

【妇幼综合研究】

HPV 与宫颈癌的关系及其检测在临床应用的进展

刘 娜, 王英红

(石河子大学医学院第一附属医院妇科, 新疆 石河子 832008)

[摘 要] 宫颈癌在世界范围内发病率位居女性恶性肿瘤的第 2 位。高危型人乳头瘤病毒生殖道持续感染被认为是引起宫颈癌前病变——宫颈上皮内瘤变及宫颈癌的主要病因。宫颈癌存在着一个较长的、可逆转的癌前病变期, 故对宫颈癌的筛查及对宫颈上皮内瘤变的治疗处理一直受到关注。该文就人乳头瘤病毒导致宫颈癌的机制及其检测的临床应用等研究进行综述。

[关键词] 人乳头瘤病毒; 宫颈癌; 宫颈上皮内瘤变; 第 2 代杂交捕获试验

doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2010.02.049

[中图分类号] R737.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-5293(2010)02-0253-03

Progress in research on relationship between HPV and cervical cancer and application of detection of HPV DNA in clinic

LIU Na, WANG Ying-hong

(Department of Gynecology, The First Affiliated Hospital of School of Medicine, Shihezi University, Xinjiang Shihezi 832008, China)

[Abstract] Cervical cancer remains the second most common malignancy in women worldwide. The persistent infection of high-risk genotypes of human papilloma virus (HR-HPV) in the genital tract is thought the main cause of precancerous lesion—cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and cervical cancer. Cervical cancer has a long reversible precancerous stage, so the screening of cervical cancer and treatment of CIN have attracted more attention for a long time. This article reviewed the major mechanisms that HPV causes cervical cancer and clinical application of detection of HPV DNA in cervical secretions.

[Key words] human papillomavirus (HPV); cervical cancer; cervical intraepithelial neoplasia (CIN); hybrid capture 2 (HC2)

宫颈癌的病因与多因素有关, 其中以人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 的感染为最重要的因素。高危型 HPV 感染、抑癌基因 p53 和 Rb 失活以及端粒酶激活是细胞恶性转化的一系列内在机制, 其相互作用的详细致病机制仍在探讨之中, 并成为研究的热点。

1 人乳头瘤病毒的分子生物学特征

1.1 人乳头瘤病毒的基因序列结构

HPV 是无包膜的小型双链环状 DNA 病毒^[1], 其外观呈球形, 二十面体对称, 直径约为 50~55nm, 约含 7 900bp, 由核心和蛋白衣壳组成, 基因组有 9 个开放阅读框 (ORF), 分为 3 个功能区, 即早期转录区 (E 区)、晚期转录区 (L 区) 和上游调控区 (URR 区, 又称长控区 LCR 区)。E 区编码 E1~E8 蛋白参与病毒 DNA 的复制、转录、翻译、调控和细胞转化。L 区含有 L1 高度保守、L2 高度可变两个基因, 其功能是编码病毒的衣壳蛋白, L1 蛋白为病毒的主要衣壳蛋白, L2 则为次要成分。URR 区位于 L1 基因和 E6 基因之间, 含有多个结合位点, 通过与转录因子的相互作用调节早期区基因的转录, 参与病毒复制、转录的调控。

1.2 人乳头瘤病毒的分型

迄今已确定基因组全序列的 HPV 基因型有 85 种, 20 余

种已证实与子宫颈肿瘤相关^[2]。根据 HPV 的组织嗜异性, 可将其分为皮肤类和粘膜类。在粘膜类中又根据与宫颈癌的关系将其分为低危型和高危型, 低危型如 HPV-6 和 HPV-11 型常在外生殖器疣中发现; 高危型包括 HPV-16、HPV-18、HPV-31、HPV-33、HPV-35、HPV-39、HPV-45、HPV-51、HPV-52、HPV-56、HPV-58 型等, 与宫颈癌、外阴癌、肛门癌等恶性肿瘤相关, 其中 HPV-16 和 HPV-18 是宫颈癌中最常见的型别^[3]。

2 人乳头瘤病毒的致癌机制

生殖道 HPV 感染与宫颈病变、宫颈癌的关系最早由德国病毒学家 ZurHausen 在 1983 年提出。目前大量的流行病学研究和病原学研究已经明确了高危型人乳头瘤病毒 (high risk human papillomavirus, HR-HPV) 持续感染为宫颈癌前病变和浸润性宫颈癌发生的必要条件。

2.1 人乳头瘤病毒基因产物的致癌机制

HPV 诱发宫颈癌的主要机制是其产生的 E6 和 E7 两个癌蛋白分别与抑癌蛋白 p53 和磷酸化的 Rb 蛋白 (pRb) 结合而诱导后两者降解, 从而失去对细胞生长周期的正常调控, 抑制了其介导的细胞凋亡^[4]。正常细胞周期调控发生异常, 遗传基因损伤的积累, 最终发展为肿瘤^[5]。

[收稿日期] 2009-12-29

[基金项目] 石河子大学医学院第一附属医院院级科研资助项目 (YL2008-Y002)

[作者简介] 刘 娜 (1981-), 女, 住院医师, 在读硕士研究生, 主要从事妇科肿瘤与内镜的研究。

[通讯作者] 王英红, 教授。

2.2 人乳头瘤病毒基因的存在状态与致癌标志

HPV 可呈游离形式存在,也可整合到宿主细胞中。Arias 等^[6]发现,在绝大部分宫颈浸润癌中均存在着 HPV 与宿主基因组的整合,这种整合可使 E2 开放读码框架失活,由于 E2 是 HPV 中惟一具有抑制病毒复制转录的基因,其失活使 E6 与 E7 不受限制而能继续大量进行转录,从而使基因的微小突变可能得以逐步积累,经过长达 10~20 年的多步骤发展过程诱发宫颈癌。故 HPV-DNA 的整合状态是宫颈病变快速发展的标志。

2.3 人端粒酶逆转录酶蛋白与人乳头瘤病毒的相关性

端粒具有保护和维持染色体稳定和复制的作用,端粒缩短至一定程度细胞即发生凋亡。人端粒酶可以维持真核细胞染色体末端端粒的长度。人端粒酶催化中心由人端粒 RNA (human telomerase RNA, hTR) 亚单位和一个称为人端粒酶逆转录酶蛋白(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)亚单位组成。hTR 亚单位可在大多数组织细胞中表达,而 hTERT 常常只在增殖的细胞中表达。E6、E7 通过影响 p53 及 pRb 对细胞周期的调控,间接影响 hTERT 的转录,从而影响了端粒酶的活性,端粒酶的激活是 HR-HPV 感染宫颈上皮后由宫颈上皮内瘤变(CIN)向癌转化过程中相当关键的步骤^[7]。

2.4 人乳头瘤病毒感染致宫颈癌的免疫逃避

女性中感染 HPV 较普遍,大多数 HPV 感染者有充足的免疫防御机制对抗病毒,多可自然缓解,但在部分宫颈癌患者中存在免疫逃避现象。Kang 等^[8]的实验证实,E6 和 E7 会下调干扰素(interferon, IFN)促进因子野生型白细胞介素(IL)-18 的表达,IFN 是人体抵御病毒入侵与复制、激活免疫功能的第 1 道关卡。HPV 通过干扰机体免疫反应的途径达到持续感染,并可发展为 CIN,最终进展为浸润型宫颈癌的结果^[9]。

3 第 2 代杂交捕获试验检测高危型人乳头瘤病毒 DNA 在宫颈病变中的临床应用

Naucner 等^[10]研究发现,检测 HR-HPV 在子宫颈筛查中的意义主要有以下几个方面:单独或联合细胞学进行子宫颈癌前病变初筛;分流不典型鳞状细胞(ASC);随访阴道镜下/活检阴性者;对 CIN 患者进行治疗后的预测。

3.1 在宫颈癌筛查方面

宫颈细胞学检查是宫颈病变筛查的有效手段,目前已取得了显著的效果。但无论是传统的巴氏涂片,还是目前在临床上普遍使用的 Thin Prep 和 Auto Cyte Prep 两种薄层液基细胞学检测技术,均无法完全避免细胞学检查的主观性。潘秦镜等(2001 年)研究发现,传统的巴氏涂片细胞不均匀,过厚和过多的粘液、血液或炎症细胞掩盖了不正常的细胞,有 40% 的涂片因质量影响了判断,液基细胞学标本中如有过多的血液和粘液,处理后制片常发现对细胞数量不满意。随着人们对 HPV 和宫颈癌关系的深入了解,HPV 在宫颈病变筛查中的作用日益受到重视。HR-HPV 检测是直接针对病因的检查,优于传统的细胞学检查,对细胞学正常或轻度异常者的未来有预警作用^[11]。

目前唯一允许用于临床的 HR-HPV DNA 的检测方法是

第 2 代杂交捕获试验(hybrid capture 2, HC2),并已经过美国食品与药品管理局(FDA)及中国食品与药品管理局(SDA)认证,其原理是利用对抗体捕获信号的放大和化学发光信号的检测,采用 96 孔平板法,同时检测 13 种 HR-HPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 68),并可同时检测 HPV-DNA 载量。病毒载量的测定为:样本产生的光由 DML2000 微孔板判读器来测量,表达为相对光单位(RLU),通过其与设置的标准阳性对照(PC)之比来判定结果。当比值 ≥ 1.00 时认为 HR-HPV DNA 检测为阳性, < 1.00 时为阴性。由于 RLU 与样本所含 DNA 是成比例的,比值越高,样本中 HR-HPV DNA 载量越高。HC2 检测结果客观性较强,有较高的可重复性。有研究发现,以病检 $\geq$ CIN II 为阳性,HR-HPV DNA 检测提高了敏感性及特异性,阴性预测值可达 99.9%^[12]。有学者已提出 HPV 检测可作为初筛手段筛查高风险人群,将 HPV 检测纳入子宫颈癌的筛查方案中可降低假阴性率^[13]。

英国 Cuzick 等^[13]观察了欧洲和北美 6 万名以上妇女 HPV 检测的敏感性较细胞学高,而特异性低。在 HPV 感染的女性中,最终发展成浸润癌者少于 5%^[14]。联合细胞学检查是高效的宫颈癌筛查方法,HC2 有效地补偿了宫颈涂片的假阴性结果,避免了细胞学假阴性对患者延误早诊、早治的时机。美国及欧洲的疾病控制中心和预防机构强烈呼吁,在宫颈癌筛查中应常规开展 HPV 病毒检测,而与细胞学检查相结合可用于较少有暂时性 HPV 感染的 30 岁以上女性,从确诊、卫生经济及患者的心理接受程度等方面均为最佳选择。

3.2 对不典型鳞状细胞的分流方面

ASC 是指形态改变较良性反应性改变明显,但在数量和程度上又不足以诊断为鳞状上皮内病变的一组阴道、子宫颈的细胞病理改变。其包括意义不明的不典型鳞状细胞(ASCUS)和不除外上皮内高度病变的不典型鳞状细胞(ASCUS-H)。ASC 范围内的细胞病理变化可以是极度的良性反应性改变,也可以是微小的鳞状上皮内病变(low grade squamous intraepithelial lesion, LSIL),甚至有可能是现有标本和形态学不能反映的鳞状上皮内高度病变(high grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)。国内杨毅等在 2006 年研究发现,薄层液基细胞学(thin liquid cytology test, TCT)ASC 患者 HR-HPV 感染率为 79.3% (69/87);无 HR-HPV 感染者发生高度宫颈癌前病变(CIN II~III)的比率为 5.9%,而 HR-HPV 感染患者发生(CIN II~III)的比率为 38.0%,两者比较有显著性差异。国外统计发现,细胞学检测 ASC 中有 0.1%~0.2% 为浸润癌^[15];细胞学检测为不典型腺上皮(AGC)者有 9%~38% 被检出为 CIN II~III 或癌,3%~17% 为浸润癌^[16]。使用 HR-HPV DNA(HC2)筛查,以 CIN II 以上为阳性,对于 ASCUS、LSIL 者 HPV 检测较细胞学相对可提高 25% (15%~36%) 的敏感性^[13]。

因此,如果以 HPV DNA 检测对 ASC 进行分类管理,即对 HPV DNA 检测为阳性 ASC 者行阴道镜检查,必要时行宫颈活检;对 HPV DNA 检测为阴性 ASC 者应严密随访,既可使高度病变得到比较及时的诊治,避免漏诊,又可减少过度诊断和治疗带给患者及临床医生的负担。

3.3 对宫颈病变随访监测方面

宫颈 HR-HPV 持续感染与 CIN II ~ III 和 HSIL 密切相关^[17]。对 CIN 的干预性阻断是有效降低宫颈癌发病率的关键。在对 CIN 的预防和治疗中, HPV 的转归非常重要。有研究认为, 检测 HR-HPV 在预测治疗失败方面敏感性高, 用切缘情况预测病变是否残留或病变是否持续的方法并不可靠, 治疗后 HR-HPV 感染持续者是术后复发的高危人群^[18]。因此, 术后随访 HR-HPV 负荷量非常必要。有丹麦学者对 8 656 名 22 ~ 23 岁年轻女性和 1 578 名 40 ~ 50 岁妇女进行随访发现, 细胞学检测正常而 HPV 阳性者在随后 5 年内有 17.7% 的年轻妇女和 24.5% 的老年妇女会出现细胞学检测异常, 在随后 10 年内有 13.6% 的年轻者和 21.2% 的老年者发生 CIN III 和宫颈癌的风险, 发生 CIN III 的年轻女性风险为 18%, 而老年妇女则增加到 20%^[19]。该结果提示, HC2 检测 HPV 对单一的 HPV 阳性而细胞学检测阴性者可预测发生高级别 CIN 的风险。动态观察 HR-HPV 载量的变化有助于推断病变的结局。有学者通过 PCR 检测方法动态观察病例组与对照组初始感染 HR-HPV 的载量差异无统计学意义, CIN II ~ III 的患者体内 HR-HPV 载量随病变进展呈上升趋势, 而阴性患者体内的 HR-HPV 载量表现为下降趋势^[20]。因此, 治疗后通过随访 HC2 检测 HR-HPV DNA 可有助于监测和评估治疗的有效性, 具有较高的临床应用价值。

4 结语

HPV DNA 阳性只说明是一种感染, 而不是一种疾病, 更不能说必定会发生宫颈癌。对 HPV 感染的忽视与过分恐惧均为不适宜。使用 HC2 检测宫颈癌 HR-HPV (13 种) 联合细胞学检查、阴道镜下宫颈活组织病检, 将有效地提高宫颈癌筛查的敏感性、特异性; 正确分流 ASC, 避免 ASC 过度诊断和治疗, 可及早发现宫颈癌前病变, 为 ASC 患者提供最佳的治疗方案; 在宫颈病变治疗后的随访中, 可通过 HPV 监测治疗效果, 有针对性地对随访过程中 HPV 持续阳性、细胞学检测异常者进行阴道镜检查, 必要时活检, 以防复发病例的遗漏, 并分析治疗前后 HPV 载量的变化规律, 以更科学的指导临床治疗、随访及监测疾病的预后。

【参考文献】

- [1] Van Tine B A, Dao L D, Wu S Y, *et al.* Human papillomavirus (HPV) origin-binding protein associates with mitotic spindles to enable viral DNA partitioning [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101 (12): 4030-4035.
- [2] Jung W W, Chun T, Sul D, *et al.* Strategies against human papillomavirus infection and cervical cancer [J]. *J Microbiol*, 2004, 42 (4): 255-266.
- [3] Jenkins D. A review of cross-protection against oncogenic HPV by an HPV-16/18 AS04-adjuvanted cervical cancer vaccine: Importance of virological and clinical endpoints and implications for mass vaccination in cervical cancer prevention [J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 110 (3): 18-25.
- [4] Nishimura A, Nakahara T, Ueno T, *et al.* Requirement of E7 on protein for viability of Hela cells [J]. *Microbes Infect*, 2006, 8 (4): 984-993.
- [5] Kim Y T, Zhao M. Aberrant cell cycle regulation in cervical carcinoma [J]. *Yousei Med J*, 2005, 46 (5): 597-613.
- [6] Arias P H, Peyton C L, Joste N E, *et al.* Human Papillomavirus type 16 integration in cervical carcinoma in situ and in invasive cervical cancer [J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 44 (5): 1755-1762.
- [7] De Wilde J, Wilting S M, Meijer C J, *et al.* Gene expression profiling to identify markers associated with deregulated hTERT in HPV-transformed keratinocytes and cervical cancer [J]. *Int J Cancer*, 2008, 122 (4): 877-888.
- [8] Kang Y H, Lee K A, Ryu C J, *et al.* Mitomycin C induces apoptosis via Fas/FasL dependent pathway and suppression of IL-18 in cervical carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2006, 237 (1): 33-44.
- [9] Deng W, Tsao S W, Kwok Y K, *et al.* Transforming growth factor beta promotes chromosomal instability in human papillomavirus 16 E6 E7-infected cervical epithelial cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68 (17): 7200-7209.
- [10] Naucler P, Ryd W, Tornberg 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 (1): 88-99.
- [11] Smith J S, Lindsay L, Hoots B, *et al.* Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: A meta-analysis update [J]. *Int J Cancer*, 2007, 121 (3): 621-632.
- [12] Wright T C. Cervical cancer screening in the 21st century: Is it time to retire the PAP smear [J]? *Clin Obstet Gynecol*, 2007, 50 (2): 313-323.
- [13] Cuzick J, Clavel C, Petry K U, *et al.* Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening [J]. *Int J Cancer*, 2006, 119 (4): 1095-1101.
- [14] Castle P E, Sideri M, Jeronimo J, *et al.* Risk assessment to guide the prevention of cervical cancer [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2007, 197 (2): 351-356.
- [15] Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, *et al.* Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries [J]. *Vaccine*, 2008, 26 (10): K29-K41.
- [16] Thomas C, Jr W L, Massad S, *et al.* 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests [J]. *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology Journal of Lower Genital Tract Disease*, 2007, 11 (2): 201-222.
- [17] Castle P E, Cox J T, Schiffman M, *et al.* Factors influencing histologic confirmation of high-grade squamous intraepithelial lesion cytology [J]. *Obstet Gynecol*, 2008, 112 (3): 637-645.
- [18] Houfflin D V, Collin P, Vinatier D, *et al.* Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrocautery excision for high-grade squamous intraepithelial lesions [J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 90 (3): 587-592.
- [19] Kjaer S, Hogdall E, Frederiksen K, *et al.* The absolute risk of cervical abnormalities in high-risk human papillomavirus-positive, cytologically normal women over a 10-year period [J]. *Cancer Res*, 2006, 66 (20): 10630-10636.
- [20] Hesselink A T, Berkhof J, Heideman D A, *et al.* High-risk human papillomavirus DNA load in a population-based cervical screening cohort in relation to the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124 (3): 381-386.

[专业责任编辑: 王月玲]



知网查重限时 **7折** 最高可优惠 **120元**

本科定稿，硕博定稿，查重结果与学校一致

立即检测

免费论文查重: <http://www.paperyy.com>

3亿免费文献下载: <http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重: http://www.paperyy.com/reduce_repetition

PPT免费模版下载: <http://ppt.ixueshu.com>
