

人乳头瘤病毒 E7 蛋白检测在细胞学子宫颈意义不明的非典型鳞状细胞患者分流中的意义



扫码阅读电子版

戴凌¹ 邓伟²¹南京医科大学附属苏州科技城医院妇产科 215153; ²南京中医药大学附属昆山医院病理科 215300

通信作者:戴凌, Email: dailing9530@sina.com

【摘要】 目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)E7蛋白检测在细胞学子宫颈意义不明的非典型鳞状细胞(ASCUS)患者分流中的意义。**方法** 收集2018年3月至12月就诊于南京中医药大学附属昆山医院液基薄层细胞学(TCT)检查结果为ASCUS的205例患者资料。以细胞免疫化学方法对TCT检测后剩余标本行子宫颈脱落细胞HPV E7蛋白检测,并行阴道镜检查及子宫颈活组织病理检查,以组织病理学检查结果为金标准,分析HPV E7蛋白细胞学检测诊断子宫颈病变的效能。**结果** 205例患者中,子宫颈活组织病理学检查为炎症144例(70.24%)、低度鳞状上皮内病变(LSIL)32例(15.61%)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)29例(14.15%)。炎症、LSIL、HSIL患者子宫颈脱落细胞HPV E7蛋白的阳性率分别为10.42%(15/144)、75.00%(24/32)、86.21%(25/29),差异有统计学意义($\chi^2=97.940, P<0.01$)。HPV E7蛋白诊断ASCUS LSIL及以上病变的敏感度和特异度分别为80.33%(49/61)和89.58%(129/144)。**结论** HPV E7蛋白检测可以较好分流细胞学ASCUS患者,减少不必要的阴道镜及活组织检查,及时发现潜在的高级别病变,避免高危患者漏诊。

【关键词】 宫颈疾病; 乳头瘤病毒,E7蛋白质类; 薄层细胞学检测; 意义不明的非典型鳞状细胞; 低度鳞状上皮内病变; 高度鳞状上皮内病变

基金项目:东吴科技创业创新领军人才计划(WC201827)

DOI:10.3760/cma.j.cn115355-20191028-00490

Significance of human papillomavirus E7 protein testing in triaging patients with cytological cervical atypical squamous cells of undetermined significance

Dai Ling¹, Deng Wei²¹Department of Obstetrics and Gynecology, the Affiliated Suzhou Science & Technology Town Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou 215153, China; ²Department of Pathology, Kunshan Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Kunshan 215300, China

Corresponding author: Dai Ling, Email: dailing9530@sina.com

【Abstract】 Objective To explore the significance of human papillomavirus (HPV) E7 protein testing in triaging patients with cytological cervical atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS). **Methods** The data of 205 ASCUS patients confirmed by liquid-based thin-layer cytology technique (TCT) detection in Kunshan Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine from March to December 2018 was collected. The HPV E7 protein in cervical exfoliated cells was tested by cellular immunocytochemistry in the remaining specimens after TCT detection, and the colposcopy and cervical biopsy pathological examination were performed. The results of histopathological examination were used as the gold standard to analyze the efficacy of HPV E7 protein cytology testing in diagnosis of cervical lesions. **Results** Among the 205 patients, cervical biopsy histopathological diagnosis revealed 144 cases (70.24%) of cervicitis, 32 cases (15.61%) of low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL), and 29 cases (14.15%) of high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL). The positive rates of HPV E7 protein in cervical exfoliated cells of patients with cervicitis, LSIL and HSIL were 10.42% (15/144), 75.00% (24/32) and 86.21% (25/29), respectively, the

difference was statistically significant ($\chi^2 = 97.940$, $P < 0.01$). The sensitivity and specificity of HPV E7 protein in the diagnosis of ASCUS LSIL and above lesions were 80.33% (49/61) and 89.58% (129/144), respectively. **Conclusion** HPV E7 protein testing can better triage patients with cytological ASCUS, reduce unnecessary colposcopy and biopsy, find potential high-grade lesions in time, and avoid misdiagnosis of high-risk patients.

[Key words] Uterine cervical diseases; Papillomavirus, E7 proteins; Thin-layer cytology testing; Atypical squamous cells of undetermined significance; Low-grade squamous intraepithelial lesions; High-grade squamous intraepithelial lesions

Fund program: Science and Technology Entrepreneurship and Innovation Leading Talents Program in Soochow (WC201827)

DOI: 10.3760/ema.j.cn115355-20191028-00490

子宫颈癌发病率居女性恶性肿瘤第 2 位^[1]。自子宫颈细胞学检查广泛应用于子宫颈癌筛查以来,子宫颈癌的发病率与死亡率都有明显下降^[2-4]。但据其诊断为子宫颈意义不明的非典型鳞状细胞(ASCUS)患者因病情较轻,临床对其重视不足,所以对这部分患者缺乏有效的管理方法。据统计,ASCUS 患者中 5%~10% 有发生严重子宫颈癌前病变的可能,治疗不及时可进展为子宫颈癌^[5-6]。高危型人乳头瘤病毒(HPV)感染是诱发子宫颈癌的重要因素,而子宫颈细胞中 HPV E7 蛋白的表达是发生病变的特异性指标^[7-9]。本研究对 205 例 ASCUS 患者进行 HPV E7 蛋白细胞学检测,探讨其在 ASCUS 分流管理中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

入选标准:液基薄层细胞学(TCT)诊断为 ASCUS,且接受阴道镜下活组织检查。排除标准:既往接受过治疗的上皮不典型增生(CIN)或子宫颈癌患者,TCT 剩余液中细胞量过少者。选取 2018 年 3 月至 12 月在南京中医药大学附属昆山医院就诊的 TCT 诊断为 ASCUS 患者 205 例。患者年龄 18~71 岁,平均年龄 43.14 岁。所有患者均签署知情同意书。本研究符合 2013 年修订的《赫尔辛基宣言》。

1.2 检测方法

1.2.1 TCT 检测

患者在经期结束后取材,取材前 24 h 禁止性生活,将专用子宫颈刷在子宫颈外口沿同一方向旋转 5 圈,将获取的子宫颈分泌物及脱落细胞置入细胞保存液中。使用 ThinPrep2000 系统进行细胞学玻片的制备。样本用消化液(冰醋酸:清洗液为 1:9)进行前处理,使用 ThinPrep 制片机(美国 Hologic 公司)进行程序化制片后,进行固定染色。根据 Bethesda 子宫颈细胞学报告系统(TBS)报告结果。

1.2.2 阴道镜检查与活组织病理检查

依据阴道镜操作规范,在阴道镜下所见病变最严重处取活组织检查,如未见异常则于子宫颈 4 个象限转化区内行多点活组织检查,鳞柱交界完全不可见者行子宫颈搔刮术(ECC)。所有病理标本由病理医师进行阅片并做出病理诊断。

1.2.3 HPV E7 蛋白检测

将 TCT 检测后剩余标本进行 HPV E7 蛋白检测,使用苏州艾托金生物医药有限公司生产的高危型 HPV E7 蛋白检测试剂盒对样本进行染色处理,操作步骤按试剂盒说明书进行。根据说明书的阳性判读标准报告结果。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。组间计数资料比较采用 χ^2 检验。以组织病理诊断为金标准[低度鳞状上皮内病变(LSIL)及以上为阳性,炎症为阴性],分析 HPV E7 蛋白检测诊断子宫颈病变的效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 活组织病理检查结果

205 例 ASCUS 患者阴道镜下子宫颈活组织病理结果:炎症 144 例(70.24%),LSIL 32 例(15.61%),高度鳞状上皮内病变(HSIL)29 例(14.15%)。

2.2 HPV E7 蛋白检测结果

ASCUS 患者炎症、LSIL、HSIL 中 HPV E7 蛋白的阳性率分别为 10.42% (15/144)、75.00% (24/32)、86.21% (25/29),差异有统计学意义($\chi^2 = 97.940$, $P < 0.01$)。提示 HPV E7 蛋白的阳性率随着子宫颈病变病理级别的进展而升高。

2.3 HPV E7 蛋白诊断子宫颈低级别病变效能

以组织病理诊断结果为金标准,HPV E7 蛋白检

测诊断子宫颈鳞状上皮内病变的敏感度为 80.33% (49/61), 特异度为 89.58% (129/144), 阳性预测值为 76.56%, 阴性预测值为 91.49% (表 1)。

表 1 细胞学检测子宫颈意义不明的非典型鳞状细胞 (ASCUS) 患者人乳头瘤病毒 (HPV) E7 蛋白检测与病理诊断结果 (例)

HPV E7 蛋白检测	病理诊断		合计
	阳性	阴性	
阳性	49	15	64
阴性	12	129	141
合计	61	144	205

注:病理诊断中,低度鳞状上皮内病变及以上为阳性,炎症为阴性

3 讨论

HPV 与子宫颈癌发生发展关系密切,是所有子宫颈鳞状细胞癌 (SCC) 和大部分子宫颈腺癌的致癌病原体。虽然 HPV 感染的人群比例很大,但 HPV 感染不等于子宫颈癌,一过性的阳性携带者中 80% 以上在 6~12 个月内会自然清除,只有很少一部分会进展到子宫颈病变或癌症,因此仅针对 HPV 核酸的检测技术往往表现出低特异性的特点^[10]。持续性的高危型 HPV 感染,使病毒基因得以整合到人体细胞基因组内,启动病毒致癌基因 E6、E7 蛋白表达。E6、E7 蛋白被证明是驱动子宫颈癌发展的主要致癌因子。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 p16、Ki67 等在内的众多相关基因的表达,使子宫颈上皮细胞的细胞周期发生紊乱^[11-14]。因此检测 E7 蛋白不仅反映 HPV 感染,更能反映持续感染的状态和病变活跃程度。目前临床应用 HPV 分型检测或 HPV E6/E7 联合 TCT 筛查子宫颈病变被广泛应用,HPV 分型检测是 DNA 和 mRNA 水平,检测价格昂贵,对实验条件要求高,而本研究采用细胞免疫化学检测 HPV E7 蛋白,更适于经济欠发达地区使用。

子宫颈细胞学检查是筛查子宫颈癌及癌前病变的常用方法,其中报告 ASCUS 的比例各单位相差很大,ASCUS 的病理细胞学表现为鳞状上皮细胞有异常增生,但还达不到非典型增生等诊断标准。据资料显示,20%~30% 会发展为非典型增生,少部分会发展成子宫颈癌^[8]。本研究结果提示细胞学检查结果为 ASCUS 的病理结果包含了从炎症到 HSIL 的各阶段,且由于样本制片质量及病理医生的诊断水平的差异,

病理结果存在很大程度差异。鉴于此,临床上对 ASCUS 患者的处理需谨慎,这部分患者最容易导致子宫颈病变的漏诊或过度治疗。

本研究选取 TCT 检测为 ASCUS 的患者,采用细胞免疫化学方法,发现 HPV E7 蛋白检测对子宫颈 LSIL 及以上病变的检出敏感度为 80.33%,特异度为 89.58%。有报道将 HPV 核酸检测用做细胞学 ASCUS 患者的分流,但由于目前 HPV 核酸检测技术普遍表现出低特异度的特点^[15],并未显示很好的效果。传统的液基细胞学技术关注的子宫颈上皮细胞是否已经进展为高级别病变,其筛查时机往往过晚,部分女性易错过最佳的筛查和预防时机;而使用 HPV 核酸检测技术进行筛查,关注的是 HPV 核酸携带情况,导致许多一过性感染的女性进行进一步的检测,造成过度诊疗及医疗资源的浪费。对细胞学检测为 ASCUS 的患者进行 HPV E7 蛋白检测,E7 蛋白阳性则提示肿瘤细胞发生发展及为异常增殖状态,E7 蛋白阴性则提示患者一过性感染及转归的可能性。将 HPV E7 蛋白检测与传统细胞学筛查结合起来,对提高子宫颈癌前病变诊断的敏感度和特异度,对诊断、鉴别和筛查癌变具有重要的作用和意义。

综上所述,HPV E7 蛋白检测有望使 ASCUS 患者的分流管理更加科学,它在降低 ASCUS 患者阴道镜转诊率的同时,可以有效识别出 LSIL 及以上病变,提高诊断的准确性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhou YH, Fan WF, Deng J, et al. Establishment and analysis of the prediction model for cervical squamous cell carcinoma [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21 (22): 5042-5048. DOI:10.26355/eurrev_201711_13816.
- [2] Shi WJ, Liu H, Wu D, et al. E6/E7 proteins are potential markers for the screening and diagnosis of cervical pre-cancerous lesions and cervical cancer in a Chinese population [J]. Oncol Lett, 2017, 14 (5): 6251-6258. DOI:10.3892/ol.2017.6932.
- [3] You W, Li S, Du R, et al. Epidemiological study of high-risk human papillomavirus infection in subjects with abnormal cytological findings in cervical cancer screening [J]. Exp Ther Med, 2018, 15 (1): 412-418. DOI:10.3892/etm.2017.5357.
- [4] Ki EY, Lee YK, Lee A, et al. Comparison of the PANArray HPV genotyping chip test with the Cobas 4800 HPV and Hybrid Capture 2 tests for detection of HPV in ASCUS women [J]. Yonsei Med J, 2018, 59 (5): 662-668. DOI:10.3349/ymj.2018.59.5.662.
- [5] Xu L, Verdoodt F, Wentzensen N, et al. Triage of ASC-H: a meta-analysis of the accuracy of high-risk HPV testing and other markers to detect cervical precancer [J]. Cancer Cytopathol, 2016, 124 (4): 261-272. DOI:10.1002/ency.21661.

- [6] White C, Bakhiet S, Bates M, et al. Triage of LSIL/ASC-US with p16/Ki-67 dual staining and human papillomavirus testing: a 2-year prospective study [J]. *Cytopathology*, 2016, 27 (4): 269-276. DOI:10.1111/cyt.12317.
- [7] Austin RM. Technology matters: the clinical utility of HPV mRNA testing compared to DNA testing [J]. *Contemporary OB/GYN*, 2018, 63 (8): 1-7.
- [8] Thomas RJ, Oleinik N, Panneer SS, et al. HPV/E7 induces chemotherapy-mediated tumor suppression by ceramide-dependent mitophagy [J]. *EMBO Mol Med*, 2017, 9 (8): 1030-1051. DOI: 10.15252/emmm.201607088.
- [9] Metzger C, Pittl A, Kaufmann AM, et al. A New Sandwich ELISA test simultaneously detecting E7 proteins of HPV-16, 18 and 45 in cervical smears [J]. *J Clin Microbiol*, 2016, 5 (5): 1-6. DOI: 10.4172/2327-5073.1000260.
- [10] Wang Q, Zhu CY, Chen LM, et al. Clinical value of human papillomavirus E6/E7 mRNA testing in patients with atypical squamous cells of undetermined significance and low-grade squamous intraepithelial lesion [J]. *Reprod Dev Med*, 2018, 2 (3): 157-161.
- [11] Zhang JJ, Cao XC, Zheng XY, et al. Feasibility study of a human papillomavirus E6 and E7 oncoprotein test for the diagnosis of cervical precancer and cancer [J]. *J Int Med Res*, 2018, 46 (3): 1033-1042. DOI:10.1177/0300060517736913.
- [12] Deshpande R, Mansara P, Kaul-Ghanekar R. Alpha-linolenic acid regulates Cox2/VEGF/MAP kinase pathway and decreases the expression of HPV oncoproteins E6/E7 through restoration of p53 and Rb expression in human cervical cancer cell lines [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37 (3): 3295-3305. DOI:10.1007/s13277-015-4170-z.
- [13] Chen CC, Huang LW, Bai CH, et al. Predictive value of p16/Ki-67 immunocytochemistry for triage of women with abnormal Papanicolaou test in cervical cancer screening: a systematic review and meta-analysis [J]. *Ann Saudi Med*, 2016, 36 (4): 245-251. DOI: 10.5144/0256-4947.2016.245.
- [14] 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/jert.JCRT_56_17.
- [15] Wentzensen N, Schiffman M, Palmer T, et al. Triage of HPV positive women in cervical cancer screening [J]. *J Clin Virol*, 2016, 76 Suppl 1: S49-49S55. DOI:10.1016/j.jcv.2015.11.015.

(收稿日期:2019-10-28)

(本文编辑:吕晶丽 校对:周薇)

·启事·

寻找最美“逆行者”公益宣传活动启动

——医药卫生期刊行业面向社会征集最美“逆行者”医疗卫生行业摄影图片及优秀科普作品

2019年底,一场突如其来的疫情席卷了中华大地,牵动着每一个家庭,牵动了整个社会。面对疫情,全国人民展现了万众一心,众志成城的抗击疫情精神。在习近平总书记的领导下,全国医疗机构,广大医务工作者,闻令即动,全面投入到抗击疫情的战斗中。在国家卫健委统筹安排下,4.26万余名医护人员舍生忘死赴鄂开展医疗救治工作,为打赢这场看不见硝烟的疫情战,作出了杰出贡献。疫情期间,全国广大医护人员勇于担当、科学救治的职业精神感动了全国人民,令世界瞩目。这场战役留下了太多让我们动容的瞬间,同时也涌现出了一批高质量、传播度广的优秀科普作品。为更好地宣传医护人员在抗击新冠肺炎疫情中的重要作用与非凡表现,记录感人瞬间,宣传推广科普成果。由中国期刊协会医药卫生期刊分会联合多家行业期刊单位共同发起最美“逆行者”医疗卫生行业摄影图片优秀科普作品征集公益活动。

本次公益宣传活动是在中国健康教育中心与中国期刊协会的指导下,由中国期刊协会医药卫生期刊分会、中国高校科技期刊研究会医学期刊专委会、中国卫生科教音像出版社、北京圆心科技有限公司(妙手医生)等单位联合发起的,联合参与本次活动的国内医药卫生期刊已达100余家。本次公益宣传活动展示主体为抗击新冠肺炎疫情的全国医护人员,重点反映在“战疫”过程中的行动与成果。希望通过征集图片和科普作品活动留住最美“逆行者”们奋战的镜头、大爱的瞬间,并广泛宣传,向每一位平凡英雄致敬。活动4月底已正式启动面向广大医护人员的在线作品征集,参与人员通过主办方专属H5平台(详见底部二维码)在线报名,同时将作品以电子版的形式发送到动组委邮箱:yywskfh@126.com。作品提交截止日期为5月31日。在此期间,主办方还将通过大众点赞平台为优秀作品献花助力,表达对“逆行者”的敬意。两个线上排行榜(图片、科普作品)鲜花数排名前三位的作品都将获得由主办方提供的“心愿礼包”(分别价值3000元、2000元、1000元);参与在线为作品送鲜花点赞的人员也将通过抽奖的形式获取点赞福利。活动期间,主办方还将邀请行业专家共同组建评审委员会,对提交的相关作品进行审核,并结合大众点赞结果推荐优秀作品在医学期刊及媒体合作单位进行广泛宣传和推广。预计在6~7月开启全方位宣传。



中国期刊协会医药卫生期刊分会
中国高校科技期刊研究会医学期刊专委会
中国卫生科教音像出版社