

可一期后路早期减压,避免脊髓神经的损伤。术中适量骨水泥的注入,避免过多导致骨水泥渗漏,也可避免伤椎强度及刚度过大而导致邻椎骨折。弥补传统单纯椎弓根复位固定治疗早期椎体不稳定的不足,也增加了椎体的生物力学强度,有效减少了内固定松动及断裂的风险,有利于患者早期下床活动。

综上所述,椎弓根螺钉内固定联合椎体成形术治疗老年胸腰椎骨折是一种疗效比较理想的治疗方法,迅速缓解疼痛,恢复椎体高度,矫正后凸畸形,有效椎管减压,增加伤椎的生物力学强度,也能间接的促进脊柱的植骨融合,预防远期的脊柱后凸畸形的进展,弥补传统单纯椎弓根螺钉和 PVP、PKP 治疗的不足。由于随访时间短,全面评价此方法的长期疗效还需要更长时间的随访。

参考文献

- 1 钱定军. 后路椎弓根内固定结合椎体成形术治疗老年胸腰段脊柱骨折临床观察[J]. 现代医学, 2012, 40(1): 60
- 2 滕冲, 陈维善, 李浩, 等. Kummell 病发病机制及影像学表现[J]. 国际骨科学杂志, 2012, 33(1): 55 - 56
- 3 Browner BD, Jupiter JB, Levine AM, *et al.* Skeletal Trauma: basic science, management and reconstruction 3e [M]. Singapore: Elsevier, 2003: 419 - 425
- 4 Herkowitz HN, Dvorak J, Bell B, *et al.* The lumbar spine 3e [M]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005: 652 - 657
- 5 陈柏龄, 谢登辉, 黎艺强, 等. 单侧 PKP 骨水泥注射过中线分布对

- 压缩性骨折椎体两侧刚度的影响[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2001, 21: 118 - 121
- 6 Polikeit U, Nohe LP, Ferguson SJ. The effect of cement augmentation on the load transfer in an osteoporotic functional spinal unit: finite element analysis[J]. Spine, 2003, 28: 991 - 996
- 7 屈燕铭, 黄仁辉, 袁杰, 等. 骨水泥强化对老年性腰椎骨折患者腰椎椎弓根钉固定的影响[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(17): 2919 - 2910
- 8 Bridewell KH, Dewald RL. The textbook of spinal surgery [M]. 2nd edition. Philadelphia (NY): Lippincott - Raven publishers, 1997: 150
- 9 McLain RF, Sparling E, Benson DR. Early failure of short segment pedicle instrumentation for thoracolumbar fracture: A preliminary report[J]. J Bone Joint Surg: Am, 1993, 75: 1621 - 1627
- 10 邓红平, 陈其昕, 胡灏, 等. 经椎弓根椎体内植骨治疗老年骨质疏松性脊柱骨折的疗效分析[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(14): 3322 - 3324
- 11 Berlemann U, Ferguson SJ, Nolte LP, *et al.* Adjacent vertebral failure after vertebroplasty. A biomechanical investigation [J]. J Bone Joint Surg Br, 2002, 84: 748 - 752
- 12 卢畅, 杨明. 后路经椎弓根内固定结合椎体成形术治疗老年人胸腰段椎体骨折[J]. 中南大学学报: 医学版, 2009, 34(2): 181 - 184
- 13 梁裕, 吴文坚, 曹鹏, 等. 经椎弓根内固定系统结合椎体成形术治疗严重胸腰椎骨质疏松性骨折[J]. 颈腰痛杂志, 2007, 28(2): 90 - 92
- 14 曹海云. 后路经椎弓根内固定结合椎体成形术治疗老年胸腰段脊柱骨折临床观察[J]. 中国现代药物应用, 2011, 5(15): 32 - 33

(收稿日期: 2014 - 11 - 30)

(修回日期: 2015 - 02 - 12)

高危 HPV E6/E7 mRNA 对宫颈病变诊断价值的研究

郑 智 吕杰强

摘 要 目的 探讨高危 HPV E6/E7 mRNA 对宫颈病变的临床诊断价值。**方法** 根据病理诊断结果的不同分为两组, 其中慢性宫颈炎、宫颈上皮内瘤变(CIN) I 级患者共 48 例为对照组, 高级别宫颈病变(包括 CIN II 级、CIN III 级及宫颈浸润癌)共 42 例患者为观察组, 分别对上述宫颈细胞标本进行 HPV DNA 分型检测和高危 HPV E6/E7 mRNA 检测。**结果** 慢性宫颈炎、CIN I 组中高危 HPV DNA 的检出率(29.1%)明显高于高危 HPV E6/E7 mRNA(8.3%), 高级别宫颈病变组中高危 HPV E6/E7 mRNA 的检出率(85.7%)明显高于高危 HPV DNA(64.3%), 差异有统计学意义($P < 0.05$); 高危 HPV E6/E7 mRNA 检测的敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值(85.7%、91.7%、90.0%、88.0%)均高于 HPV DNA 分型检测(64.3%、70.8%、65.9%、69.3%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 高危 HPV E6/E7 mRNA 检测在临床诊断过程中大大降低过度检查和治疗的机会, 避免了高频率和重复感染给患者带来的经济负担和精神压力。

关键词 HPV E6/E7 mRNA HPV DNA 宫颈癌

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.08.036

作者单位: 325000 温州医科大学第三临床学院、温州市人民医院妇产科(郑智); 温州医科大学附属第二医院妇产科(吕杰强)

通讯作者: 吕杰强, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 电子信箱: jieqianglu@126.com

Study of High – risk HPV E6/E7 mRNA in Diagnosis of Cervical Lesions. Zheng Zhi, Lv Jieqiang. Department of Obstetrics and Gynecology, The Third Clinical College of Wenzhou Medical University, Wenzhou People's Hospital, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To investigate the clinical diagnostic value of high – risk HPV E6/E7 mRNA in cervical lesions. **Methods** According to the different pathological diagnosis patients were divided into two groups. Totally 48 women who got chronic cervicitis or cervical intraepithelial neoplasia (CIN) level I were in the control group, and totally 42 women who got high – grade cervical lesions (including CIN level II, CIN level III and invasive cervical cancer) were in the experimental group. Respectively, HPV DNA genotyping detection and high – risk HPV E6/E7 mRNA detection were performed on those cervical cell samples. **Results** The detection rate of high – risk HPV DNA (29.1%) was significantly higher than that of high – risk HPV E6/E7 mRNA (8.3%) in the chronic cervicitis, CIN I grade. The detection rate of high – risk HPV E6/E7 mRNA (85.7%) was significantly higher than that of high – risk HPV DNA (64.3%) in the high – grade cervical lesions grade, and the difference was significant ($P < 0.05$). The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of high – risk mRNA detection (85.7%, 91.7%, 90.0%, 88.0%) were higher than those of HPV DNA genotyping detection (64.3%, 70.8%, 65.9%, 69.3%), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The detection of high – risk HPV E6/E7 mRNA as a means of present commonly used diagnostic methods, combining the transcriptional activity of cancer gene diagnosis can be in the diagnostic process, which greatly reduces the excessive examination and treatment opportunity, avoids the short term high frequency and repeated infection brings to the patient's economic burden and mental pressure.

Key words HPV E6/E7 mRNA; HPV DNA; Cervical cancer

宫颈癌是指发生于宫颈阴道部或移行带的鳞状上皮细胞及宫颈管内膜的柱状上皮细胞交界处的恶性肿瘤。世界卫生组织相关统计信息结果显示,乳腺癌和宫颈癌是威胁女性健康的两大疾病,宫颈癌的发生率已跃居我国女性恶性肿瘤的首位,发病趋势呈现年轻化,且发生率逐年上升^[1]。对宫颈癌的病因学研究结果发现人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)是影响宫颈癌发生和发展的主要因素,近年来人们较多的应用 HPV DNA 检测方法对宫颈病变进行检测,HPV DNA 联合细胞学检测越来越多的应用到临床上宫颈病变的筛查工作中,该方法的应用可以有效地降低宫颈癌的发生率,但是 HPV DNA 检测是一种病因检测,对致癌基因的转录情况及活动情况却无法预测。有研究指出高危 HPV E6/E7 mRNA 检测能对病毒的活动程度及病变程度进行预测^[2]。为了探究其检测效果,本研究拟对高危 HPV E6/E7 mRNA 的临床诊断价值进行研究,现将研究结果报道如下。

对象与方法

1. 研究对象:选取 2013 年 1 月 ~ 2013 年 12 月间在笔者医院妇产科就诊的 90 例患者(多以接触性出血、白带异常、下腹隐痛、阴道异常排液等就诊)作为研究对象,均行宫颈脱落细胞的液基细胞学检查(TCT),HPV DNA 分型检测和高危 HPV mRNA 检测,对其中任意一样阳性者行阴道镜下宫颈活组织检查,并送病理科行组织病理学检查,以病理报告为金标准。根据病理诊断结果分为两组,慢性宫颈炎、CIN I 级患者共 48 例为对照组,高级别宫颈病变患者(包括 CIN II 级、CIN III 级及宫颈浸润癌)共 42 例为试验组。患者年龄在 23 ~ 72

岁之间,平均年龄为 39.6 ± 3.5 岁,两组患者在年龄、病程、病史等方面差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

2. 实验方法:TCT 检测使用液基细胞学专用取材刷完全插入宫颈口,同一方向旋转 3 ~ 5 周,收集宫颈口及宫颈管的脱落上皮细胞,并将采集的细胞涮洗在含有 PreservCyt 保存液的小瓶内,经过制片、固定、染色后由专业病理科医师判读。诊断标准采用国际癌症协会推荐的 2001 年 TBS(The Bethesda System)分级系统。HPV DNA 分型检测采用凯普 HPV 专用宫颈刷,紧贴宫颈口稍用力顺时针旋转 5 周,放入专用的含有细胞保存液的试管瓶中。使用凯普医用核酸分子杂交仪及其配套试剂对 21 种常见的基因型进行分型检测,包括 14 种高危型 HPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68),5 种低危型 HPV(6、11、42、43、44)和两种中国人常见的亚型 HPV(53、CP8304)。步骤包括样本 HPV 的 DNA 提取、PCR 扩增、核酸分子快速导流杂交、结果判读。高危 HPV E6/E7 mRNA 检测采用 TCT 剩余标本,试剂盒和仪器均购自河南科蒂亚生物技术有限公司,针对 14 种高危 HPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68)检测。主要步骤包括裂解细胞、杂交捕获 mRNA、信号放大、底物发光反应,经冷光仪检测为光子数,经 Diacarta 公司计算机软件计算转换后自动判断结果,最终获得拷贝数,拷贝数 > 0 为阳性。通过阴道镜下多点宫颈组织活检,制成石蜡切片,由专业病理科医师阅片。组织病理诊断分为慢性宫颈炎、CIN I 级、CIN II 级、CIN III 级、宫颈浸润癌。

3. 统计学方法:利用 SPSS 17.0 软件对上述数据进行处理分析,其中计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)对数据进行描述,组间比较采用 t 检验或非参数检验;计量资料采用率或百分比进行描述,组间比较采用 χ^2 检验;两种检验方法的敏感度、特异性、阳性预测值(positive predictive value, PPV)及阴性预测值(negative predictive value, NPV)比较采用 χ^2 检验,以 P

<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两种检测方法在上述患者中的检出率:研究结果发现,在慢性宫颈炎、CIN I 组和高级别宫颈病变组患者利用高危 HPV E6/E7 mRNA 进行检测后发现阳性例数分别为 4 例和 36 例,其阳性率分别为 8.3% 和 85.7%,利用 HPV DNA 分型检测发现高危 HPV DNA 阳性例数分别为 14 例和 27 例,其阳性率分别为 29.1% 和 64.3%;所有研究对象中利用高危 HPV E6/E7 mRNA 检测发现阳性例数为 40 人,阳性率为 44.4%,利用 HPV DNA 分型检测发现高危 HPV DNA

阳性例数为 41 人,阳性率为 45.6%。在对两组研究结果进行统计检验后发现,慢性宫颈炎、CIN I 组中高危 HPV DNA 的检出率(29.1%)明显高于高危 HPV E6/E7 mRNA(8.3%),差异有统计学意义($\chi^2 = 6.84, P = 0.010$);高级别宫颈病变组中高危 HPV E6/E7m mRNA 的检出率(85.7%)明显高于高危 HPV DNA(64.3%),差异有统计学意义($\chi^2 = 5.14, P = 0.020$);高危 HPV DNA 检测的检出率(45.6%)高于高危 HPV E6/E7 mRNA 检测的的检出率(44.4%),但差异无统计学意义($\chi^2 = 0.02, P = 0.880$),详见表 1。

表 1 两种检测方法在上述患者中的检出率 [n(%)]

组别	n	高危 HPV E6/E7 mRNA 阳性	高危 HPV DNA 阳性	χ^2	P
慢性宫颈炎、CIN I 组	48	4(8.3)	14(29.1)	6.84	0.010
高级别宫颈病变组	42	36(85.7)	27(64.3)	5.14	0.020
合计	90	40(44.4)	41(45.6)	0.02	0.880

2. 两种检测方法对高级别宫颈病变诊断评价:研究结果发现,高危 HPV DNA 检测的敏感度(64.3%)低于高危 HPV E6/E7 mRNA 检测的敏感度(85.7%),统计学检验后发现差异有统计学意义($\chi^2 = 5.14, P = 0.020$),高危 HPV DNA 检测的特异性(70.8%)低于高危 HPV E6/E7 mRNA 检测的特异性(91.7%),差异有统计学意义($\chi^2 = 6.84, P = 0.010$),高危 HPV DNA 检测的阳性预测值(65.9%)低于高危 HPV E6/E7 mRNA 检测的阳性预测值(90.0%),差异有统计学意义($\chi^2 = 6.83, P = 0.010$),高危 HPV DNA 检测的阴性预测值(69.3%)低于高危 HPV E6/E7 mRNA 检测的阴性预测值(88.0%),差异无统计学意义($\chi^2 = 5.13, P = 0.020$),通过上述 4 个指标研究发现,高危 HPV E6/E7 mRNA 检测的敏感度、特异性、阳性预测值均高于 HPV DNA 分型检测,可见高危 HPV E6/E7 mRNA 检测能够较好地诊断宫颈疾病,尤其对于病变程度高的疾病,其诊断价值更高,具体见表 2、表 3。

表 2 两种检测方法与病理检查诊断结果

病理检查结果	n	高危 HPV mRNA		高危 HPV DNA	
		+	-	+	-
慢性宫颈炎、CIN I 组	48	4	44	14	34
高级别宫颈病变组	42	36	6	27	15
合计	90	40	50	41	49

表 3 高级别宫颈病变诊断评价

项目	HPV DNA 分型检测(%)	高危 HPV E6/E7 mRNA 检测(%)	χ^2	P
敏感度	64.3	85.7	5.14	0.020
特异性	70.8	91.7	6.84	0.010
阳性预测值	65.9	90.0	6.83	0.010
阴性预测值	69.3	88.0	5.13	0.020

讨 论

宫颈癌是妇科常见恶性肿瘤之一,其人群发生率占女性恶性肿瘤的第 2 位。近年来,发生率和病死率呈上升趋势,据相关资料研究结果显示,世界范围内 2011 年宫颈癌死亡人数是 2000 年的 1.3 倍,发生率呈年轻化趋势,受地区、经济、种族等因素的影响,子宫颈癌的发生率和病死率在不同国家、不同地区存在着明显的差异^[3]。HPV 是在宫颈细胞中存在的双链闭环的小 DNA 病毒,内部约含有 7900 个碱基对,属于嗜上皮性病毒。临床研究发现,HPV 病毒根据基因组核酸病毒的不同可以分为不同型别,迄今为止,已发现有 150 多个 HPV 亚型,其中 40 种证明与生殖道上皮层感染有关。HPV 早期编码区中 E6、E7 基因是病毒癌基因,一旦出现宫颈病变恶化现象的发生,病毒细胞内的 E6/E7 基因将高度表达,高水平的 E6/E7 则提示宫颈水平属于高度恶化的水平^[4,5]。而作为 E6、E7 基因产物的 E6/E7 mRNA 则反映了癌基因活性,通过检测病毒内高危 E6/E7 mRNA 水平可以判断 HPV 感染水平^[6,7]。

本研究发现,慢性宫颈炎、CIN I 组中高危 HPV DNA 的检出率(29.1%)明显高于高危 HPV E6/E7 mRNA(8.3%),差异有统计学意义($\chi^2 = 6.84, P = 0.010$);高级别宫颈病变组中高危 HPV E6/E7 mRNA 的检出率(85.7%)明显高于高危 HPV DNA (64.3%),差异有统计学意义($\chi^2 = 5.14, P = 0.020$);高危 HPV DNA 检测检出率(45.6%)高于高危 HPV E6/E7 mRNA 检测的检出率(44.4%),但差异无统计学意义($\chi^2 = 0.02, P = 0.880$)。此结果与 Ratman 等^[8]研究结果一致,即随着宫颈病变的加重,高危 HPV E6/E7 mRNA 的检出率也随之增加,究其原因主要为在 HPV 感染早期,细胞体内的病毒癌基因处于低水平表达状态,随着病变程度的加重,病毒基因组会整合到宿主基因组,使细胞内的 E6/E7 mRNA 呈现高水平的转录状态,外在表现为 E6、E7 癌蛋白基因的大量表达^[9]。近年来,有研究表明 E6/E7 mRNA 拷贝数的高低是否对宫颈癌的诊断和治疗也有价值,该原理同样证实了随着宫颈病变的加重,细胞内 E6/E7 mRNA 呈现较高的表达水平, E6/E7 mRNA 拷贝数随之增加, E6、E7 癌蛋白基因被大量表达^[10]。

同时本研究发现高危 HPV E6/E7 mRNA 检测的敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值均高于高危 HPV DNA 检测,高危 HPV E6/E7 mRNA 检测够较好的诊断宫颈疾病,尤其对于病变程度高的疾病,其诊断价值更高,与张生枝等^[11]研究结果一致,可见高危 HPV E6/E7 mRNA 检测在临床上具有较高的诊断价值,与高危 HPV DNA 检测相比,其检测水平更准确。但是研究中发现应用高危 HPV E6/E7 mRNA 检测具有较高的敏感度(91.3%),在临床实际工作中尚存在一定的漏诊率,这样可导致部分患者不能如实的被诊断,从而延误病情,所以为了减低患者的漏诊率,在实际工作中可以考虑采用联合检测的方法进行检测,如可以用高危 HPV E6/E7 mRNA 检测联合细胞学检测来诊断疾病,不仅提高了宫颈疾病的诊断水平,而且还可以降低漏诊率^[12,13]。

综上所述,高危 HPV E6/E7 mRNA 检测手段作为一种常用的诊断手段,在临床诊断过程中可以结合癌基因的转录活性进行诊断,大大降低过度检查和治疗的机会,避免了因短期内高频率和重复感染给患者带来的经济负担和精神压力。由此可见,高危 HPV

E6/E7 mRNA 检测在临床上具有很广泛的应用价值。

参考文献

- 1 BA Werness AJ, Levine P, Howley M. Association of human papillomavirus type 16 and 18 E6 proteins with P53[J]. Science, 1990, 248(4951): 76 - 79
- 2 Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, *et al.* Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer[J]. Vaccine, 2006, 24(Suppl 3): 1 - 10
- 3 Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, *et al.* The elevated 10 - year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type - specific HPV testing in clinical practice[J]. Journal of the National Cancer Institute, 2005, 97(14): 1072 - 1079
- 4 Hernandez J, Elahi A, Siegel E, *et al.* HPV L1 capsid protein detection and progression of anal squamous neoplasia [J]. Am J Clin Pathol, 2011, 135(3): 436 - 441
- 5 Munagala R, Kausar H, Munjal C, *et al.* Withaferin A induces p53 - dependent apoptosis by repression of HPV oncogenes and upregulation of tumor suppressor proteins in human cervical cancer cells[J]. Carcinogenesis, 2011, 32(11): 1697 - 1705
- 6 李新敏, 潘晓琳. p53 与 HPV 相关性宫颈癌[J]. 肿瘤防治研究, 2007, 34(10): 798 - 800
- 7 Nurkkala M, Wassén L, Nordström I, *et al.* Conjugation of HPV 16 E7 to cholera toxin enhances the HPV - specific T - cell recall responses to pulsed dendritic cells in vitro in women with cervical dysplasia [J]. Vaccine, 2010, 28(36): 5828 - 5836
- 8 Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, *et al.* Clinical performance of the Pre Tect HPV - Poofer E6/E7 mRNA assay in comparison with that of the Hybrid Capture 2 test for identification of women at risk of cervical cancer[J]. Journal of clinical microbiology, 2010, 48(8): 2779 - 2785
- 9 Hernandez J, Elahi A, Siegel E, *et al.* HPV L1 capsid protein detection and progression of anal squamous neoplasia [J]. Am J Clin Pathol, 2011, 135(3): 436 - 441
- 10 Homer SM, Dimaio D. The DNA binding domain of a papillomavirus E2 protein programs a chimeric nuclease to cleave integrated human papillomavirus DNA in Hela cervical carcinoma cells [J]. J Virol, 2007, 81(12): 6254 - 6264
- 11 张生枝, 邵华江, 马建婷. 人乳头瘤病毒 E6/E7 mRNA 检测在宫颈病变筛查中的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(4): 582 - 585
- 12 刘娜, 王英红, 阿曼古丽, 等. HC2 检测高危型 HPV - DNA 载量与子宫颈病变的关系[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(28): 4138 - 4142
- 13 刘桐宇, 谢榕, 郑雄伟, 等. TCT 标本检测高危 HPV E6/E7 mRNA 及在宫颈病变中的应用研究[J]. 中华妇幼临床医学杂志: 电子版, 2011, 7(3): 202 - 205.

(收稿日期: 2015 - 03 - 16)

(修回日期: 2015 - 03 - 27)