

HPV16/18、P16 蛋白在头颈部鳞状细胞癌中的表达及意义

杨波 胡金梅 丁跃明 潘云

【摘要】 目的 探讨头颈部鳞状细胞癌中高危型 HPV 感染、P16 蛋白表达及临床病理意义。方法 采用组织原位杂交及免疫组化 Envision 技术检测头颈部鳞状细胞癌中高危型 HPV16/18 及 P16 蛋白的表达, 并进行临床病理分析。结果 (1) HPV16/18 在口腔癌中的表达率为 80% (8/10)、下咽癌 78% (11/14)、鼻咽癌 0 (0/7)、唇癌 33.3% (1/3)、头颈部皮肤鳞癌 33.3% (2/6), 口腔癌、下咽癌中 HPV16/18 表达率显著高于鼻咽癌、唇癌及头颈部皮肤鳞癌 ($P=0.001<0.05$); (2) P16 蛋白在口腔癌中的表达率为 70% (7/10)、下咽癌 71.4% (10/14)、鼻咽癌 0 (0/7)、唇癌 33.3% (1/3)、头颈部皮肤鳞癌 33.3% (2/6)。口腔癌、下咽癌中 P16 表达率显著高于鼻咽癌、唇癌及皮肤鳞癌, 鼻咽癌为阴性表达, 差异具有统计学意义 ($P=0.001<0.05$); (3) 临床病理分析: 组织学分级中 HPV16/18 在高分化、中分化及低分化鳞状细胞癌的阳性率分别为 25% (2/8)、76.1% (16/21)、36.3% (4/11), P16 在高分化、中分化及低分化鳞状细胞癌的阳性率分别为 87.5% (7/8)、42.9% (9/21)、36.3% (4/11), 差异具有统计学意义 (P 均 <0.05); 二者在年龄、性别中表达差异无显著性 (P 均 >0.05)。结论 (1) 头颈鳞状细胞癌中, HPV16/18、P16 与肿瘤发生部位及肿瘤分化程度差异有显著性, 分化程度越低, HPV16/18 及 P16 蛋白表达越低; (2) HPV16/18 的感染与 P16 蛋白的表达具有一致性。

【关键词】 肿瘤, 鳞状细胞; 人乳头瘤病毒 16; 人乳头瘤病毒 18; P16 蛋白

人乳头状病毒 (human papilloma virus, HPV) 是一种 DNA 病毒, 德国科学家 Harald zur Hausen 因证实高危型 HPV16/18 与宫颈癌密切相关^[1]而在 2008 年获得诺贝尔奖。现证实其也可引起头颈部鳞状细胞癌 (head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC) 的发生^[2]。且较多部位鳞癌中均检测出 HPV 存在^[3-6], 并且高危型 HPV16/18 是诱发 HNSCC 的主要类型^[6]。P16 蛋白又被称为多瘤抑制基因^[7]。有相关文献报道, 高危 HPV 感染可诱导 P16 蛋白的过表达^[8]。其机制主要是高危 HPV 的 E7 基因编码蛋白可与 pRb 结合使其失活, 从而使 P16 与 pRb 间的正常负反馈机制受到破坏^[9]。

本研究通过显色原位杂交法检测高危型 HPV 16/18 在 HNSCC 中的感染情况; 免疫组化法检测 P16 蛋白, 探讨其与高危型 HPV16/18 感染的头颈部鳞癌的表达意义及相关性。

一、资料与方法

1. 一般资料: 收集并复核 2008 年 1 月至 2012 年 12 月大理学院附属医院病理科 HNSCC 40 例为试验组; 5 例宫颈癌、10 例头颈部鳞状乳头状瘤分别为阳性和阴性对照组。

2. 方法: 组织原位杂交法、EnvisionTM 免疫组化法。

(1) 原位杂交结果阳性判断标准: 颗粒状棕褐色或棕黄色细胞核为阳性, 高倍镜视野下, 在肿瘤区域中任选取 10 个有代表性视野, HPV16/18 DNA 探针数目 $\geq 20\%$ 判断为阳性; $<20\%$ 判断为阴性。

(2) 免疫组化阳性结果判断标准: 颗粒状棕褐色或棕黄色细胞核、细胞质为阳性。高倍镜视野下, 在肿瘤区域中选取 10 个有代表性的视野, 肿瘤细胞阳性数 $\geq 10\%$ 判断为阳性, 其余情况为阴性。

3. 统计学分析: 采用 SPSS 19.0 统计软件包处理资料; 对 HPV16/18 和 P16 蛋白表达的相关性及与临床病理特征的关系采用卡方检验和确切概率法, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

二、结果

1. 高危型 HPV16/18 在 HNSCC 组织中的表达: 组织原位杂交结果显示: 在 HNSCC 组织中, 高危型

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.15.028

基金项目: 国家自然科学基金 (81060191); 云南省自然科学基金 (2009CD091)

作者单位: 671000 云南大理, 大理学院附属医院病理科

通讯作者: 潘云, Email: panyun09@163.com

表1 高危型 HPV16/18 及 P16 蛋白的表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	高危型 HPV16/18			P16 蛋白表达		
		阳性[例,(%)]	χ^2 值	P 值	阳性[例,(%)]	χ^2 值	P 值
年龄			2.061	0.114		0.960	0.327
<60 岁	25	10(40)			11(44)		
>60 岁	15	12(80)			9(36)		
性别			2.155	0.142		0.000	1.000
男	30	19(63.3)			15(50)		
女	10	3(30)			5(50)		
部位			19.038	0.001		14.522	0.006
鼻咽癌	7	0			0		
唇癌	3	1(33.3)			1(33.3)		
口腔癌	10	8(80)			7(70)		
下咽癌	14	11(78.5)			10(71.4)		
头颈部皮肤鳞癌	6	2(33.3)			2(33.3)		
分化程度			8.580	0.014		6.321	0.042
高分化(I级)鳞癌	8	2(25)			7(87.5)		
中分化(II级)鳞癌	21	16(76.1)			9(42.9)		
低分化(III级)鳞癌	11	4(36.3)			4(36.3)		

表3 不同 HPV 感染组 P16 表达情况[例, (%)]

组别	P16+	P16-	合计	χ^2 值	P 值
高危型 HPV16/18+	18(81.8)	4(18.2)	22	19.798	0.000
高危型 HPV16/18-	2(11.1)	16(88.9)	18		
合计	20	20	40		

表2 P16 蛋白表达情况

组别	P16 蛋白(例)		阳性率(%)
	阳性	阴性	
试验组	20	20	50
阳性对照组	3	2	60
阴性对照组	0	10	0

HPV16/18的阳性率为55% (22/40), 口腔癌的阳性率最高80% (8/10), 鼻咽癌阴性; 在HNSCC组织病理分级中的表达情况: II级感染率最高; 其次为III级; I级最低; 在患者不同年龄性别中感染情况无关(表1, 图1)。

2. P16 蛋白在 HNSCC 组织中的表达: 应用 Envision™ 免疫组化法检测 P16 蛋白在 HNSCC 组织中的表达情况(表1)。结果显示: P16 蛋白的阳性表达率为 50% (20/40); 阳性对照中阳性表达率为 60%, 阴性对照中无阳性表达 (0/15)(表1, 2, 图2)。

3. 高危型 HPV16/18 和 P16 蛋白的表达与 HNSCC 临床病理特征的关系: 通过卡方检验进行统计学分析, 结果显示: HNSCC 组织中 HPV16/18 和 P16 的表达与性别、年龄无关 (P 均 >0.05)。与病理分化程度和发病部位相关 (P 均 <0.05) (表1)。

4. 在HNSCC组织中高危型HPV16/18阳性率与P16蛋白表达率的关系: 通过卡方检验进行统计学分析, 结果显示: 不同HPV16/18感染组P16蛋白的表达差异具有统计学意义 ($P=0.000<0.05$) (表3), 即HPV16/18的感染可引起P16蛋白的表达。

三、讨论

本研究结果示: 在40例HNSCC中, HPV16/18的感染率达55%, 不同部位的肿瘤, HPV感染率有一定差异。相关研究示: HPV16/18阳性的HNSCC预后较阴性预后好, 5年生存率高^[10]。故在HNSCC肿瘤中可运用组织原位杂交技术检测HPV各型DNA以评估HNSCC预后。

本研究结果示, HNSCC 中 HPV16/18 阳性率为 55%, 口腔癌的阳性率最高达 80%, 下咽癌为 78.5%, 这个趋势与国内外的研究结果相近^[11]。本研究结果还显示头颈部皮肤鳞癌和唇癌的 HPV16/18 阳性率为 33.3%, 不排除其他 HPV 型别感染可能; 且本试验样本量较小, 可能和 HPV16/18 感染的实际趋势有出入。本研究结果还显示, 高危型 HPV16/18 感染与 HNSCC 组织的病理分级具有显著性差异 ($P<0.05$), I、II、III级分化鳞癌组织中, 阳性率分别为 25%、76.1%、36.3%。7例鼻

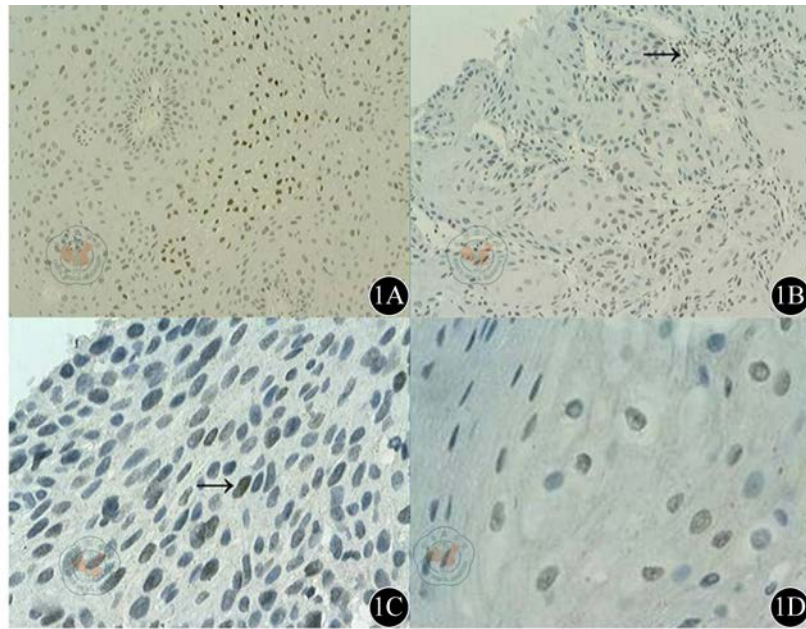


图1 HPV16/18型在各部位鳞状细胞癌中的表达情况。1A: 原位杂交阳性对照(宫颈癌), 细胞核呈棕黄色深染, 原位杂交染色, ×100; 1B: 口腔鳞状细胞癌组织, 细胞核呈淡棕黄色, ×100; 1C: 口腔鳞状细胞癌组织, 细胞核呈棕褐色, ×200; 1D: 口腔鳞状细胞癌组织, 细胞核呈棕褐色, ×200

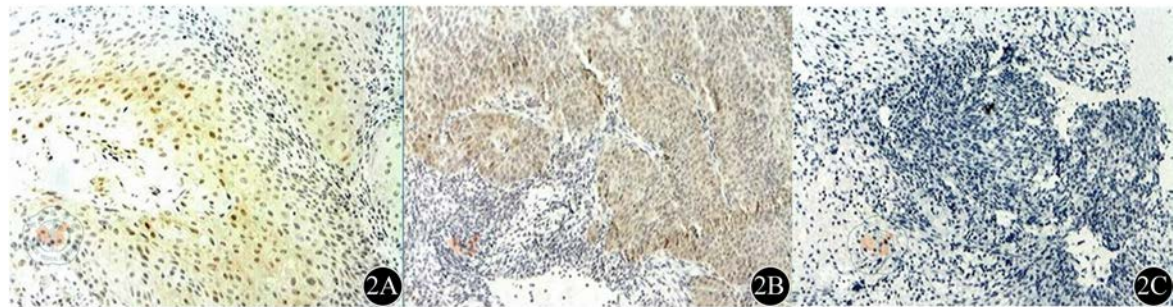


图2 P16蛋白在各部位鳞状细胞癌中的表达情况。2A: 口腔癌肿瘤细胞P16蛋白表达阳性(细胞核阳性为主)(免疫组化染色 ×100); 2B: 下咽癌肿瘤细胞P16蛋白表达阳性(细胞核、细胞浆呈棕黄色)(免疫组化染色 ×100); 2C: 鼻咽癌肿瘤细胞P16蛋白阴性表达(免疫组化染色 ×100)

咽癌 HPV16/18 均为阴性。说明鼻咽癌与 HPV 感染无明显相关性。HPV16/18 阳性率与病理分化级别有统计学意义, 在 II 级分化鳞癌组织中阳性率最高, 其次为 III 级分化。原位杂交检测结果显示: HNSCC 组织中 HPV16/18 与 P16 蛋白表达相关 ($P < 0.05$), HPV16/18 及 P16 蛋白共同阳性组高于共同阴性组 ($P < 0.05$), P16 蛋白的阳性率随分化程度降低而降低。7 例鼻咽癌组织 P16 蛋白表达均阴性, 说明鼻咽癌的发病与 P16 蛋白无关。在 HPV16/18 阳性的 HNSCC 细胞中可见 P16 蛋白的表达, 而在 HPV16/18 阴性的细胞中, 基本不表达。说明 HPV16/18 可导致 P16 蛋白的表达增加。很多学者也指出 P16 蛋白阳性与 HPV16/18 型感染显著相关^[12-13]。因此, P16 蛋白可作为判断 HNSCC

是否感染 HPV 和预后的另一个参考指标。

综上所述, 高危型 HPV16/18 的感染与 HNSCC 之间密切相关, HPV 及 P16 蛋白的表达检测对 HNSCC 的治疗、预后有一定的指导意义。

参 考 文 献

- [1] zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(9): 690-698.
- [2] 蔡永聪. 四川地区头颈鳞癌中人乳头状瘤病毒 DNA 表达的初步调查[D]. 南宁: 广西医科大学, 2010.
- [3] Loning T, Ikenberg H, Becker J, et al. Analysis of oral papillomas, Leukoplakias and invasive carcinoma for human papillomavirus type related DNA[J]. J Invest Dermatol, 1985, 84: 417-420.
- [4] Syrjänen KJ, Pyrhönen S, Syrjänen SM, et al. Immunohistochemical demonstration of human papilloma virus (HPV) antigens in oral squamous cell lesions[J]. Br J Oral Surg, 1983, 21(2): 147-153.
- [5] Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, et al. Human papillomavirus

- types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14: 467-475.
- [6] D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(19): 1944-1956.
- [7] Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types[J]. *Science*, 1994, 264(5157): 436-440.
- [8] Duncan LD, Winkler M, Carlson ER, et al. p16 Immunohistochemistry Can Be Used to Detect Human Papillomavirus in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2013, 71(8): 1367-1375.
- [9] 刘彤, 崔莉, 许丽娟, 等. p16、Ki-67 蛋白表达及 HPV 检测在宫颈上皮内瘤变中的诊断意义[J]. *诊断病理学杂志*, 2009, 16(5): 343-345.
- [10] Sugiyama M, Bhawal UK, Kawamura M, et al. Human papillomavirus-16 in oral squamous cell carcinoma: clinical correlates and 5-year survival[J]. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2007, 45(2): 116-122.
- [11] Gillison ML, D'Souza G, Westra W, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers[J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2008, 100(6): 407-420.
- [12] Chen ZW, Weinreb I, Kamel-Reid S, et al. Equivocal p16 Immunostaining in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: Staining Patterns are Suggestive of HPV Status[J]. *Head and Neck Pathology*, 2012, 6(4): 422-429.
- [13] Thomas J, Primeaux T. Is p16 immunohistochemistry a more cost-effective method for identification of human papilloma virus-associated head and neck squamous cell carcinoma?[J]. *Annals of Diagnostic Pathology*, 2012, 16(2): 91-99.
- (收稿日期: 2014-06-16)
(本文编辑: 戚红丹)
- 杨波, 胡金梅, 丁跃明, 等. HPV16/18、P16 蛋白在头颈部鳞状细胞癌中的表达及意义 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2014, 8 (15): 2894-2897.



中华医学学会