

• 临床检验研究论著 •

HPV E6/E7 mRNA 检测在葫芦岛地区宫颈癌筛查中的应用*

李 理

(葫芦岛市中心医院肿瘤科, 辽宁葫芦岛 125000)

摘 要:目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)E6/E7 mRNA 检测在宫颈癌筛查中的应用。方法 选取于该院妇科治疗的 160 例患者的超薄液基细胞学检查(thin prep cytology test, TCT)标本, 根据患者的检查结果将其分为 4 个组: 正常组(32 例)、宫颈上皮内瘤变(CIN)Ⅰ组(44 例)、CIN Ⅱ组(67 例)、CIN Ⅲ组(17 例)。除了 CIN 分级外, 又根据不同的病理学类型对患者进行分组。在不同的组别中, 比较 HPV E6/E7 mRNA 检测和 HPV DNA 检测阳性率的差异; 并比较不同病理学分组间 HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 水平的差异。结果 在不同 CIN 分级的患者及对照组人群中, HPV E6/E7 mRNA 和 HPV-DNA 的阳性率比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。对不同病理学分组间 HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 水平进行比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在宫颈癌的筛查中 HPV E6/E7 mRNA 检测可以作为筛选手段之一, 该项检测和细胞学检测联合运用有助于诊断准确性的提高。

关键词: E6/E7 mRNA, 人乳头瘤病毒; 超薄液基细胞学检测; 宫颈癌筛查

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.17.006

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)17-2285-02

HPV E6/E7 mRNA detection applied in the cervical cancer screening in Huludao region*

Li Li

(Department of Oncology, Huludao Central Hospital, Huludao, Liaoning 125000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA detection used in cervical cancer screening. **Methods** In the study, 160 patients treated in gynaecology department of the hospital were enrolled, whose samples were collected for ultra-thin liquid-based cytology(thin prep cytology test, TCT). According to the TCT results, the patients were divided into 4 groups, including normal group($n=32$), CIN I group($n=44$), CIN II group($n=67$), CIN III group($n=17$). In addition to the CIN classification, according to the type of pathology the patients' groups were also divided. In different groups, the differences between HPV E6/E7 mRNA and HPV DNA positive rate were compared respectively. The differences between HPV E6/E7 mRNA and HPV DNA levels among different pathology groups were also compared. **Results** In groups of different CIN grades and control group, the positive rate of HPV E6/E7 mRNA and HPV DNA test showed statistically differences ($P < 0.05$). Compared among different pathologic groups HPV E6/E7 mRNA and HPV DNA levels were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** In cervical cancer screening, HPV E6/E7 mRNA screening can be used as a screening method and its combined use with cytological method would be helpful to improve the diagnostic accuracy.

Key words: E6/E7 mRNA, human papilloma virus; ultra-thin liquid-based cytology; cervical cancer screening

宫颈癌的发病率居女性恶性肿瘤的第二位, 是仅次于乳腺癌^[1], 但是其病死率却是妇科恶性肿瘤之首^[2]。随着人们生活压力的增大, 宫颈癌患者也以每年平均 3% 的速度增长^[3]。但是宫颈癌在癌变之前有一个比较长的可逆转癌前病变时间, 因此对早期的癌前病变进行干预是预防宫颈癌变的关键^[4]。HPV 感染是宫颈上皮内瘤变(CIN)和宫颈癌的主要致病原因^[5]。新的细胞学检查方法——超薄液基细胞学检查(TCT)的兴起使细胞学诊断 CIN 的特异性及敏感性大幅度提高^[6]。本研究旨在探讨 HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈癌筛选中的应用价值, 为宫颈癌和癌前病变的准确性和可靠性提供一定的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对葫芦岛地区 2012~2013 年的 160 例于本院就诊的患者标本进行 TCT 检查, 患者平均年龄为 43.8 岁。对上述患者采用 TBS 标准进行分组: 为正常上皮细胞或是良性炎症上皮细胞的患者有 32 例(正常组); 低度鳞状上皮内病变(LSIL)患者有 44 例(LSIL 组); 高度鳞状上皮内病变

(HIL)患者有 81 例(HIL 组), 其中包括 CIN Ⅱ患者 67 例、CIN Ⅲ患者 17 例。随机选取上述人群中的 48 例患者进行宫颈细胞学检查, 发现 36 例患者的检测结果为非典型鳞状上皮细胞(ASCUS)。

1.2 方法 标本的处理方法如下。(1)mRNA 的检测: 将所得的宫颈细胞标本离心 5 min, 除去上清液, 然后用蒸馏水清洗一遍, 再次离心, 除去上清液, 剩下的离心物质加入裂解剂进行裂解, 将所得的裂解液用于 HPV E6/E7 mRNA 检测; 将 2.5 mol/L 的 NaOH 加入到裂解液中, 在 55 ℃ 的水浴中加热 0.5 h, 然后将终止反应液加入使反应终止。将处理的标本放置于 -20 ℃ 保存待测。(2)DNA 的检测: 将处理所得的标本在温箱水浴上加热 5 min, 备用。

1.3 统计学处理 数据分析采用 SPSS13.0 软件; 采用配对 χ^2 检验或 Fisher 精确概率检验对 E6/E7 DNA 和 mRNA 的阳性率进行比较; HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 的相对拷贝值以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 Wilcoxon 配对秩和检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

* 基金项目: 葫芦岛市卫生局立项课题资助项目(HWL-2012018)。 作者简介: 李理, 男, 主治医师, 主要从事肿瘤内科相关研究。

2 结 果

2.1 不同 CIN 分级患者两项检测阳性率的比较 对不同 CIN 分级的患者分别进行 HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 阳性率的比较,各组患者中这两项检测阳性率的差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 乳头瘤病毒 E6/E7mRNA 和 HPV DNA 的阳性率的比较(n)

分组	mRNA 检测结果	HPV-DNA 的检测结果		P
		+	—	
正常组	+	6	3	0.048
	—	12	11	
CIN I	+	12	3	0.043
	—	15	14	
CIN II	+	27	27	0.035
	—	11	2	
CIN III	+	10	4	0.026
	—	2	1	

2.2 细胞学检查为 ASCUS 的患者两项检测阳性率的比较 对 36 例细胞学检查为 ASCUS 的患者进行宫颈组织活检,将结果分为正常组和 LSIL/HLIL 组。两个组中,HPV E6/E7 mRNA 检出率和 HPV DNA 检出率的差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 ASCUS 宫颈活检标准检测结果比较(n)

分组	mRNA 检测结果	HPV-DNA 的检测结果		P
		+	—	
正常组	+	6	1	0.424
	—	10	5	
LSIL/HLIL 组	+	3	1	0.713
	—	7	3	

2.3 不同病理学分组间 HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 水平的比较 不同病理学分组的患者间比较,HPV E6/E7 mRNA 水平的差异有统计学意义($P<0.05$),HPV DNA 水平的差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 160 例 TCT 检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

病理学分组	n	HPV E6/E7 mRNA 的相对拷贝值	HPV DNA 的 相对拷贝值
正常组	27	6.431±5.214	2.176±1.013
ASCUS 组	30	53.683±41.542	104.415±92.124
LSIL 组	52	232.609±103.204	1 057.958±784.248
HSIL 组	51	713.635±548.213	3 058.249±2 476.243
合计	160	323.452±214.213	1 459.369±986.251

3 讨 论

宫颈癌作为威胁女性健康的第二大杀手,其高发生率约和 HPV16 型的感染有关(约占 50%)。HPV 感染宿主细胞之后首先以游离的形式在基底细胞层潜伏一段时间,然后再整合到宿主细胞内部^[7],使宿主细胞发生突变^[8]。HPV 主要的致癌基因是 E6 和 E7^[8]。

在宫颈组织中 HPV E6/E7 mRNA 表现出了癌基因的活性,其在体内的水平和宫颈病变的严重程度呈正相关^[9]。在于

不同类型的细胞学病变中,HPVE6/E7 mRNA 和 HPV DNA 的阳性检出情况比较,差异有统计学有意义^[10]。ASCUS 标本中有 36 例进行了活检,结果分为正常组和 LSIL/HLIL 组。对比两个组别的 HPVE6/E7 mRNA 和 HPV DNA 检出率差异均无统计学意义($P>0.05$);由于该研究所用的 ASCUS 标本仅有 36 例,标本数量比较少,需要在以后的研究中进一步加强样本数量,使结果具有代表性。HPVE6/E7 mRNA 相对拷贝值的组间比较差异有统计学意义($P<0.05$),而 HPV DNA 相对拷贝值的组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。刘桐宇等^[7]研究发现,HPV E6/E7 mRNA 的表达随着细胞学病变级别的增高也相应地增加,并且不同细胞学分组之间的 mRNA 的拷贝值比较差异有统计学意义之间有显著性差异,组间 HPV-DNA 拷贝值的比较差异则无统计学意义。王华等^[8]的研究结果也得出了类似的结论,还提出了 E6/E7 mRNA 对于宫颈癌发病风险的评估更有意义。本研究的结果和上述结果一致。

总体而言,在宫颈癌的筛查中 HPV E6/E7 mRNA 检测可以作为筛查手段之一,并且在筛查过程中可以和细胞学检测联合运用^[9-11],有助于诊断准确性的提高,在宫颈疾病的早期诊断和治疗中能起到一定的作用。

参考文献

[1] Cattani P,Zannoni GF,Ricci C,et al. Clinical performance of human papillomavirus E6 and E7 mRNA testing for high-grade lesions of the cervix[J]. J Clin Microbiol,2009,47(12):3895-3901.

[2] Cattani P,Siddu A,D'onghia S,et al. RNA (E6 and E7) assays versus DNA (E6 and E7) assays for risk evaluation for women infected with human papillomavirus[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47 (7):2136-2141.

[3] Mockel J,Clad A,Endres AS,et al. HPV E6/E7 mRNA transcripts as predictors of high-grade epithelial cervix dysplasia[J]. Diagn Pathol,2007,2(Suppl 1):S1.

[4] Keegan H,Mc Inerney J,Pilkington L,et al. Comparison of HPV detection technologies: Hybrid capture 2, PreTect HPV-Proofer and analysis of HPV DNA viral load in HPV16, HPV18 and HPV33 E6/E7 mRNA positive specimens[J]. J Virol Methods, 2009,155(1):61-66.

[5] 马绍康,黄曼妮. 子宫颈恶性肿瘤[M]//董志伟,谷铎之. 临床肿瘤学. 北京:人民卫生出版社,2002:1188-1207.

[6] 潘秦镜,李凌,乔友林,等. 液基细胞学筛查宫颈癌的研究[J]. 中华肿瘤杂志,2001,23(4):49-52.

[7] 刘桐宇,谢榕,Zhang L,等. TCT 标本检测高危 HPV E6/E7mRNA 及在宫颈病变中的应用研究[J]. 中华妇幼临床医学杂志:电子版,2011,7(3):202-205.

[8] 王华,陈亚宝,叶丽华,等. 应用支链 DNA 技术检测人乳头瘤病毒 E6/E7mRNA 在宫颈疾病筛查中的价值[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(15):4362-4366.

[9] 熊光武,袁杨,李萌,等. 北京地区宫颈癌 HPV16 上游调控序列、E6、E7 癌基因序列初步分析[J]. 遗传,2010,32(4):339-347.

[10] Burger EA,Kornr H,Klemp M,et al. HPV mRNA tests for the detection of cervical intraepithelial neoplasia;a systematic review [J]. Gynecol Oncol,2011,120(3):430-438.

[11] 田澄,张盛忠,刘红刚,等. 宫颈细胞学与活检组织病理诊断对比分析[J]. 中国病案,2008,9(11):46-48.