

HPV E6/E7 mRNA 检测 对宫颈 HSIL/SCC 的诊断价值

王翠玲^{1,2} 李开智² 崔文^{3Δ}

(¹ 济南大学山东省医学科学院医学与生命科学学院, 济南 250012;

² 济宁医学院附属医院, 济宁 272029; ³ 济宁医学院司法鉴定中心, 济宁 272067)

摘要 **目的** 探讨人乳头瘤样病毒(human papilloma virus, HPV) E6/E7 mRNA 与宫颈病变的关系, 评价 HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈高级别鳞状上皮内病变(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)及鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC)的诊断价值。**方法** 采用回顾性分析研究, 选取济宁医学院附属医院 2016 年 7 月至 2017 年 12 月收治宫颈疾病患者、均取活检且组织学诊断明确的病例 115 例为观察对象, 所有患者均行 HPV E6/E7 mRNA 检测, 对其结果进行分析。以组织学诊断为标准, 观察对象分为: HSIL/SCC 42 例、低级别鳞状上皮内病变(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) 42 例、正常组织(normal tissues, Normal) 31 例, 先比较 3 组间 HPV E6/E7 mRNA 阳性率差异, 后合并组别比较 Normal/LSIL 与 HSIL/SCC 之间 HPV E6/E7 mRNA 阳性率差异。**结果** HSIL/SCC HPV E6/E7 mRNA 检测阳性 33 例(阳性率 78.57%), LSIL 阳性 17 例(阳性率 40.48%), Normal 阳性 8 例(阳性率 25.81%)。HSIL/SCC 阳性率显著高于 Normal/LSIL, 差异有统计学意义。**结论** HPV E6/E7 mRNA 在 HSIL/SCC 中表达显著, 可作为重要标志物, 对宫颈上皮内病变筛查及分流。

关键词 人乳头状瘤病毒; E6/E7 mRNA; 高级别鳞状上皮内病变; 鳞状细胞癌

中图分类号: R73 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2018)12-400-04

The diagnostic significance of detection of human papillomavirus E6/E7 mRNA in high-grade squamous intra-epithelial lesions and squamous cell carcinoma of the cervix

WANG Cuiling^{1,2}, LI Kaizhi², CUI Wen^{3Δ}

(¹ School of Medicine and Life Science, University of Jinan-Shandong Academy of Medicine

Sciences, Jinan 250062, China; ² The Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029, China;

³ School of Forensic and Medical Laboratory, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between E6/E7 mRNA of human papilloma virus (HPV) and cervical lesions, and estimate the value of HPV detection in the diagnosis of HSIL and SCC of the cervix. **Methods** A retrospective analysis was used to select patients with cervical diseases admitted to the Affiliated Hospital of Jining Medical University from July 2016 to December 2017. All patients were undergone biopsy and accurate histological diagnosis, and tested for HPV E6/E7 mRNA and analyzed. According to histological diagnosis, the observation objects were divided into 3 groups: HSIL/SCC (n = 42), LSIL (n = 42), normal tissues (n = 31). HPV E6/E7 mRNA positive rates among the three groups was compared. Then, the differences of HPV E6/E7 mRNA positive rate between Normal/LSIL and HSIL/SCC were compared after the merger group. **Results** HPV E6/E7 mRNA was positive in 33 cases of HSIL/SCC (positive rate: 78.57%), 17 cases of LSIL (positive rate: 40.48%), and 8 cases of normal tissue (positive rate: 25.81%). The positive rate of HSIL/SCC was significantly higher than that of normal/LSIL, and the difference was statistically significant. **Conclusion** In women with HSIL/SCC, E6/E7 mRNA expression is higher which is an important mark-

er, and playing a role of screening and triage.

Keywords: Human papilloma virus; E6/E7 mRNA detection; High-grade squamous Intra-epithelial lesions; Squamous cell carcinoma

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一, 研究显示, 绝大多数宫颈癌与人乳头状瘤病毒 (HPV) 感染有关^[1]。1995 年, 世界卫生组织 (WHO) 指出高危型 HPV 的持续感染是宫颈癌的主要病因, HPV 检测对宫颈病变筛查、早诊断、早治疗具有重要意义^[2]。本文通过分析 HPV E6/E7 mRNA 与宫颈病变的关系, 探讨 HPV E6/E7 mRNA 对宫颈高级别鳞状上皮内病变 (high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) 及鳞状细胞癌 (squamous cell carcinoma, SCC) 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取济宁医学院附属医院 2016 年 7 月 - 2017 年 12 月收治宫颈疾病患者、均行活检并有明确组织学诊断者 115 例, 所有患者均行 HPV E6/E7 mRNA 检测。患者年龄 20 ~ 67 岁, 平均 (31.4 ± 11.7) 岁, 均因慢性宫颈炎、阴道异常流血以及排液、阴道分泌物增多、宫颈糜烂等症状而就诊, 且均为已婚或有性生活史者, 自愿接受 HPV、阴道镜活检, 并签署了知情同意书, 符合医院伦理委员会要求。排除子宫全切除史、盆腔放射治疗史患者, 当前无妊娠, 在检查前的 3d 无性生活、阴道冲洗、放药治疗等。其中组织学诊断 HSIL 及 SCC 者 42 例, LSIL 者 42 例, 正常组织 (Normal) 31 例。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 按照 HPV E6/E7 mRNA 检测标本采集方法, 将宫颈取样毛刷的中央刷毛部分, 轻轻地插入到子宫颈管内, 保证刷毛能够与子宫颈口完全接触, 按照同一时针方向转动, 连续 5 周, 获取足够量样本, 将刷毛取出, 放入到 HPV E6/E7 mRNA 专用保存液瓶中, 保证刷毛在溶液中全部散开, 快速摆动宫颈刷, 漂洗细胞样本, 保存送检。

1.2.2 HPV E6/E7 mRNA 检测 选择 Hologic 公司生产, 经美国 FDA 批准的 Aptima HPV (14 种高危亚型) 试剂盒, 采用 Panther 自动检测平台, 检测方法为转录介导等温扩增技术 (transcription-mediated isothermal amplification technology, TMA) 对送检标本进行 HPV E6/E7 mRNA 检测。判断标准:

分析物 S/临床阈值 (cut off, CO) ≥ 0.5, 且内部指控 < 2000000 RLU, 分析物 ≤ 13000000 RUL 为阳性。

1.2.3 阴道镜检查与活检 按照阴道镜检查常规步骤, 展开检查, 经子宫窥器对宫颈进行充分暴露, 利用棉签擦拭宫颈表面分泌物并进行观察, 采取 3% 醋酸棉球温敷宫颈, 若发现阴道镜图像有异常, 即刻对镜下异常区进行多处活检, 用 10% 中性福尔马林缓冲液保存标本并送检。

1.2.4 组织学诊断 组织学诊断由专业妇科病理学医师进行, 诊断标准: 按 WHO 2014 版分类标准分为 Normal、LSIL、HSIL 及 SCC。

1.3 统计学方法

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 不同宫颈疾病 HPV E6/E7 mRNA 结果比较

将宫颈各类病变的 HPV E6/E7 mRNA 结果采用 χ^2 检验 (表 1)。为减少错误的概率, 保持数据的正确性, 采用卡方分割, 将差异无统计学意义的 LSIL 与 Normal 合在一起, 与 HSIL/SCC 比较, 差异有统计学意义, 以上说明 HPV E6/E7 mRNA 检测 HSIL 及 SCC 阳性率高, 与 LSIL/Normal 相比差异具有统计学意义。见表 2。

表 1 不同宫颈疾病 HPV E6/E7 mRNA 结果比较 (n/%)

组别	n	HPV E6/E7 mRNA		χ^2	P
		+	-		
Normal	31	8/25.81	23/74.19		
LSIL	42	17/40.48	25/59.52	22.489	<0.05
HSIL/SCC	42	33/78.57	9/21.43		
合计	115	58/50.43	57/49.57		

表 2 Normal/LSIL 与 HSIL/SCC HPV E6/E7 mRNA 检测结果比较 (n/%)

组别	n	HPV E6/E7 mRNA		χ^2	P
		+	-		
Normal/LSIL	73	25/34.25	48/65.75	39.780	<0.05
HSIL/SCC	42	33/78.57	9/21.43		
合计	115	58/50.43	57/49.57		

2.2 HPV E6/E7 mRNA 诊断 HSIL/SCC 的评价 HPV E6/E7 mRNA 检测的灵敏度、特异度、阳

性预测值、阴性预测值分别为 78.57%、65.75%、56.90%、84.21%；Kappa 指数 0.410。见表 3。

表 3 HPV E6/E7 mRNA 检测诊断与组织学诊断的相关性*

E6/E7 mRNA 检测	HSIL/ SCC	Normal/ LSIL	灵敏度 %	特异度 /%	阳性预测 值/%	阴性预测 值/%	阳性 似然比	阴性 似然比	Youden 指数/%	粗符合 率/%	Kappa 指数
阳性	33	25	78.57	65.75	56.90	84.21	2.470	0.234	44.32	70.43	0.410
阴性	9	48	(66.16~90.98)	(54.86~76.64)	(44.15~69.65)	(74.74~93.68)			(19.67~68.97)	(62.09~78.77)	

注：* 部分数据按百分数(95% CI)。

3 讨论

HPV 感染与宫颈上皮内病变及宫颈癌的发生、发展密切相关^[3-4]。HPV 检测是宫颈病变筛查的主要方法。对于多数性活跃的女性而言,一生中至少都会发生一次 HPV 感染,并且 90% 的 HPV 感染会被机体产生的细胞免疫及体液免疫所清除,只有 10% 高危型 HPV 超过 3 年,仅 5% 的高危型 HPV 感染在 3 年内发展为高级别病变。近年来研究发现,5 个主要高危 HPV (16、18、31、33 和 45) 的 E6/E7 mRNA 表达是导致 86% 宫颈癌的主要原因^[5-6]。HPV E6/E7 mRNA 的表达水平与宫颈病变的严重程度密切相关。对于 HPV 阳性的患者,HPV 感染期 E6/E7 癌基因转录通常短暂、低表达,HPV 的致癌潜能随着 E6 和 E7 的表达水平增加呈依赖性增加,当病毒基因组整合到宿主基因组中,即致癌基因被激活,HPV E6 和 E7 蛋白异常过表达,诱导肿瘤抑制蛋白 p53(被 E6 灭活)和 pRb(被 E7 灭活)失活,导致宫颈细胞增殖进而恶变^[7]。第二代宫颈癌筛查技术对宫颈高级别病变具有较高的临床特异性,能大大减少对一过性 HPV 感染的检出,避免不必要的阴道镜活检,减少患者的心理压力及费用,得到美国 FDA 的批准,建议 HPV E6/E7 mRNA 检测用于 21~30 岁女性细胞学诊断非典型鳞状细胞意义不明确(ASC-US)人群的分流及 30 岁以上一线和细胞学联合筛查。液基细胞学是宫颈癌筛查中可靠的形态学诊断,和 HPV E6/E7 mRNA 检测相互补充,能够最大程度地避免过诊及漏诊。当然,液基细胞学需要大量训练有素的细胞学医生进行,这在很多国家,特别是发展中国家是严重不足的。而 HPV E6/E7 mRNA 检测能在一定程度上弥补这个不足。

本文对 HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈病变患者中的诊断意义进行评价分析,结果发现,HSIL/

SCC 中 33 例(78.57%) HPV E6/E7 mRNA 阳性,显著高于 Normal/LSIL(34.25%)。以上数据表明,HPV E6/E7 mRNA 在 HSIL/SCC 中阳性率明显增高,显示 HPV E6/E7 mRNA 检测对 HSIL/SCC 诊断的效果比较理想,灵敏度为 78.57% (95% CI: 66.16~90.98)、特异度 65.75% (95% CI: 54.86~76.64)。HPV E6/E7 mRNA 的表达与宫颈病变严重程度密切相关,具有更强的排除 Normal/LSIL 的能力,避免过度治疗给患者带来生理痛苦及精神负担。HPV E6/E7 mRNA 有助于预测 HPV 持续感染导致宫颈病变进展的风险,且有利于宫颈癌筛查中准确分流 HPV 阳性的患者,具有重要的诊断意义。分析本试验的常用评价指标,HPV E6/E7 mRNA 检测的阳性预测值 56.90%、阴性预测值 84.21%;阳性似然比 2.470,阴性似然比 0.234,Youden 指数 44.32%,粗符合率 70.43%,说明本试验真实性较好,应用价值较高。可靠性评价中,Kappa 指数 0.410,显示中度一致。

HPV E6/E7 mRNA 检测可对 LSIL 及活检阴性的妇女的随访进行分流,比细胞学更敏感、更特异^[8]。有作者提出,当 HPV 阳性时,对于 40 岁以上的妇女或有并发病状的妇女直接治疗,不进行细胞学诊断,有助于提高临床安全性^[9-10]。由于病变可能已经存在了一段较长的时间,进展风险较高,HPV E6/E7 mRNA 检测可以缩短从假阴性到明确诊断的时间。当然,还需要进一步对活检阴性的妇女进行随访,揭示是否阴道镜后 HPV E6/E7 mRNA 检测取代细胞学检查的可能。

综上所述,HPV E6/E7 mRNA 检测可能成为 HPV 潜在的进展性标志物及筛选工具,能更加精准地筛查 HSIL/SCC,有效降低一过性感染率检出,对于宫颈癌前病变的筛查具有重要临床意义。

(下转第 406 页)

- [8] Bani-Hani KE, Yaghan RJ, Matalka II, et al. Idiopathic granulomatous mastitis: time to avoid unnecessary mastectomies [J]. *Breast J*, 2004, 10(4): 318-322. DOI: 10.1111/j.1075-122X.2004.21336.x.
- [9] Güven HE, Pak I, Oral S. Granulomatous mastitis: surgical outcomes [J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2006, 16(6): 431-433. DOI: 6.2006/JCPSP.431433.
- [10] Salehi M, Salehi H, Moafi M, et al. Comparison of the effect of surgical and medical therapy for the treatment of idiopathic granulomatous mastitis [J]. *J Res Med Sci*, 2014, 19(Suppl 1): S5-8.
- [11] Hladik M, Schoeller T, Ensaf F, et al. Idiopathic granulomatous mastitis: successful treatment by mastectomy and immediate breast reconstruction [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2011, 64(12): 1604-1607. DOI: 10.1016/j.bjps.2011.07.011.
- [12] Lipatov KV, Komarova EA, Nasibov BS. Peculiarities of the course, diagnosis and surgical treatment of non-lactating mastitis [J]. *Khirurgiia (Mosk)*, 2016(12): 25-30. DOI: 10.17116/hirurgia20161225-30.
- [13] 孔令伟, 马祥君, 高雅军, 等. 浆细胞性乳腺炎治疗时机选择的临床分析 [J]. *河北医药*, 2009, 31(23): 3206-3207.
- [14] Gurleyik G, Aktekin A, Aker F, et al. Medical and surgical treatment of idiopathic granulomatous lobular mastitis: a benign inflammatory disease mimicking invasive carcinoma [J]. *J Breast Cancer*, 2012, 15(1): 119-123.
- [15] Erozgen F, Ersoy YE, Akaydin M, et al. Corticosteroid treatment and timing of surgery in idiopathic granulomatous mastitis confusing with breast carcinoma [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 123(2): 447-452. DOI: 10.1007/s10549-010-1041-6.
- [16] 黄汉源, 孙强, 王学晶, 等. 100 例非哺乳期乳腺炎的外科治疗 [J]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2013(3): 40-43. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2013.03.010.
- [17] Asoglu O, Ozmen V, Karanlik H, et al. Feasibility of surgical management in patients with granulomatous mastitis [J]. *Breast J*, 2005, 11(2): 108-114. DOI: 10.1111/j.1075-122X.2005.21576.x.

(收稿日期 2018-06-20)

(本文编辑:甘慧敏)

.....

(上接第 402 页)

参考文献:

- [1] Discacciati MG, da SID, Villa LL, et al. Prognostic value of DNA and mRNA e6/e7 of human papillomavirus in the evolution of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 [J]. *Biomark Insights*, 2014, 9: 15-22. DOI: 10.4137/BMI.S14296.
- [2] Yang L, Zhu Y, Bai Y, et al. The clinical application of HPV E6/E7 mRNA testing in triaging women with atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intra-epithelial lesion Pap smear: a meta-analysis [J]. *J Cancer Res Ther*, 2017, 13(4): 613-620. DOI: 10.4103/jcr. JCRT_56_17.
- [3] Mills AM, Coppock JD, Willis BC, et al. HPV E6/E7 mRNA In situ hybridization in the diagnosis of cervical Low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) [J]. *Am J Surg Pathol*, 2018, 42(2): 192-200. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000974.
- [4] Shen-Gunther J, Wang Y, Lai Z, et al. Deep sequencing of HPV E6/E7 genes reveals loss of genotypic diversity and gain of clonal dominance in high-grade intraepithelial lesions of the cervix [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 231. DOI: 10.1186/s12864-017-3612-y.
- [5] Zhao X, Cui Y, Jiang S, et al. Comparative study of HR HPV E6/E7 mRNA and HR-HPV DNA in cervical cancer screening [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2014, 94(43): 3432-3435.
- [6] Valença JE, Gonçalves AK, Guerreiro dSID, et al. High risk HPV E6/E7 oncoprotein expression in women with high grade squamous intraepithelial lesion [J]. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2016, 38(3): 154-159. DOI: 10.1055/s-0036-1580713.
- [7] Skinner SR, Apter D, De Carvalho N, et al. Human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine for the prevention of cervical cancer and HPV-related diseases [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2016, 15(3): 367-387. DOI: 10.1586/14760584.2016.1124763.
- [8] Sorbye S W, Arbyn M, Fismen S, et al. HPV E6/E7 mRNA testing is more specific than cytology in post-colposcopy follow-up of women with negative cervical biopsy [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26022.
- [9] Coppock JD, Willis BC, Stoler MH, et al. HPV RNA in situ hybridization can inform cervical cytology-histology correlation [J]. *Cancer Cytopathol*, 2018, 126(8): 533-540. DOI: 10.1002/cncy.22027.
- [10] Fan Y, Shen Z. The clinical value of HPV E6/E7 and STAT3 mRNA detection in cervical cancer screening [J]. *Pathol Res Pract*, 2018, 214(5): 767-775. DOI: 10.1016/j.prp.2018.02.003.

(收稿日期 2018-04-15)

(本文编辑:甘慧敏)