

# 叶酸缺乏和人乳头瘤病毒 16 型感染在宫颈癌变中的相互作用

王 莉, 刘新玉(陕西省渭南市中心医院妇科 714000)

**【摘要】** 目的 探讨叶酸缺乏和人乳头瘤病毒 16(HPV16)型感染在宫颈癌变中的相互作用。方法 选取 2012 年 6 月至 2014 年 4 月渭南市中心医院妇科收治的宫颈炎(CI)患者 80 例、低度宫颈上皮内瘤样变(CIN I)患者 55 例、高度宫颈上皮内瘤样变(CIN II/III)患者 55 例,以及宫颈鳞状细胞癌(SCC)患者 64 例;比较分析不同程度宫颈病变的 HPV16 感染率、血清叶酸及红细胞叶酸水平,并分析叶酸缺乏和 HPV16 感染在宫颈癌变中的相互作用。结果 CIN I、CIN II/III 及 SCC 组 HPV16 感染阳性率均高于 CI 组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), HPV16 感染率随宫颈病变进展而升高;红细胞叶酸和血清叶酸水平均呈逐渐下降趋势,且红细胞叶酸和血清叶酸水平呈正相关。在 CIN 各组和 SCC 组中,红细胞叶酸缺乏与 HPV16 感染均存在正相加作用;在 CIN II/III 及 SCC 组中,血清叶酸缺乏与 HPV16 感染均存在正相加作用。结论 叶酸缺乏可能会导致宫颈癌变风险的增加,且可能与 HPV16 感染存在相加作用。

**【关键词】** 叶酸; 人乳头瘤病毒 16 型; 感染; 宫颈癌变

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.05.039 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)05-0674-02

人乳头瘤病毒 16 型(HPV16)感染是导致宫颈癌的重要原因之一,且近年来研究发现,叶酸缺乏可能是导致 HPV 出现持续感染,并引发宫颈癌的重要因素<sup>[1-2]</sup>。本研究对叶酸缺乏和 HPV16 感染在宫颈癌变中的相互作用进行探讨。现将研究结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 以 2012 年 6 月至 2014 年 4 月本院收治的宫颈炎(CI)患者 80 例、低度宫颈上皮内瘤样变(CIN I)患者 55 例、高度宫颈上皮内瘤样变(CIN II/III)患者 55 例以及宫颈鳞状细胞癌(SCC)患者 64 例为研究对象。研究获得医学伦理学相关部门同意。

**1.2 方法** 自制调查问卷,对研究对象的各项一般资料进行调查统计;抽取患者空腹静脉血检测红细胞及血清叶酸水平;采集患者宫颈组织标本送检,利用聚合酶链反应(PCR)检测其中高危型 HPV16 的感染情况。

**1.3 统计学处理** 采用 Excel2003 建立数据库,并采用 SPSS15.0 统计学软件进行统计学分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用  $t$  检验,非正态分布资料以中位数和 95% 置信区间表示,非参数资料多组间比较采用秩和检验,血清与叶酸水平的相关性分析采用 Spearman 相关性分析;计数资料以百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;各变量与宫颈癌变之间的相关性分析采用 Logistic 回归分析;用趋势  $\chi^2$  检验分析 OR 及 aOR 随血清及红细胞叶酸水平变化的趋势;以  $\alpha = 0.05$  为检验水准,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HPV16 感染与宫颈癌变程度的关系** 在宫颈癌变的进展过程中,HPV16 感染率呈逐渐升高趋势,CIN I 组、CIN II/III 组及 SCC 组患者的 HPV16 感染阳性率均高于 CI 组患者,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 HPV16 感染与宫颈癌变的相关性分析

组别	n	HPV16 感染阳性率[n(%)]	$\chi^2$	P	OR(95%CI)	aOR(95%CI)
CI 组	80	14(17.5)	—	—	1.00	1.00
CIN I 组	55	23(41.8)	9.23	<0.05	3.30(1.54~7.45)	2.00(0.80~4.96)
CIN II/III 组	55	31(56.4)	20.33	<0.05	6.09(2.78~13.35)	5.26(2.08~13.30)
SCC 组	64	41(64.1)	29.34	<0.05	8.40(3.89~18.16)	5.62(2.18~14.48)

注:—表示无数据。

表 2 不同程度宫颈癌变患者血清叶酸和红细胞叶酸水平( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

组别	n	血清叶酸	红细胞叶酸
CI 组	80	5.96 ± 3.93	275.42 ± 54.64
CIN I 组	55	5.08 ± 3.43	259.36 ± 43.67
CIN II/III 组	55	3.92 ± 2.59	249.23 ± 34.59
SCC 组	64	3.18 ± 2.71	226.04 ± 54.69

## 2.2 患者叶酸水平与宫颈癌变程度的关系 在宫颈癌变的进

展过程中,红细胞叶酸和血清叶酸水平均呈逐渐下降趋势( $H$  分别为 43.68、59.08,  $P < 0.05$ ),且红细胞叶酸和血清叶酸水平正相关( $r = 1.235, P < 0.05$ )。分组进行趋势性  $\chi^2$  检验,结果显示,在 CIN II/III 和 SCC 组 OR 和 aOR 随血清叶酸水平的下降呈上升趋势( $P < 0.05$ ),但在 CIN I 组未呈现相同趋势;OR 在 CIN I、CIN II/III 和 SCC 组均随红细胞叶酸水平的下降呈上升趋势,aOR 仅在 SCC 组呈现上升趋势( $P < 0.05$ )。见表 2~3。

**2.3 叶酸缺乏与 HPV16 感染在宫颈癌变中的相互作用** 在 CIN II/III 及 SCC 组中,血清叶酸缺乏与 HPV16 感染均存在正相加作用;其中血清叶酸缺乏和 HPV16 感染对 CIN II/III

交互作用超额相对危险度 (RERI)、交互作用归因比 (API) 及交互作用指数 (S) 及其 95% 置信区间分别为 6.89 (6.75~7.03)、0.20 (-163.66~163.57) 和 1.26 (1.23~1.29); 血清叶酸缺乏和 HPV16 感染阳性对 SCC 的上述指数及其 95% 置信区间分别为 55.40 (55.22~55.58)、0.42 (-291.19~292.03) 和 1.73 (1.58~1.88)。在 CIN I、CIN II/III 和 SCC 组中, 红细胞叶酸缺乏与 HPV16 感染均存在正相加作用; 其中红细胞叶酸缺乏与 HPV16 感染对 CIN I 的上述指数及其 95% 置信区

间分别为 2.65 (1.75~3.55)、0.43 (-4.65~5.51) 和 2.03 (1.33~2.73); 红细胞叶酸缺乏与 HPV16 感染对 CIN II/III 的上述指数及其 95% 置信区间分别为 11.85 (11.56~12.14)、0.47 (-106.76~107.70) 和 1.96 (1.83~2.09); 红细胞叶酸缺乏与 HPV16 感染对 SCC 的上述指数及其 95% 置信区间分别为 55.87 (55.63~56.11)、0.61 (-132.59~133.81) 和 2.61 (2.50~2.72)。

表 3 血清及红细胞叶酸水平与宫颈癌变危险的关系

组别	血清叶酸			红细胞叶酸		
	水平(ng/mL)	OR(95%CI)	aOR(95%CI)	水平(ng/mL)	OR(95%CI)	aOR(95%CI)
CIN I	≤4.58	3.00(1.09~8.25)	2.67(0.69~10.54)	≤243.14	16.0(1.93~132.40)	10.97(1.13~106.87)
	4.59~5.95	1.07(0.35~3.32)	0.99(0.23~4.23)	243.15~275.41	18.00(2.19~148.01)	15.59(1.58~153.37)
	5.96~8.50	1.84(0.63~5.38)	2.25(0.56~9.13)	275.42~297.77	20.00(2.25~163.22)	14.30(1.52~134.85)
	≥8.51	1.00	1.00	≥297.78	1.00	1.00
P		>0.05	>0.05		<0.05	>0.05
CIN II/III	≤4.58	6.00(2.07~17.38)	7.19(1.45~35.57)	≤243.14	10.00(2.06~48.59)	6.94(0.88~54.64)
	4.59~5.95	1.27(0.37~4.31)	1.87(0.33~10.64)	243.15~275.41	13.50(2.83~64.52)	13.53(1.68~108.66)
	5.96~8.50	0.88(0.23~3.36)	1.15(0.18~7.18)	275.42~297.77	3.00(0.54~16.69)	1.93(0.21~18.12)
	≥8.51	1.00	1.00	≥297.78	1.00	1.00
P		<0.05	<0.05		<0.05	>0.05
SCC	≤4.58	47.00(5.90~374.49)	111.53(70.42~1 676.05)	≤243.14	10.50(3.17~34.80)	11.82(1.30~107.86)
	4.59~5.95	11.43(1.36~91.16)	49.09(3.07~786.04)	243.15~275.41	2.50(0.67~9.31)	2.78(0.27~28.30)
	5.96~8.50	4.21(0.43~41.14)	5.58(0.29~108.52)	275.42~297.77	2.50(0.67~9.31)	2.78(0.27~28.30)
	≥8.51	1.00	1.00	≥297.78	1.00	1.00
P		<0.05	<0.05		<0.05	<0.05

### 3 讨 论

宫颈病变是常见的妇科疾病类型, 尤其是宫颈癌变, 对女性的危害较大<sup>[3]</sup>。因此, 临床积极地寻找有效的检测方法以提高诊断、治疗和预后效果显得至关重要。

宫颈的 HPV 感染是诱发宫颈癌的重要因素之一, 大多数宫颈癌患者可以检测到 HPV<sup>[4]</sup>。因此, 临床经常通过 HPV 检测来筛查宫颈癌, 以达到降低宫颈癌发病率的目的。大多数女性都会在生命周期的某个时间内感染 HPV, 但并非所有的 HPV 感染都会导致宫颈癌的出现<sup>[5]</sup>。HPV 可以分为不同的类型, 按照其致病力大小可以分为高危和低危两种类型。其中, 高危 HPV 大多会导致宫颈癌; 而低危 HPV 感染大多属于“一过性”, 可导致扁平湿疣等疾病。HPV16 是一种典型的高危 HPV, 可以用来作为宫颈癌变的重要标志物<sup>[6]</sup>。宫颈上皮内瘤样变(CIN)是一种与 HPV 感染相关的病变, 与宫颈癌之间具有十分密切的联系<sup>[7]</sup>。叶酸是一种水溶性维生素, 其最重要的功能为制造红细胞和白细胞, 增强免疫力。一旦叶酸缺乏, 便会发生严重贫血, 因此叶酸又被称为“造血维生素”<sup>[8]</sup>。本研究结果显示, 宫颈癌变进展过程中, HPV16 感染率逐渐升高, 红细胞叶酸和血清叶酸水平均呈逐渐下降趋势, 且红细胞叶酸和血清叶酸水平呈正相关。此外, 研究结果还显示, 在宫颈癌变的部分进程中红细胞叶酸、血清叶酸缺乏与 HPV16 感染均存在正相加作用, 提示叶酸缺乏可能会导致宫颈癌及癌前病变的风险增加。因此, 临床需要注意做好患者体内叶酸水平的监测工作, 采用合理的剂量及时补充叶酸。

综上所述, 叶酸缺乏会导致宫颈癌变风险的增加, 宫颈癌变过程中, 叶酸缺乏和 HPV16 感染之间可能具有一定的协同作用。因此, 临床可以通过监测叶酸水平和 HPV16 感染情况对宫颈癌进行诊断, 以提高宫颈早期癌变的检出率。

### 参考文献

- [1] 任红英, 龙顺姬, 邓少君, 等. 叶酸受体介导的多功能醋酸白溶液在宫颈癌筛查中的应用研究[J]. 医学信息, 2013, 27(13): 316.
- [2] 王金桃, 丁玲, 郝俊霞, 等. 叶酸缺乏与 DNA 甲基转移酶 1 表达异常在宫颈癌变中的相互作用[J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(12): 1088-1094.
- [3] 吴婷婷, 王金桃, 丁玲, 等. 叶酸缺乏和 p16 基因 CpG 岛甲基化对宫颈癌变的作用[J]. 中华疾病控制杂志, 2013, 17(1): 9-12.
- [4] 叶婷, 傅琳娜, 李文英, 等. 叶酸对健康人外周血单个核细胞肿瘤相关基因甲基化状态的影响[J]. 中华消化杂志, 2011, 31(5): 312-317.
- [5] 陈中友. 血清同型半胱氨酸和叶酸水平与宫颈鳞状上皮细胞病变及宫颈癌的关系[J]. 广西医科大学学报, 2012, 29(3): 454.
- [6] 高晨非, 康慧杰, 白丽霞, 等. 叶酸对脆性组氨酸三联体基因表达的影响及对宫颈癌细胞增殖凋亡的作用[J]. 中华流行病学杂志, 2014, 34(5): 569-572. (下转第 677 页)

### 3 讨 论

自动化的染片机在使用时需要自定义染色步骤,其方法与手工染色存在较大的差异。一般情况下,染片机中放置数个染缸,血涂片分别在盛有染液、缓冲液及去离子水的染缸中浸泡后完成染色。本实验室的 UniCel DxH 推染片一体机内部共有 5 个染缸,可以设置每个染缸中加入的成分(如染液、缓冲液或去离子水),并且可以对其中的成分配比进行调整。由于不同实验室的温度、湿度等环境条件不同,可能同一型号的染片机也无法使用相同的条件设置,需要各实验室摸索出适合本实验室的染色条件。

本研究在不断尝试的过程中总结出以下几点经验:(1)白细胞的细胞核是否清晰是判断血涂片染色效果的重点,而细胞核着色以单核细胞最为困难,其次为粒细胞、淋巴细胞,所以观察时应着重以单核细胞为参照。(2)增加细胞的着色效果可以通过两种方法来实现。第一是延长在染液或缓冲液中的浸泡时间,第二是在缓冲液中加入一些染液。但是有的染片机无法改变染缸中成分的配比(如美国贝克曼库尔特公司 LH755 染片机),因此只能采取第一种方法。在调整过程中要循序渐进,尽量不要同时改变多个设置,否则不易发现影响染色效果的因素。(3)染色的过程中,血涂片在 1 号染缸即染液中浸泡的目的是固定和附着染液,这个过程不需要太长的时间,必须在 2 号染缸即缓冲液中浸泡才能完成着色。如果染色偏酸可以减少在缓冲液中的浸泡时间或去离子水的冲洗时间,反之亦然。因为染色时 1 号缸中的染液会被不断带入 2 号缸中,染色效果也会随之加强。(4)仪器与手工方法的染色效果有时存在差异,如嗜酸性颗粒通常比手工染色更红,单核和淋巴细胞的胞质偏蓝。(5)需要考虑实验室的湿度,湿度太大时需要适当延长血涂片的干燥时间和染色时间。(6)染缸中的染液、缓冲液或去离子水要根据标本量定期更换,染缸也需要定期清洗,每 1~2 周要从仪器中取出彻底清洁 1 次。

仪器制备的血涂片细胞形态都清晰可辨,对于异常细胞的识别尚未发现漏检情况。由于目前国内、外相关的研究和报道较少<sup>[4-9]</sup>,还有待于更多的研究来评价和验证。仪器制片的优点在于节约劳动力且效果比较稳定,只要找到最佳的染色条件并做好仪器的维护保养,就可以明显地提高工作效率。而且,仪器制备的血涂片分布均匀、细胞形态规整,染色后血涂片上的染液沉渣也很少。但是,仪器染色的流程与手工不同,染色效果也略有差异。因此,在使用初期需要与手工方法进行比较,尤其对于一些异常细胞,如原始细胞、异型淋巴细胞等要重点观察。因为原始细胞染色质细致不易着色,当数量较多时采用仪器的固有设置或许无法达到满意的效果。所以,手工制片和染色不能完全摒弃,必要时需要用传统方法进行验证。

综上所述,实验室在应用全自动推染片机时,应根据实际情况建立适合本实验室的染色方案。在染色条件设置合理的情况下,仪器制备的血涂片基本可以达到与手工染色相同的效

果。而且,仪器操作可以实现自动化、批量化,染色的效果也较固定,非常适合应用于复检率高的大型医院,可大大节约人力消耗,提高工作效率。

### 参考文献

- [1] Novis DA, Walsh M, Wilkinson D, et al. Laboratory productivity and the rate of manual peripheral blood smear review-a College of American Pathologists Q-Probes study of 95,141 complete blood count determinations performed in 263 institutions[J]. Arch of Pathol and Lab Med, 2006, 130(5):596-601.
- [2] Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, et al. The International consensus group for hematology review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis[J]. Lab Hematol, 2005, 11(12):83-90.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI). Reference leukocyte (WBC) differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods; Approved Standard Second Edition. H20-A2 [M]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2007.
- [4] Simson E, Gascon-Lema MG, Brown DL. Performance of automated slidemakers and stainers in a working laboratory environment-routine operation and quality control[J]. Int J Lab Hematol, 2009, 32(1):e64-e76.
- [5] Bron JW, Jellema G, Noordervliet R, et al. Improved performance of the automated slide preparation unit, Sysmex SP-100[J]. Sysmex J Inter, 2000, 10:71-76.
- [6] Pawlick G, Relopez J. Kaiser permanente interlaboratory abnormal cell study comparing slide quality of the Sysmex SP-100 automated slide preparation unit to manual technique[J]. Sysmex J Inter, 2000, 10:26-29.
- [7] Benattar L, Flandrin G. Comparison of the classical manual pushed wedged films, with an improved automated method for making blood smears[J]. Hematol Cell Ther, 1999, 41(5):211-215.
- [8] Brown W, Keeney M, Hedley BD. Initial performance evaluation of the UniCel? DxH slide maker/stainer Coulter? cellular analysis system[J]. Int J Lab Hematol, 2014, 36(2):172-183.
- [9] De Bitencourt ED, Voegeli CF, Onzi Gdos S, et al. Validation of the Sysmex sp-1000i automated slide preparer-stainer in a clinical laboratory[J]. Rev Bras Hematol Hemoter, 2013, 35(6):404-408.

(收稿日期:2014-08-02 修回日期:2014-10-14)

(上接第 675 页)

- [7] 丁玲, 马景丽, 周琴, 等. 叶酸对人宫颈癌细胞增殖抑制的作用及其与 HPV16 相互关系的研究[J]. 卫生研究, 2013, 42(5):748-753.
- [8] 陈芳, 王金桃, 丁玲, 等. 叶酸及其代谢相关的还原型叶酸载体、甲硫氨酸合成酶还原酶基因多态性与子宫颈癌关系的研究[J]. 肿瘤研究与临床, 2013, 25(7):437-440.

- [9] 聂小凤, 许榕仙, 李健, 等. 叶酸与相关因素的交互作用对宫颈癌的影响[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(1):106-109.
- [10] 何芳, 杨慧娟. 生活方式、膳食习惯、血清叶酸水平与宫颈癌的相关性调查[J]. 中国现代医生, 2014, 52(12):142-144.

(收稿日期:2014-08-16 修回日期:2014-10-16)