

宫颈 E6/E7 检测用于宫颈癌筛查的临床价值

申屠爱芳

(杭州市富阳区第二人民医院妇产科 浙江 杭州 311400)

摘要:目的 探讨宫颈高危人乳头瘤病毒 (HPV) E6/E7 mRNA 检测用于宫颈癌筛查中的价值。方法 选取 2019 年 1 月至 2020 年 12 月在我院妇科就诊的 1000 例妇女, 均行高危 HPV E6/E7 mRNA、高危 HPV-DNA、液基细胞学 (TCT) 以及病理检查。结果 最终诊断正常或炎症者 758 例, 宫颈上皮内瘤变 (CIN) I 者 97 例, CIN II 者 75 例, CIN III 者 44 例, 宫颈癌 26 例; 正常或炎症、CIN I 者 HPV E6/E7 mRNA 阳性率分别为 31.79% 和 56.70%, 明显低于 HPV DNA 阳性率 ($p < 0.05$); CIN II、CIN III 和宫颈癌者 HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 阳性率比较差异无统计学意义 ($p > 0.05$); 随着病理分级升高, HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 阳性率明显升高 ($p < 0.05$); 宫颈癌 HPV E6/E7 mRNA 表达为 3015.03 (1041.44 ~ 15410.55) copies/ml, 明显高于正常或炎症、CIN I、CIN II 和 CIN III ($p < 0.05$); HPV E6/E7 mRNA 诊断 CIN II + 特异度为 63.39%, 明显高于 HPV DNA ($p < 0.05$)。结论 宫颈高危 HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈癌筛查中有较好的应用价值, 可以在临床中使用。

关键词: 高危人乳头瘤病毒; E6/E7 mRNA; 宫颈癌; 筛查

流行病学研究证实, 宫颈癌的发病率可达 473~673/1 万人左右^[1]。临床上宫颈癌的发生, 能够导致患者多器官功能障碍的发生和患者总体生存时间的缩短, 增加了患者的病死风险^[2]。临床上宫颈癌的早期诊断具有重要的意义, 其能够为临床上宫颈癌患者的早期根治性手术治疗提供契机。E6/E7 mRNA 是 HPV 病毒感染后整合宿主细胞的特异性基, 其能够通过对于宿主细胞周期的调控作用, 提高宫颈柱状上皮细胞的增殖和核分裂速度^[3]。通过特异性的检测 E6/E7 mRNA 可以为临床上宫颈癌的早期诊断和病情发展趋势评估提供参考^[4]。部分研究者探讨了 E6/E7 mRNA 的检测在宫颈癌患者诊断过程中的作用, 认为 E6/E7 mRNA 能够提高宫颈癌的诊断效果^[5], 但缺乏对于不同病理分级组织中 E6/E7 mRNA 的表达分析研究。为了指导临床上宫颈癌的早期诊断, 本次研究选取 2019 年 1 月至 2020 年 12 月在我院妇科就诊的 1000 例妇女, 探讨了 E6/E7 mRNA 的表达及其诊断学价值, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2020 年 12 月在我院妇科就诊的 1000 例妇女, 年龄 21~76 岁, 平均年龄 41.50 岁。纳入标准: (1) 在我院行高危 HPV E6/E7 mRNA、高危 HPV-DNA、液基细胞学 (TCT) 以及病理检查; (2) 年龄 ≥ 18 岁; (3) 受试者知情同意。排除标准: (1) 宫颈有物理治疗及手术史; (2) 盆腔有放射治疗史; (4) 妊娠期; (5) 近 3d 内有阴道冲洗及用药。

1.2 实验方法

1.2.1 HPV DNA 检查

采用美国 Digene 公司的第二代杂交捕获试验 (hybrid capture, HC-II) 的采样工具包从宫颈管采集标本, 进行 HC-II 检测操作并作出分析。检测目前已知的 13 种高危型 HPV。HPV ≥ 1.0 ng/L 为检测阳性。

1.2.2 HPV E6/E7 mRNA 检查

采集患者的静脉血, 加入 0.2 ml 的氯仿, 2℃~8℃ 冰冻离心机中离心 (12000 g/min, 15 min), 反复一次洗涤 RNA, 弃上清, 在管底部可见一乳白色小沉淀物, 加入 1 ml 75% 乙醇, 0.1% DEPC 水溶解。加入 HPV E6/E7 mRNA 基因和 GAPDH 上下游引物、0.1% DEPC 使其终浓度均为 20 pmol/ul, 制备反应体系, RT-PCR 扩增的条件与参数: 48℃, 45 min, 94℃, 2 min; 94℃ 30s, 58℃ 60s, 68℃ 2 min 共 40 个循环; 循环完毕后 68℃ 延伸 7 min。

1.2.3 TCT 检查

本研究采用 TBS 分级系统进行分级, 由本院病理学中心两名副主任级别以上的医生进行读片分析, 诊断主要包括不典型鳞状上皮增生 (ASCUS)、不典型腺细胞 (AGC)、不能排除的高度病变的不典型鳞状细胞 (HSIL)、鳞状上皮内低度病变 (LSIL)、宫颈鳞状上皮细胞癌 (SCC)。

1.3 统计学处理

统计分析采用 SPSS19.0 软件, 非正态分布计量资料采用 M (Q25, Q75) 表示, 比较采用秩和检验; 计数资料比较使用 χ^2 或 χ^2 线性趋势检验; 诊断价值采用灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和约登指数评估。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 诊断结果

结合 TCT 以及病理组织学结果: 正常或炎症者 758 例, 宫颈上皮内瘤变 (CIN) I 者 97 例, CIN II 者 75 例, CIN III 者 44 例, 宫颈癌 26 例。

2.2 不同病理者 HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 阳性率比较

正常或炎症、CIN I 者 HPV E6/E7 mRNA 阳性率明显低于 HPV DNA 阳性率 ($p < 0.05$); CIN II、CIN III 和宫颈癌者 HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 阳性率比较差异无统计学意义 ($p > 0.05$); 随着病理分级升高, HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 阳性率明显升高 ($\chi^2_{\text{线}} = 209.030$ 和 99.549, $p < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同病理者 HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 阳性率比较

分级	例数	HPV E6/E7 mRNA 阳性率 (%)	HPV DNA 阳性率 (%)	χ^2	P
正常或炎症	758	241 (31.79)	322 (42.48)	18.538	0.000
CIN I	97	55 (56.70)	72 (74.23)	6.589	0.010
CIN II	75	68 (90.67)	62 (82.67)	2.077	0.150
CIN III	44	41 (93.18)	38 (86.36)	0.495	0.482
宫颈癌	26	25 (96.15)	24 (92.31)	0.000	1.000

2.2 不同病理者 HPV E6/E7 mRNA 表达情况

宫颈癌 HPV E6/E7 mRNA 表达量为 3015.03 (1041.44 ~ 15410.55) copies/ml, 明显高于正常或炎症、CIN I、CIN II 和 CIN III ($p < 0.05$), 见表 2。

表 2 不同病理者 HPV E6/E7 mRNA 表达情况

分级	例数	HPV E6/E7 mRNA 表达 (copies/ml)	χ^2	P
正常或炎症	241	92.11 (24.22 ~ 341.22)		
CIN I	72	320.45 (87.66 ~ 1842.33) a		
CIN II	68	1068.68 (384.15 ~ 7644.03) ab	210.44	0.000
CIN III	41	1271.11 (510.01 ~ 9410.00) ab		
宫颈癌	25	3015.03 (1041.44 ~ 15410.55) abcd		

注: a 与正常或炎症比较 $p < 0.05$; b 与 CIN I 比较 $p < 0.05$; c 与 CIN II 比较 $p < 0.05$; d 与 CIN III 比较 $p < 0.05$ 。

3. 讨论

临床上 HPV 感染的发生, 能够显著促进宫颈柱状上皮细胞的病变, 进而促进宫颈癌的发生, 特别是在高危型 HPV 感染的患者中, 宫颈上皮高级别病变的发生风险可进一步的上升^[6]。长期的临床随访观察研究发现, 宫颈恶性肿瘤的五年生存率不足 45%, 综合性治疗措施治疗后宫颈癌患者的无瘤生存时间不足 18 个月^[7]。现阶段临床上主要通过细胞学及 HPV 检查早期诊断宫颈癌, 其虽然能够提高宫颈癌的筛查效果, 但一项囊括了 109 例样本量的宫颈高级别病变分析研究可见, 依靠宫颈细胞学或者 HPV 检查评估宫颈病变的灵敏度不足 65%, 漏诊率和误诊率水平仍然超过了 15% 以上^[8]。因此临床上寻找可靠而有效的诊断方式, 对于提高宫颈癌患者的诊断效能具有重要的意义。

E6/E7 蛋白的表达还能够通过结合 P53 蛋白或者 Rb 蛋白, 进而影响宫颈柱状上皮细胞的细胞周期, 导致 G1/S 期细胞比例的改变^[9]。而通过特异性的检测 E6/E7 mRNA 基因, 能够评估 HPV 感染致病的过程, 揭示宫颈上皮细胞病变的风险^[10]。部分研究者已经探讨了 E6/E7 mRNA 在诊断宫颈癌过程中的价值, 认为 E6/E7 mRNA 检测的稳定性更高, 干扰因素较少, 可靠性较好^[11], 但缺乏对于不同病理分级宫颈病变组织中的分层分析研究。

本次研究发现在低级别的宫颈病变患者中, HPV E6/E7 mRNA 的阳性率较低, 提示对于早期病变或者良性宫颈病变组织, HPV E6/E7 筛查的价值可能较为局限, 而在高级别宫颈病变组织中, HPV E6/E7 mRNA 和 HPV DNA 的阳性率均较高, 提示对于高级别病变患者, HPV E6/E7 mRNA 的检出率较高, 其可能在宫颈高度病变患者的筛查过程中具有潜在的应用价值。

参考文献

[1] Dutta S W, Trifiletti D M, Pugh K J, et al. Integration of MRI target delineation into rapid workflow cervical cancer brachytherapy: Impact on clinical outcomes[J]. *Journal of Medical Imaging and Radiation*

Oncology,2018,28(05):90-93.

[2] Sachan P, Singh M, Patel M, et al. A Study on Cervical Cancer Screening Using Pap Smear Test and Clinical Correlation[J]. *Asia-Pacific Journal of Oncology Nursing*,2018,5(3):337-339.

[3] 樊婷婷李肖甫邱翠智艳芳李雅. HPV-16 L1 甲基化和 HPV E6/E7 mRNA 检测宫颈病变的临床价值[J]. *郑州大学学报: 医学版*,2016,51(1):47-51.

[4] 杜彩英, 李芳. 人乳头瘤病毒 DNA 及 E6/E7 mRNA 检测在宫颈病变诊断中的比较研究[J]. *中国优生与遗传杂志*,2015,23(04):38-40.

[5] 单继烈, 叶素梅, 王兰英, 等. 液基薄层细胞学检测、高危型人乳头状瘤病毒-DNA 和人乳头状瘤病毒 E6/E7 mRNA 检测在宫颈癌早期筛查中的临床价值[J]. *中国卫生检验杂志*,2018,28(06):667-669.

[6] Walter F, Maihöfer C, Sch ü trumpf L, et al. Combined intracavitary and interstitial brachytherapy of cervical cancer using the novel hybrid applicator Venezia: Clinical feasibility and initial results[J]. *Brachytherapy*,2018,25(05):45-46.

[7] Nassali M N, Tadele M, Nkuba R M, et al. Predictors of Locally Advanced Disease at Presentation and Clinical Outcomes Among Cervical Cancer Patients Admitted at a Tertiary Hospital in Botswana[J]. *International Journal of Gynecological Cancer*,2018,34(05):1-3.

[8] 聂小倩, 张维娜, 张盛苗, 等. 人乳头瘤病毒 E6/E7 信使核糖核酸表达与宫颈病变病理级别相关性分析[J]. *中国计划生育和妇产科*,2018,28(04):40-44.

[9] 潘琦文, 李建湘, 班婷. 癌基因 E6/E7 mRNA 定量检测联合液基薄层细胞学检测在宫颈病变患者中的应用价值[J]. *中国临床新医学*,2016,9(10):864-866.

[10] 宋艳萍, 钱小泉, 施赛欧, 等. HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈癌筛查中的应用价值[J]. *中国优生与遗传杂志*,2016,24(04):25-27.