

# 宫颈癌 p53 外显子 7 突变与 HPV 感染的关系

李惠芳,常艳丽

**摘要:**目的 探讨 p53 外显子 7 突变与 HPV16、18 型感染在宫颈癌发生中的作用及相互关系。方法 采用聚合酶链反应(PCR)、单链构象多态性(SSCP)、限制性酶解片段长度多态性(RFLP)分析等方法对 49 例宫颈癌组织石蜡包埋标本中 p53 外显子 7 的突变与 HPV16、18 型感染进行了检测。结果 p53 外显子 7 的突变率 10.20%,HPV -DNA 阳性率 87.76%, 二者差异显著( $\chi^2=55.901, P<0.001$ ),突变位点多见于密码子 229(1/5)、247(2/5)、249(1/5);HPV16-DNA 阳性率 87.76% 显著高于 HPV18-DNA 阳性率 38.78% ( $\chi^2=23.227, P<0.001$ );p53 外显子 7 突变与 HPV 感染可共存于同一标本中。结论 宫颈癌 p53 外显子 7 突变热点是密码子 229、247、249;少数宫颈癌是由于 p53 外显子 7 突变或 p53 外显子 7 突变与高危 HPV 感染相互作用所致,大多数宫颈癌是由于高危 HPV 感染尤其是 HPV16 感染所致。

**关键词:**宫颈肿瘤;抑癌基因 p53; 基因突变;HPV

**中图分类号:** Q753;R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2002)02-0099-03

## Relationship between p53 (exon 7) mutation and HPV infection in human cervical cancers

LI Hui-fang, CHANG Yan-li

Central Laboratory, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the relationship between p53 (exon 7) mutations and human papillomavirus (HPV) 16, 18 infections in human cervical cancer. **Methods** p53 (exon 7) mutations and HPV16, 18 infections were examined by polymerase chain reaction (PCR) and single strand conformation polymorphism (SSCP) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in the 49 cervical cancers. **Results** Significant difference ( $\chi^2=55.901, P<0.001$ ) between p53 (exon 7) mutations 5/49 (10.20%) and HPV infections 43/49 (87.76%), and significant difference ( $\chi^2=23.227, P<0.001$ ) between HPV16 infections 43/49 (87.76%) and HPV18 infections 19/49 (38.78%) were detected. p53 (exon 7) mutations were in codon 229 (1/5), 247 (2/5), 249 (1/5). p53 (exon 7) mutations and HPV infections were simultaneously found in one cervical cancer. **Conclusion** p53 (exon 7) mutational hot spots existed in the codon 229, 247, 249. p53 (exon 7) mutations and the interaction of p53 (exon 7) mutations and HPV infections are an important factor for a minor part of cervical cancers, but HPV16 infection is an important factor to the major part of the cervical cancers.

**Keywords:** Cervical carcinoma; Suppressor p53; Gene mutation; HPV

p53 基因突变及人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV) 16、18 型感染都与宫颈癌的发生有关。宫颈癌组织中 p53 基因突变率较低,报道为 3%~20%,主要发生在外显子 5、6、7、8<sup>[1-4]</sup>,尤其外显子 7 突变率最高,报道为 5%~9%<sup>[2,3]</sup>,宫颈癌 p53 外显子 7 的突变热点未见报道,但是其它实体

瘤 p53 外显子 7 突变热点是 247、249<sup>[5,6]</sup>。关于 p53 基因突变与 HPV 感染在宫颈癌发生中的相互作用报道不一<sup>[7]</sup>。本研究采用 PCR、SSCP、限制性酶切片长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)分析等方法,对 49 例宫颈癌组织石蜡包埋标本中 p53 外显子 7 突变及 HPV16、18 型感染进行了检测与分析,旨在探讨它们在宫颈癌发生中的作用及相互关系。

### 1 材料和方法

1.1 标本 参见文献[8]。

收稿日期:2001-04-05; 修回日期:2001-07-21

基金项目:山西省自然科学基金资助项目(94036)

作者单位:046000 山西省长治医学院中心实验室

1.2 引物 北京大学医学部分子病理学实验室合成,引物序列、扩增片段长度见表 1。

表 1 引物序列和扩增片段长度

引物名称	引物序列	扩增片段长度(bp)
HPV16	a 5' AGCTCAGAGGAGGAGGATGA -3'	203
	b 5' GGTTTCTGAGAACAGAGTGG -3'	
HPV18	a 5' GAGCCCCAAAATGAAATTCC -3'	244
	b 5' CAAAGGACAGGGTGTTCAGA -3'	
p53 外显子 7	a 5' CTAAGGTTGGCTCTGACTGTACCA -3'	118
	b 5' TGACCTGGAGTCTCCAGTGTG -3'	

1.3 DNA 的提取与检测 参见文献[8]。

1.4 PCR 扩增与产物检测 参见文献[8,9]。

1.5 SSCP 分析 参见文献[10]。判断标准:与正常宫颈组织比较,有 DNA 条带增减或异位者判断为突变。

1.6 RFLP 分析 参见文献[9]。

2 结果

表 249 例宫颈癌 p53 外显子 7 突变与 HPV 感染的关系

检测类型	检测例数	阳性例数	阳性率(%)	<sup>2</sup>	P *
p53 外显子 7	49	5	10.20	55.901	<0.001
HPV16	49	43	87.76		
HPV18	49	19	38.78	23.227	<0.001

\* :p53 外显子 7 组、HPV18 组分别与 HPV16 组比较

表 35 例宫颈癌 P53 外显子 7 突变与其 HPV 感染的关系

序号	病理号	病理分级	内切酶	酶切位点(密码子)	突变位点	HPV-DNA
7	7985 <sub>1</sub>	低分化浸润癌	可被以下三种内切酶彻底水解 ~		~	阴性
11	6877 <sub>3</sub>	中分化浸润癌	MspI	C CGG(247)	C CGG	HPV16-DNA 阳性
21	7194 <sub>1</sub>	中分化浸润癌	RsaI	GT AC(229)	GT AC	HPV16、18 -DNA 阳性
40	5967 <sub>1</sub>	原位癌	Hae	GG CC(249)	GG CC	HPV16-DNA 阳性
46	4900	中分化浸润癌	MspI	C CGG(247)	C CGG	HPV16-DNA 阳性

注: 示酶切位点; 示不能被酶水解

表 4 宫颈癌 HPV16、18 型间的重叠感染

感染类型	检测例数	感染例数	感染率 %
16	49	24	48.98
16、18	49	19	38.78
总计	49	43	87.76

3 讨论

p53 是最重要的抑癌基因之一,该基因突变是人类恶性肿瘤最常见的分子改变。据报道,大多数实体瘤 p53 基因突变率 50% 左右,但是宫颈癌 p53 突变

49 例宫颈癌组织 p53 外显子 7 的 PCR-SSCP 分析,可见 5 例宫颈癌有 p53 外显子 7 的突变。PCR-RFLP 分析,可见 4 例在相应的内切酶位点处有突变。p53 外显子 7 突变与 HPV 感染的关系见表 2。p53 外显子 7 突变与 HPV-DNA 阳性可共存于同一宫颈癌标本中,见表 3。HPV16、18 型间有重叠感染,见表 4。

率较低,约 3% ~ 20%, 突变主要发生在第 5、6、7、8 外显子<sup>[1-4]</sup>,尤其第 7 外显子突变较多,突变率 5% ~ 9%<sup>[2,3]</sup>,宫颈癌组织中 p53 外显子 7 的突变热点未见报道,但是其它实体瘤 p53 外显子 7 的突变热点是密码子 247、249<sup>[5,6]</sup>。也有报道宫颈癌的发生主要与 HPV16、18 型感染有关,是否有重叠感染报道不一<sup>[2,3,11,12,13]</sup>,且 HPV 感染的同时是否有 p53 基因突变也报道不一致<sup>[7]</sup>。

研究发现:(1) p53 外显子 7 的突变率 10.20% (5/49),与前述报道基本相符<sup>[2,3]</sup>,HPV 感染率 87.

76% (43/49), 二者差异显著 ( $\chi^2 = 55.901, P < 0.001$ ), 突变位点多见于密码子 229 (1/5)、247 (2/5)、249 (1/5), 且 HPV 感染的同时有 p53 外显子 7 突变。(2) HPV16 型感染率 87.76% (43/49) 显著高于 HPV18 型感染率 38.78% (19/49) ( $\chi^2 = 23.227, P < 0.001$ ), 且有 HPV18 型感染者必有 HPV16 型感染, 说明: HPV16、18 型可重叠感染, 且 HPV16 是宫颈癌的主要感染因子, 这一结果与前述报道不完全一致<sup>[2,3,11,12,13]</sup>。近年来有的研究结果与本研究结果类似<sup>[3,7]</sup>, 但由于他们的研究侧重与比较宫颈癌与非宫颈癌组织中 HPV 感染情况, 对于宫颈癌本体中 HPV 各型间的感染关系未加以分析。

综上所述, 本研究结果提示: 宫颈癌 p53 外显子 7 突变热点是密码子 229、247、249; 少数宫颈癌是由于 p53 外显子 7 突变或 p53 外显子 7 突变与 HPV 感染相互作用所致, 大多数宫颈癌是由于高危 HPV 感染尤其是 HPV16 感染所致。

参考文献:

[1] Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, et al. Mutations in the p53 tumor suppressor gene[J]. Cancer Res, 1994, 54 (18): 4855-4878.  
 [2] 赵温利, 温培娥, 崔树龄, 等. 人乳头状瘤病毒感染、p53 基因突变与宫颈癌的相关性研究[J]. 山东医科大学学报, 1998, 36 (1):

1-4.  
 [3] 赵蔚明, 司静懿, 李昆, 等. 宫颈癌 p53 抑癌基因突变与病毒感染的研究[J]. 中华妇产科杂志, 1995, 30 (11): 654-657.  
 [4] 李惠芳. 抑癌基因 p53 与宫颈癌[J]. 长治医学院学报, 1996, 10 (3): 287-290.  
 [5] Hsu IC. Mutational hot spots in the p53 gene in human epithelial carcinomas. Nature, 1991, 350: 427-431.  
 [6] 朱明华, 王文亮. 肿瘤抑制基因 p53 突变与原发肝癌的关系[J]. 中华肿瘤杂志, 1993, 15 (4): 245-247.  
 [7] Nagn HY, Stanley M, Liu SS, et al. HPV and p53 in cervical cancer[J]. Genitourin Med, 1994, 70: 167-172.  
 [8] 李惠芳, 李娜. 宫颈癌人乳头状瘤病毒感染与 p53 蛋白表达的关系[J]. 长治医学院学报, 1998, 12 (13): 163-166.  
 [9] 张娜, 李惠芳, 常艳丽, 等. 宫颈癌 p53 外显子 7 突变与 p53 蛋白高表达的关系[J]. 山西医药杂志, 2001, 30 (2): 100-101.  
 [10] 金冬雁, 黎孟枫. 分子克隆实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1992. 325-331.  
 [11] 任占平, 石喆, 陈蔚麟, 等. 宫颈癌人乳头状瘤病毒 16 及 18 型感染与多癌基因产物表达的关系[J]. 中华妇产科杂志, 1998, 33 (3): 173-174.  
 [12] Howley PM. Role of the human papillomavirus in human cancer[J]. Cancer Res, 1991, 51 (18 suppl): 5019s-5022s.  
 [13] Nuovo GJ, Darfler MM, Impraim CC, et al. Occurrence of multiple types of human papillomavirus in genital tract lesions[J]. Am J Pathol, 1991, 138 (1): 53-58.

(周永红校对)

## 髓母细胞瘤的 CT 诊断(附 50 例分析)

关长群<sup>1</sup>, 刘雪虹<sup>2</sup>, 杨本强<sup>1</sup>

关键词: 髓母细胞瘤; 体层摄影术; X 线计算机

中图分类号: R739.41; 730.44 文献标识码: B

文章编号: 1000-8578 (2002) 02-0101-01

目前 CT 在诊断髓母细胞瘤方面虽有经验, 但也经常遇到一些非典型 CT 表现的特殊病例误诊为其他颅内肿瘤。为进一步提高髓母细胞瘤的 CT 诊断水平, 对经 CT 检查, 并经手术病理证实的 50 例髓母细胞瘤总结如下。

### 1 材料与方法

50 例中, 男 26 例, 女 24 例。年龄 2 岁~37 岁。主要临床表现: 头痛、呕吐、视力减退、走路不稳。全部病例经 CT 检查, 并经手术病理证实。

### 2 结果

CT 表现: 肿瘤位于小脑蚓部 38 例, 小脑半球 8 例, 第四脑室 4 例。CT 平扫均匀稍高密度区 23 例, 见图 1。混合密度区 12 例, 等密度区 9 例, 略均匀低密度区 4 例。强化后, 肿瘤均匀增强 31 例, 见图 2~4。不均匀增强伴有低密度囊变区 12 例, 见图 5。环壁及结节状增强及单个环状增强各 1 例。肿瘤呈类圆形 32 例, 不规则形 18 例; 伴点状或条状钙化 5 例。肿瘤大小 2.0cm~5cm, 境界清楚 42 例, 模糊不清 8 例; 周围环绕轻度或中度低密度水肿区 21 例。第四脑室受压变形或闭塞 42

例; 幕上脑室积水扩大 38 例。术前 CT 诊断正确 37 例, 诊断正确率为 74% (37/50), 诊断不符 13 例。

### 3 讨论

典型髓母细胞瘤的 CT 表现为小脑蚓部或第四脑室 CT 平扫呈类圆形略均匀稍高密度区, 可伴有点状钙化, 肿瘤中等均匀增强, 境界清楚, 边缘毛糙或分叶状, 第四脑室充填消失或受压变扁移位、幕上脑室积水扩大; 临床上病人好发年龄在 15 岁以下的小儿、儿童及少年。不典型髓母细胞瘤的 CT 表现: 位于小脑蚓部及小脑或第四脑室 CT 平扫呈不规则形或类圆形的低密度区、混合密度区, 可伴有斑点状钙化; 肿瘤不均匀中等增强, 其中见有单个或多个偏心性低密度囊变区, 肿瘤境界清楚, 边缘呈分叶状, 第四脑室受压变扁移位或消失, 幕上脑室积水扩大; 应配合 MRI 检查并结合病人为小儿、儿童及少年应考虑髓母细胞瘤诊断。(本文图见封 2)

(周永红校对)

收稿日期: 2001-04-10; 修回日期: 2001-05-28

作者单位: 1. 110015 沈阳军区总医院放射诊断科, 2. 干一科