

mental design in proteomic mass spectrometry experiments; some cautionary tales[J]. Brief Funct Genomic Proteomic, 2005, 3(4): 322-331.

[18] Wang HM, Zhang X, Qian D, et al. Effect of ubiquitin proteasome pathway on mouse blastocyst implantation and expression of matrix metalloproteinases-2 and-9[J]. Biol Reprod, 2004, 70(2): 481-487.

[19] Delbosc S, Haloui M, Louedec L, et al. Proteomic analysis permits the identification of new biomarkers of arterial wall remodeling in hypertension[J]. Mol Med, 2008, 14(3): 383-394.

[20] Sandoval JA, Hoelz DJ, Woodruff HA, et al. Novel peptides secreted from human neuroblastoma; useful clinical tools? [J]. J Pediatr Surg, 2006, 41(2): 245-251.

[21] Katz-Jaffe MG, Schoolcraft WB, Gardner DK. Analysis of protein expression (secretome) by human and mouse preimplantation embryos[J]. Fertil Steril, 2006, 86(6): 678-685.

[22] Dominguez F, Gadea B, Esteban FJ, et al. Comparative proteomic analysis of implanted versus non-implanted human blastocysts[J]. Hum Reprod, 2008, 23(19): 1993-2000.

[23] Robertson SA. GM-CSF regulation of embryo development and pregnancy[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2007, 18(3-4): 287-298.

[24] Dominguez F, Gadea B, Mercader A, et al. Embryologic outcome and secretome profile of implanted blastocysts obtained after coculture in human endometrial epithelial cells versus the sequential system[J]. Fertil Steril, 2010, 93(6): 774-782.

[25] Yang Y, Bai W, Zhang L, et al. Determination of microRNAs in mouse preimplantation embryos by microarray [J]. Dev Dyn, 2008, 237(22): 2315-2327.

[26] Tang F, Kaneda M, O'Carroll D, et al. Maternal microRNAs are

essential for mouse zygotic development[J]. Genes Dev, 2007, 21(6): 644-648.

[27] Carleton M, Cleary MA, Linsley PS. MicroRNAs and cell cycle regulation[J]. Cell Cycle, 2007, 6(17): 2127-2132.

[28] Lakshminpathy U, Love B, Goff LA, et al. MicroRNA expression pattern of undifferentiated and differentiated human embryonic stem cells[J]. Stem Cells Dev, 2007, 16(10): 1003-1016.

[29] McCallie B, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. Aberration of blastocyst micro-RNA expression is associated with human infertility[J]. Fertil Steril, 2010, 93(23): 2374-2382.

[30] Katz-Jaffe MG, McReynolds S. Embryology in the era of proteomics[J]. Fertil Steril, 2013, 99(10): 1073-1077.

[31] McReynolds S, Vanderlinden L, Stevens J, et al. Lipocalin-1: a potential marker for noninvasive aneuploidy screening [J]. Fertil Steril, 2011, 95(26): 2631-2633.

[32] Jarkovska K, Martinkova J, Liskova L, et al. Proteome mining of human follicular fluid reveals a crucial role of complement cascade and key biological pathways in women undergoing in vitro fertilization[J]. J Proteome Res, 2010, 9(12): 1289-1301.

[33] Xiao GG, Recker RR, Deng HW. Recent advances in proteomics and cancer biomarker discovery[J]. Clin Med Oncol, 2008, 2(1): 63-72.

[34] Schoolcraft WB, Treff NR, Stevens JM, et al. Live birth outcome with trophectoderm biopsy, blastocyst vitrification, and single-nucleotide polymorphism microarray-based comprehensive chromosome screening in infertile patients[J]. Fertil Steril, 2011, 96(6): 638-640.

(收稿日期: 2014-11-18)

人乳头瘤病毒高危型感染与宫颈癌的研究进展

杜伟平, 李颖 综述, 李芳芹 审校
(延安大学附属医院, 陕西延安 716000)

关键词: 人乳头瘤病毒高危型; 宫颈癌; 研究进展

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 07. 044

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)07-0967-03

宫颈癌是妇女常见的恶性肿瘤^[1-5], 现已成为仅次于乳腺癌导致妇女死亡的肿瘤。全球范围内每年有超过 20 万的女性死于宫颈癌, 而发展中国家占到了 75% 以上。宫颈癌的病因学研究近些年得到各国研究人员的重视。流行病学调查发现早婚、早育、多产及性生活紊乱的妇女有较高的患病率, 城乡结合部患病率较高。我国由于人口众多, 卫生资源相对短缺, 地区发展严重不平衡, 所以每年新发病例非常多, 约占到全世界的 30%, 当然随着近年医疗技术的不断发展, 检出率也在逐年提高。现在国内每年约有 2 万多名妇女因为宫颈癌而病亡, 宫颈癌初期没有任何症状, 而后期发现时多已严重。目前以手术和放射治疗为主要手段, 但是临床发现晚期患者治愈率非常低。所以如何能早期发现宫颈癌已成为摆在医务工作者面前的课题。

1 HPV 的分子结构及生物学特性

人乳头瘤病毒(HPV)是一类具有高度宿主特异性和亲和力的病毒, 该病毒无包膜, 含小的双股环状 DNA, 属乳头多瘤

空泡病毒科。其 DNA 包括 3 个部分, 分别是 E-区(早期基因区)、L-区(晚期基因区)以及 LCR 区(长控制区)。E-区(早期基因区)分 1、2、6、7 四个亚区, 6、7 区与病毒细胞转录、生长及繁殖有很大关系, 是主要的致癌基因。2 亚区与 NCR 共同参与完成病毒基因的表达。目前已经分离出超过 100 种 HPV 基因型^[6], 根据病毒促进细胞癌变能力大小的不同分为两种: 高危型 HPV (HR-HPV) 和低危型 HPV (LR-HPV)。LR-HPV 有包括 LR-HPV1、6、11、42、43 等在内的共 11 种亚型, 会引起如良性外生性疣等女性生殖器的良性病变。HR-HPV 有 14 种, 包括 HR-HPV16、18、31、33 和 35 等多种亚型, 主要与女性生殖器的恶性病变的发生、发展有关。而且文献报道 HPV 感染的亚型在不同地区的分布并不相同, 其具有一定的地域性差异。

2 高危型 HPV 感染与宫颈癌的关系

流行病学研究充分表明高危型 HPV 的感染与宫颈癌的

发生发展有着非常密切的联系,目前认为宫颈癌和上皮内瘤变发生的一个首要的条件是高危型 HPV 的持续感染。据国外文献资料显示:细胞学检查正常的妇女 HPV 的感染率较低;细胞学检查为低级别鳞状上皮内病变(LGSIL)的妇女中其感染率可达 60.0%;高级别鳞状上皮内病变(HGSIL)妇女中其感染率更高;同时 HPV 感染检出率最高的是在宫颈癌患者中^[8]。我国学者也这方面进行了相关研究后最终得出:HPV 感染及检出率随着妇女生殖道疾病病变级别的升高而上升,尤其是在妇女宫颈疾病中。同时另外一项研究^[9]发现:HPV 持续感染 1~2 年可引发宫颈的轻微病变;在 2~4 年中大概有五分之一的低级别鳞状上皮内病变(LGSIL)转变为高级别鳞状上皮内病变(HGSIL);HGSIL 发展到宫颈癌前病变需要 10 年左右;而从宫颈癌前病变发展到宫颈浸润癌需 5 年左右。也就是意味着从 HPV 感染开始发展为宫颈癌的时间大约需要 15 年左右的时间。高危型 HPV 的持续感染是导致宫颈病变发生的重要因素且与病毒载量的多少有关^[10]。

大量临床研究发现^[11],99%以上的宫颈癌患者同时伴有 HPV 感染。在其组织标本中最多见的 HPV 亚型为 16 和 18 型^[12-13],宫颈鳞癌患者中 HPV16 型感染多见,而宫颈腺癌患者中 18 型多见。但是,HPV 亚型中哪些感染与宫颈癌的关系密切,宫颈癌的预后转归以及其亚型与宫颈癌的病理分型有无关系,现在还没有定论。对高危型 HPV 感染者进行随访可以及时发现宫颈病变患者,从而达到预防和治疗宫颈癌,并提高早诊早治率的目的^[14]。

3 HPV 致癌的机制

3.1 与早期基因区(E)相关的致病机制 迄今为止 HPV 引起宫颈癌的机制还不完全明确。目前普遍认为其发生的机制可能与早期基因区的 E6 和 E7 基因过度表达有关。HPV 病毒主要侵犯皮肤及黏膜鳞状上皮,因其有严格的嗜组织性。在癌前期的病变组织中,HPV 病毒多存在于宿主细胞的染色体之外。而在宫颈癌进展期,HPV 病毒 DNA 会整合于宿主细胞的 DNA 中,使 E2 基因与宿主细胞基因的整合而失活,同时 E6 基因对 EGFR 作用使 E6、E7 基因过度表达,引起细胞无限增殖和恶性转化^[15]。实验已经发现 HPV 病毒的 E6 和 E7 基因所表达的 2 种蛋白是参与细胞恶性转化的重要因子。它们可与诸多蛋白分子(如细胞周期调节因子 P53、Rb 蛋白、靶蛋白 1、干扰素调控因子 3 和 P21 等)相互作用,并干扰细胞的正常凋亡,导致细胞生长失控。E6 蛋白可与细胞内的 E6 相关蛋白(E6-AP)形成复合物,这种复合物能特异性地结合 P53。E6 蛋白作为 1 种多功能蛋白,可通过激活细胞端粒酶使正常细胞永生^[15]。E7 蛋白是 HPV 病毒的主要转化蛋白,与视网膜母细胞瘤蛋白(Rb)亲和力极高。Rb 蛋白也是一种肿瘤抑制蛋白,可控制细胞周期。E7 与 Rb 结合后,E2F 从 Rb-E2F 复合物上解离后处于游离状态,从而导致细胞周期失控而使细胞发生永生。另外,E7 蛋白还可抑制 p21CIP1 和 p27KIP1 的作用,进一步促进 cyclinA、E 的表达,使得 G1/S 节点失控从而导致突变累积。

3.2 相关的其他研究 2000 年科学家发现并克隆出来一种新型候选抑癌基因(ras association domain family 1A, RASSF1A)^[16]。RASSF1A 可能是位于 3p21 区的宫颈癌相关肿瘤抑制基因,且与 HR-HPV 存在一定关系,但其之间的关系及机制还有待研究。近年来学者们新发现一种位于染色体 3p14.2 区域的抑癌基因 FHIT。有研究证实 FHIT 可能在预测宫颈的高度鳞状上皮内瘤变的恶变潜力中有较大价值^[17]。

FHIT 蛋白表达的减少率和丢失率在宫颈癌Ⅲ度(CINⅢ)病变和微浸润性宫颈癌(MICA)中分别为 50%和 78%。在一部分宫颈癌患者中发现 FHIT 基因发生甲基化,因此有学者认为宫颈癌的侵袭与度 FHIT 表达状态密切相关^[18]。同时学者们正研究与 HPV 相关的基因或者蛋白,相信随着研究的进一步深入,HPV 感染与宫颈癌发生、发展的关系将逐步明朗。

4 宫颈癌筛查及 HPV 的检测

4.1 宫颈癌的筛查 临床现在进行宫颈癌的筛查多是依靠血清肿瘤标志物的检测和病理活检。血清中检测肿瘤标志物 CEA、CA-125、 β -HcG 可用于宫颈癌的筛查,然而由于这 3 个标志物对于宫颈癌的诊断没有特异性,因此其筛查效果非常有限,可以导致临床漏检的出现。病理活检虽然是金标准,然而实际工作中缺乏可行性,不能对所有就诊患者进行检查,临床实际用病理活检来确诊,应用于筛查不现实。HPV 检测已成为宫颈癌的常用筛检方法。

4.2 HPV 的检测 HPV 的持续感染是引发 CIN、宫颈癌的明确病因,临床研究发现宫颈癌中 99%的患者以上的有 HPV 感染。HPV 检测可以早期发现宫颈癌病变,核酸杂交技术、聚合酶链反应技术、基因芯片技术、杂交捕获技术是目前临床中使用的 HPV 检测方法。虽然这些技术在准确率和特异性方面已经有了较大的提高,但仍存在一定缺陷,有的操作步骤繁杂^[19],有的方法对标本的要求非常高,而且容易污染。有些方法因其存在一定的假阳性不适合大规模地应用于临床检测。同时,检测费用较高。因此我们必须不断开发新的检测方法,以弥补现存技术的不足。使其检测效能提高。由于单一方法存在缺陷,故临床多采用联合检测的方法提高准确性,如 TCT 联合 HPV-DNA 进行检测,可使其阳性预测值可提高到 98.9%^[20],WHO 组织明确提出 HPV 高危型检测应单独或联合细胞学检查应用于宫颈癌筛查^[21]。

5 HPV 疫苗与宫颈癌

3 种病毒蛋白(病毒癌基因 E6 和 E7;早期蛋白 E1、E2、E4 及 E5;病毒衣壳蛋白 L1、L2)可引发机体的免疫应答反应。针对不同的病毒可以制备多种病毒疫苗^[22-23]。国外针对 HPV 疫苗的研究较多,其分类也较多。根据抗原肽种类,单价疫苗和多价疫苗是 HPV 疫苗的主要类型。只针对单一抗原肽的为单价疫苗,靶抗原是多种 HPV 型别的多个抗原肽或蛋白片段的为多价疫苗。根据 HPV 疫苗的作用,其可分为治疗性和预防性两种。治疗性疫苗多较理想的治疗性疫苗以 E6 和 E7 蛋白作为靶抗原,可刺激机体产生 HPV 特异性细胞毒性 T 细胞(CTL)。将病毒衣壳蛋白 L1 和 L2 组成的 VLPs 作为靶抗原是大部分预防性疫苗研发的所采用的策略,目的是诱导机体产生特异性中和抗体。重组牛痘病毒疫苗、腺病毒载体疫苗、细菌载体疫苗、基因疫苗和细胞疫苗等是目前治疗性疫苗的主要种类。预防性疫苗中由于不含病毒 DNA 和癌蛋白,所以具有较高的免疫原性和安全性。随着研究的深入 HPV 联合疫苗现已成为研究热点。

6 研究展望

综上所述,HPV 是引起宫颈癌及癌前病变的主要因素,英国、德国等欧美国家 HPV 筛查已十分普遍,我国也从 2009 年开始进行了该项工作,累计为 8.2%的适龄妇女进行了免费检查。宫颈癌的筛查可以早期发现宫颈患者,而 HPV 疫苗的研究也将使得宫颈癌的预防成为可能,这一威胁女性健康的疾病会得到更好的防治。

参考文献

[1] 耿建祥,王旭波.人乳头瘤病毒检测及其临床应用[M].北京:人民卫生出版社,2009:428-448.

[2] 王秋伟,虞斌,许培箴.HPV DNA HCII 检测在宫颈病变筛查中的应用[M].山东医药,2009,49(1):44-46.

[3] Ault KA. Epidemiology and natural history of human papilloma-virus infections in the female genital tract[J]. Infect Dis Obstet Gynecol,2006,14(400):40470-40474.

[4] Agorassstos T, Chatzigeorgiou K, Brotherton JM, et al. Safety of human papillo-mavirus (hpv) vaccines: A review of the interna-tional experience so far[J]. Vaccine,2009,27(52):7270.

[5] 田杰,高原.液基薄层细胞学(TCT)检测在宫颈病变诊断中的应用分析[J].齐齐哈尔医学院学报,2008,29(4):425-426.

[6] De Villiers EM, Gunst K, Stein H, et al. E-sophageal Squamous cell cancer in patients with head and neck cancer prevalence of hu-man papillom virus DNA sequences[J]. Int J Cancer,2004,109(2):253.

[7] 罗招云,林春萍,杨立业,等.潮州地区女性宫颈人乳头瘤病毒基 因型与宫颈病变的关系[J].分子诊断与治疗杂志,2012,4(2):95-99.

[8] Sellors JW, Mahony LB, Kaczorowski J, et al. Prevalence and pre-dictors of human papilomavirus infection in women in Ontario, Canada. Survey of HPV in Ontario Women (SHOW) Group[J]. CMAJ,2000,163(5):503.

[9] 徐伟莉.病理学检查在宫颈上皮内瘤变诊断中的应用体会[J].中 国实用医药,2010,5(1):106-108.

[10] 梁雯.高危型人乳头瘤病毒 DNA 载量在宫颈病变中的应用[J]. 临床合理用药,2009,2(1):22-24.

[11] 张秀卿,王晓兰.高危型人乳头瘤病毒检测及 TCT 检测在宫颈病 变筛查中的应用[J].临床医药实践,2012,21(3):176-177.

[12] Moscarini M, Lukic A, Franco C. Anti human papillomavirus vac-cine: the checkmate to human papillomavirus[J]. Eur J Gynaecol

Oncol,2004,25(2):151-156.

[13] 钟奇志.第二代捕获杂交法(HC-II)检测 HPV-DNA 在宫颈癌筛 查中应用[J].中国妇幼保健,2008,23(7):974-975.

[14] Confortini M, Bondi A, Cariggi MP, et al. Inter laboratory repro- duci bility of liquid based equivocal cervical cytology with in a ran- domized controlled trial frame work[J]. Diagn Cytopathol,2007, 35(5):541-544.

[15] 李华,高国兰. HPV 与宫颈癌的研究进展[J].实用癌症杂志, 2007,22(4):420.

[16] Cohen Y, Singer G, Lavie O, et al. The RASSF1A tumor suppres- sor gene is commonly inactivated in adenocarcinoma of the uterine cervix[J]. Clin Cancer Res,2003,9(28):2981.

[17] Coutant C, Barranger E, Cortez A, et al. Frequency and prognostic Significance of HPV DNA in sentinel lymph nodes of patients with cervical cancer[J]. Ann Onco,2007,18(15):1513.

[17] 秦积龙,古力娜尔·库尔班,顾霞,等. FHIT 和 HPV 与宫颈癌的 研究进展[J].解剖科学进展,2009,15(2):233.

[19] Cattani P, Siddu A, Donghia S, et al. RNA (E6 and E7) assay sversvs DNA (E6 and E7) assays for risk evaluation for women in- fected with human Papilloma virus[J]. J Clin Microbiol,2009,47 (21):2136-2141.

[20] 赵普,曾萍,林德伟.人乳头状瘤病毒高危型检测联合液基细胞学 检测在宫颈病变筛查和随访中的意义[J].中国妇幼保健,2012, 14(6):822-824.

[21] Ye J, Cheng X, Chen X, et al. Prevalence and risk profile of cervi- cal human papillomavirus infection in Zhejiang Province, southeast China: a population-based study[J]. Virology,2010,7(1):66.

[22] 赵银铃,耿晓星.高危 HPV 检测在宫颈癌筛查防治及判断预后中 的意义[J].实用肿瘤学杂志,2008,22(5):497.

[23] 刘光明,许廷贵. HPV 感染与宫颈癌[J]. Chinese Medical Science & Health,2007,4(1):65.

(收稿日期:2014-12-20)

• 综 述 •

尿液雌激素和代谢产物检测方法学比较及临床应用

陈 春 综述,于嘉屏 审校

(上海迪安医学检验所功能医学实验室,上海 200433)

关键词:雌激素; 代谢产物; 尿液

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)07-0969-05

雌激素的主要来源是卵泡,每天可分泌 70~500 mg 雌二 醇(E2),雌二醇主要转变成雌酮(E1)和少量雌三醇(E3),E1 在循环中的比例大致与 E2 相似。绝经后,大多数内源性雌激 素是雄烯二酮转变而来的。雄烯二酮由肾上腺皮质分泌,并在 周围组织中转变成 E1。因此,E1(尤其是其硫酸酯形式)是绝 经后妇女循环中含量最高的雌激素。虽然循环雌激素存在代 谢转换的动态平衡,但 E2 是主要的人体细胞内雌激素,它对 受体的作用能力比 E1 或 E3 更强。

1 雌激素代谢^[1-3]

雌激素的代谢转化主要在肝脏中进行,但也可在局部靶组 织转化。复杂的代谢过程可使循环中结合和非结合型雌激素达

到动态平衡,彼此不断地相互转化,尤其是 E1 与 E2 之间和酯化 与非酯化形式之间。循环中的雌激素主要为硫酸结合型,尤其 是硫酸雌酮,它是循环中转化成各种活性雌激素的储备池。有 相当部分的雌激素排入胆汁,然后从小肠再吸收,并通过门静脉 系统回到肝脏。通过肝肠循环,雌激素脱硫酸和再硫酸化,降解 转化为活性较小的雌激素如 E3 等,氧化生成非雌激素物质如儿 茶酚雌激素,与葡萄糖醛酸结合从而迅速排入尿中。雌激素的 代谢产物仍然具有非常高的生物活性,至于如何影响人体健康 则由如何在肝脏与肠道代谢、有何代谢产物来决定^[4-8]。

2 肝脏第 1 阶段雌激素代谢物

这一阶段把脂溶性雌激素经由特殊的酶转变成“水溶性中