

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.25.005

文章编号: 1005-8982(2017)25-0023-05

重组人干扰素 α 2b 联合洁悠神对宫颈持续 HPV 感染患者端粒酶与 HPV16/18 E6 蛋白表达的影响

朱丽娟¹, 周树林², 江希萍¹

(1. 江苏省常州市第一人民医院 妇科, 江苏 常州 213003; 2. 江苏省人民医院 妇科, 江苏 南京 210029)

摘要:目的 对重组人干扰素 α 2b (rhIFN- α 2b)联合洁悠神治疗宫颈持续 HPV 感染的临床效果及其对端粒酶与 HPV16/18 E6 蛋白表达的影响进行研究。**方法** 随机选取 2015 年 1 月-2016 年 1 月于常州市第一人民医院进行治疗的宫颈持续人乳头瘤病毒(HPV)感染的 108 例患者,按照数字随机表法分为观察组和对照组各 54 例,对照组使用 rhIFN- α 2b 治疗,观察组在对照组的基础上使用洁悠神治疗。分别对两组患者的疗效、临床指标进行统计,并检测端粒酶与 HPV16/18 E6 蛋白的表达水平。**结果** 观察组治疗有效率与对照组比较,差异有统计学意义($\chi^2=5.240, P=0.022$);观察组患者治愈时间周、阴道排液时间以及出血时间与对照组比较,差异有统计学意义($t=3.485, 4.765, 4.365, P=0.001, 0.000$ 和 0.000),观察组均短于对照组;治疗后观察组的 HPV DNA 负荷量低于对照组,并且转阴率与对照组比较,差异有统计学意义($\chi^2=6.546, P=0.000$);治疗后两组患者的端粒酶阳性率和 HPV16/18 E6 蛋白阳性率均降低,差异有统计学意义($\chi^2=4.746, 4.964$, 均 $P=0.000$),其中观察组患者端粒酶阳性率和 HPV16/18 E6 蛋白阳性率均低于对照组。**结论** 联合使用 rhIFN- α 2b 和洁悠神治疗宫颈持续 HPV 感染具有良好的治疗效果,可有效降低端粒酶和 HPV16/18 E6 蛋白阳性率,并可降低患有宫颈癌的风险。

关键词: 重组人干扰素 α 2b; 宫颈癌; 宫颈持续 HPV 感染; 端粒酶; HPV16; HPV18; HPV E6

中图分类号: R737.33

文献标识码: A

Effect of rhIFN- α 2b combined with Jieyoushen on telomerase and HPV16/18 E6 protein expression in patients with cervical HPV infection

Li-juan Zhu¹, Shu-lin Zhou², Xi-ping Jiang¹

(1. Department of Gynaecology, the First People's Hospital of Changzhou, Changzhou, Jiangsu 213003, China; 2. Department of Gynecology, Jiangsu Province Hospital, Nanjing, Jiangsu 210029, China)

Abstract: Objective To study the clinical effect of recombinant human interferon α 2b (rhIFN- α 2b) combined with Jieyoushen on cervical HPV infection, telomerase and expression of HPV16/18 E6 protein. **Methods** A total of 108 patients with cervical HPV infection who were treated in the First People's Hospital of Changzhou from January 2015 to January 2016 were selected. They were divided into observation group (54 cases) and control group (54 cases) according to the random number table method. The patients of the control group were treated with rhIFN- α 2b, and the patients of the observation group were treated with rhIFN- α 2b plus Jieyoushen. The efficacy and clinical indexes of the two groups were measured, and telomerase and HPV16/18 E6 protein expression were detected. **Results** The effective rate of the observation group was significantly higher than that of the control group (100.00% vs. 90.74%, $P < 0.05$). The cure time, vaginal excretion time and bleeding time [(7.04 \pm 1.68) w, (10.43

± 1.93) d and (12.47 ± 1.56) d respectively] of the observation group were significantly shorter than those of the control group [(8.93 ± 2.45) w, (14.58 ± 2.76) d and (16.93 ± 3.88) d; $P < 0.05$]. After treatment, the load of HPV DNA in the observation group was significantly lower than that in the control group, and the conversion rate was significantly higher than that in the control group (94.44% vs. 74.07%, $P < 0.05$). After treatment, the positive rates of telomerase and HPV16/18 E6 protein were significantly decreased in both groups, the positive rates of telomerase and HPV16/18 E6 protein in the observation group were significantly lower than those in the control group (1.85% vs. 11.11%, 3.70% vs. 14.81% respectively; $P < 0.05$). **Conclusions** Combined use of rhIFN- α 2b and Jieyoushen has good therapeutic effect in the treatment of persistent HPV infection of cervix, can effectively reduce the positive rates of telomerase and HPV16/18 E6 protein, and reduce the risk of cervical cancer.

Keywords: recombinant human interferon α 2b; cervical cancer; cervical persistent HPV infection; telomerase; HPV16; HPV18; HPV E6

宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,全世界每年约有 20 万人死于宫颈癌,我国每年死于宫颈癌的患者高达 3 万人^[1]。研究发现早期宫颈癌患者前 5 年的生存率在 90% 以上,不同期的宫颈癌患者的平均生存率也可达到 70%,宫颈癌的早期筛查可改善其发病率和病死率,关键是有有效减少患病风险、尽早诊断治疗,从而阻断其浸润发展过程^[2]。而人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)在宫颈癌的发生和发展过程中起着重要作用,研究发现 14 种高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)与 90% 以上的宫颈病变密切相关,99% 以上的宫颈癌标本中可检测到 HPV 感染^[3],因此有效治疗 HPV 持续感染对降低宫颈癌发病风险有着重要作用。目前临床上尚无治疗 HPV 感染的特效方法,重组人干扰素- α 2b(rhIFN- α 2b)作为一种强力的广谱抗病毒药在临床治疗 HPV 感染中有着广泛的应用^[4];而洁悠神喷洒于体表后可形成抗菌膜从而有效阻断 HPV 对机体的感染^[5],联合使用 2 种药物可有效治疗 HPV 持续感染,但临床上对于 2 种药物联合使用的研究极为有限。端粒酶与细胞的老化、凋亡和恶变相关,HPV16/18 2 种高危人乳头瘤病毒也与宫颈感染和宫颈癌的发生发展密切相关,宫颈感染患者的端粒酶与 HPV16/18 E6 表水平均高于健康患者,并且二者都是宫颈癌的高风险因素^[6]。本次研究旨在探讨重组人干扰素 α 2b 联合洁悠神对宫颈持续 HPV 感染患者端粒酶与 HPV16/18 E6 蛋白表达的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2015 年 1 月-2016 年 1 月于常州市第一人民医院进行治疗的宫颈持续 HPV 感染患者共 108 例,年龄 32~60 岁,平均 (39.85 ± 2.14) 岁。纳入

标准为:①经检查符合慢性宫颈炎的诊断标准^[7];②年龄在 25~60 岁;③有性生活史;④电子阴道镜检查为中度及以上宫颈糜烂;⑤实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测为 HR-HPV 感染阳性;⑥患者签署知情同意书。排除标准为:①非宫颈持续 HPV 感染的宫颈炎患者;②宫颈癌和宫颈上皮内瘤变患者;③合并高血压、糖尿病等基础性疾病的患者;④合并严重肝肾不全的患者;⑤哺乳期或妊娠期妇女。将以上患者按照随机数字表法分为对照组和观察组各 54 例,对照组年龄 33~60 岁,平均 (39.91 ± 2.11) 岁,观察组年龄 32~60 岁,平均 (39.80 ± 2.17) 岁,两组患者的一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 治疗方法

对照组采用 rhIFN- α 2b 阴道泡腾胶囊(上海华新生物高技术有限公司,国药准字 S20050075)进行治疗,使用方法为睡前洗净外阴后,在阴道后穹隆处填塞,若患者处于经期则需在经期结束 3 d 后开始用药。观察组患者在对照组治疗方法基础上联合洁悠神(喷剂,南京神奇科技开发有限公司,产品编号:059400324492)进行治疗,使用喷雾导管喷涂,3 次/d,剂量为 0.6 ml 每 1%体表面积,直到治愈。

1.3 观察指标

1.3.1 临床疗效 根据《实用妇产科诊断和治疗技术》^[8]中的评价标准,痊愈:患者临床症状消失,经电子阴道镜检查未发现宫颈糜烂,宫颈表面光滑;有效:患者临床症状有所缓解,宫颈糜烂面积缩小 30% 以上;无效:患者临床症状和宫颈糜烂面积无好转甚至加重。

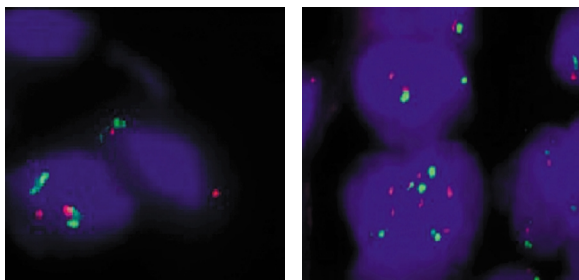
1.3.2 临床指标 分别对两组患者治愈时间、阴道排液时间和出血时间进行记录分析。

1.3.3 HPV DNA 负荷量及转阴率 分别在治疗前、治疗后 1 和 3 个月使用 qRT-PCR 法检查 HPV DNA 负荷量以及治疗后 3 个月的转阴率,当 HPV DNA 负荷量 <1.0 pg/ml 为阴性。

1.3.4 端粒酶与 HPV16/18 E6 蛋白表达 采用荧光原位杂交技术(FISH 试剂盒,金菩嘉科技有限公司)检测宫颈组织中 *hTERC* 基因的表达,其方法为:首先选取正常宫颈组织切片 20 例作为阴性质控片,每片挑选 200 个无重叠、细胞核完整且信号独立的细胞。检测时使用荧光显微镜观察并使用 Video Test 软件对图像进行分析绿色荧光(CSP3)和红色荧光(TERC)杂交情况。正常荧光杂交信号为红色荧光点和绿色荧光点各 2 个,其他均为异常信号,统计异常信号细胞个数,计算平均值和标准差,阈值 = 平均值 + $3 \times$ 标准差, $<$ 阈值为阳性,本次实验阈值为 7.13% (见图 1)。使用 ELISA 试剂盒(江苏科特生物科技有限公司)对 HPV16/18 E6 蛋白进行检测,严格按照试剂盒说明书进行操作,每份标本测 3 孔,在 450 nm 处测量和样品孔的光密度(OD)值,OD > 1.0 为阳性,计算阳性率(见图 2)。

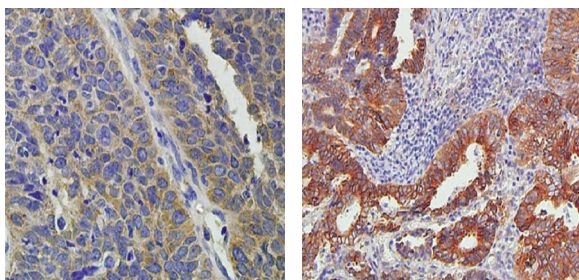
1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理,计量资料采用均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验,治疗前后比较采用配对 *t* 检验,计数资料用率



正常宫颈细胞红色信号和绿色信号均 ≤ 2 个(左),HPV 持续感染宫颈细胞信号异常 > 2 个(右)

图 1 正常(阴性)端粒酶(左)和异常(阳性)端粒酶(右)



HPV 持续感染宫颈细胞胞浆中有大量黄褐色颗粒出现(右)

图 2 正常宫颈细胞(阴性)HPV16/18 E6 蛋白染色(左)和 HPV 持续感染宫颈细胞(阳性)HPV16/18 E6 蛋白染色(右)

(%)表示,采用秩和检验或 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效比较

两组患者的临床疗效比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),观察组有效率高于对照组。见表 1。

2.2 临床指标比较

两组患者治愈时间、阴道排液时间以及出血时间比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),观察组低于对照组。见表 2。

2.3 两组患者治疗前后 HPV DNA 负荷量及转阴率比较

两组患者治疗 1、3 个月后的 HPV DNA 负荷量、治疗 3 个月后的转阴率比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),观察组 HPV DNA 负荷量低于对照组,转阴率高于对照组。见表 3。

2.4 两组患者端粒酶阳性率和 HPV16/18 E6 蛋白阳性率比较

治疗后两组患者的端粒酶阳性率和 HPV16/18 E6 蛋白阳性率均降低,两组间比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中观察组患者端粒酶阳性率和 HPV16/18 E6 蛋白阳性率均低于对照组。见表 4。

表 1 两组患者临床疗效比较 ($n=54$)

组别	痊愈 / 例	有效 / 例	无效 / 例	总有效率 / %
观察组	51	3	0	54(100.00)
对照组	35	14	5	49(90.74)
χ^2 值				3.850
<i>P</i> 值				0.000

表 2 两组患者临床指标比较 ($n=54, \bar{x} \pm s$)

组别	治愈时间 / 周	阴道排液时间 / d	出血时间 / d
对照组	8.93 ± 2.45	14.58 ± 2.76	16.93 ± 3.88
观察组	7.04 ± 1.68	10.43 ± 1.93	12.47 ± 1.56
<i>t</i> 值	4.172	6.749	6.254
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

表 3 两组患者 HPV DNA 负荷量及转阴率比较 ($n=54$)

组别	治疗前 / (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)	治疗 1 个月 / (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)	治疗 3 个月 / (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)	转阴率例 (%)
对照组	91.54 ± 7.94	52.64 ± 8.73	21.66 ± 3.26	40(74.07)
观察组	91.38 ± 7.46	35.76 ± 6.45	12.47 ± 2.64	51(94.44)
χ^2 值	0.385	6.465	5.857	6.575
<i>P</i> 值	0.736	0.000	0.000	0.000

表 4 两组患者端粒酶阳性率和 HPV16/18 E6 蛋白阳性率对比 [n=54, 例(%)]

组别	端粒酶阳性率		χ^2 值	P 值	HPV16/18 E6 蛋白阳性率		χ^2 值	P 值
	治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
对照组	28(51.85)	6(11.11)	24.743	0.000	36(66.67)	8(14.81)	27.464	0.000
观察组	28(51.85)	1(1.85)	32.830	0.000	37(68.51)	2(3.70)	36.856	0.000
χ^2 值	0.000	4.746			0.743	4.964		
P 值	1.000	0.000			0.254	0.000		

3 讨论

HPV 是一种口咽、生殖道以及直肠的病原体, HPV 感染是导致宫颈癌的最主要原因。HPV 病毒包含 200 多种亚型, 其中 40 余种与宫颈病变有关。HPV 高危型病毒主要为 HPV16、HPV18、HPV31 等, HPV16 和 HPV 18 具有最高的感染率^[9]。随着科学技术以及分子生物学的发展, 对宫颈癌的 DNA/RNA 以及蛋白的研究已成为当今研究的热点^[6], 因此本次研究结果从临床指标、疗效与端粒酶和 HPV16/18E6 蛋白阳性率两大方面进行讨论。

研究表明, 使用 rhIFN- α 2b 联合洁悠神治疗宫颈持续 HPV 感染的有效率可达到 100.00%, 高于对照组, 患者治愈时间, 阴道排液时间以及出血时间均低于对照组, 差异有统计学意义, 这说明联合使用 rhIFN- α 2b 和洁悠神可更有效杀灭 HPV; 并且在治疗后 1 和 3 个月后观察组 HPV DNA 负荷量均低于对照组, 观察组患者治疗 3 个月后的转阴率均高于对照组, 差异有统计学意义, 这说明联合使用 rhIFN- α 2b 和洁悠神对宫颈持续 HPV 感染患者临床疗效优于单独使用 rhIFN- α 2b, 这可能与 rhIFN- α 2b 调节免疫作用及洁悠神的持续抗菌作用有关。研究表明人类的自身免疫功能可快速消除 90% 以上的 HPV 感染, 并且当机体免疫功能低下时 HPV 的感染率升高并且与 HPV 持续感染密切相关, 因此在使用抗病毒药物进行治疗的同时增强机体的免疫能力具有重大意义^[10]。rhIFN- α 2b 作为一种强力的广谱抗病毒药物, 可直接作用于感染部位细胞膜面的干扰素受体, 促进细胞抗病毒的分泌, 此外 rhIFN- α 2b 还可以增强淋巴细胞的吞噬能力, 增强机体免疫功能^[11]。而洁悠神可以在皮肤黏膜表面形成一层致密的、带有正电荷的膜, 此层膜不但可以在一定程度上阻断病原体的入侵, 还可以吸附通常为负电荷的病原微生物, 使其代谢酶等失去作用导致病原体死亡^[12], 配合 rhIFN- α 2b 具有强力持

久的杀菌作用。

本次研究发现治疗后两组患者的端粒酶阳性率和 HPV16/18 E6 蛋白阳性率水平降低, 并且发现观察组 2 项指标阳性率均低于对照组, 差异有统计学意义。端粒酶与宫颈癌有着密切关系, 研究表明宫颈癌细胞的端粒酶阳性率高于正常宫颈细胞或宫颈炎细胞, 宫颈炎至宫颈癌的端粒酶基因阳性率与病情的严重程度正相关, 并且由此推测端粒酶基因表达异常是宫颈癌发生的早期事件^[13]。HPV16 和 HPV18 作为高危 HPV 病毒, 其感染与宫颈癌的发生发展具有相关性, 其中 E6 蛋白还可以调控细胞周期与细胞凋亡。研究发现 III 期的宫颈上皮内瘤变 (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) 中 HPV16/18 E6 蛋白的阳性率高于正常宫颈组织和 I/II 期的 CIN, 这说明 HPV16/18 E6 蛋白与宫颈癌的发生、发展和转移有着密切关系^[14-15]。而本次研究发现联合使用 rhIFN- α 2b 和洁悠神可有效降低端粒酶和 HPV16/18 E6 的阳性率, 推测此种治疗方法不但具有良好的临床效果, 还可有效降低宫颈癌的发生风险, 其具体结果还需要更为大量的临床实验和长时间的研究。

综上所述, 使用重组人干扰素 α 2b 联合洁悠神对宫颈持续 HPV 感染患者具有确切临床疗效, 并且可降低端粒酶与 HPV16/18 E6 蛋白表达水平, 可能具有降低宫颈癌发生风险的作用。

参 考 文 献:

- [1] LI H, WU X, CHENG X. Advances in diagnosis and treatment of metastatic cervical cancer[J]. J Gynecol Oncol, 2016, 27(4): e43.
- [2] ABUDUKADEER A, AZAM S, MUTAILIPU A Z, et al. Knowledge and attitude of Uyghur women in Xinjiang province of China related to the prevention and early detection of cervical cancer[J]. World J Surg Oncol, 2015, 13(15): 110.
- [3] MILLER J W, HANSON V, JOHNSON G D, et al. From cancer screening to treatment: service delivery and referral in the national breast and cervical cancer early detection program[J]. Can-

- cer, 2014, 120(16): 2549-2556.
- [4] BOURGIOTI C, CHATOUPIS K, MOULOPOULOS L A. Current imaging strategies for the evaluation of uterine cervical cancer[J]. *World J Radiol*, 2016, 8(4): 342-354.
- [5] 许燕,陈曾燕,鞠小梅,等. 热疗联合洁悠神治疗宫颈癌病人高危型 HPV 持续感染的疗效观察[J]. *护理研究*, 2014(19): 2388-2389.
- [6] LI X, WU Z, WANG Y, et al. Characterization of adult α - and β -Globin elevated by hydrogen peroxide in cervical cancer cells that play a cytoprotective role against oxidative insults[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54342.
- [7] 曹泽毅. 妇产科学[M]. 人民卫生出版社, 2014: 296-299.
- [8] 石一复. 实用妇产科诊断和治疗技术[M]. 人民卫生出版社, 2013: 143-148.
- [9] OBEL J, MCKENZIE J, BUENCONSEJO-LUM L, et al. Mapping HPV vaccination and cervical cancer screening practice in the pacific region-strengthening national and regional cervical cancer prevention[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(8): 3435-3442.
- [10] HE C, MAO D, HUA G, et al. The Hippo/YAP pathway interacts with EGFR signaling and HPV oncoproteins to regulate cervical cancer progression [J]. *EMBO Mol Med*, 2015, 7(11): 1426-1449.
- [11] ASMANA N R. Human interferon alpha-2b: A therapeutic protein for cancer treatment[J]. *Scientifica*, 2014, 2014(6836): 970315.
- [12] 唐真武,肖国有,黄江河,等. $\sim(90)$ Sr- $\sim(90)$ Y 联合洁悠神治疗难治局限性慢性湿疹 59 例[J]. *中国现代医学杂志*, 2014, 24(31): 96-99.
- [13] LIU H, LIU S, WANG H, et al. Genomic amplification of the human telomerase gene (hTERC) associated with human papillomavirus is related to the progression of uterine cervical dysplasia to invasive cancer[J]. *Diagn Pathol*, 2012, (12)7: 147.
- [14] WANG K H, LIN C J, LIU C J, et al. Global methylation silencing of clustered proto-cadherin genes in cervical cancer: serving as diagnostic markers comparable to HPV [J]. *Cancer Med*, 2015, 4(1): 43-55.
- [15] HONEGGER A, SCHILLING D, BASTIAN S, et al. Dependence of intracellular and exosomal microRNAs on viral E6/E7 oncogene expression in HPV-positive tumor cells [J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(3): e1004712.

(张蕾 编辑)