

HPV E7 蛋白在宫颈疾病筛查中的临床意义*

顾 青, 赵 艳

(上海市宝山区中西医结合医院妇产科 201999)

摘要:目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)E7 蛋白检测在宫颈病变筛查中的作用及临床应用价值。
方法 选取 2017 年 6 月至 2018 年 7 月该院妇产科门诊就诊的 300 例女性为研究对象。对所有研究对象进行液基薄层细胞学检查(TCT)、HPV DNA 检查,筛选出 A 组为 TCT(-)高危 HPV(hr-HPV)(+)组、B 组为 TCT(+)
 hr-HPV(+)
 组、C 组为 TCT(+)
 hr-HPV(-)
 组各 100 例,对这 3 组患者进行阴道镜检查及 HPV E7 蛋白检测。
结果 (1)在 A 组,阴道镜检查的阳性检出率为 50.00%, HPV E7 蛋白阳性检出率为 58.00%, 两组数据相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。(2)在 B 组和 C 组中, HPV E7 蛋白阳性检出率和阴道镜检查的阳性检出率相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。(3) HPV E7 蛋白检测阳性率在正常宫颈、低度鳞状上皮内病变(LSIL)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)和宫颈鳞癌(SCC)各组中表达不同,随细胞学诊断升级而增高,各组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。(4) HPV E7 蛋白检测随宫颈病变由 LSIL 到 SCC 病理学级别加重而显著增高($P < 0.05$)。
结论 HPV E7 蛋白的检测能够显著提高宫颈癌患者的诊断正确率,提高筛查率,对宫颈癌的临床诊断具有重要意义。

关键词: HPV E7 蛋白; 阴道镜; 人乳头瘤病毒; 液基薄层细胞学检查

中图法分类号: R737.33

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)06-0762-04

Clinical significance of HPV E7 protein in the screening of cervical lesions*

GU Qing, ZHAO Yan

(Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai Baoshan Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai 201999, China)

Abstract: Objective To explore the role and clinical value of Human papillomavirus (HPV) E7 protein in the screening of cervical lesions. **Methods** A total of 300 women underwent thin cytology test (TCT) and HPV DNA test. They were divided into three groups who received colposcopy pathology and HPV E7 protein detection. **Results** In the TCT (-) hr-HPV (+) group, the positive detection rate of colposcopy was 50.00%, and the positive detection rate of HPV E7 protein was 58.00%. There was a significant difference between the two groups ($P < 0.05$). In the TCT (+) hr-HPV (+) group and TCT (+) hr-HPV (-) group, there was no significant difference between the positive detection rate of HPV E7 protein and the positive detection rate of colposcopy ($P > 0.05$). The positive rate of HPV E7 protein detection was different in the normal cervical, low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL), high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) and squamous cell carcinoma (SCC) groups, and increased with the cytological diagnosis and upgrade. The difference between the groups was statistically significant ($P < 0.05$). The detection of HPV E7 protein significantly increased with the aggravation of cervical diseases from LSIL to SCC ($P < 0.05$). **Conclusion** Compared with colposcopy, HPV E7 protein detection could improve the diagnostic rate of cervical lesions, which has important value in clinic. HPV E7 protein detection can be used as the main screening method for cervical lesions.

Key words: HPV E7 protein; colposcope; human papilloma virus; thin cytology test

宫颈癌发病率居全球恶性肿瘤的第 2 位,仅次于乳腺癌,每年约有 50 万宫颈癌新发病例,其中 1/3 的患者病死。2008 年诺贝尔获得者德国科学家 Harald zur Hausen 证明了人乳头瘤病毒(HPV)是导致宫颈

癌发生的主要病原体,研究表明 99.7% 的宫颈癌患者存在 HPV 感染^[1]。持续性的高危 HPV(hr-HPV)感染,使病毒基因得以整合到人体细胞基因组中,启动病毒致癌基因 E6、E7 蛋白表达,经研究证实高危型

* 基金项目:上海市宝山区科委项目(16-E-11)。

作者简介:顾青,女,副主任医师,主要从事妇产科方面的研究。

HPV E6/E7 基因编码的蛋白质是导致宫颈上皮组织癌变的重要因子^[2]。本研究拟通过对 HPV E7 致癌蛋白的检测,以解决目前宫颈疾病诊断技术中存在的 HPV 分子检测阳性分流困难、细胞形态学初筛漏诊率高的问题,探讨 HPV E7 蛋白检测在宫颈病变筛查中的作用及临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 6 月至 2018 年 7 月本院妇产科门诊就诊的 300 例女性为研究对象,年龄 18~70 岁,中位年龄 41 岁。对所有研究对象进行液基薄层细胞学检查(TCT)、HPV DNA 检查,筛选出 A 组为 TCT(-)hr-HPV(+)组;B 组为 TCT(+)hr-HPV(+)组;C 组为 TCT(+)hr-HPV(-)组,每组 100 例。TCT 检查参照 TBS 分级诊断标准^[3],根据 TBS 分级诊断标准符合下列 2 项任意 1 项:(1)鳞状上皮细胞异常;(2)腺上皮细胞异常,诊断为 TCT(+). 阴道镜检查结果根据 2014 年 WHO 发表的《女性生殖器官肿瘤分类(第 4 版)》中的宫颈肿瘤分类目录^[4]。3 组研究对象一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 棉拭子擦去宫颈黏液,将刷头伸到宫颈口的位置,旋转 4~6 圈后拿出,把采样刷的刷头部分伸进细胞保存液瓶中用力蘸洗几下,将刷头推留在保存液内,得到标本液。

1.2.2 TCT 检测 使用北京诚光辉公司生产的 ThinPrep 全自动 TCT 检测系统进行检测。

1.2.3 HPV DNA 检测 使用深圳亚能生物技术有限公司提供的 HPV 基因分型(23 型)检测试剂盒和设备,采用 PCR 反向点杂交法,检测 17 种 hr-HPV DNA(16,18,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,68,73 和 82)。

1.2.4 HPV E7 蛋白检测 采用江苏艾托金生物医药有限公司生产的 HPV E7 蛋白检测试剂盒,对采集的宫颈上皮脱落细胞进行免疫细胞化学染色(ICC)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析。计数资料采用百分数表示,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 A 组患者两种检查方法阳性检出率的比较 A 组患者中,阴道镜检查的阳性检出率为 50.00%,HPV E7 蛋白阳性检出率为 58.00%,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 B 组患者两种检查方法阳性检出率的比较 在 B 组患者中,阴道镜检查的阳性检出率为 80.00%,HPV E7 蛋白检测的阳性检出率为 78.00%,两组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 C 组患者两种检查方法阳性检出率的比较 在 C 组患者中,阴道镜检查的阳性检出率为 43.00%,

HPV E7 蛋白检测的阳性检出率为 42.00%,两组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 1 A 组患者两种检查方法阳性检出情况的比较(n)

检查结果	HPV E7 蛋白(+)	HPV E7 蛋白(-)	合计
阴道镜检查(+)	46	4	50
阴道镜检查(-)	12	38	50
合计	58	42	100

表 2 B 组患者两种检查方法阳性检出情况的比较(n)

检查结果	HPV E7 蛋白(+)	HPV E7 蛋白(-)	合计
阴道镜检查(+)	68	12	80
阴道镜检查(-)	10	10	20
合计	78	22	100

表 3 C 组患者两种检查方法阳性检出情况的比较(n)

检查结果	HPV E7 蛋白(+)	HPV E7 蛋白(-)	合计
阴道镜检查(+)	33	10	43
阴道镜检查(-)	9	48	57
合计	42	58	100

2.4 3 组宫颈标本 HPV E7 蛋白的诊断价值比较 结果显示,A 组中 HPV E7 蛋白检测灵敏度最高(92.00%),C 组的灵敏度最低(76.74%)。A 组 HPV E7 蛋白检测准确率最高(84.00%),而 C 组的特异度最高(84.21%)。见表 4。

表 4 3 组宫颈标本 HPV E7 蛋白的诊断价值比较(%)

组别	n	灵敏度	特异度	准确率	阳性预测值	阴性预测值
A 组	100	92.00	76.00	84.00	79.00	90.48
B 组	100	85.00	50.00	78.00	87.18	45.45
C 组	100	76.74	84.21	81.00	78.57	82.76

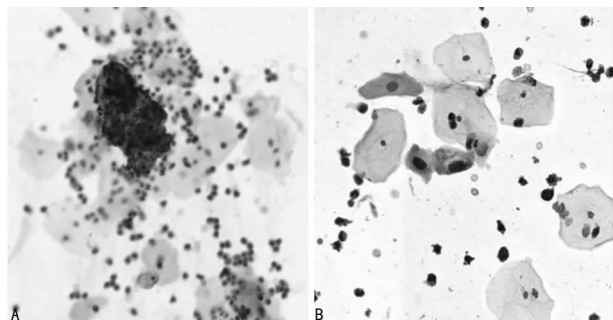
2.5 HPV E7 蛋白检测与细胞学、阴道镜检查结果的关系 300 例均检测 HPV E7 蛋白和 TCT。TCT 结果显示,HPV E7 蛋白总阳性检出率为 59.33%(178/300),在意义不明的非典型鳞状细胞(ASCUS)、低度鳞状上皮内病变(LSIL)和不能排除高级别鳞状上皮内病变不典型鳞状细胞(ASC-H₊)中为 54.76%(46/84)、85.07%(57/67)和 95.92%(47/49)。HPV E7 蛋白检测阳性率在正常宫颈、LSIL、高度鳞状上皮内病变(HSIL)和宫颈鳞癌(SCC)各组中表达不同,随细胞学诊断升级而增高,各组间差异有统计学意义($P<0.05$)。178 例经阴道镜检查诊断:正常宫颈者 30 例,LSIL 者 73 例,HSIL 者 64 例,SCC 者 11 例,HPV E7 蛋白阳性检出率在 LSIL 中为 82.02%(73/89),在 HSIL 中上升至 88.89%(64/72),在 SCC 中为 91.67%(11/12),HPV E7 蛋白检出率随宫颈病变由 LSIL 到 SCC 的病理学级别加重而显著增高,差异有

统计学意义($P < 0.05$)。见表5,图1。

表5 HPV E7 蛋白检测与 TCT、阴道镜检查
诊断关系[n(%)]

诊断方法	检出情况	HPV E7 蛋白(+)
TCT		
正常 b	100(33.33)	28(28.00)
ASCUS	84(28.00)	46(54.76)
LSIL	67(22.33)	57(85.07)
ASC-H _a	49(16.33)	47(95.92)
阴道镜检查		
正常 b	127(42.33)	30(23.62)
LSIL	89(29.67)	73(82.02)
HSIL	72(24.00)	64(88.89)
SCC	12(4.00)	11(91.67)

注:ASC-H_a包括ASC-H、HSIL、SCC;正常b包括正常宫颈、炎症



注:A为宫颈鳞癌;B为LSIL

图1 病理诊断结果(×20)

3 讨论

人乳头瘤病毒(HPV)是导致宫颈癌的主要致病因素,几乎所有的宫颈癌都与hr-HPV感染有关。一过性HPV感染通常会在6~12个月内消失,一般不会引起宫颈癌。只有不能通过免疫系统清除的高危HPV持续性感染,才会导致宫颈癌的发生^[5]。高危HPV的持续性感染,病毒DNA整合入人体细胞基因组内,一旦病毒整合破坏E1、E2区域,会使抑制E6、E7表达的功能解除,整合在宿主基因组中的E6、E7将得以持续性高表达。高表达的E7蛋白与Rb结合使Rb-E2F复合物解离,E2F从pRb蛋白中释放,Rb通路失控,反馈刺激p16INK4A、Ki67、Cyclin A和Cyclin E等在内的众多细胞增殖相关基因的表达,使宫颈上皮细胞的细胞周期发生紊乱。因此,E7蛋白能够通过对细胞周期调节机制的破坏而促进细胞转化,引起宫颈上皮内瘤变、原位腺癌和浸润性宫颈癌的发生。

在临床上,会出现TCT检查阴性,HPV检测阳性的患者,其心理负担非常大。根据美国妇产科医师学会(ACOG)制定的宫颈癌筛查最新共识^[6]:在年龄≥30岁的女性中,出现细胞学阴性、HPV阳性的患者占3.7%。推荐以下两种处理方法^[7]:(1)12个月内重复联合检测。如果重复检测的结果是ASCUS或更严重的细胞学结果,或者HPV依然阳性,患者应进

行阴道镜检查。(2)直接进行HPV基因分型,目的是为了检测有无HPV-16/18的感染。如果HPV-16/18阳性,应直接行阴道镜检查。如果HPV-16/18阴性,则应在12个月后再次进行联合检测。HPV DNA检测作为病因检测,无法对病毒感染阶段及病毒致癌活性进行判断,其作为宫颈癌筛查手段灵敏度高但特异性低,造成了很大程度的过度检查和过度治疗,这些女性由于害怕hr-HPV病毒感染会导致细胞发生癌变,往往选择阴道镜检查,不仅对患者身体造成伤害,而且还浪费有限的社会医疗资源^[8]。大量研究显示,hr-HPV存在,不一定会导致细胞发生癌变,只有大量HPV被持续转录成E6/E7 mRNA时,才能大量表达癌蛋白,诱发细胞癌变的风险成倍增加^[9]。因此,临床上迫切需要一种特异度更高的生物标志物。本研究发现,在TCT(-)hr-HPV(+)患者中,HPV E7蛋白阳性检出率与阴道镜检查的阳性检出率相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而在TCT(+)hr-HPV(+),以及TCT(+)hr-HPV(-)两组中,HPV E7蛋白阳性检出率与阴道镜检查的阳性检出率相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。同时通过统计学分析,在A组患者中,HPV E7蛋白检测灵敏度为92.00%,HPV E7蛋白检测准确率为84.00%,均为最高,特异度也高达76.00%,故笔者建议,女性宫颈筛查时如果TCT(-)、hr-HPV(+),可先进行HPV E7蛋白检测;如果HPV E7蛋白检测(+),再考虑选择阴道镜检查,这样可以大大地减少“假阳性”结果出现概率。

同时,本研究发现,HPV E7蛋白总阳性检出率为59.33%,在正常宫颈、ASCUS、LSIL和ASC-H_a中为28.00%、54.76%、85.07%和95.92%,各组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。178例经阴道镜检查诊断:HPV E7蛋白阳性检出率在LSIL中为82.02%,在HSIL中上升至88.89%,在SCC中为91.67%,各组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。通过本研究表明,HPV E7蛋白检测的阳性率不仅随宫颈病变组织学严重程度上升而增加,而且也随细胞学严重程度上升而增加,HPV E7蛋白表达情况与上皮不典型增生(CIN)病理分级有一定相关性。赵琳琳^[10]在其研究中发现,HPV E6/E7 mRNA与宫颈病变的严重程度密切相关,且HPV E6/E7 mRNA检测具有较高的特异度。

综上所述,HPV E7蛋白的检测能够显著提高宫颈癌患者的诊断准确率,提高筛出率,对宫颈癌的临床诊断具有重要意义。

参考文献

[1] WANG H Y, LEE D, PARK S, et al. Diagnostic Performance of HPV E6/E7 mRNA and HPV DNA Assays for the Detection and Screening of Oncogenic Human Papillomavirus Infection among Woman with Cervical(下转第767页)

ipsin 在维持性血液透析患者中可能起的作用。

综上所述,本研究结果显示,维持性血液透析患者体内存在 Adipsin 水平的明显升高,Adispin 水平升高可能是血液透析患者心肌损伤的一个保护因素。

参考文献

[1] SARAF R, MORTON S M, CAMARGO C A, et al. Global summary of maternal and newborn vitamin D status-a systematic review[J]. *Matern Child Nutr*, 2016, 12(4): 647-668.

[2] 王晓蕾, 时艺珊, 柏松. 2 型糖尿病外周动脉疾病患者血浆 adipsin 的水平变化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(3): 257-260.

[3] ABU-FARHA M, BEHBEHANI K, ELKUM N. Comprehensive analysis of circulating adipokines and hsCRP association with cardiovascular disease risk factors and metabolic syndrome in Arabs[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2014, 13(1): 1-10.

[4] HERTLE E, ARTS I C W, VAN DER KALLEN C J H, et al. Classical Pathway of Complement Activation; Longitudinal Associations of C1q and C1-INH With Cardiovascular Outcomes; the CODAM Study (Cohort on Diabetes and Atherosclerosis Maastricht)-Brief Report[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(5): 1242-1244.

[5] 岑运珠, 刘颖, 杨威利, 等. Spry1 对脂肪细胞分化的调控作用[J]. *天津医药*, 2017, 45(11): 57-60.

[6] 郜一飞. 植物提取物 Embelin 对小鼠肥胖的影响及机制研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2016.

[7] 周晴, 吴锐, 葛倩, 等. 不同糖耐量人群血清 adipsin 水平及其与胰岛 β 细胞功能及胰岛素抵抗的相关性研究[J]. *中华糖尿病杂志*, 2018, 10(6): 415.

[8] 王晓蕾, 范秋灵, 王力宁, 等. 糖尿病肾病候选基因脂肪细胞蛋白酶时空表达变化的研究[J]. *中国医师杂志*, 2012, 14(9): 1153-1156.

[9] 何川, 邓廉夫, 杨庆铭, 等. 静水压力刺激对人骨髓间充质

干细胞成骨、成脂双向分化的影响[J]. *中华骨科杂志*, 2008, 28(5): 397-401.

[10] BONOMINI M, PIERONI L, LIBERATO L D, et al. Examining hemodialyzer membrane performance using proteomic technologies[J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2018, 14: 1-9.

[11] LINES S W, RICHARDSON V R, THOMAS B, et al. Complement and cardiovascular disease-the missing link in haemodialysis patients[J]. *Nephron*, 2016, 132(1): 5-14.

[12] GURSOY CALAN O, CALAN M, YESIL SENSES P, et al. Increased adipsin is associated with carotid intima media thickness and metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2016, 85(6): 910-917.

[13] SHIELDS K J, STOLZ D, WATKINS S C, et al. Complement proteins C3 and C4 bind to collagen and elastin in the vascular wall; a potential role in vascular stiffness and atherosclerosis[J]. *Clin Transl Sci*, 2011, 4(3): 146-152.

[14] RUAN C C, ZHU D L, CHEN Q Z, et al. Perivascular adipose tissue-derived complement 3 is required for adventitial fibroblast functions and adventitial remodeling in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(12): 2568-2574.

[15] KORMAN B D, MARANGONI R G, HINCHCLIFF M, et al. Brief Report: Association of Elevated Adipsin Levels With Pulmonary Arterial Hypertension in Systemic Sclerosis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69(10): 2062-2068.

[16] SHIELDS K J, MOLLNES T E, EIDET J R, et al. Plasma complement and vascular complement deposition in patients with coronary artery disease with and without inflammatory rheumatic diseases[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0174577.

(收稿日期: 2018-08-19 修回日期: 2018-11-18)

(上接第 764 页)

Lesions in China[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(17): 7633-7640.

[2] EGAWA N, EGAWA K, GRIFFIN H, et al. Human Papillomaviruses, Epithelial Tropisms, and the Development of Neoplasia Viruses[J]. *Viruses*, 2015, 7(7): 3863-3890.

[3] 李秀, 杨姗姗, 安然. 宫颈液基薄层细胞学检测(TCT)联合阴道镜在筛查宫颈病变中的价值[J]. *中国实验诊断学*, 2013, 17(9): 1644-1647.

[4] ABRAHAM J, STENGER M. COBAS HPV test for first-line screening for cervical cancer[J]. *J Community Support Oncol*, 2014, 12(5): 156-157.

[5] GROVES I J, COLEMAN N. Pathogenesis of human papillomavirus associated mucosal disease[J]. *J Pathol*, 2015, 235(4): 527-538.

[6] LAWSON H W. Practice Bulletin No. 157: Cervical Cancer Screening and Prevention[J]. *Obstet Gynecol*, 2016, 127(1): e1-e20.

[7] ZHANG L, LI Q, ZHAO M, et al. Discrepancies between biopsy-based and excision-based grading of cervical intraepithelial neoplasia; the important role of time between excision and biopsy[J]. *Int Gynecol Pathol*, 2015, 34(3): 221-227.

[8] LU X, LIN M. Multiple-integrations of HPV16 genome and altered transcription of viral oncogenes and cellular genes are associated with the development of cervical cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): 75-88.

[9] GUSTINUCCI D, GIORGI ROSSI P, CESARINI E, et al. Use of Cytology E6/E7 mRNA and p16INK4a-Ki-67 to Define the Management of Human Papillomavirus (HPV)-Positive Women in Cervical Cancer Screening[J]. *Am J Clin Pathol*, 2016, 145(1): 35-45.

[10] 赵琳琳. 宫颈细胞 HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈诊断价值中的分析[J]. *数理医药学杂志*, 2018, 5(7): 647-648.

(收稿日期: 2018-08-11 修回日期: 2018-11-25)