

尿液巯基化合物检测在筛查子宫颈癌及癌前病变中的临床价值

刘 芬 芬^{1a,2,3,4}, 余 海 瀛², 赵 德 宇^{1b}, 胡 世 莲^{1a,2,3,4}, 程 民^{1a,2,3,4}, 徐 婷 娟^{1a,2,3,4}, 沈 国 栋^{1a,2,3,4}

(1. 安徽医科大学附属省立医院、安徽省立医院, a 老年病科, b 妇产科, 合肥 230001; 2. 肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室; 3. 安徽省老年医学研究所; 4. 安徽省循证医学中心)

[摘要] **目的** 探讨尿液巯基化合物检测作为子宫颈癌早期筛查手段的可行性。**方法** 收集 144 例就诊者尿液作为对照组, 其中包括健康体检结果正常人员 104 例、阴道炎患者 20 例、人乳头瘤病毒(HPV)感染者 20 例; 确诊子宫颈癌等妇科肿瘤患者的尿液标本 107 例作为研究组。取 1 mL 新鲜尿液作为标本, 使用化学显色法对标本进行巯基化合物含量检测, 并以宫颈活检的组织病理学为金标准, 评价尿液中巯基含量检测在子宫颈癌筛查中的临床价值。**结果** 在研究组中阳性反应有 98 例, 阳性率为 91.6%; 健康对照组中人员无阳性反应; 阴道炎患者阳性反应有 5 例, 阳性率为 25%; HPV 感染者阳性反应有 12 例, 阳性率为 60%; 研究组与健康对照组之间尿液巯基检测阳性率差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 尿液中巯基化合物检测对子宫颈癌及癌前病变筛查具有较高的敏感度, 该方法简便、快速, 适用于子宫颈癌的早期筛查。

[关键词] 宫颈肿瘤; 尿分析; 巯基化合物

中图分类号: R737.33; R446.12 文献标识码: A DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2017.01.004

Clinical value of urine thiol detection in cervical cancer and precancerous lesion screening Liu Fenfen*, Yu Haiying, Zhao Deyu, Hu Shilian, Cheng Min, Xu Tingjuan, Shen Guodong(* Department of Geriatrics, Anhui Provincial Hospital, Hefei 230001, China)

Corresponding author: Shen Guodong, Email: gdshen@ustc.edu.cn

[Abstract] **Objective** To investigate the feasibility of the content of urine thiol detection as an early screening method of cervical cancer. **Methods** Urine collected 144 cases of patients as control group, including the physical examination results 104 cases of normal people, vaginitis patients 20 cases and HPV infection 20 cases. And 107 cases with cervical cancer or other gynecological cancer were in the experimental group. The thiol content in urine was detected using chemical color testing method. The pathological result of cervical biopsy was as the gold standard to evaluate the clinical value of the urine thiol detection in the screening of cervical cancer. **Results** This method only needs 1 mL sample of fresh urine and the detection procedure is simple and quick. The clinical results showed that there were 98 cases of positive reaction in the experimental group, and the positive rate was 91.6%. Whereas, physical examination results in control group normal persons without positive reaction. Vaginitis patients with positive reaction in 5 cases, positive rate is 25%. HPV infection positive reaction in 12 cases, positive rate was 60%. Data analysis showed that the difference between the two group was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion** The method of thiol detection in urine has a high sensitivity for cervical cancer and precancerous lesion screening and is characterized as a simple, rapid and economical method, and thus is suitable for early screening of cervical cancer.

[Key words] Uterine cervical neoplasms; Urinalysis; Sulfhydryl compounds

基金项目: 安徽省科技攻关项目(1301042094); 安徽省自然科学基金面上项目(1408085MH167)

作者简介: 刘芬芬, 硕士在读, Email: 1350696027@qq.com

通信作者: 沈国栋, 研究员, Email: gdshen@ustc.edu.cn

子宫颈癌是严重危害女性健康的恶性肿瘤之一,其发病率位于妇科恶性肿瘤的第二位;全世界每年的新发病例约为 50 万人,死亡人数约 27 万,发展中国家女性占其中的 80%^[1]。近年来,子宫颈癌的发病率呈上升趋势且发病年龄趋于年轻化。通过流行病学和病原学研究,已经明确子宫颈癌的发病与持续性人乳头瘤病毒(HPV)感染关系密切^[2-3]。人们寻求通过广泛的筛查来防治子宫颈癌,目前较为成功的筛查项目有液基薄层细胞学检测、HPV 病毒学检测及阴道镜活检等,已证明子宫颈癌是通过筛查取得防治效果最好的恶性肿瘤^[4-5]。然而,目前的筛查方式仍然存在标本取材困难、检测成本昂贵等问题。因此,如何研发简便、快速、灵敏且价格低廉的筛查方法成为子宫颈癌防治研究中的热点与难点。本研究观察检测尿液中甲基含量在子宫颈癌筛查中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料 经安徽省立医院临床试验机构伦理委员会的批准,选择 2015 年 7 月 18 日至 2015 年 9 月 13 日期间在安徽省立医院健康体检中心接受健康检查结果正常者 104 例作为健康对照组,妇科门诊阴道炎患者和 HPV 感染者各 20 例作为疾病对照组,妇科与放疗科患者 107 例作为研究组,其中子宫颈癌患者 69 例(包括子宫颈癌术后化疗 7 例),宫颈上皮内瘤变(CIN)Ⅲ33 例,子宫内膜癌 5 例。受试者年龄 18~70 岁,所有患者的诊断均以病理组织学诊断为金标准。

1.2 标本采集 用尿杯收集禁饮食 8 h 后的新鲜清洁尿液 2 mL,并于 2 h 内完成检查。

1.3 试剂 尿液甲基化合物检测试剂(化学显色法)由江西华裕康生物科技有限公司提供。生产许可证号:20150028 号,产品批号:150323001,有效期:2017 年 3 月。

1.4 检测方法 用滴管分别吸取尿液标本 0.5 mL 到测试管和对照管,稍摇匀,然后分别加入显色剂,稍摇匀后静置。在 10 min 内观察测试管与对照管的显色,比较颜色是否一致。

1.5 结果判读 检测结果判读标准:浅黄色为阴性,浅蓝色为弱阳性,蓝色或深蓝色为阳性。

1.6 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件处理数据,计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

健康对照组 104 例尿液甲基检测结果均阴性;20 例阴道炎患者中尿液甲基检测阳性者为 5 例,阳性率为 25.0%;20 例 HPV 感染者中尿液甲基检测阳性者为 12 例,阳性率为 60.0%;而 107 例研究组患者中尿液甲基检测阳性者为 98 例,阳性率为 91.6%,研究组和健康对照组阳性率比较, $\chi^2 = 177.861, P < 0.01$,两者间差异有统计学意义。

研究组患者按病理类型可分为子宫颈癌(69 例),CINⅢ(33 例)与子宫内膜癌(5 例),患者尿液甲基检测结果见表 1。其中子宫颈癌阳性率为 94.2%;CINⅢ是子宫颈癌的癌前病变,其阳性率为 87.9%;另外还有子宫内膜癌 5 例,阳性率是 80.0%。

表 1 研究组中不同病理类型患者尿液甲基检测结果

类别	例数	阴性 (例)	阳性(例)		阳性率(%)
			弱阳性	阳性	
子宫颈癌	69	4	33	32	94.2
CINⅢ	33	4	18	11	87.9
子宫内膜癌	5	1	3	1	80.0

3 讨论

子宫颈癌是目前妇科肿瘤中病因明确、可以预防和及时发现的癌症。子宫颈癌的发生与发展是一个由宫颈上皮内瘤变逐渐发展为浸润性癌的长期病变过程,一般患者从出现宫颈病变到发展成为子宫颈癌往往需要大约 10 年时间。研究发现,进行子宫颈癌前病变的筛查,尽早诊断,及时治疗,对于子宫颈癌患者预后非常重要^[6-8]。因此,研发子宫颈癌早期筛查新技术具有重要意义。

目前子宫颈癌常用的筛查方法及其局限性有:①传统巴氏涂片,取材和制片方法存在缺陷,检测敏感性低、假阴性率高;②液基细胞学检查(TCT/LCT),成本较高,需要昂贵的设备与耗材制片以及专业的病理医师阅片;③HPV 病毒 DNA 检测,该方法虽提高了敏感性,但检测成本高,对设备与环境的要求也很高;④临床肉眼检查,其特异度低且筛出的多数是浸润性癌和早期癌,并非癌前病变。宫颈细胞学检查和(或)HPV 检测,根据检查结果确定是否需要进一步使用阴道镜及宫颈病理活组织检查是目前育龄妇女子宫颈癌前病变检查的主要方法与诊疗流程,也被称为子宫颈癌前病变筛查的“三阶梯”

技术。然而,这些方法存在检测过程繁琐、价格昂贵等缺点。

HPV 感染是引起子宫颈癌的必要因素^[9]。已知 HPV 型别有 130 多种,其中约 40 种涉及生殖道感染,约 20 种与肿瘤相关,其中最常见的致癌亚型是 HPV16 型。E6 和 E7 基因是 HPV 最重要的致癌基因^[10-11],HPV16 编码的 E6 蛋白能与定位于胞核周围的细胞内 E6 相关蛋白(E6-AP)形成复合物,E6 蛋白通过 E6AP 连接介导与 p53 蛋白特异性结合,再通过体内泛素途径促进 p53 蛋白被降解,由此造成宫颈细胞中 p53 蛋白或阻抑蛋白的巯基分子大量且不可逆脱落并从尿液中排出^[12]。而健康人则无巯基代谢物从尿液中排出。因此,通过女性尿液中巯基类代谢物的检测可以提示子宫颈癌病变的发生。

本研究中检测 104 例健康女性尿液巯基化合物结果均阴性,20 例阴道炎患者尿液标本检测阳性率为 25.0%,20 例 HPV 感染患者检测结果阳性率为 60.0%。阴道炎的病原微生物包括加德纳菌、阴道毛滴虫、白假丝酵母菌等,不能排除这些微生物感染时会产生巯基类代谢产物,造成尿液标本检测阳性。HPV 感染诊断是使用二代杂交捕获(HC2)技术检测 HPV,正常参考值是(RLU/CO) < 1.00 ng/L,HPV 感染患者尿液标本显示阳性,大多数 HPV 检测值 > 200 ng/L,甚至高达 4000 ng/L,所以推测可能是 HPV 感染较严重,或是感染类型主要是高危性的 HPV 感染,造成尿液标本显示阳性。而 69 例子宫颈癌患者标本检测阳性率为 94.2%,33 例子宫颈癌前病变患者标本检测阳性率为 87.9%。提示尿液巯基化合物检测方法的敏感度较高。而 5 例子宫内膜癌患者的标本检测阳性率达到 80.0%,一方面可能是因为尿液检测阳性的子宫颈内癌患者也受到 HPV 的感染,另一方面可造成细胞中巯基代谢物析出的致病基因可能不局限于 E6,其他基因也可能导致细胞中巯基化合物的析出。具体原因尚不清楚,有待深入研究。

总之,尿液中巯基化合物检测对子宫颈癌及癌前病变的筛查具有较高的敏感度,该方法简便、快

速、经济且无创,易于被人们接受,对技术条件和环境要求低,适用于子宫颈癌的早期筛查。

参考文献

- [1] 万磊,万建平,张燕玲,等.子宫颈癌年轻化趋势的临床分析[J].中国肿瘤临床,2004,31(10):547-549.
- [2] ZUR HAUSEN H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application [J]. Nat Rev Cancer, 2002,2(5):342-350.
- [3] SCHIFFMAN M, CASTLE PE, JERONIMO J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer [J]. Lancet, 2007,370(9590):890-907.
- [4] SANKARANARAYANAN R, THARA S, ESMY PO, et al. Cervical cancer: screening and therapeutic perspectives [J]. Med Princ Pract, 2008,17(5):351-364.
- [5] 宋敬,李越,王秋艳,等.周期蛋白 D1, B1 在子宫颈癌中的表达及其与临床病理间的关系[J].中国临床保健杂志,2011,14(5):469-471.
- [6] 许曼,魏丽春,石梅,等.宫颈癌术后放射治疗 232 例回顾性临床分析[J].中华肿瘤防治杂志,2011,18(16):1286-1289.
- [7] 张蕾,忙尼沙·阿不都拉,胡尔西旦·尼牙孜,等.早期宫颈癌患者预后影响因素研究[J].中国全科医学,2011,14(14):1517-1522.
- [8] 孙帅,张福泉,胡克,等.宫颈癌术后调强放疗同期化疗临床分析[J].中华放射肿瘤学杂志,2013,22(1):13-16.
- [9] NIEMINEN P, VOURMA S, VIIKKI M, et al. Comparison of HPV India [J]. Int J Cancer, 2003,106(3):404-408.
- [10] SEGAWA T, SASAGAWA T, YAMAZAKI H, et al. Fragile histidine triad transcription abnormalities and human papillomavirus E6-E7 mRNA expression in the development of cervical carcinoma [J]. Cancer, 1999,85(9):2001-2010.
- [11] 刘英华,陈瑛.人乳头瘤病毒感染与宫颈癌的研究进展[J].现代生物医学进展,2013,13(5):973-976.
- [12] CHERRY JJ, RIETZ A, MALINKEVICH A, et al. Structure based identification and characterization of flavonoids that disrupt human papillomavirus-16 E6 function [J]. PLoS One, 2013,8(12):e84506.

(收稿日期:2016-06-21)