

HPV L1 壳蛋白表达与宫颈病变严重程度的关系研究

赵 静

作者单位:271608 肥城市,山东省肥城市肥城矿业中心医院检验科

【摘要】 目的 研究人类乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)L1 壳蛋白的表达与宫颈病变严重程度的关系。**方法** 选取 2013 年 2 月~2013 年 8 月于我院妇科就诊的宫颈病变患者 529 例,所有患者均行薄层液基细胞学检查和组织病理学检查,同时行宫颈活检并采用免疫组织化学法检测 HPV L1 壳蛋白的表达并分析其与不同程度宫颈病变的相关性。**结果** 529 例宫颈病变患者中,组织病理学检查的总符合率为 87.52%(463/529)。宫颈细胞学检查中,HPV L1 壳蛋白在 529 例宫颈病变患者中的阳性表达率为 29.11%(154/529),其中在未见上皮内病变或恶性病变、未明确意义的不典型鳞状上皮细胞、低度鳞状上皮内病变、高度鳞状上皮内病变、鳞状上皮癌中的表达率分别为 20.16%、36.97%、65.15%、18.39%、0.00%,各组间 HPV L1 壳蛋白阳性表达率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);在慢性宫颈炎、宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN) I、CIN II、CIN III 和宫颈癌中,HPV L1 壳蛋白的阳性表达率分别为 26.16%、60.76%、29.33%、16.54%、0.00%,各组的 HPV L1 壳蛋白阳性表达率差异有统计学意义($P < 0.05$)。HR-HPV DNA 结果显示,随着 HR-HPV DNA 负荷量的增加,HPV L1 蛋白的表达水平逐渐升高,除 HR-HPV DNA 1.1~9.9 pg/mL 组与 10~100 pg/mL 组之间差异无统计学意义外,其余各组之间两两比较差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。**结论** HPV L1 壳蛋白的表达随宫颈病变程度的加重而降低,HPV L1 壳蛋白表达的检测对癌前病变的筛查和预防有着重要意义。

【关键词】 免疫组织化学法; HPV L1 壳蛋白; 宫颈病变; 组织病理学; 薄层液基细胞学; HPV DNA
doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2014.03.007

Relationship research between HPV L1 protein expression and cervical lesions degree

ZHAO jing. Department of Clinical laboratory, Feicheng Mining Center Hospital, Feicheng 271608, China

【Abstract】 Objective To research the relationship between expression of HPV L1 protein and severity of cervical lesions. **Methods** 529 cases patient were collected in our hospital from February 2013 to August 2013. All patients were detected by liquid-based cytology test and histopathology. HPV L1 protein was detected by immunohistochemistry. All data were analyzed statistically. **Results** In 529 case patient, the total accordance rate of histopathology was 87.52% (463/529). In liquid-based cytology test, positive rate of HPV L1 protein in 529 case patient was 29.11% (154/529), with in no intraepithelial lesion or malignant lesion, atypical squamous cell of unde-terminated significance, low squamous intraepithelial lesion, high squamous intraepithelial lesion and squamous cell carcinoma was 20.16%, 36.97%, 65.15%, 18.39% and 0.00% respectively, and the difference among these groups had statistical significance ($P < 0.05$). In histopathology, positive rates of HPV L1 protein in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I, CIN II, CIN III and cervical cancer was 26.16%, 60.76%, 29.33%, 16.54% and 0.00% respectively, and the difference among these groups had statistical significance ($P < 0.05$). HR-HPV DNA detection showed that with HR-HPV DNA capacity increased, level of HPV L1 protein was increasing. There were statistical significance among these groups except between 1.1~9.9 pg/mL and 10~100 pg/mL ($P < 0.05$). **Conclusion** Expression of HPV L1 protein decrease with increasing degree of cervical lesions. It has important significance in screening and prevention of precancerous lesions of the expression of HPV L1 protein.

【Key words】 Immunocytochemistry method; HPV L1 protein; Cervical lesions; Histopathology; Liquid-based cytology; HPV DNA

宫颈癌是临床上常见的妇科恶性肿瘤之一,其发病率仅次于乳腺癌,我国每年大约近 3 万人死于

宫颈癌^[1]。近年来,由于环境恶化及生活、工作的压力增加,宫颈癌发病有年轻化的趋势。由于宫颈癌的

形成需要一段较长的、可逆转的癌前病变期,因此,早期发现、早期诊断有助于降低宫颈癌死亡率^[2]。引起宫颈癌的病因主要是感染高危型人类乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV),其中 HPV L1 壳蛋白为 HPV 的主要壳蛋白,对 HPV L1 壳蛋白表达的检测可体现 HPV 的感染状态。本文采用免疫组织化学法检测 HPV L1 壳蛋白的表达,并进一步分析研究其与宫颈病变严重程度的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2013 年 2 月至 2013 年 8 月于我院妇科就诊的 529 例妇女,平均年龄(34.6±14.7)岁,均进行宫颈薄层液基细胞学、HR-HPV DNA 及组织病理学检查,其中慢性宫颈炎 237 例、宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN) I 79 例、CIN II 71 例、CIN III 133 例及浸润性宫颈鳞癌 5 例。纳入标准:无子宫手术史或子宫切除史,受检时无妊娠。

1.2 方法

1.2.1 宫颈薄层液基细胞学检查 在阴道扩张器辅助下操作,将专用宫颈刷插入宫颈管内,当周边的刷丝触碰到宫颈外口黏膜面时,顺时针或逆时针旋转 3~5 圈。卸下刷头将其放入盛有细胞固定液的标本瓶中,盖紧瓶盖充分摇匀,贴上标签后备用,经 Thin-Prep 2000 系统程序化处理制成直径为 18 mm 的薄层细胞片。进行巴氏染色,所有巴氏染色片均由两位经验丰富的病理医师阅片。依据 TBS 分级系统^[3]分为 5 组:(1)未见上皮内病变或恶性病变(no intraepithelial lesion or malignant lesion, NILM);(2)未明确意义的不典型鳞状上皮细胞(atypical squamous cell of unde-termined significance, ASCUS);(3)低度鳞状上皮内病变(low squamous intraepithelial lesion, LSIL);(4)高度鳞状上皮内病变(high squamous intraepithelial lesion, HSIL)及原位癌;(5)鳞状上皮癌(squamous cell carcinoma, SCC)。

1.2.2 HPV-DNA 检测 用杂交捕获二代系统对所取标本行 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45 等 13 种常见的 HPV 高危型别检测。HR-HPV DNA> 1.0 pg/mL 为阳性。

1.2.3 组织病理学检测 所有患者均行阴道镜检查,对宫颈异常部位进行活检,必要时行宫颈管搔刮。所有标本由经验丰富的组织病理学医师统一诊断。诊断结果分为:慢性宫颈炎、CIN I、CIN II、CIN III 及浸润性宫颈鳞癌^[4]。阴道镜检查的诊断标准依据 1990 年国际宫颈病理及阴道镜会议统一的新分

类和名词及 Reid 阴道镜评分标准进行。其阳性图像特征表现为:白斑、醋酸白色上皮、异型血管、镶嵌及碘不着色。评分标准依据颜色、血管、边界及碘试验来评定:0 分为慢性宫颈炎或正常,1~2 分为 CIN I,3~5 分为 CIN II,6~8 分为 CIN III;脑回样不透明上皮、猪油样、异型血管且厚重粗白上皮则疑为浸润性宫颈鳞癌。

1.2.4 HPV L1 壳蛋白的检测 采用免疫组织化学法检测 HPV L1 壳蛋白,具体操作按组织或细胞 HPV 检测试剂盒(美国 Advanced 公司)说明书进行。结果判断标准:只要有 1 个被染红的病变细胞核存在即判断为 HPV L1 蛋白阳性。

1.2.5 两种方法检测结果的符合率计算 以组织病理学分级为基准,宫颈细胞学检查结果与组织病理学分级上下相差 1 级即为符合。如 ASCUS 与 CIN I 相对应,则慢性宫颈炎、CIN I、CIN II 与 ASCUS 即判为符合。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 15.0 统计软件对数据进行分析,计数资料的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检查结果的比较 529 例宫颈疾病患者中,根据宫颈细胞学检查结果分组,NILM 为 253 例(47.83%),ASCUS 为 119 例(22.50%),LSIL 为 66 例(12.48%),HSIL 为 87 例(16.45%),SCC 为 4 例(0.76%);根据组织病理学检查结果分组,慢性宫颈炎为 237 例(44.80%),CIN I 为 79 例(14.93%),CIN II 为 75 例(14.18%),CIN III 为 133 例(25.14%),宫颈癌为 5 例(0.95%)。以组织病理学检查结果上、下相差 1 级即为符合计算符合率,宫颈液基细胞学检查与组织病理学检查的总符合率达 87.52%(463/529),见表 1。

2.2 HPV L1 壳蛋白在不同宫颈细胞学分级中的表达 HPV L1 壳蛋白在 529 例宫颈病变患者中的阳性表达率为 29.11%(154/529)。在宫颈细胞学检查不同分级中的阳性率分别为 NILM 20.16%(51/253)、ASCUS 36.97%(44/119)、LSIL 65.15%(43/66)、HSIL 18.39%(16/87)、SCC 0.00%(0/4)。各组患者 HPV L1 壳蛋白的阳性表达率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 34.637, P = 0.000$),见表 2。

2.3 HPV L1 壳蛋白在不同组织病理结果中的表达情况 由表 3 可知,HPV L1 壳蛋白在慢性宫颈炎、CIN I、CIN II、CIN III 和宫颈癌中的阳性表达率分别为 26.16%(62/237)、60.76%(48/79)、29.33%(30/

表 1 宫颈细胞学检查与组织病理学检查结果的比较(例)

组别	例数	宫颈炎	CIN I	CIN II	CIN III	宫颈癌	符合	
							例数	百分比(%)
NILM	253	181	34	21	17	0	215	84.98
ASCUS	119	47	30	28	14	0	105	88.24
LSIL	66	8	10	14	34	0	58	87.88
HSIL	87	1	5	12	68	1	81	93.10
SCC	4	0	0	0	0	4	4	100.00
合计	529	237	79	75	133	5	463	87.52

表 2 HPV L1 壳蛋白在不同宫颈细胞学检查结果中的表达情况

组别	例数	HPV L1	
		阳性例数	阳性率(%)
NILM	253	51	20.16
ASCUS	119	44	36.97
LSIL	66	43	65.15
HSIL	87	16	18.39
SCC	4	0	0.00
合计	529	154	29.11

71)、16.54%(18/133)、0.00%(0/5), 各组患者 HPV L1 壳蛋白的阳性表达率差异有统计学意义 ($\chi^2=20.833, P=0.000$)。

表 3 HPV L1 壳蛋白在不同组织病理学检查结果中的表达情况

病理组织	例数	HPV L1	
		阳性例数	阳性率(%)
慢性宫颈炎	237	62	26.16
CIN I	79	48	60.76
CIN II	75	22	29.33
CIN III	133	22	16.54
宫颈癌	5	0	0.00
合计	529	154	29.11

2.4 HPV L1 壳蛋白在不同 HR-HPV DNA 检测结果中的表达 依照有关文献^[5],将 HR-HPV DNA 按负荷量分为四组:1.1~9.9 pg/mL,10~100 pg/mL,101~1000 pg/mL,>1000 pg/mL, 各组的 HPV L1 壳蛋白阳性表达率分别为 8.33%、16.10%、30.70%、53.15%。随 HR-HPV DNA 负荷量的增加,HPV L1 壳蛋白阳性表达率明显升高,除 1.1~9.9 pg/mL 组与 10~100 pg/mL 组之间差异无统计学意义外,其余各

组之间差异均有统计学意义(P 均 <0.05),见表 4。

表 4 HPV L1 壳蛋白在不同 HR-HPV DNA 检测结果中的表达情况

负荷量	例数	HPV L1	
		阳性例数	阳性率(%)
1.1~9.9 pg/mL ^a	72	6	8.33
10~100 pg/mL ^b	118	19	16.10
101~1000 pg/mL ^c	228	70	30.70
>1000 pg/mL ^d	111	59	53.15
合计	529	154	29.11

注:a 与 c 比较 $\chi^2=14.474, P=0.000$;a 与 d 比较 $\chi^2=38.305, P=0.000$;b 与 c 比较 $\chi^2=8.675, P=0.003$;b 与 d 比较 $\chi^2=34.961, P=0.000$;c 与 d 比较 $\chi^2=15.964, P=0.000$

3 讨论

宫颈癌占女性恶性肿瘤发病率的第 2 位,是最常见的妇科恶性肿瘤之一^[6]。在 70 年代初期,有人提出宫颈癌可能由 HPV 感染引起,在以后的诸多研究中这个结论被证实,HPV 为球形 DNA 病毒,属于乳多空病毒科的乳头瘤空泡病毒 A 属。人类为 HPV 的唯一宿主,HPV 不仅能利用宿主细胞复制机制复制自身的 DNA 及转录成自身的 RNA,同时利用胞浆蛋白合成 HPV 的壳蛋白 L1 和 L2,再与裸核的 HPV 组装成成熟的病毒颗粒,而 L1 壳蛋白是 HPV 主要的结构蛋白^[7]。人体主要靠细胞免疫反应来抵御 HPV 的局部感染,HPV 的主要壳蛋白 L1 为细胞免疫杀伤 HPV 的攻击位点,其与 T 细胞 CD4/CD8 及主要组织相容性抗原 I/II 形成的免疫复合物能激活免疫连锁反应,并在局部形成高浓度的免疫抗体^[8]。因此,当宫颈上皮细胞刚受到 HPV 感染且病毒处于复制阶段时,其特点是 HPV L1 壳蛋白在组织或者细胞中表达,此时,L1 的表达反而有利于激发人体细胞免疫清除感染的细胞,但是当 HPV 病毒

DNA 整合到细胞核宿主基因后, HPV L1 壳蛋白表达缺失, 机体无法通过 HPV L1 壳蛋白激活免疫反应来清除病变细胞, 进一步引发宫颈病变^[9]。因此, HPV L1 壳蛋白的表达意味着非进展性的病变, 而其缺失则是 HPV 相关恶性转化的分子基础^[10]。

本文研究发现, 在不同宫颈细胞学检查结果中, HPV L1 壳蛋白的阳性表达率分别为 NILM 20.16%、ASCUS 36.97%、LSIL 65.15%、HSIL 18.39%、SCC 0.00%, 其中 LSIL 中 HPV L1 壳蛋白的阳性表达率明显高于 HSIL 和 SCC, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明 LSIL 期时 HPV L1 壳蛋白呈现高表达, 随着宫颈病变程度的加重, 进入 HSIL 期时 HPV L1 壳蛋白表达明显下降, 进入 SCC 期后, HPV L1 壳蛋白不表达, 由此说明随着宫颈细胞学检查结果加重, HPV L1 壳蛋白的阳性表达率逐渐减少。HPV L1 的在宫颈炎中的表达率较低, 这是因为 HPV 处于潜伏感染, 其不表达或者低表达 L1 蛋白。对于 HPV L1 蛋白在 NILM、CIN III 及 SCC 中 HPV L1 的表达率均很低的现象, 说明 HPV 处于两种病毒 DNA 状态: 一是病毒 DNA 整合到宿主 DNA 中; 二是低或无 HPV 蛋白合成和无 HPV 复制的潜伏感染^[11]。

在组织病理学分型中, 慢性宫颈炎、CIN I、CIN II、CIN III 和宫颈癌患者 HPV L1 壳蛋白的阳性表达率分别为 26.16%、60.76%、29.33%、16.54%、0.00%, CIN I 中 HPV L1 壳蛋白的阳性表达率明显高于 CIN II、CIN III 和宫颈癌, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明随着宫颈病变程度的加重, HPV L1 壳蛋白阳性表达率呈下降趋势。

在不同 HR-HPV DNA 检测结果中的表达结果显示, 随 HR-HPV DNA 负荷量的增加, HPV L1 壳蛋白阳性表达率明显升高, 除 1.1~9.9 pg/mL 组与 10~100 pg/mL 组之间差异无统计学意义外, 其余各组之间差异均有统计学意义。HR-HPV DNA 大量复制表明 HPV 病毒正处于大量生成状态, 但其还未整合到宿主 DNA 中, 因此 HPV L1 壳蛋白也在大量生成, 此时预示着宫颈可能处于病变加重或者好转的前期, 因为机体可以通过 HPV L1 壳蛋白激活免疫反应来清除病变细胞, 然而高负荷的 HPV 病毒 DNA 也易整合到宿主 DNA 中, 导致 HPV L1 壳蛋白表达降低, 进一步引发宫颈病变。因此 HR-HPV

DNA 检测反映宫颈病变程度的特异性低, 结合 HPV L1 壳蛋白检测有助于对宫颈癌前病变的筛查和早期诊断。

综上所述, 本文采用免疫组织化学法检测 HPV L1 壳蛋白的表达, 结果表明 HPV L1 壳蛋白的表达与宫颈病变的严重程度存在一定关系, 随着宫颈病变程度的加重, HPV L1 壳蛋白阳性表达率呈下降趋势。对 HPV L1 壳蛋白的检测有助于对宫颈癌前病变的筛查和预防。

4 参考文献

- 1 O'Hanlan KA. Comprehensive, therapeutic retroperitoneal pelvic and infrarenal aortic lymphadenectomy for advanced cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*, 2013, 130: 634-635.
- 2 Ellingsen C, Hompland T, Galappathi K, et al. DCE-MRI of the hypoxic fraction, radioresponsiveness, and metastatic propensity of cervical carcinoma xenografts. *Radiother Oncol*, 2014, 110: 335-341.
- 3 严育宏, 崔海栋. 壳聚糖基愈创非织布治疗宫颈出血疗效观察. *中国生化药物杂志*, 2010, 31: 53-54.
- 4 冷若冰, 唐良菡. HPV L1 壳蛋白检测联合细胞学在宫颈病变筛查中的临床应用. *中国现代医学杂志*, 2011, 21: 3506-3509.
- 5 黄斌, 李瑞珍, 刘志红, 等. HPV L1 壳蛋白在宫颈脱落细胞中的表达及临床意义. *华中科技大学学报: 医学版*, 2009, 38: 824-828.
- 6 Chengquan Zhao, Wei Hong, Zaibo Li, et al. Human papillomavirus testing and cytologic/histopathologic "test of cure" follow-up results after excisional treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Journal of the American Society of Cytopathology*, 2014, 3: 15-20.
- 7 Tjalma WA, Depuydt CE. Cervical cancer screening: which HPV test should be used—L1 or E6/E7? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2013, 170: 45-46.
- 8 钱敏, 姚芳芳, 尤志学, 等. 宫颈脱落细胞中 HPV L1 壳蛋白的表达及临床意义. *中国妇产科临床杂志*, 2013, 14: 30-33.
- 9 邹大喜. 宫颈细胞学传统制片与液基制片在宫颈病变筛查中的应用价值. *中国妇幼保健*, 2013, 28: 4735-4737.
- 10 吕净上, 付秀虹, 王慧芬, 等. 人乳头瘤病毒 L1 壳蛋白在子宫颈上皮内瘤变患者中的表达及其意义. *中国妇产科临床杂志*, 2013, 11: 443-445.
- 11 智艳芳, 李肖甫, 班振英, 等. HPV L1 衣壳蛋白在不同宫颈病变的表达及临床意义. *实用检验医师杂志*, 2013, 5: 142-146.

(收稿日期: 2014-08-01)

(本文编辑: 杨军)