

• 综 述 •

人乳头瘤病毒感染与宫颈病变关系研究进展

黄珍花¹综述, 陆小婵²审校

(1. 广西壮族自治区百色市右江区人民医院检验科 533000, 2. 右江民族医学院附属医院检验科, 广西壮族自治区百色市 533000)

关键词: 宫颈肿瘤; 研究; 宫颈疾病**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.02.039**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2011)02-0221-03

人乳头瘤病毒(HPV)感染与宫颈癌的发生密切相关,是诱发宫颈癌的原因之一。本文结合最新研究成果对 HPV 感染与宫颈病变关系的研究进展进行综述。

1 HPV 结构与分型

在几乎所有宫颈鳞癌和超过 70% 宫颈腺癌患者均可检出 HPV^[1]。目前已发现 130 余种 HPV 亚型,约 40 种与生殖系统感染有关,其中有 30 余种可从宫颈癌组织中检出^[2]。

HPV 是小双链病毒,属乳多空病毒科,约有 7900 个核苷酸,由 3 个基因区组成,即早期区(E 区)、晚期区(L 区)和非编码区(UCR)。E 区编码与病毒复制、转录调控和细胞转化相关蛋白(E5、E6 和 E7);L 区编码结构蛋白(主要衣壳蛋白 L1 和次要衣壳蛋白 L2)。引起女性生殖器病变的 HPV 分低危型和高危型,常见低危型有 HPV6、11、40、42、43、44、54、61、70、72、81、CP6108;高危型有 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、59、68、73、82。在高度恶变和浸润癌中,HPV16、18、31、33 和 35 检出率最高;以核酸杂交法检测宫颈癌组织,HPV16 型阳性率为 36%~64%。在低危病变和良性湿疣中,HPV6、11 检出率较高。

2 HPV 导致细胞恶性转化的机制

HPV 的 E6 和 E7 蛋白具有病毒癌基因功能,与细胞转化和肿瘤发生关系密切。E6 和 E7 蛋白分别与抑癌性 P53 和 p110RB 蛋白结合,使 P53 和 p100RB 蛋白失活,破坏细胞增殖周期检测点,干扰抑癌蛋白抑制细胞分裂和增殖的功能,最终导致 HPV 感染细胞持续恶性增殖。E6、E7 蛋白不仅与上皮细胞恶性转化有关,对肿瘤恶性表型的维持也起着最重要作用^[3]。司马妮等^[4]的体外试验表明 E6、E7 不仅可以转化人上皮细胞,在阻断 E6、E7 的情况下,高危型 HPV 阳性的宫颈癌细胞株的恶性表型能够被逆转。Kang 等^[5]的研究则证实,HPV 16 所表达的 E6、E7 能下调干扰素(IFN)的表达、促进野生型白介素(IL)-18 的表达,为病毒持续复制和恶变细胞逃避免疫监视提供了基础,从而使微小病变得以逐步积累,以致诱发宫颈癌。HPV 的复制周期受细胞分化状态限制,病毒 DNA 在人皮肤基底层细胞呈静息状态,随着基底层细胞向表皮层分化,HPV 开始在棘细胞内复制并表达 E 区基因,而 L 区基因的表达则在粒细胞层的核内进行,引起细胞迅速分裂,并伴随病毒颗粒的复制与播散。DNA 复制、衣壳蛋白合成与装配分别在上皮不同细胞层进行,使各阶段鳞状细胞逆向生长,导致细胞恶性转化^[6]。HPV 16 的 E6 蛋白有 4 个 Cys-X-X-Cys 基序,形成 2 个锌指直接和锌结合,具有启动转录、导致细胞转化和核永生、与细胞蛋白结合等功能;E6 蛋白的 PDZ 结合区则可调节棘细胞层细胞的增殖和黏附性,使肿瘤向恶性发展^[7]。

3 HPV 感染与宫颈病变的关系

在健康妇女中 HPV 感染率不足 4%,而在宫颈上皮内瘤

变(CIN)1、CIN2、CIN3 及宫颈癌患者中,HPV 检出率分别为 30%、55%、65%、100%^[8],表明宫颈病变级别越高,HPV 检出率越高。生殖道感染高危型 HPV 是宫颈癌发生的主要危险因素,HPV-DNA 阳性患者发展为 CIN3、宫颈癌的可能比 HPV-DNA 阴性患者更大,高危型 HPV 等主要导致 HSIL 和宫颈癌的发生^[9]。对 2 200 例育龄妇女进行 HPV 筛查后发现,HPV 感染率为 33.5%,CIN3、浸润癌患者 HPV 感染率为 100%,CIN2、CIN1 分别为 71.9%、81.3%^[10]。随着年龄增长,HPV 感染有呈上升趋势,可达到 90.5%^[11]。国际癌症研究协会(IARC)相关研究表明,HPV16 在所有 HPV 阳性宫颈癌患者中平均感染率为 57.4%^[12],我国大陆地区为 79.6%,而在宫颈癌高发的山西襄恒县 HPV16 阳性率在原位癌为 75%,在浸润癌为 100%。

4 HPV 多重感染与宫颈病变的关系

一般情况下,HPV 在良性病变中以游离形式存在,当宫颈受到细菌、病毒等感染引起炎症,以及免疫功能低下、局部反复损伤、体内激素改变等不利因素下,易使宫颈细胞基因发生变异,激活癌基因,使细胞恶性转化。有研究比较了不同宫颈病变类型与 HPV 多重感染的比例,发现多重感染的比例为 44.6%,常见类型为 HPV52、58 及 HPV16、18 的二重感染,除宫颈鳞癌,HPV 多重感染比例随宫颈病变级别增加而增加^[13-14]。HPV 持续感染、多重感染易导致整合至基因上的病毒激活癌的发生,发展到 CIN2、CIN3 的危险性很高,说明多重感染对宫颈病变及宫颈癌的发生发展起促进作用。在 HPV 感染的妇女中,随着病毒量的增高,宫颈病变越严重,与高病毒负荷延长了病毒整合时间有关^[15]。

5 HPV 感染与机体免疫反应

HPV 感染在年轻女性中非常常见,多可自然缓解,有效的自身免疫反应,尤其是细胞免疫反应起到至关重要的作用^[16-17]。免疫功能低下者更容易由亚临床状态向临床状态进展。机体维持正常的免疫功能有赖于各种免疫细胞,特别是 T 细胞亚群之间的相互协作或制约。研究表明,外周血中很少有 HPV 特异性 T 淋巴细胞,而在 HPV 感染所致各种疾病中,CD4⁺T 细胞分泌的 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 在高度鳞状上皮内瘤变组及宫颈癌组中较低度鳞状上皮内瘤变及感染已控制组明显降低;CD8⁺T 细胞分泌的 IL-2 在各组中都明显降低,但 IFN- γ 、TNF- α 在各组无明显差别,提示 IL-2 在针对 HPV 感染的细胞免疫中起主要作用^[17]。

6 HPV 感染与人类白细胞抗原(HLA)在宫颈癌中的相关性

HLA 几乎存在于所有有核细胞表面,根据结构与功能不同分为 3 类,即位于染色体端粒侧的 HLA-I 类分子(HLA-A、B、C),参与提呈抗原作用;位于染色体着丝点的 HLA-II 类分子(HLA-DR、DQ、DP),是目前所知最具有多态性的蛋白分

子;HLA-III 类基因编码部分免疫相关细胞因子,在监控肿瘤、调节免疫应答等方面具有十分重要的作用,不但影响肿瘤的发生,而且决定肿瘤发展的自然进程。宿主自身免疫遗传背景不仅参与病毒感染,而且参与肿瘤免疫,并在介导免疫识别、免疫应答、自然杀伤细胞自然杀伤作用和免疫调节力等方面发挥关键作用。

HLA 多态性与 HPV 感染及宫颈鳞状上皮损害(宫颈上皮内增生、宫颈癌)的遗传易感性相关。机体抗肿瘤的主要效应细胞是 CD⁸+T 细胞,它的激活依赖于 TCR 识别 HLA-I 类分子及其呈递的内源性抗原肽所构成的复合体;如果 HLA-I 表达异常如缺失,可导致对癌抗原提呈、识别和杀伤作用发生障碍,使肿瘤细胞逃避细胞毒性 T 淋巴细胞的识别及溶解,从而使 HPV 感染细胞逃脱免疫监视,发展为原位癌、浸润癌或转移等。90% 的宫颈癌组织细胞表面 HLA-I 类抗原表达缺失,缺失的数量从单一的 A、B 或 C 位点,到单倍体型,以及包括 β 微球蛋白在内的整个 HLA-I 类分子。HPV E6, E7, L1 基因发生定点突变时,更易诱发癌变及增大再次感染或逃避宿主免疫监视的可能。

由于 HLA 具有高度多态性,能产生多数等位基因,每个个体所携带的 HLA 等位基因型别不同,其提呈抗原的能力各异。HPV 作为进入宿主体内的外源性抗原,宿主 HLA-II 基因的多态性导致对病毒抗原提呈能力的差异,从而出现对 HPV 感染免疫力不同的现象。HLA 与宫颈癌密切相关,目前研究较多的是 HLA-II 类分子。Mahnm^[18] 等对宫颈癌患者及健康对照人群进行宫颈脱落细胞 HPV 检测及 HLA 分型相关性分析,发现 HLA-II 中的 DRB1 * 1501、DRB1 * 0602 可增加感染风险,并与 HPV 阳性宫颈癌呈正相关,而国内黄金双等^[19] 发现 DRB1 * 1501、DRB1 * 0701、DRB1 * 1407 在宫颈癌中分布频率高。

7 HPV 感染的防治

大部分患者的症状在 HPV 感染 2 年后可自行消退,只有当免疫力下降、局部反复损伤且 HPV 持续感染 1 年左右时,5%~10% 的感染者可发展为 CIN。单纯 HPV 感染不是致病因素,在其他因素,如性行为、性传播疾病、药物、营养以及 HPV 类型等的综合作用下,最终导致宫颈病变及癌的发生。目前对于宫颈癌的防治已积累了一定的成功经验。筛查是宫颈癌防治的一种积极有效的手段,开展宫颈疾病筛查,可使宫颈癌死亡率下降 50%。对于 30 岁以上的女性,每年进行一次宫颈细胞学检查和高危型 HPV 检测,如果连续两年都为阴性,可延长至 2~3 年检查一次,一般可延续到 65 岁以后。也可采用预防宫颈癌的“三阶梯检查法”,即初筛(HPV+细胞学)、助诊(阴道镜)、确诊(组织病理)。

在 HPV 筛查中,细胞学漏诊率一般为 20% 左右。“三阶梯检查法”是目前国内的金标准,通过细胞学、阴道镜、组织病理学 3 个阶梯,确保无漏诊。在采取预防措施方面,美国疾病预防控制中心指出防止 HPV 感染是关键,与之有关的是免疫抑制、多性伴、女性开始性行为年龄早等因素,使用避孕套能减低感染 HPV 的风险。由于免疫反应的存在,同一类型 HPV 在固定性伴间不会因性活动而互相传染,因此减少性伴是防止 HPV 传染的有效措施。在治疗方面,目前尚未开发出治疗 HPV 感染的有效药物,因此治疗主要是针对由 HPV 引起的宫颈或外生殖器局部病变。治疗局部病变的方法包括激光、冷冻、电切或冷刀锥切,免疫调节、抗增生、抗病毒等,但目前临床应用的阴道内 TNF 栓剂并未得到肯定的治疗效果。HPV 阳

性,但宫颈细胞学正常的妇女则不需要接受特殊处理。

随着研究的不断深入,对 HPV 所引发疾病及 HPV 疫苗方面的研究已取得了很大的进展。欧美国家已推广使用的 HPV 疫苗主要针对 HPV16 或 HPV16/18 亚型。但在发展中国家,HPV 疫苗的推广由于受价格昂贵等因素影响,受到极大的限制。在 HPV 疫苗尚未普及之前,定期对育龄妇女进行宫颈阴道细胞学检查和 HPV 筛查,增强妇女性道德、性卫生保健意识,是预防和控制宫颈癌的重要手段,能有效减轻宫颈病变对妇女的危害,使更多的女性宫颈病变患者得以早期发现早期治疗。

参考文献

- [1] Andersson S, Rylander E, Larsson B, et al. The role of human papillomavirus in cervical adenocarcinoma carcinogenesis[J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37(2): 246-250.
- [2] De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, et al. Classification of papillomaviruses[J]. *Virology*, 2004, 4(1): 17-27.
- [3] Nominé Y, Masson M, Charbonnier S, et al. Structural and functional analysis of E6 oncoprotein: insights in the molecular pathways of human papillomavirus mediated pathogenesis[J]. *Mol Cell*, 2006, 21(5): 665-678.
- [4] 司马妮, 王薇, 徐茜, 等. 人乳头瘤病毒 16 型 E6、E7 反义 RNA 对人宫颈癌 SiHa 细胞的恶性逆转作用[J]. *癌症*, 2007, 26(1): 26-31.
- [5] Kang YH, Lee KA, Ryu CJ, et al. Mitomycin C induces apoptosis via Fas/FasL in cervical carcinoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2006, 237(1): 33-34.
- [6] 张卓然. 临床微生物学和微生物检验[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 449.
- [7] 李新敏, 潘晓琳. p53 与 HPV 相关性宫颈癌[J]. *肿瘤防治研究*, 2007, 34(10): 798-800.
- [8] 汤惠茹, 吴瑞芳, 周艳秋, 等. 不同程度宫颈病变感染人乳头瘤病毒的亚型种类[J]. *实用医学杂志*, 2007, 23(9): 1334-1336.
- [9] 常正义, 覃志坚, 潘云, 等. HPV 不同亚型感染与宫颈病变的关系[J]. *右江民族医学院学报*, 2009, 31(1): 10-12.
- [10] 刘红丹, 李群, 吴菲远, 等. 宫颈细胞学联合高危型人乳头状病毒检测在宫颈筛查中临床应用[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2009, 30(15): 1827-1828.
- [11] 农光鲜, 曾小平, 陈锦华, 等. 1327 例泌尿系统感染者人乳头瘤病毒检测结果分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(12): 1145-1147.
- [12] Muñoz N, Bosch FX, Castellsague X, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective[J]. *Int J Cancer*, 2004, 111(2): 278-285.
- [13] 吕荣宇. 宫颈病变与 HPV 多重感染的关系探讨[J]. *中国热带医学*, 2007, 7(9): 1600-1601.
- [14] Dalstein V, Riethmuller D, Pretet JL, et al. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study[J]. *Int J Cancer*, 2003, 106(3): 396-403.
- [15] Steele JC, Mann CH, Rookes S, et al. T cell responses to human papillomavirus type 16 among women with different grades of cervical neoplasia[J]. *Br J Cancer*, 2005, 93(2): 248-259.
- [16] Kobayashi A, Greenblatt RM, Anastos K, et al. Functional attributes of mucosal immunity in cervical intraepithelial neoplasia and effects of HIV infection[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(18): 6766-6774.

- [17] Lee BN, Follen M, Shen DY, et al. Depressed type 1 cytokine synthesis by superantigen-activated CD4+ T cells of women with human papillomavirus-related high-grade squamous intraepithelial lesions[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2004, 11(2): 239-244.
- [18] Mahmud SM, Robinson K, Richardson R, et al. HLA polymorphisms and cervical human papillomavirus infection in a cohort of Montreal University Students[J]. J Infect Dis, 2007, 196(1): 82-

90.

- [19] 黄金双, 林蓓, 齐跃, 等. 人类白细胞抗原 DRB1 等位基因多态性与子宫颈癌易感性的相关研究[J]. 中华妇产科杂志, 2006, 41(10): 715-716.

(收稿日期: 2010-05-03)

• 综 述 •

幽门螺杆菌毒素相关蛋白 cagA 在胃癌发生机制中的研究进展

史红霞 综述, 王 东 审校

(贵州省六盘水市首钢水城钢铁集团公司总医院检验科 553028)

关键词: 螺杆菌, 幽门; 毒力因子类; 胃肿瘤

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.02.040

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)02-0223-03

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 是一种长期寄生于胃黏膜上皮细胞中的革兰阴性微需氧菌, 也是世界各地最常见的感染性病原之一。1984 年 Warren 和 Marshal 成功分离出幽门螺杆菌, 并发现 Hp 可在生长代谢过程中分泌多种毒力因子, 与多种胃部疾病密切相关。大量研究表明, Hp 在粘稠环境中具有极强的运动力, 当其进入胃体后, 可借助菌体鞭毛提供的动力穿过粘液层而到达胃黏膜, 并通过粘附素与胃黏膜上皮细胞牢固地结合, 避免随食物一起被胃排空; Hp 能分泌超氧化物歧化酶和过氧化氢酶, 可对抗中性粒细胞的吞噬杀伤作用; Hp 富含尿素酶, 能水解尿素释放氨, 从而在菌体周围形成“氨云”保护层, 以抵制胃酸的杀灭作用。由于 Hp 具有上述生物学特征, 使得全球约 25% 的发达国家人口和 70%~90% 的发展中国家人口被其感染, 是引发胃部疾病的主要致病菌^[1]。世界卫生组织/国际癌症研究机构 (WHO/IARC) 于 1994 将幽门螺杆菌定为 I 类致癌物质。

幽门螺杆菌可在生长代谢过程中分泌多种毒力因子, 其中毒素相关蛋白 cagA 最为重要并与胃癌的发生、发展及转移密切相关, 因而受到广泛关注从而成为研究胃癌相关发病机制的热点和分子标志。体外研究表明, 只有当 CagA 蛋白阳性时 Hp 感染胃上皮细胞才能诱导各种趋化因子。在体内, CagA 蛋白阳性感染将诱导大规模的免疫反应和严重的胃炎。许多的研究表明感染 CagA 蛋白阳性菌株与胃溃疡、胃萎缩和胃癌的高发生率有关。幽门螺杆菌主要有两个亚型: 东方亚洲型和西方型。流行病学资料也显示超过 90% 的幽门螺杆菌东方亚洲株携带 cagA 基因, 即 cagA 阳性; 而一半以上的幽门螺杆菌西方株为 cagA 阴性。由此可以推测, cagA 阳性株的分布不均可能是造成东西方胃癌发生率存在差异的主要原因之一。

胃癌是危害人类健康的主要恶性肿瘤之一, 全球胃癌的致死率位居所有肿瘤致死率的第二位。而胃癌导致患者死亡的主要原因之一则是胃癌的转移。胃癌的转移主要有以下四条途径: (1) 直接蔓延: 癌肿侵入胃壁后, 向纵深方向发展并突破浆膜层, 直接侵犯相邻器官和组织。(2) 淋巴结转移: 是胃癌转移的重要途径, 并且发生较早。随着癌肿的不断增长, 其侵犯胃壁越深, 面积越广, 转移的机会也就越多, 并且由近及远地转移到各级淋巴结。(3) 血行转移: 多发生在胃癌晚期。部分胃癌患者的癌细胞或癌栓可经血液循环而播撒到其他器官, 从而形成转移灶。(4) 胃癌细胞腹腔内种植转移: 少数情况下会出

现癌肿突破胃壁浆膜, 坏死的癌组织脱落到其他器官或腹膜上, 可发生种植性生长。在胃癌的转移途径中, 通常以淋巴转移和直接蔓延为主, 在胃癌晚期也可经血行转移。此外, 癌细胞还可以因组织脱落而直接种植于其他器官或腹腔内。

1 幽门螺杆菌毒素相关蛋白 cagA 与胃癌

Argent 等^[2] 研究发现, Hp 的 cag 致病岛 (cag PAI) 全长约 40 Kb, 由 27~31 基因组成, 所编码产生的 IV 分泌系统 (T4SS) 含有内、外侧跨膜蛋白复合体循环抗原和位于菌体表面的菌毛, 可通过激活核因子 NF- κ B 以及分泌细胞因子和趋化因子而诱发胃黏膜炎症。cagA 基因则位于 cag PAI 的 C 末端, 其编码的 CagA 蛋白是一种相对分子质量为 120~170 kd 的免疫原性蛋白, 也是目前唯一已知的一种由 cag PAI 生成的功能蛋白。流行病学资料显示, Hp 包含两种亚型即东方亚洲型及西方型。超过 90%~95% 的 Hp 东方株携带了 cag PAI, 即 cagA 阳性; 而一半以上的西方株则为 cagA 阴性。由于这种分布差异的存在, 造成了东西方 Hp 诱导胃癌发生率上的不同。cagA 阳性 Hp 长期定植于宿主的胃黏膜上皮细胞中, 可导致胃黏膜组织发生一系列的渐进性改变, 即浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、非典型性增生直至胃癌的发生。

长期研究表明^[3], 由于游离的 CagA 蛋白不能直接进入胃黏膜上皮细胞, 所以必须依赖 IV 分泌系统 (T4SS) 将其转位于上皮细胞内, 并且被 Src 和 Abl 蛋白激酶磷酸化, 磷酸化的 CagA 蛋白再与 SHP-2 磷酸酶相互作用, 最终导致胃黏膜上皮细胞发生“蜂鸟”样改变。据研究推测, Hp 所诱导的这种“蜂鸟”样改变可能与胃黏膜组织的癌变密切相关。

汪苏等^[4] 则报道了激活的 SHP-2 可以使酪氨酸蛋白激酶 FAK 的磷酸化水平下降, 从而抑制 FAK 激酶的活性, 进而增强了 CagA 蛋白引起“蜂鸟样”的形态学改变的能力。体外试验也显示, 经 cagA 阳性的 Hp 感染的胃黏膜上皮细胞在培养过程中会从未受刺激的“鹅卵石”样形态转变成“蜂鸟样”形态, 表明 cagA 阳性的 Hp 在胃黏膜上皮细胞的癌变方面起到关键作用。最近的研究证实, CagA 蛋白在胃癌细胞的粘附、运动、浸润及 c-Met、Grb2、SHP-2 的磷酸化等方面发挥了关键性的调控作用。

Amanda Oldani 等^[5] 研究发现, cagA 阳性的 Hp 通过 T4SS 将毒素相关蛋白 cagA 注入胃黏膜上皮细胞内, 依赖宿主细胞的酪氨酸磷酸化, 以对抗空泡毒素 A (VacA) 诱发的细