

• 临床检验研究论著 •

# 282 例宫颈癌前病变快速 HPV 基因检查的结果分析

陈伟红, 蓝 杰

(广东武警边防总队机动支队卫生队, 广东深圳 518000)

**摘要:**目的 评价人乳头瘤病毒(HPV)检测在筛查女性早期宫颈癌前病变中的临床研究价值。方法 对 282 例宫颈筛查的患者行宫颈的脱落细胞采集,同时做液基薄层细胞学(TCT)检查及 HPV 基因分型检测。对结果异常者行病理组织学检查,以病理检查结果为诊断金标准。结果 HPV DNA 阳性组(126 例)液基细胞学检查无上皮内病变细胞(NILM)53 例、意义不明的非典型鳞状上皮细胞(ASCUS)22 例、低度鳞状上皮内病变(LSIL)32 例、高度鳞状上皮内病变(HSIL)18 例、鳞状细胞癌(SCC)1 例,病理组织检查阳性率为 42.86%。HPV DNA 阴性组(156 例)液基细胞学检查 NILM 133 例、ASCUS 16 例、LSIL 7 例,病理组织检查阳性率为 11.54%。2 组患者病理阳性率比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。高危型 HPV 的检出率随宫颈病变程度增高而升高。结论 女性早期宫颈癌及其癌前病变筛查行 HPV 检测有重要现实意义。

**关键词:**人乳头瘤病毒; 液基薄层细胞学; 基因分型; 宫颈癌前病变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)11-1426-03

## The results analysis of the rapid detection of HPV genotype in 282 cervical cancer precursor cases

Chen Weihong, Lan Jie

(Medical Team of Flexible Detachment, Armed Police Frontier Corps of Guangdong, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

**Abstract:**Objective To evaluate the clinical values of human papilloma virus(HPV) testing in screening for women of early cervical cancer lesion. **Methods** 282 cases of cervical screening of patients had received cervical exfoliated cells collection, at the same time for a liquid thin-layer cytology test(TCT) and HPV genotyping detection. Abnormal results received histologic examination, the results regarded as the diagnostic gold standard by pathological examination. **Results** In HPV DNA positive group(126 cases), by liquid based cytology, NILM, ASCUS, LSIL, HSIL and SCC were found in 53, 22, 32, 18, 1 cases, respectively. Histopathologic examination positive rate was 42.86%. In HPV DNA negative group(156 cases), there were 133 cases with NILM, 16 cases with ASCUS, and 7 cases with LSIL. Histopathologic examination positive rate was 11.54%. Two groups of patients with pathologic positive rate compared, the difference was statistically significant( $P < 0.01$ ). High risk type HPV detection rate increased with the increased degree of cervical lesions. **Conclusion** Women of early cervical cancer and precancerous lesions in the screening line HPV detection has important significance.

**Key words:** human papilloma virus; thinprep cell test; genotype; cervical cancer precursor

宫颈癌是目前公认的世界上第二高发的妇女肿瘤,与人乳头瘤病毒(HPV)的密切关系得到广泛认可,HPV 感染在宫颈病变的发生、发展过程中起关键作用。由于 HPV 感染的特性以及从癌前病变致宫颈癌的发展时间过程,为二级预防提供了很好的治疗窗口,使人们能够对 HPV 致病做到早发现、早诊断、早治疗。因此,宫颈癌的筛查对于女性身体健康有着重要意义。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 对象选取 2011~2012 年在广东武警边防总队医院妇科门诊就诊,并进行宫颈 HPV 筛查的患者 282 例,年龄 22~59 岁,平均年龄 28.5 岁。研究对象均有不同程度的宫颈炎症,无宫颈手术史,无放射史,取样前 1 d 禁性生活。患者知情并同意做液基薄层细胞学(TCT)检查和 HPV 基因分型检测。

### 1.2 方法

**1.2.1 TCT 检查** 医护人员用专用宫颈刷插入女性宫颈内口 2~3 cm,紧贴内口轻柔旋转 3~4 周后缓慢取出,立即将其放入装有细胞保存液的洗脱管中,轻轻搅拌,使细胞完全融入。再用细胞自动制片机,通过系统程序控制,最终制成高量细胞薄层涂片,HE 染色后由病理科检片。细胞学诊断采用 TBS

标准<sup>[1]</sup>,诊断包括:无上皮内病变细胞(NILM)、意义不明的非典型鳞状上皮细胞(ASCUS)、低度鳞状上皮内病变(LSIL)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)和鳞状细胞癌(SCC)。

**1.2.2 HPV 基因分型检测** 采用反向点杂交-PCR 法,可高通量检测 HPV 的 23 个亚型(18 种高危型、5 种低危型)。实验检测试剂盒由亚能生物技术(深圳)有限公司提供。基因扩增仪为美国 Biorad MJ Mini 梯度 PCR 仪,分子杂交仪为韩国 FINEPCR Combi-V12 仪。实验具体操作方法按仪器和试剂说明书标准操作程序进行。

**1.2.3 阴道镜和病理学检查** 阴道镜观察宫颈上皮细胞形状和颜色的改变,对可疑区多点取样并送病理科组织活检。根据细胞病变的程度和范围,病理学诊断分为 NILM、宫颈上皮内癌变(CIN) I、II、III 级及宫颈浸润癌。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据录入和统计学处理。用  $\chi^2$  检验分析不同方法组和不同病变程度组差异,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1 HPV DNA 检测与 TCT 检查结果** 282 例宫颈筛查患者 HPV DNA 阳性 126 例,占 44.68%。将 ASCUS 以上病变作为细胞学病变阳性诊断,TCT 检查阳性 96 例,占 34.04%。

HPV DNA 阳性组中细胞病变阳性率为 57.94%(73/126), HPV DNA 阴性组细胞病变阳性率为 14.74%(23/156),可见 HPV DNA 阳性组发生细胞病变的比例明显大于 HPV DNA 阴性组,两组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。结果见表 1。

表 1 HPV DNA 检测与 TCT 检查结果比较(n)

HPV DNA	n	TCT				
		NILM	ASCUS	LSIL	HSIL	SCC
阳性组	126	53	22	32	18	1
阴性组	156	133	16	7	0	0

2.2 HPV DNA 检测与宫颈病理学诊断结果比较 将 CIN 及以上病变作为病理学阳性诊断, HPV DNA 阳性组 126 例,病理阳性率为 42.86%(54/126); HPV DNA 阴性组 156 例,病理阳性率 11.54%(18/156),两组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。结果见表 2。

表 2 HPV DNA 检测与病理学诊断结果比较(n)

HPV DNA	n	病理学诊断				
		NILM	CIN I	CIN II	CIN III	宫颈浸润癌
阳性组	126	72	41	9	3	1
阴性组	156	138	15	3	0	0

2.3 宫颈病理学诊断结果与 HPV DNA 阳性分布 比较 HPV DNA 阳性的 126 例患者的病理结果,发现其中感染高危型 HPV 者 80 例,感染低危型 HPV 者 46 例,患者感染高危型 HPV 的比例(63.49%)显著高于低危型 HPV 感染(36.51%),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。病理结果说明随着宫颈细胞病变程度的增加,高危型 HPV 感染阳性率也随之提高。结果见表 3。

表 3 宫颈病理学诊断与 HPV 感染类型的分布

病理学诊断	n	构成比(%)	HPV DNA 阳性[n(%)]	
			高危型	低危型
NILM	72	57.14	37(51.39)	35(48.61)
CIN I	41	32.54	31(75.61)	10(24.39)
CIN II~III	12	9.53	11(91.67)	1(8.33)
宫颈浸润癌	1	0.79	1(100.00)	—
合计	126	100.00	80(63.49)	46(36.51)

—:未检出。

3 结 论

HPV 是一种通过性途径传播的病毒,感染早期通常没有任何症状。据报道全世界妇女中,每年有 10%~15% 的 HPV 感染新病例<sup>[2]</sup>。女性宫颈癌的从炎症发展到 CIN 再到宫颈浸润癌是一个漫长而连续的过程。国外流行病学资料显示,只有持续的 HPV 感染才会发生宫颈上皮内癌变甚至宫颈癌<sup>[3]</sup>, HPV 平均感染时间为 8~12 个月,在各种诱导因素下(如吸烟、口服避孕药、性行为等)可以使细胞发生 CIN,再过大约 10 年可发生浸润癌<sup>[4]</sup>。有资料显示,75% 的女性在其一生中至少会发生 1 次 HPV 感染,但大部分女性经过机体的自身免疫在 2 年内可将病毒清除。临床上也有部分患者为一过性感染<sup>[5]</sup>,绝大部分没有症状, HPV DNA 检测也常为阴性。Kjaer 等<sup>[6]</sup>报道,年龄是 HPV 感染的重要危险因素之一,女性感染 HPV

的高峰年龄为 20~30 岁,此阶段感染为暂时性,一般可在 8~10 个月消失,35 岁后有 5%~10% 的人可转为高危 HPV 持续感染状态,这一部分人群是癌症筛查的重点人群<sup>[7]</sup>。

TCT 制片是采用专用的宫颈刷取样,然后由专业人员将细胞立即封存到细胞保护液中。用该方法既能固定病变上皮细胞,又能保留完整的病毒样本。通过专用试剂和专用分析仪,能使保存液中的病变细胞单个完整地均匀涂抹于玻片上,方便检查。与传统的巴氏涂片比较,TCT 法制片更清晰、更合理,能避免人工染色造成细胞过度干燥而出现的假阳性,是目前宫颈癌前病变筛查的理想方法<sup>[8]</sup>。 HPV 感染与宫颈病变有很大的统计学关联,国内外流行病学统计分析显示,99% 以上的宫颈癌均有 HPV 感染,特别是高危型 HPV 的感染是从宫颈癌前病变发展到宫颈癌的一个主要危险因素,其导致 CIN 发生癌症的风险增加 250 倍<sup>[9]</sup>。为了提高女性宫颈癌前病变的检出率,说明 HPV DNA 在筛查中的作用,本文从临床实际资料进行两种方法对比研究,结果显示,282 例筛查患者中 HPV DNA 阳性者 126 例,阳性率 44.68%,而同期 TCT 检查阳性率为 34.04%(96/282)。 HPV DNA 检查可使 TCT 的假阴性率降低,能提高疾病的筛查率。 HPV DNA 阳性组细胞学病变阳性率为 57.94%, HPV DNA 阴性组细胞学病变阳性率为 14.74%, HPV DNA 阳性组中 ASCUS 以上病变明显高于阴性组,两组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。提示宫颈病变程度与 HPV 的感染率呈正相关性。宫颈阴道镜活检主要是观察宫颈表面微小的形态学变化。本研究发现, HPV DNA 阳性组宫颈病理阳性率(42.86%)明显高于 HPV DNA 阴性组(11.54%),差异有统计学意义( $P<0.01$ )。

HPV 感染后能否发展成为宫颈癌,主要受到病毒、宿主和环境这 3 个方面的影响。而病毒影响最重要,关键是 HPV 感染的型别。有报道显示,高危型 HPV 感染阳性的女性宫颈病变进展的危险度高于低危型 HPV 感染或 HPV 阴性的妇女<sup>[10]</sup>。本研究中,126 例 HPV DNA 阳性患者中,高危型 HPV 感染者 80 例,占 63.49%,在这 80 例高危型 HPV DNA 阳性者中,CIN 以上病变的患者有 43 例,占 53.75%。而 46 例低危 HPV 感染者中,CIN 以上病变的患者有 11 例,占 23.91%,明显低于高危型 HPV 感染者,说明高危型 HPV 感染与宫颈细胞病变的程度密切相关,高危型 HPV 感染是宫颈癌发生的危险因素。

综上所述, HPV 感染从宫颈早期损伤到宫颈癌前病变再到宫颈癌需要一段较长的时间,所以宫颈癌是一种可早期预防并能治愈的疾病。早期筛查是现阶段检测和预防宫颈癌的主要手段,若能定期对适龄女性进行高危型 HPV 检测,对早期发现宫颈病变、降低我国女性宫颈癌发病率有重要的现实意义。

参考文献

[1] Diane S,Ritu N. The Bethesda system for reporting cervical cytology[M]. 2nd ed. New York,USA:Springer-Verlag Inc,2004.

[2] 伊心浩,郑妮,王际亮. 宫颈癌患者宫颈脱落细胞 HPV,病变组织 Brn-3a 的表达变化及意义[J]. 山东医药,2010,50(18):91-92.

[3] Roden R,Wu TC. How will HPV vaccines affect cervical cancer? [J]. Nat Rev Cancer,2006,6(10):753-763.

[4] 章涛,娄雪玲,李彦,等. 宫颈疾病 HPV 混合型感染的检测与分析[J]. 现代妇产科进展,2009,18(1):11-13.

[5] Johnston EI,Logani S. Cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance in perimenopausal and postmenopausal women[J]. Cancer Cytopathol,2007,(下转第 1430 页)

一种评估 SLE 患者动脉粥样硬化的非侵入性方法。本研究中, baPWV $\geq$ 1 500 cm/s 的 SLE 患者比 baPWV $<$ 1 500 cm/s 的 SLE 患者的血浆 IL-18 浓度明显升高。表明 SLE 患者 IL-18 浓度可能与血管硬化的发展有关。

有研究表明, SLE 患者血浆 Hcy 浓度上升, 并且抗心肌磷脂抗体阳性的 SLE 患者与阴性者比较, 血浆 Hcy 浓度明显升高<sup>[14]</sup>。高 Hcy 血症被证实是动脉粥样硬化和血栓形成的独立高危因素<sup>[4]</sup>。研究表明, 对 SLE 患者而言, 血浆 Hcy 也被认为是动脉粥样硬化血栓性事件的高危风险因素。经调整其他危险因素后, SLE 患者发生血栓事件时, Hcy 浓度上升了 3 倍<sup>[15-17]</sup>。本研究中, 72.88% 的 SLE 患者被认为有轻度或中度高 Hcy 血症。大量的研究表明, Hcy、IL-18 浓度与炎症和冠心病有关<sup>[18]</sup>。本研究结果表明, C 组 SLE 患者与 A 组 SLE 患者相比, 血浆 Hcy 浓度明显升高, 轻度或中度高 Hcy 血症的 SLE 患者与正常 Hcy 浓度的患者相比, IL-18 浓度明显升高。这提示 IL-18 的升高可能促进 Hcy 的分泌, 即 SLE 促进炎性介质 IL-18 的释放, 导致了 Hcy 相关的动脉粥样硬化的进展, 但仍需进一步研究阐明。

总之, SLE 患者 IL-18 浓度与传统的和非传统的心血管危险因素有一定的相关性。SLE 患者高胰岛素血症、胰岛素抵抗、高 Hcy 血症、血管硬化的协同作用可能与血浆 IL-18 浓度的升高有关。由此可见, 动态监测这些指标, 有助于判断 SLE 患者病情, 对临床评估有一定的意义。

参考文献

[1] Ward MM. Premature morbidity from cardiovascular and cerebrovascular diseases in women with systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 1999, 42(2): 338-346.

[2] Svenungsson E, Jensen-Urstad K, Heimbürger M, et al. Risk factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus [J]. *Circulation*, 2001, 104(16): 1887-1893.

[3] Frostegard J, Svenungsson E, Wu R, et al. Lipid peroxidation is enhanced in patients with systemic lupus erythematosus and is associated with arterial and renal disease manifestations[J]. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(1): 192-200.

[4] Favilli F, Anzilotti C, Martinelli L, et al. IL-18 activity in systemic lupus erythematosus[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1173(3): 301-309.

[5] Meaume S, Benetos A, Henry OF, et al. Aortic pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality in subjects  $>70$  years of age[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(12): 2046-2050.

[6] Koskenmies S, Vaarala O, Widen E, et al. The association of antibodies to cardiolipin, 2-glycoprotein I, prothrombin, and oxidized low-density lipoprotein with thrombosis in 292 patients with familial and sporadic systemic lupus erythematosus [J]. *Scand J*

*Rheumatol* 2004, 33(4): 246-252.

[7] Dinarello CA. Interleukin-18 and the pathogenesis of inflammatory diseases[J]. *Semin Nephrol*, 2007, 27(1): 98-114.

[8] Troseid M, Seljeftot I, Hjerkin EM, et al. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular events in elderly men with the metabolic syndrome: synergistic effect of inflammation and hyperglycemia[J]. *Diabetes Care*, 2009, 32(3): 486-492.

[9] Kahlenberg JM, Thacker SG, Berthier CC, et al. Inflammasome activation of IL-18 results in endothelial progenitor cell dysfunction in systemic lupus erythematosus[J]. *J Immunol*, 2011, 187(11): 6143-6156.

[10] Park MC, Park YB, Lee SK. Elevated interleukin-18 levels correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Rheumatol*, 2004, 23(3): 225-229.

[11] Hung J, McQuillan BM, Chapman CML, et al. Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(6): 1268-1273.

[12] Wierzbicki AS. Lipids, cardiovascular disease and atherosclerosis in systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2000, 9(3): 194-201.

[13] Tso TK, Huang WN, Huang HY, et al. Association of brachial-ankle pulse wave velocity with cardiovascular risk factors in systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2005, 14(11): 878-883.

[14] Tso TK, Huang HY, Chang CK, et al. A positive correlation between homocysteine and brachial-ankle pulse wave velocity in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Rheumatol*, 2006, 25(3): 285-290.

[15] Shevchuk S, Segeda I. SLE and antiphospholipid syndrome 168 Dyslipidaemia, Hyperhomocysteinaemia and antiphospholipid antibodies as risk factors of thrombotic complications in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Rheumatology*, 2011, 50(3): 106-110.

[16] McMahon M, Hahn BH, Skaggs BJ. Systemic lupus erythematosus and cardiovascular disease: prediction and potential for therapeutic intervention[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2011, 7(2): 227-241.

[17] Fijnheer R, Roest M, Haas FJ, et al. Homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, antiphospholipid antibodies, and thromboembolic events in systemic lupus erythematosus: a retrospective cohort study[J]. *J Rheumatol*, 1998, 25(15): 1737-1742.

[18] Aso Y, Okumura K, Takebayashi K, et al. Relationships of plasma interleukin-18 concentrations to hyperhomocysteinemia and carotid intimal-media wall thickness in patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care* 2003, 26(20): 2622-2627.

(收稿日期: 2014-01-05)

(上接第 1427 页)

111(3): 160-165.

[6] Kjaer SK, Svare EI, Worm AM, et al. Human papillomavirus infection in Danish female sex workers: decreasing prevalence with age despite continuously high sexual activity[J]. *Sex Transm Dis*, 2000, 27(8): 438-445.

[7] Monnier-Benoit S, Dalstein V, Riethmuller D, et al. Dynamics of HPV16 DNA load reflect the natural history of cervical HPV-associated lesions[J]. *J Clin Virol*, 2006, 35(3): 270-277.

[8] 纪丽伟, 童婷婷, 虞晴. TCT 及阴道镜下活检在宫颈疾病中的诊断价值[J]. *中国实验诊断学*, 2010, 14(5): 735-737.

[9] 杨亚磷, 欧阳耀灵. 宫颈癌分子遗传学研究进展[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2006, 14(7): 118-119.

[10] 孙道河. 宁波地区 1 035 例女性感染 HPV 基因类型分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2010, 18(3): 35-37.

(收稿日期: 2014-01-22)