

本文引用格式:魏艳飞,徐春燕,魏玲,等.HPV感染相关CIN患者血清HLA-E和HLA-G表达与疾病进展及治疗后复发的相关性[J].安徽医学,2024,45(1):34-38.DOI:10.3969/j.issn.1000-0399.2024.01.008

HPV感染相关CIN患者血清HLA-E和HLA-G表达与疾病进展及治疗后复发的相关性

魏艳飞 徐春燕 魏玲 刘勃 于倩 董闯

[摘要] **目的** 探讨人乳头瘤病毒(HPV)感染相关宫颈上皮内瘤变(CIN)患者血清人类白细胞抗原E(HLA-E)、人类白细胞抗原G(HLA-G)表达及临床意义。**方法** 选取2021年6~12月在河北中石油中心医院治疗的HPV感染相关CIN患者120例作为观察组,选取同期无HPV感染的CIN患者60例作为对照组,检测两组血清HLA-E和HLA-G表达水平,分析血清HLA-E和HLA-G表达与患者临床资料、治疗后复发的关系。**结果** 观察组血清HLA-E和HLA-G水平分别为 (75.59 ± 18.28) pg/mL和 (30.20 ± 9.92) ng/mL,高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组CIN分级Ⅱ/Ⅲ级患者血清HLA-E和HLA-G分别为 (83.33 ± 13.90) pg/mL和 (34.54 ± 7.18) ng/mL,高于CIN分级Ⅰ级($P < 0.05$);观察组高危型HPV感染者血清HLA-E和HLA-G分别为 (78.82 ± 17.70) pg/mL和 (32.23 ± 9.43) ng/mL,高于低危型HPV感染者($P < 0.05$)。观察组血清HLA-E和HLA-G表达与CIN分级呈正相关($P < 0.05$)。复发患者治疗后1周血清HLA-E和HLA-G分别为 (68.32 ± 8.73) pg/mL和 (24.43 ± 5.58) ng/mL,高于未复发患者($P < 0.05$)。**结论** HPV感染相关CIN患者血清HLA-E和HLA-G表达与CIN分级呈正相关,同时与患者治疗后复发有一定关系。

[关键词] 人乳头瘤病毒;宫颈上皮内瘤变;人类白细胞抗原E;人类白细胞抗原G;治疗后复发

doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2024.01.008

Association of serum HLA-E and HLA-G expression with disease progression and post-treatment recurrence in patients with HPV infection-associated CIN

WEI Yanfei, XU Chunyan, WEI Ling, LIU Bo, YU Qian, DONG Chuang

Department of gynaecology, Hebei China Petroleum Central Hospital, Langfang 065000, China

Funding project: Science and Technology Research and Development Plan of Langfang City, Hebei Province (No. 2021013146)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and clinical significance of human leukocyte antigen E (HLA-E) and human leukocyte antigen G (HLA-G) in serum of patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) associated with human papillomavirus (HPV) infection. **Methods** A total of 120 cases of CIN patients with HPV infection treated in Hebei China Petroleum Central Hospital from June 2021 to December 2021 were selected as the observation group, and 60 cases of CIN patients without HPV infection in the same period were selected as the control group, the expressions of HLA-E and HLA-G in serum of the two groups were detected, and the relationship between the expressions of HLA-E and HLA-G in serum and the clinical data of patients and postoperative recurrence was analyzed. **Results** The level of serum HLA-E and HLA-G in the observation group was (75.59 ± 18.28) pg/mL and (30.20 ± 9.92) ng/mL, respectively, which was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). The level of serum HLA-E and HLA-G in patients with CIN grade Ⅱ/Ⅲ was (83.33 ± 13.90) pg/mL and (34.54 ± 7.18) ng/mL, respectively, which was significantly higher than that in patients with CIN grade Ⅰ ($P < 0.05$). The serum HLA-E and HLA-G level in patients with high-risk HPV infection in the observation group was (78.82 ± 17.70) pg/mL and (32.23 ± 9.43) ng/mL, respectively, which was significantly higher than that in patients with low-risk HPV infection ($P < 0.05$). The expression of HLA-E and HLA-G in serum of the observation group was positively correlated with CIN grade ($P < 0.05$). Serum HLA-E and HLA-G in patients with recurrence one week after operation was (68.32 ± 8.73) pg/mL and (24.43 ± 5.58) ng/mL, respectively, which was significantly higher than that in patients without recurrence ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum HLA-E and HLA-G expressions in patients with CIN associated with HPV infection are positively correlated with CIN grade, along with postoperative recurrence.

[Key words] Human papillomavirus; Cervical intraepithelial neoplasia; Human leukocyte antigen E; Human leukocyte antigen G; Postoperative recurrence

宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)是宫颈鳞状上皮内非典型增生性病变,人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染是 CIN 的重要致病因素^[1-2]。早期识别、早期处理可促进病情转归,防止恶变^[3]。研究发现,人类白细胞化抗原(human leucocyte antigen, HLA)可识别外来抗原,启动免疫反应,其中 HLA-E、HLA-G 在多种肿瘤组织中高表达,在肿瘤的发生、复发、转移过程中发挥重要作用^[4-5]。本研究探讨 HPV 感染相关 CIN 患者血清 HLA-E、HLA-G

表达及与疾病进展及治疗后复发的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 6~12 月在河北中石油中心医院妇科治疗的 HPV 感染相关 CIN 患者 120 例作为观察组,其中高危型 HPV 感染 70 例,低危型 HPV 感染 50 例;选取同期无 HPV 感染的 CIN 患者 60 例作为对照组,两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。

表 1 两组患者一般资料比较

组别	例数	年龄(岁)	身体质量指数(kg/m ²)	孕次(次)	产次(次)	吸烟[例(%)]	有多个性伴侣[例(%)]
观察组	120	51.68±8.32	22.10±2.14	2.96±0.72	1.87±0.52	33(27.50)	21(17.50)
对照组	60	50.98±7.45	22.02±2.06	2.88±0.80	1.93±0.59	16(26.67)	11(18.33)
<i>t/Z</i> 值		0.551	0.239	0.677	0.697	0.014	0.019
<i>P</i> 值		0.583	0.811	0.499	0.487	0.906	0.890

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:①经病理活检与实验室检查确诊为 CIN、HPV 感染者^[6-7];②在我院接受手术治疗者;③治疗后随访资料完整者;④患者及家属知情同意。排除标准:①合并有其他生殖系统疾病者;②妊娠期或哺乳期妇女;③合并有肝肾功能障碍、恶性肿瘤、内分泌疾病等其他严重疾病者;④近 3 个月内有性激素使用史者;⑤既往有宫颈手术史者。本研究经医院伦理委员会批准[KYLL-2021-03]。

1.3 治疗及随访方法 CIN3 合并 16、18 型 HPV 感染一般选择宫颈切除性治疗,首先在阴道镜下评估宫颈病变程度,采用电切环或冷刀环切宫颈病变部位,切除组织呈锥形。年轻、阴道镜检查满意且强烈要求无创治疗的 CIN1-2 患者均接受氨基乙酰丙酸-光动力(Aminolaevulinic Acid-based Photodynamic Therapy, ALA-PDT)治疗,光敏剂为氨酮戊酸外用散(上海复旦张江生物医药股份有限公司,生产批号:221005),光动力治疗仪(武汉亚格光电技术股份有限公司,型号:LED-IBS)治疗当日清晨勿饮水,治疗前排空小便。取截石位,在阴道镜下确定病灶位置,并采集图像。抽取温敏凝胶溶剂配制 20% 的氨基酮戊酸(aminolevulinic acid, ALA)溶液。须新鲜配制,时间不超过 4 h。清洁患处后将浸泡 ALA 溶液的棉球覆盖于病灶及其周围 2 cm 范围,敷药时间根据分组进行。采用 635 nm 红光直接照射患处,光斑应完全覆盖病灶,能量密度为 80~100 J/cm²,照射时间根据分组进行。每 2 周治疗 1 次,连续治疗 4 次。随访 12 个月,观察治疗后复发情况(复发标准^[8]:即术后病灶及周边病理结果显示细胞正常,在随访期间再次发现病变,病变经病理组织学证实为 CIN)。治疗结束后,每 3 个月复查 HPV、TCT 和阴

道镜,必要时进行组织病理学检查。

1.4 检查方法 入院时检测患者 HPV 感染情况,采用第二代杂交捕获法检测 13 种高危型 HPV-DNA(即 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 型)含量、5 种低危型 HPV-DNA(即 HPV6、11、42、43、44)含量。检测系统来自美国 Digene 公司,检测结果用所测标本的相对荧光光度值(relative light unit, RIU)与阳性定标(cut off, CO)的比值表示,RIU/CO $\geq$ 1.0 为阳性。

入院时抽取患者空腹外周静脉血离心,取血清采用酶联免疫吸附试验检测血清 HLA-E 和 HLA-G 水平,试剂盒为武汉华美生物工程有限公司产品,根据试剂盒说明书操作步骤,包被、封闭后加入 1:100 的鼠抗人 HLA-E 单克隆抗体和鼠抗人 HLA-G 单克隆抗体,于 4℃孵育过夜,洗涤后加入通用型二抗试剂盒,室温孵育 30 min。洗涤后采用 DAB 试剂盒显色,3 min 后终止。于 405 nm 处测定吸光度,代入标准曲线计算 HLA-E 和 HLA-G。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 24.0 软件进行统计分析,符合正态分布的计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间均数比较采用 *t* 检验,组内比较采用配对 *t* 检验。计数资料用率表示,组间比较采用 χ^2 检验,等级资料比较采用 Wilcoxon 秩和检验。采用 Spearman 秩相关分析血清 HLA-E 和 HLA-G 表达与 CIN 分级相关性。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组对象血清 HLA-E 和 HLA-G 表达情况比较 观察组血清 HLA-E 和 HLA-G 高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表2 两组患者血清 HLA-E 和 HLA-G 表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	HLA-E(pg/mL)	HLA-G(ng/mL)
观察组	120	75.59 ± 18.28 ^①	30.20 ± 9.92 ^①
对照组	60	63.38 ± 19.10	22.24 ± 8.81
<i>t</i> 值		5.059	6.572
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:HLA-E 为人类白细胞抗原 E,HLA-G 为人类白细胞抗原 G;与对照组比较,^①*P*<0.05。

2.2 观察组不同临床资料患者血清 HLA-E 和 HLA-G 表达情况比较 观察组 CIN 分级Ⅱ/Ⅲ级患者血清 HLA-E 和 HLA-G 高于 CIN 分级Ⅰ级,差异有统计学意义(*P*<0.05);观察组高危型 HPV 感染者血清 HLA-E 和 HLA-G 高于低危型 HPV 感染者,差异有统计学意义(*P*<0.05);不同年龄、身体质量指数、产次患者血清 HLA-E 和 HLA-G 比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 3。

2.3 观察组血清 HLA-E 和 HLA-G 表达与 CIN 分级相关性 Spearman 秩相关分析结果显示,观察组血清 HLA-E 和 HLA-G 表达与 CIN 分级呈正相关(*r_s*=0.437、0.376,*P*<0.001)。见图 1。

2.4 观察组治疗后复发和未复发患者血清 HLA-E 和 HLA-G 比较 观察组所有患者治疗后随访 1 年,其中有 21 例复发 CIN,复发率为 16.67%;复发和未复发患者术前血清 HLA-E 和 HLA-G 比较,差异无统计学意义(*P*>0.05);复发和未复发患者治疗后 1 周血清 HLA-E、HLA-G 较术前降低(*P*<0.05);复发患者治疗后 1 周血清 HLA-E 和 HLA-G 高于未复发患者,两组间差值比较,差异有统计学意义(*P*<0.05)。见表 4。

表3 观察组不同临床资料患者血清 HLA-E 和 HLA-G 表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

指标	例数	HLA-E(pg/mL)	HLA-G(ng/mL)
年龄			
<50 岁	62	74.12 ± 15.56	31.12 ± 9.59
≥50 岁	58	76.89 ± 16.60	29.39 ± 9.10
<i>t</i> 值		-0.944	1.012
<i>P</i> 值		0.347	0.314
身体质量指数			
<22 kg/m ²	55	74.71 ± 14.49	29.93 ± 9.12
≥22 kg/m ²	65	76.50 ± 15.12	30.49 ± 9.22
<i>t</i> 值		-0.659	-0.333
<i>P</i> 值		0.511	0.740
产次			
0 次	42	76.03 ± 11.43	30.93 ± 9.04
≥1 次	78	75.50 ± 13.32	30.04 ± 9.19
<i>t</i> 值		0.218	0.509
<i>P</i> 值		0.828	0.612
CIN 分级			
Ⅰ 级	76	72.21 ± 14.43	27.83 ± 6.60
Ⅱ/Ⅲ 级	44	83.33 ± 13.90	34.54 ± 7.18
<i>t</i> 值		-4.123	-5.196
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001
HPV 感染类型			
高危型	100	78.82 ± 17.70	32.23 ± 9.43
低危型	20	69.49 ± 18.12	26.37 ± 9.51
<i>t</i> 值		2.144	2.533
<i>P</i> 值		0.034	0.013

注:HLA-E 为人类白细胞抗原 E,HLA-G 为人类白细胞抗原 G,CIN 为宫颈上皮内瘤变,HPV 为人乳头瘤病毒。

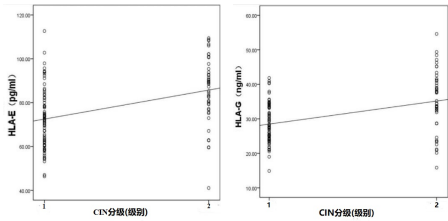


图1 观察组血清 HLA-E 和 HLA-G 表达与 CIN 分级相关性分析

表4 观察组治疗后复发和未复发患者血清 HLA-E 和 HLA-G 比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	HLA-E(pg/mL)			HLA-G(ng/mL)		
		术前	治疗后 1 周	差值	术前	治疗后 1 周	差值
复发	21	76.01 ± 9.92	68.32 ± 8.73	7.70 ± 1.18 ^①	30.14 ± 6.20	24.43 ± 5.58 ^①	5.70 ± 0.62
未复发	99	75.55 ± 10.12	45.54 ± 9.33	30.01 ± 0.79 ^①	30.21 ± 6.19	16.34 ± 5.60 ^①	13.87 ± 0.60
<i>t</i> 值		0.192		-107.061	-0.050		-56.675
<i>P</i> 值		0.848		<0.001	0.960		<0.001

注:HLA-E 为人类白细胞抗原 E,HLA-G 为人类白细胞抗原 G,与同组术前比较,^①*P*<0.05。

3 讨论

CIN 是宫颈癌的前趋症状,根据 CIN 病变占上皮层的范围和细胞病理特征,可将其分为 CIN1、CIN2 和 CIN3^[9-10]。CIN1 级患者中 57% 左右可自然消退,但仍有 43% 左右持续进展^[11-12]。研究发现,HLA-E、HLA-G 在卵巢癌、口腔癌、宫颈癌等恶性肿瘤患者血清中高表达^[13-15]。但目前鲜有 HPV 感染相关 CIN 患者血清 HLA-E、HLA-G 表达水平与疾病进展及治疗后复发关系的报道。

本研究结果显示,HPV 感染相关 CIN 患者血清 HLA-E 和 HLA-G 表达更高。HPV 感染相关 CIN 患者血清 HLA-E 和 HLA-G 表达与 CIN 分级有关,CIN 分级越高,血清 HLA-E 和 HLA-G 表达水平越高。提示今后可通过检测血清 HLA-E 和 HLA-G 表达来辅助评估患者的 CIN 分级。这是由于 HLA-E、HLA-G 可介导机体免疫耐受过程,降低自然杀伤细胞、T 细胞以及 B 细胞功能,可与细胞表面受体结合,产生免疫抑制作用,引起肿瘤细胞免疫逃逸^[16-19],因此 HPV 感染相关 CIN 患者血清 HLA-E 和 HLA-G 表达更高,则机体免疫功能相对较差。张莉等^[20]研究发现,HLA-E、HLA-G 表达水平与 HPV 感染均随着宫颈病变程度的增加而升高,且相互间存在正相关关系,与本结果基本一致。

本研究根据不同的 CIN 分级给予不同的治疗方法,CIN3 合并高危 HPV 特别是 16、18 型感染选择宫颈切除性治疗。所有患者治疗后随访 1 年,其中有 21 例复发 CIN,复发率为 16.67%。提示 CIN 患者的复发率较高,即便是经过手术或 ALA-PDT 治疗后,1 年内的复发情况仍较严重。CIN 术后较易复发,因此在治疗后应定期复查。刘渝等^[21]研究发现,CIN 复发与术前 HPV 病毒载量无明显相关,但与术后 HPV 持续阳性关系密切,如果术后持续阳性需警惕复发。本研究结果显示,复发患者治疗后 1 周血清 HLA-E 和 HLA-G 高于未复发患者,提示在今后的临床工作中可通过检测患者治疗后 1 周时的 HLA-E 和 HLA-G 水平来预测治疗后的复发风险。分析原因可能与 CIN 术后机体免疫抑制状态相关,机体免疫功能与疾病预后有关,治疗后 1 周时的 HLA-E 和 HLA-G 水平高的患者机体免疫功能较差,使患者在治疗后更易再次发生 HPV 感染而导致 CIN。但本研究也存在一些不足,在随访过程中仅检测患者治疗后 1 周时的 HLA-E 和 HLA-G 水平,并未进行周期性检测,后期可开展周期性检测,根据检测结果进一步判断 HLA-E 和 HLA-G 水平在复发中的表达。

参考文献

- [1] 闵秋思,徐琳,李秋萍,等.阴道微生态与宫颈 HPV 感染及 CIN 相关性研究进展[J].现代肿瘤医学,2020,28(12):2146-2149.
- [2] 刘祿,杨娜,刘智.TCT 阴性 CIN Ⅲ级患者的 HPV 感染状况及感染亚型特点分析[J].癌症进展,2019,17(9):1098-1101.
- [3] 刘岑,王芬,马兰,等.HPV 感染与 CIN 及宫颈组织 PAK1、Spred1 表达关系的病理研究[J].重庆医学,2021,50(17):2968-2971,2976.
- [4] ALTVATER B, KAILAYANGIRI S, PEREZ LANUZA L F, et al. HLA-G and HLA-E immune checkpoints are widely expressed in ewing sarcoma but have limited functional impact on the effector functions of antigen-specific CAR T cells[J]. Cancers(Basel),2021,13(12):2857.
- [5] MULLAN K A, ANDERSON A, ILLING P T, et al. HLA-associated antiepileptic drug-induced cutaneous adverse reactions[J].HLA,2019,93(6):417-435.
- [6] TAVASSOLI F A, DEVILLE P. WHO classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of tumours of the breast and female genital organs[M]. Lyon: IARC Press, 2003.
- [7] SMITH J H. Bethesda 2001[J]. Cytopathology, 2002, 13(1): 4-10.
- [8] 徐水芳,徐凤英,张锋英,等.高危型人乳头瘤病毒和 P16 蛋白检测对宫颈上皮内瘤变患者宫颈环形电切除术后复发的诊断价值[J].中国肿瘤临床与康复,2020,27(5):596-598.
- [9] 陆乐,曹维维,丁亚沙,等.阴道微生态及酶改变与高危型人乳头瘤病毒感染及宫颈上皮内瘤变发生风险的相关性研究[J].中国性科学,2022,31(8):94-98.
- [10] 王升科,王冬冬,赵福杰.细菌性阴道病与 HPV 感染、宫颈癌前上皮内瘤变及宫颈浸润癌相关性的研究进展[J].中国微生态学杂志,2021,33(11):1358-1361.
- [11] BEN Y H, BOUJELBENE N, BABAY W, et al. Expression analysis of immune-regulatory molecules HLA-G, HLA-E and IDO in endometrial cancer[J]. Hum Immunol, 2020, 81(6): 305-313.
- [12] 涂红琴,吴伟庆,张婕,等.不同浓度 5-氨基酮戊酸光动力疗法治疗 CIN1/2 伴 HR-HPV 感染患者的效果比较[J].中国医药导报,2020,17(35):123-126.
- [13] GUPTA B, KUMAR A, SRIDEVI P. A Comprehensive in silico analysis for identification of immunotherapeutic epitopes of HPV-18[J]. Int J Pept Res Ther, 2021, 27(4): 2717-2726.
- [14] WANG X, SANDBERG M L, MARTIN A D, et al. Potent, selective CARs as potential T-cell therapeutics for HPV-positive cancers[J]. J Immunother, 2021, 44(8): 292-306.
- [15] 刘思涵,孙祥,汪毅,等.胃癌患者血清 sHLA-E 和 sHLA-G 的表达水平及临床意义[J].湖南师范大学学报(医学版),2019,16(3):30-34.
- [16] 周丽,张莉.5-ALA 光动力疗法对宫颈上皮内瘤样病变合

- 并HPV感染的临床疗效及其影响因素[J]. 川北医学院学报, 2021, 36(5): 611-614.
- [17] 李瑞, 刘莉娜, 陈立达. 氨乙酞丙酸介导的光动力疗法对宫颈人乳头瘤病毒感染合并宫颈上皮内瘤变的疗效影响[J]. 实用临床医药杂志, 2019, 23(11): 63-65, 69.
- [18] 马凌宇, 王彦洁. 一、二代光敏剂光动力疗法在宫颈上皮内瘤变中的应用[J]. 中国微创外科杂志, 2021, 21(2): 160-164.
- [19] 毛爽, 覃焯. 人类白细胞抗原E联合高危型人乳头瘤病毒检测在高级别鳞状上皮内病变和宫颈鳞癌中的诊断价值[J]. 医学临床研究, 2020, 37(10): 1538-1541.
- [20] 张莉, 占超. 人类白细胞抗原-E、人类白细胞抗原-G蛋白在早期宫颈癌及癌前病变中的表达与人乳头瘤病毒感染的相关性研究[J]. 癌症进展, 2020, 18(14): 1453-1457.
- [21] 刘渝, 郑秀惠, 王婉, 等. 宫颈癌及宫颈上皮内瘤变患者术后复发与高危型人乳头瘤病毒载量和持续阳性的相关性研究[J]. 安徽医药, 2018, 22(11): 2102-2105.
- (2023-04-05 收稿)
(本文编校: 周雪春, 张迪)