

人乳头瘤病毒与头颈鳞癌

张春林¹, 谢民强²

(1. 遵义医学院附属医院 耳鼻咽喉头颈外科, 贵州 遵义 563003; 2. 南方医科大学珠江医院 耳鼻咽喉头颈外科, 广东 广州 510282)

关键词: 人乳头瘤病毒; 头颈鳞癌; 基因检测
中图分类号: R739. 91 文献标识码: C

[中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2017, 23(5): 496 – 499]

人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 属于乳头瘤病毒科, 主要引起人类黏膜的增生性病变。HPV 根据致癌的能力分为高危型 HPV (16、18 型为代表) 和低危型 HPV (6、11 型为代表)。持续感染高危型 HPV 是宫颈癌的主要病因, 近年来研究者发现 HPV 也与部分头颈恶性肿瘤的发病密切相关。头颈恶性肿瘤 (head and neck cancer, HNC) 的发病率在全身恶性肿瘤中居第 6 位, 中国每年约有超过 100 000 例新发病例和约 56 000 死亡病例^[1]。随着烟酒的控制, 吸烟和嗜酒相关的头颈肿瘤的发病率有所下降, 然而, 流行病学研究发现无烟酒嗜好的与 HPV 感染相关的头颈恶性肿瘤患者较前增加^[2], 这使得 HPV 感染与部分头颈鳞癌的相关性越来越被国外研究者和临床医生所重视, 但国内在这方面的临床关注度不够, 基础研究还处于初始状态。本文就 HPV 的致癌机制、检测方法、与口咽癌为主的头颈癌的相关性及其防治疫苗介绍如下, 希望国内同行予以重视。

1 HPV 基因组的致癌机制

HPV 是一种嗜上皮、黏膜的双链闭环 DNA 病毒, 其基因组结构可以分为 3 个区域, 即长控制区 (long control region, LCR)、早期控制区 (early region, E) 及晚期控制区 (later region, L)。E 区包括 E1 – E7 早期基因组, 主要编码早期蛋白, E1 区与病毒 DNA 复制有关, E2 区主要调节病毒 RNA 转录复制, E4 区主要涉及病毒组装, E5 区可以影响细胞生

长因子受体, E6 区、E7 区与病毒的细胞转化及致癌性有关。L 区由 2 个基因编码构成 (L1 和 L2), 两者协同编码病毒的结构蛋白。LCR 是上游非编码调控区, 其序列包括转录的增强子, 促进子和病毒基因的复制起点以及多种调节元件的结合位点, 其作用主要是调控病毒的复制周期。HPV 基因在整合入与宿主细胞基因时一般在 E1 – E2 基因处断裂, E4 – E5 基因往往在此过程中丢失, 详见图 1。

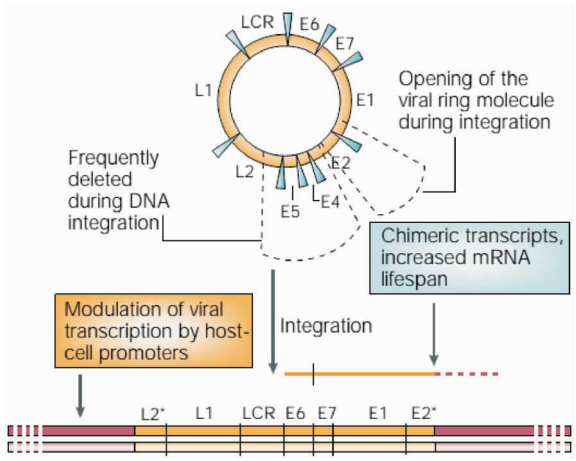


图 1 HPV 基因组的结构及其与宿主细胞基因整合示意 (引自: zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application [J]. Nature Reviews Cancers, 2002, 2(5): 342 – 350.)

正常情况下, HPV 对人体感染能力较弱, 皮肤黏膜受到紫外线照射等理化因素造成的损伤则可为 HPV 的感染创造条件。HPV 是迄今为止最常见的可以导致肿瘤的病原体^[3], 1983 年 Durst 等从宫颈组织中分离出来 HPV, 这开启了研究者对 HPV 致癌性的关注。在良性肿瘤和癌前病变中, HPV 以游离形式存在。而在恶性肿瘤中, 常常以多拷贝形式整合到细胞基因组中, 这一过程可以造成宿主 DNA

基金项目: 国家自然科学基金 (81372477, 81673013); 贵州省卫生计生委科学技术基金 (gzwjkj 2016 – 1 – 038); 遵义医学院博士科研启动基金 [院字 (2015) 11 号]。
作者简介: 张春林, 男, 博士, 副主任医师。
通信作者: 谢民强, Email: min_qiang_x@hotmail. com

的重排,进而引起基因功能紊乱,细胞发生恶性转化致癌。恶性肿瘤的发生是一个多基因、多步骤的过程,包括癌基因的激活和抑癌基因的失活等。HPV感染致癌的可能作用机制包括:①HPV整合入宿主细胞的过程中,对癌基因 E6 和 E7 产生抑制作用的 E2 基因往往断裂,使得 E6 和 E7 基因过度表达,进而通过与失活细胞周期调节因子 p53 和视网膜母细胞瘤蛋白(pRb)结合而致癌^[4],该机制研究最多,也被广泛接受;②HPV 感染可以激活 RAS、表皮生长因子受体(EGFR)家族、C - myc 基因等原癌基因,导致信号转导和细胞周期紊乱,从而引起肿瘤的发生;③除此之外,HPV 感染也会造成凋亡抑制基因(Survivin)、细胞周期素 D1、端粒逆转录酶异常,参与肿瘤的发生过程^[5]。然而,新近研究发现,HPV 阳性头颈鳞癌中 p53 基因突变较 HPV 阴性头颈鳞癌患者少,p53 基因多为野生型^[6],说明 HPV 在头颈鳞癌和宫颈癌中可能存在着不完全相同的致癌机制。另一方面,HPV 阳性头颈鳞癌中基因的整体甲基化水平要高于 HPV 阴性患者^[7],抑癌基因的功能丢失经常是因为甲基化修饰导致的,提示基因的甲基化可能参与了 HPV 的致癌过程。笔者前期研究也发现,HPV 病毒的 LCR 区也存在不同的甲基化类型,甲基化状态影响头颈鳞癌细胞的生长、增殖^[8]。

2 HPV 的检测方法

迄今为止,临床上尚无标准化的 HPV 检测方案,而建立标准化的检测方案,不仅可以筛选出头颈鳞癌发病的危险因素,利于肿瘤的防治工作,还可以有效的分析和预测预后,达到个体化治疗。此外,也有学者提出检测 HPV 还有利于判定颈部淋巴结转移癌的原发灶,由于口咽部是最常见的原发不明癌的原发部位,采用细针穿刺取颈部淋巴结组织,检测 HPV - DNA 阳性则高度提示原发灶可能位于扁桃体或舌根。

当前,检测肿瘤组织中 HPV 感染最常用的方法包括:免疫组化(IHC)检测 p16 蛋白、原位杂交(ISH)检测 HPV - DNA 和 PCR 检测 HPV - DNA 和(或)mRNA。p16 蛋白作为一个细胞周期调控因子以及抑癌蛋白,在 HPV 整合入宿主细胞时诱导表达。总体上来讲,检测 p16 来确定 HPV 感染是一种敏感的检测方法,基本可以替代直接检测 HPV 基因。通常使用免疫组化的方法检测 p16 蛋白,其方法简单,费用低。然而有研究报道,约 5% ~ 10% 的 HPV 阴性头颈鳞癌中也检测到 p16 的表达,所以可

能有非 HPV 参与的机制存在。此外,由于缺少标准化的方法,所以检测 p16 蛋白很难做为标准方案在临床大规模应用。原位杂交(ISH)检测 HPV - DNA 和 PCR 检测 HPV - DNA/mRNA 可以直接检测肿瘤组织中的 HPV 基因。ISH 则依靠细胞核内的杂交信号判断阳性,PCR 方法包括检测 HPV 的 DNA 和 mRNA。与 IHC 检测 p16 蛋白相比,PCR 和 ISH 均花费大且费时。总体上来说,PCR 法比 ISH 敏感,但是需要良好的对照以及谨慎的操作。PCR 检测时,标本间痕量的污染均可能造成假阳性,所以应当进行严格的质量控制。此外,由于头颈鳞癌组织中 HPV 病毒载量往往较低,过多的 PCR 循环容易产生非特异性产物而造成假阳性,进行 PCR 产物测序或联合其他方法来排除假阳性也十分有必要。有研究报道比较上述三种方法检测在喉癌组织中的 HPV 感染效能,PCR 敏感性最高,ISH 特异性最高,联合使用 PCR 和 IHC 检测 p16 可以获得最高的敏感性和特异性。基于此,新近也出现了 HPV 的高通量检测方法,即先检测 p16 蛋白,然后进一步的使用 GP5 + /GP6 + 检测 p16 阳性的标本,可以兼顾敏感性和特异性,把使用新鲜冰冻标本检测 E6 mRNA 的检出率作为参照,上述方法可以达到 100% 的敏感性和 100% 的特异性^[9]。此外,目前美国雅培公司、罗氏公司等已研发出 HPV 全自动检测系统,后者已得到美国 FDA 的认证。

3 HPV 与口咽癌

中国头颈肿瘤中 HPV 感染的研究起步比较晚,明显落后于西方国家。流行病学发现头颈鳞癌中 HPV 的感染率逐年增加,并且往往因地区、种族、生活习惯等而有差别,所以获取准确、客观的中国人群的 HPV 流行病学数据,对于中国人群的肿瘤防治工作十分必要。现有研究发现,与 HPV 感染相关的头颈鳞癌包括口咽癌、喉癌、口腔癌等,其中口咽鳞癌中 HPV 的感染率最高,且发病与 HPV 感染的关系最为密切。口咽癌是发生于软腭、腭扁桃体、舌根、会厌周围及咽壁等部位的恶性肿瘤,各亚区中腭扁桃体 HPV 感染率最高,其次为舌根。Gillion 等^[10]进行了一项世界范围内的研究,显示腭扁桃体的 HPV 感染率最高达 25.2%,舌根为 4.5%,而其他口咽部则少有检出。国外研究显示,年轻患者及非吸烟、非饮酒患者更易感染 HPV,而高危型 HPV 感染多为临床晚期,而且肿瘤更易于区域淋巴结及远处转移,病理分化级别更低。目前,大量的研究报

道,高危型 HPV 阳性的口咽癌预后要好于 HPV 阴性的口咽癌,HPV 阳性者治疗后疾病控制效果明显优于 HPV 阴性者,HPV 感染患者复发和死亡风险明显降低,高危型 HPV 感染是独立的预后因素。

4 HPV 与喉癌

喉癌 96% ~ 98% 为鳞状细胞癌。Kreimerp 等^[11]报道世界范围 HPV 感染率为 24.0%,亚洲的 HPV 总感染率为 38.2%。中国喉癌中 HPV 感染的研究相比国外较少,并且各项研究在样本量、标本保存方法、检测手段、检测 HPV 分型等方面均有差别。此外,HPV 与喉癌发生的相关性尚未完全明确。笔者进行了一项针对中国喉癌患者中 HPV 感染率的 Meta 分析^[12],中国高危 HPV 在喉癌中的感染率为 30%,均高于国外,并且感染高危 HPV 明显地增加了喉癌发病的风险。但是也有学者认为高危型 HPV 对喉癌的预后影响较有限,现有研究结果似乎并不能完全确定 HPV 对喉癌发病的直接致病作用。关于 HPV 与喉癌患者的预后方面,并没有达成共识,暂无定论。尽管近年来国内外研究者做了大量的研究工作,但是 HPV 与喉癌的关系,仍没有像 HPV 与口咽癌的关系得到学者的广泛接受。

5 HPV 疫苗

HPV 感染的预防一直是研究的热点,现已经证实接种 HPV 预防性疫苗可以降低宫颈癌的发病风险^[13],HPV 疫苗可分为预防性疫苗和治疗性疫苗。全世界很多地区,尤其是发达国家,HPV 预防性疫苗已广泛应用于宫颈癌的预防,HPV 治疗性疫苗相对于已上市的 HPV 预防性疫苗进展缓慢,多处于实验阶段,主要是由于机体自身控制及清除 HPV 感染的细胞或转化的瘤细胞免疫机制不清楚。目前,FDA 已经批准了两个 HPV 预防性疫苗的使用,Gardasil 是一种四价疫苗^[14],用于预防女性 HPV - 16 和 - 18 感染所导致的宫颈癌、外阴癌和阴道癌,还用于预防由于 HPV - 6 和 - 11 引起的生殖器湿疣,该疫苗用于女性和男性的年龄是 9 ~ 26 岁。Cervarix 疫苗是二价疫苗^[15],主要用于 10 ~ 25 岁女性预防 HPV - 16 和 - 18 感染所导致的宫颈癌。但是,无论是 Gardasil 还是 Cervarix,对于其他类型 HPV 感染均没有持续的完全的保护效果,并且对于已经感染 HPV 或者病毒介导的癌变则无作用。此外,上述疫苗对于年龄超过 26 岁的患者是否有保护作用

仍是未知。虽然也有学者尝试研究预防头颈鳞癌的 HPV 疫苗,但是迄今为止,仍无明确的结论。

6 总结与展望

HPV 相关的头颈鳞癌逐渐被划归为头颈鳞癌中特殊的一种亚型,HPV 相关头颈部肿瘤有特定的分子生物学、流行病学、临床特点及良好的预后,这也决定了我们对于 HPV 相关头颈部肿瘤需要有特定的预防、检验、诊断和治疗方式。尽管目前仍有很多问题没有解决,但笔者相信随着研究的不断深入,HPV 相关肿瘤将有望成为人类第一个能够预防和根治的肿瘤。

参考文献:

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115 - 132.
- [2] Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF, et al. Incidence trends for human papillomavirus - related and - unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(4): 612 - 619.
- [3] zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account [J]. Virology, 2009, 384(2): 260 - 265.
- [4] Zheng ZM, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post - transcriptional regulation [J]. Front Biosci, 2006, 11: 2286 - 2302.
- [5] Wittekindt CL, Wagner S, Mayer CS, et al. Basics of tumor development and importance of human papilloma virus (HPV) for head and neck cancer[J]. Laryngorhinootologie, 2012, 91(Suppl 1): 1 - 26.
- [6] Maruyama H, Yasui T, Ishikawa - Fujiwara T, et al. Human papillomavirus and p53 mutations in head and neck squamous cell carcinoma among Japanese population[J]. Cancer Sci, 2014, 105(4): 409 - 417.
- [7] Sartor MA, Dolinoy DC, Jones TR, et al. Genome - wide methylation and expression differences in HPV(+) and HPV(-) squamous cell carcinoma cell lines are consistent with divergent mechanisms of carcinogenesis[J]. Epigenetics, 2011, 6(6): 777 - 787.
- [8] Zhang C, Deng Z, Pan X, et al. Effects of Methylation Status of CpG Sites within the HPV16 Long Control Region on HPV16 - Positive Head and Neck Cancer Cells[J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0141245.
- [9] Strojan P, Ferlito A, Medina JE, et al. Contemporary management of lymph node metastases from an unknown primary to the neck: I. A review of diagnostic approaches [J]. Head Neck, 2013, 35(1): 123 - 132.
- [10] Gillison ML, Koch WM, Capone RB, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(9): 709 - 720.
- [11] Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, et al. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a

systematic review[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2005, 14(2):467-475.

[12] Zhang C, Deng Z, Chen Y, et al. Is there a higher prevalence of human papillomavirus infection in Chinese laryngeal cancer patients? A systematic review and meta-analysis[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2016, 273(2):295-303.

[13] WHO. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper [J]. Wkly Epidemiol Rec, 2017, 12(19): 241-268.

[14] Centers for Disease Control and Prevention(CDC). FDA licensure of quadrivalent human papillomavirus vaccine (HPV4, Gardasil) for use in males and guidance from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2010, 59(20): 630-632.

[15] Szarewski A. HPV vaccination and cervical cancer [J]. Curr Oncol Rep, 2012, 14(6): 559-567.

(收稿日期:2017-01-03)

· 消息 ·

《中国耳鼻咽喉颅底外科杂志》第六届编委会第一次全体会议简讯



中南大学湘雅医院赵素萍教授

《中国耳鼻咽喉颅底外科杂志》第六届编委第一次全体大会于2017年9月15~16日在湖南省长沙市召开,来自全国20多个省市、自治区、直辖市的100多位耳鼻咽喉及神经外科专家齐聚一堂共谋期刊发展大计,会议由《中国耳鼻咽喉颅底外科杂志》主编赵素萍教授主持,中南大学湘雅医院科研部沈璐主任、湖南省湘雅医学期刊社祖雄兵社长出席会议并讲话,《中国耳鼻咽喉颅底外科杂志》主编、中南大学湘雅医院孙虹院长作大会工作报告,《中国耳鼻咽喉颅底外科杂志》执行主编、中南大学医管处处长张欣教授作编辑部工作汇报。会上特别邀请赵长青教授、周永教授作专题发言,孙建军、肖自安、李娜等11位编委作了中肯、切中要害的大会发言;下半场进行的耳科组、鼻科组、咽喉头颈组及颅底外科组分组讨论中,大家对各自专业特色、主攻方面结合期刊出版现状、编委的工作职责作了切实可行的、具有一定可操作性的3年规划,各小组讨论气氛热烈、务实。应编辑部包括特邀的英语编辑的特别申请,会议还另行设置了编辑工作讨论小组,大家结合各自的日常工作情况,对以后的编辑出版、日常出刊过程中遇到的棘手问题都提出了各自的看法、交换各自的心得。最后孙虹主编对会议进行总结,感谢各位编委能克服各自的困难出席本次大会,特别对于专家学者的严谨作风给予肯定,对杂志发展提出了设想,我们将整理思绪,为将本刊办成全国知名杂志,再次起航!



中南大学湘雅医院沈璐教授



中南大学湘雅医院祖雄兵教授



中南大学湘雅医院孙虹教授



中南大学湘雅医院张欣教授



山西医科大学第二医院赵长青教授



广西医科大学第一附属医院周永教授

专家踊跃发言



海军总医院孙建军教授



南方医科大学珠江医院谢民强教授



青岛大学附属医院李娜教授



中国医科大学附属第一医院魏宏权教授



四川省人民医院古庆家教授



中南大学湘雅医院冯雪萍教授



北京大学人民医院王旻教授



中南大学湘雅二医院肖自安教授



西南医科大学附属医院覃纲教授



解放军 163 医院江文教授



西安交通大学第二附属医院张晓彤教授

大会一角及分组讨论场景

