

TCT 联合 HC-II HPV 筛查宫颈病变及药物干预的方法

李科珍¹, 李伟², 庄亮², 曹阳², 王薇¹, 马全富², 卢运萍², 马丁²

Combining TCT and HC-II HPV to Screen Cervical Lesions and Drug Intervention Methods
LI Ke-zhen¹, LI Wei², ZHUANG Liang², CAO Yang², WANG Wei¹, MA Quan-Fu², LU Yur-Ping², MA Ding²

1. Department of Gynecology and Obstetrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2. Molecular Cancer Center

Corresponding Author: MA Ding, E-mail: dma@tjh.tjmu.edu.cn

Abstract Objective To approach the screening efficacy of the combination of thinprep cytological test (TCT) and hybrid capture (HC-II) HPV for cervical lesions and the drug-intervention methods.

Methods From April 2004 to August 2005, TCT and HC-II were applied to screen cervical lesions in 17320 cases. And the pathologic results after cervix biopsies were considered as standard to verify the screening efficiency; the absorbable and sustained-release fluorouracil (Fu) medicine membranes were used as intervening treatment to eligible cases. **Results** 1754 cases with abnormal results were detected by TCT, and 450 positive samples by HC-II HPV. 172 high-risk HPV cases were detected by HC-II HPV from 431 cases without infection of HPV proved by TCT. The sensitivity and specificity of screening by TCT or TCT combined with HC-II HPV for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) II and above are 81.12%, 89.65% and 72.08%, 97.99%. After treated with the absorbable and sustained-release Fu medicine membranes, the descending extent of viral loading dose and negative rate and relief rate of 25 CIN I cases were obviously superior to control group. The disparity is conspicuous for statistics significance ($P < 0.05$). **Conclusion** The combination of TCT and HC-II HPV are able to enhance the specific detection rate of CIN II and above. And it is able to decrease the loading dose of HPV or even get rid of it by the absorbable and sustained-release 5-Fu medicine membranes for CIN I cases.

Key words: Cervix cancer; Human papilloma virus; Screening; 5-Fu; Sustained-release medicine membranes

摘要:目的 探讨应用液基薄层宫颈刷片细胞学检测(Thinprep cytological test, TCT)及杂交捕获二代(Hybrid capture, HC-II)人乳头瘤病毒(Human papilloma virus, HPV)分型检测筛查宫颈病变的意义和对高危病例进行药物干预的方法。方法 2004年4月~2005年8月,采用TCT和HPV DNA分型检测对17320例患者进行宫颈病变的筛查,并以病理组织学活检为标准来验证筛查结果,同时应用氟尿嘧啶(5-Fu)可吸收缓释药膜对适宜病例进行局部干预治疗。结果 TCT结果异常者1754例,其中高危型HPV-DNA阳性450例;431例TCT提示无HPV感染病例中有172例高危型HPV-DNA阳性;TCT或TCT联合HC-II HPV筛查宫颈上皮内瘤样病变(Cervical intraepithelial neoplasia, CIN) II级及以上病变的敏感性和特异性分别为81.12%、89.65%和72.08%、97.99%;采用5-Fu可吸收缓释药膜治疗25例CIN I级HPV高危型感染患者后,其病毒负荷量下降幅度、转阴率和病理逆转率均明显高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 TCT和HPV分型检测联合应用于宫颈病变筛查可提高CIN I级及以上病变的特异性检出;5-Fu可吸收缓释药膜治疗CIN I级HPV高危型感染患者可降低其

病毒负荷量,甚至清除。

关键词: 宫颈癌;人乳头状瘤病毒;筛查;氟尿嘧啶;缓释药膜

中图分类号: R978.7;R711.74;R737.33

文献标识码: A

文章编号: 1000-8578(2007)12-0968-03

收稿日期:2007-03-06;修回日期:2007-05-11
基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271358)
作者单位:1. 430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院妇产科;2. 肿瘤生物医学中心
通讯作者:马丁, E-mail: dma@tjh.tjmu.edu.cn
作者简介:李科珍(1980-),女,硕士,主治医师,主要从事妇科肿瘤综合治疗

0 引言

随着宫颈癌各种筛查方法和技术的发展,越来越多以大规模人群为基础的流行病学资料显示,人乳头状瘤病毒(Human papilloma virus, HPV),尤其是高危型 HPV 感染是发生宫颈癌的主要风险因素^[1]。因此,将液基薄层宫颈刷片细胞学检查(Thinprep cytological test, TCT)和杂交捕获二代(hybrid capture, HC-) HPV 分型检测联合起来应用于宫颈癌及癌前病变的筛查,并对在人群中检出病变的妇女进行治疗,为最有效的预防宫颈癌的工具之一^[2]。本研究筛查 2004 年 4 月~2005 年 8 月于我院门诊就诊的宫颈病变患者,并进行了氟尿嘧啶(5-Fu)可吸收缓释药膜的探索性治疗,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2004 年 4 月~2005 年 8 月同济医院妇产科门诊因宫颈病变行液基薄层细胞学检测的患者共 17 320 例,年龄 18~77 岁,平均发病年龄为 34.3 岁。

1.2 筛查方法

在初诊时,对于发现宫颈糜烂、尖锐湿疣、接触性出血、白带增多久治不愈及要求查体者行液基薄层细胞学检测检查。

采用美国 Digene 公司提供的 HC- HPV-DNA 分型检测试剂盒检测 HPV-DNA 含量。检测探针可检测 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV56、HPV58、HPV59、HPV68。HPV 阳性的判断标准定为: HPV-DNA 含量为检测样本的相对光单位(relative light unit, RLU)/标准阳性对照的 RLU 1.0,相当于标本中检出的 HPV 负荷量 1.0 pg/ml,即诊断为高危型 HPV 阳性。

发现 TCT 结果异常者在阴道镜下取活检 862 例,并做出病理组织学诊断。所有宫颈病变的诊断均以阴道镜下多点活检的组织病理学检查结果为诊断的金标准,评估筛查的敏感性和特异性。

1.3 药物干预方法

1.3.1 治疗对象 对合并有细胞学异常和 HPV 高危型阳性,且病理组织学诊断提示宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN) II 及其以上的患者行 LEEP 刀或子宫切除等其他治疗;对于细胞学异常和 HPV 高危型阳性,但病理组织学诊断提示 CIN I 的患者进行随访,于 6 个月时复查 HPV 高危型,在未自然转阴的组群中选取 50 例 CIN 级的患者进行随机分组处理。治疗组:25 例采用 5-Fu 药膜按正规疗程治疗 6 个月;对照组:

25 例未采用干预治疗。所有病例在治疗及观察期间均遵医嘱避免直接性接触,均于分组后第 1、2、3、6 月复查高危型 HPV-DNA 负荷量,第 6 个月进行阴道镜下多点活检。

1.3.2 药物选择 5-Fu 可吸收缓释药膜(中国发明专利:ZL 90 100300X)。材料:明胶(黏度在 20%以上,含杂质低,符合《中华人民共和国药典》要求);5-Fu 水剂(每 10 ml 含 0.25 g)。制备方法:称取一定量明胶,浸泡 12 h,待完全溶解后加药剂,加甘油,经干烤机定型烤干,装袋,灭菌后备用。每片含 5-Fu 12.5 mg,厚度为 0.1 mm,大小为 1 × 1 cm。

1.3.3 治疗方法 患者于月经干净后来院治疗。取膀胱截石位,擦净宫颈分泌物,用长镊将药膜贴在宫颈处。该药膜在体温下会自然粘在组织上,每周 2 次为 1 个疗程,每月进行 1 个疗程的治疗,持续 3 个月。

1.4 统计学方法

应用 SPSS11.5 统计软件,进行 ² 检验和配对 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 宫颈细胞学诊断的结果

在 TCT 筛查的 17 320 例中,发现异常细胞者 1 754 例(异常细胞发现率为 10.13%)。其中,未能明确诊断意义的不典型鳞状细胞(atypical squamous cell of undetermined signification, ASCUS) 459 例;未能明确诊断意义的不典型腺细胞(atypical glandular cell of undetermined signification, AGCUS) 6 例;低度鳞状上皮内病变(low grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) 1 218 例;高度鳞状上皮内病变(high grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) 68 例;鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC) 4 例。

2.2 高危型 HPV-DNA 检测结果

对 TCT 筛查发现异常细胞的 1 754 例标本均进行高危型 HPV-DNA 检测,发现阳性标本 450 例(450/1 754)。

2.3 TCT 提示无 HPV 感染的病例中高危型 HPV 感染检出情况

在 431 例 TCT 提示无 HPV 感染的病例中,共有 172 例被 HC- HPV 检测感染高危型 HPV,见表 1。

2.4 宫颈细胞学检查和高危型 HPV-DNA 检测的联合应用对宫颈病变的筛查效率

结合病理组织学诊断,分别以 TCT 结果、TCT 结果联合高危型 HPV-DNA 阳性来筛查 CIN 及其以上的敏感性、特异性,见表 2。



表1 TCT提示无 HPV感染病例中
高危型 HPV感染检出情况

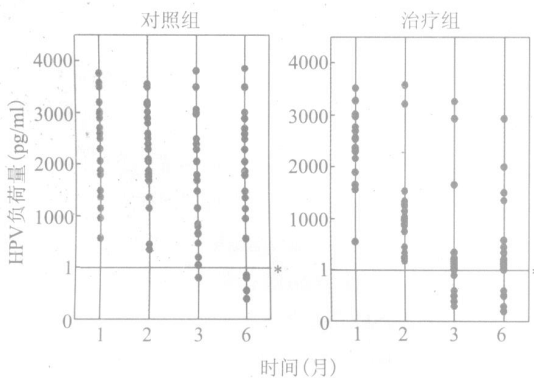
TCT	HPV		
	阳性	阴性	阳性检出率(%)
ASCUS/ AGCUS	42	158	21.00
LSIL	124	100	55.36
HSIL	6	1	85.71
SCC	0	0	0.00
合计	172	259	39.9

表2 TCT及 TCT联合高危型 HPV-DNA 筛查
CIN 及以上病变的敏感性、特异性

检查方法	敏感性	特异性
TCT	81.12 %	89.65 %
TCT + HPV-DNA	72.08 %	97.99 %

2.5 宫颈 HPV 高危型感染的药物治疗

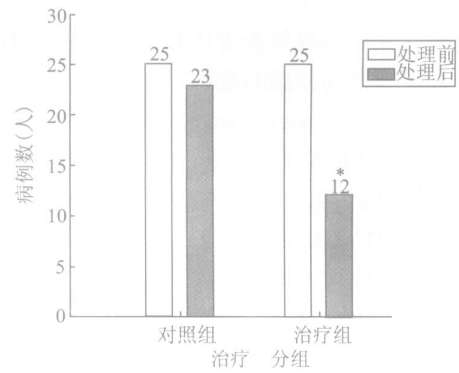
2.5.1 对于 25 例 6 个月未自然转阴的高危型 HPV 阳性患者,进行 5-Fu 药膜治疗,而对照组未接受任何治疗。于治疗第 1、2、3、6 月分别复查治疗组和对照组高危型 HPV-DNA 含量。治疗组病毒负荷量呈明显的下降趋势,并于治疗第 6 个月时有 8 例出现高危型 HPV-DNA 转阴(转阴率 32%)。而对照组病毒负荷量下降不明显,第 6 个月时仅有 4 例(转阴率 16%),治疗组与对照组相比,其差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。



5-Fu 药膜治疗第 1、2、3、6 月检查高危型 HPV-DNA 负荷量,呈明显下降趋势。*表示 HPV-DNA 负荷量 1 pg/ml,即高危型 HPV-DNA 阴性

图1 5-Fu 药膜治疗后治疗组及
对照组高危型 HPV-DNA 负荷量变化趋势图

2.5.2 治疗组(25 例)和对照组(25 例)均于分组后 6 个月行阴道镜下多点活检,并做出病理组织学诊断。发现对照组 CIN 级自然缓解 2 例(2/25),1 例进展为 CIN 级;治疗组有 13 例均由 CIN 级转为细胞化生(5 例)、细胞增生(2 例)及炎性病变(6 例),缓解率为 52%,治疗组与对照组相比,其差异有显著统计学意义($P < 0.05$),见图 2。



对照组中 CIN 级的缓解率(8%)与治疗组(52%)相比,差异有统计学意义。*表示 $P < 0.05$

图2 5-Fu 药膜治疗后 CIN 级病例数变化

3 讨论

从正常宫颈细胞向宫颈上皮内瘤变(CIN)及宫颈癌的转化是多因素参与、渐进发展的过程,而高危型人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈细胞恶性转化中的重要因素。HPV 感染致使宫颈病变发展:(1)高危型 HPV 持续感染使 CIN 级持续并发展;(2)仅仅由于 HPV 感染的存在,就预示疾病的存在;(3)HPV 感染使宫颈癌的相对危险性增加 250 倍^[3]。因此,要提高宫颈癌及癌前病变的防治效率,必须将宫颈细胞学检查和 HPV 分型检测联合起来应用,而活检作为最后的诊断指标。宫颈 HPV 感染的检测最常用的为宫颈细胞学检查,尤其是近年由细胞工程专家推出的一种新技术——液基薄层细胞学检测,其对宫颈异常细胞和 HPV 感染的诊断准确性比传统法高,但不能直接检测 HPV 和分型。而杂交捕获实验可弥补 TCT 的不足之处,尤其是对于细胞学检查中的一类临界细胞学改变(ASCUS 或 AGCUS)。杂交捕获法对于病变的诊断、随访、防治对策有明确的指导意义^[4]。我们的研究显示在 TCT 提示无 HPV 感染的病例中有相当一部分被 HC-II HPV 分型检测发现有 HPV 感染,尤其是对于高度鳞状上皮内病变的病例。因此在该情况下我们仍然应该建议患者接受 HC-II HPV 分型检测。我们的研究也证实了宫颈细胞学检查和 HPV 分型检测的联合应用,可显著提高 CIN 级及以上病变的特异性检出,特异性由单独应用 TCT 的 89.65% 提高至 97.99%,这种联合筛查方案可提高 CIN 及其以上级别的筛查效率,并减少阴道镜检查率,降低患者的经济和精神负担。

对于宫颈 HPV 高危型感染,如果经病理组织学诊断为 CIN、CIN、微小浸润癌及浸润癌等,

(下转第 984 页)

细胞的比值 (T/NK) 呈下降趋势,晚期肿瘤患者 T/NK 值与正常对照组有显著差异。提示恶性肿瘤患者细胞免疫功能处于抑制状态。抗肿瘤药物对机体细胞免疫功能造成很大损害。临床治疗应重视调节细胞免疫功能的改善。我们应用流式细胞仪对部分初治患者(9例)进行骨髓中NK细胞数量测定,结果提示NK细胞在淋巴细胞的比例明显降低,与上述研究结果一致。而降低NK细胞活性的因素有:在杀伤肿瘤细胞的过程中消耗了大量的NK细胞;肿瘤分泌某种抑制或封闭因子使NK细胞活性降低;NK细胞在血液中再分布;单核细胞、原始细胞的增殖降低了NK作用;严重营养不良不能为NK细胞提供足够的能量。血液系统恶性肿瘤的NK细胞活性的下降可能与上述原因有关,主要为原始细胞或肿瘤细胞增殖使NK细胞数量减少或功能缺陷所致。有

些抗肿瘤药物的应用也可降低NK细胞活性。

机体具有严密的免疫监视机制,但恶变细胞在某些情况下可能通过多种机制如肿瘤细胞逃逸、肿瘤抗原诱发免疫耐受、诱导免疫细胞凋亡等机制逃避机体的免疫监视,所以针对肿瘤的特异性抗体很少产生。在本研究中,除初发组和缓解组的IgG有统计学差异外,其余各组均无显著差异,说明了抗体并非机体抗肿瘤效应的重要机制。白血病患者由于其中某些亚群减少,但有其他亚群补偿,仍然能够产生达到正常量的抗体,但是抗体的抗感染功能明显不足,可能是免疫球蛋白的质量低下或者抗体活性降低,这是白血病患者易受感染的内在原因^[5]。本实验中,虽然缓解组IgG比初发组IgG增高,但由于受机体状态、感染因素等方面的影响尚不能对白血病的诊断及预后起到预测和指导作用。

参考文献:

[1] Sherif S, Farag, Todd A, Fehniger et al. Natural killer cell receptors: new biology and insights into the graft-versus-leukemia effect [J]. *Blood*, 2002, 100(6), 1935-1947.

[2] 顾忠民,马忠森,安继红,等.改良MTT法检测NK细胞活性[J].*吉林大学学报(医学版)*,2003,29(1):119-120.

[3] 王长安.调节NK的因素[J].*国外医学免疫学分册*,1986,2:87.

[4] 韩杨,李长岭,鲁力,等.肾细胞癌和膀胱癌患者的T和NK细胞链水平与临床意义[J].*中华肿瘤杂志*,2004,26(3):158-160.

[5] Minegishi Y, Ishii N, Tsuchida M, et al. [J]. *Bone Marrow Transplant*, 1995, 16(6):801-806.

[编辑:安凤;校对:马福元]

(上接第970页)

则须尽早施行手术治疗,包括LEEP刀或子宫切除治疗等;而对于CIN 级以下的HPV高危型感染患者,也应及早采用药物干预治疗,并定期复查,以降低细胞恶性转化的风险,提高宫颈癌防治效率^[3]。本研究试用5-Fu可吸收缓释药膜来治疗宫颈HPV高危型感染。5-Fu可用于HPV高危型感染的治疗,使高危型HPV-DNA的负荷量降低。其作用机制主要涉及:HPV16、18型的E6/E7区蛋白通过结合并降解p53,促进细胞周期失控,而5-Fu可下调E6/E7区蛋白的表达^[5、6],同时上调p53、bax等促凋亡基因的表达^[7]。鉴于宫颈的解剖特点,为了最大限度的发挥5-Fu的药效而避免其生物副反应性,我们采用了可吸收缓释药膜(中国发明专利)这一剂型^[8]。5-Fu可吸收缓释药膜选用明胶作为载体,其组织相容性好,在缓释5-Fu的同时能很好的被组织吸收,促进宫颈糜烂面的愈合。在药膜应用后,能使局部保持较高5-Fu浓度,且较长时间缓慢释放,以降低5-Fu的生物学毒性。本研究发现对于诊断后6个月未自然转阴的HPV高危型阳性患者,进行5-Fu药膜治疗,治疗后HPV高危型病毒负荷量呈明显下降趋势,并与治疗第6个月出现32%的转阴率,而对照组仅有16%;6个月时阴道镜下病理活检证实治疗组CIN 级的缓解率高达52%,与对照组(8%)相比,差异具有统计学意义(P<0.05),进一步验证了5-Fu可吸收缓释药膜的有效性。

总之,宫颈细胞学检查联合HPV分型检测能

够提高宫颈病变的特异性检出,干预治疗可部分清除宫颈HPV高危型感染,中断CIN 的细胞恶性转化,对降低宫颈癌发病率及死亡率有重要意义。

参考文献:

[1] Petry KU, Menton S, Menton M, et al. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients [J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(10): 1570-1577.

[2] Lorincz AT, Richart RM. Human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cytology in cervical screening programs [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2003, 127(8): 959-968.

[3] 郎景和.迎接子宫颈癌预防的全球挑战与机遇[J].*中华妇产科学杂志*,2002,37(3):129-131.

[4] Mandelblatt JS, Lawrence WF, Womack SM, et al. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer [J]. *JAMA*, 2002, 287(18): 2372-2381.

[5] Didelot C, Mirgolet JF, Barberi-Heyob M, et al. Oncoprotein expression of E6 and E7 dose not prevent 5-Fu mediated G1/S arrest and apoptosis in 5-Fu resistant carcinoma cell lines [J]. *Int J Oncol*, 2003, 23(1): 81-87.

[6] Hsu LC, Lee RM, White RL, et al. The HPV16 E6/E7 onco-gene sensitizes human ovarian surface epithelial cell to low-dose but not high-dose 5-Fu and 5-FuR [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 320(1): 249-255.

[7] Yim E K, Lee K H, Bae J S, et al. Proternic analysis of antiproliferative effects by treatment of 5-Fu in cervical cancer cell [J]. *DNA Cell Biol*, 2004, 23(11): 769-776.

[8] 卢运萍,李振凡,张宁,等.可吸收药膜缓释抗生素的实验研究[J].*同济医科大学学报*,1989,18(3):177-178.

[编辑:周永红;校对:杨卉]

