

# 高危型HPV E6/E7 mRNA检测在HPV DNA阳性患者中的临床意义

张丽娜,周蓓蓓,来艺青,强 贤,冒志磊\*

南京医科大学附属常州妇幼保健院宫颈疾病诊治中心,江苏 常州 213003

**[摘要]** 目的:探讨高危型人乳头状瘤病毒(high risk human papilloma virus, HR-HPV)E6/E7 mRNA检测在HPV病毒感染患者中的临床价值和意义。方法:选取2017年1—6月在宫颈疾病诊治中心进行宫颈机会性筛查,且HPV DNA检测阳性病例200例,分别行HPV E6/E7 mRNA检测和阴道镜下的宫颈活组织检查,分析病毒阳性患者中E6/E7 mRNA的检出率以及不同病理诊断中E6/E7 mRNA的表达情况。结果:200例HPV DNA阳性患者中,HPV E6/E7 mRNA检出率为60.0%。病理学诊断高度鳞状上皮内病变(HSIL)以上,E6/E7 mRNA阳性表达最高,与正常组或低度鳞状上皮内病变(LSIL)组均有明显差异,并且E6/E7 mRNA检测的敏感度和阴性预测值较高,分别为97.9%和98.8%( $P < 0.05$ )。病理学诊断 $\leq$ LSIL,E6/E7 mRNA阳性率较低,敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值都不高。结论:HPV E6/E7 mRNA基因检测可用于HPV DNA阳性患者的分流,避免过度治疗,减轻患者心理负担。HPV E6/E7 mRNA阳性表达在宫颈筛查中对高级别病变的诊断具有临床价值。

**[关键词]** 高危型HPV E6/E7 mRNA检测;HPV DNA检测;临床意义

**[中图分类号]** R737.33

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)10-1401-03

**doi:**10.7655/NYDXBNS20181014

## Clinical significance of high-risk HPV E6/E7 mRNA test in patients with HPV infection

Zhang Lina, Zhou Beibei, Lai Yiqing, Qiang Xian, Mao Zhilei\*

Centre of Diagnosis and Treatment for Cervical Disease, the Affiliated Changzhou Maternity and Child Health Care Hospital of NMU, Changzhou 213003, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the clinical value and significance of high risk human papilloma virus (HPV) E6/E7 mRNA test in patients with HPV infection. **Methods:** Between January 2017 and June 2017, in Center of Diagnosis and Treatment for Cervical Disease, 200 patients with HPV infection in cervical screening received high-risk HPV E6/E7 mRNA test and pathological biopsy under colposcopy. We analyzed the E6/E7 mRNA detection rate of positive cases, and the E6/E7 mRNA expression in different pathological diagnosis. **Results:** The E6/E7 mRNA detection rate was 60% in the 200 patients. The highest E6/E7 mRNA positive expression in the high-grade squamous intraepithelial lesion group (HSIL) had significant differences with the low-grade squamous intraepithelial lesion group (LSIL) and the normal group. The mRNA sensitivity was 97.9% and negative predictive value was 98.8% ( $P < 0.05$ ). The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were lower in the LSIL group. **Conclusion:** We could shunt the patients with HPV infection, avoid excessive treatment and reduce the patient's psychological burden by HR-HPV E6/E7 mRNA test. High-risk HPV E6/E7 mRNA test has high clinical value in diagnosis of HSIL during cervical screening.

**[Key words]** HR-HPV E6/E7 mRNA test; HPV DNA test; clinical value

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(10): 1401-1403, 1420]

**[基金项目]** 江苏省青年医学重点人才资助项目(QN-RC2016303);南京医科大学科技发展基金重点项目(2017NJMUZD045)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: 40829225@qq.com

众所周知,宫颈癌是严重威胁妇女生命健康的恶性肿瘤之一。世界上公认,高危型人乳头瘤病毒(high risk human papilloma virus, HR-HPV)是宫颈癌发生发展的主要危险因素和必要条件<sup>[1]</sup>,基因

E6、E7 是人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 致癌机制研究中的重点<sup>[2]</sup>。目前, HPV 检测作为宫颈癌筛查的一种辅助手段应用于临床, 已成为当前医学预防和研究的热点之一。目前临床上较多采用 HC-2 或 HPV DNA 分型检测进行宫颈筛查, 阳性结果在临床上会通过阴道镜检查 and (或) 活组织病理检查来确诊是否存在宫颈病变, 同时也会增加患者心理负担和压力, 甚至影响患者的日常工作和生活。本研究旨在探讨 HPV E6/E7 mRNA 检测用于 HPV DNA 阳性患者中临床意义, 现将研究结果报道如下。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

选取 2017 年 1—6 月在宫颈疾病诊治中心进行宫颈机会性筛查, HPV DNA 检测阳性的 200 例患者为研究对象, 年龄 21~56 岁, 平均 (38.3 ± 5.6) 岁。排除标准: ①子宫切除、宫颈手术或盆腔放射治疗史; ②合并其他系统肿瘤或宫颈上皮内病变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 史, CIN ≥ II 级; ③取材前阴道用药或行阴道冲洗; ④妊娠期患者。受试对象同时行 HPV E6/E7 mRNA 检测和阴道镜下宫颈活组织病理诊断。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样本采集

采用专用宫颈刷置入宫颈鳞柱状上皮交界处顺时针旋转 3~5 圈。取出专用刷后置于含有专用细胞保存液的试管中, 刷洗 8~10 次后将细胞洗脱后封管, 4 °C 保存备检。

#### 1.2.2 HPV DNA 分型检测

采用亚能生物技术 (深圳) 有限公司提供的核酸分子快速杂交仪可检测 23 种 HPV 亚型, 包括 18 种高危型 (16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、83) 和 5 种低危型 (6、11、42、43、81)。

#### 1.2.3 高危型 HPV E6/E7 mRNA 检测

一次性标本采集刷在宫颈外口及颈管内旋转 3~5 圈后, 推取刷头置于样本保存液瓶中。采用 QuantiVirus® HPV E6/E7 mRNA 定量检测试剂盒, 经漂洗、裂解、缓冲、布板信号放大、冷光仪下读板等步骤定量检测 HPV E6/E7 mRNA。对照组 cut-off 值的 1.5 倍为检测阳性。试剂盒及检测仪器均为豪洛捷医疗科技 (北京) 有限公司产品。用于定性检测源自宫颈样本中 14 种型别的 HPV E6/E7 mRNA, 不区分具体型别, 16、18、45 是另列检测。

### 1.2.4 组织病理学检查

对于非典型鳞状上皮细胞 (ASCUS) 或更高级别的异常细胞学结果, 阴道镜下取宫颈活体组织送病理检查, 统一诊断, 本研究按 TBS 标准根据宫颈有无病变及病变程度分 3 组<sup>[3]</sup>: 无上皮内病变或恶性病变 (negative for intraepithelial lesion or malignancy, NILM); 低度鳞状上皮内病变 (low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL), 包括 CIN I 和 (或) 湿疣 (CIN I / HPV); 高度鳞状上皮内病变 (high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL), 包括 CIN II 和 (或) CIN III (CIN II / III), 伴或不伴湿疣。病理学诊断原位癌也归入 HSIL (本研究不包括宫颈浸润癌)。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件, 计数资料以百分率 (%) 表示, 采用  $\chi^2$  检验, 以病理学检查结果为金标准, 计算不同检验方法对宫颈高级别病变的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值,  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HPV E6/E7 mRNA 检测与宫颈病变的关系

200 例 HPV DNA 阳性患者中, HPV E6/E7 mRNA 阳性 120 例, 检出率为 60.0%。在病理学诊断为正常或 LSIL 中, HPV E6/E7 mRNA 阳性率分别为 42.9% 和 57.4%, 差异无统计学意义 ( $\chi^2=2.65, P=0.10$ )。病理学诊断  $\geq$  HSIL, HPV E6/E7 mRNA 阳性率与其他两组比较差异均有统计学意义 ( $\chi^2=4.77, P=0.03; \chi^2=16.35, P=0.01$ , 表 1)。

表 1 HPV E6/E7 mRNA 检测结果与组织病理检查诊断比较  
Table 1 Comparison of HPV E6/E7 mRNA test results and histopathological examination

组织病理学诊断	例数	HPV E6/E7 mRNA	
		阳性 [n(%)]	阴性 [n(%)]
NILM	98	42 (42.9)	56 (57.1)
LSIL	54	31 (57.4)	23 (42.6)
$\geq$ HSIL	48	47 (97.9)	1 (2.1)
合计	200	120 (60.0)	80 (40.0)

### 2.2 HPV E6/E7 mRNA 检测在宫颈高级别病变诊断中的意义

以病理学诊断  $\geq$  HSIL 为标准, HPV E6/E7 mRNA 检测阳性 47 例。敏感度 97.9% (47/48), 特异度 52.0% (79/152), 阳性预测值 39.2% (47/120), 阴性预

测值98.8%(79/80)。HPVE6/E7 mRNA检测在高级别病变中具有较高的敏感度和阴性预测值。

### 2.3 HPVE6/E7 mRNA检测在宫颈低级别病变诊断中的意义

以病理学诊断 $\geq$ LSIL为标准,HPVE6/E7 mRNA检测阳性78例,阴性24例。敏感度76.5%(78/102),特异度57.1%(56/98),阳性预测值65.0%(78/120),阴性预测值70.0%(56/80)(表2)。

表2 不同组织病理学分级HPV E6/E7 mRNA诊断价值  
Table 2 Diagnostic value of HPVE6/E7 mRNA in different histopathological classification (%)

指标	HPVE6/E7 mRNA		$\chi^2$ 值	P值
	$\geq$ LSIL	$\geq$ HSIL		
灵敏度	76.5	97.9	10.821	0.001
特异度	57.1	52.0	2.648	0.103
阳性预测值	65.0	39.2	1.356	0.110
阴性预测值	70.0	98.8	13.084	0.000

### 3 讨论

流行病学研究显示,几乎所有浸润性子宫颈癌都与HPV感染有关<sup>[4]</sup>。多数HPV诱发宫颈恶性肿瘤源自宫颈鳞状上皮细胞瘤变,它主要位于宫颈外口附近的鳞-柱交界处<sup>[5]</sup>。HPV感染也会导致不同宫颈内细胞类型的腺癌,子宫内膜样癌,透明细胞癌或腺鳞癌。没有HPV感染就几乎没有罹患宫颈癌的风险。但感染HPV并非一定得宫颈癌。关键在于有效筛查和正确处理癌前病变,90%HPV感染是一过性的<sup>[6]</sup>,3年内会被免疫清除。HPV检测,不是为了检测感染,而是为了发现宫颈癌前高级别病变,HPVDNA是HPV的结构基因,DNA阳性,只说明HPV感染;检测宫颈病变的更有效方法是检测那些促使持续病毒感染和细胞转化的HPV致癌基因部分。E6/E7 mRNA是HPV致癌基因活跃状态的指标<sup>[7]</sup>,在一过性感染中,HPVE6和E7致癌基因的低水平表达可促使宫颈基底上皮细胞增殖,同时使顶端上皮细胞出现终末分化以支持病毒体成熟和释放<sup>[8]</sup>。但是在持续性感染中,病毒基因组整合的可能性增加,导致了病毒基因组长控制区的断裂,E6/E7致癌基因mRNA过度表达并阻止了终末细胞分化<sup>[9]</sup>。在与负调控HPV感染相关的高级别宫颈内瘤变中,E6/E7致癌基因mRNA被过度表达<sup>[10]</sup>,而正常组织或低级别病变中其表达较少。因此,在L1晚期基因表达和病毒DNA复制中,致癌基因mRNA表达占据主导地位,使细胞主要出现致瘤性转化,形

成浸润性癌症路径<sup>[11]</sup>。因此,从逻辑上可以推测,检测E6/E7 mRNA相比DNA的方法,能更加精确发现具有临床重要性的感染。

本研究中采用的HPVE6/E7 mRNA是经美国FDA、CE-IVD和中国CFDA批准上市的APTIMAH-HPV基因检测技术,拥有两种检测试剂盒:Aptima HPV(14种高危亚型)和Aptima HPV 16、18、45分型检测,运用Panther自动化检测平台,检测14种HPV高危亚型合成致病E6/E7蛋白的mRNA,将mRNA进行反转录扩增,再结合探针读取信号。HPV DNA检测大多采用PCR技术,标本污染的情况时有发生,导致假阳性率升高。HPVE6/E7 mRNA基因检测技术很好地避免了污染环节,明显降低了假阳性率。

本研究中120例HPV DNA阳性患者中,E6/E7 mRNA阳性表达仅占60%,可见E6/E7 mRNA检测能够减少一过性的假阳性,进而减少不必要的阴道镜转诊。在高级别病变中,HPVE6/E7 mRNA阳性表达明显高于低级别病变组和炎症组。而且敏感度和阴性预测值高达97%以上。而低级别病变组和炎症组的阳性表达较低,两者间并无统计学差异。由此可见:HPVE6/E7 mRNA阳性表达与高级别病变的关系密切,这与Liu<sup>[12]</sup>、Li等<sup>[13]</sup>研究结果一致。也有文献报道在检测高级别宫颈病变中,HPVE6/E7 mRNA较HPV DNA具有更高特异性(85.00% vs. 40.83%)<sup>[14]</sup>。

一个好的筛查方法,应该是在排除非患病人的基础上,同时发现真正患病患者<sup>[15]</sup>。本研究中HPVE6/E7 mRNA检测在高级别病变中具有较高的敏感度和阴性预测值,对于HPV感染患者,该检测方法对于是否行阴道镜检查甚至活组织检查具有重要临床价值。同时可以减轻患者心理负担,节约宝贵的医疗资源,具有极大的社会经济学效益。可想而知,HPVE6/E7 mRNA的检测可以达到分流门诊HPV感染及早期或低级别宫颈病变患者的目的。此外,对于治疗后的CIN患者,也可利用HPVE6/E7 mRNA检测进行随访,有效评估复发风险<sup>[16]</sup>。综上所述,HPVE6/E7 mRNA基因检测对于HPV感染者具有一定的分流意义,有助于减轻患者心理负担、避免临床上的过度治疗。同时对于宫颈病变的筛查具有临床价值,与HPV DNA检测结合使用有利于综合评估患者发生宫颈病变的风险。

#### [参考文献]

[1] 林婷婷,孙蓬明,宋一一. HPV基因分型检测在宫颈高

(下转第1420页)

- 证心血管医学杂志,2014,12(3):281-284
- [15] Bonaca MP, Bhatt DL, Cohen M, et al. Long-term use of ticagrelor in patients with prior myocardial infarction[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(19):1791-1800
- [16] Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The task force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)[J]. *Eur Heart J*, 2011, 32(23):2999-3054
- [17] Bonello L, Laine M, Kipson N, et al. Ticagrelor increases adenosine plasma concentration in patients with an acute coronary syndrome[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(9):872-877
- [18] Cattaneo M, Faioni EM. Why does ticagrelor induce dyspnea?[J]. *Thromb Haemost*, 2012, 108(6):1031-1036
- [19] Storey RF, Becker RC, Harrington RA, et al. Characterization of dyspnoea in PLATO study patients treated with ticagrelor or clopidogrel and its association with clinical outcomes[J]. *Eur Heart J*, 2011, 32(23):2945-2953
- [20] Gaubert M, Laine M, Richard T, et al. Effect of ticagrelor-related dyspnea on compliance with therapy in acute coronary syndrome patients[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 173(1):120-121
- [收稿日期] 2017-06-29

(上接第1403页)

- 级别病变治疗后的应用进展[J]. *国际妇产科学杂志*, 2017, 44(4):381-384
- [2] 温娜, 孟元光. HPV E6/E7致病机制及在宫颈癌中的研究进展[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2017, 18(1):92-94
- [3] 朱琳. TCT、HPV DNA分型联合阴道镜检查在宫颈病变筛查中的作用[J]. *中国妇幼保健*, 2017, 32(14):3375-3378
- [4] 王建东. HPV用于宫颈癌一线筛查的利和弊[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2015, 16(1):3-4
- [5] 郝敏, 金影, 郝增平. 绝经期与非绝经期高级别宫颈上皮内瘤变及宫颈癌患者临床特点分析[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2017, 18(3):257-258
- [6] 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
- [7] Halec G, Schmitt M, Dondog B, et al. Biological activity of probable/possible high-risk human papillomavirus types in cervical cancer[J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(1):63-71
- [8] 陈颖, 林文毅, 周萍. TCT联合HPV E6/E7在宫颈癌筛查中的应用[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(15):2216-2218
- [9] 吕秀芳. 人乳头状瘤病毒E6/E7 mRNA研究进展[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2016, 30(2):111-113
- [10] Pierry D, Weiss G, Lack B, et al. Intracellular human papillomavirus E6, E7 mRNA quantification predicts CIN2+ in cervical biopsies better than Papanicolaou screening for women regardless of age[J]. *Arch Pathol Laborat Med*, 2012, 136(8):956-960
- [11] Ho CM, Pan KY, Chen YY, et al. Clinical performance of multiplex high-risk E6 mRNA expression in comparison with HPV DNA subtypes for the identification of women at risk of cervical cancer[J]. *J Med Virol*, 2015, 87(8):1404-1412
- [12] Liu TY, Xie R, Luo L, et al. Diagnostic validity of human papilloma-virus E6/E7 mRNA test in cervical cytological samples[J]. *J Virol Methods*, 2014, 196:120-125
- [13] Li SR, Liu DQ, Hu FY. TNF- $\alpha$ , E2, E6 and E7 in different cervical lesion and correlation analysis between them[J]. *J Int Obstet Gynecol*, 2014, 41(3):321-323
- [14] Munkhdelger J, Choi Y, Lee D, et al. Comparison of the performance of the NucliSENSEasyQ HPV E6/E7 mRNA assay and HPV DNA chip for testing squamous cell lesions of the uterine cervix[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014, 79(4):422-427
- [15] 吕素媚, 闫中英, 李向飞. 2014年抚宁县农村妇女宫颈癌前病变筛查的数据分析[J]. *中国妇幼保健*, 2017, 32(9):1888-1890
- [16] Benevolo M, Vocaturo A, Caraceni D, et al. Sensitivity, specificity and clinical value of human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA assay as a triage test for cervical cytology and HPV DNA test[J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(7):2643-2650
- [收稿日期] 2018-02-05