·论　著·

宫颈细胞 HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈病变诊断中的价值研究*

蒙志平，黎勇明，杨　玲，吴　险，梁金艳，林丽文，梁　婷，黄川英
（广西壮族自治区贵港市人民医院检验科　537100）

摘　要：目的　探讨宫颈细胞人乳头状瘤病毒（HPV）E6/E7 mRNA 检测对于诊断宫颈病变的应用价值。**方法**　选取 2014 年 10 月至 2015 年 10 月在该院妇产科因宫颈炎性反应、阴道异常出血或排液门诊患者就诊的 407 例患者，行新柏氏液基细胞学检测（TCT）和 HPV E6/E7 mRNA 检测，对 TCT 结果异常的 34 例患者行病理科组织病理学检查，以病理报告为“金标准”。统计分析 HPV E6/E7 mRNA 检测对宫颈病变的应用价值。**结果**　TCT 检测出异常患者 34 例，占总患者数的 8.35%，无上皮内瘤变或恶性病变（NILM）患者 373 例，占总患者数的 91.65%；HPV E6/E7 mRNA 检测异常患者 87 例，占总患者数的 21.37%。2 组差异有统计学意义（$P<0.05$）。TCT 不同结果与 HPV E6/E7 mRNA 拷贝数的比较表明，从意义不明的不典型鳞状细胞（ASC-US）到不能排除高度上皮内病变的不典型鳞状上皮（ASC-H）、鳞状上皮内低度病变（LSIL）、鳞状上皮内高度病变（HSIL），随着细胞学诊断级别的升高，HPV E6/E7 mRNA 阳性率同步升高（$P<0.05$）。**结论**　宫颈细胞 HPV E6/E7 mRNA 诊断可较大程度降低过度检查和治疗的可能性，诊断宫颈上皮内瘤变（CIN）Ⅱ＋的准确性较高，可降低宫颈病变的漏诊率，其对于宫颈病变的诊断有较高的临床应用价值。

关键词：宫颈病变；　人乳头状瘤病毒；　宫颈活检；　诊断价值
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2016.21.014　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2016)21-2987-03

Diagnostic value of the HPV E6/E7 mRNA of cervical cells in the detection of cervical lesions*

MENG Zhiping, LI Yongming, YANG Ling, WU Xian, LIANG Jinyan, LIN Liwen, LIANG Ting, HUANG Chuanying
(*Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Guigang City, Guigang, Guangxi* 537100, *China*)

Abstract: Objective　To investigate the diagnostic value of the human papilloma virus (HPV) E6/E7 mRNA of cervical cells in the detection of cervical lesions. **Methods**　A total of 407 patients with cervical inflammation and abnormal vaginal bleeding were selected from October 2014 to October 2015 in the department of obstetrics and gynecology. By thinprep cytologic test (TCT), cervical cells of the patients were detected. And the E6/E7 mRNA of cervical cells was also detected. In addition, abnormal TCT results of 34 patients were inspected by pathological examination again, and the results of the pathological examination were the gold standard. Value of HPV E6/E7 mRNA in detection of cervical lesions was analyzed. **Results**　There were 34 cases having abnormal TCT results, which accounted for 8.35% in all the patients. There were 373 cases without intraepithelial neoplasia or malignant lesion, which accounted for 91.65% in all the patients. And 87 cases had abnormal HPV E6/E7 mRNA detection results, which accounted for 21.37%. The difference between the two groups had statistical significance ($P<0.05$). Along with the levels of cytohistologic diagnosis, the positive rates of the HPV E6/E7 mRNA in the testing of atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US), atypical squamous cells of highly intraepithelial lesion (ASC-H), low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) and high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) were also increased ($P<0.05$). **Conclusion**　Cervical HPV E6/E7 mRNA detection may reduce the excessive examination and treatment and it has the higher accuracy of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) Ⅱ+, at the same time, it can reduce the rate of misdiagnosis of cervical lesions. The method has higher clinical value in the diagnosis of cervical lesions.

Key words: cervical lesions;　HPV;　cervical biopsy;　diagnostic value

宫颈癌是一种恶性肿瘤，也是迄今为止已明确致癌因素的癌症之一。此类癌症主要是指发生于阴道处及鳞状上皮细胞、宫颈管内膜柱状上皮细胞交界处的肿瘤。宫颈癌由多因素综合作用而产生，其发病率已经仅次于乳腺癌，在女性恶性肿瘤疾病中占第 2 位。其发病趋势呈年轻化，发病率逐年上升。某些患者在患上宫颈病变后因为临床症状较不显著，造成对病情严重程度的错误估计，进而逐渐发展为较严重的情况。虽然目前对于宫颈病变的检测不断完善，许多地区的宫颈浸润癌发病率和病死率已大幅下降，但在我国，该病的诊断水平却仍然需要提高。已有研究表明，高危型人乳头状瘤病毒（HPV）感染是导致宫颈癌的主要病因，其 E6、E7 等基因能够表达出干扰正常细胞周期、染色体稳定，并促使其凋亡的蛋白质，使女性的宫颈疾病不断恶化，最终演变成宫颈癌。所以，在病变早期进行治疗、再治疗过程中，不断随访对于宫颈癌防治有一定的积极意义。这不仅对患者治疗过程中的风险预估、筛查、术后病情观察具有应用价值，更能够提高宫颈癌高危人群的生命

*　**基金项目：**广西壮族自治区贵港市科学技术局项目（140837）。
作者简介：蒙志平，男，主管技师，主要从事免疫学和分子诊断学方面的研究。

质量。

近年来，临床通常采用诸如 HPV DNA 检测等方法对宫颈病变进行筛查，虽能一定程度降低宫颈癌的发生率，但因 HPV DNA 检测是 1 种病因检测，对致癌基因转录和活动等方面的预测作用较低。而 HPV E6/E7 mRNA 检测，可有效地预测病毒的活动程度及病变程度，从而制订更好的治疗方案。本研究探讨了高危型 HPV E6/E7 mRNA 在宫颈病变的临床诊断价值，现将试验结果报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选取 2014 年 10 月至 2015 年 10 月在本院妇产科因宫颈炎性反应、体检发现宫颈赘生物、白带增多、白带带血、性交后异常出血或排液门诊患者共 407 例，患者年龄 21～67 岁，平均年龄为(40.2±9.5)岁，所有患者宫颈均完整，身体健康状况良好，均自愿进行新柏氏液基细胞学检测(TCT)和 HPV E6/E7 mRNA 检测。2 项检测结果均为“阴性”判定为正常；对 TCT 结果异常的 34 例患者行病理科组织病理学检查，以病理报告为“金标准”进行最终比较分析。排除标准：(1)患者自身患有免疫抑制疾病；(2)作者患有精神疾病不愿配合治疗；(3)患者自身患有慢性疾病；(4)患者有宫颈上皮内瘤变(CIN)治疗史。本次试验所有女性患者在其年龄、学历、宫颈疾病分级等方面的差异均无统计学意义($P>0.05$)。本次试验研究已通过本院医学伦理委员会批准，每位女性患者均签署个人知情同意书。

1.2　方法　TCT 检测。以专用拭子，紧贴宫颈口稍用力顺时针旋转 5 周，放入专用、含有细胞保存液的试管瓶中。采用膜式液基超薄细胞学和离心沉淀检测技术，按宫颈细胞学 TBS 分类系统进行分级，即：无上皮内瘤变或恶性病变(NILM)、意义不明的不典型鳞状细胞(ASC-US)、不能排除高度上皮内病变的不典型鳞状上皮(ASC-H)、鳞状上皮内低度病变(LSIL)、鳞状上皮内高度病变(HSIL)和鳞状细胞癌(SCC)。

HPV E6/E7 mRNA 检测。用专用宫颈刷于宫颈外口及颈管内旋转 5 圈，折断刷柄，置于专用保存液瓶中待用，根据科蒂亚(新乡)试剂盒检测要求，经过信号放大、加入标记荧光物质底物后，在配套冷光仪光度计上检测。检测结果为拷贝数，经公司计算软件自动判断结果。

1.3　诊断标准　依据阴道镜病理活检为“金标准”，将诊断结果为高级别宫颈病变(CIN Ⅱ＋级及宫颈浸润癌)及慢性宫颈炎、CIN Ⅰ级患者。宫颈细胞检查诊断，本院采用 TCT 行宫颈细胞学检查方式(根据 2001 年国家制订的 TBS 分类系统)，可对患者做出描述性诊断报告。具体分类如下：(1)TCT 正常：患者皮肤无上皮内病变或者恶性的改变(但是也包括自身存在的炎性反应或者正常情况)；(2)TCT 异常：鳞状细胞发生异常且人体腺细胞异常等情况。

1.4　统计学处理　本次研究数据采用 SPSS16.0 软件进行统计分析，计量资料采用 t 检验，计数资料采用 χ^2 检验，以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　TCT 及 HPV E6/E7 mRNA 对患者的阳性检出率　TCT异常患者共 34 例，占总患者数的 8.35%；NILM 患者 373 例，占总患者数的 91.65%；HPV E6/E7 mRNA 检测异常患者 87 例，占总患者数的 21.37%。2 组差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2　2 种方法检测结果的比较　TCT 不同结果与 HPV E6/E7 mRNA 拷贝数的比较表明，从 ASC-US 到 ASC-H、LSIL、HSIL，随着细胞学诊断级别的升高，HPV E6/E7 mRNA 阳性率同步升高($P<0.05$)。见表 1。

表 1　TCT 及 HPV E6/E7 mRNA 的标本结果[n(%)]

TCT 结果	n	HPV E6/E7 mRNA 阳性
NILM	373	62(16.6)
ASC-US	7	3(42.9)
ASC-H	4	3(75.0)
LSIL	13	10(76.9)
HSIL	7	6(85.7)
SCC	3	3(100.0)
AC	0	0(0.0)
合计	407	87(21.3)

3　讨　　论

我国针对宫颈癌临床诊断主要采用“三阶梯筛查”方案，其基础为“细胞学”，依靠进一步阴道镜检查或宫颈活组织的病理学检查等。但上述检查均基于形态学，检测出的细胞形态结果其实是 HPV 感染后的结果，而部分细胞可能受到细菌或者其他微生物影响而未表现出典型症状，加上检验或者试验过程中的操作误差、制片误差、计算误差及阅片主观性，都会制约“细胞检测”的准确性，容易造成较高的漏诊率。已有研究表明，宫颈癌与 CIN 的主要诱发因素为 HPV 的持续感染，而欧美国家已将高危型 HPV 作为联合检测的最初筛选方式。定期检查高危型 HPV 感染能有效判断宫颈癌的发病风险，这已成为 1 种有效的调查手段。但是，目前仍未解决 HPV 持续感染的无症状性、低特异性和可逆转性，意味着 HPV DNA 检测方式有可能检验出无意义感染，不仅增加患者经济负担，还影响患者心态，从而最终影响到患者的生命质量及治疗情况。

宫颈癌是严重的临床妇科疾病，病因复杂但具有一定规律性，同时涉及饮食习惯、家族史及基因缺陷等原因[1-3]，基因障碍在上述致病因素中占据主要地位。宫颈癌的形成是恶性肿瘤细胞在患者子宫口和阴道内部异常聚集，导致恶性肿块[4-6]。随着临床诊断技术的发展和民众护理意识的增强，近年来宫颈癌诊断率和治疗率有所提高[7-12]。但宫颈病变仍然难诊断、难治疗，且易发展为恶性肿瘤，甚至危及生命。HPV DNA 检测是诊断宫颈病变的有效途径之一，能较好地诊断患者肿瘤情况，对于宫颈病变的治疗有一定作用，但 HPV DNA 检测对高危宫颈病变诊断不灵敏。HPV E6/E7 mRNA 检测对肿瘤情况加剧时高度表达的 E6/E7 较为灵敏，是诊断宫颈癌的有效方式。本次研究采用 HPV DNA 检测和 HPV E6/E7 mRNA 检测对宫颈病变患者进行诊断，目的在于探讨 HPV E6/E7 mRNA 检测的诊断效果和临床应用价值。

本研究结果表明，TCT 异常患者 34 例，占总患者数的 8.35%，NILM 患者 373 例，占总患者数的 91.65%；HPV E6/E7 mRNA 检测异常患者 87 例，占总患者数的 21.37%。2 组差异有统计学意义($P<0.05$)；TCT 不同结果与 HPV E6/E7 mRNA 拷贝数的比较表明，从 ASC-US 到 ASC-H、LSIL、HSIL，随着细胞学诊断级别的升高，HPV E6/E7 mRNA 阳性

率同步升高($P<0.05$)。HPV E6/E7 mRNA 检测对于高危宫颈病变有较高阳性检出率(83.3%),而在一般宫颈病变中的阳性检出率较低。表明不同宫颈病变级别 HPV E6/E7 mRNA 拷贝值差异有统计学意义,HPV E6/E7 mRNA 表达随宫颈病变级别升高呈上升趋势。

综上所述,宫颈细胞 HPV E6/E7 mRNA 诊断可较大程度降低过度检查和治疗的可能性,诊断 CINⅡ+的准确性较高,可降低宫颈病变的漏诊率,对于宫颈病变的诊断有较高临床应用价值。提示高危型 HPV E6/E7 mRNA 若呈阳性,需引起重视,以防漏诊宫颈癌。但是,此种方式能否真正作为宫颈病变诊断的首选方案进行大范围使用,仍需要进行更大样本的检验,方可得出结论。

参考文献

[1] 李玲,张秋莹,刘杨. 人乳头状瘤病毒持续感染状态下 E6、E7 蛋白 mRNA 在宫颈癌不同分期的表达结果[J]. 检验医学与临床,2016,4(4):514-516.

[2] 何晓清,唐跃华,胡惠军,等. 惠州地区高危型 HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈癌筛查中的临床意义[J]. 检验医学与临床,2016,3(3):334-335.

[3] 陈法,何保昌,黄江峰,等. HPV 感染对口咽癌无病生存期影响的 Meta 分析[J]. 肿瘤防治研究,2016,43(1):30-34.

[4] 郑蓓佳,陈琪,顾华敏. 高危型人乳头状瘤病毒联合 TCT 检测在宫颈癌早期筛查中的应用[J]. 中国卫生检验杂志,2016,02(2):247-249.

[5] 杨燕芬,邱毅,佟雁,等. HPV 多重感染与宫颈病变的关系研究[J]. 中国妇幼保健,2016,2(2):254-256.

[6] 闫振宇,安玉英,张澍,等. 高危型人乳头状瘤病毒感染检测与宫颈病变影响因素分析[J]. 中华医院感染学杂志,2016,1(1):161-163.

[7] Rosa C,Patrick P,Gabriel D,et al. Cervical cancer screening in developing countries at a crossroad:emerging technologies and policy choices[J]. World J Clin Oncol,2015,6(6):281-290.

[8] 陈海迎,郑小冬,郭敏,等. 高危型人乳头瘤病毒 E6/E7 检测在宫颈细胞学 ASC-US 分流管理中的应用[J]. 中国妇幼保健,2015,30(35):6186-6188.

[9] 王一羽,王立宏,李军,等. 陕西省商洛地区 HPV 感染状况和分型特征[J]. 现代肿瘤医学,2016,2(2):288-291.

[10] 张博,张颖,牛力春,等. 液基细胞学联合 HPV mRNA 检测对宫颈癌的诊断价值[J]. 现代肿瘤医学,2016,1(1):118-122.

[11] 朱方培,任青玲. 宫颈癌及癌前病变早期筛查的新进展[J]. 现代肿瘤医学,2016,1(1):149-152.

[12] 韦彩素,李建湘,蓝燕,等. 人乳头瘤病毒 E6/E7 mRNA 表达水平与宫颈病变病理级别的相关性分析[J]. 广西医学,2015(11):1559-1561.

(收稿日期:2016-02-06　修回日期:2016-04-26)

(上接第 2986 页)

综上所述,由于血细胞分析在普通医院门诊中的应用极广,近几年来,血常规检测中的 MCV、MCH 已作为地贫筛查的重要指标并得到广泛应用。血常规筛查地贫具有操作简便、快速、费用低、敏感性高且不易漏诊等优点,尤其适用于基层医院。本研究结果表明,血常规 MCV、MCH 等指标可作为地贫的初步筛查指标,在临床积极推广。

参考文献

[1] Weatherall D. 2003 William Allan Award address, the thalassemias:the role of molecular genetics in an evolving global health problem[J]. Am J Hum Genet,2004,74(3):385-392.

[2] 王燕燕,李晓辉,徐西华. 地中海贫血诊治进展与我国现状[J]. 中国实用儿科杂志,2013,28(6):473-476.

[3] Olivieri NF,Brittenham GM. Management of the thalassemias[J]. Cold Spring Harb Perspect Med,2013,3(6):671-674.

[4] Weatherall DJ,Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders:an increasing global health problem[J]. Bull World Health Organ,2001,79(8):704-712.

[5] Muncie HJ,Campbell J. Alpha and beta thalassemia[J]. Am Fam Physician,2009,80(4):339-344.

[6] Behdani F,Badiee Z,Hebrani P,et al. Psychological aspects in children and adolescents with major thalassemia:a case-control study[J]. Iran J Pediatr,2015,25(3):e322.

[7] Goss C,Giardina P,Degtyaryova D,et al. Red blood cell transfusions for thalassemia:results of a survey assessing current practice and proposal of evidence-based guidelines[J]. Transfusion,2014,54(7):1773-1781.

[8] Bordbar E,Taghipour M,Zucconi BE. Reliability of Different RBC Indices and Formulas in Discriminating between beta-Thalassemia Minor and other Microcytic Hypochromic Cases[J]. Mediterr J Hematol Infect Dis,2015,7(1):e2015022.

[9] 姚莉琴,浦剑,邹团标,等. 红细胞参数在儿童地中海贫血筛查中的价值探讨[J]. 检验医学与临床,2010,7(15):1572-1574.

[10] 林文彬,何小洪,陈培松,等. 脐血 MCV、MCH 和 RDW 在地中海贫血产前筛查中的应用价值[J]. 中国卫生检验杂志,2015,25(22):3798-3800.

[11] 梁志洪,王云秀,刘冬冬,等. 广东地区地中海贫血基因携带者全血细胞计数结果分析[J]. 热带医学杂志,2014,14(7):846-849.

[12] 李翔,尹爱华,江静波,等. 脐带血红细胞 MCV 和 MCH 筛查新生儿地中海贫血的可行性研究[J]. 生命科学研究,2014,18(3):241-245.

(收稿日期:2016-05-08　修回日期:2016-06-28)