

人类乳头瘤病毒与宫颈癌关系的研究

山东医科大学 张桂宁 徐爱强 中国医学科学院肿瘤研究所 林玉纯

摘要 用Southern blot核酸杂交技术检测宫颈组织HPV 16 DNA相关序列。山东省116例宫颈癌病人的癌组织HPV 16 DNA相关序列阳性率为50.9%，36例无宫颈疾病妇女的宫颈组织阳性率为5.6%，宫颈癌与HPV 16有很强的联系。 $OR=17.60$, $\chi^2=23.47$, $P<0.001$ 。HPV 16 DNA相关序列阳性率与宫颈癌病人的年龄、肿瘤的组织类型、临床类型及临床分期均无统计学上联系(P 均大于0.25)。本文首次从山东省宫颈癌病人癌组织中检测到HPV 33 DNA 4例及HPV 31 DNA 1例。

关键词 宫颈癌 人类乳头瘤病毒 DNA相关序列 核酸杂交技术

1987~1988年，我们采取了山东省116例宫颈癌病人和36例无宫颈疾病妇女的宫颈组织。以(α - ^{32}P)-dCTP标记的人类乳头瘤病毒(HPV)16 DNA BamHI酶解片段为探针，用Southern blot核酸杂交技术进行了HPV16 DNA相关序列检测。本文就检测结果，结合临床和流行病学，探讨HPV与宫颈癌的关系。

材料与方法

一、组织标本来源：116例宫颈癌组织标本，采自山东医科大学附属医院、山东省肿瘤防治医院及山东省千佛山医院妇科门诊和住院病人。36例对照为在同一时期在上述3所医院住院的无宫颈疾病的患子宫肌瘤、卵巢肿瘤

病人。病例和对照均经妇科检查及病理组织学确诊。标本置灭菌小瓶中，-40℃冰冻保存。

二、实验方法：HPV 16 DNA的克隆、转化、扩增及纯化参照文献^[1]进行。 $(\alpha$ - ^{32}P)-dCTP等缺口翻译药盒购自美国Amersham公司，按其说明书制备HPV 16 DNA BamHI片段探针。组织DNA的提取、酶解、吸印及核酸杂交方法，参照Dürst^[2]和Boshart^[3]介绍的方法进行。

结 果

一、核酸分子杂交结果：116例宫颈癌组织和36例对照宫颈组织HPV 16 DNA检测结果列如附表。

附表

宫颈癌病人和对照宫颈组织HPV 16 DNA相关序列检测的结果

检测 例数	阳性例数(阳性率%)					合 计
	HPV 16	HPV 33	HPV 31	其它相关型		
宫颈癌组织	116	43(37.1) ^①	4(3.4)	1(0.9)	11(9.5)	59(50.9) ^⑤
其中：鳞癌	107	40(37.4) ^②	3(2.8)	1(0.9)	10(9.3)	54(50.5) ^⑥
腺癌	9	3(33.3) ^③	1(11.1)	0(0.0)	1(11.1)	5(55.6) ^⑦
对照宫颈组织	36	0(0.0) ^④	0(0.0)	0(0.0)	2(5.6)	2(5.6) ^⑧

①与④： $P=0.0002$ ；②与④： $P=8.64 \times 10^{-7}$ ；③与④： $P=5.92 \times 10^{-8}$ ；⑤与⑧： $\chi^2=23.47$, $P<0.001$, OR(95%可信限)=17.60(5.23~53.70)；⑥与⑧： $\chi^2=20.83$, $P<0.001$, OR(95%可信限)=17.32(5.08~59.04)；⑦与⑧： $\chi^2=9.91$, $P<0.01$, OR(95%可信限)=21.25(3.19~141.36)

由附表可见：

1. 宫颈癌组织HPV 16 DNA同源序列阳性率为37.1%，而对照全部为阴性， $P<0.001$ ，两者差别具有非常显著性意义。

2. 宫颈癌组织HPV 16 DNA相关序列阳性率为50.9%，对照宫颈组织仅为5.6%，两者差别具有非常显著性意义；HPV 16 DNA相关序列阳性者患宫颈癌的危险性为HPV 16 DNA相关序列阴性者的17.60倍。

3. 无论HPV 16 DNA同源序列阳性率或HPV 16 DNA相关序列阳性率，宫颈鳞癌与宫颈腺癌均无显著性差异，但宫颈鳞癌和宫颈腺癌组织均显著的高于对照宫颈组织。

4. 本文首次从山东省宫颈癌病人的癌组织中检出HPV 33 DNA(4例)和HPV 31 DNA(1例)的阳性杂交结果。

二、116例宫颈癌病人临床资料与癌组织HPV 16 DNA相关序列检测结果的分析：

1. 年龄与HPV 16 DNA相关序列的阳性率：45岁以下者HPV 16 DNA相关序列阳性率为66.7%，45~54岁为43.6%，55~64岁为55.0%，65岁以上者为50.0%， $\chi^2=0.95$, $P>0.50$ ，各年龄组病人宫颈癌组织HPV 16 DNA相关序列的阳性率无显著性差异。

2. 临床类型与HPV 16 DNA相关序列阳性率：菜花型阳性率为56.0%，结节型为53.3%，糜烂型为33.3%，混合型为37.5%。不同临床类型病人的HPV 16 DNA相关序列阳性率差异无显著性意义($\chi^2=2.64$, $P>0.25$)。

3. 临床分期与癌组织HPV 16 DNA相关序列阳性率：Ⅰ期病人的阳性率为66.7%，Ⅱ期病人为48.1%，Ⅲ期病人为52.5%。不同病期病人HPV 16 DNA相关序列阳性率差异无显著性意义($\chi^2=0.13$, $P>0.50$)。

讨 论

早年，人们认为HPV只引起良性肿瘤和疣。Meisels(1976, 1977)[54]首先注意

到HPV引起的生殖道湿疣，在形态学上和宫颈癌有显著的联系。自Dürst[2]和Bosch[3]应用Southern blot核酸杂交方法于宫颈癌组织中检测到HPV 16和HPV 18 DNA序列以来，越来越多的研究资料表明宫颈癌与HPV感染，特别是与HPV 16型和HPV 18型感染有密切关系[6~9]。本文对山东省116例宫颈癌病人癌组织检测结果HPV 16 DNA相关序列阳性率为50.9%，而对照宫颈组织的阳性率仅为5.6%， $OR=17.60$, $\chi^2=23.47$, $P<0.001$ ，显示宫颈癌与HPV 16型感染有很强的联系。Dürst[2]报道，西德、肯尼亚、巴西等国宫颈癌组织的HPV 16阳性率为34.8%~61.1%。林玉纯[8]对我国六省市宫颈癌组织检测结果之阳性率为36~64%。在不同的国家或地区、不同的时间，宫颈癌组织HPV 16 DNA相关序列检出的阳性率都很高。本文显示，HPV 16 DNA相关序列阳性率与宫颈癌病人的年龄、临床类型及临床分期均无显著性差异。上述表明HPV 16与宫颈癌之间的联系具有普遍性。Carrole[9]报道，从人宫颈癌组织建立的细胞系中，不仅显示HPV DNA序列被整合，且常可测出HPV特异的聚腺苷酸RNA，而从人其他鳞癌建立的细胞系中均未测出HPV DNA序列，说明HPV与宫颈癌之间的联系具有特异性。

HPV只感染人的皮肤和粘膜。目前一般认为，HPV主要与宫颈鳞癌及其他鳞癌的发生有密切关系。本文显示HPV 16与宫颈腺癌也有很强的联系($OR=21.25$, $\chi^2=9.91$, $P<0.01$)，此或许与本次所检测的宫颈腺癌病例数较少有关。二者是否确有联系有待进一步研究。

根据HPV DNA序列的同源性大小，HPV可分为15个组，同一组内不同型别的HPV DNA，在低限制条件(low stringent conditions)下进行核酸杂交时，有不同程度的交叉杂交(cross hybridization)现象。本次研究我们首次在山东省宫颈癌病人的癌组织中发现了与HPV 16型探针发生交叉杂交反应的

HPV 33型和HPV 31型DNA序列。林玉纯等^[10]从江西和山西宫颈癌病人的癌组织亦曾检出HPV 33 DNA序列，且其阳性率远高于山东。因此，HPV 33型和HPV 31型在宫颈癌发生中的作用应予以重视和进一步研究。

大量研究资料表明，宫颈糜烂、宫颈湿疣、宫颈上皮内瘤等常可演变为宫颈癌。从形态学上来看，上述病变均与HPV感染有密切关系。因此，在临床实践中，见有上述病变的患者应予以重视和随访，必要时及早手术治疗。

A Study on the Relationship between Human Papilloma Virus (HPV) and Cervical Cancer Zhang Guining et al., Dept. of Epidemiology, Shandong Medical University, Jinan

Samples of cervical tissues of patients from Shandong province were detected by using Southern blot hybridization technique of nucleic acid with the probe of (α - ^{32}P)-dCTP HPV16 DNA fragment cleaving with BamHI. The total positive rate of HPV16 DNA related sequences in 116 cases with cervical cancer was 50.9%， and much higher than that in 36 cases with non-cervical disease (5.6%)。There is a strong correlation between the HPV and cervical cancer (OR=17.60, P<0.001)。It was showed that there was no association between the positive rate of HPV 16 DNA related sequences and age, clinical period and local appearance in cases with cervical cancer. This was the first paper described that HPV 33 DNA sequences were found in four cervical carcinoma samples, and HPV 31 DNA sequence in one cervical carcinoma sample under low stringent conditions of hybridization in Shandong province.

Key words Cervical cancer Human papilloma virus (HPV) DNA related sequences Nucleic acid hybridization

参 考 文 献

- Maniatis T, et al. Molecular Cloning (A Laboratory Manual). Cold Spring Harbor Laboratory, 1982 : 57~67.
- Dürst M, et al. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic region. Proc Natl Acad Sci 1983; 80 : 3812.
- Boshart M, et al. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. EMBO J 1984; 3 : 1151.
- Meisels A, et al. Condylomatous lesions of cervix and vagina. I. Cytologic patterns. Acta Cytol 1976; 20 : 505.
- Meisels A, et al. Condylomatous lesions of cervix. II. Cytologic, colposcopic and histopathologic study. Acta Cytol 1977; 21 : 379.
- Zur Hausen H. Human papillomavirus and their possible role in squamous cell carcinomas. Curr Top Microbiol Immunol 1977; 78 : 1~30.
- Surjänen K, et al. Cervical papillomavirus infection progressing to invasive cancer in less than three years. Lancet 1985; 1(8427) : 510.
- 林玉纯, 等. 我国六个省市宫颈癌病人宫颈组织中HPV 16型和18型DNA相关序列的检测. 全国妇产科肿瘤学术会议论文汇编1986.
- Carole Y, et al. Presence and expression of human papilloma virus sequences in human cervical carcinoma cell line. Am J Pathol 1985; 119 : 361~366.
- Yu-chun Lin, et al. Cloning of a chinese HPV 16 DNA (cHPV 16) and a new HPV DNA (cHPV X) sequences obtained from patients with cervical cancer in China. 1st International Beijing Congress on Oncology and Hematology (ABSTRACT), 1988 : 41.

(本研究承山东医科大学附属医院、山东省肿瘤防治医院及山东省千佛山医院妇科大力支持和协助,一并致谢)

(1989年1月6日收稿, 1989年3月15日修回)