

人乳头状瘤病毒与喉癌

邱杰¹, 张文伟² 综述, 赵舒薇¹ 审校

关键词: 人乳头状瘤病毒; 喉癌

中图分类号: R739.65 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2006)08-0610-03

0 引言

人乳头状瘤病毒 (human papillomavirus, HPV_s) 与人体多种肿瘤有关, 如宫颈癌、喉癌、口腔癌、扁桃体癌等, 人乳头状瘤病毒感染是上述癌的病因之一^[1-5]。近 20 年来, 随着分子生物学和分子病毒学技术的不断发展, 大量研究发现 HPV16、18 型等高危型 HPV 与喉癌的发生和发展密切相关^[2-4]。本文对 HPV 与喉癌的关系研究进展综述如下。

1 HPV_s 分类、基因结构及功能

HPV_s 属乳多空病毒科, 是一类特异感染人类上皮、粘膜的共价双链环状 DNA 病毒。属乳多空病毒科 A 属成员, 至今已发现至少 90 余种人乳头状瘤病毒。其长约 8.0kb, 分子量为 5×10^6 , 沉降系数 40, 在电镜下观察为球形、无包膜的 20 面体立体对称结构, 直径 45 ~ 55nm^[6-7]。HPV 目前仍不能在体外细胞中进行培养, 过去对 HPV 分型多采用 DNA 杂交试验, 一种新的型别必须与已知型别的同源性 < 50%, > 50% 就认为是某一型别的亚型, 这种方法较快, 但不很准确。根据新的分类方法, 与已知 HPV 型别的早期区 (E 区)、晚期区 (L 区) 和长期控制区 (LCR) 基因的同源性 < 90% 被确定为一种新的型别, 90% ~ 98% 的同源性被确定为亚型, > 98% 的同源性被认为是一种变体或多型性。按与癌发生的关系可将 HPV 分高危型、中危型和低危型, 高危型如 16、18、45、56 型, 与宫颈癌、喉癌、膀胱癌等密切相关, 低危型如 6、11 型, 与尖锐湿疣等良性疾病相关, 中危型如 31、33、35、51、58 型, 介于两者之间^[8]。HPV 基因组按其功能分为三个编码区: 早期区 (E)、晚期区 (L) 和长期控制区 (LCR), 分别占基因组的 50%、40% 和 10%。早期区含有 5 ~ 8 个开放读码框 (open read frame, ORF), 早期区大约由

4 500kb 组成, 包含 E1、E2、E4、E5、E6 及 E7 六个早期基因, 编码合成蛋白, 控制病毒转录、复制和转化; 晚期区 L1、L2 大约由 2 500bp 组成, 分别编码主要和次要衣壳蛋白, 余下的 1 000bp 构成长期控制区, 为非编码区, 位于早期区、晚期区之间, 含有不同转录受体和激活因子的重叠结合区, 控制早、晚转录区的转录和病毒颗粒的合成^[9]。早期区 E1 至少编码两种重要的蛋白质, 与病毒基因组维持和 DNA 复制有关; E2 编码激活子和抑制子, 与病毒 DNA 的反式激活有关。E4 编码的蛋白产物与病毒的成熟以及 HPV 和细胞的结合有关; E5 编码的蛋白通过影响细胞生长因子受体, 诱导 c-jun 的过度表达, 在肿瘤的形成中也发挥着一定作用, 尤其是在细胞转化的起始阶段。E6 和 E7 基因对生长刺激最为重要, 它们的蛋白产物引起宿主细胞的永生化和病毒的细胞转化功能及致癌性有关, 是病毒的主要癌蛋白^[10,11]。

2 HPV 感染与喉癌发生、发展的分子生物学机制

HPV 癌蛋白在喉癌的发生、发展中起重要作用。在良性病变中, HPV 基因组常以游离的形式存在, 在 HPV 相关的恶性肿瘤中, 病毒 DNA 常整合到宿主染色体中。这些整合不是随机的, 研究表明 HPV16 经常整合在宿主染色体 3p 14.2 位点, 而这恰好在抑癌基因 FHIT (fragile histidine triad) 基因内。为了整合到细胞 DNA 中, 病毒基因组常发生断裂, 最常见的断裂点发生在病毒 E1/E2 基因区, 结果导致这两个病毒基因丢失, 下游区域整合到宿主基因组的 E6/E7 基因常保持完整直接连接到病毒上游调节区启动子和增强子序列, 使 E6/E7 在喉癌得以持续过量表达, 导致细胞转化^[12]。

高危型 HPV (16、18 型等) 的转化的特性主要与两个早期开放阅读框架 E6、E7 基因相关。其在肿瘤发生、细胞周期调控、端粒酶活化及其凋亡调节中起重要作用。

E6 原癌蛋白大约由 150 个氨基酸组成, 它分为 5 个功能区, 区: N 端, 1-29 氨基酸; 区: 锌指

收稿日期: 2005-08-12; 修回日期: 2005-09-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371610)

作者单位: 1. 200003 上海长征医院耳鼻喉科; 2. 潍坊市肿瘤医院放射科

作者简介: 邱杰 (1969-), 男, 博士, 主治医师, 主要从事喉、头颈肿瘤外科的基础与临床研究

区,103-139 氨基酸; 区:中央区(连接区),67-102 氨基酸; 区:锌指 区,103-139 氨基酸; 区:C 端,140-151 氨基酸。不同型别 HPV 的 E6 蛋白具有中度的氨基酸同源性,所有 E6 蛋白结构的共同特征是存在色氨酸-x-x-色氨酸(Cys-x-x-Cys)的锌指结构。已明确 E6 蛋白的这种锌指结构与其功能,如恶性转化作用,转录激活,细胞蛋白相互作用等关系密切^[10]。

E7 原癌蛋白是约有 100 个氨基酸的小蛋白,按功能分为 3 个区: 区:1-15 氨基酸, 区:16-38 氨基酸, 区 39-98 氨基酸,锌指及 C 端区。它定位于核内或附着于核基质上的磷酸化核蛋白。锌指区与 E7 蛋白二聚体的形成有关,对细胞的恶性转化有重大意义^[11]。

E6、E7 原癌蛋白分别与细胞内肿瘤抑制物 p53 和 pRb 结合,是高危型 HPV 致癌的重要机制,目前已经得到公认。p53 参与细胞周期 G₁ 相抑制、凋亡和 DNA 修复。E6 蛋白能特异性结合 p53,促使 p53 快速降解,从而导致细胞周期失控,其效应等同于 p53 突变,这一过程依赖于细胞蛋白 E6-AP。E6-AP 位于细胞的核周,已观察到 p53 的降解也发生在该处。在与 p53 相互作用和促进其降解过程中起重要作用的是 E6 的 C 端和 N 端,C 端对 p53 的结合特别重要,N 端对 p53 的降解是必需的^[10]。pRb 是细胞周期 D-cdk4 和 E-cdk2 的主要基质,其磷酸化受细胞周期的调节。细胞周期由 G₁ 期进入 S 期时,pRb 被周期蛋白依赖激活酶(CDK)磷酸化,导致周期调节功能失活。E7 蛋白可与 pRb、p107 和 p130 相关蛋白相互作用,使 E2F 因子从结合形式游离出来,游离的 E2F 因子可活化促进细胞周期进展和细胞增殖的基因转录^[11,13]。

HPV 的致癌作用不仅可促使 p53、pRb 蛋白降解和灭活,同时伴有其他一些抑癌基因的异常、癌基因的活化、非整倍体、染色体易位、点突变、基因扩增和杂合性丢失等分子遗传学改变。这些也都是喉癌发生发展的关键事件。E6 原癌蛋白是一种多功能蛋白,它可能通过激活端粒酶而使正常细胞逃避衰老过程中的增殖限制而永久化,其机制尚不清楚^[10]。凋亡是细胞自生破坏的一种基因水平的程序性死亡过程,高危型 E6 的抗凋亡作用可在多种细胞培养检测系统中观察到,其凋亡抑制基因 bcl-2 的活性升高,凋亡促进基因 Bak 的活性降低^[14]。E7 原癌蛋白的锌指结构,不仅能与 RB 结合,还能与 HD 复合物直接结合。与 HD 复合物结合的能力是衡量细胞增殖能力的重要参数^[11]。E7 原癌蛋白正是通过 HD 途径使细胞无限增殖,其机制尚不清楚。

高危型 HPV 能使 c-myc 癌基因的水平增高。E7 原癌蛋白还能抑制 IGFBP-3 (insulin-like growth factor binding protein 3)介导的细胞凋亡^[15]。HPV 感染在喉癌的发生发展过程中有重要作用,但并非唯一因素。HPV 致癌除了病毒与宿主相互作用外,还与环境、遗传、化学等因素的协同作用有关。喉癌发生与吸烟有密切关系,大多数喉癌病人都有长期大量吸烟的历史。一般估计,吸烟者患喉癌的危险度是不吸烟者的 3~39 倍。有的学者认为喉癌的发生与饮酒亦有关系,其作用强度远不如吸烟。据估计,饮酒者患喉癌的危险度是不饮酒者的 1.5~4.4 倍。烟酒对喉癌的发生有协同致病作用。赵舒薇等^[16,17]对 57 例喉鳞癌进行 HPV-DNA 感染的检测,显示 HPV 致喉癌与单纯酒的协同作用不明显,但与吸烟及同时即吸烟又饮酒有明显的协同致癌作用。

3 HPV 感染与喉癌发生、发展的免疫学机制

HPV 感染所致喉癌发生、发展是多因素、多步骤的过程,HPV 逃避机体的宿主免疫监视,尤其细胞免疫监视也是重要的原因之一。

HPV 蛋白的表达与感染细胞的分化状态有密切的关系。在上皮细胞的基底层,有少量 mRNA 编码病毒 E1、E2 蛋白,在基底上棘状细胞,E6、E7 蛋白在细胞核内有少量表达,在更上层细胞的细胞核和细胞浆 E4 蛋白和两种病毒衣壳蛋白 L1、2 有表达,但在数量上有意义的表达仅仅出现在终末期的分化角质细胞(KC),而这种细胞不能分裂增殖,一般 1~2 天从上皮或粘膜脱落,机体的免疫监视功能不能识别。上皮细胞基底层是最佳的树突状细胞摄取和提呈病毒蛋白的地方,病毒蛋白的表达减少将使机体不能通过免疫效应机制排除有病毒复制细胞。HPV 早期蛋白调节局部免疫反应以及喉癌产生的细胞因子所致的免疫抑制和促进肿瘤增殖也是免疫逃逸的机制之一。肿瘤细胞的 HLA 抗原不表达或表达减少是肿瘤逃逸免疫监控的机制之一^[18-20]。

综上所述,致癌型 HPV 感染是喉癌发生发展的主要原因之一,但仅仅致癌型 HPV 感染在很多情况下是不足以引起喉癌,致癌型 HPV 感染也可能不是喉癌发生发展的必要条件,机体的遗传特征、免疫状况、癌基因的活化、抑癌基因的失活以及吸烟等因素都有关^[21]。

参考文献:

[1] Munger K,Baldwin A,Edwards KM,et al. Mechanisms of hu-

- man papillomavirus-induced oncogenesis[J]. *Journal of Virology*, 2004, 78(21): 11451-11460.
- [2] Ha PK, Califano JA. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis[J]. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004, 15(4): 188-196.
- [3] Almadorri G, Cadoni G, Cattani P, et al. Human papillomavirus infection and epidermal growth factor receptor expression in primary laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Clinical Cancer Research*, 2001, 7(3): 3988-3993.
- [4] Van Tine BA, Kappes JC, Banerjee NS, et al. Clonal selection for transcriptionally active viral oncogenes during progression to cancer[J]. *Journal of Virology*, 2004, 78(20): 11172-11186.
- [5] Klussmann JP, Weissenborn SF, Wieland U, et al. Human papillomavirus-positive tonsillar carcinomas: a different tumor entity? [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2003, 192(9): 129-132.
- [6] Rosenstierne MW, Vinther Jeppe, Hansen CN, et al. Identification and characterization of a cluster of transcription start sites located in the E6 ORF of human papillomavirus type 16 [J]. *Journal of General Virology*, 2003, 84(12): 2909-2920.
- [7] Pou AM, Weems J, Deskin RW, et al. Molecular characterization of mutations in patients with benign and aggressive recurrent respiratory papillomatosis: a preliminary study[J]. *The Annals of Otolaryngology & Laryngology*, 2004, 113(3): 180-186.
- [8] Longworth MS, Laimins LA. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2004, 68(2): 362-372.
- [9] Braunstein TH, Madsen BS, Gavnholt B, et al. Identification of a new promoter in the early region of human papillomavirus type 16 genome[J]. *Journal of General Virology*, 1999, 80(4): 3241-3250.
- [10] Kao WH, Beaudenon SL, Talis A, et al. Human papillomavirus type 16 E6 induces self-ubiquitination of the E6AP Ubiquitin-Protein ligase[J]. *Journal of Virology*, 2000, 74(14): 6408-6417.
- [11] Du J, Chen GG, Vlantis AC, et al. The nuclear localization of NF B and p53 is positively correlated with HPV16 E7 level in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 2003, 51(4): 533-539.
- [12] Yoshinouchi M, Hongo A, Nakamura K, et al. Analysis by multiplex PCR of the physical status of human papillomavirus type 16 DNA in cervical cancers[J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37(11): 3514-3517.
- [13] Chien WM, Parker JN, Schmidt-Grimminger DC, et al. Casein kinase phosphorylation of the human papillomavirus-18 E7 protein is critical for promoting S-phase entry[J]. *Cell Growth & Differentiation*, 2000, 11(8): 425-435.
- [14] Du J, Chen GG, Vlantis AC, et al. Resistance to apoptosis of HPV 16-infected laryngeal cancer cells is associated with decreased Bak and increased bcl-2 expression[J]. *Cancer Letters*, 2004, 205(9): 81-88.
- [15] Mannhardt B, Weinzier SA, Wagner M, et al. Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein binds and inactivates growth-inhibitory insulin-like growth factor binding protein 3[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2000, 20(17): 6483-6495.
- [16] 赵舒薇, 叶青, 陆书昌, 等. 人喉癌组织中乳头瘤病毒 DNA 的检测[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1999, 13(6): 13-17.
- [17] 赵舒薇, 费声重, 郭志祥, 等. 国人喉癌与人乳头瘤病毒相关性研究[J]. *耳鼻咽喉-头颈外科杂志*, 1996, 13(7): 13-17.
- [18] Greenstone HL, Nieland JD, De Visser KE, et al. Chimeric papillomavirus virus-like particles elicit antitumor immunity against the E7 oncoprotein in an HPV16 tumor model[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(11): 1800-1805.
- [19] Doan T, Herd KA, Lambert PF, et al. Peripheral tolerance to human papillomavirus E7 oncoprotein occurs by cross-tolerance, is largely Th2-independent, and broken by dendritic cell immunization[J]. *Cancer Research*, 2000, 60(6): 2810-2815.
- [20] Kim TW, Hung CF, Boyd D, et al. Enhancing DNA vaccine potency by combining a strategy to prolong dendritic cell life with intracellular targeting strategies[J]. *The Journal of Immunology*, 2003, 171(9): 2970-2976.
- [21] Atula S, Grenman R, Kujari H, et al. Detection of human papillomavirus (HPV) in laryngeal carcinoma cell lines provides evidence for a heterogeneous cell population[J]. *European Journal of Cancer*, 1999, 35(6): 825-832.

[编辑: 贺文]