

湖北钟祥河南移民与湖北本地居民食管鳞状细胞癌组织中 HPV 感染的比较

姚品芳¹, 黄环元¹, 付由高¹, 李广灿¹, 夏和顺², 杨小玲²,
王瑞勤³, 王锡印³, 沙聚伟³

The Compare of HPV Infection in Esophageal Carcinoma in Henan Emigration of Hubei Zhongxiang and Hubei Native Residenter

YAO Pin-fang¹, HUANG Huan-yuan¹, FU You-gao¹, LI Guang-can¹, XIA He-shun², YANG Xiao-ling², WANG Rur-qin³, WANG Xi-yin³, SHA Ju-wei³

1. Hubei Cancer Institute, Wuhan 430079, China; 2. Department of Pathology, Hubei Cancer Hospital; 3. Zhongxiang Chaihu Hospital

Abstract :Objective To investigate the HPV infection in esophageal carcinoma in Henan emigration of Hubei Zhongxiang and Hubei native residenter, and their relations to progression of esophageal carcinoma. **Methods** Immunohistochemical analysis was performed in 82 human esophageal carcinoma tissue. The adjacent normal esophageal mucosa was used as normal controls. **Results** The PV positive rate was 75%, 68.18% and 72.5%, respectively in esophageal carcinoma tissues from Zhongxiang, Hubei Marcheng and Hubei cancer hospital. The HPV positive rate was 45%, 36.36% and 37.5%, respectively. The PV and HPV were negative in all the adjacent normal esophageal mucosa. No correlation was found between existence of HPV in esophageal squamous carcinoma tissues and in grade, esophageal squamous carcinoma cell. **Conclusion** HPV positive cells can be found in Hubei Zhongxiang and the other areas. The HPV infection might be involved in the pathogenesis of squamous cell carcinoma of the esophagus in some regions.

Key words: Human papillomavirus; Esophageal carcinoma; Immunohistochemistry

摘要:目的 探讨湖北钟祥河南移民与湖北本地居民食管鳞状细胞癌组织中乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染的情况。方法 应用免疫组化 S-P 方法,检测 82 例食管癌组织中 PV 和 HPV 感染情况。以正常食管手术残端黏膜组织作正常对照。结果 钟祥食管癌高发区、麻城地区、湖北省肿瘤医院标本中 PV 阳性感染率分别为 75%、68.18%、72.5%。HPV 分别为 45%、36.36%、37.5%。PV、HPV 的阳性表达与食管鳞癌具有显著相关($P < 0.05$)。正常食管黏膜组织中 PV、HPV 均为阴性。结果未发现 PV、HPV 阳性细胞与食管癌细胞分化程度有明显相关性($P > 0.05$)。在三组研究对象之间 PV、HPV 的阳性率未显示统计学差异($P > 0.05$)。结论 湖北钟祥河南移民及湖北其他地区居民食管癌组织中可能存在 HPV 感染。HPV 在一定的地域环境中与食管癌发生、发展的关系可能具有普遍意义。

关键词: 乳头状瘤病毒;食管癌;免疫组织化学

中图分类号: R735.1;R73-31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2005)01-0046-03

0 引言

60 年代因迁入河南淅川食管癌高发区 4 万人口后湖北省钟祥柴湖乡成为新的食管癌高发地区(131/10 万)。2004 年初我院对柴湖乡再次进行流

行病学调查结果显示,食管癌的发病率、死亡率较 70 年代仍具有上升趋势。有关乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染与该地区食管癌发生的关系目前未见报道。本研究旨在发现湖北钟祥河南移民存在 HPV 感染的证据,探讨 HPV 的感染是该区河南移民独特现象还是食管癌患者的普遍现象,进一步了解 HPV 感染与食管癌发生的关系。

收稿日期:2004-07-01;修回日期:2004-08-20

基金项目:湖北省科技厅科技攻关项目资助课题(2004AA304B08)

作者单位:1. 430079 武汉,湖北省肿瘤研究所,2. 湖北省肿瘤医院病理科;3. 湖北钟祥柴湖乡卫生院

1 材料与方法

1.1 材料来源

收集湖北钟祥柴湖乡卫生院经手术切除的食管鳞状细胞癌组织存档蜡块 20 例。年龄 41~70 岁,平均年龄 58 岁。核查病历证实,20 名患者均为河南移民。同时,收集湖北省肿瘤医院散发的经手术切除的食管鳞状细胞癌存档蜡块 40 例,年龄 37~75 岁,平均年龄 56.9 岁。湖北麻城地区 22 例,年龄 33~67 岁,平均年龄 55.7 岁。核查病历证实,62 名患者均为湖北籍。

全部标本在实验前均进行常规 HE 染色,再次病理证实并进行病理分级。经病理证实形态学正常的食管手术残端黏膜组织作为正常对照。

1.2 PV、HPV(16/18-E6)免疫组化检测

乳头状瘤病毒(PV)多克隆抗体和 HPV16/18-E6 单克隆抗体、免疫组化试剂盒购自福州迈新生物技术公司,按试剂盒说明书操作。实验设阴性、阳性对照和正常对照。

1.3 PV、HPV 染色结果评估标准

以镜下观察胞核、胞浆呈深蓝或深棕色颗粒染色为阳性细胞。高倍镜随机观察 5 个视野,阳性率大于 10%,即可判定为阳性。

1.4 统计学处理

采用 SPSS10.0 统计软件进行秩和检验。 $P < 0.05$ 为显著性差异。

2 结果

2.1 PV(1/100)免疫组化检测结果

20 例钟祥食管癌高发区的食管鳞状细胞癌组织标本中检出 15 例 PV 感染,阳性率 75%;麻城地区的 22 例检出 15 例 PV 感染,阳性率 68.18%;湖北省肿瘤医院散发的 40 例标本中有 29 例 PV 感染,阳性率为 72.5%。PV 的表达与食管癌具有显著相关性($P < 0.05$),正常食管黏膜组织中 PV 为阴性。结果显示,PV 感染与食管鳞状细胞的分化程度无明显相关性($P > 0.05$)。三组研究对象之间 PV 感染的阳性率没有显著差异($P > 0.05$)。重复实验时将 PV 工作浓度提高一倍(1/50),除阳性颗粒着色信号增强外,PV(1/100)与 PV(1/50)感染的阳性率结果一致,见图 1。

2.2 HPV(16/18-E6)免疫组化检测结果

钟祥食管癌高发区 20 例食管鳞癌组织中检出 9 例 HPV 感染,阳性率 45%;麻城地区 22 例标本中检出 8 例 HPV 感染,阳性率为 36.36%;湖北省肿瘤医院 40 例标本 HPV 阳性率 37.50%。统计学分析显示 HPV 的感染与食管癌具有明显相关性(P

< 0.05),正常食管黏膜组织 HPV 为阴性。结果未发现在 HPV 感染与食管鳞癌细胞分化程度有明显相关性。三组研究对象之间 PV 感染的阳性率没有显著差异。与 PV 的免疫组化检测结果一致,见图 2、3。

3 讨论

HPV 感染与食管癌病因学的关系远不如其与宫颈癌那样确切。既往研究显示,不同国家和不同地区食管癌组织具有不同的 HPV 感染率,但也有完全阴性结果。因此,HPV 感染与食管癌的病因学关系目前尚未定论^[1]。Chang 等^[2]用 35S 标记的 HPV 探针对我国林县的 51 例食管癌标本进行原位杂交,结果发现 HPV16 DNA 阳性率 43.1%,HPV16、18 占阳性率的 72.7%。陆士新等^[3]在 1995 年报道了采用 Southern blot 法(HPV16/18 探针)和 PCR 方法(HPV 公共引物)分析了从河南林县收集的 87 例食管鳞癌标本,其结果未发现一例食管癌或癌旁上皮组织中有任何类型 HPV 存在。柯杨^[4]对河南安阳食管癌高发区以及北京肿瘤医院散发食管癌病例 43 例和内蒙地区蒙族人群食管癌 32 例进行 HPV16-E6 的 ISH 检测结果显示,三个不同地区的食管癌病例均有较高的 HPV 阳性率。提示 HPV 感染在食管癌发生上具有普遍意义。我们的研究首次报道了湖北钟祥食管癌高发区河南移民和湖北省内本地居民食管组织中 HPV 感染与食管癌发生的关系。结果显示,三个地区的食管鳞癌组织标本中均检出有较高的 PV 和 HPV(16/18-E6)阳性率,与柯杨报道结果一致。结果还显示,所有 HPV 感染阳性病例均与 PV 阳性一致。HPV(16/18-E6)主要与病毒的细胞转化功能及致癌性有关,是病毒的主要癌蛋白。PV 为乳头状瘤多克隆抗体,可广谱检测 HPV,而 HPV(16/18-E6)是 HPV 感染宿主过程中保留在宿主染色体区域的基因,更具有敏感性。这一分析与我们的实验结果 HPV 感染的阳性率低于 PV 一致。

食管癌的分布具有明显的地理差异,地理环境不同,食管癌的病因也有差别。不同国家的食管癌标本,HPV 感染率不同,刘艳丽和马群凤^[5,6]的研究进一步证实了即使是在同一地区的食管癌,HPV 感染也有差别。我们对湖北钟祥食管癌高发区河南移民和湖北本地居民 HPV 感染情况的研究结果与柯杨报道的结果一致。钟祥食管癌高发区的食管癌病例均为河南籍移民,他们的生活、饮食习惯与湖北当地食管癌患者均具有明显差异。我们在研究中发现,三个地区食管癌标本中 PV、HPV 的阳性率没

有统计学差异。这一结果可能提示 HPV 感染在食管癌发生中具有普遍意义。

检测食管鳞癌组织标本 HPV 感染的方法很多。研究前期我们采用免疫组织化学方法检测了 PV 和 HPV 在湖北省各地区人群中食管癌的情况,已获得了不同地区 HPV 感染的证据。那么,湖北钟祥河南籍移民原籍浙川当地食管癌病例中 HPV 感染情况又如何?湖北其他地区如英山(胃癌高发地区,目前已收集部分标本)的食管癌的发生与 HPV 的关系?钟祥食管癌高发区与其他地区正常人群食管黏膜组织中 HPV 的检出率是否也无显著差异?食管癌变被认为是一个多阶段、进行性的发展过程。那么,钟祥河南移民食管癌的高发除了可能的遗传因素和 HPV 感染因素外是否还存在其他独特的致病因素?对上述问题我们即将应用 PCR 和原位杂交方法 (ISH) 作进一步的研究。

(本文图见封 3)

参考文献:

- [1] 王修杰,王旭华,王朝俊,等. 人乳头状瘤病毒与食管癌的病因学关系[J]. 中国肿瘤临床,1998,25(4):270-273.
- [2] Chang FJ, Syrjanen S, Shen Q, et al. Human papillomavirus (HPV) DNA in esophageal precancer lesions and squamous cell carcinoma from china[J]. Int J cancer, 1990, 45(1):21-25.
- [3] 陆士新,罗凤歧,李华川,等. 食管癌和癌旁上皮中乳头状瘤病毒的检测[J]. 中华肿瘤杂志,1995,17(5):321-324.
- [4] 柯杨. 乳头状瘤病毒与人类肿瘤[J]. 北京大学学报,2002,3(5):599-603.
- [5] 刘艳丽,李学民,靳国梁,等. 河北省磁县食管癌高发区食管鳞状细胞组织 HPV 检测及 FHIT 表达的研究[J]. 癌症,2003,22(5):492-495.
- [6] 马群凤,江红,冯永强,等. 人食管鳞状细胞癌标本中乳头状瘤病毒 DNA 的检测[J]. 世界华人消化杂志,2000,8(11):1218-1224.

[编辑:周永红;校对:刘红武]

湖北钟祥河南移民与湖北本地居民食管鳞状细胞癌组织中 HPV 感染的比较

(正文见 46 页)

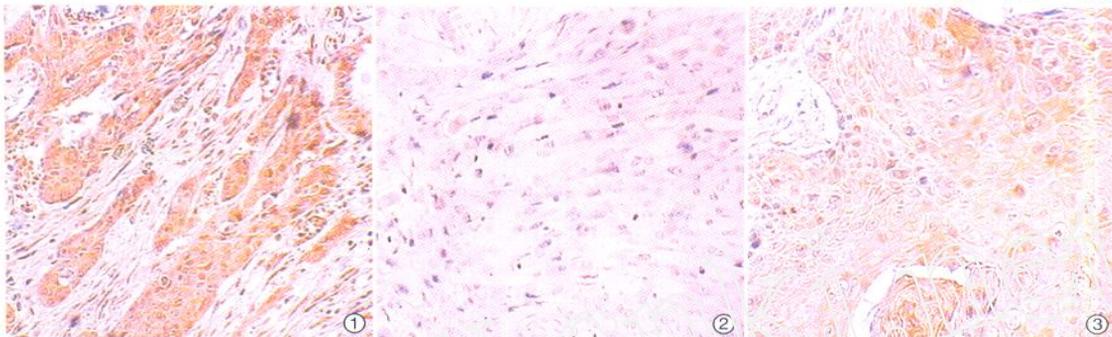


图1 食管癌组织 PV 免疫组化阳性细胞染色 (SF, $\times 400$) 图2 食管癌组织 HPV 免疫组化阴性对照染色 (SP, $\times 400$) 图3 食管癌组织 HPV 免疫组化阳性细胞染色 (SP, $\times 400$)

乳腺肿块针吸细胞学可疑癌的诊断体会

(正文见 37 页)

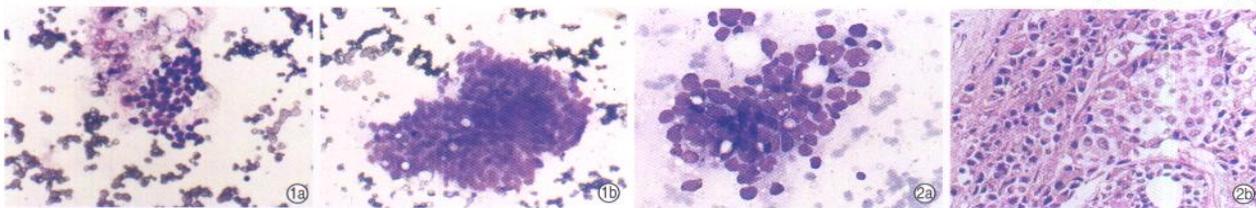


图1 III a 级 细胞成堆单一, 核中度异型($\times 500$)
图2 III b 级细胞成堆重叠明显, 核中-重度异型($\times 500$)
图3 IV 级 细胞成堆重叠明显, 大小不等胞浆少, 染色质粗有核仁($\times 500$)
图4 IV 级 组织学对照, 细胞巢状和/或列兵状排列, 核小深染或核大淡染有核仁($\times 500$)

结肠癌 MMP-9、VEGF 的表达和微血管密度的相关研究

(正文见 30 页)

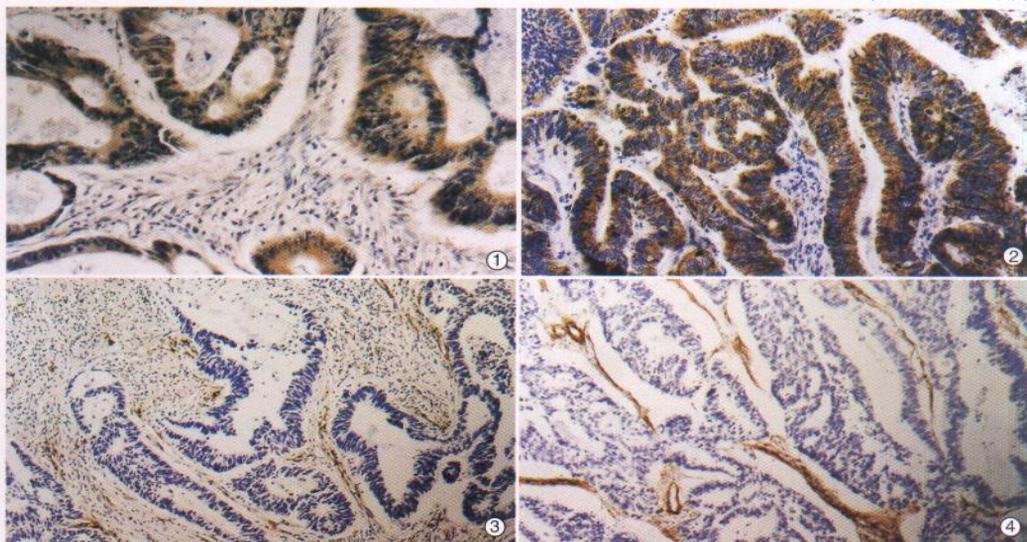


图1 结肠癌 MMP-9 阳性表达, 间质部分细胞亦表达阳性(SP, $\times 200$)
图2 结肠癌 VEGF 呈强阳性表达, 部分间质细胞亦表达慢性(SP, $\times 200$)
图3 可见结肠癌侵袭前缘微血管密度较高(SP, $\times 100$)
图4 可见 IV 型胶原呈现粗细不等、缺损、断裂(SP, $\times 200$)