

高危型 HPV 感染负荷量预测宫颈病变转归可能性的研究

刘丽萍¹⁾, 杨丽华¹⁾, 杨谢兰²⁾, 苏莹¹⁾, 李江¹⁾, 易晓佳¹⁾

(1) 昆明医科大学第二附属医院, 云南昆明 650101; 2) 昆明医科大学第三附属医院, 云南昆明 650118)

[摘要] **目的** 研究高危型人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 感染负荷量与宫颈病变程度的相关性, 以探讨 HPV 负荷量预测宫颈疾病转归的可行性. **方法** 第二代杂交捕获技术 (hc2 HPV DNA) 检测云南省肿瘤医院 2010 年 1 月至 2011 年 12 月宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 和宫颈癌患者 143 例 HPV 感染负荷量, 研究高危型 HPV 病毒负荷量与宫颈病变的关系. **结果** CIN I 患者高危型 HPV 负荷量显著低于 CIN II、CIN III 及各期宫颈癌患者 ($P < 0.05$), CIN II 及各期宫颈癌患者间 HPV 负荷量差异无统计学意义 ($P > 0.05$). **结论** CIN I 高危型 HPV 病毒负荷量较低, CIN II、CIN III 及宫颈癌患者 HPV 病毒负荷量增高, 但病毒负荷量不随宫颈病变程度增加而增高. 高危型 HPV 负荷量不能预测宫颈病变转归, 但较高的 HPV 负荷与 CIN II、CIN III 及宫颈癌相关.

[关键词] 高危型人乳头瘤病毒; 第二代杂交捕获; 病毒负荷量; 宫颈病变

[中图分类号] R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2012) 10-0075-03

The Research on the Predictable Possibility of Cervical Lesion Outcome by High Risk HPV Virus Load

LIU Li-ping¹⁾, YANG Li-hua¹⁾, YANG Xie-lan²⁾, SU Ying¹⁾, LI Jiang¹⁾, YI Xiao-jia¹⁾

(1) The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101; 2) The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650118, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the relationship between the high-risk human papilloma virus (HR-HPV) infection load and cervical lesions, in order to explore the feasibility of HPV load to predict the outcome of cervical disease. **Methods** The HPV infection load in 143 cases of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and cervical cancer patients in Yunnan Province Cancer Hospital from 2010.6-2011.12 were detected by the second-generation hybrid capture (hc2 HPV DNA), to study the relationship between the high-risk HPV viral load and cervical lesions. **Results** High risk HPV loads in CIN I patients were significantly lower than that in CIN II, CIN III and cervical cancer patients ($P < 0.05$), there were no significant difference among the CIN II, CIN III and cervical cancer patients ($P > 0.05$). **Conclusion** The High-risk HPV viral loads in CIN I patients are low, which increase in CIN II, CIN III and cervical cancer patients. The viral load will not increase with the cervical lesions progress. High-risk HPV load can not predict the outcome of cervical lesions, but high HPV loads are associated with CIN II, CIN III and cervical cancer.

[Key words] High risk human papilloma virus; Hc2 HPV DNA; Viral; Cervical lesions

HPV 感染与宫颈病变发生密切相关, HPV 根据潜在致癌性分成 3 类: 高危型 (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 68, 73 和 82)、可能高危型 (HPV26, 53 和 66) 和低危型 (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 和 81)^[1]. 低危型引起生殖器疣和复发性乳头状

[基金项目] 云南省科技厅自然科学基金资助项目 (2009ZC113M)

[作者简介] 刘丽萍 (1986~), 女, 云南昭通市人, 医学学士, 住院医师, 主要从事妇产科临床工作.

[通讯作者] 杨丽华. E-mail: yanglihua0628@163.com,

瘤等良性病变。特高危型有助于子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、肛门癌、阴茎癌的发展^[2]。研究报告 90% 以上的宫颈病变患者有 HPV 感染。本研究中 CIN 病变感染率为 86%，宫颈癌患者感染率为 97%，进一步证实了宫颈病变与高危型 HPV 感染相关，与目前的大多数报道一致。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集云南省肿瘤医院 2010 年 1 月至 2011 年 12 月 143 例宫颈病变住院患者资料。根据阴道镜下活检或宫颈锥切术的病理检查诊断 CIN 或宫颈癌，按照国际妇产科联盟 (FIGO) 2009 年修订的宫颈肿瘤 TNM 分期标准，将其分为 6 组，其中 CIN I 10 例，CIN II 17 例，CIN III 40 例，宫颈癌 I 期 29 例，宫颈癌 II 期 27 例，宫颈癌 III 期 20 例。年龄 24 ~ 74 岁，平均 43 岁。

1.2 标本收集

消毒外阴、阴道，HPV 专用拭子探入到宫颈口内 2 ~ 3 cm 处，停留 30 s，顺时针旋转 2 ~ 3 圈，取出，立即放入装有细胞保存液的专用试管内备检。

1.3 检测方法及实验步骤

采用美国 Digene 公司提供的 Hc-II HPV-DNA 检测试剂盒运用杂交捕获法 (hc2 HPV DNA) 进行

HPV DNA 检测。步骤：(1) 样本 DNA 双链被释放并分解成可以杂交的核苷酸单链；(2) DNA 单链与 RNA 探针结合为 RNA-DNA 杂交体；(3) 特异性抗体将 RNA-DNA 杂交体捕获并固定于试管壁或微孔壁上；(4) 偶联有碱性磷酸酶的第二抗体与 RNA-DNA 杂交体结合；(5) 碱性磷酸酶使酶底物发光，根据光的强弱可确定碱性磷酸酶含量，从而确定 RNA-DNA 杂交体含量。

1.4 评判标准

宫颈组织细胞的 HPV-DNA 负荷量用受检标本检测值相对发光单位 (RLU) 与试剂盒 HPV-DNA 阳性对照临界值 (CO) 的比值 (RLU/CO) 表示。RLU/CO > 1 表示每 mL 标本中 HPV-DNA 含量 > 1 pg，呈阳性，反之为阴性。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 统计软件，各组的病毒负荷量有无差异采用秩和检验，每组之间的病毒负荷量比较采用 Wilcoxon 分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

CIN 和宫颈癌患者高危型 HPV 感染率和负荷量比较。CIN I 患者高危型 HPV 感染率和负荷量显著低于 CIN II 及各期宫颈癌患者 ($P < 0.05$)，CIN II 及各期宫颈癌患者间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 1。

表 1 CIN 和宫颈癌患者高危型 HPV 负荷量 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 1 HR HPV load of CIN and cervical cancer patients ($\bar{x} \pm s$)

宫颈病变	n	HPV 感染率 [n(%)]	病毒负荷量范围	病毒负荷量中位数
CIN I	10	5(50)	0.11 ~ 174.71	0.88 ± 388
CIN II	17	16(94)*	0.19 ~ 895.73	78.51 ± 113.48*
CIN III	40	37(92)*	0.20 ~ 1 547.82	172.12 ± 521.33*
宫颈癌 I 期	29	28(96)*	0.14 ~ 1 584.89	138.56 ± 482.52*
宫颈癌 II 期	27	27(100)*	2.50 ~ 2 010.44	45.92 ± 656.65*
宫颈癌 III 期	20	19(95)*	0.28 ~ 1 637.88	396.71 ± 1 108.64*

与 CIN I 比较，* $P < 0.05$ 。

3 讨论

在有性活动的妇女中 HPV 感染率较高，约 30%，绝大多数妇女的 HPV 感染是一过性的，80% 以上的 HPV 感染在感染 2 a 内被清除，这一类妇女一般不会引起宫颈病变或仅发生 CIN I，但是如果 HPV 持续感染则可能导致中重度宫颈上皮内瘤变甚至宫颈癌，宫颈癌的发生是一个渐进的缓慢过

程^[3]，从宫颈上皮内瘤变发展到宫颈癌需要 8 ~ 12 a，因此检测 HPV 感染状态有助于早期发现宫颈疾病，预防宫颈癌的发生。人乳头瘤病毒的持续感染在癌前病变及宫颈癌发病过程中发挥主要作用^[4]，HPV 病毒整合到宿主细胞染色体上，是宫颈癌转化与发生的关键^[5]，根据宫颈病变诊疗规范，如果患者 HPV 阳性，细胞学检查正常，则定期随访 HPV 感染情况，3 ~ 6 月后复查。这种持续、动态监测 HPV 确实能有效的监测 HPV 感染状态，防止

宫颈疾病进展, 预防宫颈癌。但是连续监测增加患者经济负担及精神负担, 有些患者依从性差而致延误病情。有报道认为高危型 HPV 持续感染除了与宫颈病变发生相关外还与宫颈病变预后有关, Nagai 等研究发现, HPV 阳性的宫颈癌患者在放疗后如果 HPV 仍持续阳性则其预后较差, HPV 也是评估宫颈癌预后的一个独立指标^[6]。Marks M 报道 HPV 病毒负荷量与 HPV 清除率成正相关, HPV 负荷量越低清除率越高^[7]。那么是否意味着 HPV 负荷量越高, HPV 持续感染的机率也越高, 发生宫颈病变的可能性越高, 宫颈病变持续持久越长, 发生严重宫颈病变的可能性就越高。因此, 笔者推测 HPV 感染负荷量也许与宫颈病变程度严重程度相关。

本研究结果显示 CIN I 患者高危型 HPV 负荷量显著低于 CIN II、III 及各期宫颈癌患者, CIN II、CIN III 及各期宫颈癌患者间 HPV 负荷量无显著差异, 提示轻度 CIN 高危型 HPV 病毒负荷量较低, 中、重度 CIN 及宫颈癌患者 HPV 病毒负荷量增高, 但病毒负荷量不随宫颈病变程度增加而增高。高危型 HPV 负荷量不能预测宫颈病变转归, 但较高的 HPV 负荷与中、重度 CIN 病变与宫颈癌相关。因此, 虽然 HPV 负荷量没有办法预测 HPV 感染患者是向疾病消退方向转化还是向宫颈癌方向转化, 但是较高的 HPV 负荷提示患者罹患 CIN II 及更严重宫颈病变的可能性增加, 需要加强监测, 较低的 HPV 负荷自我清除的机率较高, 可以适当延长复查时间。所以, HPV 负荷量虽然不能作为宫颈病变转归的预测指标, 但是根据 HPV 负荷量可以做出适当的临床决策, 以早期筛查和监控宫颈病变,

预防宫颈癌的发生。

[参考文献]

- [1] MUNOZ N, BOSCH FX, DE SANJOSE S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348: 518 - 527.
- [2] SCHEURER M E, TORTOLERO - LUNA G, ADLER - STORTHZ K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2005, 15: 727 - 746.
- [3] PRETORIUS R G, PETERSON P, AZIZI F, et al. Subsequent risk and presentation of cervical intraepithelial neoplasia (CIN)3 or cancer after a colposcopic diagnosis of CIN 1 or less [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 195(5): 1 260 - 1 265.
- [4] RODON R, WU T C. How will HPV vaccines affect cervical cancer [J]. *Nature Rev*, 2006, (6): 753 - 763.
- [5] SCHIFFMAN M, WHEELER C M, DASGUPTA A, et al. A comparison of a prototype PCR assay and hybrid capture 2 for detection of carcinogenic human papillomavirus DNA in women with equivocal or mildly abnormal papanicolaousmears [J]. *Am J Clin Pathol*, 2005, 124 (5): 722 - 732.
- [6] NAGAI Y, TOMA T, MOROMIZATO H, et al. Persistence of human papillomavirus infection as a predictor for recurrence in carcinoma of the cervix after radiotherapy [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191(6): 1 907 - 1 913.
- [7] MARKS M, GRAVITT PE, UTAIPAT U, et al. Kinetics of DNA load predict HPV 16 viral clearance [J]. *Clin Virol*, 2011, 51(1): 44 - 49.

(2012 - 07 - 25 收稿)