

# 人乳头状瘤病毒 16/18、单纯疱疹病毒 II 型和巨细胞病毒感染与宫颈癌发生、发展的关系

钱元淑 吕雯 隋丽华 王晶

**【摘要】目的** 探讨人乳头状瘤病毒(HPV)16/18、单纯疱疹病毒 II 型(HSV-II)和巨细胞病毒(CMV)感染与宫颈癌发生、发展的关系。**方法** 对 43 例宫颈癌、47 例宫颈上皮瘤样病变(CIN)、56 例宫颈炎和 10 例正常宫颈进行聚合酶链反应检测 HPV16/18、HSV-II 和 CMV 感染情况。**结果** HSV-II、HPV16/18 和 CMV 的阳性率在宫颈癌和 CIN 组、CIN III 级和 CIN I ~ II 级组均有递减趋势,且差异有统计学意义。II 期宫颈癌组 HPV16/18 阳性显著高于 I 期宫颈癌组,高分化宫颈癌组 HPV16/18 和 HSV-II 阳性高于中分化组,与临床分期及组织类型差异均无统计学意义;CMV 阳性与临床分期、组织分级及组织类型差异均无统计学意义。三种病毒感染拷贝数,HSV-II 和 HPV16/18: 宫颈癌 > CIN > 宫颈炎;CMV: 宫颈癌 > CIN。宫颈癌中出现几种病毒混合感染,其中 HPV16/18 合并 HSV-II 明显多于 HPV16/18 合并 CMV 者。**结论** HPV16/18、HSV-II 和 CMV 感染与宫颈癌的发生发展关系密切,且与病毒负荷量有关,可能是宫颈癌的致病因子。

**【关键词】** 宫颈癌;人乳头状瘤病毒;单纯疱疹病毒;巨细胞病毒;宫颈上皮内瘤样病变

**Study on the relationship between genesis and development of cervical cancer and the infection of human papillomavirus type 16/18, human herpesvirus II and cytomegalovirus** QIAN Yuan-shu\*, LV Wen, SUI Li-hua, WANG Jing. Department of Gynecology, 2nd Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China  
Corresponding author: LV Wen, Email: ww4021@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the correlation between genesis and the development of cervical cancer and infection of human papillomavirus (HPV) type 16/18, human herpesvirus II (HSV-II) and cytomegalovirus (CMV). **Methods** Different viruses were determined by polymerase chain reaction in 156 specimens of uterine including cervix 43 cervical cancer specimens, 47 cervical intraepithelial neoplasia (CIN) specimens, 56 cervicitis specimens and 10 normal cervix specimens. **Results** (1) Positive rates on different viruses; the positive rates of HSV-II, HPV16/18 and CMV were declining in the cervical cancer specimens, CIN specimens or CIN III specimens and CIN I - II specimens, with significant differences. (2) Positive rate and grading, staging and histogenesis of cervical cancer on different viruses as well as positive rates of HPV16/18 in II staging cervical cancer specimens were significantly higher than that in I staging cervical cancer specimens while positive rates of HPV16/18 and HSV-II in high differentiation of cervical cancer specimens were significantly higher than those with medium differentiation from cervical cancer specimens. Positive rates of CMV did not seem to correlate with positive rate of HSV-II and CMV was not correlated to grading, staging or histogenesis of cervical cancer. (3) Copies of infected virus, HSV-II and HPV16/18 showing cervical cancer > CIN > cervicitis while with CMV; cervical cancer > CIN. (4) There were mixed infections of different viruses as HPV16/18 + HSV-II > HPV16/18 + CMV seen in the study. **Conclusion** HPV 16/18, HSV-II and CMV infection were closely related to the genesis of cervical cancer and quantity of viruses which might have played an important role in carcinogenesis of cervical lesions.

**【Key words】** Cervical cancer; Human papillomavirus; Human herpesvirus; Cytomegalovirus; Cervical intraepithelial neoplasia

人乳头状瘤病毒(HPV)16/18 感染是宫颈癌的

主要危险因素<sup>[1]</sup>,但它在致癌时并非单独作用,还需要其他因素协同<sup>[2]</sup>。疱疹病毒 II 型(HSV-II)和巨细胞病毒(CMV)与宫颈癌都有很强的相关性,尤其当感染的病毒种类增加时,患病的危险性也随之增

作者单位:310009 杭州,浙江大学医学院附属第二医院妇科(钱元淑、吕雯);哈尔滨医科大学附属第三医院(隋丽华、王晶)  
通讯作者:吕雯,Email:ww4021@163.com

高<sup>[3]</sup>。本研究以正常宫颈为对照,分别对宫颈炎、宫颈上皮瘤样病变(CIN)和宫颈癌进行 HPV16/18、HSV-II 和 HCMV 病毒的聚合酶链反应(PCR)检测,以分析其与宫颈癌发生、发展的关系。

### 资料与方法

1. 临床资料:选自哈尔滨医科大学附属第三医院 1997 年 10 月至 2002 年 5 月和浙江大学附属二医院 2001 年 3 月至 2003 年 11 月的就诊病例。所有病例均有病理学诊断。其中正常宫颈 10 例,宫颈炎 56 例,CIN 47 例(CIN I ~ II 39 例,CIN III 8 例);宫颈癌 43 例(鳞癌 34 例,腺癌 9 例)按 FIGO1994 年分期,I 期 5 例,II 期 32 例,III ~ IV 期 6 例;组织学分级中,高分化 9 例,中分化 23 例,低分化 11 例;患者最小年龄 18 岁,最大年龄 67 岁。所有标本均取自宫颈脱落细胞。以无菌生理盐水棉球洗去宫颈外分泌物,用无菌拭子插入宫颈内,停 5 s 后转动棉拭子采取宫颈分泌物,将棉拭子置入无菌试管内,无菌密闭送检。

#### 2. 方法:

(1)试剂:HSV-II、CMV 和 HPV16/18 型 PCR 荧光检测试剂盒均由中山医科大学达安基因股份有限公司提供,定量阳模由试剂盒提供,阴性对照为不加标本 DNA 的 PCR 反应液。

(2)检测方法:①标本试管中加入 1 ml 无菌生理盐水,充分振荡摇匀,吸取液体转至 1.5 ml 离心管中(如分泌物较多,只取 0.2 ml),12 000 r/min 离心 5 min。沉淀加无菌生理盐水 1 ml 打匀,15 000 r/min 离心 5 min,再重新洗涤一次。沉淀直接加 50  $\mu$ l DNA 提取液充分混匀,沸水浴 10 min,转至 4 $^{\circ}$ C 静置 6~8 h 以保证充分裂解。10 000 r/min 离心 5 min,取上清液 2  $\mu$ l 做 PCR 反应。②PCR 扩增及荧光检测:按下列条件扩增,93 $^{\circ}$ C 45 s $\rightarrow$ 55 $^{\circ}$ C 120 s,反应 10 个循环后置 33 $^{\circ}$ C 保温,3 min 后迅速逐个将反应管放入荧光检测仪,读取并记录读数  $A_0$ 。荧光激发波长为 487 nm,检测波长为 525 nm。最后按 93 $^{\circ}$ C 45 s $\rightarrow$ 55 $^{\circ}$ C 120 s,共做 30 个循环后置 33 $^{\circ}$ C 保温。待各 PCR 管充分冷却到 33 $^{\circ}$ C,3 min 后迅速将扩增后的反应管放入荧光检测仪,读取并记录读数  $A_1$ ,荧光激发波长为 487 nm,检测波长为 525 nm。(所得拷贝数/2) $\times$ 1000 即为每毫升的拷贝数。

3. 统计学方法:病毒检测阳性率比较采用  $\chi^2$  检验,病毒感染拷贝数以  $\bar{x} \pm s$  表示。

### 结 果

1. 宫颈病变三种病毒感染阳性率:①HSV-II 阳性检出率:宫颈癌组与 CIN 组比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 9.86, P < 0.005$ );而 CIN 组内的 CIN III 级与 CIN I ~ II 级差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.93, P < 0.05$ );CIN 组与宫颈炎组差异也有统计学意义( $\chi^2 = 5.94, P < 0.025$ )。②HPV16/18 型阳性检出率:宫颈癌组与 CIN 组差异有统计学意义( $\chi^2 = 17.71, P < 0.005$ );中重度宫颈炎组与轻度宫颈炎组差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.23, P < 0.05$ );CIN III 与 CIN I ~ II 级差异也有统计学意义( $\chi^2 = 8.87, P < 0.005$ )。③CMV 阳性检出率:宫颈癌检出率显著高于 CIN 组( $\chi^2 = 4.11, P < 0.05$ );CIN III 级检出率显著高于 CIN I ~ II 级( $\chi^2 = 5.59, P < 0.025$ )。见表 1。

表1 宫颈病变三种病毒感染阳性率(%)

组织类型	例数	HSV-II	HPV16/18	CMV
宫颈癌	43	27(62.79)	36(83.72)	9(20.93)
CIN	47	14(29.79)	19(40.43)	3(6.38)
I ~ II 级	39	9(23.08)	2(5.13)	1(2.56)
III 级	8	5(62.50)	7(87.50)	2(25.00)
宫颈炎	56	6(10.71)	20(35.71)	0
轻度	11	0	1(9.09)	0
中重度	45	6	19(42.22)	0
正常宫颈	10	0	1(10.00)	0

2. 宫颈癌不同临床分期、组织学分级、组织学类型三种病毒的阳性情况:宫颈癌 II 期 HPV16/18 阳性率显著高于宫颈癌 I 期( $\chi^2 = 5.56, P < 0.025$ );高分化组与中分化组 HPV16/18 阳性率差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.43, P < 0.025$ );宫颈腺癌和鳞癌 HPV16/18 阳性率差异无统计学意义。宫颈癌高分化组 HSV-II 阳性率显著高于中分化组( $\chi^2 = 14.11, P < 0.005$ ),但与临床分期、组织学类型的差异均无统计学意义。CMV 阳性与宫颈癌临床分期、组织学分级及组织学类型均无显著性相关(表 2)。

3. 宫颈病变三种病毒感染程度:以拷贝数表示,见表 3。①HSV-II 拷贝数:宫颈癌组显著高于 CIN 组( $t = 8.204, P < 0.05$ ),CIN 组也显著高于宫颈炎组( $t = 9.036, P < 0.05$ )。②HPV16/18 型拷贝数:宫颈癌组与 CIN 组差异有统计学意义( $t = 31.782, P < 0.025$ ),CIN 组也与宫颈炎组差异有统计学意义( $t = 10.633, P < 0.05$ )。③CMV 型拷贝数:宫颈癌组显著高于 CIN 组( $t = 13.67, P < 0.025$ )。三种

病毒的拷贝数均有从 CIN I ~ II 级到 CIN III 级的递减。

表2 宫颈癌不同临床分期、组织学分级、组织学类型三种病毒阳性检出例数

组别	例数	HSV-II	HPV16/18	CMV
临床分期	43	27	36	9
I	5	1	2	0
II	32	21	28	7
III ~ IV	6	5	6	2
组织学分级	43	27	36	22
高分化	9	1	5	1
中分化	23	19	21	4
低分化	11	7	10	4
组织学类型	43	27	36	22
腺癌	9	4	7	2
鳞癌	34	23	29	7

表3 宫颈病变三种病毒感染程度的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组织学类型	例数	HSV-II ( $\times 10^6$ )	HPV16/18 ( $\times 10^6$ )	CMV ( $\times 10^4$ )
宫颈癌	43	3.07 ± 0.62	32.50 ± 4.16	0.96 ± 0.12
CIN	47	0.93 ± 0.39	8.25 ± 3.03	0.23 ± 0.11
I ~ II 级	39	0.56 ± 0.25	6.30 ± 3.12	0.21 ± 0.10
III 级	8	1.15 ± 0.52	14.10 ± 6.21	0.43 ± 0.20
宫颈炎	56	0.41 ± 0.16	3.31 ± 1.60	-

4. 病毒混合感染阳性率:与宫颈癌单一的 HPV16/18 感染相比,本组研究出现病毒混合感染,但发生率明显降低:HPV16/18 合并 HSV-II 感染组与单一 HPV 感染组差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.853, P < 0.05$ );HPV16/18 合并 CMV 感染组与 HPV 感染组差异有统计学意义( $\chi^2 = 19.558, P < 0.005$ );三种病毒均有感染组与 HPV 感染组差异也有统计学意义( $\chi^2 = 4.858, P < 0.05$ )。在宫颈癌混合病毒感染组间,HPV16/18 合并 HSV-II 组明显多于 HPV16/18 合并 CMV 组( $\chi^2 = 5.190, P < 0.05$ ),更明显多于三种病毒均有感染组( $\chi^2 = 8.149, P < 0.005$ );但 HPV16/18 合并 CMV 感染组与三种病毒混合感染组差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.469, P > 0.05$ )(表 4)。

表4 宫颈病变患者中病毒混合感染阳性率(%)

病毒感染类型	阳性例数	宫颈癌	CIN	宫颈炎
HPV	76	36(83.72)	19(40.43)	20
HPV + HSV	27	21(48.84)	6(12.77)	0
HPV + CMV	7	7(16.28)	0	0
HPV + HSV + CMV	4	4(9.30)	0	0

注:括号外数据为例数

## 讨 论

1. 病毒感染与 CIN 及宫颈癌的关系:HPV16/18、HSV-II 和 HCMV 病毒均属于 DNA 肿瘤性病毒,是重要的生物性致癌因素。流行病学研究和生物学研究已经发现 HPV16/18 感染是 CIN 和宫颈癌发生的重要条件<sup>[4]</sup>,但宫颈癌的发生与多种因素有关,其中病毒感染起重要作用,HPV 并不是惟一的致病因子,HSV-II 和 HCMV 可与之起协同致癌作用。有研究显示<sup>[5]</sup>:HPV DNA 阳性者 15% ~ 28% 在 2 年内出现鳞状上皮内病变,而阴性对照者只有 1% ~ 3% 出现此病变<sup>[6]</sup>。而宫颈癌中几乎 100% 出现 HPV 阳性<sup>[7]</sup>,且其中最常见 HPV 类型就是 HPV16/18<sup>[8]</sup>。

本研究显示,宫颈癌 HPV16/18、HSV-II 和 HCMV 阳性率均有显著增高趋势,但未发现与临床分期、组织学分级和组织学类型有显著相关;而 HPV16/18 阳性率比有关研究结果稍低,不排除与 PCR 法和第二代杂交捕获实验检测方法差别有关的影响<sup>[9]</sup>。尽管上述宫颈癌三种病毒混合感染阳性者比较少见,但 HPV 合并一种或一种以上病毒感染时,提示发生宫颈癌的几率会更高。而 CIN 的混合病毒感染也有上升趋势,但差异无统计学意义,考虑与病例数少有关。

2. 病毒量负荷与宫颈病变:有学者对宫颈病变通过第二代杂交捕获法检测 HPV 的负荷量,认为高危型 HPV 病毒负荷是宫颈癌的高危因素<sup>[10]</sup>。另有研究证明,高危型 HPV 病毒负荷与宫颈病变的程度和范围有关<sup>[11]</sup>。而相反的研究指出,高危型 HPV 感染加大了宫颈癌发生的风险,但高的病毒负荷并不能在此基础上预测 CIN III 以上的病变风险<sup>[12]</sup>。

本研究采用定量 PCR 方法的结果显示三种病毒负荷均与宫颈病变程度有关,提示感染程度越重,宫颈病变程度也越重;也肯定了定量 PCR 方法可以提供定量及可重复的病毒负荷检测。但也有作者提出:病毒负荷检测的标准及方法尚不一致,且受标本量的影响<sup>[13]</sup>。

3. 病毒检测的临床意义:本研究表明,高危型 HPV 感染和多种致癌性病毒的混合感染是宫颈癌发病的重要因素,且病毒量的检测与宫颈病变的程度有关;说明常规 HPV16/18、HSV-II 和 HCMV 检测在宫颈癌筛查中有重要价值,可以作为细胞学筛

查的补充,如此既可以提高宫颈癌的检出率,还可以对高危风险患者实施严密随访及做出相应处理,也是对宫颈细胞学的验证<sup>[13]</sup>。

由此也可以设想将上述病毒检测用于宫颈疾病治疗后的随访之中,或者将检测其血清病毒水平作为一种肿瘤标志物,用于宫颈癌治疗后的病情监测。

#### 参 考 文 献

- Schiffman MH, Kiviat NB, Burk RD, et al. Accuracy and interlaboratory reliability of human papillomavirus DNA testing by hybrid capture. *J Clin Microbiol*, 1995, 33: 545-550.
- Michael C, Popescu N, Woodworth C, et al. Human herpesvirus infect cervical epithelial cells and transactivates human papillomaviruses gene expression. *J Virol*, 1994, 68: 1173-1177.
- Schmauz R, Okong P, de Villiers EM, et al. Multiple infections in cases of cervical cancer from a high-incidence area in tropical Africa. *Int J Cancer*, 1989, 43: 805-809.
- zur-Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92: 690-698.
- 刘朝奇, 韩广州, 李昆. 人巨细胞病毒协同人乳头状瘤病毒 16 型诱导宫颈上皮细胞癌变的研究. *中华病理学杂志*, 1999, 28: 25-26.
- Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin*

- Microbiol Rev*, 2003, 16: 1-17.
- Schellekens MC, Dijkman A, Aziz MF, et al. Prevalence of single and multiple HPV types in cervical carcinomas in Jakarta, Indonesia. *Gynecol Oncol*, 2004, 93: 49-53.
- Bekkers RL, Massuger LF, Bulten J, et al. Epidemiological and clinical aspects of human papillomavirus detection in the prevention of cervical cancer. *Rev Med Virol*, 2004, 14: 95-105.
- 赵方辉, 李楠, 马俊飞, 等. 山西省襄垣县妇女人乳头状瘤病毒感染与宫颈癌关系的研究. *中华流行病学杂志*, 2001, 22: 375-378.
- Sun CA, Liu JF, Wu DM, et al. Viral load of high-risk human papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions. *Int J Gynaecol Obstet*, 2002, 76: 41-47.
- Sun CA, Lai HC, Chang CC, et al. The significance of human papillomavirus viral load in prediction of histologic severity and size of squamous intraepithelial lesions of uterine cervix. *Gynecol Oncol*, 2001, 83: 95-99.
- Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, et al. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer. *Lancet*, 2002, 360: 228-229.
- Wright TC, Schiffman M, Solomon D, et al. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol*, 2004, 103: 304-309.

(收稿日期: 2005-02-01)

(本文编辑: 张林东)

## · 疾病控制 ·

### 50 例大肠癌患者 sICAM-1 水平与大肠癌转移关系的研究

张英兰 石红梅 于哈娜

大肠癌是最常见的恶性肿瘤之一,且易发生转移。我们应用酶联免疫吸附实验(ELISA)检测了可溶性细胞间黏附分子 1(sICAM-1)在大肠癌及对对照组血清中的浓度,并分析其与肿瘤转移的关系,为临床评价大肠癌转移提供有价值的指标。研究对象为确诊的大肠癌患者 50 例。就诊时无转移者 28 例,有转移者 22 例。对照组 30 例为体检者,均除外与黏附分子有关的疾病。采集患者术前全血 2 ml,采血后及时分离血清, -20℃ 保存备用。ELISA 方法检测血清 sICAM-1 水平,以参考品浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,做标准曲线。根据待测血清的吸光度值,查标准曲线,即可求得 sICAM-1 含量。统计学分析用 *t* 检验。血清 sICAM-1 水平对照组为  $175.28 \pm 46.15 \mu\text{g/L}$ , 大肠癌组为  $223.56 \pm 50.19 \mu\text{g/L}$ , 其中无转移组为  $189.37 \pm 49.21 \mu\text{g/L}$ , 有转移组为  $248.52 \pm 60.73 \mu\text{g/L}$ , 大肠癌患者血清 sICAM-1 水平明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 大肠癌无转移组 sICAM-1 水平虽然低于对照组,但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 大肠癌有转移组 sICAM-1 水平明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 也明显高于无

转移组 ( $P < 0.01$ )。

讨论:肿瘤转移是癌症患者死亡的主要原因。目前,恶性肿瘤转移的机理仍不十分清楚。对细胞黏附分子的研究揭示,许多黏附分子介导了细胞与细胞间、细胞与细胞外基质之间的相互作用,与肿瘤的侵袭转移有密切关系。循环中的肿瘤细胞与特定器官微血管内皮细胞的黏附是决定器官特异性转移的重要环节,内皮细胞可表达众多的细胞黏附分子,血中的肿瘤细胞识别并黏附靶器官上此类分子而启动出血管过程。sICAM-1 是此类分子中的一种,靶器官内皮细胞上表达的 sICAM-1 脱落入血就形成循环中 sICAM-1。本研究结果表明,无转移大肠癌组与对照组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 而有转移大肠癌组与对照组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 与无转移大肠癌组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。说明血清 sICAM-1 水平与大肠癌转移呈正相关,提示血清 sICAM-1 水平可做为大肠癌转移及预后的一个指标。

(收稿日期: 2005-04-05)

(本文编辑: 尹廉)