

• 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 devided. 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(HLIL)患者有 81 例(HLIL 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)。

(HLIL)患者有 81 例(HLIL 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 °C 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 °C 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/HSIL 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 宫颈活检标准检出结果比较(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/HSIL 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,差异有统计学意义^[10]。ASCUS 标本中有 36 例进行了活检,结果分为正常组和 LSIL/HSIL 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

- 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.
- Cattani P, Siddhu 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.
- 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.
- 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.
- 马绍康, 黄曼妮. 子宫颈恶性肿瘤[M]//董志伟, 谷锐之. 临床肿瘤学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1188-1207.
- 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.
- 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.
- 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.
- 熊光武, 袁杨, 李萌, 等. 北京地区宫颈癌 HPV16 上游调控序列、E6、E7 病基因序列初步分析[J]. 遗传, 2010, 32(4):339-347.
- 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.
- 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.