

紫术消瘤散对P16/Ki67在子宫颈低级别鳞状上皮内瘤变表达的影响

陈秋燕, 吴冬梅, 杨青青

福建中医药大学附属第二人民医院, 福建 福州

收稿日期: 2022年5月23日; 录用日期: 2022年6月17日; 发布日期: 2022年6月29日

摘要

目的: 观察紫术消瘤散治疗湿热瘀结型子宫颈低级别鳞状上皮内瘤变(LSIL)患者的疗效, 为临床运用中医药治疗LSIL提供参考。方法: 选取2020年08月至2022年1月就诊我院妇科门诊, 经组织病理学证实为LSIL合并HR-HPV感染, P16/Ki67双染阳性, 中医辨证符合湿热瘀结证的患者共120例。中药治疗组将紫术消瘤散涂抹于宫颈及宫颈管治疗3个疗程, 西药治疗组将重组人干扰素 α -2b阴道泡腾胶囊(辛复宁®)置于阴道的穹窿处治疗3个疗程, 空白对照组不采取治疗措施, 比较治疗前后高危型HPV病毒转阴及P16/Ki67表达情况。结果: 中药治疗组治疗后HR-HPV转阴率高于西药治疗组、空白组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。西药组治疗后HR-HPV转阴率高于空白组, 但差异无统计学意义($P < 0.0167$)。中药治疗组治疗后P16/Ki67双染表达转阴率高于西药治疗组、空白组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。西药治疗组治疗后P16/Ki67双染表达转阴率高于空白组, 但差异无统计学意义($P < 0.0167$)。结论: 紫术消瘤散、干扰素均能够在一定程度上逆转HR-HPV感染, 但紫术消瘤散在抗HPV感染、逆转LSIL进展更具优势, 值得临床推广。

关键词

HR-HPV感染, P16/Ki67双染, 紫术消瘤散

Effects of Zizhu Xiaoliu San on the Expression of P16/Ki67 in Cervical Low-Grade Squamous Intraepithelial Neoplasia

Qiuyan Chen, Dongmei Wu, Qingqing Yang

The Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou Fujian

文章引用: 陈秋燕, 吴冬梅, 杨青青. 紫术消瘤散对 P16/Ki67 在子宫颈低级别鳞状上皮内瘤变表达的影响[J]. 医学诊断, 2022, 12(2): 180-185. DOI: 10.12677/md.2022.122028

Abstract

Objective: To observe the curative effect of Zizhu Xiaoliu Powder in the treatment of patients with cervical low-grade squamous intraepithelial neoplasia (LSIL) of damp-heat stasis type, and to provide a reference for clinical application of traditional Chinese medicine in the treatment of LSIL. **Methods:** Selected from August 2020 to January 2022 in our hospital's gynecological outpatient clinic, confirmed by histopathology that LSIL complicated with HR-HPV infection, P16/Ki67 double staining was positive, and a total of 120 patients with TCM syndrome matching with damp-heat stasis syndrome were selected. The traditional Chinese medicine treatment group applied Zizhu Xiaoliu Powder to the cervix and cervical canal for 3 courses of treatment, while the western medicine treatment group applied recombinant human interferon α -2b vaginal effervescent capsules (Xinfuning®) to the fornix of the vagina for 3 courses of treatment. In the blank control group, no treatment was taken, and the negative conversion of high-risk HPV virus and the expression of P16/Ki67 were compared before and after treatment. **Results:** The HR-HPV negative conversion rate in the traditional Chinese medicine treatment group was higher than that in the western medicine treatment group and the blank group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The HR-HPV negative conversion rate in the western medicine group was higher than that in the blank group, but the difference was not statistically significant ($P < 0.0167$). After treatment, the negative rate of P16/Ki67 double staining in the traditional Chinese medicine treatment group was higher than that in the western medicine treatment group and the blank group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The negative rate of P16/Ki67 double staining in the western medicine treatment group was higher than that in the blank group, but the difference was not statistically significant ($P < 0.0167$). **Conclusion:** Zizhu Xiaoliu San and interferon can reverse HR-HPV infection to a certain extent, but Zizhu Xiaoliu San has more advantages in resisting HPV infection and reversing the progress of LSIL, and it is worthy of clinical promotion.

Keywords

HR-HPV Infection, P16/Ki67 Double Staining, Zizhu Xiaoliu San

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

宫颈癌是女性最常见的第二大恶性肿瘤，现已明确高危型人乳头瘤病毒(high risk human papillomavirus, HR-HPV)持续感染是宫颈病变进展和宫颈癌的最主要原因。宫颈癌可以通过筛查降低发病率和死亡率，筛查手段经过细胞学检测、病毒学检测，已经发展到了较为先进的分子生物学水平，P16 和 Ki67 作为当下肿瘤领域的研究热点，已有多项研究表明显示 P16/Ki67 的表达对宫颈癌前病变的诊断和预测病变发展亦具有重要临床意义[1]，名老中医谢德聪教授有数十年妇科临床经验，在本病的诊治上颇具心得，且疗效显著，谢德聪教授认为 HR-HPV 感染所致的湿热瘀结型带下病因根本是脾虚，湿邪是病变的关键，瘀血、湿热是重要的病理产物，最终“湿、热、瘀”相互搏结，形成本病，依此创制了紫术消瘤散用于治疗本病的协定外用方。鉴于此，本研究运用紫术消瘤散辅助治疗子宫颈低级别鳞状上皮内瘤变

(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL)合并高危型 HPV 感染患者, 观察治疗前后 P16/Ki67 表达情况及 HR-HPV 转归情况, 报道如下:

2. 资料与方法

2.1. 一般资料

2020 年 08 月至 2022 年 1 月就诊我科门诊, 经组织病理学证实为 LSIL 合并 HR-HPV 感染, P16/Ki67 双染阳性, 中医辨证符合湿热瘀结证的患者共 120 例, 按照随机数字表法分为中药治疗组、西药治疗组、空白组各 40 例。中药治疗组年龄 25~48 岁, 平均 (38.84 ± 5.55) 岁, 西药治疗组年龄 26~50 岁, 平均 (39.15 ± 6.18) 岁, 空白治疗组年龄 25~49 岁, 平均 (38.50 ± 5.98) 岁, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2. 诊断标准

2.2.1. 西医诊断标准

采用三阶梯诊断流程, 最终组织病理学诊断为 LSIL 的患者, 合并 HR-HPV 感染, p16/Ki67 双染阳性。

2.2.2. 中医诊断标准

参照 2016 年谈勇主编的新世纪第 4 版《中医妇科学》中“带下病”进行诊断和《中医病证诊断疗效标准》中的辨证分型拟定。并结合前期研制的阴道镜影像表征证候望诊调查表将湿热瘀结证纳入辨证资料: 宫颈局部表面粘液色黄或黄白相兼, 或分泌物呈脓性, 或粘液夹杂血液; 质稠; 颜色: 暗红或鲜红; 质地: 脆、易出血; 血管: 鲜红或暗红, 粗大、扩展, 青紫迂曲[2] [3]。

2.3. 纳入标准

① 年龄 25~50 岁, 有性生活史、尚未绝经的女性且平素月经周期基本规律(21~35 天)。② 就诊前 1 月内未进行相关的宫颈治疗以及既往无盆腔放射治疗史的患者。③ 无合并盆腔炎、急性生殖道炎及其他急性病和影响用药的慢性病; ④ 自愿接受药物治疗能够按时回访, 按要求完成临床治疗观察者, 并签署知情同意书。

2.4. 排除标准

① 明确由霉菌、滴虫、淋球菌或其他疾病引起明显临床症状者; ② 妊娠期或哺乳期妇女; ③ 过敏体质或对多种药物过敏; ④ 合并有呼吸、消化、循环、神经、血液系统的严重疾病者; ⑤ 精神病患者。

2.5. 治疗方法

① 中药治疗组将紫术消瘤散(主要成分: 莪术、紫草、苦参、儿茶、枯矾等, 该方由国家中医药管理局老中医药专家学术继承指导老师谢德聪教授的临床经验方, 由我院中药制剂室制备)使用棉签均匀涂抹于宫颈及宫颈管。间隔 3 天用药 1 次, 1 月 1 个疗程, 连续使用 3 个疗程, 月经期停用。② 西药治疗组: 患者自行将重组人干扰素 α -2b 阴道泡腾胶囊(辛复宁®)置于阴道的穹窿处, 1 次 1 粒, 于每晚睡前使用。1 月为 1 疗程, 连续使用 3 个疗程, 月经期停用。③ 空白对照组: 不采取治疗措施。

2.6. 观察指标

分别观察三组治疗前后高危型 HPV 病毒转阴及 P16/Ki67 表达情况。

2.7. 统计学方法

收集归纳数据,所有数据由 SPSS 23.0 进行统计分析,其中计数资料(%)进行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,进行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. HR-HPV 转阴率比较

中药组治疗后 HR-HPV 转阴率 50.00%,西药组治疗后 HR-HPV 转阴率 22.50%,空白组随访三个月后 HR-HPV 转阴率 15%,三组患者 HR-HPV 转阴率($P < 0.05$)差异具有统计学意义;西药组治疗后 HR-HPV 转阴率高于空白组,但差异无统计学意义。(表 1)

Table 1. Comparison of HR-HPV negative conversion rates

表 1. HR-HPV 转阴率比较

分组	例数	转阴例数	转阴率	χ^2	<i>P</i>
中药组	40	20	50% ^{ab}		
西药组	40	9	22.50% ^c	13.150	0.001
空白组	40	6	15%		

注: a 中药组与西药组相比较, $P = 0.011 < 0.0167$; b 中药组与空白组相比较, $P = 0.001 < 0.0167$; c 西药组与空白组相比较, $P = 0.390 > 0.0167$ 。

3.2. P16/Ki67 双染结果比较

中药组治疗后 P16/Ki67 双染表达转阴率 45.00%,西药组治疗后 P16/Ki67 双染表达转阴率 17.50%,空白组随访三个月后 P16/Ki67 双染表达转阴率 12.5%,三组患者 P16/Ki67 双染表达转阴率差异具有统计学意义。西药组治疗后 P16/Ki67 双染表达转阴率高于空白组,但差异无统计学意义。(表 2)

Table 2. Comparison of negative conversion rates of P16/Ki67 double-stained expression

表 2. P16/Ki67 双染表达转阴率比较

分组	例数	转阴例数	转阴率	χ^2	<i>P</i>
中药组	40	18	45% ^{ab}		
西药组	40	7	17.50% ^c	13.067	0.001
空白组	40	5	12.5%		

注: a 中药组与西药组相比较, $P = 0.008 < 0.0167$; b 中药组与空白组相比较, $P = 0.001 < 0.0167$; c 西药组与空白组相比较, $P = 0.531 > 0.0167$ 。

4. 讨论

宫颈癌是女性最常见的第二大恶性肿瘤,HR-HPV 持续感染是宫颈癌前病变和宫颈癌的最主要因素,宫颈病变级别越高,进展为癌的风险越大。高级别宫颈上皮内瘤样病变的早期明确并进行阻断是筛查的主要目标。P16/Ki67 双染为宫颈病变诊断新型方式之一,可更准确进行分级诊断。P16 是一种新型抑癌基因,主要的生物学作用是通过抑制 CDK4 的功能,介入细胞的生长、增殖,起负性调节作用。研究已证实,P16 基因失活可表现于多种人体肿瘤组织中,机体中近 50%的肿瘤细胞中存在 P16 的异常表达[4]。参与肿瘤形成主要的方法是以缺失、失能性突变以及基因启动子甲基化所致的表观遗传性表达抑制等[5],

故 P16 因子在机体构成抑癌机制的过程中具有非常重要的地位,一旦失活则会导致细胞恶性增殖,出现癌前病变,甚至癌的发生。宫颈上皮内瘤变(CIN)是宫颈上皮细胞从良性病变衍变成恶性病变的过渡阶段,呈连续性地发生、发展,也称为癌前病变,在宫颈病变发展过程中,HR-HPV 的持续感染是造成 P16 过度表达的始动因素[6]。Ki67 作为增殖相关核抗原,是当下公认的增殖能力最强的基因之一[7],现将 Ki67 作为体现细胞增殖程度的理想标记物及鉴别组织病变良恶性的参考指标,在恶性肿瘤的检测领域已被普遍应用。目前大量临床研究证实高表达的 Ki67 与恶性肿瘤的临床疗效和预后呈负相关, Ki67 可作为体现肿瘤恶性程度及评估预后的一种标志物[8]。HR-HPV 可以诱导宫颈上皮表达 Ki67 [9], HR-HPV 病毒载量与 Ki67 的表达强度呈明显的正相关性。因此,通过检测宫颈上皮脱落细胞中 P16/Ki67 的表达有助于提示 HPV 感染,同时是分辨宫颈上皮内瘤变病变严重程度及评估其预后的一种重要手段,在宫颈病变过程中具有重要参考价值。

近几年来,宫颈病变在诊疗方面的研究有较大进展,目前宫颈病变的治疗多采用药物局部栓塞治疗、物理治疗破坏病灶或手术切除部分宫颈组织的方法,但无法完全清除 HPV,同时治疗后常伴有阴道分泌物增多、异常出血、排液等近期并发症,远期可因宫颈管狭窄粘连造成月经量少甚至不孕等后果[10][11]。当下现代医学针对宫颈 HPV 感染的治疗药物主要为干扰素,干扰素作为广谱抗病毒药物,具备抗病毒、抗肿瘤作用。然而应用于干扰素治疗宫颈 HPV 感染也存在一定的缺点,其治疗周期较长、费用高、疗效不确定,小部分人使用后可能会引起发热、肌肉疼痛、月经失调等不良反应。干扰素治疗虽然能一定程度上改善患者阴道环境,修复宫颈上皮,但是否能彻底清除人乳头瘤病毒尚无确切证据,宫颈病变的首选方法仍是手术治疗。中医药治疗 CIN 病变多以扶正补虚、清热利湿、解毒化瘀为主,采用内治、外治、内外合治、综合治疗等多种方法兼顾,从而达到扶正祛邪、攻补兼施及标本兼治的目的。外用中药栓剂具有局部药物浓度高,外药物直达病所,操作简便等优点,治疗宫颈病变目前应用比较广泛,中药代表外用药有保妇康栓、清毒栓、斑蝥素乳膏等具有一定的疗效[12][13][14]。

在 LSIL 的患者中,多表现出带下增多,颜色常为黄或者黄白相间,质地较稠,或有异味,甚或味秽和其他伴随症状及湿热瘀结的舌脉表现。该病的主要发病机制因脾脏功能下降,任脉失于固摄,带脉失于制约,日久气血瘀阻,湿毒内积,最终湿热、瘀血相搏纠葛而成。该研究所使用的紫术消瘤散全方协同奏活血化痰,清热解毒,燥湿杀虫,利湿止带的作用。方中莪术、紫草为主要成分,莪术其味辛、苦,性温,归肝、脾经,能达破血散瘀、行气消积、除癥缓痛、温化水湿的功效;紫草其味甘、咸,性寒,归肝、心经,本品能凉血清热,清热解毒,两药合用,协同清热与以利湿,化痰兼解毒,故为本方的君药,用量最大,能直指病机根本。现代药理研究表明莪术具有消炎止痛、去腐生肌、抗肿瘤及病毒作用,其中化学成分姜黄素具有抗 HPV、抗宫颈癌的作用[15]。莪术抗肿瘤的作用主要是对 PI3K/Akt, MAPK, VEGF, JAK-STAT 等多条肿瘤关键信号通路具有调节作用,从而发挥抑制肿瘤细胞增殖、促进细胞凋亡等作用[16]。紫草有显著的抗肿瘤、抗菌、抗炎、促进伤口愈合作用,紫草治疗尖锐湿疣具有促进感染细胞凋亡,同时阻止疣体供血血管的增生,阻断疣体的营养来源,进而清除病毒、使疣体缩小乃至消退的作用。此外紫草复方在一定剂量范围内能提高自然杀伤细胞(NK 细胞)杀伤靶细胞的活性,提高机体免疫功能,发挥对淋巴细胞的调节功能[17]。

本研究显示,中药紫术消瘤散组的 HPV 转阴率、P16/Ki67 双染表达转阴率分别为 50%、45.00%,西药组的 HPV 转阴率、P16/Ki67 双染表达转阴率分别为 22.50%、17.50%,空白的 HPV 转阴率、P16/Ki67 双染表达转阴率分别为 15%、12.50%,中药组和西药组的 HPV 转阴率均高于空白组,可见紫术消瘤散、干扰素均能够在一定程度上逆转 HR-HPV 感染。中药组的 HR-HPV 转阴率、P16/Ki67 双染表达转阴率均高于西药组、空白组,有统计学差异,西药组和空白组无统计学差异,揭示紫术消瘤散在抗 HPV 感染、逆转 LSIL 进展更具优势,值得临床推广。

基金项目

福建中医药大学校管课题(XB2020013)。

参考文献

- [1] 张娜, 张儒英, 张林燕. P16 和 Ki67 的异常表达在宫颈病变筛查及诊治中的研究进展[J]. 中国医药, 2020, 15(6): 968-972.
- [2] 张良琴, 吴冬梅. 高级别宫颈上皮内瘤变阴道镜下宫颈征象特点研究[J]. 中国医药, 2017, 12(2): 280-284.
- [3] 吴冬梅, 张良琴, 李灿东. 高级别宫颈上皮内瘤变阴道镜下宫颈征象与中医证的相关性研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 871-874.
- [4] Valenca, J.E., Goncalves, A.K., Guerreiro da Silva, I.D., *et al.* (2016) High Risk HPV E6 /E7 Oncoprotein Expression in Women with High Grade Squamous Intraepithelial Lesion. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, **38**, 154-159. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1580713>
- [5] 曾银朵, 汪颖, 吴雯静, 等. 绝经前激素受体阳性乳腺癌辅助内分泌治疗的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(15): 2466-2470.
- [6] 李旭, 鲍健, 孙翠翠. p16、Ki-67 在宫颈鳞状上皮病变分级诊断中的意义[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(13): 2119-2121.
- [7] 许湘萍, 高丽, 黄文峰, 等. P16 和 Ki67 的表达对早期宫颈癌变的诊断作用[J]. 当代医学, 2019, 25(8): 53-55.
- [8] 徐锦屏, 沈卫达, 周英姿, 等. P16、P27 蛋白与乳腺癌临床病理特征的关系及预后价值[J]. 肿瘤研究与临床, 2016, 28(5): 315-317.
- [9] 孙秀丽, 张晓红, 陈丽君, 等. 女性宫颈病变组织 P16、P53 和 Ki67 的表达与高危 HPV 感染相关性研究[J]. 临床医学研究与实践, 2016, 1(14): 4-6.
- [10] 殷洁, 曹佩霞. HPV 感染相关宫颈病变的中西医治疗研究[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 2(1): 128.
- [11] 段华. 宫颈锥切术的并发症与处理[J]. 实用妇产科杂志, 2009, 25(7): 393-394.
- [12] 杨红莲. 保妇康栓治疗宫颈 HPV 感染的临床效果分析[J]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2019, 6(7): 103-104.
- [13] 于妍妍, 曹颖, 金哲, 林彤. 清毒栓对高危型 HPV 感染患者阴道免疫微环境调节作用的研究[J]. 北京中医药, 2014, 33(8): 587-590.
- [14] 张宏, 郑晓霞, 杨秋红. 斑蝥素乳膏抗宫颈 HPV 感染的临床疗效观察[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(14): 1998-1999.
- [15] 钟锋, 顾健, 张亮亮, 廖敬礼, 姚峰. 莪术药理作用的现代研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(13): 67-68.
- [16] 李宝石, 夏宁俊, 朱超林. 中药莪术对肿瘤相关信号通路影响研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(2): 188-191.
- [17] 陈天雷, 王丹丽, 张弦, 等. 紫草对尖锐湿疣患者皮损中 Bcl-2、survivin 及 VEGF 表达的影响[J]. 广东药学院学报, 2010, 26(4): 426-429.