·基础研究·

肺鳞癌组织中人乳头状瘤病毒 DNA 的分型检测及临床意义*

杜华贞，李维山，张印坡
（漯河医学高等专科学校病理教研室，河南漯河 462000）

摘　要：目的　探讨河南漯河周边地区人乳头状瘤病毒（HPV）各型在肺鳞癌中的感染情况及其与临床病理参数之间的关系。**方法**　采用核酸分子快速导流杂交基因芯片技术（HybrMax）检测 60 例新鲜肺鳞癌组织和 15 例癌旁正常组织中各型 HPV DNA 的感染情况。**结果**　HPV DNA 在肺鳞癌组织中的感染率为 38.3%高于癌旁正常组织中的感染率 6.7%，差异有统计学意义（$P<0.05$）；HPV DNA 在肺鳞癌组织中的感染与患者性别呈正相关（$r=0.272$），与肿瘤组织的分化程度呈负相关（$r=-0.266$），和患者的年龄，肿瘤的大小，以及淋巴结转移无关（$P>0.05$）。**结论**　HPV 感染与肺鳞癌的发生、发展可能具有病因学关系。

关键词：肿瘤，鳞状细胞；肺肿瘤；转移；HPV；核酸分子快速导流杂交基因芯片技术
doi：10.3969/j.issn.1671-8348.2013.12.019　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1671-8348(2013)12-1368-02

Typing of HPV DNA and its clinical significance in lung squamous cell carcinoma*

Du Huazhen，*Li Weishan*，*Zhang Yinpo*
（*Pathology Teaching and Research Section*，*Luohe Medical College*，*Luohe*，*Henan* 462000，*China*）

Abstract：Objective　To investigate the relationship between the human papillomaviruses（HPV）infection and clinicopatholo gic features in lung squamous cell carcinoma（SCC）on surrounding areas of Luohe. **Methods**　Flow through hybridization and gene chip（HybrMax）was used to detect the various HPV infection in 60 case of lung SCC and 15 case of paraneoplastic tissues. **Results** HPV infection in lung SCC was significant higher than that in surrounding areas（$P<0.05$），and HPV infection was negatively correlation with histological type，degree of SCC differentiation（$r=0.266$），and correlation with gender of the patient（$r=0.272$）. There was no correlation with the age of the patient，the size of the tumor，and lymph node status（$P>0.05$）. **Conclusion**　There was perhaps etiologic relationship between HPV infection and the occurrence of lung SCC.

Key words：neoplasms，squamous cell；lung neoplasms；metastasis；HPV；HybrMax

肺鳞癌是人类常见的恶性肿瘤之一，近年来发病率上升很快，尽管已经明确抽烟是肺鳞癌发生的重要危险因素，但是非抽烟肺鳞癌患者近年来亦逐步增多，而目前的研究表明，人乳头状瘤病毒（HPV）感染与肺鳞癌的发生可能存在病因学关系，但是在不同的地域感染率可能不同[1]。本文旨在了解河南漯河周边地区 HPV 在肺鳞癌中的感染情况以及与临床病理参数之间的关系。

1　资料与方法

1.1　一般资料　收集自漯河医学高等专科学校一附院及周边市级医院外科及病理科新鲜肺鳞癌手术标本 60 例（实验组）和癌周正常组织标本 15 例（对照组），标本经 10%中性甲醛固定，石蜡包埋。

1.2　主要试剂　HPV DNA 抽提试剂盒购自 QINGEN 公司，HPV 基因微阵列检测试剂盒和 HybrMaxTM 医用核酸分子杂交仪均购自潮州凯普生物科技有限公司。

1.3　方法

1.3.1　HybrMax™ 技术进行 HPV 分型检测　先将病毒 DNA 扩增，然后利用核酸分子快速导流杂交技术法[2-3]，使目的分子导流穿过固定有 DNA 探针的低密度基因芯片薄膜上，从而和 DNA 探针快速杂交。

1.3.2　实验步骤　提取肺鳞癌及肺鳞癌周边新鲜组织 HPV DNA 后，进行 PCR 扩增，随后采用 HybrMax™ 医用核酸分子杂交仪进行核酸分子快速导流杂交，最后进行酶标显色。结果判断：根据芯片上 HPV 基因亚型分布的相应着色位点判断为何种基因型[3]。基因型包括 13 种高危型 HPV（16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68）和 5 种低危型 HPV（6、11、42、43 和 44）和 3 种我国人常见的基因型 HPV（53、56 和 CP8304）。

1.4　统计学处理　采用 SPSS13.0 统计软件进行分析，率的比较采用 χ^2 检验，变量的相关性采用 Spearman 相关分析，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　HPV DNA 在实验组和对照组中的感染率　HPV DNA 在 60 例肺鳞癌组织中的感染率为 38.3%（23/60）高于对照组中感染率为 6.7%（1/15），差异有统计学意义（$P<0.05$）。其中实验组主要为高危型 HPV16、18 感染，对照组 1 例为低危型 HPV6 感染，见表 1。

表 1　HPV 在肺鳞癌及对照组中的表达

组别	n	HPV DNA				
		阳性（n）	阴性（n）	阳性率（%）	χ^2	P
实验组	60	23	37	38.3	4.170	0.041
对照组	15	1	14	6.7		

*　**基金项目：**河南省教育厅资助项目（2010C310002）。　**作者简介：**杜华贞（1952～），教授，主要从事病理学教学、临床病理诊断和科研工作。

2.2 HPV DNA 在肺鳞癌中的表达与临床病理参数的关系

HPV 感染在男、女患者中感染率分别为 48.4%(15/31)、22.2%(6/27),男性感染率高于女性,两者呈正相关($r=0.272$,$P<0.05$);在高-中分化、低分化肺鳞癌中感染率分别为 25.8%(8/31)、51.7%(15/29),低分化感染率明显高于高-中分化,两者显著具有相关性($r=-0.266$,$P<0.05$);而与患者年龄、肿瘤的大小、淋巴结转移均无相关性,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 HPV 的表达及其与肺鳞癌临床病理参数的关系

临床病理参数	HPV DNA						
	阳性 (n)	阴性 (n)	阳性率 (%)	χ^2	P	r	P
年龄(岁)							
>45	12	20	37.5	0.020	0.887	0.018	0.889
≤45	11	17	39.3				
肿瘤大小(cm)							
>2	15	22	40.5	0.199	0.433	0.058	0.622
≤2	8	15	34.8				
肿瘤分化							
高-中分化	8	23	25.8	4.258	0.039	−0.266	0.040
低分化	15	14	51.7				
性别							
男	15	16	48.4	4.277	0.039	0.272	0.039
女	6	21	22.2				
淋巴结转移							
有	17	18	48.6	3.725	0.054	0.249	0.055
无	6	19	24.0				

3 讨 论

HPV 是一组双链闭环小 DNA 病毒,基因组全长约7.8~8.0 kb,目前已鉴定的 HPV 亚型达 100 余种,根据致癌性不同,可将 HPV 分为两大类型:低危型 HPV(如 HPV6 和 11 型等,主要引起尖锐湿疣等良性病变)和高危型 HPV(如 HPV16、18、31、33、52、58 和 59 型等,与感染细胞的恶性转化密切相关)。

HPV 主要感染人上皮细胞,最常见的感染部位是皮肤和肛门生殖器部位[4-5]。自从 1980 年 Syrjanen[6]报道 HPV 感染与支气管鳞癌的关系后,HPV 与肺癌的关系受到广泛重视,但报道的结果差异很大,有研究报道 HPV 感染与肺癌的发生存在病因学关系[7-8],也有研究报道 HPV 感染与肺癌的发生无明显关系[9]。对于上述不同的结果,目前认为可能与检测方法不同和研究材料来源的地域不同等因素有关[10]。

本文研究结果显示,HPV DNA 在实验组中的阳性率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),其阳性率与实验组组织的分化呈负相关($r=-0.266$),与患者的性别呈正相关($r=0.272$),但与患者的年龄、肿瘤的大小,有无淋巴结转移均无相关性($P>0.05$),其中肺鳞癌中高危型 HPV16 和 HPV18 是主要感染类型,在对照组中仅仅查到 1 例低危型 HPV,此与文献报道基本一致[11]。说明高危型 HPV16、18 和肺鳞癌的发生、分化可能有关,HPV16、18 感染率越高,肿瘤的分化可能越差。与文献不同的是,高危型 HPV16、18 的感染率和患者的性别具有相关性,且男性的感染率明显大于女性。说明肺癌和男性肺鳞癌的发生可能有一定关系。其原因可能和男性抽烟比较常见,而抽烟更容易引起支气管上皮的鳞状上皮化增生,而鳞状上皮比其他上皮更容易感染 HPV,也可能和地区差异有关[12]。

综上所述,漯河周边地区高危型 HPV16、18 的感染可能是导致肺鳞癌发生的又一重要危险因素,这有可能为临床对肺鳞癌的预防和治疗提供一定的理论支持。

参考文献:

[1] Joh J,Jenson AB,Moore GD,et al. Human papillomavirus (HPV) and Merkel cell polyomavirus (MCPyV) in non small cell lung cancer[J]. Exp Mol Pathol,2010,89(3):222-226.

[2] 王长奇,周开良,陈燕萍,等. 某地区 HPV 基因型与宫颈病毒感染的分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(7):800-801.

[3] 赵健,杨英捷,廖秦平. 导流杂交基因芯片技术在人乳头状瘤病毒感染分型检测中的临床应用[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(12):1148-1151.

[4] 唐永发,耿建祥,张金浩,等. 196 例肛门及肛管尖锐湿疣病变中 HPV 感染的研究[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(11):1303-1304.

[5] 朱艳,成莉. 微波联合保妇康栓治疗宫颈糜烂合并 HPV 感染的临床疗效[J]. 海南医学院学报,2011,17(10):1385-1386.

[6] Syrjanen KJ. Epithelial lesions suggestive of a condylomatous origin found closely associated with invasive bronchial squamous cell carcinomas[J]. Respiration,1980,40(3):150-160.

[7] Li G,He L,Zhang E,et al. Overexpression of human papillomavirus (HPV) type 16 oncoproteins promotes angiogenesis via enhancing HIF-1alpha and VEGF expression in non-small cell lung cancer cells[J]. Cancer Lett,2011,311(2):160-170.

[8] 孔令慧,吴翠环,李莹,等. E2F-1 和 survivin 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其与 HPV 感染的相关性研究[J]. 中国癌症杂志,2011,21(2):81-85.

[9] Shamanin V,Delius H,de Villiers EM. Development of a broad spectrum PCR assay for papillomaviruses and its application in screening lung cancer biopsies[J]. J Gen Virol,1994,75(5):1149-1156.

[10] Yu Y,Yang A,Hu S,et al. Correlation of HPV-16/18 infection of human papillomavirus with lung squamous cell carcinomas in Western China[J]. Oncol Rep,2009,21(6):1627-1632.

[11] 汪永平,吴翠环,吴人亮,等. HPV 感染与非小细胞肺癌的相关性[J]. 中国癌症杂志,2006,16(4):245-248.

[12] Syrjanen KJ. HPV infections and lung cancer[J]. J Clin Pathol,2002,55(12):885-891.

(收稿日期:2012-11-15 修回日期:2013-03-03)