

· 论 著 ·

HPV L1 壳蛋白表达与宫颈上皮瘤变及 HPV 分型的关系*

梁丽霞,肖燕,高玮

(广东省深圳市南山区计划生育服务中心检验科 518052)

摘要:目的 分析 HPV L1 壳蛋白的表达与宫颈上皮病变的关系及其在 HPV 分型中的分布情况。方法 对 4 320 例妇女进行宫颈液基细胞学(LCT)和 HPV 分型检测,对 LCT \geq 无明确诊断意义的非典型鳞状上皮细胞(ASC-US)或 HPV 阳性者行 HPV L1 检测,并对 LCT \geq ASC-US 且 HPV 阳性者行阴道镜下组织病理学检查。结果 对 LCT \geq ASC-US 或 HPV 阳性者(共 401 例)进行 HPV L1 检测,HPV L1 阳性率为 34.9%(140/401)。对 LCT \geq ASC-US 且 HPV 阳性者 129 例进行组织病理学检查,LCT 与组织病理学诊断符合率为 79.2%。HPV L1 在 LCT 诊断为 ASC-US、低度鳞状上皮内病变(LSIL)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)的患者中阳性率分别为 40.2%(29/72)、69.2%(18/26)、9.0%(2/22)。386 例 HPV 感染者中,单一型别感染率居前四位的是 HPV52、58、16、18 型,其 HPV L1 阳性率分别为 53.3%、28.9%、12.2%、5.6%。结论 HPV L1 阳性率随宫颈病变级别增高呈下降趋势,LCT 联合 HPV L1 检测可为宫颈病变预后判定提供参考依据。

关键词:人乳头瘤病毒; HPV L1 壳蛋白; 宫颈上皮内病变; 基因分型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.14.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)14-1944-03

Relationship of HPV L1 capsid protein expression with cervical squamous intraepithelial lesion and HPV typing*

LIANG Lixia, XIAO Yan, GAO Wei

(Department of Clinical Laboratory, Family Planning Service Center of Nanshan District, Shenzhen, Guangdong 518052, China)

Abstract: **Objective** To analyze the relation between HPV L1 capsid protein expression with cervical squamous intraepithelial lesions and its distribution situation in HPV typing. **Methods** A total of 4 320 women were performed the liquid based cytology test(LCT) and HPV typing. The cases of LCT \geq no diagnostic sense of atypical squamous epithelial cells(ASC-US) or HPV positive were performed the HPV L1 detection. Then the cases of LCT \geq ASC-US and HPV positive were performed the colposcopic histopathological examination. **Results** A total of 401 cases of LCT \geq ASC-US or HPV positive were performed the HPV L1 detection, the HPV L1 positive rate was 34.9%(140/401). One hundred and twenty-nine cases of LCT \geq ASC-US and HPV positive were performed the histopathological examination, the coincidence rate of LCT and histopathological examination was 79.2%. The positive rates of HPV L1 in ASC-US, LSIL and HSIL by LCT were 40.2%(29/72), 69.2%(18/26) and 9.0%(2/22) respectively. Among 386 cases of HPV infection, the top 4 of single genotype infection were HPV 52, 58, 16 and 18, their HPV L1 positive rates were 53.3%, 28.9%, 12.2% and 5.6% respectively. **Conclusion** The HPV L1 positive rate shows the decreasing trend with the cervical lesion grade increase. LCT combined with HPV L1 detection can provide reference basis for judging the prognosis of cervical lesion.

Key words: HPV; HPV L1 capsid protein; cervical squamous intraepithelial lesions; genotype

流行病学和分子生物学研究已证明人乳头瘤病毒(HPV)感染是发生宫颈癌的直接原因和必要因素,但感染 HPV 的女性并不全都发展为宫颈癌或相关病变^[1]。临床研究显示 HPV 感染具有自限性,约 90% 的感染者能清除 HPV 而自愈,仅有不到 10% 的 HPV 感染者发展为明确病变^[2]。HPV 是一类对皮肤及黏膜上皮细胞具有特殊嗜性的双链环状 DNA 病毒,能合成一系列蛋白质,包括自身结构蛋白和致瘤蛋白。HPV L1 蛋白是 HPV 的主要衣壳蛋白,由 HPV DNA 的晚期基因转录区 L1 编码合成,为晚期蛋白,与病毒的增殖有关,近年来国外一些研究发现 HPV L1 蛋白具有增强机体细胞免疫应答的功能,是一个判定预后的标记物^[3-4]。本项目旨在研究 HPV L1 壳蛋白的表达与 HPV 分型及宫颈上皮病变的关系,探讨 HPV L1 壳蛋白表达在宫颈癌筛查中的作用,为宫颈病变预后判断提供参考和借鉴。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从 2015 年 1~6 月来深圳市南山区计划生育服务中心进行宫颈癌筛查的 4 320 例妇女(有性生活史、年龄在 19~65 岁)进行宫颈液基细胞学(LCT)和 HPV 分型检测,对 LCT \geq 无明确诊断意义的非典型鳞状上皮细胞(ASC-US)或 HPV 阳性者行 HPV L1 检测,并对 LCT \geq ASC-US 且 HPV 阳性者行阴道镜下组织病理学检查。

1.2 标本采集 要求筛查人员避开月经期,最好在经期过后 3~5 d,检查前 3 d 避免性生活、阴道上药和阴道冲洗,检查时先排尿。使用一次性宫颈脱落细胞采集器,将其放入宫颈口处,单方向旋转 4~5 周以获得足量的上皮细胞标本,取出后放入液基细胞保存液中。

1.3 方法

1.3.1 HPV 分型检测 通过摄取、扩增、杂交(采用 PCR-反

* 基金项目:广东省深圳市南山区卫计委科研项目(南科研卫 2014014 号)。

作者简介:梁丽霞,女,主管检验技师,主要从事临床检验研究。

向点杂交技术)、洗膜、显色和读片等步骤检测 23 种基因(高危型 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82, 低危型 HPV6、11、42、43、81、83), 检测试剂盒由亚能生物技术公司提供。

1.3.2 LCT 检测 采用深圳长海益生物科技有限公司生产的细胞保存液, 采用美国进口的 AutouCyte PRE 液基细胞系统进行制片, 采用 TBS 报告系统进行判断。

1.3.3 HPV L1 检测 试剂来源于美国爱迪旺思医疗赛泰-细胞/组织人乳头瘤染色试剂盒, HPV L1 诊断以免疫组织/细胞化学技术和非同位素标记核酸分子杂交技术为基础, 同时采用核酸水平和免疫水平双重检测人乳头瘤病毒壳蛋白(HPV L1), 仅有 1 个被染色的细胞核呈红色即可作出阳性诊断(见图 1)。

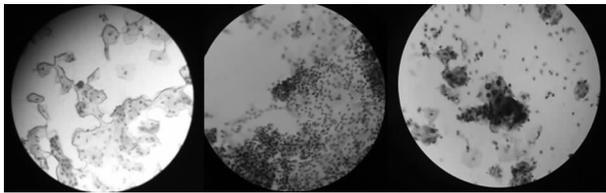


图 1 免疫细胞化学方法检测 HPV L1 壳蛋白阳性细胞(10×10)

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件包进行统计学处理, 率的比较采用 χ^2 检验, 双侧检验水平 $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV L1 壳蛋白在宫颈上皮内病变及组织病理学检查中的表达情况 4 320 例筛查人群中, 对 LCT \geq ASC-US 或 HPV 阳性者共 401 例进行 HPV L1 检查, 其中 LCT \geq ASC-US 且 HPV 阳性者 129 例, 单一 HPV 阳性者 257 例, 单一 LCT \geq ASC-US 者 15 例。LCT \geq ASC-US 且 HPV 阳性者 129 例中, ASC-US 72 例、不典型鳞状细胞不除外高度病变(ASCUS-H) 9 例、低度鳞状上皮内病变(LSIL) 26 例、高度鳞状上皮内病变(HSIL) 22 例, 其组织病理学诊断为炎症者 45 例, 宫颈上皮内瘤样病变(CIN)1~3 级者分别有 46、24、14 例, 不同组织病理学诊断结果患者中, HPV L1 阳性率分别为 37.8%(17/45)、63.0%(29/45)、12.5%(3/24)、7.1%(1/14)。根据组织病理学检查结果上、下相差一级为符合的原则, 宫颈细胞学与组织病理检查结果总符合率为 79.2%(38/48), 低度病变与高度病变的符合率分别为 73.1%与 86.3%。在 LCT 诊断为 ASC-US、LSIL、HSIL 的患者中, HPV L1 表达率分别为 40.2%(29/72)、69.2%(18/26)、9.0%(2/22), 三者间差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 1; 组织病理学结果为炎症、CIN1 级、CIN2 级、CIN3 级的患者中, HPV L1 表达率分别为 37.8%、63.0%、12.5%、7.1%, 四者间差异也有统计学意义($P<0.05$), 见表 2。

表 1 129 例不同 LCT 病变级别患者 HPV L1 表达情况[n(%)]

病变	n	HPV L1(+)	HPV L1(-)
ASC-US	72	29(40.3)	43(59.7)
ASCUS-H	9	1(11.1)	8(88.9)
LSIL	26	18(69.2)	8(30.8)
HISL	22	2(9.1)	20(90.9)
合计	129	50(38.8)	79(61.2)

表 2 129 例不同 LCT 病变级别患者的组织病理学检查及 HPV L1 表达情况(n)

病变	n	HPV L1	组织病理学				合计
			炎症	CIN1 级	CIN2 级	CIN3 级	
ASC-US	72	+	15	12	2	0	29
		-	24	10	9	0	43
ASCUS-H	9	+	0	0	0	1	1
		-	1	2	2	3	8
LSIL	26	+	2	16	0	0	18
		-	3	3	2	0	8
HISL	22	+	0	1	1	0	2
		-	0	2	8	10	20
合计	129		45	46	24	14	129

2.2 HPV L1 蛋白在 HPV 不同亚型之间的表达情况 4 320 例筛查人群中, HPV 阳性 386 例, 感染率为 8.94%, 单一型别感染 311 例, 占 80.6%(311/386), 合并感染 75 例, 占 19.4%(75/386)。单一型别感染中, 感染率居前四位的亚型是 HPV52、58、16、18 型, 共 269 例, 占 69.7%。HPV L1 壳蛋白在上述 4 种亚型中的表达情况见表 3。HPV52、58、16、18 型感染者中, HPV L1 阳性者共有 90 例, 阳性率为 33.4%(90/269); HPV16、18 型的 HPV L1 阳性率明显低于 HPV52、58 型($P<0.05$), 提示 HPV16、18 型感染者宫颈恶性病变的倾向性更强。

表 3 HPV52、58、16、18 型感染者中 HPV L1 的分布[n(%)]

HPV 亚型	n	HPV L1(+)	HPV L1(-)
52 型	134	48(35.8)	86(64.2)
58 型	60	26(43.3)	34(56.7)
16 型	51	11(21.6)	40(78.4)
18 型	24	5(20.8)	19(79.2)
合计	269	90(33.4)	179(66.6)

3 讨 论

高危型 HPV 感染是宫颈癌的主要致病因素。宫颈 HPV 感染是普遍存在的, 但大多数可以自愈, 有文献报道, 约 60% 的 HPV 感染可以在 1 年内被自身免疫系统清除, 90% 可以在 3 年内被清除^[5]。HPV L1 壳蛋白为 HPV 的主要壳蛋白, 是生产 HPV 疫苗的主要抗原, HPV L1 壳蛋白表达与 HPV 的早期复制和感染密切相关, 但在病毒整合到宿主 DNA 上以后逐渐消失, 而 HPV 整合到宿主 DNA 上是引发宫颈恶性病变的重要环节^[6]。

129 例 LCT \geq ASC-US 且 HPV 阳性患者的 HPV L1 阳性率在 ASC-US、ASCUS-H、LSIL、HSIL 分别为 40.3%、11.1%、69.2%、9.1%; 其对应的组织病理学中的阳性率在炎症、CIN1 级、CIN2 级、CIN3 级分别为 37.8%、63.0%、12.5%、7.1%, 同样显示 HPV L1 的阳性率随着病变级别的升高呈下降趋势。这与国内张佳立等^[7]研究结果相符合。表明体内有 HPV L1 的存在, 病变有被自身免疫清除的可能, 对于存在 ASC-US、LSIL 等宫颈病变而 HPV L1 呈阳性的患者, 是否可以暂不做创伤性的检查与过度治疗, 而作为跟踪(下转第 1948 页)

细菌感染的理想指标^[10-11]。由于 3 个指标的特异度都不是很高(分别为 0.825、0.525 和 0.629),因此单独用于早期诊断血流感染仍有一定缺陷。为了提高对 ICU 患者血流感染早期诊断的特异度,本研究通过 3 个指标不同组合方式联合检测,发现特异度有较大的提高,尤其是三者联合检测更突出。当同时满足 PCT \geq 0.405 0 ng/mL、CRP \geq 3.440 0 mg/L 和 DD \geq 2 083.90 ng/mL 时,其诊断的特异度为 0.971,阳性似然比为 14.55,阳性预测值为 0.964 3。与汤瑾等^[12]报道的 PCT $>$ 0.307 ng/mL 且 CRP $>$ 48.35 ng/mL 能提高血流感染诊断的敏感性,PCT $>$ 0.307 ng/mL 或 CRP $>$ 48.35 ng/mL 能提高血流感染诊断的特异性的研究结论不一致。

综上所述,PCT、CRP 和 DD 联合检测在早期诊断 ICU 患者血流感染中,具有较高的敏感性和特异性,对临床及早诊治、挽救生命具有重要的临床意义。本文仅局限于 ICU 患者血流感染早期临床诊断的研究,未作疗效方面的观察,因此未对 3 个指标进行动态监测,这有待于进一步研究。

参考文献

[1] Schultz MJ, Determann RM. PCT and Strem-1: the markers of infection in critically ill patients[J]. Med Sci Monit, 2008, 4(12): RA241-RA247.
 [2] Marshall JC, Reinhart K, International SF. Biomarkers of sepsis[J]. Crit Care Med, 2009, 37(7): 2290-2298.
 [3] Snijders D, Schoorl M, Et A. D-dimer levels in assessing severity and clinical outcome in patients with community-acquired pneumonia[J]. Eur J Intern Med, 2012, 23(5): 436-441.
 [4] 刘息平, 芦嘉, 陈雪琴. 血清降钙素原在危重患者细菌感染

染检测中的应用[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 10(3): 29-31.
 [5] Sponholz C, Sakr Y, Reinhart K, et al. Diagnostic value and prognostic implications of serum procalcitonin after cardiac surgery: a systematic review of the literature[J]. Crit Care, 2006, 10(5): R145.
 [6] 吴熙, 于学忠. 降钙素原[J]. 中国医学科学院学报, 2008, 30(2): 231-235.
 [7] 张涛, 周虹, 王用金, 等. 降钙素原在急诊抗感染中的诊断意义[J]. 中华急诊医学杂志, 2010, 19(5): 556-558.
 [8] 白春洋, 魏丹丹. 颅内感染患儿脑脊液中肿瘤坏死因子- α 及 C-反应蛋白水平的检测及其临床意义[J]. 中国医师杂志, 2012, 14(9): 1274-1275.
 [9] 齐英征, 多力坤·木扎帕尔. 降钙素原和 D-二聚体对全身炎症反应综合征患儿病情预后的判断价值[J]. 中国当代儿科杂志, 2014, 16(4): 384-388.
 [10] Pourakbari B, Mamishi S, Zafari J, et al. Evaluation of procalcitonin and neopterin level in serum of patients with acute bacterial infection[J]. Braz J Infect Dis, 2010, 14(3): 252-255.
 [11] 张宗新. 降钙素原在细菌感染性疾病诊断中的应用探讨[J]. 检验医学, 2006, 21(2): 117-119.
 [12] 汤瑾, 许静, 王坚疆, 等. 降钙素原联合 C 反应蛋白检测在血流感染早期临床诊断的应用[J]. 检验医学, 2013, 28(8): 662-665.

(收稿日期: 2016-01-17 修回日期: 2016-03-18)

(上接第 1945 页)

随访的对象,为探讨宫颈癌筛查的手段提供更合理的建议。

在 386 例 HPV 阳性人群中,单一型别 HPV 感染居前四位的是 HPV52、58、16、18 型,共 269 例,占 69.7%(269/386),4 种亚型单一感染例数分别为 134、60、51、24 例,HPV52、58 亚型的感染例数明显高于 HPV16、18 型,这与国内其地方报道 HPV16 型感染最多不符,这可能与 HPV 区域性感染不—有关;其对应 HPV L1 阳性表达率分别为 53.3%、28.9%、12.2%、5.6%。HPV52、58 型感染者中 HPV L1 阳性率明显高于 HPV16、18 型。HPV16、18 型导致宫颈恶性病变的倾向高于 HPV52、58 型,这与国内报道相符^[8]。

综上所述,HPV L1 检测联合 LCT 和 HPV 分型不仅能了解机体 HPV 的感染状态,还能了解机体的免疫状态。HPV L1 的阳性率都随病变级别的增加而呈下降趋势,提示 HPV L1 的表达有重要的预测价值;而且检测宫颈病变脱落细胞中 HPV L1 蛋白不需重新取材,可直接在 LCT 涂片上染色,操作简单,敏感性高,稳定性好,有望成为预测宫颈病变程度及恶性进展趋势的生物学标志物。

参考文献

[1] 郎景和. 妇科手术笔记[M]. 北京:中国科学技术出版社, 2001.
 [2] Nobbenuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, et al. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a

prospective study[J]. Lancet, 1999, 354(9172): 20-25.
 [3] Mehlhorn G, Obermann E, Negri G, et al. HPV L1 detection discriminates cervical precancer from transient HPV infection: a prospective international multicenter study[J]. Mod Pathol, 2013, 26(7): 967-974.
 [4] Xiao W, Bian ML, Ma L, et al. Immunochemical analysis of human papillomavirus L1 capsid protein in Liquid-Based cytology samples from cervical lesions[J]. Acta Cytol, 2010, 54(5): 661-667.
 [5] Forcier M, Musacchio N. An overview of human papillomavirus infection for the dermatologist: disease, diagnosis, management, and prevention [J]. Dermatol Ther, 2010, 23(5): 458-476.
 [6] Melsheimer P, Kaul S, Dobeck S, et al. Immunocytochemical detection of HPV high-risk type L1 capsid proteins in LSIL and HSIL as compared with detection of HPV L1 DNA[J]. Acta Cytol, 2003, 47(2): 124-128.
 [7] 张佳立, 郜红艺, 张江宇, 等. 宫颈液基细胞 HPV L1 壳蛋白表达的临床意义[J]. 诊断病理学杂志, 2010, 17(6): 456-459.
 [8] 彭雅亚, 许淑媛, 金霞, 等. 宫颈上皮内瘤变和宫颈癌与 HPV16、18 关系的研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2010, 17(1): 48-49.

(收稿日期: 2016-01-20 修回日期: 2016-04-11)