

高危型 HPV 负荷量与宫颈病变及术后随访的相关研究

郎妙双, 马成美

(永康市中医院, 浙江 金华 321300)

摘要: [目的] 探讨高危型 HPV 负荷量与宫颈病变及术后病毒持续感染的关系。[方法] 对 2008 年 1 月至 2012 年 11 月体检发现的高危型 HPV 阳性且行宫颈 LEEP 术的 749 例患者临床资料及随访结果进行分析, 观察高危型 HPV 负荷量与宫颈病变及术后病毒持续感染的关系。[结果] 高危型 HPV 负荷量越大, 宫颈病变级别越高。术后 3 个月高危型 HPV 阳性率约 27.9%; 术后 6 个月约 8.3%; 术后 9 个月约 4.0%。宫颈 LEEP 术后 3、6 个月患者高危型 HPV 阳性表达率下降显著 (术后 3 个月 vs 术前: $\chi^2=844.38$, $P=0.0001$; 术后 6 个月 vs 术后 3 个月: $\chi^2=97.35$, $P=0.0001$); 术后 9 个月高危型 HPV 阳性表达率较术后 6 个月下降, 但无显著性差异。术前高危型 HPV 负荷量 <100RLU/CO、100~1000RLU/CO 及 >1000RLU/CO 三组术后 6 个月复查 HPV 阳性率分别为 5.3%、9.4% 及 12.9% ($P<0.05$)。[结论] 高危型 HPV 负荷量与宫颈病变严重程度及持续感染存在明显相关性, 针对高负荷量者需严密诊治及随访。

关键词: 宫颈病变; 人乳头瘤病毒; 病毒负荷量; 随访

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X (2014) 06-0488-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.06.B011

The Correlation of High-risk Type Human Papillomavirus Load with Cervical Lesions and Follow-up After LEEP

LANG Miao-shuang, MA Cheng-mei

(Yongkang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yongkang 321300, China)

Abstract: [Purpose] To analyze the association between high-risk type human papillomavirus (HR-HPV) load and cervical lesions and postoperative regression of HR-HPV infection after LEEP. [Methods] A total of 749 cases with positive HR-HPV and following LEEP were retrospectively analyzed. [Results] The greater the load of HR-HPV, the higher the grade of cervical lesion. About 27.9% of the patients were HR-HPV positive at 3 months after LEEP, and the rates were 8.3% and 4.0% at the 6 months and 9 months after LEEP respectively. The HR-HPV positive rate at 3 months after LEEP significantly decreased compared to that of the preoperation as well as decreased, to the rate at 6 months and 3 months ($P<0.01$). The HR-HPV positive rate at 9 months after LEEP decreased compared to that at 6 months, with no significant difference. The HR-HPV positive rate of the patients whose HR-HPV load was <100RLU/CO, 100~1000RLU/CO and >1000RLU/CO were 5.3%, 9.4% and 12.9% respectively ($P<0.05$). [Conclusion] There is a marked correlation of viral load of HR-HPV with cervical lesions and postoperative regression. It is important to treat and to follow up closely to the patients with high viral load of HR-HPV.

Subject words: cervical lesions; human papillomavirus; viral load; follow up

自有学者证实持续性感染高危型人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 是宫颈癌前病变及宫颈癌发病的关键且必要因素以来^[1], 目前存在大量的回顾性临床研究证实, 随着宫颈癌前病变的级

别升高, 高危型 HPV 检出率也随之增高^[2], 但 HPV 病毒负荷量与宫颈病变严重程度之间的关系仍存在争议。此外, 高危型 HPV 作为子宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 及宫颈癌行手术治疗后的规范化随访手段已被广泛应用, 但其治疗后消退情况尚无大样本研究证实。本研究拟采

通讯作者: 郎妙双, 主治医师, 永康市中医院妇产科, 浙江省永康市南苑路 58 号 (321300); E-mail: yk70dhn@126.com

收稿日期: 2013-11-16; **修回日期:** 2013-12-20

用第二代杂交捕获法(Hybrid Capture II, HC-II)检测宫颈组织中高危型 HPV 载量,探讨高危型 HPV 负荷量与宫颈病变的相互关系以及其在术后的消退情况。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2008 年 1 月至 2012 年 11 月就诊于永康市中医院,高危型 HPV-DNA(HC-II)检测阳性且行子宫颈线圈电切术(loop electrical excision procedure, LEEP)的 749 例宫颈病变患者为研究对象,年龄 20~61 岁,其中子宫颈慢性炎症患者 210 例, CIN I 级 194 例, CIN II 级 232 例, CIN III 级 113 例。所有病理切片均由资深病理学专家复核。患者行子宫颈 LEEP 术前均签署知情同意书。

1.2 高危型 HPV-DNA 检测

高危型 HPV-DNA 检测采用美国 Digene 公司 HC-II 的方法, HC-II 试剂盒购自美国 Digene 公司。共检测 13 个高危 HPV 基因型,包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 68。试验严格参照试剂盒说明操作。样本产生的光由 DML2000 微孔板判读器测量,表达为相对光单位(RLU)。结果判定: $\geq 1.0\text{mg/L}$ 为阳性, $< 1.0\text{mg/L}$ 为阴性,并记录其具体载量。

1.3 LEEP 手术操作及病理检查

选择在月经干净后 3~7d 行子宫颈锥切术,患者取膀胱截石位,充分暴露子宫颈后,先行碘染试验确定及描记子宫颈、阴道壁和阴道穹隆部不典型增生区。根据病灶范围,选择合适大小的线圈电极。切除范围均从碘染不着色区外缘 4~5mm,顺时针切除病灶,锥高为 1.5~2cm。切除组织家属过目后 10%甲醛固定、待测。子宫颈 12 点处做一缝线标记,用尖头剪经子宫颈口插入子宫颈管内,自该 12 点处将子宫颈纵行打开,由左向右将其展开、固定的子宫颈,根据组织体积取材 8~20 块,顺时针依次标记。

1.4 子宫颈 LEEP 术后随访

于子宫颈 LEEP 术后 1 个月随访创面修复、阴道流血及分泌物情况,术后 3、6 及 9 个月复查宫颈修复情况、液基细胞学检查、高危型 HPV-DNA 检

测,必要时行阴道镜检查及宫颈活检,根据结果作相应处理。

1.5 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,各组间率的比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高危型 HPV 负荷量与宫颈病变的关系

根据高危型 HPV 负荷量的不同,将病例分为 3 组,比较不同组间宫颈病变的比例,差别有统计学意义($\chi^2=34.78, P=0.0001$)(Table 1)。由此可见,高危型 HPV 负荷量越大,宫颈病变级别越高。

Table 1 The relationship between high-risk HPV loading and cervical lesions

Preoperative HPV-DNA loading (RLU/CO)	Pathological type				χ^2	P
	Chronic cervicitis	CIN I	CIN II	CIN III		
<100	119	87	95	36	34.78	0.0001
100~1000	72	65	88	40		
>1000	19	42	49	37		

2.2 高危型 HPV 负荷量与 LEEP 术后病毒持续感染的关系

749 例患者行 LEEP 术后高危型 HPV-DNA 感染情况:术后 3 个月高危型 HPV 阳性患者 209 例,占 27.9%;术后 6 个月高危型 HPV 阳性患者 62 例,占 8.3%;术后 9 个月高危型 HPV 阳性患者 30 例,占 4.0%。宫颈 LEEP 术后 3、6 个月患者高危型 HPV 阳性表达率下降显著(术后 3 个月 vs 术前: $\chi^2=844.38, P=0.0001$; 术后 6 个月 vs 术后 3 个月: $\chi^2=97.35, P=0.0001$); 术后 9 个月患者高危型 HPV 阳性表达率较术后 6 个月下降,但无显著性差异($\chi^2=1.009, P=0.315$)。

根据 HPV 负荷量的不同,将病例分为 3 组,比较行 LEEP 术后 6 个月不同组间高危型 HPV-DNA 阳性的比例。术前高危型 HPV 负荷量 $< 100\text{RLU/CO}$ 、 $100\sim 1\,000\text{RLU/CO}$ 及 $> 1\,000\text{RLU/CO}$ 三组术后 6 个月复查 HPV 阳性率分别为 5.3%、9.4%及 12.9%,差异有统计学意义($\chi^2=8.476, P=0.014$)(Table 2)。由此可见,高危型 HPV 负荷量越大,宫颈 LEEP 术后病毒持续感染率越高。

Table 2 The relationship between high-risk HPV loading and HPV persistent infection at 6 months after LEEP surgery

Preoperative HPV-DNA loading (RLU/CO)	HPV infection		HPV-positive rate (%)	χ^2	P
	Positive	Negative			
<100	18	319	5.3	8.476	0.014
100~1000	25	240	9.4		
>1000	19	128	12.9		

3 讨 论

目前国内外多项研究对于 CIN 病变程度的增加,高危型 HPV 感染比例也随之增加已基本达成共识,但 HPV 病毒负荷量与宫颈病变进展是否相关仍是诸多学者争议的热点。高丽等^[3]对 100 例慢性宫颈炎、CIN 及宫颈鳞癌患者予 HC-II 法检测 HPV 负荷量,发现宫颈病变严重程度与 HPV 负荷量无关。而冯燕等^[4]通过 1 221 例宫颈癌及前期病变患者进行高危型 HPV 负荷量分析,发现随着 HPV 负荷量增加,高级别 CIN(CIN II、CIN III)的发病几率增加,故认为宫颈病变严重程度与高危型 HPV 负荷量关系密切。本研究发现,在感染高危型 HPV 的慢性宫颈炎及 CIN 患者中,病毒负荷量与宫颈病变的严重程度具有高度相关性,分析其原因可能为病毒高负荷量增加了高危型 HPV 病毒整合事件的发生。由此推测,在临床检测中,针对高危型 HPV 高负荷量的患者首先考虑患有高级别宫颈病变的可能,需及时进行进一步相关检查,为尽早治疗争取宝贵时间。

本研究中采用宫颈 LEEP 术作为治疗手段,其本身采用超高频低压电刀新技术,通过细胞蒸发而产生切口或电灼止血,具有出血少、操作简便等优点,广泛应用于基层医院。术后随访 12~59 个月,发现宫颈 LEEP 术后高危型 HPV 阳性率较术前明显下降,有显著性差异,并随着术后随访时间的延长,病毒持续性感染的阳性率逐渐下降,其中术后 6 个月高危型 HPV 持续感染率约 8.3%,较术后 3 个月有显著性差异;术后 9 个月约 4.0%,但较术后 6 个月时差异不明显。由此可推测接受宫颈锥切术的高危型 HPV 阳性患者大多数于术后 6 个月转阴。

在宫颈锥形切除术,高危型 HPV 转阴率报道不一。Gosvig 等^[5]学者回顾性分析 604 例 CIN II 及 CIN III 患者,接受宫颈锥切术后第 4~6 个月及 8~12

个月进行随访,发现术后病毒持续性感染率约为 9.5%。而 Dimitrov 等^[6]对于 217 例接受宫颈冷刀锥切术的 CIN 及宫颈微小浸润癌患者随访 24 个月,术后 8 个月时复查宫颈分泌物高危型 HPV,发现 44 例患者 HPV 持续阳性,发生率约 20.3%。本研究随访术后最低病毒持续率约 4.0%,较文献低,分析其原因可能与本研究纳入对象包括慢性宫颈炎及低级别 CIN 相关。

目前高危型 HPV 病毒负荷量是否与其病毒清除存在相关性尚无定论。Dalstein 等^[7]学者对 781 例正常女性及不同程度宫颈病变患者进行随访,平均随访 32 个月,发现低病毒负荷量者(10ng/L)的病毒清除率明显高于高病毒负荷量者(≥ 10 ng/L),且大多数患者在随访 7.5 个月左右病毒转阴。但 Kulmala 等^[8]对 854 例高危型 HPV 阳性患者进行随访,发现高危型 HPV 感染时间与病毒负荷量、混合感染及病毒整合等因素无关,而与病毒亚型存在相关性可能。而 Song 等^[9]针对接受宫颈锥切术的高级别 CIN 患者进行研究,发现术前高危型 HPV 负荷量 >500RLU/CO 的患者术后 6 个月 HPV 持续感染率约 43.8%,而仅 9.8%的病毒负荷量 <500RLU/CO 的患者术后 HPV 持续感染。本研究发现术前 HPV-DNA 负荷量 >1 000RLU/CO 患者术后 6 个月复查病毒阳性率约 12.9%,明显高于病毒负荷量 <1 000RLU/CO 者。这可能提示高危型 HPV 高负荷量是其持续感染的高危因素,故对于 HPV 高负荷量患者术后因严密随访。

目前已有学者对于高危型 HPV 负荷量预测锥切术后病灶残留进行研究,Park 等^[10]发现术前 HR-HPV DNA 负荷量 >300RLU/CO 是病灶残留的独立危险因素,即其能够较好的预测术后病灶残留情况,故针对高负荷量患者术后 HPV 持续感染尤其需警惕宫颈病变残留或复发。

综上,检测高危型 HPV 判断宫颈病变具有一定的预测作用,高病毒负荷量更提示高级别病变甚至宫颈癌可能,在临床工作中需警惕以尽早诊治,具有极大的应用价值。宫颈锥切术后患者宫颈阴道分泌物中高危型 HPV 可逐渐消退,但存在持续感染可能,针对术前病毒高负荷量者需严密随访,以尽早发

现病变残留或复发。

参考文献:

- [1] De Francesco MA, Gargiulo F, Schreiber C, et al. Detection and genotyping of human papillomaviruses in cervical samples from Italian patients[J]. J Med Virol, 2005, 75(4): 588-592.
- [2] Wang JL, Yang YZ, Dong WW, et al. Application of human papillomavirus in screening for cervical cancer and precancerous lesions[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(5): 2979-2982.
- [3] Gao L, Yang YX, Lu J, et al. The relationship between the viral load of HPV and TSLC-1 in the cervical squamous cell carcinoma and cervical lesions [J]. Journal of International Obstetrics and Gynecology, 2012, 39(3): 294-296. [高丽, 杨永秀, 卢佳, 等. HPV 病毒负荷量与 TSLC-1 在宫颈鳞癌及癌前病变中的相关性研究[J]. 国际妇产科学杂志, 2012, 39(3): 294-296.]
- [4] Feng Y, Wang XY, Cheng YF, et al. The correlation of high risk type human papillomavirus load with cervical carcinoma and precancerous lesions [J]. Progress in Obstetrics and Gynecology, 2008, 17(10): 730-732. [冯燕, 王新宇, 程易凡, 等. 高危型 HPV 负荷量与宫颈癌及其前期病变关系的研究 [J]. 现代妇产科进展, 2008, 17(10): 730-732.]
- [5] Gosvig CF, Huusom LD, Andersen KK, et al. Persistence and reappearance of high-risk human papillomavirus after conization[J]. Gynecol Oncol, 2013. [Epub ahead of print]
- [6] Dimitrov G, Talevska B, Nikolovski S, et al. HPV status after cold knife conization[J]. Akush Ginekol, 2013, 52(2): 65-68.
- [7] Dalstein V, Riethmuller D, Pretet JL, et al. Persistence and load of High-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions; a longitudinal French cohort study[J]. Int J Cancer, 2003, 106(3): 396-403.
- [8] Kulmala SM, Shabalova IP, Petrovitch N, et al. Type specific persistence of high-risk human papillomavirus infections in the New Independent States of the former Soviet Union Cohort Study[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2007, 16(1): 17-22.
- [9] Song SH, Lee JK, Oh MJ, et al. Persistent HPV infection after Conization in patients with negative margins [J]. Gynecol Oncol, 2006, 101(3): 418-422.
- [10] Park JY, Lee SM, Yoo CW, et al. Risk factors predicting residual disease in subsequent hysterectomy following conization for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III and microinvasive cervical cancer[J]. Gynecol Oncol, 2007, 107(1): 39-44.

