

宫颈环形电切术联合围术期干扰素治疗宫颈上皮内瘤变的疗效及其对 T 细胞亚群的影响

林曼, 许莉, 张燕

(海口市妇幼保健院妇产科, 海南 海口 570203)

【摘要】目的: 分析宫颈环形电切术 (LEEP) 联合围术期干扰素 $\alpha 2b$ 凝胶治疗宫颈上皮内瘤变 (CIN) 的疗效及其对 T 细胞亚群的影响。**方法:** 将 100 例 CIN 合并高危型人乳头瘤病毒 (HR-HPV) 感染患者分为 A 组和 B 组, 每组各 50 例。A 组采用 LEEP 术联合术前术后重组人干扰素 $\alpha 2b$ 凝胶治疗, B 组采用单纯 LEEP 手术治疗。比较两组 CIN 患者手术出血量、手术时间、手术疗效、术后并发症发生率、HR-HPV 转阴率、CIN 复发率、外周血 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 表达率及 $CD4^+/CD8^+$ 比值。**结果:** 两组患者术中出血量、手术时间、总有效率比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); A 组患者疗效及术后 3 个月内 HR-HPV 转阴率高于 B 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); A 组患者并发症总发生率及术后 12 个月 CIN 复发率低于 B 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); A 组术后 $CD8^+$ 水平低于 B 组, $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 水平高于 B 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** LEEP 术联合术前术后联合干扰素 $\alpha 2b$ 治疗有助于提高疗效、HR-HPV 转阴率及外周血 $CD4^+/CD8^+$ 水平, 降低术后并发症发生率及 CIN 复发率, 值得临床推广。

【关键词】 宫颈上皮内瘤变; 高危型人乳头瘤病毒; 宫颈环形电切术; 围手术期; 干扰素; T 细胞亚群

【中图分类号】 R713.4 **【文献标志码】** A

Efficacy of LEEP combined with perioperative interferon in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia and its effect on T cell subsets

LIN Man, XU Li, ZHANG Yan

(Department of Obstetrics and Gynecology, Haikou Maternal and Child Health Hospital, Haikou 570203, Hainan, China)

【Abstract】Objective: To analyze the effect of loop electrosurgical excision procedure (LEEP) combined with perioperative interferon $\alpha 2b$ gel on CIN and its effect on T cell subpopulation. **Methods:** A total of 100 CIN patients with HR-HPV infection were randomly divided into group A and Group B, with 50 cases each. Patients in group A were treated with LEEP combined with preoperative and postoperative recombinant human interferon $\alpha 2b$ gel, while patients in group B were treated with LEEP alone. The operative blood loss, operative time, operative efficacy, postoperative complication rate, HR-HPV negative conversion rate, CIN recurrence rate, and peripheral blood $CD4^+$ and $CD8^+$ expression rates and $CD4^+/CD8^+$ ratio were compared between the two groups of CIN patients. **Results:** There were no statistically significant differences in intraoperative blood loss, operative time, and total effective rate between the two groups ($P > 0.05$). The curative effect and HR-HPV negative conversion rate within 3 months after operation in group A were significantly higher than that in group B, with statistically significant difference ($P < 0.05$). The total incidence of complications and CIN recurrence 12 months after surgery in group A were significantly lower than those in group B ($P < 0.05$). The postoperative $CD8^+$ level of group A was significantly lower than that of group B, and the levels of $CD4^+$ and $CD4^+/CD8^+$ were significantly higher than that of group B ($P < 0.05$). **Conclusion:** LEEP combined with preoperative and postoperative interferon $\alpha 2b$ therapy can improve the efficacy, HR-HPV negative conversion rate and the level of $CD4^+/CD8^+$ in peripheral blood, reduce the incidence of postoperative complications and CIN recurrence, and is worthy of further clinical promotion.

【Key words】 Cervical Intraepithelial Neoplasias; High risk human papillomavirus; Loop Electrosurgical Excision Procedure; Perioperative period; Interferon; T Cell Subpopulation

宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasias, CIN) 是宫颈癌的癌前病变, 宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤, 其发生发展存在由量变到质变的过

程。对 CIN 进行有效干预可阻断其向宫颈癌进展, 降低宫颈癌的发病率和死亡率。研究^[1]表明, 人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 持续感染是

CIN 及宫颈癌发病的重要原因,并主要与 HPV16/18 两种高危型 HPV (high risk human papillomavirus, HR-HPV) 病毒亚型有关。宫颈环形电切术 (loop electrosurgical excision procedure, LEEP) 是目前临床广泛使用的 CIN 治疗方法,干扰素是病毒进入机体后诱导宿主细胞产生的反应物,重组人干扰素 $\alpha 2b$ 是妇产科常用的免疫调节剂。本研究对 100 例合并 HR-HPV 感染的 CIN 患者进行研究,旨在分析 LEEP 联合围术期干扰素 $\alpha 2b$ 凝胶治疗 CIN 的疗效及其对 T 细胞亚群的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2018 年 1 月至 2019 年 12 月在海口市妇幼保健院就诊的 100 例 CIN 患者作为研究对象,根据治疗情况将 CIN 分为 A 组和 B 组,每组各 50 例。

A 组采用 LEEP 术联合术前术后重组人干扰素 $\alpha 2b$ 凝胶治疗;B 组采用单纯 LEEP 手术治疗。CIN 诊断标准:经宫颈阴道细胞学筛查、宫颈活组织病理检查确诊^[1]。纳入标准:(1)经 6 个月观察随访未自然转阴的 CIN I 患者、CIN II 患者及病灶局限的 CIN III 患者;(2)通过 HR-PCR 试剂盒检测确诊 HR-HPV 感染;(3)符合 LEEP 手术适应症;(4)年龄 20 ~ 50 岁;(5)签署知情同意书。排除标准:(1)合并心、脑、肾等重要脏器严重功能损害者;(2)妊娠期或哺乳期者;(3)依从性差等各种原因为完成所有计划治疗及随访者;(4)对研究所用药物过敏者;(5)合并其他慢性妇科疾病等生殖系统疾病者。两组患者年龄、CIN 分期、体质指数 (body mass index, BMI)、病程、孕次及产次比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者基线资料对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	年龄(岁)	CIN 分期(I/II/III,例)	BMI(kg/m ²)	病程(月)	孕次	产次
A 组(n=50)	33.15 ± 5.12	16/24/10	22.34 ± 2.14	36.56 ± 11.67	1.61 ± 0.87	1.40 ± 0.84
B 组(n=50)	34.20 ± 5.67	14/24/12	22.70 ± 2.43	34.11 ± 12.94	1.56 ± 0.84	1.37 ± 0.81
t/Z 值	0.97	0.32	0.79	0.99	0.29	0.18
P 值	0.33	0.58	0.43	0.32	0.77	0.86

1.2 研究方法

A 组采用 LEEP 术联合术前术后重组人干扰素 $\alpha 2b$ 凝胶治疗,术前采用重组人干扰素 $\alpha 2b$ 凝胶(兆科药业合肥有限公司,规格 10 万 IU/g,5 g/支) 1.5 g/d 治疗 2 个月,经期停药,给药方法为睡前将药物置入阴道后穹窿。于给药结束后下次月经干净 3 d 后行 LEEP 刀宫颈锥切术。手术方法采用阴道镜下行 LEEP 术。患者取膀胱截石位,对患者外阴进行消毒处理,借助窥阴器暴露阴道及宫颈,用棉球拭去阴道及宫颈分泌物,获得良好术野,观察宫颈病变部位的颜色、构型。消毒阴道及宫颈,利用复方碘溶液确定病变部位的范围,将距离病变边界 1 ~ 2 mm 划定为宫颈锥切第一层范围,根据病灶大小选择合适电环进行切除,电切功率为 50 W,锥切深度由术前 CIN 病理分级而定,CIN I 锥切深度取 15 mm 左右,CIN II ~ III 锥切深度取 15 ~ 20 mm,留取病理标本。在距离第一层外缘 2 ~ 5 mm 处进出电极,切除第二层宫颈组织,留取病理标本。最后,以 30 W 电凝功率对创面进行电凝止血。病理标本均定位后放入 10% 福尔马林液进行固定,送病理检

查。术后常规予以抗生素及止血药治疗 5 ~ 7 d。术后第 1 次月经干净后继续予以重组人干扰素 $\alpha 2b$ 凝胶治疗 1.5 g/d,睡前给药,持续治疗 2 个月,经期停药,方法同术前。B 组采用单纯 LEEP 手术治疗,手术方法同 A 组 LEEP 术。

1.3 观察指标

1.3.1 术中出血量、手术时间、术后并发症 记录并对比两组 CIN 患者手术出血量、手术时间。术后随访,对比两组患者术后创面感染、出血等并发症情况。

1.3.2 术后 HR-HPV 转阴率 术前及术后 1、2、3 个月行 HR-HPV 检查,患者取膀胱截石位,采用 HPV 取样器插入宫颈口转动 5 圈,取出取样器放入含有保存液的小瓶中,4 °C 冰箱冻存。采用第二代杂交捕获 (Hybrid capture II, HC II) 方法检测 HR-HPV (HPV16/18),试剂盒购自基因科技(上海)有限公司。结果判定:样本检测值相对发光单位 (relative luminous unit, RUL) 与试剂盒阳性对照临界值 (Cut-Off, CO) 的比值判定结果,RLU/CO > 1.0 结果为阳性,≤ 1.0 为阴性。根据患者术前及术后 HR-

HPV 检测结果计算转阴率。

1.3.3 手术疗效及术后1年复发率 术后6个月、12个月随访行TCT检查,根据6个月TCT检查结果判断手术疗效:宫颈光滑未发现CIN者为治愈;病变范围缩小,CIN等级降低为有效;未达有效标准者为无效。总有效率=(治愈+有效)/总数×100%。6个月CIN阴性且术后12个月复查TCT显示CIN I~III定义为复发,统计两组术后1年的复发率。

1.3.4 外周血T细胞亚群表达量 分别于术前1d与术后1个月采集所有研究对象于清晨空腹抽取外静脉血3 mL,置于EDTA抗凝管中,加入CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺抗体10 μL,放置于室温条件下避光孵育30 min,加入溶血素200 μL,放置于室温条件下避光放置15 min裂解红细胞。溶液澄清后加入1 mL PBS,放置于室温条件下,以15 cm为离心半径、3 000 rpm为转速离心12 min分离血清,滴加100 μL甲醛固定,2 h内上机(美国BD公司的流式细胞仪)测定外周血中标记CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺的T淋巴细胞的百分比。

1.4 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件对数据进行统计学分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用两独立样本t检验,治疗前后比较采用配对t检验;计数资料采用[n(%)]表示,组间比较采用 χ^2 检验;等级资料采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组CIN术中出血量及手术时间比较

两组患者术中出血量及手术时间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表2 两组CIN患者术中出血量及手术时间比较($\bar{x} \pm s$)

组别	术中出血量(mL)	手术时间(min)
A组(n=50)	10.25 ± 2.90	11.97 ± 2.48
B组(n=50)	9.10 ± 3.21	12.26 ± 3.20
t值	1.88	0.51
P值	0.06	0.61

2.2 两组CIN手术疗效及术后复发情况

两组患者总有效率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);A组患者疗效高于B组($P < 0.05$);A组患者术后12个月的CIN复发率低于B组($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组患者疗效及复发率对比[n(%)]

组别	治愈	有效	无效	总有效率	复发率
A组(n=50)	44(88.00)	5(10.00)	1(2.00)	98.00(49/50)	0.00(0/50)
B组(n=50)	35(70.00)	9(18.00)	6(12.00)	88.00(44/50)	10.00(5/50)
χ^2 值		5.74		3.84	5.26
P值		0.02		0.05	0.02

2.3 两组CIN患者术后并发症

两组患者术后创面感染、宫颈裂伤、创面出血发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);A组术后并发症总发生率低于B组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 两组CIN患者术后并发症对比[n(%)]

组别	术后创面感染	宫颈裂伤	创面出血	并发症总发生率
A组(n=50)	1(2.00)	2(4.00)	2(4.00)	10.00
B组(n=50)	4(8.00)	6(12.00)	5(10.00)	30.00
χ^2 值	1.89	2.17	1.38	6.25
P值	0.17	0.14	0.24	0.01

2.4 两组CIN患者术后HR-HPV病毒转阴情况对比

治疗结束1、2、3个月后,两组患者HR-HPV转阴率分别为A组26.00%、14.00%、40.00%,B组14.00%、20.01%、16.00%。术后3个月内A组患者转阴率高于B组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表5 两组CIN患者术后3月HR-HPV病毒转阴率对比[n(%)]

组别	1个月转阴	2个月转阴	3个月转阴	总转阴率
A组(n=50)	13(26.00)	7(14.00)	20(40.00)	80(40)
B组(n=50)	7(14.00)	10(20.00)	8(16.00)	50(25)
χ^2 值				9.89
P值				0.002

2.5 两组CIN患者术前术后T细胞亚群

治疗前,两组患者CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后,两组患者CD8⁺较治疗前显著下降,CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺较治疗前显著升高,差异有统计学意义(A组: $t = 5.05, t = 7.03, t = 9.31$,B组: $t = 3.74, t = 3.97, t = 4.59, P < 0.05$),且治疗后A组CD8⁺水平低于B组,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平高于B组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表6。

表 6 两组 CIN 患者术前术后 T 细胞亚群对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD4+ (%)		CD8+ (%)		CD4+/CD8+	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A 组 (n=50)	34.96 ± 4.82	40.07 ± 5.28	27.07 ± 4.48	21.33 ± 3.64	1.33 ± 0.28	1.92 ± 0.35
B 组 (n=50)	34.03 ± 4.90	37.28 ± 3.71	26.79 ± 5.14	23.28 ± 3.57	1.31 ± 0.35	1.65 ± 0.39
t 值	0.96	3.06	0.29	2.07	0.32	3.64
P 值	0.34	0.003	0.77	0.008	0.75	<0.001

3 讨论

子宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤之一,其发病率居女性恶性肿瘤的第二位,在全球女性肿瘤死亡病例数中占比高达 12%。CIN 是宫颈癌的癌前病变,HR-HPV 与 CIN II ~ III 密切相关,HR-HPV 持续感染是宫颈癌前病变和宫颈癌发生的根本原因,由 CIN 进展为宫颈癌需数年、甚至数十年。因此,对 CIN 尽早诊断及合理治疗可阻断宫颈癌的进程,对降低宫颈癌发病率及病死率具有重要意义。锥切手术可治愈 98% CIN。LEEP 和冷刀锥切术 (cold Knife Conization,CKC) 是临床广泛使用的 CIN 手术方式^[2]。LEEP 与 CKC 治疗 CIN 术后残留率及近期复发率方面疗效相近,但 LEEP 的术后出血、宫颈狭窄等并发症发生率更低,对妊娠的不良影响小。

本研究通过对 LEEP 术前术后加用干扰素 $\alpha 2b$ 观察干扰素 $\alpha 2b$ 的作用,结果显示术前术后使用干扰素 $\alpha 2b$ 的 A 组手术时间及术中出血量与 B 组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),但手术疗效优于 B 组,后创面感染、宫颈裂伤、创面出血等并发症总发生率低于 B 组 ($P < 0.05$)。提示干扰素 $\alpha 2b$ 辅助 LEEP 治疗合并 HR-HPV 感染的 CIN 患者能有效提高疗效,降低术后并发症。干扰素是宿主细胞在病毒进入机体给诱导产生的一种反应物,具有广谱抗病毒的作用。重组人干扰素 $\alpha 2b$ 是一种通过基因工程技术研制的蛋白质,由 165 个氨基酸组成。重组人干扰素 $\alpha 2b$ 栓通过阴道后穹窿给药后,能快速溶化分解与病灶接触产生治疗作用,通过促进寻损伤修复及再生,减少术后并发症的发生。

HPV 是一种常见的性传播 DNA 病毒,约 90% 的 CIN 患者合并有不同亚型 HPV 感染^[3]。HPV 可潜伏在宫颈上皮细胞内,逐渐将自身 DNA 整合到宿主细胞中,与细胞调控蛋白作用上调致癌基因的表达及与抑癌基因的结合,从而降解抑癌基因,使宿主细胞转化为永生恶性细胞。HR-HPV 的持续感染是宫颈癌前病变和宫颈癌发生的根本原因^[4-5],也是

CIN 患者 LEEP 术后转归的重要因素之一^[6-8]。A 组患者术后 3 个月内 HR-HPV 转阴率高于 B 组,术后 1、2 个月 CIN 复发率低于 B 组 ($P < 0.05$),提示重组人干扰素 $\alpha 2b$ 栓阴道给药治疗,局部与病灶接触直接发挥抗病毒作用,减少 HR-HPV 病毒负荷量,促进 HPV 病毒清除,降低 CIN 复发风险。研究^[9]表明,干扰素 $\alpha 2b$ 可与细胞表面干扰素受体结合,诱导细胞产生 2-5A 合成酶、蛋白激酶等物质发挥抗病毒作用,抑制病毒蛋白的生成及核酸的复制及转录,有效降低宫颈癌预后相关蛋白细胞角蛋白 19 片段抗原 (CYFRA21-1) 及水平鳞状细胞癌抗原 (SCCAg),能下调 HR-HPV 病毒 E6、E7 mRNA 表达^[10],提高用药疗效通过多种途径作用增强巨噬细胞、淋巴细胞对病毒的特异性杀伤及吞噬作用,并参与体内雌二醇、孕酮水平的调节,帮助改善阴道微环境,促进寻损伤修复及再生。

CIN 的发生与进展还与宫颈局部免疫状态及全身免疫状态密切相关^[11]。雷晓静等^[12]研究表明,随着 CIN 等级增高,CIN 病变组织中 T 细胞及树突状细胞的表达、细胞免疫功能的活跃程度逐步升高。外周血 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞及 IL-12 等炎症因子之间相互关联、彼此影响。术后 CD4⁺/CD8⁺ 水平高于 B 组 ($P < 0.05$),提示重组人干扰素 $\alpha 2b$ 栓阴道给药治疗可显著调节细胞免疫 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞数量,干扰素 $\alpha 2b$ 通过抗病毒及局部免疫调节作用,并参与体内雌二醇、孕酮水平的调节,帮助宫颈组织术后恢复并清除 HPV 病毒,帮助改善阴道微环境^[13],从而预防 CIN 复发。

综上所述,LEEP 术前术后联合干扰素 $\alpha 2b$ 治疗有助于提高 HR-HPV 转阴率及外周血 CD4⁺/CD8⁺ 水平,降低术后并发症发生率及 CIN 复发率,值得进一步在临床推广使用。

参考文献

- [1] 郎景和. 子宫颈上皮内瘤变的诊断与治疗 [J]. 中华妇产科杂志, 2001, 9(5): 340-341.
- [2] Yin G, Li J, Wu A, et al. Four categories of LEEP for CIN of vari-

- ous areas: a retrospective cohort study[J]. *Minim Invasive Ther Allied Technol*, 2017, 26(2): 104-110.
- [3] Huang HJ, Tung HJ, Yang LY, *et al.* Role of human papillomavirus status after conization for high-grade cervical intraepithelial neoplasia[J]. *Int J Cancer*, 2020, Doi:10.1002/ijc.33251.
- [4] Wang HY, Kim H, Park KH. Diagnostic performance of the E6/E7 mRNA-based Optimygene HR-HPV RT-qDx assay for cervical cancer screening[J]. *Int J Infect Dis*, 2019, 78: 22-30.
- [5] 唐争翠, 李荣, 唐争艳. 池州地区 HPV 感染的基因型分布特点和宫颈病变情况分析[J]. *川北医学院学报*, 2019, 34(4): 407-410.
- [6] 张阳, 罗美, 何鑫, 等. 高级别宫颈上皮内瘤变及早期宫颈癌子宫切除术后患者高危型人乳头瘤病毒消退规律及相关因素分析[J]. *首都医科大学学报*, 2018, 39(6): 864-870.
- [7] Codde E, Munro A, Stewart C, *et al.* Risk of persistent or recurrent cervical neoplasia in patients with 'pure' adenocarcinoma-in-situ (AIS) or mixed AIS and high-grade cervical squamous neoplasia (cervical intra-epithelial neoplasia grades 2 and 3 (CIN 2/3)): a population-based study[J]. *BJOG*, 2018, 125(1): 74-79.
- [8] Hoffman SR, Le T, Lockhart A, *et al.* Patterns of persistent HPV infection after treatment for cervical intraepithelial neoplasia (CIN): A systematic review[J]. *Int J Cancer*, 2017, 141(1): 8-23.
- [9] 郑顺杰, 胡旻, 邵明君, 等. LEEP 联合重组人干扰素对进展期宫颈癌 HPV 感染患者 SCCAg 与 CYFRA21-1 水平的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(24): 3812-3815.
- [10] 郭贤凤, 余颖, 陈红舟, 等. 不同剂型干扰素治疗高危型 HPV 亚临床感染的对比分析[J]. *健康研究*, 2017, 37(3): 283-286.
- [11] Chu X, Li Y, Long Q, *et al.* Chimeric HBcAg virus-like particles presenting a HPV 16 E7 epitope significantly suppressed tumor progression through preventive or therapeutic immunization in a TC-1-grafted mouse model[J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 2417-2429.
- [12] 雷晓静. 宫颈上皮内瘤变的中医证候与宫颈局部组织 CD4、CD8 及 CD1a 关系的临床研究[D]. 西安: 陕西中医学院, 2013.
- [13] 林俐莎, 周笑, 蔡菲, 等. 克林霉素注射液联合重组人干扰素 $\alpha 2b$ 阴道泡腾胶囊治疗宫颈人乳头瘤病毒感染的临床研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(15): 1571-1573, 1577.

(收稿日期: 2020-08-21

修回日期: 2020-10-25)