

• 临床探讨 •

HPV-DNA 定量及分型联合检测在宫颈上皮内瘤变筛查中的应用*

戴小波, 聂彦萍, 胡晓倩, 罗九文, 郑鹏飞

(广东省第二人民医院珠海医院/珠海高新技术产业开发区人民医院检验科, 广东珠海 519085)

摘要:目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)-DNA 定量联合分型检测在宫颈上皮内瘤变筛查中的应用,为早期防治宫颈癌及癌前病变提供理论依据。方法 采用荧光定量聚合酶链反应(PCR)对 8 种 HPV 高危亚型进行 DNA 定量检测,利用低密度基因芯片检测技术对 19 种 HPV 亚型进行分型检测;所有患者采集宫颈细胞进行 TCT 检测,利用 TBS 分类法进行分类。结果 在 601 例观察对象中,共检出 HPV 阳性病例 87 例,其中高危型 77 例,低危型感染 10 例;高危型单独感染 56 例,高危型混合感染 21 例;TCT 结果异常病例 46 例,其中 HPV 阳性 30 例。结论 HPV 感染尤其是高危型感染是宫颈细胞病变的主要原因,与 HPV-DNA 定量检测相比,HPV 分型检测在宫颈上皮内瘤变筛查中更具有重要的临床意义。

关键词:人乳头瘤病毒; 宫颈上皮细胞内瘤变; 亚型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.05.035 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)05-0691-03

宫颈上皮细胞内瘤变与人乳头瘤病毒(HPV)感染尤其是高危型 HPV 感染密切相关。为了研究 HPV-DNA 定量与分型检测在宫颈上皮细胞内瘤变早期诊断、治疗以及评估疗效中的意义,本研究对观察对象进行 HPV-DNA 载量检测及 HPV 亚型分析,初步探讨 HPV-DNA 定量及分型检测在宫颈上皮内瘤变筛查中的意义,现将相关结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 观察对象共 601 例,全部来源于 2014—2015 年本院妇产科,年龄 18~69 岁,所有患者采集标本进行 TCT 检测、HPV 高危 8 型 DNA 定量检测及 21 型 HPV 分型检测。

1.2 方法

1.2.1 HPV 分型检测 试剂由达安基因有限公司提供,利用低密度基因芯片检测技术对 19 种 HPV 亚型进行分型检测,包括 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV53、HPV56、HPV58、HPV59、HPV66、HPV68 15 种高危型及 HPV6、HPV11、HPV43、HPV8304 4 种低危型。

1.2.2 HPV 定量检测 采用荧光定量聚合酶链反应(PCR)体外扩增法检测高危型 HPV-DNA 载量,试剂由达安基因提供,包括 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV45、HPV52、HPV56、HPV58 8 种高危型。

1.2.3 TCT 检测 试剂由新博士提供,使用 TBS 分类法进行分类,分为正常范围、意义不明的不典型鳞状细胞(ASCUS)、非典型鳞状细胞不排除高级别鳞状上皮内病变(ASC-H)、鳞状上皮内低度病变(LSIL)和鳞状上皮内高度病变(HSIL)5 种类别。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各年龄段 HPV 阳性率及 TCT 阳性率比较 601 例观察对象中共检出 HPV 阳性 87 例,TCT 结果阳性 46 例。各年龄组间 HPV 阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);各年龄组间 TCT 检测结果阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各年龄段 HPV 阳性率及 TCT 阳性率比较[n(%)]

年龄段	n	TCT	HPV
21~30 岁	109	7(6.42)	15(13.76)
>30~40 岁	231	17(7.35)	33(14.28)
>40~50 岁	213	19(8.92)	30(14.08)
>50 岁	48	3(6.25)	9(18.75)

2.2 各病理组发病年龄及 HPV 感染情况比较 按 TBS 方法对观察对象进行分组,各组平均年龄及 HPV 感染情况见表 2。各组的年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组间 HPV 感染情况比较:ASCUS 组、ASC-H 组、LSIL 组、HSIL 组 HPV 感染率显著高于正常对照组(TCT 结果为正常范围),差异有统计学意义($P < 0.05$);ASC-H 组、LSIL 组、HSIL 组 HPV 感染率显著高于 ASCUS 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 ASC-H 组、LSIL 组、HSIL 组之间 HPV 感染率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

各组间高危型感染比较:在 601 例观察对象中,共检出 HPV 感染 87 例,其中高危型感染 77 例,低危型感染 10 例,高危型感染率显著高于低危型感染率,差异有统计学意义($P < 0.05$);ASCUS 组、ASC-H 组、LSIL 组、HSIL 组 HPV 高危型感染率显著高于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);ASC-H 组、LSIL 组、HSIL 组 HPV 高危型感染率显著高于 ASCUS 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

各组间 HPV 混合感染比较:共检出多重感染病例 21 例,ASCUS 组、ASC-H 组、LSIL 组、HSIL 组 HPV 高危型混合感染率与正常对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),但随着病理恶性程度的增高,混合感染病例有增多的趋势。各组间 HPV-DNA 载量结果比较:各组之间 HPV 定量结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 HPV 阳性患者病毒亚型分布 在正常对照组中,检出率最高的依次是 52、16、58、53 型;在有病理性改变的组中,检出率最高的依次是 16、58、52 型,高危型未检出 45 型、59 型,低危型未检出 11 型。见表 3。

* 基金项目:广东省珠海市科技计划项目(20161027E030073)。

表 2 各病理组间发病年龄及 HPV 感染情况比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x}\pm s$, 岁)	感染总数 (<i>n</i>)	低危型感染 (<i>n</i>)	高危型感染 (<i>n</i>)	高危型单独感染 (<i>n</i>)	高危型多重感染 (<i>n</i>)	DNA 定量 [lg($\bar{x}\pm s$)]
正常对照组	555	39.8±9.5	57	9	48	34	14	4.18±1.15
ASCUS 组	25	38.8±7.8	11	1	10	7	3	5.93±0.95
ASC-H 组	6	35.5±8.1	6	0	6	6	0	5.69±0.54
LSIL 组	8	42.0±9.0	7	0	7	6	1	6.07±0.57
HSIL 组	7	39.0±4.7	6	0	6	3	3	5.64±1.87

表 3 HPV 阳性患者病毒亚型分布(*n*)

组别	<i>n</i>	HPV16	HPV18	HPV31	HPV33	HPV35	HPV39	HPV45	HPV51	HPV52	HPV53
正常对照组	555	7	4	0	5	1	3	0	2	16	6
ASCUS 组	25	3	0	1	1	0	0	0	1	4	1
ASC-H 组	6	3	0	0	0	0	0	0	0	2	0
LSIL 组	8	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
HSIL 组	7	3	1	0	0	0	0	0	0	1	0

续表 3 HPV 阳性患者病毒亚型分布(*n*)

组别	<i>n</i>	HPV56	HPV58	HPV59	HPV66	HPV68	HPV6	HPV11	HPV43	HPV8304
正常对照组	555	3	6	0	1	4	3	0	3	3
ASCUS 组	25	0	1	0	1	1	0	0	1	0
ASC-H 组	6	0	1	0	0	0	0	0	0	0
LSIL 组	8	0	3	0	1	0	0	0	0	0
HSIL 组	7	0	3	0	2	0	0	0	0	0

3 讨 论

HPV 是一种具有高度组织特异性的嗜黏膜和皮肤的病毒,其 DNA 含有 8 个开放读码框架,按功能分为早期(E)、晚期(L)和非编码 3 个区。E 区控制病毒转录、复制和转化,包括 e1、e2、e4、e5、e6、e7 等基因,其中 e6、e7 是介导细胞恶性转化的主要因素,e6 基因可与抑癌基因 p53 蛋白相结合,通过泛素化蛋白水解途径降解 p53 基因,引起 DNA 损伤后的修复障碍,导致宫颈组织增殖失控及宫颈癌的发生;e7 基因是 HPV 的主要致癌基因,过表达的 E7 蛋白可与 pRB 相结合,并抑制其活性,导致宫颈细胞周期调节紊乱^[1];L 区含 l1 和 l2 两个基因,L1 蛋白是 HPV 的主要衣壳蛋白,具有较强的免疫源性;L2 蛋白为次要衣壳蛋白,与 HPV 抗原多态性有关;非编码区为 E 区与 L 区之间的 DNA 片段,与 HPV 转录和复制的调控有关。目前研究认为,HPV 高危型主要有 13 种亚型,包括 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV56、HPV58、HPV66、HPV68,其中以 HPV16 和 HPV18 型最为常见,常引起宫颈癌等恶性病变;HPV 低危型主要包括 HPV6、HPV11、HPV40、HPV42、HPV43、HPV44、HPV54、HPV61、HPV72 9 个亚型,以 HPV6 和 HPV11 最为常见,主要引起生殖道、肛周皮肤和阴道下部的 外生性湿疣病变、宫颈扁平湿疣类病变和低度子宫颈上皮内瘤样病变,极少引起浸润癌。

目前研究认为,高危型 HPV 感染后引起宫颈癌的发生与 HPV 亚型、HPV 感染持续时间、病毒载量、病毒 DNA 的整合

以及病毒致癌基因 e6、e7 的活性等几个因素有关。在本研究 601 例观察对象中,共检出 HPV 阳性 87 例,占 14.5%,其中高危型 77 例,低危型 10 例,而 87 例 HPV 感染者,有 30 例(34.5%)宫颈细胞发生病理性改变,说明 HPV 感染尤其是高危型感染是宫颈病变的高危因素。本研究结果发现,HPV 感染率及 TCT 阳性率在各年龄组差异均无统计学意义($P>0.05$),说明由于环境等各种因素影响,性活跃年龄段增宽,HPV 感染及宫颈癌的发病有年轻化及老龄化趋势,因此各年龄段女性应定期进行细胞学检查,尤其是 HPV 阳性者。在发生病理性改变的 46 例病例中,30 例(65.2%)感染 HPV,而 HPV16、HPV52 等高危型感染达 29 例(96.6%),说明 HPV 感染尤其是高危型 HPV 感染是宫颈细胞病理学改变的主要因素。在有病理形态学改变的病例中,HPV 定量结果在各组间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),说明 HPV-DNA 载量多少与细胞病理学的变化无显著相关性,这和 Wu 等^[2]研究结果不同,可能与 HPV 定量检测受标本采集等因素影响,导致定量结果变异大有关。另一方面,HPV 定量检测目前仅针对 HPV16 等 9 个高危亚型,而 HPV 分型能检测出 HPV16、HPV18 等 21 个亚型,在本研究中,HPV 定量阴性而 HPV 分型阳性的病例达 14 例,其中 1 例出现宫颈细胞病理学改变;上述结果说明,HPV 亚型分析在宫颈上皮内瘤变筛查中具有更多优势,能帮助临床医生结合具体亚型制订更加合理的诊疗措施。

本研究结果显示,HPV 检测结果阴性而 TCT 细胞学结果

阳性病例达 16 例,其中 ASCUS 14 例,LISL 1 例,HISL 1 例,说明对于 HPV 阴性者,也需要定期进行细胞学检查,但可以适当延长检查周期。对于分型结果而言,本研究以 58,52 型为主,与崔辰莹等^[3]研究结果不同,说明 HPV 感染具有地域性差异。在混合感染方面,本研究共检出 21 例混合感染病例,占所有 HPV 阳性病例的 24.1%,其中最多见于 HPV52 混合其他亚型感染。各病理组之间混合感染病例数比较,差异无统计学意义($P>0.05$),但数据也表明,恶性程度越高,混合感染的病例数越多。Lee 等^[4]的研究发现,如果感染单一亚型 HPV,患宫颈癌的风险会增加 19.9 倍;但是,如果感染 HPV 多重亚型,患宫颈癌的风险将增加至 31.8 倍。在本研究中,HISL 组混合感染达 50%,说明多重感染对于宫颈细胞学改变具有一定的意义。

在 601 例观察对象中,共报告 ASCUS 25 例,占 4.2%,符合 2%~5%报告率的要求^[5]。ASCUS 是介于正常宫颈鳞状上皮细胞与鳞状上皮内瘤变之间的一种宫颈细胞学诊断,其病理活检可以表现为正常,也可以表现为炎症或萎缩性改变,甚至癌性改变^[6]。目前推荐的 ASCUS 有 3 种处理方式:(1)高危型 HPV-DNA 检测,阳性者应进行进一步的阴道镜检查,阴性者按常规行细胞学筛查;(2)6 个月后复查细胞学,阴性者按常规行细胞学筛查,阳性者行阴道镜活检;(3)直接阴道镜检查^[7-8]。在本研究中,ASCUS 的 HPV 阳性率达 56%,显著高于正常对照组,说明 HPV 分型检测对于指导 ASCUS 患者的进一步处理措施具有重要意义,HPV 阳性患者应行阴道镜检查,而 HPV 阴性病例可以在 6 个月后复查细胞学。

综上所述,HPV-DNA 定量检测可检出的 HPV 亚型远少于低密度基因芯片检测技术,因此临床可能出现 HPV 分型为阳性而 HPV-DNA 检测为阴性的结果,同时 HPV-DNA 定量检测由于受取材等因素影响,其检测结果变异大,HPV-DNA 载量是否与宫颈细胞学改变有关值得进一步研究。HPV 感染尤其是 HPV 高危型感染是宫颈病变的主要致病因素,定期进

• 临床探讨 •

行宫颈细胞学检查及 HPV 分型检测对于宫颈细胞病理学改变的早期诊断具有重要意义。

参考文献

- [1] Alvaro-Blanco J, Martínez-Gac L, Calonge E, et al. A novel factor distinct from E2F mediates C-MYC promoter activation through its E2F element during exit from quiescence[J]. Carcinogenesis, 2009, 30(3): 440-448.
- [2] Wu Y, Chen Y, Li L, et al. Associations of high-risk HPV types and viral load with cervical cancer in China[J]. J Clin Virol, 2006, 35(3): 264-269.
- [3] 崔辰莹, 张岸平. 1 138 例 HPV 分型检测结果的分析研究[J]. 中国疗养医学, 2015, 24(8): 844-847.
- [4] Lee SA, Kang D, Seo SS, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA chipTM [J]. Cancer Lett, 2003, 198(2): 187-192.
- [5] 谢红, 杨菊芳, 谢懿, 等. 宫颈细胞学涂片为 ASCUS 的处理方法探讨[J]. 实用医学杂志, 2006, 22(6): 699-700.
- [6] Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(3): 249-257.
- [7] 徐明霞, 王爱芹. 宫颈细胞学检查为 ASCUS 的临床意义及处理[J]. 中国医药导报, 2011, 8(16): 107-108.
- [8] Del Mistro A, Frayle-Salamanca H, Trevisan R, et al. Triage of women with atypical squamous cells of undetermined significance(ASC-US): Results of an Italian multicentric study[J]. Gynecol Oncol, 2010, 117(1): 77-81.

(收稿日期:2016-08-23 修回日期:2016-11-11)

老年急性冠脉综合征患者采用应激心理护理干预的效果分析

李云婷, 王茹春, 郑源任

(海南医学院第二附属医院急诊科, 海口 570311)

摘要:目的 探讨老年急性冠脉综合征患者采用应激心理护理干预的临床效果。方法 将该院 2013 年 4 月至 2015 年 4 月收治的 100 例急性冠脉综合征的患者,按入院的先后顺序随机分为观察组与对照组,每组各 50 例。对照组患者给予常规护理,观察组的患者采用应激心理护理干预,比较两组患者的住院时间、下床时间、焦虑评分、抑郁评分。结果 观察组患者的住院时间为(9.09±1.25)d,下床时间为(4.18±1.26)d,焦虑评分为(49.23±3.01)分,抑郁评分为(47.24±3.31)分,明显优于对照组患者的住院时间[(14.49±1.42)d]、下床时间[(8.69±1.94)d]、焦虑评分[(56.87±3.87)分]、抑郁评分[(55.76±3.58)分],差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 应激心理护理干预对急性冠脉综合征患者护理效果显著,改善患者预后,缩短了住院时间,提高了患者满意度。

关键词:老年; 急性冠脉综合征; 护理干预; 应激心理

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.05.036 文章标志码: A 文章编号: 1672-9455(2017)05-0693-03

老年急性冠脉综合征大多数是由冠状动脉粥样硬化斑块不稳定导致的,极少数是由非动脉粥样硬化所致^[1]。由于冠状动脉的供血量减少,心肌的供血量不足,二者发生矛盾,导致心肌产生急剧而短暂的缺血缺氧,发生心绞痛。当冠状动脉粥样硬化时,一支或多支血管管腔狭窄,使心肌长时间的供血大量减少或中断,对心肌损伤十分严重,造成急性心肌梗死^[2]。影

响急性冠脉综合征发展预后的因素很多,其中患者的心理因素占据十分重要的位置。积极健康的心理对急性冠脉综合征的治疗很重要,可以改善预后,因此本研究选取经本院救治的 100 例患者进行深入分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 4 月起至 2015 年 4 月在本院接