

宫颈腺癌和宫颈鳞癌中 HPV 型别感染及其与发病年龄的关系:一项来自多中心的研究

Distribution of HPV Genotype in Cervical Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma and Its Relationship with Age of Onset: A Multi-center Study
CUI Jian-feng, LIU Bin, CHEN Feng, et al.

崔剑峰, 刘彬, 陈凤, 慈璞娟, 刘新伏, 沈贵华, 张询, 陈汶
(中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所, 北京 100021)

摘要: [目的] 探讨宫颈鳞癌和宫颈腺癌中 HPV 型别感染及其与发病年龄的关系。[方法] 纳入来自一项多中心临床研究的宫颈腺癌标本 32 例和鳞癌标本 630 例。采用三明治技术进行蜡块切片、SPF10-PCR 技术进行 DNA 扩增, 使用反向杂交线型探针检测技术(LiPA)的方法进行 HPV 分型; 对所有切片进行病理阅片和诊断, 分析宫颈鳞癌和宫颈腺癌标本的 HPV 分布情况。[结果] 宫颈腺癌和宫颈鳞癌标本中, HPV 阳性率分别为 53.1%(17/32)和 97.6%(615/630)。宫颈腺癌和鳞癌中高危 HPV 型别的阳性率分别为 50.0%和 96.0%($P<0.001$), 低危 HPV 型别的阳性率分别为 3.1%和 1.7%($P=0.451$)。鳞癌和腺癌中 HPV-16、HPV-18 均为主要型别, HPV-16 在宫颈腺癌和鳞癌中的阳性率分别为 15.6%和 76.7%($P<0.001$), HPV-18 阳性率分别为 25.0%和 7.8%($P=0.002$)。感染 HPV-16 和 HPV-18 对宫颈鳞癌的发病年龄提前具有显著性意义 ($OR=0.33, 0.21, P$ 均 <0.001)。[结论] HPV-16 和 HPV-18 为宫颈鳞癌和腺癌中的主要 HPV 型别。鳞癌中 HPV-16 和 HPV-18 感染会导致患者的发病年龄提前。

关键词: 宫颈鳞癌; 宫颈腺癌; 人乳头状瘤病毒; 年龄

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2012)12-0951-05

浸润性宫颈癌是严重威胁妇女健康的疾病, 我国每年约有 75 000 的新发病例, 33 000 的死亡病例^[1], 约占世界总发病例数的 1/10。人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV) 是一种具有高度特异性的嗜黏膜和皮肤上皮型病毒, 已经鉴定出 200 多种型别^[2], 根据 HPV 致癌的危险性可以将 HPV 型别分为高危型(致癌型)和低危型(非致癌型)两大类。有足够的证据显示, HPV 是导致各种类型的宫颈癌的主要病因^[3]。虽然 HPV 感染为宫颈腺癌和宫颈鳞癌发生发展的必要条件, 但 HPV 的特异型别在两者中的分布是不同的, 导致不同的生物学机制从而对腺鳞癌分化造成差异。国外的数据显示, 高危型 HPV-16 和 HPV-18 是宫颈鳞癌和宫颈腺癌中的优势型别^[4,5]。也有研究显示 HPV-18 感染和腺癌更为相关^[6,7], 而 HPV-16 感染和鳞癌更为相关^[6]。此外, 有研究显示宫颈鳞癌中感染 HPV-16 和 HPV-18 的患者

的发病年龄较感染其他型别的患者的发病年龄偏小^[8-10]。我们前期研究显示 HPV 型别感染对腺癌的发病年龄有影响^[11]。

本文回顾性分析了一项全国性 HPV 流行情况多中心横断面研究的 662 例浸润性宫颈癌(invasive cervical cancer, ICC) 石蜡标本中的 32 例腺癌(adenocarcinoma, ADC)和 630 例鳞癌(squamous cell carcinoma, SCC)病例, 对 HPV 型别在中国人群宫颈腺癌和宫颈鳞癌中的分布及 HPV 型别感染对宫颈鳞癌和宫颈腺癌的发病年龄的影响进行分析。

1 材料与方法

1.1 研究人群和标本来源

中国医学科学院肿瘤医院研究所(CICAMS)和国内多家单位合作, 在中国进行一项以医院为基础的多中心研究“中国子宫颈癌 HPV 型别分布”。该研究是

收稿日期: 2012-05-16; 修回日期: 2012-10-19
通讯作者: 陈汶, E-mail: chenwen@cicams.ac.cn

一项通过CIN2+和 ICC 病例调查中国 HPV 流行情况和型别分布的多中心横断面流行病学研究^[14]。该研究覆盖了中国具有不同宫颈癌死亡率的 7 个大区(东北、华北、西北、华中、西南、华南和华东)、19 个人选的医疗中心,收集了 2004~2006 年间在当地医院诊断为 ICC 的病例,对符合纳入标准的标本进行随机抽样,使每个大区能获得不少于 100 例的 ICC 病例。所有病例均有经福尔马林固定、石蜡包埋的组织学标本、临床记录和病理诊断。

1.2 纳入排除标准

入组标准基于保证标本有代表性、组织足够大的原则,需符合以下标准:(1)≥18 岁女性,2004~2006 年间诊断为 ICC;(2)适合的蜡块(宫颈组织/切除标本),没有进行过放化疗;(3)组织形状规则,长度>2cm,宽度>2mm;(4)组织由福尔马林固定,石蜡包埋。

排除标准:蜡块太大(长径>2cm)或组织极度不规则;CICAMS 无法在蜡块中择出满意的部分进行组织学分析;蜡块质量不好,如断裂或较脏;蜡块不能够切片;蜡块中的宫颈组织标本太薄(<2mm);蜡块磨损过度,难以切割;用于 PCR 检测的前后两张 HE 染色的切片,组织学检查的病变诊断级别或类型不统一;取自宫颈癌化疗或放疗后病例的宫颈标本。

1.3 检测方法

在适宜无菌条件下,采用三明治技术进行蜡块切片,连续切片 8 张,中间 6 张切片中的 3 张用于 HPV DNA 提取及分析(另 3 张用于备份)。使用 SPF10-PCR 技术进行 DNA 扩增,以检测 HPV DNA,再利用 DNA 酶免疫测定法(DEIA)对扩增产物进行定性检测,该检测方法为 HPV 的定性检测。对 DEIA 检测结果阳性的 HPV 标本进行分型检测,使用特异性探针的反向杂交检测技术(LiPA),可以检测 25 种型别,包括 14 种高危型别(HPV-16,-18,-31,-33,-35,-39,-45,-51,-52,-56,-58,-59,-66 和-68)和 11 种低危型别(HPV-6,-11,-34,-40,-42,-43,-44,-53,-54,-70 和-74)。

1.4 病理诊断和质量控制

采用三明治技术连续切片得到的 8 张切片中,取第一张和最后一张进行 HE 染色和病理阅片,病理学家对 PCR 切片的前后 2 张 HE 染色切片进行诊断,确保 2 张切片的病变程度一致。每个蜡块的病

理诊断结果将与病变组织中检测到的 HPV 特异型别相链接。

质量控制方法:抽取两位中国病理学家诊断一致的片子的 10%,由国际病理学专家组进行重新阅片,以确认诊断。一旦结果有异,最终的诊断需要三位病理学专家形成统一意见。

1.5 伦理

本研究于项目启动前,获得中国癌症基金会伦理委员会的伦理学批准。

1.6 统计学分析

使用统计软件 R2.11.1,卡方检验使用 Epicalc 包。年龄差异等连续型变量比较使用 *t* 检验,若方差不齐则采用 *t'* 检验。分类变量使用卡方检验,若理论频数<5 则采用 Fisher 精确概率法进行校正。HPV 型别感染和年龄趋势的关系使用趋势性卡方检验分析,使用非条件 Logistic 回归方法分别计算 HPV 型别对发病年龄影响的风险^[15]。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

该研究共获得 630 例鳞癌标本和 32 例腺癌标本。鳞癌患者和腺癌患者的平均年龄分别为 45.40±10.31、47.38±11.75 岁,两组平均年龄无显著性差异(*t*=0.934,*P*=0.357)。

2.1 HPV 特异型别在宫颈腺癌和宫颈鳞癌中的分布

630 例鳞癌标本和 32 例腺癌标本中的 HPV 型别分布见表 1。630 例鳞癌标本中,HPV 阳性率为 97.6%(615/630)。615 例 HPV 阳性的鳞癌标本中,其中 605 例有 HPV 分型结果,10 例为 HPV 检测阳性但没有 HPV 分型结果。HPV 高危型别和低危型别阳性率分别为 96.0%(605/630)和 1.7%(11/630),其中所有的低危型别阳性均合并了高危型别感染。630 例鳞癌中 594 例为单一型别感染。

32 例腺癌标本中,HPV 阳性率为 53.1%(17/32),和鳞癌相比差异有统计学意义(*P*<0.001)。17 例 HPV 阳性的病例中,除 1 例没有分型结果外,其他 16 例均为高危型感染,其中 1 例(1/16)合并了低危型别的感染。32 例腺癌有 16 例为单一型别感染。

HPV-16 和 HPV-18 均为宫颈腺癌和宫颈鳞癌的主要感染型别,在腺癌和鳞癌中占第三位的型别

分别为 HPV-39(2/32,6.3%)和 HPV-31(20/630,3.2%)。在 32 例腺癌患者和 630 例鳞癌患者中,除 HPV 任意阳性率外,高危型别的 HPV、HPV-16、HPV-18、其他型别 HPV 的阳性率差异均有统计学意义(表 1),提示腺癌患者和鳞癌患者的 HPV 状况可能不同。

表 1 宫颈鳞癌和腺癌标本的 HPV 型别分布情况

型别分布	鳞癌(%)	腺癌(%)	χ^2	P 值
HPV 阳性				
任意阳性	615(97.6)	17(53.1)	139.35	<0.001
低危阳性	11(1.7)	1(3.1)	—	0.451*
高危阳性	605(96.0)	16(50.0)	111.07	<0.001
感染 HPV 型别				
HPV-16	483(76.7)	5(15.6)	58.56	<0.001
HPV-18	49(7.8)	8(25.0)	11.48	0.001
其他型别	86(13.7)	4(12.5)	—	1*

*: 使用 Fisher 精确概率法计算

2.2 HPV 型别在宫颈腺癌和鳞癌中的分布与年龄的关系

594 例单一 HPV 型别感染的鳞癌中,HPV-16 和 HPV-18 感染患者的平均年龄均显著性小于其他型别感染的患者(P 均<0.001)。16 例单一 HPV 型别感染的腺癌中,HPV-16 和 HPV-18 感染患者的平均年龄均小于其他型别感染的患者,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

鳞癌、腺癌中不同年龄组的各 HPV 型别阳性率见图 1、2。宫颈鳞癌中,HPV-16 阳性率基本上随年龄的增加而降低(趋势性 $\chi^2=13.337$, $P<0.001$);而在宫颈腺癌中,HPV-16 在 40~岁组较高,但没有明显的

表 2 宫颈鳞癌和腺癌中 HPV 型别感染患者年龄情况

感染型别	例数	年龄(岁)	t^*	P 值 [*]
鳞癌	594			
HPV-16	469	48.6±6.3	5.44	<0.001
HPV-18	43	40.7±5.6	3.97	<0.001
其他型别	82	55.3±23.2	—	—
腺癌	16			
HPV-16	5	44.5±9.9	0.5577	0.612 [§]
HPV-18	7	43.3±9.6	1.2467	0.297 [§]
其他型别	4	51.2±10.8	—	—

*: HPV-16 和 HPV-18 型别与其他型别比较;

§: 方差不齐,采用 t' 检验

年龄趋势关系($\chi^2=0.455$, $P=0.500$)。宫颈鳞癌中,HPV-18 阳性率在各个年龄组的变化不明显 ($\chi^2=1.382$, $P=0.240$);而在宫颈腺癌中,HPV-18 的阳性率在 30~岁组最高,之后随着年龄的升高而逐渐降低 ($\chi^2=4.2328$, $P=0.040$)。宫颈鳞癌中其他 HPV 型别阳性率随年龄的增加而升高($\chi^2=25.606$, $P<0.001$);而在宫颈腺癌中,其他 HPV 型别阳性率未见明显的年龄趋势关系($\chi^2=0.073$, $P=0.189$)。

鳞癌患者采用 50 岁为年龄组分界点,腺癌患者采用 45 岁为年龄组分界点,分析 HPV 型别感染与发病年龄(小年龄组与大年龄组)的关系。单因素分析结果显示,对于鳞癌患者,若感染 HPV-16,50 岁以上者患病的风险是 50 岁以下者患病风险的 0.54 倍。使用多因素分析进行调整后,HPV-16 和 HPV-18 均对宫颈鳞癌的早发病具有显著影响($P<0.001$)。见表 3。

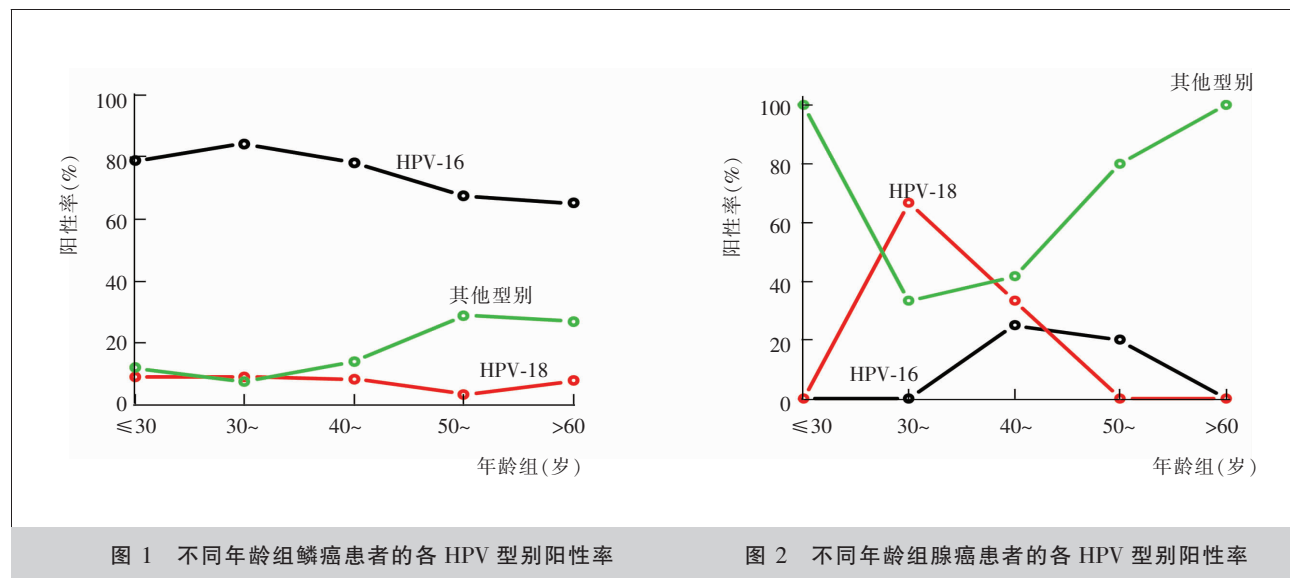


表 3 HPV 型别感染与发病年龄关系

HPV 感染	例数	小年龄组 (%)	粗 OR (95%CI)	P 值	调整 OR (95%CI)	P 值
鳞癌						
HPV16	469	329(70.15)	0.54(0.36~0.81)	0.003	0.33(0.21~0.54)	<0.001
HPV18	43	34(79.07)	0.52(0.24~1.11)	0.089	0.21(0.09~0.49)	<0.001
腺癌						
HPV16	5	2(40.00)	1.8(0.21~15.41)	0.592	0.50(0.03~8.95)	0.638
HPV18	7	5(71.43)	0.2(0.02~1.71)	0.142	0.13(0.01~2.18)	0.158

3 讨 论

本研究分析了 662 例宫颈癌患者标本的 HPV 型别分布,是分析宫颈癌标本 HPV 型别分布的样本量最多的研究之一。本研究纳入分析的宫颈腺癌和宫颈鳞癌标本均来自同一项研究,故可比性较好。此外,本研究的所有标本均有经严格确认的病理诊断,终点标准一致、可信度高。

本研究中,宫颈鳞癌和宫颈腺癌的比例达 19.7:1。在国外的报道中,鳞癌和腺癌的比例为 5.8(203/35)~9.1(912/100)^[8,16,17],国外的鳞癌和腺癌的比例明显低于国内报道的比例。一方面,国外报道的研究设计不尽相同,故可比性不佳;另一方面,因为在中国还缺乏大规模的宫颈癌筛查项目,而基于巴氏涂片等检查方法的筛查项目能更多的检出宫颈鳞癌^[18],所以该基于人群的多中心研究的腺鳞癌比例更接近自然状态;第三,本研究是一项基于医院的研究(hospital-based study),标本收集范围广,很多影响因素各地区间差异较大。在中国的另一项研究也报道了较高的腺鳞癌比例^[19],和我们研究的结论相一致。因此对于腺鳞癌的比例,需要进一步探讨。

本研究中,宫颈鳞癌和宫颈腺癌的总 HPV 阳性率分别为 97.6%和 53.1%。在一项西方国家人群的 meta 分析中,报道的 HPV 在宫颈鳞癌中阳性率为 87.3%,在宫颈腺癌中的阳性率为 76.4%^[20]。中国的其他研究中 HPV 在鳞癌中的阳性率达到了 80%以上,而在宫颈鳞癌中的阳性率有 60%~70%^[19,21]。相比之下,我们的研究结果鳞癌的 HPV 总阳性率偏高而腺癌的总阳性率偏低。

有研究显示 HPV-18 感染和腺癌更为相关^[6,7],而 HPV-16 感染和鳞癌更为相关^[6],但这些研究没有具体讨论 HPV 型别对鳞癌或腺癌发病年龄的影响。也有一些研究显示宫颈癌中感染 HPV-16 和 HPV-

18 患者的发病年龄偏小^[8-10],但均未指出病理分型中是否存在这样的关系。我们的研究结果显示,感染 HPV-16 和 HPV-18 的鳞癌患者较感染其他型别的鳞癌患者的发

病年龄小(尤其是 HPV-16 和 HPV-18 作为高危组一起观察时影响非常显著),而对于腺癌患者,感染 HPV-16 和 HPV-18 的患者的发病年龄较感染其他型别的腺癌患者发病年龄小,但结果不具有统计学意义。可能是由于腺癌患者的样本量小、腺癌患者的样本量较大(32 例 vs 630 例)导致的。对于 HPV-16 和 HPV-18 是否对腺癌发病的年轻化产生影响,需要扩大样本量进一步研究。

综上所述,HPV-16 和 HPV-18 均为宫颈鳞癌和宫颈腺癌中的主要分布型别。HPV-18 和/或 HPV-16 感染对宫颈鳞癌发病年龄趋于年轻有影响,HPV-18 对于腺癌发病年龄的影响需要进一步证实。我们建议,对于 HPV 检测阳性的妇女要进行密切随访观察,以预防发病年龄较早的宫颈鳞癌和宫颈腺癌。

参考文献:

- [1] Ferlay J,Shin H,Bray F,et al. GLOBOCAN 2008,cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No.10[EB/OL]. Lyon:International Agency for Research on Cancer,2010.
- [2] de Villiers EM,Fauquet C,Broker TR,et al. Classification of papillomaviruses[J]. Virology,2004,324(1):17-27.
- [3] IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Human Papillomavirus[M]. Volume 64.1995.64.
- [4] Altekruze SF,Lacey JJ,Brinton LA,et al. Comparison of human papillomavirus genotypes,sexual,and reproductive risk factors of cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma: Northeastern United States [J]. Am J Obstet Gynecol,2003,188(3):657-663.
- [5] Pirog EC,Kleter B,Olgac S,et al. Prevalence of human papillomavirus DNA in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma [J]. Am J Pathol,2000,157 (4): 1055-1062.
- [6] Altekruze SF,Lacey JJ,Brinton LA,et al. Comparison of human papillomavirus genotypes,sexual,and reproductive

- risk factors of cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma: Northeastern United States [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, 188(3):657-663.
- [7] de Cremoux P, de la Rochefordiere A, Savignoni A, et al. Different outcome of invasive cervical cancer associated with high-risk versus intermediate-risk HPV genotype [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(4):778-782.
- [8] Alemany L, Perez C, Tous S, et al. Human papillomavirus genotype distribution in cervical cancer cases in Spain. Implications for prevention [J]. *Gynecol Oncol*, 2012, 124(3):512-517.
- [9] de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(11):1048-1056.
- [10] Wheeler CM, Hunt WC, Joste NE, et al. Human papillomavirus genotype distributions: implications for vaccination and cancer screening in the United States [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101(7):475-487.
- [11] 崔剑峰, 刘彬, 慈璞娟, 等. 子宫颈腺癌石蜡包埋组织中人类乳头状瘤病毒型别分布及其与患者年龄的关系[J]. *肿瘤研究与临床*, 2011, 23(11):721-724.
- [12] Villa LL, Ault KA, Giuliano AR, et al. Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18 [J]. *Vaccine*, 2006, 24(27-28):5571-5583.
- [13] Nieminen P, Kallio M, Hakama M. The effect of mass screening on incidence and mortality of squamous and adenocarcinoma of cervix uteri [J]. *Obstet Gynecol*, 1995, 85(6):1017-1021.
- [14] Chen W, Zhang X, Molijn A, et al. Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: the importance of HPV 16 and 18 [J]. *Cancer Causes Control*, 2009, 20(9):1705-1713.
- [15] Lope V, Pérez-Gómez B, Sánchez-Contador C, et al. Obstetric history and mammographic density: a population-based cross-sectional study in Spain (DDM-Spain) [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 132(3):1137-1146.
- [16] Illades-Aguir B, Cortes-Malagon EM, Antonio-Vejar V, et al. Cervical carcinoma in Southern Mexico: Human papillomavirus and cofactors [J]. *Cancer Detect Prev*, 2009, 32(4):300-307.
- [17] International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Comparison of risk factors for invasive squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix: collaborative reanalysis of individual data on 8,097 women with squamous cell carcinoma and 1,374 women with adenocarcinoma from 12 epidemiological studies [J]. *Int J Cancer*, 2007, 120(4):885-891.
- [18] Kinney W, Fetterman B, Cox JT, et al. Characteristics of 44 cervical cancers diagnosed following Pap-negative, high risk HPV-positive screening in routine clinical practice [J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 121(2):309-313.
- [19] Lo KW, Wong YF, Chan MK, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a multicenter study in China [J]. *Int J Cancer*, 2002, 100(3):327-331.
- [20] Clifford GM, Smith JS, Plummer M, et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis [J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(1):63-73.
- [21] Li J, Zhang D, Zhang Y, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in women with cervical cancer or high-grade precancerous lesions in Chengdu, western China [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2011, 112(2):131-134.