

Relationship between Expression of P16 and Ki-67 and Persistent Infection of HPV in Cervical Carcinoma Patients

Qunhuan Huang^{1,2}, Shaoyan Jin¹, Huan Lu¹, Ling Hong^{3*}

¹Sixth People's Hospital South Campus, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai

²Shanghai Fengxian District Central Hospital, Shanghai

³Shanghai First Maternity and Infant Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai

Email: 83944766@qq.com, *hongling789@163.com

Received: Oct. 7th, 2018; accepted: Oct. 23rd, 2018; published: Oct. 30th, 2018

Abstract

Objective: To determine the association between the expression of P16 and Ki-67 and cervical lesions, and to evaluate the role of P16 and Ki-67 as prognostic markers for persistent high risk human papillomavirus (hr-HPV) infection. **Methods:** Totally 1369 cases of cervical biopsies were enrolled, 392 cases with negative for dysplasia (NEG), 519 with cervical intraepithelial neoplasia I (CIN I), 257 with CIN II, 154 with CIN III and 47 with cervical squamous cell carcinoma (SCC). Furthermore, 306 women with CIN I were recruited into 12-month follow-up, and HPV specific gene detection by polymerase chain reaction was used to detect hr-HPV of cervical secretions at 6-month-interval for 12-month follow-up period. 133 women were infected with persistent hr-HPV, 94 with transient infection and 79 not infected with hr-HPV. The expression of P16 and Ki-67 was evaluated by immunohistochemical method. The immunostaining results of P16 and Ki-67 were classified into four categories: negative, 1+, 2+ and 3+. **Results:** There was significant increase in the expression of P16 and Ki-67 ($P < 0.01$) from NEG to SCC. There was no significant difference in the expression of P16 and Ki-67 between CIN II and CIN III ($P > 0.05$). Ratio of P16 positivity was positive correlated with persistent hr-HPV infection ($P < 0.05$). Ratios of P16 and Ki-67 in hr-HPV infection group were significantly higher than that of non-infection group ($P < 0.05$). **Conclusion:** P16 and Ki-67 can improve the diagnostic accuracy of cervical lesions. P16 expression is correlated with persistent hr-HPV infection in CIN I patients.

Keywords

Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN), Immunohistochemistry, P16, Ki-67, Human Papillomavirus (HPV)

P16和Ki-67与宫颈癌患者HPV持续性感感染

*通讯作者。

相关性研究

黄群欢^{1,2}, 金绍燕¹, 陆欢¹, 洪岭^{3*}

¹上海健康医学院附属第六人民医院南院, 上海

²上海市奉贤区中心医院, 上海

³同济大学附属第一妇婴保健院, 上海

Email: 83944766@qq.com, hongling789@163.com

收稿日期: 2018年10月7日; 录用日期: 2018年10月23日; 发布日期: 2018年10月30日

摘要

目的: 探讨P16和Ki-67表达与宫颈病变之间的关系, 评估P16和Ki-67作为高危型人乳头瘤病毒(hr-HPV)持续感染预后标记物的意义。**方法:** 纳入宫颈活检标本1369例, 无癌前病变(NEG) 392例, 宫颈上皮内瘤变I (CIN I) 519例, CIN II 257例, CIN III 154例, 鳞状细胞癌(SCC) 47例。此外, 306名CIN I患者被纳入为期12个月的随访中, 使用HPV特异性引物通过聚合酶链反应方法检测宫颈分泌物中hr-HPV, 随访期内每6个月检测一次。133名患者持续感染hr-HPV, 94名一过性感染, 79名未感染hr-HPV。免疫组织化学法检测P16和Ki-67的表达。P16和Ki-67的染色结果分为四类: 阴性, 1+, 2+和3+。**结果:** 与NEG相比CINs和SCC中P16和Ki-67的表达均显著增加($P < 0.01$)。CIN III中P16和Ki-67的表达与CIN II相比均无显著性差异($P > 0.05$)。P16阳性率与hr-HPV持续感染正相关($P < 0.05$)。hr-HPV感染患者中P16以及Ki-67阳性率显著高于未感染hr-HPV的患者($P < 0.05$)。**结论:** P16和Ki-67可提高宫颈病变的诊断准确性, P16表达与CIN I期患者hr-HPV持续感染存在相关性。

关键词

宫颈上皮内瘤变, 免疫组织化学, P16, Ki-67, 人乳头瘤病毒

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

宫颈癌是全球女性中第二大常见恶性肿瘤[1], 其起源于宫颈上皮内瘤变(CIN), 目前可通过对 CIN 的治疗有效预防宫颈癌进展。对于 CIN I 病例, 通常建议严格随访, 无需治疗[2]。而 CIN II 和 CIN III 病例则需要积极治疗, 包括宫颈锥切或宫颈环电外科切除术等。宫颈活检的组织学检查通常被认为是诊断“金标准”, 但该方法可能受到观察者和观察者间差异的影响[3] [4]。此外, 非肿瘤病变与 CINs 之间的差异和 CIN I 与 CIN II/III 之间的差异在形态学上很难找出明确界限以有效区分, 从而容易导致过度治疗或不治疗[5] [6]。因此, 宫颈病变的准确诊断对于临床医生的决策和患者的治疗均十分重要。

大多数高危型人乳头瘤病毒(hr-HPV)感染自发退化, 只有一小部分持续存在。持续的 hr-HPV 感染是 CIN 和宫颈癌发生、发展的必需条件之一[7]。因此, 使用合适的标记预测持续性 hr-HPV 感染将具有相当大的临床价值。在当前研究中, hr-HPV 的持续时间定义为 2~14 个月, 中位数为 6 个月[8] [9] [10]。

Syrjänen, K.等报道人乳头状瘤病毒持续存在 6 个月以上对疾病进行有预测意义[11]。P16INK4a (P16)是一种细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂,可调节细胞周期从 G1 期向 S 期的转变[12] [13]。Ki-67 是最近发现的一种检测细胞增殖的可靠指标[14]。已经显示 P16 和 Ki-67 在诊断 CIN 中的价值。然而,关于 P16 和 Ki-67 与 hr-HPV 持续感染的关系鲜见研究报道。本研究选择 2015 年底至 2018 年初在我院行阴道镜活检切除手术的患者,对其 P16 和 Ki-67 表达进行检测,并分析了 hr-HPV 感染与 P16 和 Ki-67 表达的相关性。

2. 材料与方法

2.1. 病例样本

本研究纳入 2015 年 10 月至 2018 年 2 月在上海健康医学院附属第六人民医院南院就诊的 1369 例细胞学检查异常的(非典型鳞状上皮细胞) ASCUS, (上皮内低度病变) LSIL, (上皮内高度病变) HSIL 或宫颈鳞癌(SCC)患者。年龄 17~69 岁(平均 30.39 岁)。纳入标准: KPS \geq 70 分; 未接受过宫颈癌根治性手术治疗; 未接受过放化疗; 无其他系统严重合并症; 无其他系统恶性肿瘤。排除标准: 不符合纳入标准者; 患有严重精神疾病者; 临床资料不全影响判断者。每个受试者接受阴道镜检查活检切除手术, 通过聚合酶链式反应(PCR)检测 hr-HPV 基因。上海健康医学院附属第六人民医院南院伦理委员会批准了所有实验程序, 并根据获得患者书面知情同意书。

将福尔马林固定的石蜡包埋组织块切成 3 μm 厚度, 切片用苏木精和伊红(H&E)染色进行常规检查。在所有活检样品中进行 P16 和 Ki-67 免疫组织化学(IHC)染色。所有 HE 染色切片首先由 2 名独立病理学家审查, 将共识诊断作为黄金标准。若诊断意见不同, 则由病理专家小组确认共识诊断。共有 306 名 CIN I 女性被纳入 12 个月的随访。在 12 个月的随访期间, 每 6 个月进行一次宫颈分泌物的 HPV 基因检测。

2.2. 免疫组织化学染色

所有标本通过间接法 IHC 染色。切片用二甲苯去石蜡, 在分级醇中水合, 用 PBS 缓冲液洗涤, 在 EDTA 溶液(pH8.0, 100 $^{\circ}\text{C}$, 2.5 分钟)中煮沸以进行抗原修复并冷却。鼠抗人 P16 抗体(1:200 稀释, 武汉博士德, BM0266), 兔抗人 Ki-67 抗体(1:50 稀释, 武汉博士德, BM4381)。IHC 染色结果的判断: P16 在细胞质或细胞核中表达, Ki-67 观察在细胞核中表达情况。P16 表达情况分级描述如下: 阴性(低于 5%), 弱阳性(1+, 5%~25%), 中等阳性(2+, 26%~50%), 强阳性(3+, 大于 50%)。为了确定 Ki-67 表达的等级, 在高倍视野(\times 400)中检查位于整个上皮层的 200 个上皮细胞的细胞核。Ki-67 阳性细胞的百分比低于 5%、5%~25%、26%~50%和大于 50%分别描述为阴性、1+、2+和 3+。

2.3. hr-HPV 基因检测

采用凯普 HPV 分型检测试剂盒(广东凯普生物有限公司), 通过聚合酶链反应(PCR)体外扩增和 DNA 芯片技术进行 DNA 提取、扩增、杂交、洗膜、显色及结果读取。15 种高危型别包括: HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68。在 12 个月的随访期间, 被诊断为 CIN I 的 306 名参与者未接受治疗。一过性感染为首次检测阳性, 而在下一次检测时针对相同 hr-HPV 基因型检测阴性。持续性 hr-HPV 感染为 12 个月的随访期间连续检测到相同的 hr-HPV 类型, 未感染表示随访期间 hr-HPV 基因检测始终为阴性结果。

2.4. 统计学分析

使用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析。使用卡方检验分析频率表, 利用 Spearman 相关法分析有序变量之间的二元相关性, 采用分层法分析 hr-HPV 感染与 P16 和 Ki-67 表达的相关性。双侧 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. P16 和 Ki-67 在宫颈病变组织中的表达

如表 1 所示, P16 和 Ki-67 的表达与宫颈病变的等级有关。NEG, CIN I, CIN II, CIN III 和 SCC 中 P16 的阳性率分别为 20.66%, 82.47%, 98.83%, 98.70% 和 100%; Ki-67 的阳性率分别为 31.38%, 80.15%, 97.28%, 98.05% 和 100%。随病变分级的上升, P16 ($P < 0.01$, 图 1) 和 Ki-67 ($P < 0.01$, 图 2) 表达显著增加。但 CIN II 和 CIN III 中 P16 ($P > 0.05$) 和 Ki-67 ($P > 0.05$) 阳性率无显著差异。

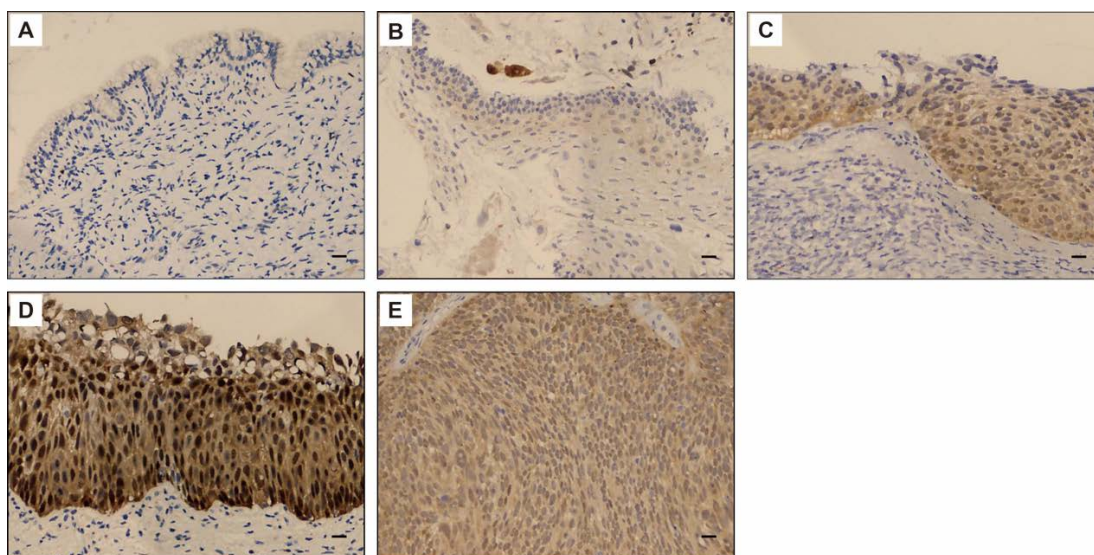


Figure 1. Immunohistochemical staining results of P16

图 1. P16 免疫组织化学染色结果。(A) 无癌前病变(NEG)阴性对照; (B) 宫颈上皮内瘤变 I (CIN I); (C) CIN I; (D) CIN III; (E) 鳞状细胞癌(SCC), 标尺 60 μm

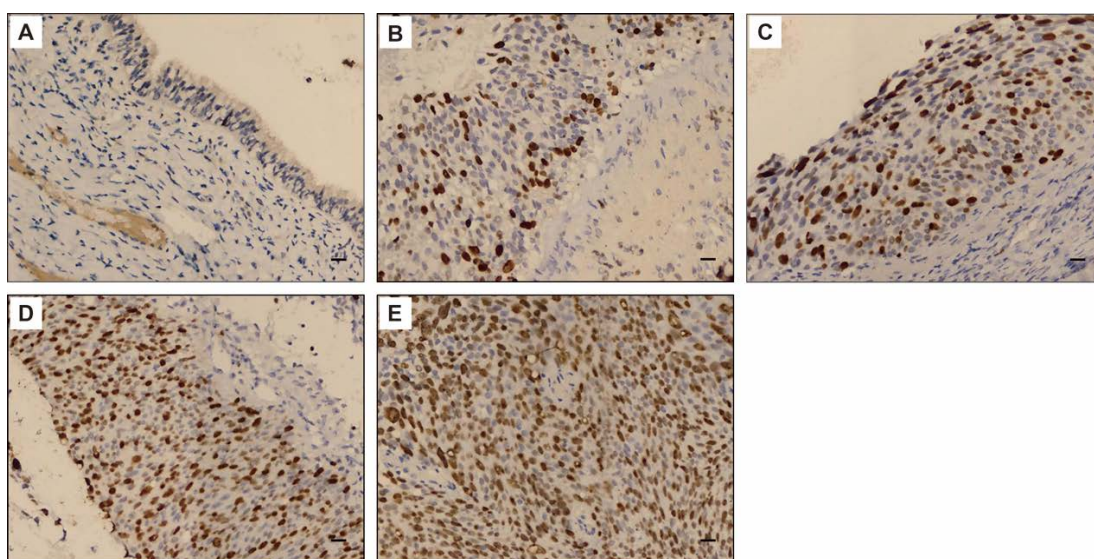


Figure 2. Immunohistochemical staining results of Ki-67

图 2. Ki-67 免疫组织化学染色结果。(A) 无癌前病变(NEG)阴性对照; (B) 宫颈上皮内瘤变 I (CIN I); (C) CIN II; (D) CIN III; (E) 鳞状细胞癌(SCC), 标尺 60 μm

Table 1. Expression of P16 and Ki-67 in different cervical lesions**表 1.** P16 和 Ki-67 在不同宫颈病变中的表达情况

	P16				Ki-67			
	阴性	1+	2+	3+	阴性	1+	2+	3+
NEG	311	61	15	5	269	116	7	0
CIN I	91	110	174	144	103	201	183	32
CIN II	3	14	27	213	7	44	131	75
CIN III	2	7	31	114	3	9	29	113
SCC	0	0	9	38	0	1	4	42
合计	407	192	256	514	382	371	354	262

注: NEG: 无癌前病变; CIN: 宫颈上皮内瘤变; SCC: 宫颈鳞癌。

3.2. P16 的表达与 Ki-67 表达正相关

P16 的表达水平与 Ki-67 的表达水平呈正相关($r = 0.641$, $P = 0.008$)。359 例 P16 和 Ki-67 双阴性病理诊断样本均为 NEG 或 CIN I(表 2)。在 P16 和 Ki-67 表达均呈强阳性(3+)的 163 例样本中有 151 例为高分级 CIN(CIN II 和 CIN III)或 SCC。2 例 P16 表达阴性的高分级 CIN 中 Ki-67 表达呈阳性。1 例 Ki-67 表达阴性的高分级 CIN 中 P16 表达呈阳性。

3.3. P16 和 Ki-67 表达与 hr-HPV 感染状态的相关性

306 名 CIN I 患者中, hr-HPV 持续性感染 133 例, 一过性感染 94 例。P16 阳性率与 HPV 持续感染状态之间存在显著相关性($P16, r = 0.364, P = 0.011$)。Ki-67 阳性率与 HPV 持续感染状态($Ki-67, r = -0.009, P = 0.974$)无显著相关性。hr-HPV 感染患者中 P16 以及 Ki-67 阳性率显著高于未感染 hr-HPV 的患者($P16, P = 0.003$; $Ki-67, P = 0.019$)(表 3)。

4. 讨论

目前只有少数可用于预测持续 hr-HPV 感染的生物标志物[15][16], 已发现 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 和 68 型 HPV 持续感染引起绝大多数 CIN 和宫颈癌, 故上述 hr-HPV 基因型被定义为“致癌”病毒类型[17][18]。许多关于 P16 和 Ki-67 免疫染色在宫颈病变中价值的研究主要集中在高分期 CIN 的诊断[19][20]。在本研究中, 我们收集了大量的样本, 并评估宫颈病变中 P16 和 Ki-67 免疫组织化学结果的价值。本研究还调查了 P16 和 Ki-67 在 CIN I 患者 hr-HPV 持续感染中的预后价值。

结果显示, CIN II, CIN III 和 SCC 中 P16 和 Ki-67 的表达高于 CIN I, 且 CIN I 和 NEG 之间有显著性差异。随着疾病进展, P16 和 Ki-67 表达显著增加。这表明 P16 和 Ki-67 免疫组织化学染色可用于评估宫颈病变。值得一提的是, 2 例 P16 阴性 CIN II/III 阳性表达 Ki-67, 1 例 Ki-67 阴性 CIN II/III 阳性表达 P16。它表明 P16 免疫染色结合 Ki-67 可以提高高级别 CIN 的诊断准确性, 并且 P16 和 Ki-67 是互补的生物标志物。P16 和 Ki-67 表达在 CIN II 和 CIN III 中无显著性差异, 提示 P16 过表达是早期事件, 且 Ki-67 在 CIN 发展过程中起作用, 但需要进一步的研究来验证。

hr-HPV 感染导致病毒基因整合到宿主基因组中, 早期基因 E7 是 hr-HPV 的重要致癌基因[21]。E7 与肿瘤抑制视网膜母细胞瘤蛋白(pRB)结合使 pRB 失活, 导致细胞周期的 G1 期到 S 期转变[22]。随后细胞中游离 E2F 的增加[23], 导致异常增殖(以 Ki-67 表达水平增加为标志)。P16 是一种 pRB 调节因子, 它是受 pRB 控制的负反馈的基础, 其失活导致 P16 的过表达[24]。对于 hr-HPV 与 P16 以及 Ki-67 表达

Table 2. Expression correlation of P16 and Ki-67**表 2.** P16 和 Ki-67 表达相关性

		P16				合计
		阴性	1+	2+	3+	
Ki-67	阴性	359	18	4	1	382
	1+	34	157	88	92	371
	2+	12	10	74	258	354
	3+	2	7	90	163	262
	合计	407	192	256	514	1369

Table 3. Correlation between P16 and Ki-67 expression and hr-HPV infection**表 3.** P16 和 Ki-67 表达与 hr-HPV 感染的相关性

	持续感染	一过性感染	未感染
P16 阴性	31	25	68
P16 阳性	102	69	11
Ki-67 阴性	59	41	57
Ki-67 阳性	74	53	22

之间的关系,多数研究者认为P16可作为hr-HPV诱导CIN的标志物之一[25],并且P16表达阳性的hr-HPV阴性样本通常被认为是假阴性。我们的研究证实,P16的阳性率与HPV感染状态之间存在显著相关性(P16, $r = 0.364$, $P = 0.011$)。但是,Ki-67阳性率与HPV感染状态之间的相关性很低(Ki-67, $r = -0.009$, $P = 0.974$)。为了研究P16和Ki-67在持续性hr-HPV感染中的作用,我们对hr-HPV检测进行了12个月的随访。在我们的研究中,由于所有入选病例都被诊断为CIN I,保证了研究人群的同质性。同时,CIN I反映了HPV的复制活性,但临床往往通过随访观察而非立即治疗,以避免过度治疗。有研究报道HPV阴性的一些病例中,P16也为阳性[26]。与未感染hr-HPV的患者相比,在hr-HPV持续感染和一过性感染患者的P16和Ki-67阳性率显著增加(P16, $P = 0.003$; Ki-67, $P = 0.019$)。这提示P16和Ki-67蛋白标志物在预测HPV感染方面具有一定的价值。但是hr-HPV感染导致P16和Ki-67表达增加的机制尚未完全明了,值得进一步研究。此外,由于本研究仅对CIN I患者进行了随访和hr-HPV感染跟踪监测,因此对于高级别宫颈病变中P16和Ki-67表达与hr-HPV持续感染的相互关系还有待研究。

5. 结论

综上所述,P16蛋白的表达对CIN I患者hr-HPV持续感染的预后具有重要意义,可考虑作为预测宫颈病变发展的辅助指标。

基金项目

上海健康医学院2016年度校种子基金重点项目(HMSF-16-21-021)。

参考文献

- [1] Chih, H.J., Lee, A.H., Colville, L., *et al.* (2013) A Review of Dietary Prevention of Human Papillomavirus-Related infection of the Cervix and Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Nutrition and Cancer*, **65**, 317-328.

- <https://doi.org/10.1080/01635581.2013.757630>
- [2] Rouzier, R. (2008) Management of CIN1. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, **37**, S114-S120. <https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2007.11.017>
- [3] Martin, C.M. and O'Leary, J.J. (2011) Histology of Cervical Intraepithelial Neoplasia and the Role of Biomarkers. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, **25**, 605-615. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2011.04.005>
- [4] Munro, A., Leung, Y., Spilsbury, K., et al. (2015) Comparison of Cold Knife Cone Biopsy and Loop Electrosurgical Excision Procedure in the Management of Cervical Adenocarcinoma *in Situ*: What Is the Gold Standard? *Gynecologic Oncology*, **137**, 258-263. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.02.024>
- [5] Chen, E.Y., Tran, A., Raho, C.J., et al. (2010) Histological 'Progression' from Low (LSIL) to High (HSIL) Squamous Intraepithelial Lesion Is an Uncommon Event and an Indication for Quality Assurance Review. *Modern Pathology*, **23**, 1045-1051. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2010.85>
- [6] Creagh, T., Bridger, J.E., Kupek, E., et al. (1995) Pathologist Variation in Reporting Cervical Borderline Epithelial Abnormalities and Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Journal of Clinical Pathology*, **48**, 59-60. <https://doi.org/10.1136/jcp.48.1.59>
- [7] Cheol Park, G., Roh, J.L., Cho, K.J., et al. (2017) 18F-FDG PET/CT vs. Human Papillomavirus, p16 and Epstein-Barr Virus Detection in Cervical Metastatic Lymph Nodes for Identifying Primary Tumors. *International Journal of Cancer*, **140**, 1405-1412. <https://doi.org/10.1002/ijc.30550>
- [8] Woodman, C.B., Collins, S.I. and Young, L.S. (2007) The Natural History of Cervical HPV Infection: Unresolved Issues. *Nature Reviews Cancer*, **7**, 11-22. <https://doi.org/10.1038/nrc2050>
- [9] Kim, Y.H., Chang, B., Choi, J.H., et al. (2016) Biochemical Fingerprints of Human Papillomavirus Infection and Cervical Dysplasia Using Cervical Fluids: Spectral Pattern Investigation. *Microscopy Research and Technique*, **79**, 966-972. <https://doi.org/10.1002/jemt.22728>
- [10] Wang, L., Wang, P., Ren, Y., et al. (2016) Prevalence of High-Risk Human Papillomavirus (HR-HPV) Genotypes and Multiple Infections in Cervical Abnormalities from Northern Xinjiang, China. *PLoS One*, **11**, e0160698. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160698>
- [11] Syrjänen, K. (2011) Persistent High-Risk Human Papillomavirus (HPV) Infections as Surrogate Endpoints of Progressive Cervical Disease. Potential New Endpoint for Efficacy Studies with New-Generation (Non-HPV 16/18) Prophylactic HPV Vaccines. *European Journal of Gynaecological Oncology*, **32**, 17-33.
- [12] Kim, T.E., Kim, H.W. and Lee, K.E. (2014) Distribution of Human Papillomavirus 52 and 58 Genotypes, and Their Expression of p16 and p53 in Cervical Neoplasia. *Korean Journal of Pathology*, **48**, 24-29. <https://doi.org/10.4132/KoreanJPathol.2014.48.1.24>
- [13] Wei, Q., Fu, B., Liu, J., et al. (2013) Combined Detection of p16 (INK4a) and IMP3 Increase the Concordance Rate between Cervical Cytologic and Histologic Diagnosis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **6**, 1549-1557.
- [14] Xing, Y., Wang, C. and Wu, J. (2017) Expression of Geminin, p16, and Ki67 in Cervical Intraepithelial Neoplasm and Normal Tissues. *Medicine (Baltimore)*, **96**, e7302. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000007302>
- [15] Serour, Y., Bendahmane, M., Abbou Baker, F., et al. (2017) HPV Test by Hybrid Capture II for the Diagnosis of HR-HPV Persistent Infection. *Médecine et Maladies Infectieuses*, **47**, 484-489. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.05.013>
- [16] Seraceni, S., De Seta, F., Colli, C., et al. (2014) High Prevalence of HPV Multiple Genotypes in Women with Persistent Chlamydia Trachomatis Infection. *Infect Agent Cancer*, **9**, 30. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-9-30>
- [17] Halec, G., Alemany, L., Lloveras, B., et al. (2014) Pathogenic Role of the Eight Probably/Possibly Carcinogenic HPV Types 26, 53, 66, 67, 68, 70, 73 and 82 in Cervical Cancer. *The Journal of Pathology*, **234**, 441-451. <https://doi.org/10.1002/path.4405>
- [18] Das, C.R., Tiwari, D., Dongre, A., et al. (2018) Deregulated TNF-Alpha Levels along with HPV Genotype 16 Infection Are Associated with Pathogenesis of Cervical Neoplasia in Northeast Indian Patients. *Viral Immunology*, **31**, 282-291. <https://doi.org/10.1089/vim.2017.0151>
- [19] Sari Aslani, F., Safaei, A., Pourjabali, M., et al. (2013) Evaluation of Ki67, p16 and CK17 Markers in Differentiating Cervical Intraepithelial Neoplasia and Benign Lesions. *Iranian Journal of Medical Sciences*, **38**, 15-21.
- [20] You, K., Guo, Y.L., Geng, L., et al. (2013) Correlation of Cervical Intraepithelial Neoplasia with Expressions of p16 and Ki67 in Exfoliated Cervical Cells in Fluid-Based Thin-Layer Samples. *European Journal of Gynaecological Oncology*, **34**, 535-539.
- [21] Volpi, C.C., Ciniselli, C.M., Gualeni, A.V., et al. (2018) *In Situ* Hybridization Detection Methods for HPV16 E6/E7 mRNA in Identifying Transcriptionally Active HPV Infection of Oropharyngeal Carcinoma: An Updating. *Human*

- Pathology*, **74**, 32-42. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2017.09.011>
- [22] Rabachini, T., Boccardo, E., Andrade, R., *et al.* (2018) HPV-16 E7 Expression Up-Regulates Phospholipase D Activity and Promotes Rapamycin Resistance in a pRB-Dependent Manner. *BMC Cancer*, **18**, 485. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4392-8>
- [23] Guo, C.P., Liu, K.W., Luo, H.B., *et al.* (2011) Potent Anti-Tumor Effect Generated by a Novel Human Papillomavirus (HPV) Antagonist Peptide Reactivating the pRb/E2F Pathway. *PLoS ONE*, **6**, e17734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017734>
- [24] Dreyer, J.H., Hauck, F., Barros, M.H.M., *et al.* (2017) pRb and CyclinD1 Complement p16 as Immunohistochemical Surrogate Markers of HPV Infection in Head and Neck Cancer. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, **25**, 366-373. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000309>
- [25] Liu, Y., Alqatari, M., Sultan, K., *et al.* (2017) Using p16 Immunohistochemistry to Classify Morphologic Cervical Intraepithelial Neoplasia 2: Correlation of Ambiguous Staining Patterns with HPV Subtypes and Clinical Outcome. *Human Pathology*, **66**, 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2017.06.014>
- [26] Golusinski, P., Pazdrowski, J., Szewczyk, M., *et al.* (2017) Is Immunohistochemical Evaluation of p16 in Oropharyngeal Cancer Enough to Predict the HPV Positivity? *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy*, **22**, 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.rpor.2017.01.003>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8712, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: acm@hanspub.org