

肺鳞癌与人乳头瘤病毒相关性研究 *

陈卫强 戚好文 吴昌归 李志奎

第四军医大学西京医院呼吸内科 (西安市 710032)

摘要 目的:了解肺鳞癌组织中人乳头瘤病毒存在情况,并分析人乳头瘤病毒与肺癌发生部位、性别因素、角化程度、吸烟因素的关系。方法:采用地高辛标记的 DNA 探针对肺癌组织进行原位杂交检测,同时结合临床资料分析多种因素的相关性。结果:肺鳞癌组织,鳞状上皮生化组织、粘膜慢性炎组织 HPV 检出率分别为 48.4%,27.4%,5.6%,各组比较差异显著($P<0.01$),中心型肺癌与周围型肺癌组织 HPV 检出率分别为 50.6%和 4.4%,两组比较差异显著($P<0.01$)。男女两组 HPV 检出率分别为 46.1%和 54.3%,差异无显著性($P>0.05$)。吸烟组 HPV 检出率为 50.6%,非吸烟组为 43.9%,差异不显著($P>0.05$)。结论:肺癌组织中存在一定比例 HPV 感染,HPV 感染与肺鳞癌关系密切,中心型肺癌与 HPV 感染密切相关,HPV 感染与性别及吸烟因素未发现明显相关性。人乳头瘤病毒感染可能与肺癌发生发展有关。

关键词 肺 鳞癌 人乳头瘤病毒

中图分类号:R734.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8179(2005)17-0966-03

The Studies on Human Papillomavirus Infection
in Squamous Cancer of the Lung

Chen Weiqiang Qi Haowen Wu Changgui et al

Department of Respiratory Disease, Xijing Hospital of the Fourth Military Medical University, Xi'an

Abstract Objective: To investigate the relationship between human papillomavirus (HPV) infection and lung cancer, observe the distribution of HPV-DNA in the tissue of lung cancer and to analyze the interrelationship among human papillomavirus, smoke, sex and the histological stage of lung cancer. Methods: Tissue of lung cancer was obtained by surgical resection or biopsy. The tissue specimens were detected by in situ hybridization techniques for human papillomavirus types 6B/11, 16, 18 and 31 using digoxigenin labelled DNA probe. The studies on the mechanisms involved in pulmonary carcinogenesis associated with HPV infection. Results: a, The positive sign was mainly located in the nuclei of the cells. The rate of 48.4% of squamous cell carcinoma, 27.4% of metaplasia and 5.6% of chronic inflammation tissue were positive for HPV-DNA by in situ hybridization ($P<0.01$); b, The positive rate of HPV in the central type group and peripheral type control group was 50.6% and 4.4%, respectively ($P<0.01$). c. No significant difference in positive rate of HPV in smoke, sex and the histological stage of lung cancer were found in squamous cell carcinoma. Conclusion: The HPV-DNA is closely associated with squamous cell carcinoma of the lung, especially in the central type lung cancer. The correlation between the HPV-DNA and smoke, the sex and the histological stage of lung cancer were not found.

Key words Squamous cell carcinoma Human papillomavirus

肺癌的病因及发病机理一直是世界各国学者的研究热点,除吸烟^[1]、大气污染^[2]等高危因素外,肿瘤

相关病毒致癌研究也已引起广泛重视^[3]。人乳头瘤病毒作为嗜上皮病毒与肺癌的发生发展之间的关系

* 本文课题受全军医药卫生科研基金资助(编号:No96M107)

值得深入研究。为了解肺癌组织中 HPV 感染存在情况,从而为进一步认识 HPV 与肺鳞癌的关系提供线索,我们用原位杂交方法对肺癌组织标本进行了回顾性调查检测。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本 126(男 91,女 35)例肺鳞癌,62 例鳞状上皮化生和 72 例支气管粘膜慢性炎(对照)标本均由西京医院病理科提供,最大年龄 77 岁,最小年龄 30 岁,中位年龄 63 岁。为我院 1999~2003 年支气管镜检及手术切除标本,经常规福尔马林固定,石蜡包埋,其 HE 染色切片均由两位以上资深病理医师确诊。

1.1.2 试剂 地高辛诊断和检测试剂盒购自德国 Boehringer Mannheim 公司,HPV 6B、11 质粒由美国 Fox Chase 癌症研究中心惠赠,HPV16、18 型全基因质粒由德国海德堡癌症研究中心 De Villiers EM 教授惠赠。PCR 引物由中国科学院上海生物工程研究所合成,常规 PCR 及 HPV DNA 产物提取纯化鉴定在本校分子生物学研究所完成,原位杂交探针标记严格按说明书程序进行,采用随机引物法。

1.2 方法

1.2.1 原位杂交 5 μ m 切片于预涂 APES 胶玻片 60 烘烤过夜,常规脱蜡,0.2mol/L 盐酸浸泡,5 mg/L 蛋白酶 K 消化,梯度酒精脱水,室温干燥组织片,预杂交后将杂交液滴加于玻片,96~98 变性 10min,骤冷后 42 恒温杂交过夜,2 \times SSC,1 \times SSC,0.5 \times SSC,Buffer 等多次洗涤后封闭 30s,加地高辛抗体复合物室温 2h,用 NBT-BCIP 暗处显色 1~72h,常规脱水透明封片观察。阳性对照为已知 HPV 阳性之宫颈癌切片,阴性对照 1 为杂交液不加探针,2 为已知不含 HPV 之肝组织切片。

1.2.2 结果判定 光镜下观察组织细胞形态,以及原位杂交阳性信号。经病理医生观察,阳性细胞率 10% 者为阳性。

1.3 统计学处理

采用 NOSA5.0 统计软件进行分析,各组间差异显著性检验采用 Fisher 确切概率法。

2 结果

2.1 各组肺组织 HPV 检出情况

见表 1。

2.2 肺癌发生部位与 HPV 感染关系结果

见表 2。

2.3 肺鳞癌角化程度与 HPV 感染关系结果

见表 3。

2.4 性别因素与 HPV 检出关系

见表 4。

2.5 吸烟因素与 HPV 关系

见表 5。

表 1 三组肺组织中 HPV 检出情况 例

肺组织标本	例数	HPV+	HPV-	检出率(%)
肺鳞癌	126	61	65	48.4 ^a
鳞状上皮化生	62	17	45	27.4 ^a
粘膜慢性炎(对照)	72	4	68	5.6

与对照组比较,^aP<0.01,与鳞状上皮化生比较^bP<0.01

表 2 两组肺癌组织 HPV 检出情况 例

肺癌类型	例数	HPV+	HPV-	检出率(%)
中心型	81	41	40	50.6
周围型	45	2	43	4.4

两组比较 P<0.01

表 3 不同角化程度 HPV 检出结果 例

肺鳞癌角化程度	例数	HPV+	HPV-	检出率(%)
角化型()	25	11	14	44.0
低分化型()	71	36	35	50.7
未分化型()	30	14	16	46.6

经两两比较,各组 P>0.05

表 4 男女两组 HPV 检出结果 例

性别	例数	HPV+	HPV-	检出率(%)
男	91	42	49	46.1
女	35	19	16	54.3

两组比较 P>0.05

表 5 吸烟与 HPV 检出比较 例

吸烟否	例数	HPV+	HPV-	检出率(%)
吸烟	85	43	42	50.6
不吸烟	41	18	23	43.9

两组比较 P>0.05

3 讨论

人乳头瘤病毒与宫颈癌发生之间的关系已得到广泛认同,而与肺癌的关系之间尚存在一定争议。由于地区不同,标本来源及检测方法的差异,文献报道结果不尽相同^[4-6]。本研究采用灵敏的系统杂交检测方法,HPV 原位杂交阳性信号紫兰色颗粒,位于肿瘤细胞核内,癌旁支气管粘膜柱状上皮内未见阳性信号,某些阳性信号位于凹空样肿瘤细胞内,部分凹空细胞核核膜边缘不齐,围绕核周呈放射状细丝样。结果表明:肺癌组织中存在一定比例的人乳头瘤病毒感染。从作为对照组的良性粘膜慢性炎组织到鳞状上皮化生组织以至肺鳞癌组织,人乳头瘤病毒检出率呈上升趋势,各组之间差异显著,提示人乳头瘤病毒与肺鳞癌的发生关系密切。

参考文献

- 1 Steckley SL, Pickworth WB, Haverkos HW. Cigarette smoking and cervical cancer: Part II: a geographic variability study [J]. *Biomed Pharmacother*, 2003, 57(2): 78~83
- 2 Wen Cheng Y, Lee H. Environmental exposure and lung cancer among nonsmokers: an example of Taiwanese female lung cancer [J]. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 2003, 21(1): 1~28
- 3 Steenbergen RD, Kramer D, Braakhuis BJ, et al. TSLC1 gene silencing in cervical cancer cell lines and cervical neoplasia [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004, 96(4): 294~305
- 4 Syrjänen KJ. HPV infections and lung cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2002, 55(12): 885~891
- 5 Lele SM, Pou AM, Ventura K, et al. Molecular events in the progression of recurrent respiratory papillomatosis to carcinoma [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2002, 126(10): 1184~1188
- 6 Zafer E, Ergun MA, Akber G, et al. Detection and typing of human papillomavirus in non-small cell lung cancer [J]. *Respiration*, 2004, 71(1): 88~90
- 7 Chiu HL, Wu MF, Liaw YC, et al. The presence of human papillomavirus type 16/18 DNA in blood circulation may act as a risk marker of lung cancer in Taiwan [J]. *Cancer*, 2003, 97(6): 1558~1563
- 8 Boyle P, Leon ME, Maisonneuve P, et al. Cancer control in women. Update 2003 [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2003, 83 Suppl 1: 179~202
- 9 Moore TO, Moore AY, Carrasco D, et al. Human papillomavirus, smoking, and cancer [J]. *J Cutan Med Surg*, 2001, 5(4): 323~328.
- 10 Boardman LA, Cooper AS, Clark M, et al. HPV, cervical neoplasia and smoking: knowledge among colposcopy patients [J]. *J Reprod Med*, 2004, 49(12): 965~972
- 11 Kijp T, Kaniyam A, Chinen K, et al. Squamous metaplasia induced by transfection of human papillomavirus DNA into cultured adenocarcinoma cells [J]. *Mol Pathol*, 2003, 56(2): 97~108
- 12 De Marco F, Hallez S, Bruet JM, et al. DNA vaccines against HPV-16 E7-expressing tumor cells [J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(2B): 1449~1454

(2005-03-15 收稿)

(2005-04-30 修回)

(王展宏校对)

按发生部位分,发生在肺段支气管口以上的较大支气管的癌肿靠近肺门,称为中心型肺癌,而发生在肺段支气管以下较小支气管者称为周围型肺癌,结合临床资料,中心型肺癌人乳头瘤病毒检出率高于周围型肺癌。人乳头瘤病毒可沿开放的呼吸道下行到达感染部位,也可能通过血行途径^[7],从本研究结果看,沿呼吸道下行途径可能占主要地位,可以设计上呼吸道组织联合研究作进一步证实。

依据鳞癌组织的分化程度,肺鳞癌可分高分化型(°角化型)、低分化型(°非角化型);未分化型(°)三种类型。角化型分化程度较高,癌巢中央各有癌珠形成,非角化型则无或仅见少量角化,未分化型的瘤细胞多弥漫排列,不形成明显癌巢,核分裂多见。角化型、低分化型和未分化型之间人乳头瘤病毒检出率无显著差异,提示角化程度与人乳头瘤病毒感染无明显相关性。

肺癌发生一直以男性比例较高,本研究结果肺鳞癌组织中两组 HPV 检出率无明显差异,提示性别因素与 HPV 感染之间无明显相关性^[8]。吸烟一直是肺癌发生的高危因素,吸烟组与非吸烟组 HPV 检出率无明显差异,说明吸烟与否可能作为相对独立的致癌因素参与肺癌的发生发展^[9,10],确切的相关性研究尚需进一步证实。

作为回顾性调查,可以为肺癌与 HPV 感染关系分析提供依据,来分析 HPV 感染的相对危险度,欲证明 HPV 感染作为明确的致癌因素,需要大量的前瞻性研究证实。已有研究表明,人乳头瘤病毒 E6、E7 基因转染可引起支气管上皮细胞永生化,其确切机理尚在研究中^[11]。HPV 作为肺癌的可能危险因素,其致癌机理研究也有待于进一步深入^[12],必将为肺癌预防和治疗提供新途径。

总而言之,肺鳞癌组织中存在一定比例的 HPV 感染,中心型肺癌与 HPV 感染之间关系更加密切,肺鳞癌角化程度、性别因素、吸烟因素与 HPV 感染无明显相关性。

致谢:感谢病理教研室晏培松教授,晏伟医生在形态学研究中的帮助,感谢统计教研室夏结来教授提供统计软件并予以具体指导。