

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.33.010

MMP-2、Galectin-3、Cx43 与胃癌侵袭和转移的关系 *

周红凤¹ 胡晓薇¹ 栾英红² 李迎君¹ 陈桂云¹ 刘文明¹ 李 凌¹岳晓龙¹ 和文杰¹ 王 雯¹ 张 波¹ 吴 瑾^{1△}

(1 哈尔滨医科大学附属第三医院内七科 黑龙江 哈尔滨 150081; 2 哈尔滨市第七医院 黑龙江 哈尔滨 150050)

摘要 目的:通过检测胃癌组织和癌旁组织中 MMP-2、Galectin-3、Cx43 的表达情况,研究它们与胃癌发生、发展、侵袭及转移的关系。**方法:**应用免疫组织化学(SP法)法检测 MMP-2、Galectin-3、Cx43 在胃癌组织和癌旁组织中的表达情况。**结果:**MMP-2、Galectin-3 在胃癌组织中的阳性表达均明显高于胃癌癌旁组织($P<0.05$),并且均与浸润深度、淋巴结转移情况和临床分期明显相关($P<0.05$);MMP-2 与胃癌的分化程度有关,而 Galectin-3 与胃癌的分化程度无关;Cx43 在 20 例胃癌癌旁组织中的阳性表达率达 100%,在胃癌组织中阳性表达率为 39.7%,在癌旁组织中的阳性表达明显高于胃癌组织,具有统计学意义($P<0.05$),Cx43 的表达在胃癌的分化程度、浸润深度、淋巴结转移情况及临床分期方面存在显著差异,具有统计学意义 ($P<0.05$);MMP-2 阳性表达与 Cx43 阳性表达呈负相关($P=0.02, r=-0.292$),而与 Galectin-3 阳性表达均为正相关($P=0.003, r=0.344$)。**结论:**在胃癌的发生、发展过程中 Galectin-3 与 MMP-2 有促进作用,而 Cx43 有抑制作用,三者对胃癌的侵袭和转移中均发挥重要作用。

关键词:胃癌;MMP-2;Galectin-3;Cx43

中图分类号:R735.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2014)33-6441-05

The Relationship between Invasion and Metastasis of Gastric Cancer and MMP-2, Galectin-3 and Cx43*

ZHOU Hong-feng¹, HU Xiao-wei¹, LUAN Ying-hong², LI Ying-jun¹, CHEN Gui-yun¹, LIU Wen-ming¹,LI Ling¹, YUE Xiao-long¹, HE Wen-jie¹, WANG Wen¹, ZHANG Bo¹, WU Jin^{1△}

(1 Internal medicine, The third Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081 China;

2 The Seventh Hospital of Harbin City, Harbin, Heilongjiang, 150050, China)

ABSTRACT Objective: Study the relationship between development, invasion and metastasis of gastric cancer and MMP-2, Galectin-3 and Cx43 by detecting the expression of Cx43 MMP-2 and Galectin-3 in gastric cancer tissues and adjacent tissues. **Methods:** Immunohistochemistry (SP method) was used to detect the expression of MMP-2, Galectin-3, Cx43 in gastric cancer tissues and adjacent tissues. **Results:** The positive expression level of MMP-2, Galectin-3 in gastric carcinoma were significantly higher than the adjacent gastric cancer tissues ($P<0.05$), and were significantly associated with depth of invasion, lymph node metastasis and clinical stage ($P<0.05$); The positive expression level of MMP-2 had related to the degree of differentiation of gastric cancer, but Galectin-3 had nothing to do with the degree of differentiation of gastric cancer; In 20 cases, the positive expression rate of Cx43 was 100% in adjacent gastric cancer tissues, 39.7% in gastric cancer tissues. So the positive expression rate of Cx43 in adjacent gastric cancer tissues was statistical significantly higher than in gastric cancer, depth of invasion, lymph node metastasis and clinical staging had different effect on the positive expression of Cx43 ($P<0.05$); The positive expression level of MMP-2 and Cx43 were negatively correlated ($P=0.02, r=-0.292$), and the positive expression level of MMP-2 and Galectin-3 were positively correlated ($P=0.003, r=0.344$). **Conclusion:** Galectin-3 and MMP-2 promote the development of gastric cancer, Cx43 inhibit it. All three play an important role in the invasion and metastasis of gastric cancer.

Key word: Gastric cancer; MMP-2; Galectin-3; Cx43

Chinese Library Classification (CLC): R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)33-6441-05

前言

目前,胃癌在我国各种恶性肿瘤中居前位,其发病率及死亡率均很高,尤其死亡率居高不下,这与肿瘤的侵袭和转移有

着密切的关系。肿瘤的侵袭转移是一个复杂、多步骤、多因素共同参与的、渐进的过程。参与胃癌侵袭和转移过程的因子有很多,其中半乳糖凝集素-3 (Galectin-3)、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)、连接蛋白(Cx)等因子已成为当前研究热点,本实验采

* 基金项目:黑龙江省卫生厅科研课题(2007-406);黑龙江省卫生厅科研课题(2007-397);哈尔滨医科大学附属肿瘤医院院内基金(JJ2009-34)

作者简介:周红凤(1971-),女,博士,副主任医师,主要研究方向:主要从事消化道肿瘤的诊疗、治疗方面的研究, E-mail: 13351782022@163.com

△ 通讯作者:吴瑾,电话:0451-86298730, E-mail: 710404-710516@163.com

(收稿日期:2014-06-24 接受日期:2014-07-22)

用 S-P 染色法测定 MMP-2、Galectin-3 和 Cx43 在胃癌及正常癌旁组织中的表达,评估三者在胃癌不同临床分期和病理类型中的表达阳性率及其差异,来进一步研究其在胃癌侵袭及转移中的作用和意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集哈尔滨医科大学附属第三医院病理科 2004 年至 2005 年 73 例胃癌术后蜡块标本,从中选取 20 例癌旁非癌组织(距癌组织大于 5 厘米,组织学证实无癌前病变及癌组织)。全部病例均经手术和常规病理证实,术前未行任何化疗、放疗。其中男性 59 例,女性 14 例,年龄 38 岁到 83 岁,平均年龄 59.21 岁;其中高、中分化腺癌 30 例、低分化腺癌 43 例;有淋巴结转移 54 例,无淋巴结转移 19 例;根据 2010 年国际抗癌联盟 / 美国癌症联合委员会 (UICC/AJCC) TNM 分期标准进行临床分期: I 期 + II 期 34 例, III + IV 期 39 例。每个病理的蜡块切片 5 张,分别作预实验、免疫组化染色之用。

1.2 主要试剂及方法

Galectin-3 鼠抗人单克隆抗体及 MMP-2 兔抗人单克隆抗体(北京康为世纪生物科技有限公司)、兔抗人 Cx43 多克隆抗体(Zymed)、DAB 显色试剂盒及 SP 免疫组化试剂盒(北京中杉金桥生物有限公司)。本实验采用 SP 免疫组织化学染色法,用 PBS 液替代一抗做阴性空白对照,已知正常胃组织切片做阳性对照。

1.3 结果判读

采用半定量方法进行免疫组化结果评分:由专业的病理医师采用双盲法进行观察,并且每一张切片取 10 个高倍视野进行观察,1.根据显色细胞的比例进行评分:阳性细胞数 <5% 为

0 分,5%~15% 为 1 分,16%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分,76%~100% 为 4 分;2. 根据细胞显色有无及深浅进行评分:0 分:不着色;1 分:淡黄色;2 分:棕黄色;3 分:棕褐色;两项分数相加,0 分:阴性(-);1~4 分:弱阳性(+);>4 分:强阳性(++/+++)^[1]。

1.4 统计学分析

所用数据资料采用 SPSS 19.0 软件包进行统计学分析,以 χ^2 检验进行定性资料组间显著性分析,相关性分析采用 Spearman's rho 等级相关进行分析。检验标准以 $P < 0.05$ 为差异有显著的统计学意义。

2 结果

2.1 Galectin-3、MMP-2 和 Cx43 在胃癌组织中表达情况

MMP-2 的阳性表达在胃癌细胞中主要呈胞浆表达,部分癌细胞呈核表达(图 1a);Galectin-3 的阳性表达主要位于胃癌细胞的胞浆(图 2a),Cx43 的阳性表达主要分布在细胞膜、细胞质处(图 3a),三者的阳性显色均为黄色或棕黄色颗粒。MMP-2、Galectin-3 在胃癌癌旁组织中的阳性表达明显低于癌组织($P < 0.05$,见表 1),在是否侵及浆膜、有无淋巴结转移以及临床分期方面存在显著性差异($P < 0.05$,见表 1),均与性别及年龄无关;MMP-2 与胃癌的分化程度有关,而 Galectin-3 与胃癌的分化程度无关(见表 1);Cx43 在 20 例胃癌癌旁组织中的阳性表达率达 100%,在胃癌组织中阳性表达率为 39.7%,在癌旁组织中的阳性表达明显高于胃癌组织,具有统计学意义($P < 0.05$,见表 1),Cx43 的表达在胃癌的病理分化程度、是否侵及浆膜、临床分期及有无淋巴结转移方面存在显著差异($P < 0.05$,见表 1),而在性别及年龄方面无差异。

2.2 采用 Spearman's rho 方法检测 MMP-2、Galectin-3、Cx43 三者之间的相关性

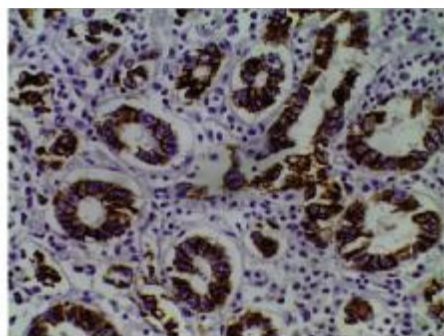


图 1a MMP-2 在胃癌组织中的阳性表达 (SP × 100)

Fig. 1a MMP-2 positive expression in gastric cancer tissue (SP × 100)

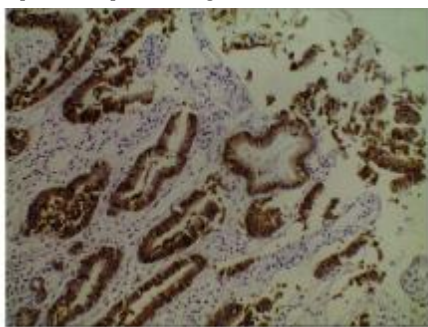


图 2a Galectin-3 在胃癌组织中的阳性表达 (SP × 100)

Fig. 2a Galectin-3 positive expression in gastric cancer tissue (SP × 100)

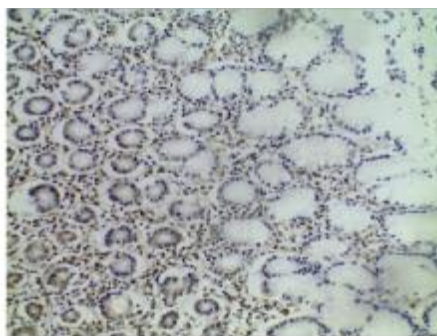


图 1b MMP-2 在胃癌癌旁组织中的阴性表达 (SP × 100)

Fig. 1b MMP-2 negative expression in gastric cancer tissue (SP × 100)

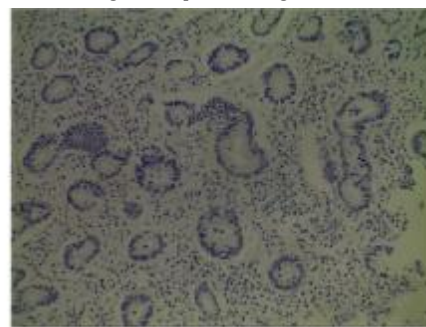


图 2b Galectin-3 在胃癌癌旁组织中的阴性表达 (SP × 100)

Fig. 2b Galectin-3 negative expression in gastric cancer tissue (SP × 100)

结果显示:MMP-2 阳性表达与 Cx43 阳性表达呈负相关 (P=0.02,r=-0.292 ,见表 2),而与 Galectin-3 阳性表达均为正相关(P=0.003,r=0.344,见表 2);Galectin-3 阳性表达与 Cx43 阳性表达无相关性 (P=0.389,r= -0.102,见表 3)

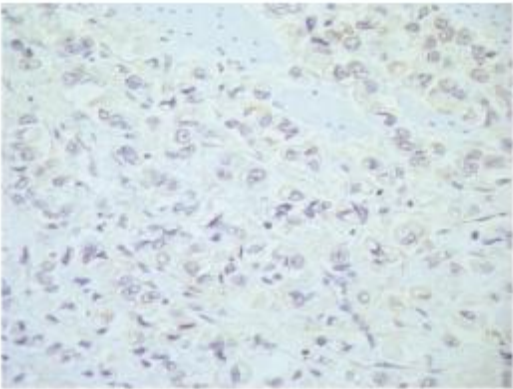


图 3a Cx43 在胃癌组织中的阴性表达(SP× 100)

Fig. 3a Cx43 positive expression in gastric cancer tissue(SP × 100)

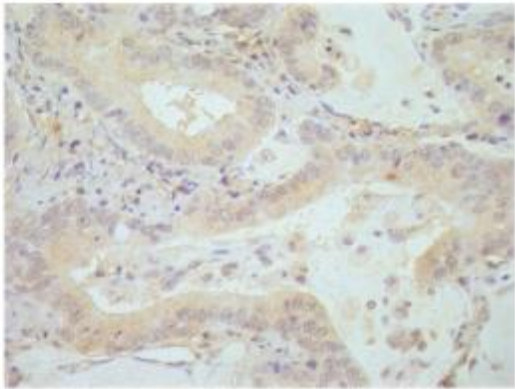


图 3b Cx43 在胃癌癌旁组织中的阳性表达(SP× 100)

Fig. 3b Cx43 negative expression in gastric cancer tissue(SP × 100)

表 1 胃癌患者组织 Galectin-3、MMP-2 和 Cx43 表达与临床病理特征的关系

Table 1 The relationship between expression of Galectin-3, MMP-2, Cx43 and clinical Pathological factors in gastric cancer tissue

Clinical features	n	Galectin-3		P	MMP-2		P	Cx43		P
		++/+++	-/+		++/+++	-/+		++/+++	-/+	
gender:										
Male:	59	48	11		41	18		23	36	
Female:	14	11	3	>0.05	9	5	>0.05	6	8	>0.05
Age(Years):										
<60	37	31	6		26	11		15	22	
≥ 60	36	28	8	>0.05	24	12	>0.05	14	22	>0.05
Degree of Pathologic:										
High/Middling:	30	24	6		15	15		26	4	
Low:	43	35	8	>0.05	35	8	<0.05	3	40	<0.05
Invading the serosa:										
No	16	9	7		6	10		10	6	
Yes	57	50	7	<0.05	44	13	<0.05	19	38	<0.05
Lymphatic metastasis:										
No	19	12	7		9	10		15	4	
Yes	54	47	7	<0.05	41	13	<0.05	14	40	<0.05
TNM:										
Phase I+II	34	24	10		19	15		23	11	
Phase III+IV	39	35	4	<0.05	31	8	<0.05	6	33	<0.05
Total:	73	59	14		50	23		29	44	
para-carcinoma tissue:	20	8	12	<0.05	7	13	<0.05	20	0	<0.05

表 2 MMP-2 表达与 Cx43、Galectin-3 表达的相关性

Table 2 orrelation between the expression of MMP-2 , Cx43 and Galectin-3

MMP-2	Cx43		Total	P	r	Galectin-3		Total	P	r
	+++ / ++	+ / -				+++ / ++	+ / -			
+++ / ++	14	36	50			45	5	5	50	
+ / -	15	8	23	0.02	-0.292	14	9	23	0.003	0.344
Total	29	44				59	14			

表 3 Galectin-3 表达与 Cx43 表达的相关性

Table 3 Correlation between the expression of Galectin-3 and Cx43

Galectin-3	Cx43		Total	P	r
	+++ / ++	+ / -			
+++ / ++	22	37	59		
+ / -	7	7	14	0.389	-0.102
Total	29	44			

3 讨论

胃癌之所以死亡率居高不下的原因是肿瘤的侵袭和转移。Galectin 是一种内源性凝集素,其中 Galectin-3 是这个家族中最重要的一员,分布在肿瘤细胞和正常细胞中,能结合特异性的细胞表面糖蛋白^[2],与肿瘤的生长、凋亡、粘附、侵袭和转移关系密切,这种密切关系在多种恶性肿瘤中得到证实^[3-5]。

本研究结果显示,Galectin-3 在胃癌癌旁组织中的阳性表达明显低于癌组织,在是否侵及浆膜、有无淋巴结转移以及临床分期方面存在显著性差异,这与国内外一些学者的研究结果相似,其机制可能是涉及到肿瘤细胞、细胞外基质与间质微环境的相互作用^[6-10]。ECM 在肿瘤的侵袭及转移过程中起到非常重要作用,Galectin-3 能调节 ECM 与肿瘤细胞的结合,有研究报道,乳腺癌细胞系感染了 Galectin-3,可以使细胞表面的整合素和 Galectin-3 的表达明显增加,使细胞与细胞外基质、层粘蛋白的粘附作用增强,整合素还在细胞侵袭和转移中有重要作用,能直接调节细胞在 ECM 中移行,同时也能调节 MMP-2 的表达^[12]。

MMP-2 是基质金属蛋白酶 (MMPs) 家族中的主要成员之一,对细胞增殖有促进作用,对细胞凋亡有抑制作用,具有逃避自身免疫监视的功能^[13]。近年来,在越来越多的恶性肿瘤中发现 MMP-2 的表达明显高于其在正常组织或良性肿瘤,且与肿瘤的侵袭性、淋巴转移相关^[14]。我们的研究结果与之相同,MMP-2 在胃癌癌旁组织中的阳性表达明显低于癌组织,在是否侵及浆膜、有无淋巴结转移以及临床分期方面存在显著性差异,有统计学意义。大量的研究表明,通过分泌 MMP-2 肿瘤细胞完成对基质降解,基质屏障受到破坏,使肿瘤发生侵袭和转移^[15]。

细胞间存在间隙连接(GJ),间隙连接介导相邻细胞间的连接通讯(GJIC),对细胞的分化和生长有协调作用。间隙连接是由间隙连接蛋白(Cx)组成,Cx 是一种抑癌基因,随着近年来对 Cx 的研究逐步深入,发现恶性肿瘤与 Cx 关系密切,在许多恶性肿瘤中 Cx 基因常处于失活状态,严重被抑制。Cx 表达减少或缺失可造成 GJIC 功能减退,细胞间的信号传递受到影响,造成内

环境的不稳定,使肿瘤细胞发生恶性转化^[1]。Lee HJ^[16]等通过基因转染诱导 Cx 基因的表达后,转化细胞的生长和肿瘤的形成被抑制。我们的结果证实 Cx43 在癌旁组织中的阳性表达明显高于胃癌组织,随着胃癌分化程度越差、浸润深度越深、出现淋巴结转移及临床分期越晚 Cx43 表达越低,这些均进一步说明 Cx43 是一种抑癌基因。

本实验结果还显示 MMP-2 与 Cx43 呈负相关,Galectin-3 与 MMP-2 呈正相关。这可能是激活的单核细胞可以通过增强 Cx43 构建的缝隙连接通道而释放 MMP-2 和 MMP-3^[17]。通过体外实验证实了 MMP-2 和 MMP-9 可以抑制 OG 的活性,并且合成的荧光肽和重组 galectin-3 为 MMP 的底物^[18]。MMP-2、MMP-9 的结合位点位于 Galectin-3 的 N 末端结构上,Galectin-3 末端片段是由 Galectin-3 被 MMP 分解后产生一个的氨基酸残基和一个糖识别域组成,研究证实 MMP-2 的高表达与肿瘤的侵袭及转移关系密切,而 MMP-2 和 Galectin-3 在恶性肿瘤中的表达呈正相关,因此推断 Galectin-3 在肿瘤的侵袭和转移中有可能起到协同作用^[19,20]。

总之,在胃癌的发生、发展过程中 Galectin-3 与 MMP-2 有促进作用,而 Cx43 有抑制作用,三者在胃癌的侵袭和转移中均发挥重要作用,联合检测 Galectin-3、MMP-2 及 Cx43 对判断胃癌的恶性程度和预后有很大帮助,可以为胃癌患者的治疗提供重要的参考依据。

参考文献(References)

- [1] 吴瑾,周红凤,王翠华,等.胃癌中连接蛋白 32 和 43 的表达及细胞间隙连接通讯功能的研究[J].中华肿瘤杂志,2007,29(10):742-747
Wu Jin, Zhou Hong-feng, Wang Cui-hua, et al. Decreased expression of Cx32 and Cx43 and their function of gap junction intercellular communication in gastric cancer[J]. Chin j Oncol, 2007, 29(10):742-747
- [2] Kiwaki K, Novak CM, Hsu DK, et al. Galectin-3 stimulates preadipocyte proliferation and is up-regulated in growing adipose tissue[J]. Obesity (Silver Spring, Md.), 2007, 15(1): 32-39
- [3] Fukumori T, Takenaka Y, Yoshii T, et al. CD29 and CD7 mediate galectin-3-induced type II T-cell apoptosis [J]. Cancer Res, 2003, 63(23): 8302-8311

- [4] Iurisci I, Tinari N, Natoli C, et al. Concentrations of galectin-3 in the sera of normal controls and cancer patients[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(4): 1389-1393
- [5] Nio J, Takahashi-Iwanaga H, Morimatsu M, et al. Immunohistochemical and in situ hybridization analysis of galectin-3, a beta-galactoside binding lectin, in the urinary system of adult mice[J]. Histochem Cell Biol, 2006, 126(1): 45-56
- [6] Saussez S, Decaestecker C, Mahillon V, et al. Galectin-3 upregulation during tumor progression in head and neck cancer [J]. Laryngoscope, 2008, 118(9): 1583-1590
- [7] Miranda FA, Hassumi MK, Guimaraes MC, et al. Galectin-3 overexpression in invasive laryngeal carcinoma, assessed by computer-assisted analysis [J]. J Histochem Cytochem, 2009, 57(7): 665-673
- [8] Saleh HA, Feng J, Tabassum F, et al. Differential expression of galectin-3, CK19, HBME1, and Ret oncoprotein in the diagnosis of thyroid neoplasms by fine needle aspiration biopsy [J]. Cytojournal, 2009, 6: 18
- [9] 据晨焰, 胡小云, 张文昌, 等. 胃癌组织中 Galectin-3 和 VEGF 的表达及其临床意义[J]. 南昌大学学报: 医学版, 2010, 50(3): 25-28
Ju Chen-yan, Hu Xiao-yun, Zhang Wen-chang, et al. Galectin-3 and VEGF expression in gastric cancer tissue and its clinical significance [J]. Journal of Nanchang university: medicine, 2010, 50(3): 25-28
- [10] Wongkham S, Junking M, Wongkham C, et al. Suppression of galectin-3 expression enhances apoptosis and chemosensitivity in liver fluke-associated cholangiocarcinoma [J]. Cancer Sci, 2009, 100(11): 2077-2084
- [11] Matarrese P, Fusco O, Tinari N, et al. Galectin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties[J]. Int J Cancer, 2000, 85(4): 545-554
- [12] Ivaska J, Heino J. Adhesion receptors and cell invasion: mechanisms of integrin-guided degradation of extracellular matrix [J]. Cell Mol Life Sci, 2000, 57(1): 16-24
- [13] Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting[J]. FEBS J, 2011, 278(1): 16-27
- [14] Zheng H, Takahashi H, Murai Y, et al. Expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF are closely linked to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma [J]. Anticancer Res, 2006, 26(5A): 3579-3583
- [15] Osinsky SP, Ganusevich II, Bubnovskaya LN, et al. Hypoxia level and matrix metalloproteinases-2 and -9 activity in Lewis lung carcinoma: correlation with metastasis [J]. Exp Oncol, 2005, 27(3): 202-205
- [16] Lee HJ, Rhee SK. Growth-suppressing activity of the transfected Cx26 on BICR-M1Rk breast cancer cell line [J]. J Microbiol Biotechnol, 2011, 21(5): 477-482
- [17] Eugenin EA, Branes MC, Berman JW, et al. TNF-alpha plus IFN-gamma induce connexin43 expression and formation of gap junctions between human monocytes/macrophages that enhance physiological responses[J]. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 2003, 170(3): 1320-1328
- [18] Nangia-Makker P, Raz T, Tait L, et al. Ocimum gratissimum retards breast cancer growth and progression and is a natural inhibitor of matrix metalloproteinases[J]. Cancer Biol Ther, 2013, 14(5): 417-427
- [19] Ochieng J, Fridman R, Nangia-Makker P, et al. Galectin-3 is a novel substrate for human matrix metalloproteinases-2 and -9 [J]. Biochemistry, 1994, 33(47): 14109-14114
- [20] Zucker S, Cao J, Chen WT. Critical appraisal of the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment [J]. Oncogene, 2000, 19(56): 6642-6650

(上接第 6440 页)

- [10] Szalmá s A, KÓ nya J. Epigenetic alterations in cervical carcinogenesis[J]. Semin Cancer Biol, 2009, 19(3): 144-152
- [11] Goncalves MA, Le Discorde M, Simoes RT, et al. Classical and non-classical HLA molecules and p16 (INK4a) expression in precursors lesions and invasive cervical cancer [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2008, 141(1): 70-74
- [12] 曹永成, 耿明, 郑金锋, 等. P16, P15 及 PCNA 在子宫颈癌中的表达及临床病理意义[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(04): 21-22
Cao Yong-cheng, Geng Ming, Zheng Jin-feng, et al. Expression and clinical significance of P16, P15 and PCNA in uterine cervical carcinoma [J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2008, 16(4): 21-22
- [13] Mulvany NJ, Allen DG, Wilson SM. Diagnostic utility of p16INK4a: a reappraisal of its use in cervical biopsies[J]. Pathology, 2008, 40(4): 335-344
- [14] Braganca JF, Sarian LO, Pitta DR, et al. Expression of p16 and cervical infection with high-risk human papillomavirus are not related to p53 activity in cervical intraepithelial neoplasia [J]. Int J Gynecol Cancer, 2008, 18(5): 1060-1064
- [15] Smedts F, Ramaekers FC, Hopman AH. CK17 and p16 expression patterns distinguish (atypical) immature squamous metaplasia from high-grade cervical intraepithelial neoplasia[J]. Histopathology, 2008, 52(4): 515-516; author reply 516-517
- [16] Iaconis L, Hyjek E, Ellenson LH, et al. p16 and Ki-67 immunostaining in atypical immature squamous metaplasia of the uterine cervix: correlation with human papillomavirus detection [J]. Arch Pathol Lab Med, 2007, 131(9): 1343-1349
- [17] Meyer JL, Hanlon DW, Andersen BT, et al. Evaluation of p16INK4a expression in ThinPrep cervical specimens with the CINtec p16^{INK4a} assay: correlation with biopsy follow-up results[J]. Cancer, 2007, 111(2): 83-92
- [18] Guo M, Baruch AC, Silva EG, et al. Efficacy of p16 and ProExC immunostaining in the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma[J]. Am J Clin Pathol, 2011, 135(2): 212-220
- [19] Tosun G, Sendag F, Zeybek B, et al. Immunohistochemical expressions of p16 and p53 proteins in cervical intraepithelial neoplasia and in benign cervical tissue [J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2010, 31(6): 627-631
- [20] Dijkstra MG, Heideman DA, de Roy SC, et al. p16 (INK4a) immunostaining as an alternative to histology review for reliable grading of cervical intraepithelial lesions [J]. J Clin Pathol, 2010, 63(11): 972-977
- [21] Nasioutziki M, Daniilidis A, Dinas K, et al. The evaluation of p16^{INK4a} immunoexpression/immunostaining and human papillomavirus DNA test in cervical liquid-based cytological samples [J]. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21(1): 79-85