

• 论 著 •

人乳头瘤病毒感染与宫颈局部细胞因子相关性研究*

陶 瑞^{1,2}, 朱 丹^{3#}, 孙 鹭^{1,2△}, 范 欣^{1,2}, 张桂前^{1,2}, 高玉红^{1,2}

(1. 云南省第一人民医院检验科, 昆明 650032; 2. 昆明理工大学附属昆华医院检验科, 昆明 650032;
3. 云南省肿瘤医院病理科, 昆明 650106)

摘 要:目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)感染后宿主宫颈局部免疫状态。方法 209 例 HPV 感染女性(感染组)及 40 例 HPV 阴性女性(对照组)为研究对象。应用 PCR-膜杂交法进行 HPV 分型, 同时应用 ELISA 检测宫颈细胞保存液中白细胞介素(IL)-2、IL-4、干扰素(IFN)- γ 、转化生长因子(TGF)- β 水平。结果 感染组 IL-2、IL-4、IFN- γ 水平与对照组比较, 差异有统计学意义($P=0.000\ 1$ 、 $0.001\ 0$ 、 $0.000\ 1$); 但感染组与对照组 TGF- β 水平比较, 差异无统计学意义($P=0.680\ 0$)。高危组 IFN- γ 水平低于低危组, 差异有统计学意义($P=0.007\ 0$)。结论 HPV 感染引起宫颈局部细胞因子表达和免疫功能改变, 通过改变宫颈局部免疫环境可作为有效的治疗手段阻断 HPV 的持续感染。

关键词:人乳头瘤病毒; 细胞因子; 宫颈; 免疫功能

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.15.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)15-2028-03

Study on the correlation between human papillomavirus infection and cervical cytokines*

TAO Rui^{1,2}, ZHU Dan^{3#}, SUN Yi^{1,2△}, FAN Xin^{1,2}, ZHANG Guiqian^{1,2}, GAO Yuhong^{1,2}

(1. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650032, China;
2. Department of Clinical Laboratory, the Kunhua Hospital Affiliated to Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650032, China; 3. Department of Pathology, the Third People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650106, China)

Abstract: Objective To study the correlation between human papillomavirus(HPV) infection and cervical immune function. Methods A total of 209 women with HPV positive results in HPV-infected group, 40 women with HPV negative results in control group, cervical samples were detected and genotyped with HPV GenoArray Diagnostic Kit. Concentrations of cytokines including interleukin(IL)-2, IL-4, interferon(IFN)- γ , and transforming growth factor(TGF)- β in cervical specimens were measured by ELISA. Results IL-2, IL-4 and IFN- γ levels in the HPV-infected group were different with those of the control group($P=0.000\ 1$, $0.001\ 0$, $0.000\ 1$), TGF- β in HPV-infected group and control group showed no significant difference($P=0.680\ 0$). IFN- γ in high-risk HPV group was significant lower than that in the low-risk HPV group($P=0.007\ 0$). Conclusion HPV infection might be one of the main reasons of cervical local immune dysfunction.

Key words: human papillomavirus; cytokines; cervical; immune function

宫颈癌是最常见的妇科肿瘤之一, 患病率位居全世界女性恶性肿瘤的第二位, 据统计, 全世界每年大约有 50 万的新增病例, 同时约半数死亡, 严重威胁着广大女性的身体健康^[1]。大量的研究表明, 低危型人乳头瘤病毒(HPV)感染宫颈能够引起尖锐湿疣等泌尿生殖道感染, 而高危型 HPV, 特别是 16 和 18 型持续感染是诱发宫颈癌的重要因素, 据统计在 99.7% 的宫颈癌患者中可以检测到 HPV 感染。但是多数人的感染只是短暂的, 约 90% 的个体能在感染两年内清除 HPV, 只有极少数持续性感染高危型 HPV 才会导致恶性病变^[2]。有效的免疫应答在抵御 HPV 感染中起着关键性的作用, 其中细胞因子在免疫调节中扮演着重要角色。本文拟通过检测 HPV 感染者宫颈细胞保存液中细胞因子白细胞介素(IL)-2、IL-4、干扰素(IFN)- γ 、转化生长因子(TGF)- β 的水平, 分析 HPV 感染者宫颈局部细胞因子的表达水平的改变。

1 资料与方法

1.1 一般资料 云南省第一人民医院 2015 年 12 月至 2016

年 6 月收治的 209 例 HPV 感染女性纳入感染组, 年龄 25~45 岁。同期于本院体检的 HPV 阴性健康女性 40 例纳入对照组。所有纳入对象均排除妊娠期, 急性感染, 慢性疾病(自身免疫性疾病、糖尿病、高血压等疾病), 前 3 个月有口服避孕药史等。

1.2 仪器与试剂 核酸提取后采用 SLAN8.0 实时荧光定量 PCR 仪(上海宏石生物仪器公司)扩增, PCR 产物用 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪(广东凯普生物仪器有限公司)进行膜杂交并识读杂交结果。同时采用里苏(上海)生物技术有限公司生产的 ELISA 试剂盒严格按照试剂盒说明书对各种细胞因子水平进行定量测定。

1.3 方法 收集患者和健康者的宫颈脱落细胞标本。应用 PCR-膜杂交法进行 HPV 分型检测。感染组分为高危组(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 等高危型 HPV 感染)和低危组(HPV6、11、40、42、43、44、53、54、61、81 和 CP8304 等低危型 HPV 感染)。应用 ELISA 试剂盒检测宫

* 基金项目: 云南省高层次卫生计生技术人才培养专项经费资助项目(D-201670)。

作者简介: 陶瑞, 男, 技师, 主要从事免疫学检验、病毒免疫学研究。 # 共同第一作者, 朱丹, 女, 技师, 主要从事免疫学检验研究。

△ 通信作者, E-mail: huludeng@126.com。

颈细胞保存液中 IL-2、IL-4、IFN- γ 、TGF- β 的水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 感染率和型别分布 HPV 感染组患者的 HPV 型别及感染情况见表 1。其中单一感染 158 例,混合感染 51 例;单纯高危型感染 120 例,单纯低危型感染 38 例。在 HPV 感染人群中,以单一高危型感染为主。

2.2 感染组与对照组宫颈局部环境中细胞因子表达水平 感染组与对照组宫颈脱落细胞保存液中细胞因子表达水平见表 2。感染组 IL-2、IL-4、IFN- γ 水平与对照组比较,差异有统计学意义($P=0.000\ 1$ 、 $0.001\ 0$ 、 $0.000\ 1$);但 HPV 感染组与对照组 TGF- β 水平比较,差异无统计学意义($P=0.680\ 0$)。

2.3 不同感染类型患者细胞因子水平比较 根据感染型别的

不同将感染组分为高危组(含单一感染和多重感染高危型别的患者)和低危组(含单一感染和多重感染,但不感染高危型别中任何一型),各组的细胞因子水平见表 3。高危组、低危组 IL-2、IL-4、IFN- γ 水平与对照组相比,差异有统计学意义($P=0.000\ 1$);其中高危组 IFN- γ 水平低于低危组,差异有统计学意义($P=0.007\ 0$)。

表 1 感染组 HPV 患者感染类型分布[n(%)]

感染类型	例数及构成比
单一高危型感染	120(57.44)
单一低危型感染	38(18.18)
二重感染	40(19.13)
三重感染	7(3.34)
四重感染	4(1.91)
合计	209(100.00)

表 2 感染组与对照组宫颈细胞保存液中细胞因子水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-2(pg/mL)	IL-4(ng/mL)	IFN- γ (pg/mL)	TGF- β (ng/mL)
感染组	209	1 110.2 \pm 668.6 *	369.7 \pm 203.4 *	689.4 \pm 393.5 *	4 036.9 \pm 1 756.3
对照组	40	2 267.1 \pm 747.4	216.0 \pm 107.5	990.2 \pm 446.0	4 150.6 \pm 1 431.5

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

表 3 不同感染类型患者宫颈细胞保存液细胞因子水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-2(pg/mL)	IL-4(ng/mL)	IFN- γ (pg/mL)	TGF- β (ng/mL)
高危组	151	1 104.8 \pm 666.6 *	353.5 \pm 204.7 *	642.2 \pm 379.2 * #	4 099.5 \pm 1 706.0
低危组	58	1 127.8 \pm 688.5 *	403.8 \pm 198.0 *	811.6 \pm 429.2 *	3 717.6 \pm 1 622.5
对照组	40	2 267.1 \pm 747.4	216.0 \pm 107.5	990.2 \pm 446.0	4 150.6 \pm 1 431.5

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与低危组比较,# $P<0.05$ 。

3 讨 论

细胞因子是构成免疫系统的重要介质之一,种类繁多,其作为免疫系统中细胞间相互作用的信号分子,通过与细胞膜上受体结合发挥多种生物效应,在免疫应答、免疫调节和炎症反应中具有重要作用^[2]。在特异性抗原刺激下,不同转录因子诱导 Th 细胞分化成 Th1、Th2 细胞。Th1 细胞以表达 IL-2 为主,IL-2 可诱导细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)、自然杀伤细胞(NK)和淋巴因子诱导的杀伤细胞(LAK)等多种杀伤细胞的分化和杀伤效应,并诱导杀伤细胞产生 IFN- γ 、肿瘤坏死因子(TNF- α)等细胞因子,被称为 Th1 型细胞因子。Th2 细胞以表达 IL-4 为主,因此 IL-4 又称为 Th2 型细胞因子。Th1 和 Th2 细胞相互制约,二者的动态平衡是机体处于健康状态的必要条件,若二者平衡失调,可导致感染性疾病、自身免疫性疾病,甚至肿瘤的发生^[3]。Th1 与 Th2 的动态平衡被打破,偏向于 Th1 优势应答或 Th2 优势应答,称为 Th1/Th2 漂移。机体的抗肿瘤作用以 Th1 介导的细胞免疫为主,在大多数肿瘤患者体内均表现为典型的 Th2 漂移现象。本研究发现,HPV 感染者,无论是高危型还是低危型感染均表现为 IL-4 的水平明显上升,IL-2 则明显下降,说明宫颈组织受高危型 HPV 持续感染后,可能出现局部呈免疫抑制状态,细胞因子的表达水平发生变化,长此以往将导致对肿瘤的免疫监视作用降低,从而诱使受 HPV 感染的宫颈细胞出现异常分化^[4]。

IFN 是一组具有多种功能的活性蛋白质,是 HPV 感染的

细胞中合成的一种重要的免疫调节因子,可活化抗病毒免疫反应并抑制病毒复制^[5]。IFN 已经被证明可以抑制导致宫颈癌的 HPV18 mRNA 阳性细胞分化及增殖^[6]。本研究中,感染组与对照组比较,感染组 IFN- γ 水平明显降低,说明 HPV 感染后机体宫颈局部抗病毒能力下降,减弱了病毒抗原决定簇的生成,并且减少了 CTL 和 NK 的毒性溶解功能。尤其值得一提的是,感染了高危型 HPV 的患者 IFN- γ 水平比低危型降低更为明显,提示 IFN- γ 可作为高危型 HPV 感染的一项检测指标,可间接反映机体防御 HPV 感染的能力。

TGF 是由上皮细胞产生的一类多肽类的生长因子。HPV 感染后,TGF- β 能抑制机体 CTL 的产生和 NK 活化,减少相关细胞因子的产生,干扰机体的细胞免疫功能,使 HPV 逃避免疫监视,导致持续感染和疾病的发生^[7-8]。在本次研究中,TGF- β 的水平在高危组或低危组无明显差异,也有可能是宫颈细胞保存液中 TGF- β 水平在 HPV 感染后没有变化,只有活性的改变,而本研究采用的 ELISA 试剂盒无法检测其活性。

综上所述,细胞因子参与了 HPV 感染的过程,有的细胞因子,如 IFN- γ 在高危型和低危型感染患者中的表达水平存在差异,这提示可以通过检测细胞因子判断病变程度和机体对病毒感染的局部免疫能力,并有针对性地改变宫颈局部免疫环境以消除病毒感染。在宫颈癌的发生过程中,众多细胞因子牵涉其中,它们相互联系,关系错综复杂,在宫颈癌发生之前的病变过程中细胞因子的变化和宫颈局部免疫功(下转第 2033 页)

程度等有关。呼吸道、泌尿道、生殖道等较易与病原菌接触,以及机体感染引起的阑尾炎等,都会导致以上标本阳性率的增高,这与前期报道相一致^[10-12]。大肠埃希菌的标本分布及科室分布分析结果显示,尿液标本、阑尾内容物标本、脓液标本是大肠埃希菌感染的主要标本类型,即泌尿系统、阑尾部位、术后感染较易发生大肠埃希菌的感染;积液标本、渗出液标本送检的标本数较少,但容易受大肠埃希菌的感染,可能与标本采集技术要求高、未重视无菌操作有关。

ESBLs 阳性大肠埃希菌的科室分布应客观考虑整体 ESBLs 阳性大肠埃希菌检出数较多的科室,如呼吸科(41.56%)、老年病(40.74%)、职业病科(41.30%),这 3 个科室的患者属于易感人群,应高度重视院内感染的防控。尤其是产科、呼吸科、职业病科,不参照检出比例,检出的 ESBLs 阳性大肠埃希菌的例数也较多。因此,针对以上 ESBLs 阳性大肠埃希菌的感染率较高的科室,应当加强和控制院内感染,做好医务工作人员的无菌防护、患者的有效隔离、术后感染及各项感染的及时治疗等相关措施。

2014—2015 年大肠埃希菌对常见抗菌药物的耐药率呈现上升的趋势,尤其是对呋喃妥因、美罗培南、头孢西丁、头孢替坦、亚胺培南的耐药率增加较大,对氨基曲南、复方磺胺甲噁唑、庆大霉素及部分头孢类抗菌药物的耐药率在下降,临床用药习惯的不同,导致不同的地方大肠埃希菌耐药率存在一定的差异^[13-14]。常用的抗菌药物会在长期的使用过程中,较易产生耐药,因此在治疗的过程中,需根据药敏结果,谨慎选择合适的抗菌药物,以降低大肠埃希菌的耐药率。

综上所述,大肠埃希菌的检出率 2015 年有所上升,其对多种抗菌药物的耐药率呈现上升的趋势,需加强医院感染的防控,避免临床经验用药,选择合适的抗菌药物进行治疗,以降低耐药率,提高治愈率。

参考文献

[1] 张志坚. 河南地区大肠埃希菌产超广谱 β -内酰胺酶的研究[D]. 郑州:郑州大学,2010.
[2] 莫莉晓芳. 大理地区产 β -内酰胺酶大肠埃希菌耐药性及

其所致感染性疾病研究[D]. 大理:大理学院,2013.
[3] 林艳芳,江振友,陈琛,等. 澳门地区产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌基因型分析[J]. 中山大学学报(医学科学版),2011,32(2):274-278.
[4] 韩艳琴. 肠杆菌科细菌产超广谱 β -内酰胺酶细菌的检测方法及耐药性[J]. 吉林医学,2014,57(30):6757.
[5] 陈彩贞. 肠杆菌科细菌产超广谱 β -内酰胺酶的检测及耐药性分析[J]. 临床和实验医学杂志,2010,9(18):1383-1384.
[6] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006.
[7] 孙燕萍,彭浩,凌霞,等. VITEK 2-Compact 全自动微生物分析系统的应用及鉴定结果分析[J]. 现代预防医学,2010,37(20):3891-3893.
[8] 乔宁,喻华,殷琳,等. VITEK 2-Compact 全自动微生物分析性能分析[J]. 淮海医药,2012,30(3):211-213.
[9] 谢南子. 梅里埃血培养仪联合 Vitek2 compact 在血标本中菌株分离鉴定及耐药检测分析[J]. 中国社区医师,2016,32(1):16-17.
[10] 闫广运,张敏. 2008—2014 年 1 239 株大肠埃希菌的医院感染状况及耐药分析[J]. 现代预防医学,2016,43(3):534-536.
[11] Han YY,Blatter J,Brehm JM,et al. Diet and asthma: vitamins and methyl donors[J]. Lancet Respir Med,2013,1(10):813-822.
[12] 龚光明,李桃,张晓芳,等. 产超广谱 β -内酰胺酶肠杆菌科细菌的临床分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(1):13-15.
[13] 张任飞,潘淑,马瑜珊,等. 抗菌药物整治与病原菌耐药趋势变化相关性分析[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(1):31-32.

(收稿日期:2017-02-08 修回日期:2017-04-08)

(上接第 2029 页)

能失调值得投入更多关注,以进一步明确疾病的恶性转化过程。

参考文献

[1] 陈明. HPV 感染致宫颈癌的免疫逃避机制[J]. 国外医学妇产科分册,2007,34(1):50-53.
[2] 鲁选文,肖长义,叶红. 细胞因子与人类乳头瘤病毒及宫颈癌相关性的研究进展[J]. 中华临床医师杂志,2011,5(14):4163-4166.
[3] 徐静,郭兰芬. 阴道局部细胞因子与宫颈高危型 HPV 感染的相关性研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2015,36(27):4059-4061.
[4] 田晓予,任莉,米建强,等. 宫颈病变中 HPV 感染与 IL-2, IL-4 表达的关系[J]. 天津医药,2008,36(6):407-411.

[5] 王莉. HPV 持续性感染与免疫调节机制[J]. 现代妇产科进展,2004,13(2):134-136.
[6] 郭云鸿. HPV 感染宫颈病变组织中 IL-2, IL-4 的表达变化及意义[J]. 山东医药,2009,49(10):59-60.
[7] Adriana CV,David S,Rachel M,et al. IL-10, IL-15, IL-17, and GM-CSF levels in cervical cancer tissue of Tanzanian women infected with HPV16/18 vs. non-HPV16/18 genotypes[J]. Infect Agents Cancer,2015,10(10):1119-1123.
[8] Lei J,Erich M,Sturgis,et al. Interleukin-10 promoter variants predict HPV-positive tumors and survival of squamous cell carcinoma of the oropharynx[J]. FASEB J,2013,27(6):2496-2503.

(收稿日期:2017-02-16 修回日期:2017-04-16)