

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2014.16.0934

·论著·

## 宫颈病灶 HSV-2 感染及其与宫颈癌的关联性

李成德, 李玲, 欧丽红, 雷伟华, 成卓梅, 邓超桦, 李海珠, 莫燕芳  
(肇庆市第一人民医院检验科, 广东 肇庆 526020)

**【摘要】目的** 观察宫颈病灶中单纯疱疹病毒-2 (HSV-2) 感染状况, 探讨宫颈 HSV-2 感染与宫颈癌的关联性。**方法** 101 例宫颈病变患者中宫颈癌患者 46 例(癌变组), 宫颈良性疾病 55 例(对照组), 分别对其宫颈病灶组织和宫颈分泌物进行 HSV-2 DNA (实时荧光 PCR 法) 和人乳头瘤病毒(HPV) 基因分型(快速导流杂交法) 检测。**结果** 宫颈病灶 HSV-2 DNA 阳性率为 10.89%; 其中癌变组 HSV-2 的阳性率为 17.39%, 对照组为 5.45%, 两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。宫颈病灶 HPV 总阳性率为 67.33%, 共检测出 13 种 HPV 亚型, 以 16 型最多见(45.45%); 癌变组(97.83%)与对照组(41.82%)间比较差异有统计学意义( $\chi^2=34.087, P<0.001$ )。HSV-2 与 HPV 合并阳性率为 9.90%, HSV-2 感染的癌变组中 HPV 阳性率达 100%, 混合感染的亚型主要为 HPV16 占 75%。**结论** HSV-2 多与 HPV 16 亚型合并感染宫颈癌患者, 其在宫颈癌演变过程中的潜在影响不能忽视。

**【关键词】** 宫颈癌; 单纯疱疹病毒-2; 宫颈组织; 人乳头瘤病毒

**【中图分类号】** R737.33    **【文献标识码】** A    **【文章编号】** 1003—6350(2014)16—2395—04

**Herpes simplex virus-2 (HSV-2) infection in cervical lesions and the relationship between cervical HSV-2 infection and cervical cancer.** LI Cheng-de, LI Ling, OU Li-hong, LEI Wei-hua, CHENG Zhuo-mei, DENG Chao-hua, LI Hai-zhu, MO Yan-fang. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Zhaoqing, Zhaoqing 526020, Guangdong, CHINA

**[Abstract]** **Objective** To observe HSV-2 infection status in cervical lesions, and explore the relationship between cervical HSV-2 infection and cervical cancer. **Methods** Cervical lesions and cervical secretions were collected from 101 patients with cervical lesion, HSV-2 DNA (real time PCR method) and human papilloma virus (HPV) genotype (flow-through hybridization) were detected. **Results** The positive rate of HSV-2 DNA in cervical lesions was 10.89%, and that in cancer group and control group was 17.39% and 5.45%, respectively, with no significant difference between the two groups. The positive rate of HPV test in cervical lesions was 67.33%, and 13 subtypes of HPV were found in cervical lesions. The positive rate of the most common subtype of type 16 was 45.45%, and that in cancer group and control group was 97.83% and 41.82%, respectively, with the statistically significant difference between the two groups. ( $\chi^2=34.087, P<0.001$ ). The positive rate of HSV-2 merged with HPV was 9.90%. The positive rate of HPV in cancer group of HSV-2 infection was 100%. mixed infections of HPV16 subtype accounted for 75 %. **Conclusion** HSV-2 is more common in co-infected with HPV16 subtype in patients with cervical cancer, and the potential impact of HSV-2 on cervical evolution should not be ignored.

**【Key words】** Cervical cancer; Herpes simplex virus-2 (HSV-2); Cervical tissue; Human papilloma virus (HPV)

宫颈癌是导致妇科患者死亡的主要恶性肿瘤, 也是目前已明确病因的极少数恶性肿瘤之一, 许多研究证实 HPV 感染是宫颈癌的必要因素, 但在致癌过程中它并非单独起作用, 还需要一些其他因素来协同或推动疾病进程。单纯疱疹病毒(Herpes simplex virus-2, HSV-2)曾是最早被认为在诱发宫颈癌过程中起重要作用的一种病毒<sup>[1]</sup>, 其与宫颈癌之间的关系一直存在争议<sup>[2-7]</sup>。笔者分别对 101 例以病理学诊断为确诊标准的宫颈病变患者的宫颈病灶组织和宫颈分泌物进行 HSV-2 DNA 实时荧光 PCR 和快速导流杂交法人乳头瘤病毒(HPV)基因分型检测, 探讨 HSV-2 与 HPV、HSV-2 与 HPV 亚型及其与宫颈癌发

生、发展之间的关联性, 为宫颈癌的预防和治疗提供科学依据。

### 1 资料与方法

**1.1 资料来源** 收集 2011 年 1 月至 2012 年 12 月本院妇科临床资料比较完整的部分手术患者 101 例, 所有患者的沙眼衣原体、梅毒螺旋体、人类免疫缺陷病毒、Epstein Barr 病毒和人巨细胞病毒病源体核酸检测均为阴性。其中癌变组宫颈癌患者 46 例, 年龄 32~65 岁, 平均(42.4±14.6)岁, 临床分期参照 2010 年国际妇女产科协会 FIGO 分期系统分期: I 期 16 例, II 期 13 例, III 期 12 例, IV 期 5 例; 按病理分化程度: 低分化癌 6 例, 中分化癌 18 例, 高分化癌 22 例。

基金项目: 广东省肇庆市科技创新计划项目(编号: 2011E181)

通讯作者: 李成德。E-mail: lcd11@126.com

宫颈良性疾病(子宫肌瘤 5 例、宫颈炎 15 例、CIN 1 级 12 例, CIN 2 级 16 例和 CIN 3 级 7 例) 55 例作为对照组, 年龄 28~61 岁, 平均(43.1±15.2)岁, 两组间年龄差异无统计学意义。

**1.2 标本采集** 采集患者宫颈病灶新鲜组织和宫颈分泌物标本, 宫颈病灶组织即由妇科医生经活检或手术切除术留取子宫颈癌灶新鲜组织, 用无菌剪将组织剪成薄片约 0.2 cm 大小 3~5 片, 放入由凯普生物有限公司提供的有保存液的专用标本管中; 宫颈分泌物标本取样步骤和要求: 先用棉拭子将阴道或宫颈口过多的分泌物轻轻擦拭干净, 再用宫颈刷紧贴宫颈口稍用力顺时针旋转 2~3 圈, 然后放入同样的专用标本管中; 以上标本均于-20℃ 保存, 1 个月内测定。

**1.3 仪器和试剂** 基因扩增仪为美国 MJ OPTICON-2 实时 PCR 扩增仪、HSV-2 DNA 荧光定量 PCR 检测试剂购自中山大学达安基因股份有限公司。医用核酸分子快速杂交仪 HHM-2 型及配套 HPV 核酸扩增和杂交分型试剂盒均由广东凯普生物科技有限公司提供(采用快速导流杂交法检测 6、11、16、18、31、33、35、39、42、43、44、45、51、52、53、56、58、59、66、68 和 CP8304 等 21 种 HPV 基因型)。蛋白酶 K 购自 AMRESCO 公司。

**1.4 实验方法** 组织标本室温解冻后, 用 500 μl 消化液(50 mmol/L Tris, pH 8.5, 200 mg/L 蛋白酶 K)悬浮组织, 37℃ 反应过夜或 45℃ 3 h。其余操作程序同宫颈分泌物标本检测, 严格按试剂说明书步骤进行。

**1.5 统计学方法** 采用 SPSS15.0 统计软件进行统计分析, 组间阳性率比较采用  $\chi^2$  检验, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 宫颈病灶新鲜组织和宫颈分泌物检测的结果** HSV-2 DNA 阳性率一致, 差别仅在两种标本检测阳性扩增曲线出现相差 0.5~2 个 CT 值; HPV 分型检测结果完全一致。

**2.2 宫颈病灶 HSV-2 的感染状况** HSV-2 DNA 阳性率为 10.89% (11/101); 其中癌变组 HSV-2 的阳性率为 17.39% (8/46); 以 FIGO 分期: 0~I 期、II 期、III 期和 IV 期 的阳性率分别为 6.25% (1/16)、15.38% (2/13)、33.33% (4/12) 和 20.00% (1/5); 以病理分化程度: 低分化癌、中分化癌和高分化癌阳性率分别为 16.67% (1/6)、22.22% (4/18) 和 13.64% (3/22); 对照组阳性率为 5.45%, 两组间 HSV-2 阳性率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.3 HPV 基因分型检测结果** 宫颈病灶 HPV 分型检测阳性率为 67.33% (69/101), 共检测出 13 种 HPV 亚型(6、11、16、18、31、39、52、53、58、59、66、68 和 CP8304), 以 16 型最多见达 45.45%。癌变组中 16 型占 47.83% (22/46); 其余亚型以 52 型(15.58%)、58 型(12.99%) 和 18 型(7.79%) 多见。癌变组 HPV 分型阳性率为 97.83% (45/46), 与对照组的 41.82% (23/55) 间差异有统计学意义( $\chi^2=34.087, P<0.001$ )。两个或两个以上型混合感染为 6.93% (7/101), 见表 1。

表 1 HPV 基因分型检测结果及检出型别构成[例(%)]

分型	癌变组(例)				对照组(例)				分型构成(%)
	0~I 期	II 期	III 期	IV 期	宫颈炎	CIN1	CIN2	CIN3	
6	0	0	0	0	1	0	0	0	1.30
11	0	0	0	1	0	0	0	0	1.30
16	6	7	6	3	1	5	4	3	45.45
18	2	1	0	0	0	1	1	1	7.79
31	0	0	0	0	0	0	1	0	1.30
39	0	0	1	0	0	0	0	0	1.30
52	4	2	2	1	1	0	1	1	15.58
53	0	0	0	1	0	0	0	0	1.30
58	3	2	2	1	0	1	0	1	12.99
59	0	0	0	0	1	0	0	0	1.30
66	1	1	0	1	1	0	0	0	5.19
68	0	0	1	0	0	0	0	0	2.60
CP9304	0	0	0	1	0	0	1	0	2.60
16+18	1	0	0	0	0	0	1	1	/
16+CP8304	0	0	0	1	0	0	0	0	/
52+66	1	0	0	0	1	0	0	0	/
16+11+58	0	0	0	1	0	0	0	0	/

注: 分型构成为各 HPV 亚型检测例数分别占所有亚型检出总数的百分率。

**2.4 宫颈病灶中 HSV-2 与 HPV 合并感染状况** 宫颈病灶 HSV-2 与 HPV 合并阳性率为 9.90% (10/101), 病变组与对照组 HSV-2 与 HPV 合并阳性率分别为 17.78% (8/45) 和 4.34% (1/23), 组间差异无统计学意义( $P>0.05$ ); HSV-2 感染的癌变组中 HPV 阳性率为 100% (8/8); 与 HSV-2 混合感染的亚型主要为 HPV16, 占 75% (6/8), 对照组为 0。

### 3 讨 论

HSV-2 属于疱疹病毒其中一型, 原发感染常引起生殖器疱疹, HSV-2 具有肿瘤 DNA 病毒的性能, 可刺激感染的宿主细胞 DNA 和 RNA 合成, 导致细胞的转变而呈现致癌能力。HSV-2 DNA 还可以整合多种正常组织的 DNA, 使正常细胞转化为肿瘤细胞<sup>[8]</sup>。研究<sup>[9]</sup>表明 HPV 感染并非唯一的宫颈癌致病因素。笔者对确诊患者的宫颈病灶组织和宫颈分泌物 HSV-2 DNA 和 HPV 基因分型进行了检测, 显示 HSV-2 DNA 和 HPV 分型结果分别完全一致, 提示: (1) 宫颈病变患者合格的宫颈分泌物 HSV-2 检测可预示其宫颈病灶组织中 HPV 存在状况; (2) 宫颈病灶组织中 HSV-2、HPV 合并存在可能非偶然, 有必要引起关注。

20 世纪中期, HSV-2 与宫颈癌相关的研究主要采用抗原或抗体技术进行, HSV-2 的检出率较高。宋述梅等<sup>[8]</sup>直接用 HSV-2 感染移植宫颈, 发现宫颈癌发生率达 12.76%, 他们认为不可忽视 HSV-2 在宫颈癌发生中的直接作用。还有研究认为 HSV-2 作为辅因子诱导被 HPV 感染宫颈上皮细胞 DNA 损伤或染色体异常<sup>[10]</sup>, 因此 HSV-2 被认为在诱发宫颈癌过程中起重要作用。PCR 技术出现后, 相关报道显示宫颈癌患者宫颈分泌物或组织中 HSV-2 DNA 检出率高低不一<sup>[1-2, 5-6, 11]</sup>, 因而, HSV-2 在宫颈癌发生、发展中的作用争议颇多。本研究中, 101 例宫颈病灶 HSV-2 DNA 阳性率 10.89%; 其中癌变组 HSV-2 的阳性率为 17.39%, 以 FIGO 分期的癌变组Ⅲ期为 33.33%, 最多见。说明宫颈病变患者 HSV-2 的感染率不高, 若由此把 HSV-2 视作宫颈癌发展的辅助因子的假设不容易让人接受<sup>[12]</sup>。

1974 年 Zur Hausen 提出了人乳头状瘤病毒与宫颈癌发病有关的假设, 1995 年国际癌症研究协会 (IARC) 专题讨论会认为 HPV 感染是宫颈癌的主要病因<sup>[13]</sup>, WHO 于 1996 年宣布 HPV 是引起宫颈癌变的首要因素。本实验结果显示在宫颈癌中 HPV 检测阳性率近 100%, 共检测出 13 种亚型, 其中以 16 型最多见占 47.83%, 验证了这一结论。

1982 年 Zur Hausen 还提出 HSV-2 作为“启动子”

与 HPV 协同致癌学说, 认为 HSV-2 作为“启动子”反覆感染正常宫颈上皮, 在“促进子”HPV 的协同作用下致细胞恶变。该假设似乎可以解释宫颈癌患者活检组织中缺乏 HSV-2 DNA, 然而迄今尚未获得足够的实验依据。本研究中宫颈病变标本癌变组 HSV-2 的阳性率为 17.39%, HSV-2 与 HPV 合并阳性率为 9.90%, 提示宫颈癌患者感染 HSV-2 非高概率事件, 宫颈细胞中 HSV-2 可以与 HPV 感染共存, 且在宫颈癌组织中检测到两者的 DNA。有报道发现单纯疱疹病毒突变是在一个裂解感染周期中的早期事件, 表明宫颈细胞甚至可以由被包装有缺陷的病毒基因组发生突变<sup>[10]</sup>。因此, 尽管人群中宫颈癌的发生是低概率事件, 宫颈病变患者 HSV-2 的感染率也不高, HSV-2 在宫颈癌演变过程中的潜在影响还是不能忽视。

Matovina 等<sup>[14]</sup>研究表明 7.4% 的宫颈病变组织中存在 HPV16 DNA 整合现象, 且整合现象只发生在重度宫颈病变组织中, 认为整合是宫颈病变进展过程中的一个重要事件, 尽管此整合仅是一个随机事件。本组研究结果显示 HSV-2 感染的癌变组中 HPV 阳性率为 100%, 混合感染的 HPV 亚型主要为 16 型占 75%, 提示在宫颈癌患者中, HSV-2 多与 HPV16 型合并感染。但 HSV-2 在宫颈病变过程中是否起到启动或推动作用, 尚需更深入的研究加以验证。

综上所述, HSV-2 出现在宫颈病灶中是低概率事件, 不是宫颈癌致病的主要因素, 但由于该病毒的致病特点, 宫颈病灶 HSV-2 的持续存在极有可能在宫颈癌演变中起到重要作用, 因此, 临幊上不应忽视对 HSV-2 感染的宫颈病变患者的诊治。

### 参 考 文 献

- [1] 韩存芝, 郑曙民, 荆洁线, 等. 宫颈癌患者病毒感染及其细胞因子水平变化的调查研究[J]. 肿瘤防治研究, 2005, 32(7): 442-444.
- [2] Frenkel N, Roizman B, Cassai E, et al. A DNA fragment of herpes simplex 2 and its transcription in human cervical cancer tissue [J]. Proc Nat Acad Sci USA 1972, 69(12): 3784-3789.
- [3] Nahmias AJ, Shore SL, Kohl S, et al. Immunology of herpes simplex virus infection: relevance to herpes simplex virus vaccines and cervical cancer[J]. Cancer Research, 1976, 36: 836-844.
- [4] Daling JR, Madeleine MM, McKnight B, et al. The relationship of human papillomavirus related cervical tumors to cigarette smoking, oral contraceptive use, and prior herpes simplex virus type 2 infection [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1996, 5: 541-548.
- [5] Tran-Thanh D, Provencher D, Koushik A, et al. Herpes simplex virus type II is not a cofactor to human papillomavirus in cancer of the uterine cervix [J]. Am J Obstet Gynecol, 2003, 188(1): 129-134.
- [6] 李曼红, 林 莹, 庄 坚. 单纯疱疹病毒 2 型感染及其 C-erbB2 表达与宫颈癌关系的研究[J]. 中国基层医药, 2004, 11(6): 688-689.

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2014.16.0935

·论著·

## 高尔基体蛋白 73 与甲胎蛋白对肝癌诊断价值的研究

邹同会, 汪永强, 邹军

(内江市第二人民医院 泸州医学院附属内江医院检验科, 四川 内江 641100)

**【摘要】目的** 探讨甲胎蛋白(AFP)与高尔基体蛋白 73 (GP73)对肝癌早期诊断的价值。**方法** 采用酶联免疫法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)对肝癌患者 80 例、肝硬化患者 30 例血清中 AFP、GP73 进行检测, 30 例健康体检者作为对照。**结果** ①肝癌组、肝硬化组、正常对照组 AFP 平均浓度为 64.5 μg/L、50.1 μg/L、21.9 μg/L(肝癌组 vs 对照组  $P < 0.01$ , 肝硬化组 vs 对照组  $P < 0.01$ , 肝硬化组 vs 肝癌组  $P < 0.01$ ), 肝癌组、肝硬化组、正常对照组 GP73 平均浓度为 268.4 μg/L、192.3 μg/L、49.8 μg/L( $P < 0.01$ )。② AFP 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.729,  $P = 0.000$ , GP73 诊断肝癌的 ROC 曲线下面积为 0.892,  $P = 0.000$ 。AFP 联合 GP73 对肝癌诊断的 ROC 曲线下面积为 0.902。**结论** GP73 诊断肝癌的价值高于 AFP, AFP+GP73 联合检测不能提高诊断效率。

**【关键词】** 肝细胞癌; 甲胎蛋白; 高尔基体蛋白 73; ROC 曲线**【中图分类号】** R735.7   **【文献标识码】** A   **【文章编号】** 1003—6350(2014)16—2398—03

**Diagnostic value of Golgi protein 73 and AFP protein in patients with hepatocellular carcinoma.** ZOU Tong-hui, WANG Yong-qiang, ZOU Jun. Department of Laboratory Medicine, the Second Hospital of Neijiang City, the Affiliated Neijiang Hospital of Luzhou Medical University, Neijiang 631001, Sichuan, CHINA

**【Abstract】 Objective** To explore the value of alpha-fetoprotein (AFP) and Golgi protein 73 (GP73) in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. **Methods** AFP and GP73 were detected with enzyme-linked immunosorbent assay (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) in 80 patients with hepatocellular carcinoma and 30 patients with hepatocirrhosis. 30 healthy subjects were selected as controls. **Results** ① The mean concentrations of AFP in hepatocellular carcinoma group, hepatocirrhosis group and control group was 64.5, 50.1, and 21.9 respectively, among which there were significantly differences ( $P < 0.01$ ). The concentrations of GP73 in hepatocellular carcinoma group, hepatocirrhosis group and control group was 268.4, 192.3 and 49.8 respectively, among which there were significantly differences ( $P < 0.01$ ). ② The areas under ROC curves of AFP and GP73 were 0.729 and 0.892 respectively in diagnosis of hepatocellular carcinoma. The area under ROC curve of AFP combined GP73 was 0.902 for diagnosis of hepatocellular carcinoma. **Conclusion** Compared with AFP, GP73 is more sensitive and accurate in diagnosis of liver cancer, and it is not necessary to test GP73 combined with AFP.

**【Key words】** Hepatocellular carcinoma; Alpha-fetoprotein; Golgi protein 73; ROC curve

基金项目: 吴阶平医学基金会肝病实验诊断研究基金(编号: LDWMF-SY—2011C007)

通讯作者: 邹同会。E-mail: 709578724@qq.com

- 
- [7] Smith JS, Herrero R, Bosetti C, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2002, 94(21): 1604-1613.
- [8] 宋述梅, 李久香, 张明和. 移植性小鼠宫颈癌和增生组织中 HSV II 抗原的检测[J]. 肿瘤防治研究, 1995, 22(3): 144-147.
- [9] 刘治坤. 宫颈癌病因学新进展[J]. 青岛医药卫生, 2009, 41(4): 296-298.
- [10] Jones C. Cervical Cancer: Is herpes simplex virus type II a cofactor? [J] Clin Microbiol Rev, 1995, 8(4): 549-556.
- [11] 李玲, 罗慧琴, 苗晋华. 人乳头瘤病毒、沙眼衣原体和单纯疱疹病毒 II 型感染与宫颈疾病的相关性研究[J]. 国际病毒学杂志,
- 2012, 19(6): 257-260.
- [12] Southern SA, Herrington CS. Molecular events in uterine cervical cancer [J]. Sex Transm Inf, 1998, 74(2): 101-109.
- [13] 汪世平, 贾政军, 何卓, 等. 实时荧光定量 PCR 法检测人乳头状瘤病毒的实验研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2008, 28(6): 560-564.
- [14] Matovina M, Sabol I, Grubisić G, et al. Identification of human papillomavirus type 16 integration sites in high grade precancerous cervical lesions [J]. Gynecol Oncol, 2009, 113(1): 120-127.

(收稿日期: 2014-02-22)