

海麒舒肝治疗宫颈人乳头瘤病毒感染的 疗效及安全性观察^{△*}

冉雪梦¹, 郭新华^{2*}, 王世欣³, 李春霞³

(1. 青岛大学医学院附属海慈医院, 山东 青岛 266033; 2. 青岛大学附属医院, 山东 青岛 266003;
3. 中国海洋大学海洋药物教育部重点实验室, 医药学院, 山东 青岛 266003)

摘要:目的 观察海洋药物海麒舒肝治疗宫颈高危型人乳头瘤病毒感染(HR-HPV)的临床疗效。方法 选择宫颈高危型 HPV 感染者 76 例, 分为观察组(海麒舒肝)39 例和对照组(辛复宁)37 例, 采用杂交捕获二代(HC II)检测 HR-HPV 病毒载量。用药 3 个月和 6 个月后, 观察 2 组治疗前后宫颈糜烂的改善情况及 HC II 值的变化情况。结果 治疗 3 个月和 6 个月后患者的宫颈糜烂均有改善, 2 组比较无明显差异($P > 0.05$), 使用海麒舒肝后患者均无不良反应; 用药 3 个月后, 2 组降低 HR-HPV 病毒载量的总有效率和转阴率比较, 无明显差异($P > 0.05$); 用药 6 个月后, 观察组降低 HR-HPV 病毒载量总有效率(87.2%)高于对照组(62.2%) ($P < 0.05$), 观察组对于 HR-HPV 转阴率(53.8%)亦高于对照组(24.3%) ($P < 0.05$)。结论 初步证实海麒舒肝可以明显降低宫颈高危型 HPV 病毒载量, 改善宫颈临床症状, 对于治疗宫颈 HPV 感染的疗效确切, 无不良反应。

关键词:海麒舒肝; 宫颈; HPV 感染; 疗效

中图分类号: R965

文献标志码: A

文章编号: 1002-3461(2015)04-026-05

Curative effect and safety of Haiqishugan for treatment of human papillomavirus (HPV) infection of cervix

RAN Xue-meng¹, GUO Xin-hua², WANG Shi-xin³, LI Chun-xia³

(1. Hiser Hospital affiliated to Medical College of Qingdao University, Qingdao 266033, China;
2. The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China;
3. Key Laboratory of Marine Drugs of Ministry of Education, School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Objective To observe the efficacy and safety of Haiqishugan for treatment of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) infection of cervix. **Methods** 76 cases of patients with cervical HPV infection were selected and divided into observation group and control group. The patients in observation group were given Haiqishugan, while patients in control group were given Xinfuning. The HPV viral load was detected with Hybrid Capture II (HC II). The clinical curative effect and drug adverse reactions of patients in both groups were observed and compared after 3 and 6 months medication. **Results** After treatment the cure rate of cervical erosion had been improved in both groups with no significant difference between them. No adverse reactions had been found in observation group. After 3 months medica-

* [△]基金项目:国家自然科学基金委员会-山东省人民政府联合资助海洋科学研究中心项目(U1406402)

作者简介:冉雪梦(1973-),女,副主任医师,研究方向为宫颈病变。

* 通讯作者:郭新华,女,主任医师。Tel: 18661807815, E-mail: lilyranxm@163.com

收稿日期:2015-03-13

tion the total effective rate of reducing HPV viral load and the HPV negative rate had no significant difference between the observation group and the control group. After 6 months medication the total effective rate of reducing HPV viral load (87.2%) in observation group was significantly higher than that in control group (62.2%). The HPV negative rate (53.8%) in observation group was significantly higher than that in control group (24.3%). **Conclusion** Through the research it had been verified that Haiqishugan could obviously reduce HPV viral load, better than Xinfuning, and Haiqishugan had reliable curative effect on cervical HPV infection without any adverse reaction.

Key words: Haiqishugan; cervical human papillomavirus; curative effect

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,近年来发病率逐年上升,发病年龄渐趋年轻化^[1]。研究表明宫颈持续或反复感染人乳头瘤病毒(HPV)是宫颈上皮内瘤变及宫颈癌的主要危险因素,因此及时有效地清除感染者的 HPV 病毒,可以不同程度地阻断宫颈上皮细胞的癌前病变及宫颈癌。目前尚无治疗 HPV 感染的特效药物。近年来研究发现海洋硫酸多糖具有多种抗病毒活性^[2-3],前期利用 HPV 假病毒感染细胞模型进行活性筛选时,发现海洋硫酸多糖类药物海麒舒肝具有较好的体外抗 HPV 活性^[4-5],提示海麒舒肝具有潜在的治疗 HPV 感染疾病的作用。

本研究通过观察海洋药物海麒舒肝对于宫颈 HPV 病毒载量变化,从而为这一药物用于防治宫颈癌提供临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2013 年 1 月至 2014 年 10 月就诊于青岛大学医学院附属医院妇科门诊的宫颈 HPV 感染合并宫颈糜烂患者 92 例,脱落 16 例,最终纳入 76 例,将患者分为观察组和对照组。纳入标准:高危型 HPV DNA 检测为阳性,合并宫颈糜烂,宫颈液基细胞学(LCT)检测为炎性反应,或 LCT 结果为 ASCUS 或 LSIL,但行组织病理学检查结果为炎症,愿意配合治疗并随诊者。排除标准:急性生殖系感染者;严重心血管、肝肾疾病、造血系统疾病患者。观察组年龄 22~59 岁,平均(42.40±9.04)岁,对照组年龄 23~52 岁,平均(37.65±7.12)岁,2 组年龄无明显差异($P>0.05$);孕产次比较,观察组(孕次平均 1.97 次、产次平均 0.97 次)和对照组(孕次平均 1.42 次、产次平均 0.68 次)比较,无明显差异($P>0.05$),具有可比性。

1.2 用药方法

观察组予以海洋药物海麒舒肝(由中国海洋大学国家海洋药物工程技术研究中心提供),对照组予以重组人干扰素 $\alpha 2b$ 阴道泡腾胶囊(商品名:辛复宁,上海华新生物高技术有限公司,规格:80 万 IU/粒)。两组均于每次月经干净 3 d 后,阴道局部用药,连用 3 周为一疗程。治疗 3 个疗程(3 个月)结束的月经后第 1 次复查,如 HPV 未转阴,于 6 个疗程(6 个月)结束的月经后第 2 次复查,以两次复查的情况作为结果判定疗效。治疗 6 个月复查时行 LCT 检测。月经期停止用药,治疗期间禁止性生活。

1.3 检测方法

1.3.1 HC II 检测

使用专用的样本采集毛刷,于宫颈鳞柱交界处取材后,将毛刷放入含 IML 处理液的样本保存管中,采用美国 Qiagen 公司试剂盒和 Digene DML 2000TM Hybrid Capture System 检测 13 种高危型 HPV-DNA。

1.3.2 LCT 检测

采用美国 TriPath Imaging 公司的液基薄层细胞制片系统。由同一实验室及技术人员进行 HC II 和 LCT 检测。

1.4 观察项目

1.4.1 临床症状

观察治疗前后宫颈糜烂改善程度,对 2 组进行比较。宫颈糜烂治疗疗效标准:①痊愈:症状消失,糜烂面积消失,细胞学检查正常;②显效:症状减轻,糜烂面积缩小,细胞学检查可见病变级别下降;③无效:症状未改善,糜烂面积无明显变化,细胞学检查或阴道镜下活检可见病变级别无改善或加重。

1.4.2 HPV 病毒载量

对治疗前后高危型 HPV-DNA 病毒量的变化

进行分析,对2组结果进行比较。HCII HR-HPV病毒载量疗效判定标准参照文献制定^[6]。①痊愈:病毒载量 <1.0 ;②显效:病毒载量下降 $\geq 60\%$;③有效:病毒载量下降 $\geq 30\%$;④无效:病毒载量下降 $<30\%$ 或上升。

1.5 统计学方法

采用SPSS18.0统计软件分析,采用 X^2 检验(或确切概率法),以 $P<0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

表1 2组治疗后症状比较(例)

Table 1 Comparison of symptoms between two groups after treatment (case)

组别	组别	<i>n</i>	痊愈	显效	无效
治疗3个月	观察组	39	12	16	11
	对照组	37	10	15	12
治疗6个月	观察组	39	18	15	6
	对照组	37	14	16	7

2.2 2组治疗前后LCT检测结果比较

由表2可知,治疗6个月后2组LCT检测结果均有改善,治疗后观察组宫颈细胞学未发生异常,无LSIL及以上病变,而对照组有4例异常,其

2.1 2组治疗后症状变化比较

由表1可知,治疗3个月后观察组和对照组患者宫颈糜烂的治愈率分别为30.8%(12/39)和27.0%(10/37),无明显差异($P>0.05$),总有效率分别为71.8%(28/39)和67.6%(25/37),无明显差异($P>0.05$)。治疗6个月后的治愈率分别为46.2%(18/39)和37.8%(14/37),无明显差异($P>0.05$),总有效率分别为84.6%(33/39)和81.1%(30/37),无明显差异($P>0.05$)。提示2种药物对上述症状改善的疗效接近。

中细胞学结果为HSIL1例,LSIL3例,组织病理学确诊1例为CIN2,1例为CIN1,2例为炎症。因例数少,未行统计学比较。

表2 2组治疗前后LCT结果比较(例)

Table 2 Comparison of LCT results in two groups before and after treatment (case)

组别	组别	<i>n</i>	正常	炎性反应	ASCUS	LSIL	HSIL
治疗前	观察组	39	0	19	12	8	0
	对照组	37	0	20	11	6	0
治疗后	观察组	39	36	0	3	0	0
	对照组	37	28	0	5	3	1

2.3 2组治疗前后HCII检测结果比较

用药6个月后2组治疗前后自身对照,观察

组HPV检测HCII值可见显著下降($P<0.01$),对照组HCII值有明显下降($P<0.05$)(见表3)。

表3 两组治疗前后HPV检测结果自身比较

Table 3 Comparison of HPV test results in two groups before and after treatment

组别	<i>n</i>	HCII值	
		治疗前	治疗后
观察组	39	637.86±626.82	234.80±463.94*
对照组	37	579.12±539.96	352.00±389.58**

* 与治疗前比较, $P<0.01$; ** 与治疗前比较, $P<0.05$ 。

* vs before treatment, $P<0.01$; ** vs after treatment, $P<0.05$ 。

2.4 2组治疗后 HPV 转阴率及临床疗效比较

由表 4 可知,治疗 3 个月后两组间总有效率比较,观察组为 66.7%(26/39),对照组为 51.4%(19/37),无明显差异($P>0.05$);两组间转阴率比较,观察组为 28.2%(11/39),对照组为 10.8%(4/37),无明显差异($P>0.05$)。治疗 6 个月后 2

组间总有效率比较,观察组为 87.2%(34/39),对照组为 62.2%(23/37),差异有统计学意义($P<0.05$);两组间转阴率比较,观察组为 53.8%(21/39),对照组为 24.3%(9/37),差异有统计学意义($P<0.05$)。提示海麒舒肝降低 HPV 病毒载量疗效显著,优于辛复宁对照组。

表 4 2 组治疗后 HPV 病毒载量疗效比较(例)

Table 4 Comparison of the effects of HPV viral load between two groups after treatment (case)

	组别	n	转阴	显效	有效	无效
治疗 3 个月	观察组	39	11	10	5	13
	对照组	37	4	8	7	18
治疗 6 个月	观察组	39	21	10	3	5
	对照组	37	9	11	3	14

2.5 2 组患者治疗期间药物不良反应比较

观察组治疗期间未出现阴道不适及全身不良反应,对照组治疗期间 2 例患者自述阴道瘙痒,症状较轻微,未行特殊处理,未发生严重的药物不良反应。

3 讨论

近年来宫颈 HPV 感染受到广泛关注,大量研究证实高危型 HPV 感染是宫颈癌前病变及宫颈癌发生的重要诱因,严重威胁女性的生命健康,预防宫颈癌发生及复发、阻断病程的关键在于清除 HPV^[7]。HPV 是 1 种无包膜的小 DNA 病毒,根据其致癌力强弱,分为高危型和低危型。高危型包含 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 等,主要引起 CIN II、III 和宫颈癌。高危型 HPV 感染宫颈后,病毒 DNA 随机整合到宿主细胞基因组 DNA 上^[8],自身复制的抑制表达性片段 E2 基因丢失,E6、E7 癌基因过度表达,E6、E7 原癌蛋白分别与宿主细胞内肿瘤抑制物 p53、pRb 结合,使肿瘤抑制物失活。原癌基因激活、抑癌基因失活,使宫颈上皮细胞发生恶性转变^[9]。经过多年的临床研究,已明确 HPV 感染是宫颈癌及宫颈上皮内瘤变的主要病因^[10]。HPV 病毒载量与宫颈病变的程度近年来成为研究热点,大部分学者认为宫颈 HPV 病毒载量越高,发生宫颈病变的危险性越高,宫颈病变进展越快^[11-12],还有部分学者认为 HPV 载量与宫颈病变的严重程度无关^[13]。Munoz 认为病毒负荷量与感染清除率呈负相关,

且病毒负荷量是感染持续的决定性因素^[14]。杂交捕获第二代(HC II)是目前唯一被美国 FDA 批准的 HPV DNA 检测技术,能同时检出 13 种 HPV 高危型,无需基因扩增,阴性预测值高达 99%。

对于宫颈 HPV 的防治,欧美等发达国家将预防性疫苗列入国家常规性接种疫苗,我国也已进入二期临床试验,但预防性疫苗无法涵盖所有高危型 HPV 型别,且对已感染相关型别的女性没有治疗作用^[15]。治疗性疫苗用于已感染 HPV 人群,尚在研制当中,未大规模投入临床使用。但疫苗的安全性和免疫原性等问题有待提高。物理及手术治疗适用于感染 HPV 病毒且已发生宫颈癌前病变的患者,但手术后仍可能存在持续 HPV 感染。针对宫颈 HPV 治疗的研究热点主要集中在抗病毒药物、免疫增强剂及外用制剂的研制上,并已取得了较大突破,但真正应用于人体临床试验时效果却不尽人意,迄今临床上仍缺乏行之有效的预防和治疗措施。药物治疗宫颈 HPV 感染常用干扰素如辛复宁,理论上通过诱导靶细胞内产生有酶活性的抗病毒蛋白,抑制病毒核酸的复制和转录,但其疗效和毒副作用仍存在争议。

本研究对高危型 HPV 感染患者局部使用海洋药物海麒舒肝,设辛复宁为对照组,观察其临床疗效,结果显示 39 例患者局部用药后,均无阴道不适及全身不良反应发生,安全性好。分别于用药 3 和 6 个月后观察,患者宫颈糜烂均得到改善,海麒舒肝和辛复宁比较疗效无明显差异($P>0.05$)。在用海麒舒肝 6 个月后,未发生宫颈细胞

学异常 (LSIL 及以上病变), 而对照组细胞学结果有 4 例异常, 其中 HSIL1 例, LSIL3 例, 组织病理学证实 1 例为 CIN2, 1 例为 CIN1, 2 例为炎症。因例数少, 未行统计学比较。

2 组在治疗 6 个月后自身比较, 对照组使用辛复宁后, HPV 检测 HC II 值可见明显降低 ($P < 0.05$); 观察组使用海麒舒肝 6 个月后, 高危型 HPV 感染患者的 HC II 值有显著下降 ($P < 0.01$), 提示海麒舒肝有明显减低 HR-HPV 病毒载量的作用。2 组治疗 3 个月后, 患者宫颈 HPV 转阴率和总有效率无明显差异 ($P > 0.05$), 但治疗 6 个月后, 两组清除 HR-HPV 总有效率比较, 观察组 (87.2%) 高于对照组 (62.2%), 有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示海麒舒肝清除宫颈 HPV 病毒的疗效优于辛复宁。两组 HPV 转阴率比较, 观察组 (53.8%) 高于对照组 (24.3%), 有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示海麒舒肝的 HPV 转阴疗效优于辛复宁。

中国海洋大学医药学院研制的海麒舒肝, 是以褐藻提取物为基础原料, 经化学修饰而成的一种海洋硫酸多糖类药物, 2002 年被国家食品药品监督管理局批准用于肝病的治疗^[5]。在海麒舒肝活性再评价过程中, 发现其对 HPV 病毒具有较强的抑制作用。进一步应用细胞培养技术、假病毒模型、免疫学技术及分子生物学技术对海麒舒肝抗人乳头瘤状病毒 (HPV) 的药效进行系统研究, 结果显示海麒舒肝对 HPV 假病毒侵染过程具有强抑制作用, 且成剂量反应关系。海麒舒肝对 HPV 转化的 Hela 和 Caski 细胞内的病毒 E6 基因的表达均有抑制作用, 且成剂量反应关系; 海麒舒肝对 HPV 转化的 Hela 和 Caski 细胞内的病毒 E6 和 E7 蛋白的表达均有抑制作用, 且成剂量反应关系^[4]。

综上所述, 海洋药物海麒舒肝可以明显降低高危型 HPV 病毒载量, 改善宫颈临床症状, 治疗宫颈 HPV 感染疗效显著, 临床使用安全可靠, 无毒副作用, 值得临床推广应用。

参考文献

- [1] Belinson S E, Belinson J L. Human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening: practical aspects in developing countries [J]. *Mol Diagn Ther*, 2010, 14(4): 215-222.
- [2] Jiao G, Yu G, Zhang J and Ewart H S. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae [J]. *Mar Drugs*, 2011, 9(2): 196-223.
- [3] Vo T S, Kim S K. Potential anti-HIV agents from marine resources: an overview [J]. *Mar Drugs*, 2010, 8(12): 2871-2892.
- [4] 王世欣. 海洋寡糖硫酸酯的制备及抗病毒活性的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- [5] 于广利, 赵峡. 糖药理学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2012: 424.
- [6] 楼娇英. 清毒栓干预宫颈 HR-HPV 感染局部免疫微环境的实验及临床研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2011.
- [7] de Cremoux P, de la Rochefordière A, Savignoni A, et al. Different outcome of invasive cervical cancer associated with high-risk versus intermediate-risk HPV genotype [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(4): 778-782.
- [8] Szostek S, Zawilinska B, Kopec J, et al. Herpesviruses as possible cofactors in HPV16-related oncogenesis [J]. *Acta Biochim Pol*, 2009, 56(2): 337-342.
- [9] Yugawa T, Kiyono T. Molecular basis of cervical carcinogenesis by high-risk human papilloma viruses [J]. *Virus*, 2008, 58(2): 141-154.
- [10] Naucler P, Ryd W, Törnberg S, et al. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101(2): 88-99.
- [11] Saunier M, Monnier-Benoit S, Mauny F, et al. Analysis of human papillomavirus type16 (HPV16) DNA load and physical state for identification of HPV16-infected women with high-grade lesions or cervical carcinoma [J]. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(11): 3678-3685.
- [12] Monnier B S, Dalstein V, Riethmuller D, et al. Dynamics of HPV16 DNA load reflect the natural history of cervical HPV-associated lesions [J]. *J Clin Virol*, 2006, 35(3): 270-277.
- [13] Carvalho M O, Almeida R W, Leite F M, et al. Detection of human papillomavirus DNA by the hybrid capture assay [J]. *Braz J Infect Dis*, 2003, 7(2): 121-125.
- [14] Muñoz N, Hernandez-Suarez G, Méndez F, et al. Persistence of HPV infection and risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in a cohort of Colombian women [J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(7): 1184-1190.
- [15] Hildesheim A, Herrero R, Wacholder S, et al. Effect of human papillomavirus 16/18 L1 viruslike particle vaccine among young women with preexisting infection: a randomized trial [J]. *JAMA*, 2007, 298(7): 743-753.