样为高危 HPV 阳性女性的 RCT 临床试验结果显示, MAL/miR-124-2 甲基化分析(阈值-80)或联合 HPV16/18 基因型检测能达到比较高的 CIN3+检出灵敏度和特异度。

4 HPV L1 蛋白

HPV 属于乳头瘤病毒科,由 DNA 核心和蛋白衣壳组成,而衣壳由主要衣壳蛋白 L1 和次要衣壳蛋白 L2 组成。研究表明,HPV-L1 阴性提示癌前病变可能性大,HPV-L1 阳性提示一过性感染可能性大,且 HPV L1 随着 CIN 级别增高而减少,在子宫颈癌中呈阴性^[25]。Lee 等^[26]进一步研究发现 HPV L1 阳性但组织学 CIN3+的病例可能是多种 HPV 感染导致的。此外,Meilhorn 等^[27]研究发现 HPV 特异性免疫能力与 LSIL 的临床缓解有显著关联,L1 抗原和 HPV16-L1 抗体同时阳性的女性,发展为 CIN3 的危险性很低(5.8%)。利用 HPV L1 蛋白与 CIN 的关系,后续需要进一步研究其在子宫颈癌筛查中的效用。

5 microRNAs

近年来已有研究表明 miRNA 在子宫颈癌及癌前病变组织中呈现或上调或下调的现象,提示其作为子宫颈癌早期筛查标志物的可能性^[28]。其中,miR-29a 和 miR-21 分别是上调及下调最频繁的^[29]。

Kong 等^[30]研究发现 hsa-mir-92a 血浆水平随着宫颈病变程度增高而显著升高,对子宫颈癌及癌前病变诊断的灵敏度和特异度达到 69.6% 和 80.4%,AUC 为 0.83。另有学者对 4 种 miRNAs(miR-9,miR-10a,miR-20a 和 miR-196a)进行研究得到类似的结论,且血浆 miR-196a 水平与 CIN 级别和子宫颈癌的大小,淋巴转移,FIGO 分期和分级有关,水平较高的患者总体生存率较低,提示 miR-196a 可能是一个早期检测和预后判断的生物标记物^[31-32]。

在 HPV 阳性女性宫颈脱落细胞中,Tian 等^[33]发现与宫颈细胞学检查相比,单独的 miR-424,miR-375,以及 miR-424/miR-375/miR-218 多标记物联合筛查高级别 CIN 的方式更佳。此外,Zhu 等^[34]研究发现,随着宫颈病变程度上升,miR-21-5p 上升、miR-34a 下降,区分

LSIL 和 HSIL 的能力与 HPV 检测相比更具有特异性。Coimbra 等^[35]认为 Δ Np63 mRNA 和 miR-203 是有效的子宫颈癌筛查标志物,且两者间可能存在某种间接通路。

综上,miRNAs 能够在血浆水平、宫颈脱落细胞中进行检测,对 miRNAs 作用机制的研究有助于对子宫颈癌病变的理解,提高对 HPV 阳性女性的分流效能。

6 细胞角蛋白(cytokeratin,CK)

细胞角蛋白属于细胞质骨架蛋白中间丝的一种,上皮组织恶变后表达的细胞角蛋白与正常组织基本相同,因此细胞角蛋白被广泛用于肿瘤的诊断。子宫颈癌表达 CK5、CK6、CK7、CK8、CK13、CK15、CK17、CK18、CK19。

在子宫颈癌中,CIN2-3 从鳞柱交界部(squamo-columnar junction,SCJ)细胞中形成,而 CK7 IHC 能够分辨出 SCJ^[36]。Mills 等^[36]在四价 HPV 疫苗临床试验安慰剂组的 CIN1 女性中进行 CK7 IHC,结果分为阴性,斑驳的,有层次的,或全厚的图案。结果显示全厚的 CK7 染色与 CIN2+的进展有最高的相关性。Paquette 等^[37]则将 CK7 IHC 结果分为阳性(弥漫性的)和阴性,结果显示阳性 CK7 的 LSIL 更易发展为 HSIL。然而由于危险性增加幅度低,差异性小和阴道镜取材的限制,CK7 的临床应用仍有待商榷。

Escobar-Hoyos 等^[38]研究证实从正常宫颈组织,LSIL,HSIL 至宫颈癌细胞中,角蛋白 17 的表达上升,而角蛋白 4 的表达下降。角蛋白 17 的表达可以从 LSIL 患者与健康个体中分流 HSIL 与鳞状细胞癌患者,具有较高的灵敏度和特异度(分别为 94% 和 86%),认为其是一个有效的子宫颈癌前病变筛查的生物标志物。

7 小结

筛查子宫颈癌前病变对于早期治疗和预防子宫颈癌具有重要价值,寻找到一种或数种适宜的生物标志物,优化现有的筛查方法从而提高诊断的特异度和灵敏度,是目前的研究方向。尽管上述提到的生物标志物在子宫颈癌病变不同阶段有特异性的表达,能够分辨出高级别宫颈上皮内病变,但要达到临床应用的要求,仍需要前瞻性的临床试验来进一步验证和完善。

8 参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018,68(1):7-30.DOI: 10.3322/caac.21442.
- [2] Reuschenbach M, Wentzensen N, Dijkstra MG, et al. P16INK4a immunohistochemistry in cervical biopsy specimens: A systematic review and meta-analysis of the interobserver agreement[J].

- Am J Clin Pathol, 2014, 142(6):767-772. DOI: 10.1309/AJCP3TPHV4TRIZEK.
- [3] Liao GD, Sellors JW, Sun HK, et al. P16INK4A immunohistochemical staining and predictive value for progression of cervical intraepithelial neoplasia grade 1: a prospective study in China[J]. Int J Cancer, 2014, 134(7):1715-1724. DOI: 10.1002/ijc.28485.
 - [4] Darragh TM. The LAST Project and the diagnostic bottom line[J]. Cytopathology, 2015, 26(6):343-345. DOI: 10.1111/cyt.12299.
 - [5] Clinton LK, Miyazaki K, Ayabe A, et al. The LAST guidelines in clinical practice: implementing recommendations for P16 use[J]. Am J Clin Pathol, 2015, 144(6):844-849. DOI: 10.1309/AJCPUXLP7XD8OQYY.
 - [6] Pacchiarotti A, Galeotti S, Bellardini P, et al. Impact of P16(INK4a) immunohistochemistry staining on interobserver agreement on the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia[J]. Am J Clin Pathol, 2014, 141(3):367-373. DOI: 10.1309/AJCPYWWL61SVKFU.
 - [7] Solano FJ, Rush DS, Wilkinson EJ. P16INK4a immunohistochemical and histopathologic study of Pap test cases interpreted as HSIL without CIN2-3 identification in subsequent cervical specimens[J]. Int J Gynecol Pathol, 2015, 34(3):215-220. DOI: 10.1097/PGP.000000000000159.
 - [8] Pabuccu EG, Taskin S, Ustun H, et al. Diagnostic performance of P16 staining in atypical squamous cells 'cannot exclude high-grade squamous epithelial lesion' in predicting high-grade cervical pathology[J]. J Obstet Gynaecol, 2014, 34(8):730-734. DOI: 10.3109/01443615.2014.930107.
 - [9] Liu Y, Alqatari M, Sultan K, et al. Using P16 immunohistochemistry to classify morphologic cervical intraepithelial neoplasia 2: correlation of ambiguous staining patterns with HPV subtypes and clinical outcome[J]. Hum Pathol, 2017, 66:144-151. DOI: 10.1016/j.humpath.2017.06.014.
 - [10] Clark JL, Lu D, Kalir T, et al. Overdiagnosis of HSIL on cervical biopsy: errors in P16 immunohistochemistry implementation[J]. Hum Pathol, 2016, 55:51-56. DOI: 10.1016/j.humpath.2016.04.010.
 - [11] Chen CC, Huang LW, Bai CH, et al. Predictive value of P16/Ki-67 immunocytochemistry for triage of women with abnormal Papanicolaou test in cervical cancer screening: a systematic review and meta-analysis[J]. Ann Saudi Med, 2016, 36(4):245-251. DOI: 10.5144/0256-4947.2016.245.
 - [12] Fujii T, Saito M, Hasegawa T, et al. Performance of P16INK4a/Ki-67 immunocytochemistry for identifying CIN2+ in atypical squamous cells of undetermined significance and low-grade squamous intraepithelial lesion specimens: a Japanese Gynecologic Oncology Group study[J]. Int J Clin Oncol, 2015, 20(1):134-142. DOI: 10.1007/s10147-014-0688-0.
 - [13] Ziemke P, Marquardt K, Griesser H. Predictive value of the combined P16 and Ki-67 immunocytochemistry in low-grade squamous intraepithelial lesions[J]. Acta Cytol, 2014, 58(5):489-494. DOI: 10.1159/000367838.
 - [14] Killeen JL, Dye T, Grace C, et al. Improved abnormal Pap smear triage using cervical cancer biomarkers[J]. J Low Genit Tract Dis, 2014, 18(1):1-7. DOI: 10.1097/LGT.0b013e31828aeb39.
 - [15] Wright TJ, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triage HPV-positive women with P16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial[J]. Gynecol Oncol, 2017, 144(1):51-56. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.10.031.
 - [16] Ziemke P. P16/Ki-67 Immunocytochemistry in Gynecological Cytology: Limitations in Practice[J]. Acta Cytol, 2017, 61(3):230-236. DOI: 10.1159/000475979.
 - [17] 温耀兰, 张铁清. DNA 异常甲基化在宫颈癌中的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014 (20):3997-4000. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.20.053.
 - [18] Kan YY, Liou YL, Wang HJ, et al. PAX1 methylation as a potential biomarker for cervical cancer screening[J]. Int J Gynecol Cancer, 2014, 24(5):928-934. DOI: 10.1097/IGC.000000000000155.
 - [19] Li SR, Wang ZM, Wang YH, et al. Value of PAX1 Methylation Analysis by MS-HRM in the Triage of Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(14):5843-5846. DOI: 10.7314/APJCP.2015.16.14.5843.
 - [20] Wang Z M. PAX1 methylation analysis by MS-HRM is useful in triage of high-grade squamous intraepithelial lesions[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(2):891-894. DOI: 10.7314/APJCP.2014.15.2.891.
 - [21] Nikolaidis C, Nena E, Panagopoulou M, et al. PAX1 methylation as an auxiliary biomarker for cervical cancer screening: a meta-analysis[J]. Cancer Epidemiol, 2015, 39(5):682-686. DOI: 10.1016/j.canep.2015.07.008.
 - [22] Verhoef VM, van Kemenade FJ, Rozendaal L, et al. Follow-up of high-risk HPV positive women by combined cytology and bi-marker CADM1/MAL methylation analysis on cervical scrapes[J]. Gynecol Oncol, 2015, 137(1):55-59. DOI: 10.1016/j.ygyno.2015.01.550.
 - [23] van Baars R, van der Marel J, Snijders PJ, et al. CADM1 and MAL methylation status in cervical scrapes is representative of the most severe underlying lesion in women with multiple cervical biopsies[J]. Int J Cancer, 2016, 138(2):463-471. DOI: 10.1002/ijc.29706.
 - [24] Verhoef VM, Heideman DA, van Kemenade FJ, et al. Methylation marker analysis and HPV16/18 genotyping in high-risk HPV positive self-sampled specimens to identify women with high grade CIN or cervical cancer[J]. Gynecol Oncol, 2014, 135(1):58-63. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.08.003.
 - [25] Alshenawy HA. Evaluation of P16, human papillomavirus capsid protein L1 and Ki-67 in cervical intraepithelial lesions: potential utility in diagnosis and prognosis[J]. Pathol Res Pract, 2014, 210(12):916-921. DOI: 10.1016/j.prp.2014.07.007.
 - [26] Lee SJ, Lee AW, Kang CS, et al. Clinicopathological implications of human papilloma virus (HPV) L1 capsid protein immunoreactivity in HPV16-positive cervical cytology[J]. Int J Med Sci, 2014, 11(1):80-86. DOI: 10.7150/ijms.5585.
 - [27] Mehlhorn G, Hautmann SK, Koch MC, et al. HPV16-L1-specific antibody response is associated with clinical remission of high-risk HPV-positive early dysplastic lesions[J]. Anticancer

- Res, 2014,34(9):5127–5132.DOI:10.1245/s10434-014-3557-1.
- [28] Gocze K, Gombos K, Kovacs K, et al. MicroRNA expressions in HPV-induced cervical dysplasia and cancer [J]. *Anticancer Res*, 2015,35(1):523–530.PMID:25550598.
- [29] Pardini B, De Maria D, Francavilla A, et al. MicroRNAs as markers of progression in cervical cancer: a systematic review [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1):696. DOI: 10.1186/s12885-018-4590-4.
- [30] Kong Q, Tang Z, Xiang F, et al. Diagnostic Value of Serum hsa-mir-92a in Patients with Cervical Cancer [J]. *Clin Lab*, 2017,63(2):335–340.DOI: 10.7754/Clin.Lab.2016.160610.
- [31] Xin F, Liu P, Ma CF. A circulating serum miRNA panel as early detection biomarkers of cervical intraepithelial neoplasia [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016,20(23):4846–4851. PMID: 27981553.
- [32] Liu P, Xin F, Ma CF. Clinical significance of serum miR-196a in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer [J]. *Genet Mol Res*, 2015,14(4):17995–18002.DOI: 10.4238/2015.December.22.25.
- [33] Tian Q, Li Y, Wang F, et al. MicroRNA detection in cervical exfoliated cells as a triage for human papillomavirus-positive women [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2014,106(9).DOI: 10.1093/jnci/dju241.
- [34] Zhu Y, Han Y, Tian T, et al. MiR-21-5p, miR-34a, and human telomerase RNA component as surrogate markers for cervical cancer progression [J]. *Pathol Res Pract*, 2018, 214(3):374–379. DOI: 10.1016/j.prp.2018.01.001.
- [35] Coimbra EC, DA Conceição Gomes Leitão M, Júnior MR, et al. Expression Profile of MicroRNA-203 and its Δ Np63 Target in Cervical Carcinogenesis: Prospects for Cervical Cancer Screening [J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(8):3939–3946. PMID:27466497.
- [36] Mills AM, Paquette C, Terzic T, et al. CK7 Immunohistochemistry as a Predictor of CIN1 Progression: A Retrospective Study of Patients From the Quadrivalent HPV Vaccine Trials [J]. *Am J Surg Pathol*, 2017,41(2):143–152.DOI:10.1097/PAS.0000000000000747.
- [37] Paquette C, Mills AM, Stoler MH. Predictive Value of Cytokeratin 7 Immunohistochemistry in Cervical Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion as a Marker for Risk of Progression to a High-grade Lesion [J]. *Am J Surg Pathol*, 2016,40(2):236–243. DOI:10.1097/PAS.0000000000000548.
- [38] Escobar-Hoyos LF, Yang J, Zhu J. Keratin 17 in premalignant and malignant squamous lesions of the cervix: proteomic discovery and immunohistochemical validation as a diagnostic and prognostic biomarker [J]. *ModPathol*, 2014, 27(4):621–630. DOI:10.1038/modpathol.2013.166.

(收稿日期:2019-01-02)

(本文编辑:沈昱平)

(上接第 853 页)

- [J]. *Pharm Res*, 2013, 30(9):2174–2187. DOI: 10.1007/s11095-013-1007-6.
- [9] Xie Y, McGill MR. Mechanisms of acetaminophen-induced cell death in primary human hepatocytes [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 279(3): 266–274. DOI: 10.1016/j.taap.2014.05.010.
- [10] Da Rocha BA, Ritter AM, Ames FQ, et al. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: Preventive effect of trans anethole [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 86:213–220. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.12.014.
- [11] Moles A, Torres S, Baulies A, et al. Mitochondrial-Lysosomal Axis in Acetaminophen Hepatotoxicity [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:453. DOI: 10.3389/fphar.2018.00453.
- [12] Du K, Ramachandran A, McGill MR, et al. Induction of mitochondrial biogenesis protects against acetaminophen hepatotoxicity [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 108(Pt A):339–350. DOI: 10.1016/j.fct.2017.08.020.
- [13] Yan M, Huo Y, Yin S, et al. Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions [J]. *Redox Biol*, 2018, 17:274–283. DOI: 10.1016/j.redox.2018.04.019.
- [14] Bala A, Mondal C, Haldar PK, et al. Oxidative stress in inflammatory cells of patient with rheumatoid arthritis: clinical efficacy of dietary antioxidants [J]. *Inflammopharmacology*, 2017, 25(6): 595–607. DOI: 10.1007/s10787-017-0397-1.
- [15] Flint RB, Roofthoof DW, van Rongen A, et al. Exposure to acetaminophen and all its metabolites upon 10, 15, and 20 mg/kg intravenous acetaminophen in very-preterm infants [J]. *Pediatr Res*, 2017, 82(4):678–684. DOI: 10.1038/pr.2017.129.
- [16] Van derMarel CD, Anderson BJ, van Lingen RA, et al. Paracetamol and metabolite pharmacokinetics in infants [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2003, 59(3):243–251.
- [17] Alander SW, Dowd MD, Bratton SL, et al. Pediatric acetaminophen overdose: risk factors associated with hepatocellular injury [J]. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2000,154(4): 346–350.
- [18] Yu D, Wu L, Gill P, et al. Multiple microRNAs function as self-protective modules in acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans [J]. *Arch Toxicol*, 2018, 92(2):845–858. DOI: 10.1007/s00204-017-2090-y.
- [19] Benson GD, Koff RS, Tolman KG. The therapeutic use of acetaminophen in patients with liver disease [J]. *Am J Ther*, 2005, 12(2):133–141.
- [20] Schiødt FV, Lee WM, Bondesen S, et al. Influence of acute and chronic alcohol intake on the clinical course and outcome in acetaminophen overdose [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2002, 16(4):707–715.
- [21] Lauterburg BH, Velez ME. Glutathione deficiency in alcoholics: risk factor for paracetamol hepatotoxicity [J]. *Gut*, 1988, 29(9): 1153–1157.
- [22] Bromer MQ, Black M. Acetaminophen hepatotoxicity [J]. *Clin Liver Dis*, 2003,7(2):351–367.

(收稿日期:2017-11-28)

(本文编辑:俞骏文)