

HPV E6/E7 mRNA 联合细胞学检查用于 子宫颈癌早期筛查的初步评价

陈琼 涂媛 章培

(成都市第二人民医院病理科, 四川 成都 610021)

【摘要】 目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV) E6/E7 mRNA 联合液基薄层细胞学检查(TCT) 用于宫颈癌早期筛查的初步评价。方法 收集 2015 年 10 月—2019 年 7 月在本院进行宫颈癌筛查患者 825 例, 均进行 HPV E6/E7 mRNA、TCT 检测, 以组织病理学为金标准, 分析 HPV E6/E7 mRNA 与 TCT 联合检测用于评估患者宫颈病变风险的诊断效能。结果 HPV E6/E7 mRNA 检测和 TCT 检测不同病理分级患者宫颈慢性炎、低级别鳞状上皮内病变(LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)、宫颈癌的阳性率分别为 12.17%、39.04%、86.61%、87.88% 和 36.51%、82.89%、82.14%、81.82%。HPV E6/E7 mRNA 检测的敏感性为 86.90%, 特异性为 80.44%, 准确性为 81.58%。TCT 检测的敏感性为 82.07%, 特异性为 50.74%, 准确性为 56.24%。HPV E6/E7 mRNA 联合 TCT 检测的敏感性为 70.34%, 特异性为 83.68%, 准确性为 81.33%。HPV E6/E7 mRNA 与 TCT 联合检测特异性高于单一检测, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。HPV E6/E7 mRNA 与 TCT 两种检测方法的受试者工作特征曲线(ROC)曲线下面积(AUC) 分别为 0.837 和 0.664, 两者联合检测的 AUC 为 0.860, 差异性显著($P < 0.001$), 提示联合诊断可提高诊断宫颈 HSIL 的性能。结论 HPV E6/E7 mRNA 联合 TCT 能够更好预测宫颈病变的进展, 且针对高级别病变的筛查具有更高的特异性, 可为临床宫颈癌筛查提供参考。

【关键词】 宫颈癌; 筛查; 人乳头瘤病毒; E6/E7 mRNA; 液基薄层细胞学检查

【中图分类号】 R711.74 **【文献标志码】** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-3511.2024.05.024

Preliminary evaluation of HPV E6/E7 mRNA and cytology test for early screening of cervical cancer

CHEN Qiong, TU Yuan, ZHANG Pei

(Department of Pathology, Chengdu Second People's Hospital, Chengdu 610021, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the preliminary evaluation of HPV E6/E7 mRNA combined with cytology for early screening of cervical cancer. **Methods** A total of 825 patients who underwent cervical cancer screening in our hospital from October 2015 to July 2019 were collected. HPV E6/E7 mRNA and TCT were detected, and the diagnostic efficacy was analyzed using histopathology as the standard to evaluate the risk of cervical lesions in patients. **Results** The positive rates of cervical chronic inflammation, low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) and cervical cancer detected by HPV E6/E7 mRNA and TCT were 12.17%, 39.04%, 86.61%, 87.88% and 36.51%, 82.89%, 82.14% and 81.82%, respectively. The sensitivity, specificity and accuracy of HPV E6/E7 mRNA detection were 86.90%, 80.44% and 81.58% respectively. The sensitivity, specificity and accuracy of TCT were 82.07%, 50.74% and 56.24% respectively. The sensitivity, specificity and accuracy of HPV E6/E7 mRNA combined with TCT were 70.34%, 83.68% and 81.33%, respectively. The specificity of HPV E6/E7mRNA combined with TCT was higher than that of single detection, and the difference was statistically significant ($P < 0.001$). The area under ROC curve of HPV E6/E7 mRNA and TCT were 0.837 and 0.664, respectively, and the area under ROC curve of the combined detection of HPV E6/E7 mRNA and TCT was 0.860, and the difference was statistically sig-

通讯作者: 章培, 主任医师, Tel: 18981798111

引用本文: 陈琼, 涂媛, 章培. HPV E6/E7 mRNA 联合细胞学检查用于子宫颈癌早期筛查的初步评价[J]. 西部医学, 2024, 36(5): 755-759. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2024.05.024

nificant ($P < 0.001$), which suggesting that the combined diagnosis can improve the performance of the diagnosis of cervical HSIL+. **Conclusion** HPV E6/E7 mRNA combined with TCT can better predict the progression of cervical lesions, and has higher specificity for high-grade cervical lesions, and can provide reference for clinical cervical cancer screening.

【Key words】 Cervical cancer; Screening; HPV E6/E7 mRNA; Thin-prep cytology test

子宫颈癌是威胁女性生命的常见恶性肿瘤,根据 2020 年国际癌症研究机构统计分析,宫颈癌全球发病率、死亡率均排第 3 位^[1]。95% 以上宫颈癌与高危型人乳头瘤病毒(High risk human papillomavirus, HR-HPV)持续感染相关,早期通过筛查癌前病变可降低其发病率和死亡率^[2-3]。研究表明,高危型 HPV E6/E7 mRNA 表达水平与宫颈病变严重程度密切相关,检测 HPV E6/E7 mRNA 可以早期发现宫颈病变的风险^[4]。2019 年美国阴道镜和子宫颈病理学会基于风险的宫颈癌筛查结果异常和癌前病变的管理指南推荐高危型 HPV 检测,是风险评估的基础^[5]。在我国,子宫颈癌筛查方法多元化,细胞学检测是最主要的检测手段,随着临床 HPV 和细胞学共检测样本的日渐增多,本研究旨在通过 HPV E6/E7 mRNA 联合细胞学检查筛查具有宫颈病变风险的人群,探讨其在宫颈癌早期筛查中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 10 月—2019 年 7 月于本院妇科进行宫颈癌筛查患者 825 例,患者年龄 17~80 岁,平均(40.48±12.24)岁。均行 HPV E6/E7 mRNA 检测、TCT 检测及组织病理学检查。纳入标准:行 HPV E6/E7 mRNA 检测和 TCT 检测患者 3 天内不得进行阴道内给药;不得冲洗阴道;无性行为且非生理期;既往无 CIN 患病史、子宫全切术史、盆腔放射史等。排除标准:妊娠期和哺乳期女性。

1.2 方法

1.2.1 液基薄层细胞学检查(Thin-prep cytology test, TCT) 由本院两名专业病理医师阅片,结果判定参照 2001 Bethesda 系统分类标准。包括未见上皮内病变或恶性病变(No intraepithelial lesion or malignant cell, NILM);不典型鳞状细胞包括无明确诊断意义的非典型鳞状细胞(Atypical squamous cell of undetermined significance, ASCUS)和不能排除高级别鳞状上皮内病变的非典型鳞状细胞(Atypical squamous cell-cannot exclude HIS, ASC-H);低级别鳞状上皮内病变(Low-grade squamous intraepithelial lesions, LSIL)包括 CIN I、HPV 感染;高级别鳞状上皮内病变(High-grade squamous intraepithelial lesions, HSIL)包括 CIN II、CIN III 和原位癌;鳞状细胞

癌(Squamous cell carcinoma, SCC)和腺癌(Adenocarcinoma, AC)。判断标准:以 ASCUS、ASC-H、LSIL、HSIL、SCC 及 AC 为 TCT 阳性, NILM 为 TCT 阴性。

1.2.2 人乳头瘤病毒(Human papillomavirus, HPV) E6/E7 mRNA 检测检测 14 种高危型 HPV-16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 及 68 型,使用 HPV E6/E7 mRNA 试剂盒进行检测(郑州 Kodia 生物技术有限公司,支链 DNA 信号扩增法)。实验操作包括标本处理、探针杂交、信号放大,最后用化学发光免疫分析仪行读板测定,检测结果 ≥ 1 为阳性。

1.2.3 组织病理学检查 根据 2020 版 WHO 分类标准,宫颈组织病理诊断分为正常或慢性宫颈炎、LSIL、HSIL、宫颈浸润癌。以组织病理学结果为金标准,分别以 HSIL+为研究终点。将结果分为 HSIL-组(正常或慢性宫颈炎、LSIL)和 HSIL+组(HSIL、浸润癌)进行后续数据分析。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析,行 χ^2 检验,用敏感性、特异性及准确性描述 HPV E6/E7 mRNA 检测、TCT 检测及联合检测的诊断性能,并进一步采用 ROC 曲线分析上述检测方法的诊断效能。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 筛查结果 825 例疑似宫颈病变患者中,组织学诊断为 HSIL-患者 680 例(其中包括宫颈慢性炎 493 例, LSIL 187 例),诊断为 HSIL+患者 145 例(其中包括 CIN II 80 例, CIN III 32 例, 宫颈癌 33 例)。组织学为 HSIL-的患者占 82.42%, HSIL+的患者占 17.58%。

2.2 HPV E6/E7 mRNA 检测与组织病理学结果比较 分析 HPV E6/E7 mRNA 检测阳性 259 例,总阳性率为 31.39%, HPV E6/E7 mRNA 检测不同病理分级患者宫颈慢性炎、LSIL、HSIL、宫颈癌的阳性率分别为 12.17%、39.04%、86.61%及 87.88%。HSIL-组 E6/E7 mRNA 的阳性率为 19.56%, HSIL+组 E6/E7 mRNA 阳性率为 86.9%,差异具有统计学意义($\chi^2 = 297.07, P < 0.001$)。见表 1。

2.3 TCT 检测与组织病理学结果比较 分析 TCT 检测阳性 454 例,阳性率为 55.03%, TCT 检测不同病理分级患者宫颈慢性炎、LSIL、HSIL、宫颈癌的阳性率分别为 36.51%、82.89%、82.14%及 81.82%。

表 1 HPV E6/E7 mRNA 检测不同病理病变分级患者阳性情况(*n*)

Table 1 Positive rate of HPV E6/E7 mRNA detection in patients with different pathological lesions

HPV E6/E7 mRNA	<i>n</i>	HSIL-		HSIL+		χ^2	<i>P</i>
		宫颈慢性炎	LSIL	HSIL	宫颈癌		
阳性	259	60	73	97	29	297.07	<0.001
阴性	566	433	114	15	4		
合计	825	493	187	112	33		

HSIL-组 TCT 的阳性率为 49.26%，HSIL+组 TCT 阳性率为 82.07%，差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 169.80, P < 0.001$)。见表 2。

表 2 TCT 检测不同病理病变分级患者阳性情况(*n*)

Table 2 Positive rate of TCT in patients with different pathological lesions

TCT	<i>n</i>	HSIL-		HSIL+		χ^2	<i>P</i>
		宫颈慢性炎	LSIL	HSIL	宫颈癌		
阳性	454	180	155	92	27	169.80	<0.001
阴性	371	313	32	20	6		
合计	825	493	187	112	33		

2.4 HPV E6/E7 mRNA、TCT 检测结果比较 细胞学 ASCUS、LSIL、ASC-H、HSIL、宫颈癌患者 HPV E6/E7 mRNA 的阳性率均高于 NILM 患者 ($\chi^2 =$

57.257, $P < 0.05$)，随级别的增加，患者 HPV E6/E7 mRNA 的阳性率增加，见表 3。

表 3 HPV E6/E7 mRNA 检测不同 TCT 分级患者的阳性率情况

Table 3 Positive rate of HPV E6/E7 mRNA in patients with different TCT grades

TCT 分级	<i>n</i>	E6/E7 mRNA 阳性数(<i>n</i>)	E6/E7 mRNA 阳性率($\times 10^{-2}$)
NILM	371	46	12.40
ASCUS	280	103	36.79
LSIL	105	59	56.19
ASC-H	32	21	65.63
HSIL	36	29	80.56
宫颈癌	1	1	100.00

2.5 HPV E6/E7 mRNA、TCT 检测的诊断性能以组织学病理学结果为金标准，比较 HPV E6/E7 mRNA 检测与 TCT 检测的诊断效能。HPV E6/E7 mRNA 检测的特异性较 TCT 检测高，差异有统计学意义 ($\chi^2 = 164.23, P < 0.001$)，灵敏度与 TCT 比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.88, P > 0.05$)；HPV E6/E7 mRNA、TCT 联合检测特异性高于单独检测，差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。见表 4。

表 4 不同方法的诊断性能比较

Table 4 Comparison of diagnostic performance of different methods

筛查方式	敏感性 ($\times 10^{-2}$)	χ^2	<i>P</i>	特异性 ($\times 10^{-2}$)	χ^2	<i>P</i>	诊断准确性 ($\times 10^{-2}$)
HPV E6/E7 mRNA	86.90	0.88 ^①	0.348	80.44	164.23 ^①	<0.001	81.58
TCT	82.07	39.02 ^②	<0.001	50.74	244.00 ^②	<0.001	56.24
HPV E6/E7 mRNA+TCT	70.34	22.04 ^③	<0.001	83.68	20.05 ^③	<0.001	81.33

注：①与 TCT 比较；②与 HPV E6/E7 mRNA+TCT 比较；③与 HPV E6/E7 mRNA 比较。

2.6 不同检测方法 对所有纳入研究患者进行 ROC 曲线分析，计算曲线下面积(AUC)，判断 HPV E6/E7 mRNA 与 TCT 两种方法诊断 HSIL+的性能。HPV E6/E7 mRNA、TCT 两种检测方法的 ROC 曲线下面积分别为 0.837、0.664，两者联合检测的 ROC 曲线下面积为 0.860，差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。见图 1。

3 讨论

HPV 感染是女性生殖道发生癌前病变及相关癌症的主要因素^[6]。在宫颈病变的发生发展过程中，高危型 HPV 感染宿主细胞后将 E6、E7 DNA 整合入宿主细胞基因组中，转录出大量 E6、E7 mRNA，生成 E6、E7 癌蛋白，造成抑癌蛋白 P53、pRb 失活，通过激活端粒酶、与 AP-1 转录因子家族结合等途径，导致细胞周期调控紊乱、细胞凋亡抑制以及肿瘤细胞的转化和维持，最终导致宫颈癌的发生^[7]。相关研究表明，HPV E6/E7 mRNA 转录是评估病变进展风险的生物

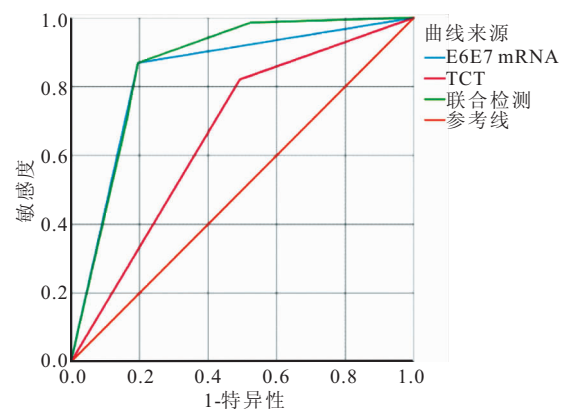


图 1 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve

标志物，检测 HPV E6/E7 mRNA 能预测细胞病变或转归的状态^[8-9]。而在 2012 年，HPV E6/E7 mRNA 检测技术就已通过美国 FDA 批准用于宫颈癌筛查^[10]。

TCT 是目前临床上应用较多的一种宫颈癌筛查方法,但由于其敏感性低和重复性差,且不能有效预测早期病变风险,需要寻找其它检测方法补充细胞学筛查^[11-13]。近年来有报道指出,HPV E6/E7 mRNA 联合 TCT 检测可提高诊断敏感度和特异性,弥补单一诊断的假阳性或假阴性率,提高宫颈癌早期筛查的准确性^[14-16]。本研究纳入 825 例宫颈病变筛查患者,结果显示,随着组织病理学和细胞学病变程度增加,HPV E6/E7 mRNA 检测的阳性率增加,与 Zhang 等^[16]研究结果一致,表明 HPV E6/E7 mRNA 检测阳性与宫颈病变程度有关。本研究中,HSIL+组、HSIL-组 HPV E6/E7 mRNA 阳性率分别为 86.9%、19.56%,且差异有统计学意义($P<0.001$),HSIL+组患者的 HPV E6/E7 mRNA 阳性率高于 HSIL-组。而 Granados 等^[17]和 Liu 等^[18]的两项研究均显示,所有 CIN2+病变的 HPV mRNA 检测均为阳性。以上表明 HPV E6/E7 mRNA 的转录情况与宫颈发生高级别病变密切相关。

国外一项回顾性分析,纳入了 23 576 例年龄 15~84 岁有不同宫颈病变患者,CIN2+的比例在 10.6%~90.6%之间,以组织学为金标准,APTIMA、Pre-Tect Proofer、Quantivirus HPV E6/E7 mRNA 三种检测方法检测 CIN2+的中位敏感性和特异性分别为 91.4%和 46.2%、83%和 73%、86.1%和 54.6%;其中 6 项研究报道了 HPV E6/E7 mRNA 检测 ROC 面积用于诊断高级别宫颈病变(CIN2+),报告的 AUC 范围为 63.8%~90.9%,总体 mRNA 检测的中位敏感性为 87.7%,中位特异性 70.7%;分析指出,基于 HPV mRNA 的检测方法对于发现 CIN2+具有诊断相关性^[19]。一项内宫颈癌筛查研究显示,HPV mRNA 检测 CIN2 和 CIN3 的敏感性分别为 93.8% (95% CI: 89.7~96.4)、95.7% (95% CI: 91.3~97.9),高于液基细胞学:80.4% (95% CI: 74.5~85.2)、88.8% (95% CI: 83.0~92.8);但检测 CIN2 和 CIN3 的特异性 79.0% (95% CI: 74.2~83.0)、70.5% (95% CI: 65.7~74.9),低于液基细胞学 84.5% (95% CI: 80.1~88.0)、79.8% (95% CI: 75.4~83.6)^[16]。此外,也有相对极端的检测结果,如 Sorbe 等^[20]报道的 HPV mRNA 检测特异性为 92.5%,Persson 等^[21]报道的特异性为 25%。

本研究中,对诊断 HSIL+,TCT 检测的敏感性较高(82.07%)、特异性较低(50.74%),而 HPV E6/E7 mRNA 检测具有较高的敏感性(86.90%)和特异性(80.44%)。与单独 HPV E6/E7 mRNA 或 TCT 检测相比,HPV E6/E7 mRNA 联合 TCT 检测诊断本

组患者的特异性更高。进一步行 ROC 曲线分析,HPV E6/E7 mRNA、TCT 两种检测方法的 AUC 分别为 0.837、0.664,两者联合检测 AUC 为 0.860,差异有统计学意义($P<0.001$),与过往研究相似^[19]。以上提示 HPV E6/E7 mRNA 联合 TCT 检测可互相弥补,对诊断高级别病变可提高诊断效能。

本研究发现联合筛查的特异性高于单一检测方法,但是其检测的敏感性要低于单一检测方法,分析原因:①可能受临床医师取材、实验操作、细胞病理诊断等相关因素影响。②在评估 mRNA 检测准确性时使用组织学证实的 HSIL+作为研究终点是一个挑战,病变会出现逆转(假阳性)或进展(假阴性)。因此在宫颈癌筛查时,采用标准化的诊疗流程至关重要,加强对实验人员的培训,提高专业人员的操作和诊断水平,尽可能更早、更准确地识别有病变风险和高级别病变的患者。

4 结论

在宫颈病变筛查过程中,HPV E6/E7 mRNA 检测阳性的女性,宫颈病变恶性进展的风险更大,应关注患者病变的风险,降低阴道镜转诊或活检率。单一的筛查方法(TCT 或 HPV E6/E7 mRNA 检测)尚不能完全满足这个要求。推荐在临床上进行 HPV E6/E7 mRNA 检测联合 TCT 检查,为临床选择宫颈病变筛查方法提供参考。

【参考文献】

- [1] FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, *et al.* Cancer statistics for the year 2020: An overview[J]. *Int J Cancer*, 2021;1-12.
- [2] YANG H, LI SP, CHEN Q, *et al.* Barriers to cervical cancer screening among rural women in eastern China: a qualitative study[J]. *BMJ open*, 2019, 9(3): e026413.
- [3] ACHARYA PANDEY R, KARMACHARYA E. Cervical cancer screening behavior and associated factors among women of Ugrachandi Nala, Kavre, Nepal[J]. *Eur J Med Res*, 2017, 22(1): 32.
- [4] PERKINS R B, GUIDO R S, CASTLE P E, *et al.* 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines for Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors[J]. *J Low Genit Tract Dis*, 2020, 24(2): 102-131.
- [5] 唐丹, 郗明蓉. 2019 年美国阴道镜和子宫病理学会子宫颈癌筛查和管理指南在中国的参考意义和启示[J]. *实用妇产科杂志*, 2021, 37(12): 904-906.
- [6] SENDAGORTA-CUDÓSE, BURGOS-CIBRIÁN J, RODRÍGUEZ-IGLESIAS M. Genital infections due to the human papillomavirus[J]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2019, 37(5): 324-334.
- [7] ASIAF A, AHMAD S T, MOHAMMAD S O, *et al.* Review of the current knowledge on the epidemiology, pathogenesis, and prevention of human papillomavirus infection [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2014, 23(3): 206-224.
- [8] REID J L, WRIGHT TC JR, STOLER M H, *et al.* Human pap-

