

• 临床研究 •

不同年龄组宫颈上皮内瘤变与人乳头瘤病毒的相关性研究

王丽宁, 孔令红, 韩冬, 张新朵, 薛慧忠, 张新鹏
(北京市垂杨柳医院病理科, 北京 100022)

摘要:目的 探讨女性宫颈上皮内瘤变的级别与人乳头瘤病毒(HPV)感染的关系。方法 运用 PCR 反向杂交法对 368 例女性进行 28 种 HPV DNA 检测分型, 并经组织病理学诊断区分低级别上皮内病变和高级别上皮内病变。结果 368 例患者中 325 例(88.3%)感染 HPV, 高危型 HPV(hrHPV)在高级别上皮内病变(HSIL)组中的感染率明显高于低级别上皮内病变(LSIL)组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。在<35 岁组、35~55 岁组、>55 岁组中, HPV、hrHPV 及多型 HPV 的感染率差异均无统计学意义($P > 0.05$)。HPV16 在 LSIL 和 HSIL 中感染率的差异有统计学意义($P < 0.01$)。HPV16、HPV58 和 HPV52 在<35 岁组、35~55 岁组、>55 岁组中感染率的差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 hrHPV 的感染与宫颈上皮内病变的级别有关, 其中 HPV16 型的感染尤其要引起临床的重视。

关键词:低级别上皮内病变; 高级别上皮内病变; 高危型 HPV; HPV16

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.054

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)13-1857-03

过去的 50 年, 由于普查项目的开展, 妇女宫颈癌的发病率有所下降, 但是, 在世界范围内仍然是除乳腺癌和肠癌的第三大恶性肿瘤^[1]。人乳头瘤病毒(HPV)感染在宫颈上皮内病变中起着重要作用, HPV 感染很常见, 年轻女性感染率高达约 80%, 老年女性仅有 5%^[2]。目前多数报道认为持续高危型 HPV(hrHPV)感染是宫颈上皮内瘤变的重要致病因子^[3~4]。但对于 HPV 单、多型感染在宫颈上皮内瘤变的作用, 以及各年龄段妇女感染 HPV 的有无差别还存在争议。本研究采用 PCR 反向杂交法, 探讨 368 例妇女不同年龄段 HPV 感染型别与宫颈上皮内瘤变的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 8 月至 2016 年 8 月, 在北京市垂杨柳医院行阴道镜活检的疑似宫颈上皮内瘤变的患者 368 例, 年龄 18~78 岁, 中位年龄 37 岁, 经两位高年资病理医生复阅病理切片, 诊断标准参照《2014 年第四版女性生殖器官肿瘤 WHO 分类》分为低级别上皮内病变(LSIL)组 212 例、高级别上皮内病变(HSIL)组 156 例。按照年龄大小分为三个年龄段, 分别为<35 岁组 176 例、35~55 岁组 121 例和>55 岁组 71 例, 所有患者活检前均检测 HPV 型别, 其中感染一种亚型为单型感染, 感染两种亚型或两种以上者判定为多型感染。

1.2 仪器 精密公司 TMTD-8222 型电热恒温震荡水槽; HEME 公司 16K 型台式离心机; 新康公司 XK80-A 型快速混匀器; 奥盛公司 K30 型干式恒温器; HEME 公司 3200 型基因扩增仪; LBP SYSTEM 公司 DA8000 型全自动核酸分子杂交仪。

1.3 方法 HPV DNA 分型检测采用安必平公司试剂, 利用 PCR 反向杂交法, 提取分泌物细胞中 HPV DNA 后, 上机进行 HPV DNA 扩增, 产物变性后取出进行反向杂交, 显色后的结果与标准卡进行对照。操作和结果判断严格按照试剂盒要求进行。高危型 HPV15 种, 包括 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV56、HPV58、HPV59、HPV68、HPV73、HPV82; 低危型 13 种, 包括 HPV6、HPV11、HPV26、HPV40、HPV42、HPV43、HPV44、HPV53、HPV54、HPV61、HPV66、HPV81、HPV83。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件分析, 率比较使用 χ^2

检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 感染基本情况 368 例患者中 325 例(88.3%)感染 HPV。其中 LSIL、HSIL 组的感染率分别为 88.2%、88.5%, 差异无统计学意义($P > 0.05$); HSIL 组 hrHPV 的感染率(100%)明显高于 LSIL 组(78.6%), 差异有统计学意义($P < 0.001$); 多型 HPV 的感染率分别为 43.9%、41%, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。28 种 HPV 类型中 HPV16、HPV58 和 HPV52 在 LSIL 和 HSIL 组的阳性率(19.8%、16.0%、18.2% 和 36.2%、18.8%、21.7%)最高, 其中 HPV16 型在两组中感染率的差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 LSIL、HSIL 组中 HPV、hrHPV、单、多型 HPV 的感染情况(n)

组别	HPV		hrHPV		单、多型 HPV	
	-	+	-	+	单一	多型
LSIL	25	187	40	147	105	82
HSIL	18	138	0	138	81	57
P		0.94		<0.001		0.64

注: 分析 HPV 感染情况时, LSIL 为 212 例, HSIL 为 156 例; 分析 LSIL、HSIL 组 hrHPV 感染情况和单、多型感染时例数分别为 187 例和 138 例。

表 2 LSIL、HSIL 组中 HPV16、HPV58、HPV52 的感染率

组别	n	HPV16		HPV58		HPV52	
		-	+	-	+	-	+
LSIL	187	150	37	157	30	153	34
HSIL	138	88	50	112	26	108	30
P			0.001		0.51		0.43

2.2 不同年龄组 HPV 感染情况及与 LLSIL、HSI 的关系 LSIL 组在<35 岁组、35~55 岁组、>55 岁组的分布情况(46.7%、34.9%、18.4%)与 HSIL 组(49.4%、30.1%、20.5%)差异无统计学意义($P > 0.05$)。HPV、hrHPV 和多型 HPV 在<35 岁组、35~55 岁组、>55 岁组的感染率分别为

89.2%、88.4%、85.9%，87.9%、87.9%、50% 和 45.2%、43.0%、36.1%，差异均无统计学意义($P>0.05$)，见表 3。

表 3 各年龄段 HPV、hrHPV、单多型 HPV 的感染情况(n)

年龄(岁)	n	HPV		hrHPV*		单、多型 HPV52*	
		-	+	-	+	单一	多型
<35	176	19	157	19	138	86	71
35~55	121	14	107	13	94	61	46
>55	71	10	61	8	53	39	22
P		0.76		0.97		0.47	

注：分析 HPV 感染情况时，LSIL 为 212 例，HSIL 为 156 例；分析 LSIL、HSIL 组 hrHPV 感染情况和单、多型感染时例数分别为 187 例和 138 例。

3 讨 论

宫颈癌由上皮内瘤变发展而来，经过 5 到 15 年发展至浸润癌，随着流行病学和分子生物学的开展，HPV 感染被认为是宫颈癌最重要的病因^[5]。

HPV 是双链 DNA 病毒，目前已发现 120 种 HPV，被划分为高危型和低危型，高危型病毒的持续感染与宫颈上皮内瘤变的发展有关^[6~8]。HPV 通过调控 G1-S 期导致宫颈癌，hrHPV 的 E6、E7 蛋白抑制细胞周期调控蛋白 P53 和 Rb。P16 是细胞周期依赖性激酶 4(CDK4)的抑制因子，通过与 CDK4 和 CDK6 的相互作用，P16 抑制增殖刺激蛋白 cyclinD/CDK4 复合物的形成，P16 也可阻止 CDK 导致的 Rb 的磷酸化。Rb 的磷酸化可引起 E2F 转录因子的释放，引起 G1-S 期进展。HPV 感染通过 E7 和 Rb 的绑定引起 E2F 的释放。E2F 的释放刺激了参与 G1 至 S 周期基因的过表达^[8~11]。

本实验中高危型 hrHPV 的感染率在 LSIL、HSIL 组分别为 78.6%、100%，hrHPV 在 HSIL 组中的表达率明显高于 LSIL 组，差异有统计学意义($P<0.05$)，与文献报道一致^[12~13]。目前关于单一、多型 HPV 病毒感染率在宫颈上皮内瘤变中的差异文献报道不一致，其中温路生等^[14]报道的 200 例标本中，HPV 总感染率是 51.50%，其中慢性宫颈炎、LSIL、HSIL 和宫颈鳞状细胞癌的 HPV 感染率分别为 22/57(38.60%)、12/33(36.36%)、44/81(54.32%)、25/29(86.21%)，与宫颈病变密切相关($P<0.01$)；并且不同宫颈病变中单一 HPV 感染率明显高于多重 HPV 感染率($P<0.05$)；多重感染、高危型感染的各组 HPV 感染率在不同级别宫颈病变差异有统计学意义($P<0.05$)。而赵红霞等^[15]研究共检测了 102 例女性宫颈标本，根据病变程度分为：低级别上皮内病变(LSIL)/未见上皮病变或恶性病变组(LSIL/NILM 组)与高级别鳞状上皮内病变/浸润性宫颈癌组(ICC/HSIL 组)。结果两组标本中，多重感染的发生率差异无显著性。本试验的结果是多型 HPV 的感染率在 LSIL 和 HSIL 组组织分别为 43.9%、41%，差异无统计学意义。与赵红霞等^[15]报道一致。

28 种检测的 HPV 类型中，筛选出感染率最高的三种类型分别是 HPV16 型、HPV58 型和 HPV52 型。LSIL 组中感染这三种类型的阳性率分别为 19.8%、16.0% 及 18.2%，HSIL 组中感染这三种类型的阳性率分别为 36.2%、18.8% 及 21.7%，其中 HPV16 型在两组中感染率的差异有统计学意义($P=0.001$)。文献[16]中有类似的报道，并且在该文献中提出 HPV58 型在两组病变中的感染率也有差异，可能与该文献

的样本量有限仅 31 例有关。但也提示临床不仅要对 HPV16 型病毒的感染重视，对 HPV58 型病毒的感染也要引起足够的重视。

综上所述，宫颈上皮内瘤变的级别与高危型 HPV 的感染相关，尤其与 HPV16 有关，提示临床工作中要关注高危型 HPV 的检出并重视 HPV16 的感染。

参考文献

- [1] Shahsiah R, Khademhosseini M, Mehrdad N, et al. Human papillomavirus genotypes in Iranian patients with cervical cancer[J]. Pathol Res Pract, 2011, 207(7): 754-757.
- [2] Rosenfeld WD, Rose E, Vermund SH, et al. Follow-up evaluation of cervicovaginal human papillomavirus infection in adolescents[J]. Pediatr, 1992, 121(2): 307-311.
- [3] Asiaf A, Ahmad ST, Mohammad SO, et al. Review of the current knowledge on the epidemiology, pathogenesis, and prevention of human papillomavirus infection[J]. Cancer Prev, 2014, 23(3): 206-224.
- [4] Longatto Filho A, Utagawa ML, Shirata NK, et al. Immunocytochemical expression of p16INK4A and Ki-67 in cytologically negative and equivocal pap smears positive for oncogenic human papillomavirus [J]. Gynecol Pathol, 2005, 24(2): 118-124.
- [5] Zur Hausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 1977, 78(78): 1-30.
- [6] Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, et al. Human papillomavirus infection of the cervix: Relative risk associations of 15 common anogenital types[J]. Obstet Gynecol, 1992, 84(79): 328-337.
- [7] Bosch FX, Manos MM, Munoz N, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. [J] Natl Cancer Inst, 1995, 87(11): 796-802.
- [8] Pfister H. Human papillomaviruses and genital cancer [J]. Adv Cancer Res, 1987, 48(48): 113-147.
- [9] Dyson N, Howley PM, Munger K, et al. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product[J]. Science, 1989(243), 934-937.
- [10] Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types[J]. Science, 1994, 264(5157): 436-440.
- [11] Carrigg A, Teschendorf C, Amaro D, et al. Examination of sources of diagnostic error leading to cervical cone biopsies with no evidence of dysplasia[J]. Am J Clin Pathol, 2013, 139(4): 422-427.
- [12] Capobianco G, Marras V, Wenger JM, et al. p16 immunostaining and HPV testing in histological specimens from the uterine cervix[J]. Gynaecol Oncol, 2013, 34(3): 227-230.
- [13] Liao GD, Sellors JW, Sun HK, et al. p16INK4A immuno-

- histochemical staining and predictive value for progression of cervical intraepithelial neoplasia grade 1: a prospective study in China[J]. Int J Cancer, 2014, 134(7): 1715-1724.
- [14] 温路生, 孟加榕, 唐忠辉, 等. 不同类型人乳头瘤病毒多重感染与宫颈病变的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(15): 2156-2157.
- [15] 赵红霞, 董艳双, 蔡友治, 等. 人乳头状瘤病毒多重感染对高度鳞状上皮内病变和宫颈癌发生的影响[J]. 实用医学·临床研究·

杂志, 2016, 32(8): 1268-1270.

- [16] Eun JN, Jae WK, Jong WH, et al. Expression of the p16INK4a and Ki-67 in relation to the grade of cervical intraepithelial neoplasia and high-risk human papillomavirus infection[J]. J Gynecol Oncol, 2008, 19, (3): 162-168.

(收稿日期:2017-02-18 修回日期:2017-04-21)

血红蛋白、平均红细胞体积的检测对地中海贫血的筛查价值

方菊¹, 李欢^{2△}, 周湘¹

(1. 三亚市妇幼保健院检验科, 海南三亚 572000; 2. 三亚市人民医院检验科, 海南三亚 572000)

摘要:目的 探讨血红蛋白(Hb)、平均红细胞体积(MCV)的检测对地中海贫血中的筛查价值。方法 采用法国 Sebia 公司 apillarys2 flex piercing 全自动电泳分析系统、迈瑞 5380 全自动血细胞分析仪器及一管定量法分别对 95 例非地中海贫血者和确诊的 145 例地中海贫血者进行 Hb 电泳、MCV 及红细胞脆性测定, 并对相关结果进行统计学分析。结果 MCV、Hb 电泳检测及红细胞脆性对地中海贫血诊断的特异度及灵敏度分别为 91.36%、78.12%、71.32% 及 69.25%、90.02%、91.89%; 红细胞脆性联合 Hb 电泳、MCV 联合 Hb 电泳, 两项联合平行检测的特异度及灵敏度分别为 78.15%、63.61% 及 93.69%、97.52%; 联合系列检测的特异度及灵敏度分别为 99.12%、97.23% 及 68.85%、71.21%; MCV、红细胞脆性联合电泳, 三项联合平行检测的特异度、灵敏度为 61.78%、100.0%; 联合系列检测的特异度、灵敏度为 100.0%、67.38%。数据经 U 检验后显示, 各单项检测与平行联合检测的灵敏度对比, 各单项检测与联合检测的特异度之间对比, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在地中海贫血中的筛查中 MCV、Hb 电泳检测及红细胞脆性系列联合检测可增加检测特异度, 平行联合检测可提高灵敏度。

关键词: 血红蛋白; 平均红细胞体积检测; 地中海贫血筛查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.055

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)13-1859-03

地中海贫血(简称地贫)是一种由于珠蛋白编码基因突变、缺失, 导致珠蛋白肽链合成障碍所引起的遗传性溶血性疾病。因在地中海国家首先发现而得名, 目前地贫尚无有效的治疗方法, 在我国广东、广西等南方省份具有较高的发病率^[1]。在社会人群中筛查出基因携带者, 预防重型患儿出生是唯一控制该病的途径。地贫的检测方法有很多, 目前对其明确诊断国内外采用的是聚合酶链反应(PCR)技术结合其他生物学手段检测地贫基因的方法^[2]。但生物学技术方法繁琐、要求高、费用昂贵等, 尚无法应用到各基层医院。因而, 国内实验室仍常用血液检测法, 检测项目包括: 血红蛋白(Hb)、平均红细胞参数、Hb 电泳及红细胞脆性等^[3]。但单一的血液指标检测存在灵敏度及特异性的不足。为此, 本次实验选取 145 例确诊地中海贫血者与 95 例非地中海贫血者对其进行平均红细胞体积(MCV)、Hb 电泳检测和红细胞脆性测定, 并将不同检测方法得到的结果进行系列联合与平行联合分析, 对比其在临床地中海贫血诊断中的价值, 现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 3 月至 2016 年 5 月间本院住院患者及在本院进行婚检者共 2300 例, 其中 6 月龄以下婴儿 280 例。所有受检者均采用全自动血细胞分析仪器检测 MCV、一管定量法检测红细胞脆性、全自动电泳分析系统进行 Hb 电泳分析。同时从受检者中随机抽取 240 例进行地贫基因生物学技术诊断, 确诊地中海贫血 145 例(地贫组)和 95 例非地中海贫血(如缺铁性及其他贫血, 或正常)作为对照组。

1.2 方法

1.2.1 红细胞脆性检测 采用一管定量法, 严格按照操作说明进行, 每批检测均设正常对照(选择 MCV、MCH、MCHC 均正常的血液标本), 正常值为溶血百分率 $\geq 60\%$, 本次实验取溶血百分率 60% 为截断值。

1.2.2 MCV 测定 所有受检者静脉抗凝采血 2 mL, 采用迈瑞 5380 全自动血细胞分析仪, 严格按照仪器说明书进行检测。成人男女正常参考值 80~95 fL, 取 80 fL 为截断值; 婴儿正常参考值 100~120 fL, 取 100 fL 为截断值。

1.2.3 Hb 电泳检测 采用法国 Sebia 公司 apillarys2 flex piercing 全自动电泳分析仪及原厂试剂盒, 严格按照操作规程进行。正常参考值成人男女范围为 Hb A2 2.5%~3.5%, Hb A > 94.5%, Hb F < 2.0%, 无异常 Hb 带出现。本次实验取成人 Hb A2 > 3.5% 或 Hb A2 < 2.5% 或发现异常 Hb 带, 婴儿 HbA < 12% 或发现异常 Hb 带为截断值。

1.2.4 地中海贫血基因检测 提取受检者外周血白细胞 DNA 进行基因检测。采用珠海亚能公司和中山医科大学达安公司试剂对 α 珠蛋白基因分析, 先行 PCR 扩增后, 再进行琼脂糖电泳检测。采用中山医科大学达安公司试剂对 β 珠蛋白基因进行分析, 先行 PCR 再结合反向点杂交进行。

1.3 判定标准及评价指标^[4] 以基因检测结果作为地中海贫血的诊断参比标准。(1) 平行联合检测: 采用平行检测原则, 即几个检测方法中任何一个检测结果出现阳性, 即判定为平行检测阳性。(2) 系列联合检测: 采用联合检测原则, 即几个检测方