

# 头颈部鳞癌患者 HPV DNA、E6/E7 mRNA 的分布及其在预后中的作用

李红乐<sup>1</sup>, 李俊<sup>1</sup>, 郭兰伟<sup>1</sup>, 殷玉林<sup>2</sup>, 陈海洋<sup>1</sup>, 李铁鹏<sup>1</sup>, 王子兵<sup>1</sup>

(1. 郑州大学附属肿瘤医院(河南省肿瘤医院), 河南 郑州 450008; 2. 国家癌症中心, 国家肿瘤临床医学研究中心, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院, 北京 100021)

**摘要:** [目的] 检测头颈部鳞癌组织标本人乳头瘤病毒 (HPV) DNA、E6/E7 mRNA 感染情况, 并分析 HPV 感染对预后的影响。[方法] 收集 2016—2018 年头颈部鳞癌手术标本 121 例, 采用 MassARRAY® HPV 基因分型技术和 RT-qPCR 方法分别进行 HPV DNA 和 HPV E6/E7 mRNA 检测, 比较不同肿瘤部位检出率差异。采用多因素 Cox 比例风险回归模型分析 HPV E6/E7 mRNA 对头颈部鳞癌预后的影响, 计算 HR 值及其 95% 可信区间。[结果] 121 例头颈部鳞癌患者 HPV 阳性率为 66.94% (81/121), 其中口腔癌阳性率为 70.37% (19/27), 喉癌为 65.79% (50/76), 口咽癌为 66.67% (12/18), HPV DNA 阳性率在不同肿瘤部位无统计学差异 ( $P>0.05$ )。HPV16 阳性率为 4.13% (5/121), HPV18 阳性率为 6.61% (8/121)。头颈部鳞癌 HPV E6/E7 mRNA 阳性率为 28.93% (35/121), HPV E6/E7 mRNA 阳性率在不同肿瘤部位中无统计学差异 ( $P>0.05$ )。多因素分析结果显示, 与 HPV E6/E7 mRNA 阴性组相比, HPV E6/E7 mRNA 阳性组预后较好 ( $HR=0.13$ , 95%CI: 0.04~0.46)。[结论] 头颈部鳞癌患者 HPV DNA 阳性率高, 但 HPV E6/E7 mRNA 阳性率明显降低。HPV 感染为头颈部鳞癌独立的预后因素。

**关键词:** 头颈部肿瘤; 人乳头瘤病毒; E6 和 E7 信使 RNA

**中图分类号:** R739.91 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2022)09-0747-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.09.B008

## Detection of Human Papilloma Virus DNA and E6/E7 mRNA in Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Their Relation with Prognosis

LI Hong-le<sup>1</sup>, LI Jun<sup>1</sup>, GUO Lan-wei<sup>1</sup>, YIN Yu-lin<sup>2</sup>, CHEN Hai-yang<sup>1</sup>, LI Tie-peng<sup>1</sup>, WANG Zi-bing<sup>1</sup>

(1. The Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University & Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, China; 2. National Cancer Center/National Clinical Research Center for Cancer/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

**Abstract:** [Objective] To detect human papilloma virus (HPV) DNA and E6/E7 mRNA in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), and their relation with the prognosis of patients. [Methods] Surgical specimens were collected from 121 patients with HNSCC from 2016 to 2018. The MassARRAY® HPV genotyping was used to detect HPV DNA and RT-qPCR was used to detect HPV E6/E7 mRNA, respectively. The detection rates of different cancer sites were compared. Multivariate Cox proportional hazards regression model was used to analyze the association of HPV E6/E7 mRNA expression with the prognosis of HNSCC patients, and the hazard ratio with 95% confidence interval were calculated. [Results] The overall positive rate of HPV DNA in 121 HNSCC patients was 66.94% (81/121), among which 70.37% (19/27) in oral cancer, 65.79% (50/76) in laryngeal cancer and 66.67% (12/18) in oropharyngeal cancer, the distribution was not statistical significance ( $P>0.05$ ). The positive rate of HPV16 and 18 was 4.13% (5/121) and 6.61% (8/121), respectively. The overall detection rate of HPV E6/E7 mRNA in HNSCC was 28.93% (35/121), among which 33.33% (9/27) in oral cancer, 26.32% (20/76) in laryngeal cancer and 33.33% (6/18) in oropharyngeal cancer, the distribution was not statistical significance ( $P>0.05$ ). Multivariate analysis showed that HNSCC patients with positive HPV E6/E7 mRNA had a better survival than those with negative HPV E6/E7 mRNA ( $HR=0.13$ , 95%CI: 0.04~0.46). [Conclusion] The positive rate of HPV DNA in HNSCC patients is high, while the positive rate of E6/E7 mRNA is decreased significantly. HPV infection is an independent prognostic factor for HNSCC.

**Subject words:** head and neck carcinoma; human papillomavirus; E6/E7 mRNA

**基金项目:** 河南省自然科学基金项目 (222300420574); 河南省科技攻关项目 (212102310738);

河南省医学科技攻关计划项目 (SBG202101008, RKX202002007)

**通信作者:** 李红乐, E-mail: llhl73@163.com

**收稿日期:** 2022-06-30; **修回日期:** 2022-09-01

头颈部肿瘤指位于口腔、咽(口咽、鼻咽和喉咽)和喉部的恶性肿瘤,约95%头颈部肿瘤为鳞癌,2020年约40万死亡病例归因于头颈部肿瘤<sup>[1]</sup>。除鼻咽癌与EB病毒感染密切相关外,其余鳞癌约70%由高危型人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染导致<sup>[2]</sup>,且此类亚型发病呈逐年增长趋势<sup>[3-7]</sup>。HPV感染不仅与头颈部肿瘤发病风险有关,还影响头颈部肿瘤患者对放疗的敏感性,HPV感染阳性者无进展生存期和总生存期均优于HPV阴性者<sup>[8-9]</sup>。目前常规的HPV检测手段主要是HPV DNA的检测,而HPV DNA阳性只能说明HPV感染宿主,不能表明HPV病毒基因是否已与宿主基因整合并发挥其功效。研究发现,通过检测HPV E6/E7 mRNA表达活性可以较好地反映HPV与宿主基因组整合及病毒活动情况<sup>[10]</sup>,即HPV E6/E7 mRNA阳性表明生物学活跃的HPV存在。但是,HPV E6/E7 mRNA表达与头颈部鳞癌预后相关研究较少<sup>[11]</sup>。2020年意大利的研究表明,HPV E6 mRNA阳性口咽癌患者无复发生存期显著高于阴性者,但由于样本量限制未能计算总生存期<sup>[8]</sup>。本研究收集头颈部鳞癌放疗患者新鲜组织标本,通过检测放疗前头颈部肿瘤组织中HPV DNA和HPV E6/E7 mRNA的表达情况,比较不同部位头颈部鳞癌患者HPV感染的差异,并对个体预后进行判断。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2016年1月至2018年12月郑州大学附属肿瘤医院和中国医学科学院肿瘤医院头颈外科就诊的头颈部鳞癌病例(包括口腔、口咽和喉咽部的肿瘤),对符合入选标准的研究对象均进行问卷调查,并收集新鲜的肿瘤组织以用于HPV DNA和HPV E6/E7 mRNA的检测。研究对象入选标准:①年龄在18岁以上。②有明确的组织学或细胞学诊断结果,形态学为鳞癌。下列原发性头颈部鳞癌被纳入该研究中(按国际疾病分类肿瘤学编码):C00唇;C01舌底;C02舌的其他部位;C03牙龈;C04口底;C05颚;C06口腔的其他部位;C09扁桃体;C10口咽;C12梨状;C13咽下部;C14唇、口腔、咽的其他部位;C32(包括所有的亚分类)。③确诊时间不超过6

个月,未经过放化疗或手术治疗。④签署知情同意书,同意问卷调查、采集用于本研究的肿瘤组织和接受研究时间内的随访。排除标准:①不符合上述任何入选条件之一者。②下列部位不包括在内:唾液腺(C07~08)、鼻咽(C11)、甲状腺(C73)和食管(C15)。③合并宫颈癌、HIV或其他性传播疾病等系统性疾病患者及器官移植术后或长期使用免疫抑制剂的患者。

本研究共纳入121例研究对象,平均年龄(58.53±10.35)岁。男性103例(85.12%)。超重41例(33.88%),肥胖11例(9.09%),吸烟58例(47.93%),饮酒60例(49.59%),饮茶45例(37.19%)。有肿瘤家族史22例(18.18%)。121例头颈部鳞癌患者中,口腔癌27例(22.31%),喉癌76例(62.81%),口咽癌18例(14.88%),I期~IV期分别为34例(28.10%)、19例(15.70%)、30例(24.79%)和34例(28.10%)。绝大多数没有进行化疗(84.30%)和靶向治疗(98.35%)(Table 1)。本研究经郑州大学附属肿瘤医院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 问卷调查

由调查员进行问卷调查,调查的问卷内容主要包括人口学信息(年龄、性别、民族、居住地、教育状况等)、吸烟史、环境吸烟暴露史、饮酒史、饮食习惯、各种疾病史、口腔卫生、性生活史等。体质指数(body mass index, BMI)=体重(kg)/身高(m)<sup>2</sup>。BMI根据卫生部发布的《中国成人超重和肥胖症预防与控制指南》<sup>[12]</sup>分成四类:低体重:BMI<18.5 kg/m<sup>2</sup>,正常体重:18.5~23.9 kg/m<sup>2</sup>,超重:24.0~27.9 kg/m<sup>2</sup>,肥胖:BMI≥28.0 kg/m<sup>2</sup>。吸烟者定义为调查对象每天主动地吸一支或一支以上购买的香烟/自己卷制的烟草制品,持续时间达半年或以上,不包括雪茄和咀嚼烟草制品;饮酒指每周至少3次,连续6个月以上;规律饮茶是指平均每周至少3次,连续6个月以上。

#### 1.2.2 组织标本的收集与保存

每个病例都收集新鲜的病理或手术标本,标本立即加入RNAlater,浸润完全并于20 min内冻存于-80℃冰箱中。

#### 1.2.3 实验室检测

采用MassARRAY® HPV基因分型技术进行HPV DNA检测。该技术同时检测24种HPV亚型,包括7个低危亚型(HPV 6、11、34、42、67、70和81)

**Table 1 Basic information and clinical pathological data of subjects**

| Variable                        | N   | Percent (%) | Variable                 | N   | Percent (%) |
|---------------------------------|-----|-------------|--------------------------|-----|-------------|
| Age (years old)                 |     |             | Site                     |     |             |
| <60                             | 55  | 45.45       | Oral cavity              | 27  | 22.31       |
| ≥60                             | 66  | 54.55       | Larynx                   | 76  | 62.81       |
| Gender                          |     |             | Oropharynx               | 18  | 14.88       |
| Male                            | 103 | 85.12       | T stage                  |     |             |
| Female                          | 18  | 14.88       | 1                        | 37  | 30.58       |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )        |     |             | 2                        | 23  | 19.01       |
| <18.5                           | 5   | 4.13        | 3                        | 39  | 32.23       |
| 18.5~23.9                       | 64  | 52.89       | 4                        | 18  | 14.88       |
| 24.0~27.9                       | 41  | 33.88       | NA                       | 4   | 3.31        |
| ≥28.0                           | 11  | 9.09        | N stage                  |     |             |
| Education                       |     |             | 0                        | 83  | 68.60       |
| Primary school or below         | 34  | 28.10       | 1                        | 16  | 13.22       |
| Junior/Senior high school       | 66  | 54.55       | 2                        | 17  | 14.05       |
| Undergraduate or over           | 21  | 17.36       | 3                        | 1   | 0.83        |
| Smoking                         |     |             | NA                       | 4   | 3.31        |
| Never                           | 29  | 23.97       | M stage                  |     |             |
| Current                         | 58  | 47.93       | 0                        | 117 | 96.69       |
| Former                          | 34  | 28.10       | 1                        | 0   | 0.00        |
| Alcohol drinking                |     |             | NA                       | 4   | 3.31        |
| Never                           | 44  | 36.36       | Clinical stage           |     |             |
| Current                         | 60  | 49.59       | I                        | 34  | 28.10       |
| Former                          | 17  | 14.05       | II                       | 19  | 15.70       |
| Tea drinking                    |     |             | III                      | 30  | 24.79       |
| No                              | 76  | 62.81       | IV                       | 34  | 28.10       |
| Yes                             | 45  | 37.19       | NA                       | 4   | 3.31        |
| Dietary preferences             |     |             | Chemotherapy             |     |             |
| Hot                             | 40  | 33.06       | No                       | 102 | 84.30       |
| Moderate                        | 74  | 61.16       | Yes                      | 19  | 15.70       |
| Cold                            | 7   | 5.79        | Targeted therapy         |     |             |
| Brushing frequency (times/week) |     |             | No                       | 119 | 98.35       |
| <7                              | 3   | 2.48        | Yes                      | 2   | 1.65        |
| 7                               | 83  | 68.60       | Family history of cancer |     |             |
| >7                              | 35  | 28.93       | No                       | 99  | 81.82       |
| Denture                         |     |             | Yes                      | 22  | 18.18       |
| No                              | 85  | 70.25       |                          |     |             |
| Yes                             | 36  | 29.75       |                          |     |             |

Notes: BMI:body mass index;NA: not available

和 17 个高危亚型(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73 和 82)。

采用 RT-qPCR 方法对 HPV E6/E7 mRNA 进行检测。该方法主要包括 mRNA 提取、反转录及荧光实时定量检测三个步骤。首先,在样品裂解或匀浆过程中加入 Trizol,在样品充分裂解释放 RNA 后,加入氯仿进行抽提,抽提后 RNA 存在于水相层。收集水相层后,利用异丙醇将 RNA 析出,从而获得总

RNA。然后,分离出的 mRNA 反转录成 cDNA。该方法通过向反转录体系中加入 poly(T)和随机引物,利用 MMLV 反转录酶,最大限度地将全部 RNA 反转录为 cDNA,以供后续荧光定量检测使用。最后,反转录产物用 SYBR Green I RT-qPCR 方法进行定量检测。通过目标 mRNA 与内参 RNA (β-actin)Ct 值的比较,利用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算目标 mRNA 的相对表达量。

#### 1.2.4 质量控制

在进行问卷调查前,负责人对每一位调查员进行培训,并对调查表格进行审核,发现逻辑错误、缺项等问题要查找原因并纠正。数据由调查员使用 Excel 2013 软件进行录入,并由另外一名调查员复核。实验室检测方法均制定详细的操作手册和质量控制方法;采用去 DNA 酶和 RNA 酶的一次性耗材(冻存管)进行标本采集和处理;在严格分区的 PCR 实验室进行核酸提取和扩增。

#### 1.2.5 随访

所有病例每年通过电话进行随访,记录生存情况以及肿瘤的进一步诊断、治疗和复发转移等情况。总生存期(overall survival,OS)为第一次放射治疗时间至死亡时间(死亡病例)或末次随访时间(未死亡者或失访者),截止时间至 2020 年 8 月 31 日。

#### 1.3 统计学处理

数据采用 SAS 9.4 软件进行核查和统计学分析。计量资料若满足正态分布,以均数±标准差表示;采用 Person  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确概率法比较不同部位 HPV DNA 和 E6/E7 mRNA 表达的差异;采用 Kaplan-Meier 法中的 Log-rank 检验比较 HPV DNA 阴性和阳性组、E6/E7 mRNA 阴性和阳性组生存曲线的差异;利用逐步回归的方法 ( $P_{entry}=0.05, P_{stay}=0.05$ ),将所有因素纳入 Cox 比例风险回归模型进行多因素分析,计算各因素的风险比(hazard ratio,HR)及其 95%可信区间

(confidence interval, CI)。显著性水平采用双侧  $\alpha=0.05$ 。  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同肿瘤部位患者 HPV DNA 阳性检出情况

121 例头颈部鳞癌中,高危型 HPV 仅检出 HPV 16、18、33、35、52、56 和 59 型别,阳性率为 66.94%,其中口腔癌高危型 HPV 阳性率最高,为 70.37%;喉癌阳性率最低为 65.79%。高危型 HPV 中,HPV16 阳性率为 4.13%,其中,口咽癌阳性率最高为 11.11%,喉癌阳性率最低为 1.32%;HPV18 阳性率为 6.61%,喉癌阳性率最高为 7.89%,口腔癌阳性率最低为 3.70%。低危型 HPV 仅检出 HPV 67,阳性率为 14.88%,其中口腔癌阳性率最高为 22.22%,喉癌阳性率最低为 11.84%(Table 2)。

### 2.2 不同肿瘤部位患者 HPV E6/E7 mRNA 检出情况

121 例头颈部鳞癌中,头颈部肿瘤 HPV E6/E7 mRNA 阳性率为 28.93%,其中口腔癌为 33.33%,喉癌为 26.32%,口咽癌为 33.33%,HPV E6/E7 mRNA 阳性率在不同部位中无统计学差异( $P>0.05$ )(Table 3)。

### 2.3 HPV E6/E7 mRNA 对头颈部肿瘤预后的影响

随访至 2020 年 8 月 31 日,共 39 例患者死亡,中位随访时间为 57(32~61)个月,中位生存时间为 65(36~NA)个月。

生存曲线结果显示,HPV E6/E7 mRNA 阳性组预后优于阴性组,两组生存曲线有统计学差异( $\chi^2=16.45$ ,  $P<0.001$ )(Figure 1)。在调整了年龄和临床分

期两个变量之后,与 HPV E6/E7 mRNA 阴性组相比较,HPV E6/E7 mRNA 阳性组预后较好(HR=0.13, 95%CI:0.04~0.46)(Table 4)。

## 3 讨论

HPV 感染是头颈部肿瘤主要的危险因素<sup>[13]</sup>。本研究通过 MassARRAY® HPV 基因分型技术检测 HPV DNA 并对其分型,同时采用 RT-qPCR 方法进行检测 HPV E6/E7 mRNA。研究结果显示,头颈部鳞癌患者 HPV DNA 阳性率高,HPV 感染的 E6/E7 mRNA 阳性率较低,E6/E7 mRNA 阳性头颈部鳞癌患者预后较好。

一项纳入 34 项研究 Meta 分析<sup>[14]</sup>结果显示,头颈部鳞癌 HPV 阳性率为 3.35%~84.00%,汇总后的阳性率为 22%(95%CI:21%~23%);HPV16 是最常见的类型,其常见亚型为 HPV18、33 型。针对中国人群的 Meta 分析结果显示,头颈部肿瘤 HPV16 感染率为 24.7%,其中口咽癌 HPV16 感染率最高为 31.6%,其次喉癌为 28.5%,最低为口腔癌的 14.9%;HPV18 感染率为 6.0%,其中喉癌 HPV18 感染率最高,为 31.2%;其次口腔癌为 7.2%,最低为口咽癌的 0.6%<sup>[15-16]</sup>。本研究结果 HPV DNA 阳性率为 66.94%,感染率最高的为 HPV 52 (65.29%)。作为高危型 HPV 的代表,HPV 16 感染率为 4.13%,远远低于中国人群汇总数据;HPV 18 感染率为 6.61%,与中国人群汇总数据相当。人种差异<sup>[17]</sup>、肿瘤亚部位差异<sup>[14-15]</sup>、HPV 检测类型不同<sup>[15,18]</sup>、检测方法<sup>[15,18]</sup>和组织类型<sup>[15]</sup>等可能是 HPV DNA 阳性率差别较大的主要原因。

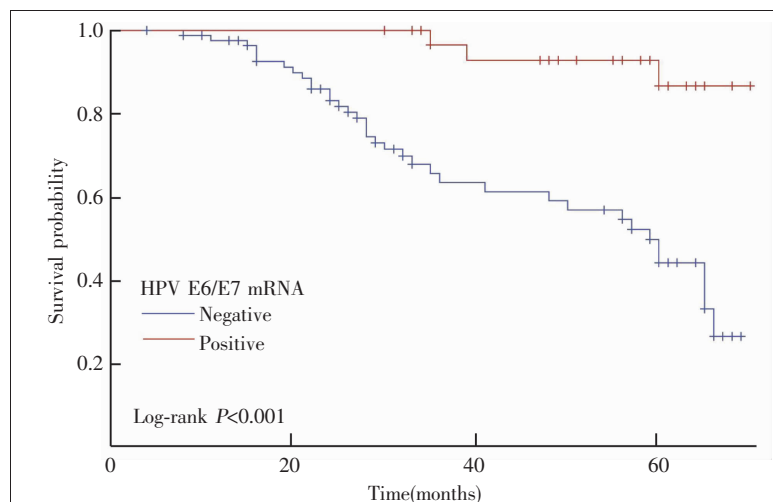
Table 2 HPV DNA positive rate with different cancer

| HPV type | Total    |                  | Oral cancer |                  | Laryngeal cancer |                  | Oropharyngeal cancer |                  | $\chi^2$ | P      |
|----------|----------|------------------|-------------|------------------|------------------|------------------|----------------------|------------------|----------|--------|
|          | Positive | Positive rate(%) | Positive    | Positive rate(%) | Positive         | Positive rate(%) | Positive             | Positive rate(%) |          |        |
| HR-HPV   | 81       | 66.94            | 19          | 70.37            | 50               | 65.79            | 12                   | 66.67            | 0.19     | 0.910  |
| HPV16    | 5        | 4.13             | 2           | 7.41             | 1                | 1.32             | 2                    | 11.11            | —        | 0.075* |
| HPV18    | 8        | 6.61             | 1           | 3.70             | 6                | 7.89             | 1                    | 5.56             | 0.60     | 0.739  |
| HPV33    | 57       | 47.11            | 13          | 48.15            | 37               | 48.68            | 7                    | 38.89            | 0.58     | 0.750  |
| HPV35    | 51       | 42.15            | 13          | 48.15            | 30               | 39.47            | 8                    | 44.44            | 0.66     | 0.719  |
| HPV52    | 79       | 65.29            | 19          | 70.37            | 49               | 64.47            | 11                   | 61.11            | 0.47     | 0.791  |
| HPV56    | 3        | 2.48             | 26          | 96.3             | 74               | 97.37            | 18                   | 100.00           | 0.63     | 0.729  |
| HPV59    | 75       | 61.98            | 18          | 66.67            | 47               | 61.84            | 10                   | 55.56            | 0.57     | 0.753  |
| LR-HPV   | 18       | 14.88            | 6           | 22.22            | 9                | 11.84            | 3                    | 16.67            | 1.75     | 0.417  |
| HPV67    | 18       | 14.88            | 6           | 22.22            | 9                | 11.84            | 3                    | 16.67            | 1.75     | 0.417  |
| Total    | 81       | 66.94            | 19          | 70.37            | 50               | 65.79            | 12                   | 66.67            | 0.19     | 0.910  |

Note: \*: Calculated by Fisher exact probability test

**Table 3 Positive HPV E6/E7 mRNA with different cancer sites**

| Cancer site          | Positive | Negative | Positive rate (%) | $\chi^2$ | P     |
|----------------------|----------|----------|-------------------|----------|-------|
| Oral cancer          | 9        | 18       | 33.33             | 0.68     | 0.713 |
| Laryngeal cancer     | 20       | 56       | 26.32             |          |       |
| Oropharyngeal cancer | 6        | 12       | 33.33             |          |       |
| Total                | 35       | 86       | 28.93             |          |       |



**Figure 1 Survival curve stratified by HPV E6/E7 mRNA**

**Table 4 Multivariable Cox regression analysis of HPV E6/E7 mRNA on survival**

| Variable       | B     | SE   | HR(95%CI)        | $\chi^2$ | P     |
|----------------|-------|------|------------------|----------|-------|
| Age(years old) |       |      |                  |          |       |
| <60            |       |      | 1.00             |          |       |
| ≥60            | 0.94  | 0.37 | 2.56(1.25~5.25)  | 6.54     | 0.011 |
| Clinical stage |       |      |                  |          |       |
| I              |       |      | 1.00             |          |       |
| II             | -0.62 | 0.55 | 0.54(0.18~1.58)  | 1.27     | 0.260 |
| III            | 0.25  | 0.53 | 1.28(0.45~3.62)  | 0.21     | 0.645 |
| IV             | 2.29  | 0.86 | 9.90(1.82~53.87) | 7.03     | 0.008 |
| HPV E6/E7 mRNA |       |      |                  |          |       |
| Positive       | -2.02 | 0.64 | 0.13(0.04~0.46)  | 10.00    | 0.002 |
| Negative       |       |      | 1.00             |          |       |

HPV 相关的生物标志物 E6/E7 mRNA 是致癌基因 E6/E7 表达的直接产物。最新研究<sup>[10]</sup>发现,通过检测 HPV E6/E7 mRNA 表达活性可以较好地反映 HPV 与宿主基因组整合及病毒活动情况,即 HPV E6/E7 mRNA 阳性表明生物学活跃的 HPV 存在。因此,将 HPV E6/E7 mRNA 作为头颈部肿瘤 HPV 感染阳性的证据,比 HPV DNA 检测更具特异性。本研究采用 RT-qPCR 方法检测 HPV E6/E7 mRNA,结果显示研究对象中 HPV E6/E7 mRNA 阳性率为 28.93%,远远低于 HPV DNA 的阳性率,稍低于中国人

群的一项汇总结果(35.8%<sup>[15]</sup>和 29.5%<sup>[16]</sup>),也低于国内使用 RNAscope 法检测石蜡包埋后肿瘤组织的一些研究<sup>[19]</sup>。

HPV 感染不仅与头颈部肿瘤发病风险有关,HPV 感染阳性者无进展生存期和总生存期均优于 HPV 阴性者<sup>[20]</sup>。HPV 阳性头颈部肿瘤患者预后较好的主要机制如下:①相对于 HPV 阴性肿瘤细胞 p53 基因异常而失去活性,HPV 阳性肿瘤细胞 p53 基因虽被 HPV E6 蛋白所抑制,但可能还是表达少量野生型 p53,从而使 TP53 介导的肿瘤细胞周期停滞和细胞凋亡在 HPV 阳性肿瘤患者放疗后发挥关键作用。②由于 HPV E7 对 Rb 的抑制导致 p16 过表达,使同源重组介导的 DNA 损伤修复旁路减少,从而抑制了双链 DNA 损伤修复能力而导致肿瘤细胞凋亡,使 HPV 阳性肿瘤细胞对放疗的敏感性较高。Fakhry 等<sup>[21]</sup>的一项研究表明,HPV 阳性者和阴性者对同步放化疗的敏感性分别为 84%和 57%,2 年无进展生存率分别为 86%和 53%,2 年总生存率分别为 95%和 62%。另外一项 Meta 分析结果显示<sup>[14]</sup>,HPV 阳性的头颈部鳞癌患者比阴性者总生存期长(HR=0.42,95%CI:0.27~0.56)。本研究将 HPV E6/E7 mRNA 作为 HPV 感染的证据,结果显示 HPV E6/E7 mRNA 阳性头颈部鳞癌患者发生死亡的风险是阴性者的 13%,是预测头颈部鳞癌独立的预后因素。

综上所述,本研究发现头颈部鳞癌患者 HPV 感染率较高,将 HPV E6/E7 基因产物作为头颈部肿瘤 HPV 感染阳性的证据,可能比 HPV DNA 检测更具特异性,但仍需进一步验证。

## 参考文献:

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.

- [2] Skeate JG, Woodham AW, Einstein MH, et al. Current therapeutic vaccination and immunotherapy strategies for HPV-related diseases [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2016, 12(6):1418–1429.
- [3] 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.
- [4] Hammarstedt L, Dahlstrand H, Lindquist D, et al. The incidence of tonsillar cancer in sweden is increasing[J]. *Acta Otolaryngol*, 2007, 127(9):988–992.
- [5] Braakhuis BJ, Visser O, Leemans CR. Oral and oropharyngeal cancer in the netherlands between 1989 and 2006: increasing incidence, but not in young adults [J]. *Oral Oncol*, 2009, 45(9):e85–e89.
- [6] Conway DI, Stockton DL, Warnakulasuriya KA, et al. Incidence of oral and oropharyngeal cancer in united kingdom (1990–1999) -- recent trends and regional variation[J]. *Oral Oncol*, 2006, 42(6):586–592.
- [7] Robinson KL, Macfarlane GJ. Oropharyngeal cancer incidence and mortality in scotland: are rates still increasing? [J]. *Oral Oncol*, 2003, 39(1):31–36.
- [8] Tagliabue M, Mena M, Maffini F, et al. Role of human papillomavirus infection in head and neck cancer in Italy: the HPV-ahead study[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(12):3567.
- [9] 杨苏梅, 吴蒙, 韩凤艳, 等. 49 例口咽鳞癌与高危型 HPV 感染的关联分析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2020, 27(21): 1710–1717.  
Yang SM, Wu M, Han FY, et al. Correlation analysis of 49 cases of oropharyngeal squamous cell carcinoma and high-risk HPV infection[J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2020, 27(21): 1710–1717.
- [10] Schwartz S. Papillomavirus transcripts and posttranscriptional regulation[J]. *Virology*, 2013, 445(1–2): 187–196.
- [11] Simoens C, Gorbashlieva I, Gheit T, et al. HPV DNA genotyping, HPV E6 mRNA detection, and p16 (ink4a)/Ki-67 staining in belgian head and neck cancer patient specimens, collected within the hpv-ahead study[J]. *Cancer Epidemiol*, 2021, 72:101925.
- [12] 陈春明, 孔灵芝. 中国成人超重和肥胖症预防控制指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1–39.
- Chen CM, Kong LZ. Guidelines for prevention and control of overweight and obesity in Chinese adults [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2006: 1–39.
- [13] 吴俊福, 周佳青. HPV 与头颈部肿瘤的关系[J]. *现代肿瘤医学*, 2011, 19(10):2135–2138.  
Wu JF, Zhou JQ. Correlation of HPV and head and neck cancer[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2011, 19(10): 2135–2138.
- [14] Dayyani F, Etzel CJ, Liu M, et al. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus(HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC)[J]. *Head Neck Oncol*, 2010, 2:15.
- [15] Guo L, Yang F, Yin Y, et al. Prevalence of human papillomavirus type-16 in head and neck cancer among the Chinese population: a meta-analysis[J]. *Front Oncol*, 2018, 8:619.
- [16] Yang F, Yin Y, Li P, et al. Prevalence of human papillomavirus type-18 in head and neck cancer among the Chinese population: a prisma-compliant meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(8):e14551.
- [17] Mainguené J, Vacher S, Kamal M, et al. Human papilloma virus integration sites and genomic signatures in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Mol Oncol*, 2022, 16(16): 3001–3016.
- [18] Mulder FJ, Pierssens D, Baijens LWJ, et al. Evidence for different molecular parameters in head and neck squamous cell carcinoma of nonsmokers and nondrinkers: systematic review and meta-analysis on HPV, p16, and p53 [J]. *Head Neck*, 2021, 43(1):303–322.
- [19] 赵艺晔, 白玉萍, 毛美玲, 等. 口咽部人乳头状瘤病毒阳性鳞状细胞癌临床病理学观察[J]. *中华病理学杂志*, 2019, 48(2): 127–131.  
Zhao YY, Bai YP, Mao ML, et al. Clinicopathological characteristics of HPV+ oropharyngeal squamous cell carcinoma[J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2019, 48(2):127–131.
- [20] Marur S, D'Souza G, Westra WH, et al. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(8):781–789.
- [21] Fakhry C, Westra WH, Li S, et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100(4):261–269.