

762 例妇女宫颈高危型 HPV 感染与宫颈病变的相关性研究

谢建渝¹, 余娟², 董国强¹ (1. 重庆华西妇产医院, 重庆 400041; 2. 重庆现代女子医院, 重庆 400039)

【摘要】 目的 研究妇女宫颈高危型人乳头瘤病毒(hrHPV)感染现状及宫颈病变的感染率, 并分析 762 例妇女年龄与 HPV 感染及宫颈病变的相关性。**方法** 对 762 例 18~65 岁妇女行第 2 代基因杂交捕获技术(HC2-HPV-DNA)和超薄液基细胞学检测技术(TCT)两种方法联合检测及电子阴道镜下病理活检, 并以病理结果为诊断宫颈病变的金标准。**结果** 762 例妇女 hrHPV 检测阳性率为 35.96%(274/762); 病理组织学诊断出宫颈癌及癌前病变(CIN)85 例; HPV 阳性患者的宫颈癌及癌前病变为 79 例, 敏感性为 92.94%(79/85)。hrHPV 感染情况在不同年龄段分布差异有统计学意义, hrHPV 病毒载量及阳性表达率越高宫颈病变的程度越高。**结论** HC2-HPV-DNA 检测是目前宫颈癌及癌前病变筛查的最好方法; 不同年龄段 hrHPV 感染情况不同; HC2-HPV-DNA 检测 hrHPV 病毒载量及阳性表达率与 CIN 以及宫颈癌发生有关, 但与宫颈病变的严重程度无关。

【关键词】 宫颈病变; 高危型人乳头瘤病毒感染; 第 2 代基因杂交捕获技术; 超薄液基细胞学检测技术; 高危型人乳头瘤病毒

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.20.003 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)20-2533-03

Study on correlation between cervical high-risk HPV infection with cervical lesions in 762 women XIE Jian-yu¹, YU Juan², DONG Guo-qiang¹ (1. Chongqing Huaxi Gynaecology Hospital, Chongqing 400041, China; 2. Chongqing Modern Women Hospital, Chongqing 400039, China)

【Abstract】 Objective To study the current status of female cervical high risk human papilloma virus (hrHPV) infection and the infection rate of cervical lesions, and to analyze the correlation between HPV infection with cervical lesions. **Methods** 762 women aged 18—62 years were performed the combination detection of hybrid capture II (hc2 HPV DNA) and the thinprep cytology test (TCT), and cervical biopsy under electronic colposcopy. The pathological results were as the gold standard for the diagnosis of cervical lesions. **Results** The overall positive rate of hrHPV detection in 762 women was 35.96% (274/762). Cervical cancer and precancerous lesion cervical intraepithelial neoplasia(CIN) were histopathologically diagnosed in 85 cases. Among the HPV-positive patients, cervical cancer and precancerous lesion were in 79 cases with the sensitivity of 92.94%(79/85). The distribution difference of hrHPV infection among different age groups had statistical significance. The higher the hrHPV viral load and the positive expression rate, the higher the cervical lesion degree. **Conclusion** HC2-HPV-DNA testing is the best method in screening cervical cancer and precancerous lesions at present. hrHPV infection in different age groups is different, with different distribution. hr-HPV load and the positive expression rate detected by HC2-HPV-DNA are related with the occurrence of CIN and cervical cancer, but not related with the severity of cervical lesions.

【Key words】 cervical lesion; high risk human papilloma virus infection; HC2-HPV-DNA; TCT; high risk human papilloma virus

宫颈癌是女性常见恶性肿瘤之一, 位于女性恶性肿瘤的第 2 位, 而我国宫颈癌的发病率和死亡人数约占世界的 1/3。宫颈癌的发生与 HPV 感染密切相关^[1], 检测宫颈高危型人乳头瘤病毒(hrHPV)感染成为预防宫颈癌的关键之一。本文对 762 例 18~65 岁妇女行第 2 代基因杂交捕获技术(HC2-HPV-DNA)和超薄液基细胞学检测技术(TCT)两种方法联合检测及电子阴道镜下病理活检, 并以病理检查结果为诊断宫颈病变的金标准, 研究妇女 hrHPV 感染现状与宫颈病变的相关性, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 8 月至 2012 年 8 月在本院妇科门诊就诊的 762 例患有宫颈病变的妇女, 年龄 18~65 岁, 平均 37.86 岁。对 762 例患有宫颈病变的妇女同时进行 TCT 检查及 HC2-HPV-DNA 检测, 因检查方法中的一项或二项异常而行病理活检, 并以病理组织学诊断为金标准。

1.2 方法

1.2.1 hrHPV-DNA 检测方法 HC2-HPV-DNA 是美国

FDA、欧洲 CE、及中国 SDA 批准认证、世界卫生组织推荐被视为检测 HPV 的“金标准”。应用美国 Digene 公司第 2 代杂交捕获试验(HC2)检测 13 种目前公认的 HPV-DNA (即 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 及 68) 高危亚型。

1.2.2 HrHPV-DNA 检测标本采集 采样前 3 d 内不在阴道内用药或冲洗, 避免经期采样, 不进行醋酸/碘液涂沫。用专用采样工具从宫颈管外口, 逆时针方向旋转 3 圈, 刷取一定数量的宫颈脱落细胞, 置于标有受检者姓名的缓冲保存液, 放于 4℃ 贮存待查。

1.2.3 试剂 由凯杰生物技术(上海)有限公司提供美国 Digene 公司的 HC2-HPV-DNA 检查试剂盒进行检测病毒。

1.2.4 操作 具体操作按说明书进行。

1.2.5 结果判断 样本光量读数与阴性测定值比值(RLU/CO) > 1.0 判为 HPV 阳性, 则表明每毫升标本中 HPV-DNA 含量大于 1 pg。反之, HPV 结果为阴性, 表明每毫升标本中 HPV-DNA 的含量小于 1 pg。

1.2.6 采用 TCT 行宫颈细胞学检查 采用宫颈管刷收集子

宫颈外口、宫颈管的脱落细胞,将采集的细胞立即洗入有保存液的样本保存瓶中,经 Thinprep 处理仪对样品进行处理,以 TBS(2004)分级系统进行细胞学诊断。

1.2.7 病理学检查 阴道镜下对病变最严重处多点取材活检,如无异常,则常规取移行带第 3、6、9、12 点 4 处。本研究以病理组织学结果为金标准:病检异常标准为宫颈上皮内瘤样变(CIN)Ⅰ、CINⅡ、CINⅢ、宫颈癌。

1.3 统计学方法 采用 χ^2 检验进行统计学处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 检测情况 对 762 例患者作 HC2-HPV-DNA 13 种高危型 HPV 检测,其中阳性患者为 274 例,阳性率为 35.96%(274/762),阴性患者为 488 例,阴性率 64.04%(488/762)。不同年龄组 HPV 感染情况见表 1。除了 60 岁以上年龄组的人数较少不便评价外,对其他各年龄组 HPV 感染率进行比较后,发现 21~50 岁年龄段感染率总体高于其他年龄段,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 不同年龄组 HPV 感染结果

年龄(岁)	阴性	阳性	感染率(%)
17~20	19	8	29.6
21~25	60	37	38.1
26~30	72	42	36.8
31~35	86	51	37.2
36~40	61	39	39.0
41~45	78	43	35.5
46~50	59	32	35.1
51~55	34	15	30.6
56~60	12	5	29.4
>60	7	2	22.2
合计	488	274	35.9

2.2 HC2-HPV-DNA 和 TCT 两种检测方法检出阳性与病理诊断结果 见表 2。

表 2 HC2-HPV-DNA 和 TCT 两种方法检测结果与病理结果的相关性[n(%)]

病理结果	n	HPV-DNA 阳性	TCT 阳性
宫颈炎	129	85(65.89)	81(62.79)
CINⅠ	38	34(89.47)	30(78.94)
CINⅡ	22	20(90.90)	19(86.36)
CINⅢ	18	18(100.00)	16(88.89)
宫颈鳞癌	6	6(100.00)	5(83.33)
宫颈腺癌	1	1(100.00)	1(100.00)
合计	214	164(76.63)	152(71.03)

HC2-HPV-DNA 检测方法与病理结果比较,阳性率为 76.63%;TCT 检测方法与病理结果比较阳性率为 71.03%。两种检测方法敏感度相近,二者的检测结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

HC2-HPV-DNA 和 TCT 两种检测方法与病理结果:214 例病理结果呈阳性,其中 CINⅠ、CINⅡ、CINⅢ、宫颈鳞癌、宫颈腺癌的患者共 85 例。HPV 阳性患者的 CINⅠ、CINⅡ、CINⅢ、宫颈鳞癌、腺癌的患者为 79 例,敏感性为 92.94%(79/85)。TCT 检测阳性患者的宫颈癌及癌前病变为 71 例,敏感性为 83.53%(71/85)。宫颈鳞癌、腺癌的患者 7 例,HC2-HPV-DNA 均为阳性,敏感性为 100.00%(7/7)。

2.3 hrHPV 的病毒载量与 CIN、ICC 关系 CINⅠ级、CINⅡ

级、CINⅢ级、宫颈癌 hrHPV 的载量明显高于炎症组,差异有统计学意义($P<0.01$)。CINⅡ级、CINⅢ级 hrHPV 的载量明显高于 CINⅠ级,差异有统计学意义($P<0.05$)。宫颈癌 hrHPV 的载量与 CINⅠ级、CINⅡ级、CINⅢ级差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 hrHPV 病毒载量与 CIN、ICC 关系($\bar{x}\pm s$)

病理结果	n	RLU/CO(pg/mL)
炎症组	129	105.1±72.4
CINⅠ	38	286.3±52.5 ^{①③}
CINⅡ	22	341.2±61.3 ^{①②③}
CINⅢ	18	364.6±80.9 ^{①②③}
ICC	7	318.7±56.8 ^①

注:与炎症组比较,^① $P<0.01$;与 CINⅠ比较,^② $P<0.05$;与 ICC 比较,^③ $P>0.05$ 。

3 讨 论

HPV 是一种是微小的嗜上皮性病毒,由双链 DNA(8 000 bp)分子的病毒颗粒及包裹其外的衣壳蛋白组成,与癌有关的为 E6、E7、L1、L2 基因,其中 E6、E7 是致癌基因,L1、L2 跟预防性疫苗关系密切。HPV 感染是最常见的性传播疾病之一,性传播是其传播的主要途径,除了性接触传播,潜在的 HPV 传播可能有环境污染物传播(包括医源性传播)及垂直传播。年龄、性生活中屏障工具的使用以及男性性行为等也影响 HPV 的传播。其感染具有种属特异性,主要感染人的皮肤或黏膜上皮细胞,引发感染部位的良、恶性病变。目前已知 HPV6、11、42、43、44 等属于低危亚型,一般不诱发癌变;在分子水平同时检测的 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 共 13 种属 2009 年 WHO 确认的高危亚型。高危型 HPV 感染是宫颈癌和 CIN 的主要致病因子,2008 年生理学医学诺贝尔奖获得者 Hrsld zur Hausen 指出:几乎所有宫颈癌患者的病理样本中均能找到 HPV,从而印证了 HPV 是宫颈癌的主要原因,也使宫颈癌成为目前人类所有癌症病变中唯一一个病因明确的癌症。HPV 检测技术的出现为宫颈癌的病因学带来了一场新的革命^[2-3]。HPV 感染所引起的疾病发展通常要经过潜伏感染期、亚临床感染期、临床症状期和 HPV 相关肿瘤期,经历宫颈癌前病变,并最终导致宫颈癌。整个过程大约需要 10 年的时间,若能在此期间及早发现宫颈 hrHPV 感染,及早治疗 CIN,就可以大大减少宫颈癌的发生。因此,在宫颈癌的筛查中 HPV 检测是一个非常有意义的指标。

本文对 762 例患者作不同年龄组的 HPV 感染研究发现:762 例患者作 13 种 HPV 检测,其中阳性患者为 274 例,阳性率为 35.96%(274/762),与国内的报道基本一致^[4]。对各年龄组 HPV 感染率进行比较,除了 60 岁以上年龄组的人数较少不便评价外,发现 21~50 岁年龄段感染率总体高于其他年龄段,差异有统计学意义($P<0.05$);随着年龄的增加 hrHPV 的感染率降低,有研究亦发现,年轻组患者对高危型 HPV-DNA 检测有着高度的敏感性,但特异性较低;而年长组 HPV 感染率与不同级别的 CIN 间有明显的相关性^[5-6]。这说明近年我国宫颈病变的发生有明显上升和年轻化趋势。但 hrHPV 感染可以是一过性的,HPV 感染后大约两个月机体产生抗体,80%初次感染者可通过机体自身免疫力清除,通常在 7~12 个月左右消失,只有持续感染才会造成宫颈病变,乃至最终发展成宫颈癌。

HC2 是目前 HPV 检测的最好方法,是预测发生宫颈病变的一个非常客观的指标,是 WHO 推荐的 HPV 检测的金标

准。HC2 使用全长的 RNA 探针可以防止由于 L1 基因段缺失导致的假阴性,因此具有高的敏感性,适合用于宫颈癌的筛查。(PCR 只针对 L1 段,如 L1 缺失就会出现假阴性。从表 2 中分析发现 214 例病检结果呈阳性,其中 CIN I、CIN II、CIN III、宫颈鳞癌、腺癌的患者共 85 例。HPV 阳性患者的 CIN I、CIN II、CIN III、宫颈鳞癌、腺癌的患者为 79 例,敏感性为 92.94%(79/85)。与国内关于 HC2 检测宫颈高度病变灵敏度高达 88%~100%的报道是基本吻合的^[7]。宫颈鳞癌、腺癌的患者有 7 例,HC2-HPV-DNA 检测均为阳性,敏感性为 100%(7/7)。由于患宫颈癌病例数较少不便评价。

本研究认为,高危型 HPV 检测与细胞学诊断联合检测是宫颈病变的最佳筛查方法。HC2-HPV-DNA 检测方法 with 病理诊断比较,阳性率为 76.63%;TCT 检测方法 with 病理诊断比较,阳性率为 71.03%;二者的检测结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。联合使用两种方法,可使检出率提高。HC2-HPV-DNA 检测在实验室检查方面也是宫颈细胞学的一种验证,能提高宫颈病变诊断的准确性,保证筛查的灵敏度及特异性,可最大限度地降低宫颈癌的漏诊率。从表 2 中分析得出,HC2-HPV-DNA 检测宫颈鳞癌、CIN I、CIN II、CIN III 比细胞学检查具有更高的敏感度。HPV 检查不仅能发现现在的宫颈疾病患者,还可发现存在高风险的人群。

本研究采用目前最先进的 HC2-HPV-DNA 检测宫颈病变患者的宫颈细胞 HPV-DNA 的载量,HC2 同时检测 HPV 13 种高危亚型(即 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 及 68)。本研究结果显示,CIN I 级、CIN II 级、CIN III 级、宫颈癌 hrHPV 的病毒载量及阳性表达率明显高于炎症组,差异有统计学意义($P<0.01$)。并且 CIN II 级、CIN III 级 hrHPV 的载量及阳性表达率明显高于 CIN I 级,差异有统计学意义($P<0.05$)。说明 hrHPV 与 CIN 及宫颈癌的发展密切相关,其 hrHPV 的病毒载量及阳性表达率随宫颈病变的严重程度呈上升趋势。HPV 病毒含量越高,患宫颈癌的风险越大。而宫颈癌的 hrHPV 的病毒载量及阳性表达与 CIN I 级、CIN II 级、CIN III 级差异无统计学意义($P>0.05$)。这表明 hrHPV 的载量及阳性表达与宫颈病变的严重程度无关。本文认为在对 hrHPV 的病毒高载量人群应该提高警惕,同时对低载量人群也要严密随访。

通过对 762 例妇女生殖道高危型 HPV 感染与宫颈病变

的相关性研究后认为:HC2-HPV-DNA 检测是目前宫颈癌及癌前病变筛查的最好方法;不同年龄段 hrHPV 感染情况不同;HC2-HPV-DNA 检测 hrHPV 病毒载量及阳性表达率与 CIN 以及宫颈癌发生有关,但与宫颈病变的严重程度无关。总之,利用 HPV 检测的结果针对性地进行宫颈组织病理检查,有效地指导临床诊断,预防和改善宫颈癌及癌前病变的结局,为防治宫颈癌、降低其病死率提供有效帮助。

参考文献

- [1] Rao PH, Arias-Pulido H, Lu XY. Chromosomal amplifications, 3q gain and deletions of 2q33-q37 are the frequent genetic changes in cervical carcinoma [J]. BMC Cancer, 2004, 4(1): 5-8.
- [2] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive carcinoma [J]. Pathol, 1999, 189(1): 12-19.
- [3] Clavel C, Masure M, Bory JP, et al. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7 932 women. [J]. Br J Cancer, 2001, 84(12): 1616-1623.
- [4] 陈昕华, 周蓓蓓, 虞斌, 等. 高危型 HPV 在宫颈病变筛查中的应用[J]. 中国妇幼保健杂志, 2010, 25(7): 898-899.
- [5] Agorastos T, Diinas K, Lloveras B, et al. Human papillomavirus testing for primary screening in women at low risk of developing cervical cancer. The Greek experience [J]. Gynecol Oncol, 2005, 96(3): 714-720.
- [6] Bergeron C, Cas F, Fagnani, et al. Assessment of human papilloma virus testing on liquid-based cyto-screen system for women with atypical squamous cells of undermined significance effect of age. Gynecol [J]. Obstet Fertil, 2008, 3(4): 312-316.
- [7] 张玉梅, 曹维克. 高危 HPV 病毒第二代杂交捕获法检测应用于宫颈癌及癌前病变检查[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2011, 32(4): 489-491.

(收稿日期: 2012-08-31)

(上接第 2532 页)

- [6] Ruan P, Gong ZJ, Zhang QR. Changes of plasma D(-)-lactate, diamine oxidase and endotoxin in patients with liver cirrhosis [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2004, 3(1): 58-61.
- [7] 黄宏春, 王秀敏, 王永亮, 等. 乳果糖对肝硬化自发性腹膜炎患者肠黏膜屏障功能的影响[J]. 中国临床医学, 2009, 16(3): 372-373.
- [8] 宋怀宇, 姜春华, 杨建荣, 等. 重度慢性乙型病毒性肝炎患者肠黏膜通透性的变化及其机制[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(31): 3561-3565.
- [9] Dasty M, Dasty M Jr, Novotná H, et al. Lactulose/ mannitol test and specificity, sensitivity, and area under

curve of intestinal permeability parameters in patients with liver cirrhosis and Crohn's disease [J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(10): 2789-2792.

- [10] Choi Y, Jeon WK, Hwang SJ, et al. The role of the gut barrier function in the pathophysiology of viral liver cirrhosis [J]. Hepatogastroenterology, 2011, 58(109): 1244-1247.
- [11] Palma P, Mihaljevic N, Hasenberg T, et al. Intestinal barrier dysfunction in developing liver cirrhosis: An in vivo analysis of bacterial translocation [J]. Hepatol Res, 2007, 37(1): 6-12.

(收稿日期: 2012-03-21)