

维、汉族 HPV 阳性妇女宫颈脱落细胞中 L1 蛋白的表达差异研究

亚力坤·穆罕默德¹, 赵丽霞², 朱开春², 玛依努尔·尼亚孜²

(1.新疆医科大学, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2.新疆维吾尔自治区人民医院, 新疆 乌鲁木齐 830002)

摘要: [目的] 探讨人乳头状瘤病毒(HPV) L1 壳蛋白在维、汉族 HPV 阳性宫颈不同病变脱落细胞中的表达。[方法] 收集宫颈脱落细胞标本 300 例, 维吾尔族妇女 129 例: 慢性宫颈炎 64 例(49%), CIN1 24 例(19%), CIN2/3 26 例(20%), 宫颈癌 15 例(12%); 汉族妇女 171 例: 慢性宫颈炎 83 例(48%), CIN1 39 例(23%), CIN2/3 39 例(23%), 宫颈癌 10 例(6%)。采用免疫细胞化学法检测 HPV L1 壳蛋白在宫颈脱落细胞中的表达。[结果] 维吾尔族妇女 L1 的表达阳性率为: 慢性宫颈炎 31%(20/64), CIN1 63%(15/24), CIN2/3 27%(7/26), 宫颈癌中无表达, 各组间比较差异有统计学意义($\chi^2=17.466, P=0.01$), 且随病变程度加重(CIN 到宫颈癌), HPV L1 壳蛋白阳性表达率呈下降趋势。汉族妇女 L1 蛋白表达阳性率: 慢性宫颈炎 39%(32/83), CIN1 59%(23/39), CIN2/3 26%(10/39), 宫颈癌中无表达。维吾尔族妇女与汉族妇女同级别宫颈病变间 L1 表达率差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。[结论] HPV L1 壳蛋白在宫颈病变中的阳性表达率随着病变程度加重呈下降趋势(CIN 到宫颈癌), 有望成为预测宫颈癌前病变进展的生物标志物。HPV L1 壳蛋白在维、汉族同级别宫颈病变间的表达无差异。

关键词: HPV; HPV L1 壳蛋白; 液基细胞学; 维吾尔族; 汉族

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2013)10-841-04

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2013.10.A017

Expression of L1 Capsid Protein in Cervical Cells of HPV-Positive Uygur Women and Han Women

YALIKUN Mu Han Mo-de¹, ZHAO Li-xia², ZHU Kai-chun², et al.

(1.Xinjiang Medical University, Urumuqi 830011;

2.People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumuqi 830002)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of HPV L1 capsid protein in cervical cells of HPV-positive Uygur women and Han women. [Methods] Cervical cells specimens from 300 women were enrolled, including Uygur women 129 cases [chronic cervicitis 64 cases (49%); CIN1 24 cases (19%); CIN2/3 26 cases (20%) and cervical cancer 15 cases (12%)], and Han women 171 cases [chronic cervicitis 83 cases (48%), CIN1 39 cases (23%), CIN2/3 39 cases (23%) and cervical cancer 10 cases (6%)]. The expression of HPV L1 capsid protein in cervical exfoliated cells were detected by immunocytochemical method. [Results] The positive rate of HPV L1 capsid protein in Uygur women was 31% (20/64) with chronic cervicitis; 63% (15/24), CIN1; 27% (7/26), CIN2/3 and negative expression with cervical cancer, with significant difference ($\chi^2=17.446, P=0.01$). The positive rate of HPV L1 capsid protein was reduced with the lesion progression from CIN to cancer. The positive rate of HPV L1 capsid protein in Han women was 39% (32/83) with chronic cervicitis; 59% (23/39), CIN1; 26% (10/39), CIN2/3 and negative expression with cervical cancer. In the same level of cervical lesions, there were no significant difference between Uygur women and Han women (all $P>0.05$). [Conclusion] The positive rate of HPV L1 capsid protein decreases with the lesion progression from CIN to cervical cancer, it is expected to become biomarkers to predict the progression of cervical lesion. There are no significant differences of positive rate of HPV L1 protein between Uygur women and Han women with the same level of cervical lesions.

Key words: HPV; HPV L1 capsid protein; liquid-based cytology; Uighur; Han

宫颈癌是全球女性的第二位常见癌症, 每年约

有 49.3 万新发病例, 约有 27 万妇女死于宫颈癌^[1]。

收稿日期: 2013-03-27; 修回日期: 2013-06-03

基金项目: 国家自然科学基金(81160317)

通讯作者: 玛依努尔·尼亚孜, E-mail: mynr68@yahoo.com.cn

人类乳头状瘤病毒(HPV)是与宫颈癌及其癌前病变(宫颈上皮内瘤变(CIN))有关的病原体, 目前在

99.7%的宫颈癌可检测出 HPV DNA^[2]。研究表明 HPV L1 蛋白表达在 HPV 病毒被清除,癌前病变消退及进展中有重要作用。HPV 病毒晚期基因区可以编码主要(L1)和次要(L2)衣壳蛋白。HPV 衣壳的主要衣壳蛋白 L1 是病毒颗粒重要组成部分,分子量较大,占病毒表面的 90%,高度保守,为各型 HPV 病毒的特异性蛋白抗原,不仅可以自我组装形成具有良好抗原性和免疫原性的病毒样颗粒(virus-like particle, VLP),而且具有 T 细胞和 B 细胞免疫识别表位,是研制 HPV 预防性疫苗的重要靶抗原之一。

我们检测维吾尔族慢性宫颈炎、各级别宫颈癌前病变及宫颈癌妇女液基细胞学涂片中的 HPV L1 蛋白,比较各组之间差异情况;同时与汉族妇女的检测结果比较,分析两个民族之间 HPV L1 壳蛋白的表达差异。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2012 年 1~11 月来我院行 HC-2 检查结果为阳性,同时行液基薄层细胞学检查的住院患者和门诊就诊妇女,剔除宫颈病变及宫颈癌治疗后常规复查 HPV 及细胞学者。最终入组维吾尔族妇女 129 例,汉族妇女 171 例。均进一步行阴道镜检查并行宫颈活检明确病理诊断。病理诊断结果:维吾尔族妇女:慢性宫颈炎 64 例(49%),CIN1 24 例(19%),CIN2/3 26 例(20%),宫颈癌 15 例(12%);汉族妇女:慢性宫颈炎 83 例(48%),CIN1 39 例(23%),CIN2/3 39 例(23%),宫颈癌 10 例(6%)。

1.2 细胞学检查

液基细胞学检查及诊断标准采用薄层液基细胞(ThinPrep Cytology Test, TCT)检测系统进行宫颈细胞学检查,由经过系统培训的病理科医生完成阅片工作。细胞病理学诊断方法采用国际癌症协会(National Cancer Institute, NCI)推荐的 TBS (the-Bethesda System)(2001)分类标准。

1.3 HC-2 HPV 病毒检测

采用美国 DIGEN 公司提供的专用 HC-2, HPV DNA 检测试剂盒检测样本中 13 种 HPV(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 68)的 DNA 含量,单位为 RLU/CO。

1.4 阴道镜检查及宫颈活检

阴道镜设备为深圳金科威实业有限公司生产的 SLC2000 电子阴道镜,由专科医生对可疑病灶阴道镜下定位活检,病理医生作出最后诊断。诊断分为慢性宫颈炎、低度癌前病变(CIN1)、高度癌前病变(CIN2/3)及宫颈癌。

1.5 HPV L1 壳蛋白检测

使用已经加盖盖玻片的细胞涂片,将玻片在二甲苯溶液内浸泡(1~2h)直至可以取下盖玻片而不至于造成涂层破损为止。脱蜡和水化:将玻片在不同浓度的酒精(96%, 75%, 50%)和蒸馏水-1 缸中各浸泡 2min 重新润湿玻片。用 CytoReact 赛泰®—细胞/组织人乳头瘤病毒(Broad Spectrum HPV L1)染色试剂盒,严格按照试剂盒说明书实验步骤进行操作。赛泰®—细胞/组织广谱 HPV L1 染色试剂能够识别宫颈细胞涂片或组织切片上的包括 6, 11, 16, 18, 31 和 45 型在内的 28 型宫颈癌相关 HPV 病毒亚型 HPV L1 壳蛋白。

1.6 结果判定

L1 为核蛋白质,所以只有细胞核呈红色染色才是特异性阳性染色,其它部位的红染均为非特异性染色。仅有一个被红染的病变细胞的胞核即可诊断为 L1 蛋白阳性^[3]。

1.7 统计学处理

应用 SPSS13.0 软件包,率的比较采用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

维吾尔族妇女 L1 表达阳性率:慢性宫颈炎 31%(20/64), CIN1 63%(15/24), CIN2/3 27%(7/26), 宫颈癌无表达;不同级别病变间比较差异有统计学意义($\chi^2=17.466, P=0.01$)。汉族妇女 L1 壳蛋白表达阳性率:慢性宫颈炎 39%(32/83), CIN1 59%(23/39), CIN2/3 26%(10/39), 宫颈癌无表达;比较差异有统计学意义($\chi^2=15.949, P=0.01$)。结果显示,在 CIN1 中 HPV L1 壳蛋白阳性表达率最高,在维吾尔族妇女和汉族妇女中分别为 63%和 59%(Figure 1),与其它病变组比较均明显高。提示 HPV L1 在低级别宫颈上皮内瘤变组高表达,而在慢性宫颈炎、高级别宫颈病变中低表达,而在宫颈癌中无表达。

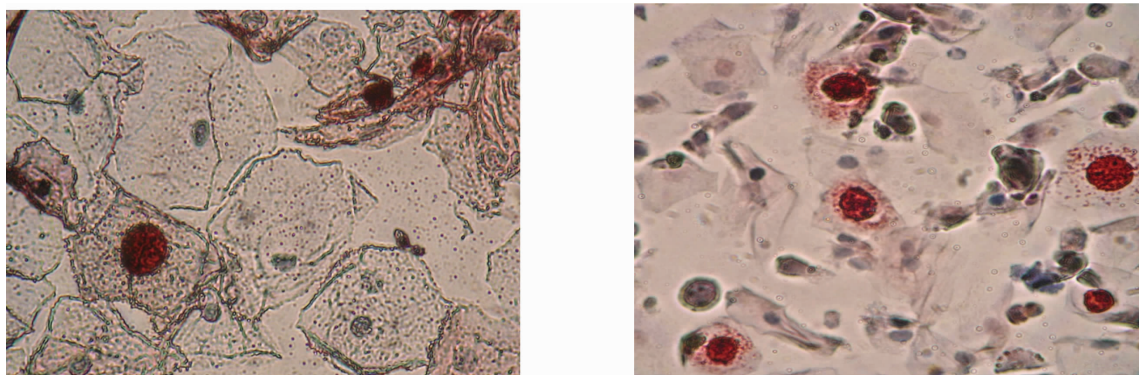


Figure 1 Nuclear expression of HPV L1 protein in ThinPrep smears(CIN1,Immunohistochemical×400)

两个民族同级别病变间 HPV L1 阳性表达率比较差异均无统计学意义($P>0.05$),说明维、汉族妇女同级别宫颈病变中 HPV L1 蛋白表达无显著性差异(Table 1)。

Table 1 HPV L1 protein expression in different cervix lesion

Pathological	Uighur		Han		χ^2^*	P^*
	-(%)	+(%)	-(%)	+(%)		
Cervicitis	44(69)	20(31)	51(61)	32(39)	0.843	0.358
CIN1	9(37)	15(63)	16(41)	23(59)	0.077	0.781
CIN2/3	19(73)	7(27)	29(74)	10(26)	0.013	0.908
Cervical cancer	15(100)	0(0)	10(100)	0(0)	—	—
Total	87	42	106	65	—	—

Note*:Uighur campared with Han

3 讨 论

我国每年宫颈癌新发病例约 13 万,死于宫颈癌的患者约 5 万^[4]。新疆是我国宫颈癌高发区之一,南疆维吾尔族妇女宫颈癌患病率及死亡率较高,病死率在全国少数民族中居第一位^[5]。玛依努尔·尼牙孜等^[6]新疆维吾尔族女性 HPV 感染与宫颈癌相关性的流行病学调查研究显示:新疆维吾尔族女性高危型 HPV 感染率为 7.25%,HPV 感染率明显低于我国汉族女性平均感染率。

HPV L1 壳蛋白是新近发现的一种可以预测宫颈 CIN 进展的分子标志物。HPV 病毒完整的生命周期依赖于宿主细胞的正常分化。HPV 病毒一般感染有增殖能力的表皮或黏膜上皮细胞,病毒生长周期与感染细胞分化周期一致。随着基底干细胞向表皮细胞分化,病毒依次进行早期蛋白表达、DNA 复制、晚期蛋白表达及病毒颗粒装配,最后 L1 壳蛋白包裹病毒的遗传物质形成病毒颗粒从表层鳞状上皮释放。HPV L1 壳蛋白只表达在复制过程中的病毒颗粒上,在病毒整合到宿主 DNA 以后逐渐消失,故 HPV L1 壳蛋白仅能在病毒复制阶段被检出。HPV

L1 壳蛋白也是细胞免疫的主要靶抗原,HPV L1 的表达显示患者免疫系统被激活,绝大多数 CIN 自愈可能与 HVP L1 的激活有关,其在转录早期阶段的丢失可能导致免疫系统的无效刺激,减少细胞免疫反应,从而促进未成熟上皮细胞的进一步转变。大量研究表明,在 CIN 患者的细胞或组织中,随着 CIN 级别的增加或病变的加重,HPV L1 壳蛋白的表达依次降低,而在宫颈鳞癌组织或细胞中 HPV L1 壳蛋白呈阴性表达^[7-9]。L1 壳蛋白表达,可预测癌前病变进展或逆转等行为,国外 Yoshida 等^[7],Raubert 等^[10],Snje'ana 等^[11],国内肖巍等^[12]的研究结果均显示:癌前病变中 HPV L1 阴性患者疾病进展率较阳性者明显增加。说明 HPV L1 壳蛋白在癌前期病变中是否表达在 CIN 向宫颈癌发展中有重要作用。

本研究采用免疫细胞化学法检测液基薄层涂片中的 L1 壳蛋白,维吾尔族妇女 L1 壳蛋白的表达阳性率为:慢性宫颈炎 31%,CIN1 63%,CIN2/3 27%,宫颈癌无表达。维吾尔族妇女各级别宫颈病变 HPV L1 壳蛋白阳性表达率差异有统计学意义($P<0.05$),

即随组织病理学病变程度加重,HPV L1 壳蛋白阳性表达率呈下降趋势。结果与黄斌等^[8]的研究结果相一致。说明维吾尔族妇女宫颈病变组织中 L1 壳蛋白缺失,可能导致宫颈病变进展。L1 壳蛋白阴性表示病毒 DNA 存在两种状态:一种是病毒 DNA 整合到宿主 DNA 上,使细胞发生了恶性转化;另一种是潜伏感染与低度或无病毒复制。本研究中维吾尔族慢性宫颈炎妇女 L1 的表达阳性率为 31%, 该类人群可能有 HPV 感染,但因病毒未大量繁殖,多数检测不出 L1 壳蛋白,还未引起细胞的改变。而在 CIN1 中表达阳性率高达 63%, 说明病毒大量繁殖,但是仅引起宫颈上皮细胞轻度改变。而在 CIN2/3 中低表达,宫颈癌中无表达,可能是因为 HPV L1 壳蛋白的转录、翻译受分化程度高的中层、表层细胞的翻译调控因子调控,而高度鳞状上皮内病变、鳞癌时分化不成熟的宫颈上皮细胞占大多数,使得 HPV L1 壳蛋白的表达减少^[7],此时机体无法识别清除病变的细胞,最终引起细胞的恶性增殖而诱发癌变。

维吾尔族妇女 HPV 感染率低,然而宫颈癌患病率及死亡率高。本研究选择同期住院的汉族宫颈病变患者为对照,比较不同民族间 L1 壳蛋白表达差异。结果显示维吾尔族和汉族妇女同级别宫颈病变间 HPV L1 蛋白表达差异均无统计学意义($P>0.05$)。说明 L1 衣壳蛋白在不同民族间同级别宫颈病变中的表达无差异。提示维吾尔族宫颈癌高发病率,可能存在与汉族妇女不同的其它因素。

L1 壳蛋白的表达在维吾尔族 HPV 感染妇女随着病变程度加重表达降低,与多数研究结果相符,可作为预测癌前病变的生物标志物。与汉族同级别宫颈病变比较表达无差异,提示维吾尔族妇女低 HPV 病毒感染,而出现高宫颈癌患病率及死亡率现象中,可能有不同于汉族的其他宫颈癌危险因素与高危性 HPV 感染协同的作用。

参考文献:

- [1] Dilixia·SSMY,Zhang WJ. Analysis of risk factors of cervical cancer [J].Chin J Women Child Health,2012,3(2): 99-102.[地力下·司马义,张文杰. 宫颈癌危险因素现状分析[J]. 中国妇幼卫生杂志,2012,3(2):99-102.]
- [2] Walboomers JM,Jacobs MV,Manos MM,et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide[J]. J Pathol,1999,189(1):12-19.
- [3] Sarmadi S,Izadi-mood N,Pourlashkari M,et al. HPV L1

capsid protein expression in squamous intraepithelial lesions of cervix uteri and its relevance to disease outcome [J]. Arch Gynecol Obstet ,2012,285(3):779-784.

- [4] Ma S,An L. Study on the mortality trend of female cervical cancer from 1996 to 2005 in China [J]. Modern Preventive Medicine,2009,36(1):47-50.[马松,安琳. 1996-2005 年中国女性宫颈癌死亡水平研究 [J]. 现代预防医学. 2009,36(1):47-50.]
- [5] Lalai·SZK,Peng YH,Zhou K,et al. The analysis of pathogenetic tendency of cervical cancer in various ethnic women in Xinjiang [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2006,29 (7):569-571.[拉莱·苏祖克,彭玉华,周康,等. 新疆不同民族子宫颈癌发病趋势分析[J].新疆医科大学学报,2006,29 (7):569-571.]
- [6] MAYINEUR·Niyazi,Li L,Qiao YL,et al. Epidemiological survey of the relationship between HPV and cervical cancer in Xinjiang Uygur women[J]. Chinese Clinical Oncology, 2011,16(4):322-325.[玛依努尔·尼亚孜,李丽,乔友林,等. 新疆维吾尔族女性人乳头瘤病毒感染与宫颈癌相关性的流行病学调查 [J]. 临床肿瘤学杂志,2011,16 (4):322-325.]
- [7] Yoshida T,Sano T,Kanuma T,et al.Immunohistochemical analysis of HPV L1 capsid protein and p16 protein in liquid-based cytology samples from uterine cervical lesions [J]. Cancer,2008,114(2):83-88.
- [8] Huang B ,Li RZ,Liu ZH,et al. Expression of human papillomavirus L1 capsid protein in cytologic specimens of cervix [J]. Acta Medicinæ Universitatis Et Technologiæ Huazhong,2009,38(6): 824-828.[黄斌,李瑞珍,刘志红,等.HPV L1 壳蛋白在宫颈脱落细胞中的表达及临床意义[J].华中科技大学学报(医学版),2009,38(6):824-828.]
- [9] Zhang JL,Gao HY,Zhang JY. HPV L1 capsid protein expression and its significance in cervical cytology [J].J Diag Pathol,2010,17(6): 456-459.[张佳立,郜红艺,张江宁,等. 宫颈液基细胞 HPV L1 壳蛋白表达的临床意义[J]. 诊断病理学杂志,2010,17(6): 456-459.]
- [10] Rauber D,Mehlhom G,Fasching P A,et al. Prognostic significance of the detection of human papilloma virus L1 protein in smears of mild to moderate cervical intraepithelial lesions[J].Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol,2008, 140(2): 258-262.
- [11] Stemberger-Papic S,Vrdoljak-Mazetic D,OStojic DV,et al. Evaluation of the HPV L1 capsid protein in prognosis of mild and moderate dysplasia of the cervix uteri [J]. Coll Antropol,2010,34(2): 419-423.
- [12] Xiao W,Bian ML,Ma L,et al. Detection of human papilloma virus L1 capsid protein expression in liquid-based cytology samples with abnormal cytology [J].Chin J Obstet Gynecol ,2009,44(12): 887-891.[肖巍,卜美璐,马莉,等. 子宫颈液基细胞学检查异常的涂片中乳头状瘤病毒 L1 蛋白的表达其意义 [J]. 中华妇产科杂志,2009,44(12): 887-891.]