

[文章编号] 1000-2200(2008)04-0403-02

· 临床医学 ·

子宫颈癌淋巴结中人乳头瘤病毒检测的临床意义

靳丽杰^{1,2}, 申庆文², 席玉玲², 承泽农³, 凌 斌¹

[摘要] 目的:检测宫颈癌淋巴结中人乳头瘤病毒(HPV)的表达,探讨 HPV 表达与宫颈癌的临床病理参数之间的关系。方法:用免疫组织化学(S-P 法)技术检测 42 例子宫颈鳞癌淋巴结中 HPV 表达,结合患者的临床病理参数进行分析。结果:淋巴结 HPV 阳性与宫颈癌临床分期和淋巴结转移有一定关系($P=0.029$ 和 $P<0.05$),而与发病年龄无明显关系($P=1.000$)。结论:淋巴结 HPV 检测可作为预测子宫颈癌淋巴结转移和判断预后的一项参考指标。

[关键词] 子宫颈肿瘤;人乳头瘤病毒;免疫组织化学

[中国图书资料分类号] R 737.33 [文献标识码] A

Detection of human papillomavirus in the lymph node of cervical carcinoma and its clinical significance

JIN Li-jie^{1,2}, SHENG Qing-wen², XI Yu-ling², CHENG Ze-nong³, LING Bin¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Anhui Provincial Hospital, Anhui Medical University, Hefei Anhui 230032;

2. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004;

3. Department of Pathology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To detect the expression of human papillomavirus (HPV) in the lymph node of cervical carcinoma, and to investigate the relationship between the expression of HPV in the lymph node and clinicopathologic parameters of cervical carcinoma. **Methods:** The expression of HPV in the lymph node of 42 cases of squamous cervical carcinoma was analyzed retrospectively by S-P immunohistochemical method. The association between HPV expression and clinicopathologic parameters of the cervical carcinoma was assessed. **Results:** The expression of HPV in the lymph node was correlated with the clinical stage and lymph node metastasis of cervical carcinoma ($P=0.029$ and $P<0.05$), but was not related to the age of patients ($P=1.000$). **Conclusions:** Expression of HPV in lymph node may act as a useful reference index in predicting lymphatic metastasis and prognosis of cervical carcinoma.

[Key words] cervical neoplasms; human papillomavirus; immunohistochemistry

子宫颈癌是女性第二大恶性肿瘤,虽然近年来发病率和病死率有下降趋势,但发病呈现年轻化倾向,严重危害广大女性患者的身体健康。大量研究结果证实,人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)是导致宫颈癌发生的主要致病因子,99%宫颈癌组织中可检测出 HPV,其中高危型 HPV 16、18 在宫颈癌中的检出率高达 65%~72%^[1]。本研究采用免疫组化技术,检测宫颈癌组织中 HPV 的表达情况,探讨 HPV 的表达与宫颈癌的临床病理参数的关系。

1 材料与方法

1.1 标本及临床病理资料 收集蚌埠医学院第一附属医院 2001~2007 年行手术切除的宫颈癌石蜡

标本 42 例。术前均未行放、化疗或激素治疗。采用国际妇产科联盟(FIGO 2000)的临床分期标准,子宫颈癌 I 期 27 例,II 期 15 例。病理分级:高、中、低分化分别为 14、16 和 12 例。年龄 26~70 岁。首先用免疫组化方法检测 42 例子宫颈癌原发癌灶 HPV 表达,其中 HPV 表达阳性 31 例。

1.2 主要试剂 高危型 HPV 16/18 鼠抗人单克隆抗体、ADB 酶底物显色系统为美国 Maxin 公司产品,超敏 SP(鼠/兔)试剂盒由北京中山生物技术有限公司提供。

1.3 实验方法 采用免疫组化链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶连接(S-P 法)检测 HPV,用试剂公司提供的已知阳性切片作为阳性对照,PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。4 μm 连续切片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱水,微波抗原修复;每张切片滴加 50 μl 3% 过氧化氢溶液,阻断内源性过氧化物酶的活性;切片加 1 滴非免疫性动物血清后,加 50 μl 第一抗体,另加 50 μl 生物素标记的第二抗体,每张切片加 1 滴链亲和素-过氧化物酶溶液;每张切片加 2 滴新鲜配制 DAB 溶液,显微镜下观察 5~10 min,苏木素复染 40 s,自来水冲洗,氨水返蓝;梯度乙醇

[收稿日期] 2008-02-02

[作者单位] 1. 安徽医科大学附属省立医院 妇产科,安徽 合肥 230032; 2. 蚌埠医学院第一附属医院 妇产科,安徽 蚌埠 233004; 3. 蚌埠医学院 病理学教研室,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 靳丽杰(1972-),女,副主任医师。

[通讯作者] 凌 斌,研究生导师,主任医师,教授。

脱水,二甲苯透明,中性树脂胶封固。

1.4 HPV 免疫组织化学染色结果判定 由两位病理医师采用盲法读片,HPV 免疫组化染色定位于细胞核内,信号染色呈棕褐色。

1.5 统计学方法 采用 χ^2 检验和四格表确切概率法。

2 结果

2.1 淋巴结 HPV 检出率与子宫颈癌临床病理参数的关系 子宫颈癌原发病灶 HPV 16/18 阳性患者中,FIGO 分期 I 期和 II 期子宫颈癌淋巴结 HPV 检出率分别为 35.29% 和 78.57%,随着子宫颈癌临床分期的增加,淋巴结 HPV 检出率明显增高 ($P = 0.029$)。子宫颈癌患者淋巴结中 HPV 的检出率与患者的发病年龄无关,发病年龄 ≤ 40 岁组和发病年龄 > 40 岁组的子宫颈癌患者淋巴结 HPV 检出率分别为 46.15% 和 50.00%,两组差异无统计学意义 ($P = 1.000$) (见表 1)。

表 1 淋巴结 HPV 检出率与子宫颈癌临床分期和发病年龄的关系

临床病理参数	n	淋巴结 HPV 表达		阳性表达率 (%)	P
		阴性	阳性		
临床分期					
I	17	11	6	35.29	0.029
II	14	3	11	78.57	
发病年龄					
≤ 40 岁	13	7	6	46.15	1.000
> 40 岁	18	9	9	50.00	

2.2 淋巴结 HPV 检出率与子宫颈癌淋巴结转移的关系 31 例 HPV 阳性标本淋巴结转移 16 例,未转移 15 例。收集 16 例淋巴结转移子宫颈癌患者淋巴结共 64 个,转移淋巴结 29 个,非转移淋巴结 35 个,转移淋巴结和非转移 HPV 阳性率分别为 82.76% 和 54.29%;两组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (见表 2)。

表 2 转移淋巴结和非转移淋巴结 HPV 检出率比较

分组	淋巴结个数	淋巴结 HPV		阳性率 (%)	χ^2	P
		阴性	阳性			
转移淋巴结	29	5	24	82.76		
非转移淋巴结	35	16	19	54.26	5.83	< 0.05
合计	64	21	43	67.19		

3 讨论

大量研究结果证实,HPV 是导致子宫颈癌发病的主要致病因子,99% 子宫颈癌组织中可检测出

HPV^[2],其中高危型 HPV 16、18 在子宫颈癌中的检出率高达 65% ~ 72%^[3]。HPV 急性感染后可有三种临床过程:(1) 隐匿性感染。HPV 基因组作为非整合的游离基因,处于稳定状态,在宿主体内潜伏,鳞状上皮无明显改变。(2) 活动性感染。表现为 HPV 的大量持续复制,使鳞状上皮增生为良性疣或乳头状瘤。(3) HPV 基因组整合入宿主基因组,干扰癌基因和抑癌基因的表达,临床上表现为高级病变,即 CIN 2 级以上的病变。高危型 HPV 的持续性感染及 HPV DNA E6/E7 的整合与子宫颈癌发生有关^[4]。Kobayashi 等^[5]报道病理转移淋巴结中存在 HPV,Czeglédy 等^[6]报道子宫颈癌组织学阴性淋巴结 HPV 检出率为 60%,转移淋巴结中 HPV 阳性率为 91%。本实验结果显示,子宫颈癌淋巴结组织学阴性 HPV 检出率为 54.26%,转移淋巴结中 HPV 阳性率为 82.76%,低于文献报道,考虑以前大部分学者用 PCR 方法检测,其污染和假阳性问题难以控制,本实验用免疫组化方法,可以在一定程度上减少假阳性。

子宫颈癌淋巴结 HPV 的表达与 FIGO 分期与年龄的关系,国内外报道较少。本研究发现,在感染 HPV 的子宫颈癌患者中,FIGO 分期晚者,淋巴结 HPV 阳性检出率明显增高 ($P = 0.029$)。国外文献报道,HPV 感染呈现年轻化趋势,本研究以 40 岁为界, ≤ 40 岁患者其淋巴结 HPV 阳性率高于 > 40 岁者,但差异无统计学意义,淋巴结 HPV 表达率与年龄无明显关系 ($P = 1.000$)。

[参 考 文 献]

[1] Cheng X, Cai SM, Li ZT. The research advance of micrometastasis in patients with cervical carcinoma [J]. *Foreign Med Sci Oncol Sect*, 2005, 32(9): 711 - 713.

[2] Ylitalo N, Josefsson A, Melbye M, et al. A prospective study show in a long term infection with human papilloma virus 16 before the development of cervical carcinoma in situ [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(21): 6 027 - 6 032.

[3] Schlecht NF, Trevisan A, Duarte-franco E, et al. Viral load as a predictor of the risk of cervical in cervical intraepithelial neoplasia [J]. *Int J Cancer*, 2003, 103(4): 519 - 524.

[4] Ho GY, Bieman R, Beardley L, et al. Natural history of cervical vaginal papilloma virus infection in young women [J]. *N Engl J Med*, 1998, 338(7): 423 - 428.

[5] Kobayashi Y, Yoshinouchi M, Tianqi G, et al. Presence of human papillunavirus DNA in pelvic lymph node can predict unexpected recurrence of cervical cancer in patients with histologically negative lymph node [J]. *Clin Cancer Res*, 1998, 4(4): 979 - 983.

[6] Czeglédy J, Iosif C, Forslund O, et al. Detection of human papilloma virus DNA in lymph nodes extirpated at radical surgery for cervical cancer is not predictive of recurrence [J]. *J Med Virol*, 1998, 54(3): 183 - 185.