

HPV E6/E7 mRNA与液基薄层细胞学联合检测在宫颈癌风险预测中的应用及探讨

张 玉, 王 欢, 何 朵, 景彩萍, 刘王静, 郝向云, 强倩倩, 李 旭, 霍媛媛*

延安市人民医院病理科, 陕西 延安

收稿日期: 2024年10月29日; 录用日期: 2024年11月23日; 发布日期: 2024年12月3日

摘 要

目的: 探讨人乳头状瘤病毒(HPV) E6/E7 mRNA与液基薄层细胞学检查(TCT)联合检测在宫颈癌风险预测中的应用价值。方法: 选取2023年1月至2024年6月于延安市人民医院行宫颈癌和癌前病变筛查的216例患者作为研究对象, 对其资料进行回顾性分析, 该部分患者均同时行HPV E6/E7 mRNA与液基薄层细胞学检测联合及组织病理学检查, 分析HPV E6/E7 mRNA与液基薄层细胞学单独检测及两者联合检测宫颈癌的灵敏性、特异性、阳性预测值及阴性预测值。结果: 216例患者中, HPV E6/E7 mRNA与液基薄层细胞学单独检测的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为78.41%、42.50%、85.71%、30.91%和71.59%、62.50%、89.36%、33.33%; HPV E6/E7 mRNA与液基薄层细胞学联合检测的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值为93.19%、65.00%、92.13%、68.42%, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论: HPV E6/E7 mRNA和液基细胞学联合检测可有效提高宫颈癌及癌前病变的阳性检出率, 敏感性和阴性预测值显著提升, 与活检金标准的一致性较好, 可有效判断HPV的感染状态和严重程度, 减少不必要的阴道镜活检, 减轻患者心理负担, 对宫颈癌的风险预测有很好的应用价值。

关键词

HPV E6/E7 mRNA, 液基薄层细胞学检查, 宫颈癌

Application and Exploration of Combined Detection of HPV E6/E7 mRNA and Thinprep Cytologic Test (TCT) in Predicting the Risk of Cervical Cancer

Yu Zhang, Huan Wang, Duo He, Caiping Jing, Wangjing Liu, Xiangyun Hao, Qianqian Qiang, Xu Li, Yuanyuan Huo*

*通讯作者。

文章引用: 张玉, 王欢, 何朵, 景彩萍, 刘王静, 郝向云, 强倩倩, 李旭, 霍媛媛. HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学联合检测在宫颈癌风险预测中的应用及探讨[J]. 临床医学进展, 2024, 14(12): 27-32. DOI: 10.12677/acm.2024.14123044

Abstract

Purpose: To explore the application value of HPV E6/E7 mRNA and Thinprep cytologic test (TCT) in predicting the risk of cervical cancer. **Methods:** 216 patients who underwent HPV E6/E7 mRNA and TCT at Yan'an People's Hospital from January 2023 to June 2024 were selected as the study subjects. The data were retrospectively analyzed. All patients underwent HPV E6/E7 mRNA combined with TCT and histopathological examination. The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of HPV E6/E7 mRNA and TCT detected separately and combinedly for cervical cancer were analyzed. **Results:** Among 216 patients, the sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of HPV E6/E7 mRNA and TCT detected separately were 78.41%, 42.50%, 85.71%, 30.91% and 71.59%, 62.50%, 89.36% and 33.33%; The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of combined detection of HPV E6/E7 mRNA and TCT were 93.19%, 65.00%, 92.13%, and 68.42%, with statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion:** The combined detection of HPV E6/E7 mRNA and TCT can effectively improve the positive detection rate of cervical cancer and precancerous lesions, significantly increase sensitivity and negative predictive value, and have good consistency with the gold standard for biopsy. It can effectively determine the infection status and severity of HPV, reduce unnecessary colposcopy biopsy, reduce the psychological burden of patients, and have good application value in predicting the risk of cervical cancer.

Keywords

Human Papilloma Virus E6/E7 mRNA, Thinprep Cytologic Test, Cervical Cancer

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

宫颈癌是常见的妇科肿瘤之一，发生率和死亡率居女性恶性肿瘤前列，严重威胁着妇女的身体健康并给家庭和社会造成极大负担。80%宫颈癌发生于相对贫穷的国家，其主要原因是缺乏有效的筛查手段和治疗方案[1]。宫颈癌是最容易通过妇科筛查进行早期诊断的疾病，目前常用的筛查方法为液基薄层细胞学检查(TCT)、HPV DNA 检测，其中液基薄层细胞学检查作为一种应用较普遍的细胞学检查技术，可检测出宫颈癌及癌前病变的异型细胞，并可初步判断异型细胞的类型及严重程度，异型细胞是鳞状上皮还是腺上皮，是低级别鳞状上皮内病变还是高级别鳞状上皮内病变乃至鳞状细胞癌，均可初步诊断，是目前宫颈癌筛查最为直观且必要的检查手段，但是，液基薄层细胞学检查也有一定的漏诊率和误诊率，与诊断医生的诊断经验密切相关，导致其诊断准确性受限。HPV DNA 检测是宫颈癌高危人群和癌前病变筛查的有效手段[2]，宫颈癌和癌前病变均与 HPV 同种高危亚型的持续性感染有重大关联[3][4]，但并非所有感染 HPV 的患者都一定发展为宫颈癌，99%的宫颈癌与高危 HPV 感染有关，80%高危 HPV 感染 2 年内会自行消退[5]，为一过性感染。只有处于整合感染活动期的高危 HPV 感染才是真正具有致癌风险的 HPV 感染[6]。近年来研究发现，HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈癌筛查中表现出与 HPV DNA 一致的灵敏

度和更高的特异度[7]。本研究我们通过对部分宫颈病变患者行 HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学检测联合,以阴道镜宫颈活检组织病理为金标准,探讨两者联合应用的敏感性和特异性,分析其在宫颈病变筛查中的应用价值。

2. 材料与方法

2.1. 材料

选取 2023 年 1 月至 2024 年 6 月于延安市人民医院行宫颈病变检查的 216 例门诊和住院患者作为研究对象,对其资料进行回顾性分析,该部分患者均同时行 HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学检测联合及宫颈组织病理学检查,年龄 21~70 岁,平均年龄(41.25 ± 4.83)岁。纳入标准:有白带异常、接触性出血、外阴瘙痒或常规行宫颈癌及癌前病变筛查。排除标准:患者有宫颈手术史、近期使用相关抗病毒药物、有盆腔放疗史。本研究为回顾性研究,不干预患者的治疗,仅采集患者的临床资料,不泄露患者隐私,符合医学伦理学要求。

2.2. 方法

2.2.1. 取材

使用宫颈细胞采集刷对患者进行常规标本采集,采集部位主要在宫颈鳞柱状交界处,将刷有脱落细胞的刷头放入盛有细胞保存液的标本瓶中,震荡标本瓶洗脱细胞,将瓶盖拧紧,贴上标签后分别行 HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学检测。

2.2.2. HPV E6/E7 mRNA 检测与判读

本研究中 HPV E6/E7 mRNA 检测使用河南 Kodia 生物技术公司生产的 E6E7 诊断试剂盒,主要定性检测宫颈脱落细胞中的 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68 型别的人乳头瘤病毒(HPV)的 E6/E7 致癌基因片段信使 RNA (mRNA),不区分具体 HPV 感染类型。本试剂盒采用分支链 DNA (branch-DNA)信号扩增技术检测样本中的 HPV E6/E7 mRNA。主要操作步骤包括样本处理、杂交捕获、信号放大、上机测定。使用特异性的检测探针与样本中的靶 RNA 杂交,用包被板底探针捕获并形成杂交体。加入提前配好的预放大分子、放大分子、探针标记物和底物催化剂恒温箱孵育,用冷光仪检测其产生的化学光信号,依据光信号判断检测样本中是否存在 E6/E7 mRNA。拷贝数 ≥ 1 copy/ml 为阳性。

2.2.3. 液基薄层制片与判读

采用沉降式制片方法,首先将离心管编码加分层液 4 ml 备用,将标本瓶震荡 3~5 分钟,安装试管过滤网,加注震荡好的标本 6 ml。离心前取掉过滤网,对称放好标本,离心 3~5 分钟,倒掉离心管里的液体,在漩涡震荡上漩涡震荡 10 秒。把漩涡震荡过的离心管按顺序放在离心管架上,放好吸嘴,准备相应玻片并编号,在自动制片机上完成后续制片、巴氏染色及封片。判读标准采用 TBS 分级系统进行诊断,均由两位经验丰富的细胞病理诊断医生进行阅片。液基薄层细胞学检查结果正常:未见上皮内病变和恶性细胞(NILM);液基薄层细胞学检查结果异常:不能明确诊断的非典型鳞状上皮细胞(ASC-US);非典型鳞状上皮细胞不排除高级别鳞状上皮内病变(ASC-H);低级别鳞状上皮内病变(LSIL);高级别鳞状上皮内病变(HSIL);鳞状细胞癌(SCC)和不典型腺细胞(AGC)。

2.2.4. 病理学检查

针对 HPV E6/E7 mRNA 检测阳性或液基薄层细胞学检查结果 ASC-US 及以上病变患者进行阴道镜检查,根据阴道镜病变提示行宫颈组织活检。组织病理均由两位高级职称病理医师进行诊断。标准参照 2014

年 WHO 女性生殖系统肿瘤分类，分为慢性宫颈炎；LSIL，即 CIN I 级；HSIL，即 CIN II 级、CIN III 级和原位癌；宫颈浸润性癌。LSIL 及以上病变为阳性。

2.3. 统计学方法

采用 SPSS 22.0 版统计学软件对数据进行统计处理。计数资料以百分率(%)的形式表示，组间率比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 组织病理学结果

216 例受检者中，组织病理学结果阳性者 176 例，包括 LSIL 102 例，HSIL 46 例，宫颈浸润性癌 28 例；阴性结果 40 例，均为宫颈炎症性病变。

3.2. HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学单独和联合检测结果

在 216 例入组病例中，以组织病理学结果为金标准，HPV E6/E7 mRNA 单独检测阳性 161 例，敏感性 78.41%，特异性 42.50%，阳性预测值 85.71%，阴性预测值 30.91%，差异有统计学意义($\chi^2 = 7.508, P < 0.05$)；液基薄层细胞学单独检查阳性 141 例，敏感性 71.59%，特异性 62.50%，阳性预测值 89.36%，阴性预测值 33.33%，差异有统计学意义($\chi^2 = 16.71, P < 0.001$)；HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学联合检测阳性 178 例，敏感性 93.19%，特异性 65.00%，阳性预测值 92.13%，阴性预测值 68.42%，差异有统计学意义($\chi^2 = 76.10, P < 0.001$)。

3.3. HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学单独与联合检测结果对比分析

通过 HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学单独检测与联合检测结果的对比分析(见表 1)显示，联合检测的敏感性和阴性预测值高于 HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学单独检测，差异更加明显，有统计学意义。HPV E6/E7 mRNA 单独检测的特异性略高于液基薄层细胞学检查单独检测，但液基薄层细胞学检查的特异性高于 HPV E6/E7 mRNA，差异有统计学意义。

Table 1. Comparative analysis of results from three examination methods
表 1. 三种检查方法结果对比分析

检查方法	组织病理结果		合计	敏感性(%)	特异性(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
	阳性	阴性					
HPV E6/E7 mRNA 检测							
阳性	138	23	161	78.41	42.50	85.71	30.91
阴性	38	17	55				
合计	176	40	216				
液基薄层细胞学检查							
阳性	126	15	141	71.59	62.50	89.63	33.33
阴性	50	25	75				
合计	176	40	216				

续表

			联合检测				
阳性	164	14	178				
阴性	12	26	38	93.19	65.00	92.13	68.42
合计	176	40	216				

4. 讨论

宫颈癌及癌前病变为女性常见的宫颈病变，但由于其解剖部位易于检查，可以通过各种宫颈癌筛查方法进行早期诊断及早期治疗，选择合适的筛查方法亦尤为重要。宫颈癌的发病机制与 HPV 感染密切相关。大部分人 HPV 感染仅是暂时和一过性的，可自行消退，只有约 30%患者 HPV 感染后呈持续状态，在致癌因素和免疫因素共同作用下经过 5~10 年才会发展为癌前病变和宫颈癌，只有不到 10%的人群才会整合和进展[8]。目前常用的筛查方法为 HPV DNA 检测、液基薄层细胞学检查。液基薄层细胞学检查是宫颈细胞学筛查的主要手段。但是液基薄层细胞学检查结果主要是基于细胞形态异常的判断，与诊断医生的经验和水平关系密切，且易受制片质量的干扰，尤其对于早期宫颈病变，容易出现漏诊的可能性[9]。目前应用 HPV DNA 检测可以有效地提高宫颈 HPV 感染的检出率，提早进行治疗干预[10]，但 HPV DNA 检测仅仅为病因学检测，无法辨认高危 HPV 病毒是游离感染还是整合感染，无法揭示感染是处于活动期还是静止期，不能有效监控子宫上皮内瘤变进程，无法区分是一过性感染还是持续性感染，因此迫切需要新的靶点与策略应用于宫颈癌的初期筛查[11]。

近年来研究发现，高危型 HPV E6/E7 癌基因的持续表达是宫颈细胞恶性转化和维持恶性表型的关键因素[12]。高危 HPV 的致癌潜力依赖于 E6/E7 癌蛋白的大量表达，HPV 感染宫颈细胞后病毒 DNA 有两种存在状态：整合状态及游离状态。宫颈病变的程度取决于病毒存在的状态，在宫颈 HPV 一过性感染中 HPV DNA 一般多以游离状态存在于细胞染色体外，机体可自行清除；在持续性感染时，高危型 HPV-DNA 多与宿主细胞内的染色体整合[13] [14]，HPV 整合到宿主细胞后，HPV 过度表达 E6/E7，并可显著介导抑癌基因 p53 和 Rb 的降解，从而通过干扰细胞周期、免疫逃逸等机制导致细胞癌变，发生宫颈癌。HPV E6/E7 mRNA 检测预测高危型 HPV-DNA 病变的特异性较高，能对该部分患者是一过性感染还是持续性感染进行更好的分流[15]。HPV E6/E7 mRNA 检测可以判断病毒是否处于活动期，故 HPV E6/E7 mRNA 检测可作为宫颈病变筛查的一种有效手段。如果与液基薄层细胞学检查联合检测，其敏感性和特异性可能会进一步提高[16]。

本研究通过对入选妇科患者同时行 HPV E6/E7 mRNA 及液基薄层细胞学联合检测，对 HPV E6/E7 mRNA 结果阳性和液基薄层细胞学检查为 ASC-US 或为明确阳性的患者行组织病理学检查，以组织病理学结果作为对照，分析 HPV E6/E7 mRNA 和液基薄层细胞学检查联合检测的敏感性 & 特异性。本研究结果显示，联合检测的敏感性和阴性预测值高于 HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学单独检测，差异更加明显，有统计学意义；此外，HPV E6/E7 mRNA 单独检测的特异性略高于液基薄层细胞学检查单独检测，但液基薄层细胞学检查的特异性高于 HPV E6/E7 mRNA，差异有统计学意义，源于液基薄层细胞学为形态学表现，与组织病理学均是病变发展到一定阶段的晚期事件。本研究说明，HPV E6/E7 mRNA 与液基薄层细胞学联合检测宫颈癌及癌前病变的敏感性和阴性预测值明显提高，与活检结果一致性较好，但特异性无明显提高，与文献报道基本一致[17]。

综上所述，宫颈癌的发展是一个缓慢、渐进的过程，加强筛查工作，制定适宜的检查策略是一个艰巨的系统工程，需要不断地进行创新、研究。HPV E6/E7 mRNA 和液基薄层细胞学联合检测可有效提高

宫颈癌及癌前病变的阳性检出率,敏感性和阴性预测值有显著提升,与组织病理学金标准的一致性较好,可有效判断 HPV 的感染状态和严重程度,减少不必要的阴道镜活检,减轻患者心理负担,对宫颈癌的风险预测有很好的应用价值,有望成为一种更为有效的宫颈癌筛查方法。

基金项目

延安市科技计划项目(SL2022SLSFGG-013)。

参考文献

- [1] Fokom Domgue, J. and Schmeler, K.M. (2019) Conservative Management of Cervical Cancer: Current Status and Obstetrical Implications. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, **55**, 79-92. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.06.009>
- [2] Salavatiha, Z., Farahmand, M., Shoja, Z. and Jalilvand, S. (2021) A Meta-Analysis of Human Papillomavirus Prevalence and Types among Iranian Women with Normal Cervical Cytology, Premalignant Lesions, and Cervical Cancer. *Journal of Medical Virology*, **93**, 4647-4658. <https://doi.org/10.1002/jmv.26928>
- [3] Yuan, Y., Cai, X., Shen, F. and Ma, F. (2021) HPV Post-Infection Microenvironment and Cervical Cancer. *Cancer Letters*, **497**, 243-254. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.10.034>
- [4] Chaberek, K., Mrowiec, M., Kaczmarek, M. and Dutsch-Wicherek, M. (2022) The Creation of the Suppressive Cancer Microenvironment in Patients with HPV-Positive Cervical Cancer. *Diagnostics*, **12**, Article No. 1906. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12081906>
- [5] 黄强, 钱永红, 梁宝权, 等. 高危型 HPV-E6/E7 mRNA 检测在宫颈病变筛查中的临床价值[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(5): 636-638.
- [6] Giorgi Rossi, P., Carozzi, F. and the New Technology for Cervical Cancer 2 Working Group (2021) p16/ki67 and E6/E7 mRNA Accuracy and Prognostic Value in Triaging HPV DNA-Positive Women. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **113**, 292-300.
- [7] Ren, C., Zhu, Y., Yang, L., Zhang, X., Liu, L., Wang, Z., et al. (2019) Prognostic and Diagnostic Validity of P16/ki-67, HPV E6/E7 mRNA, and HPV DNA in Women with ASCUS: A Follow-Up Study. *Virology Journal*, **16**, Article No. 143. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1251-4>
- [8] Clifford, G.M., Tully, S. and Franceschi, S. (2017) Carcinogenicity of Human Papillomavirus (HPV) Types in HIV-Positive Women: A Meta-Analysis from HPV Infection to Cervical Cancer. *Clinical Infectious Diseases*, **64**, 1228-1235. <https://doi.org/10.1093/cid/cix135>
- [9] 康红, 叶延程, 樊平, 等. HPV 联合 TCT 检测在宫颈癌筛查中的应用[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(2): 283-286.
- [10] Zappacosta, R., Caraceni, D., Ciccocioppo, L., Rotondo, T., Capanna, S., Gatta, D.M.P., et al. (2013) Implementing Specificity of HPV-DNA Primary Screening in a Successful Organised Cervical Cancer Prevention Programme. *Gynecologic Oncology*, **128**, 427-432. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2012.11.030>
- [11] Zhang, L., Tan, W., Yang, H., Zhang, S. and Dai, Y. (2022) Detection of Host Cell Gene/HPV DNA Methylation Markers: A Promising Triage Approach for Cervical Cancer. *Frontiers in Oncology*, **12**, Article ID: 831949. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.831949>
- [12] Derby, A., Mekonnen, D., Woldeamanuel, Y., Van Ostade, X. and Abebe, T. (2020) HPV E6/E7 mRNA Test for the Detection of High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN2+): A Systematic Review. *Infectious Agents and Cancer*, **15**, Article No. 9. <https://doi.org/10.1186/s13027-020-0278-x>
- [13] Della Fera, A.N., Warburton, A., Coursey, T.L., Khurana, S. and McBride, A.A. (2021) Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses*, **13**, Article No. 321. <https://doi.org/10.3390/v13020321>
- [14] Lintao, R.C.V., Cando, L.F.T., Perias, G.A.S., Tantengco, O.A.G., Tabios, I.K.B., Velayo, C.L., et al. (2022) Current Status of Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer in the Philippines. *Frontiers in Medicine*, **9**, Article ID: 929062. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.929062>
- [15] 林爽, 王翠峰. HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈癌中的研究进展[J]. 现代预防医学, 2018, 45(3): 513-515.
- [16] 单继烈, 叶素梅, 王兰英, 等. 液基薄层细胞学检测, 高危型人乳头状瘤病毒-DNA 和人乳头状瘤病毒 E6/E7 mRNA 检测在宫颈癌早期筛查中的临床价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(6): 667-669, 672.
- [17] 秦艳, 朱怡. HPV E6/E7 mRNA 联合 TCT 检测在宫颈癌筛查的临床应用价值[J]. 中国妇幼健康研究, 2020, 31(5): 665-670.