

宫颈癌危险因素流行病学研究

王云飞¹ 刘佩莉¹ 俞顺章¹ 钱来娣²

摘要 宫颈癌病因复杂,多数研究者认为是多因素综合作用的结果。本文通过病例-对照研究,应用分子及血清流行病学方法,探讨引起宫颈癌的危险因素。

应用HPV6/11、HPV16/18探针,通过斑点分子杂交技术,检测宫颈癌和对照宫颈组织DNA中的感染,结果病例组和对照组HPV6/11阳性率分别为24.6%、27.5%,差别无显著性,HPV16/18阳性率分别为45.6%、9.8%,差别有显著性;应用PCR技术检测两组宫颈组织DNA中HSV-2感染,结果病例组和对照组阳性率分别为28.1%、7.8%,Logistic回归平衡年龄因素后差别无显著性;应用ELISA方法检测血清中HCMV抗体阳性率,结果病例组和对照组IgM阳性率分别为12.3%、5.9%,差别无显著性。用多因素Logistic回归平衡各因素间的作用,最后分析结果表明,文化程度、产次、HPV16/18感染与宫颈癌的发生有关,其OR值分别为0.57、1.85、31.96。

关键词 癌,宫颈 人乳头瘤病毒 疱疹病毒Ⅱ型 人巨细胞病毒 斑点杂交

宫颈癌病因复杂,多数研究者认为是多因素综合作用的结果。一些研究结果表明,性行为混乱、性卫生不良、初次性交年龄、生殖道病毒感染等在宫颈癌的发生中起重要作用[1~4]。本文采用病例-对照研究,应用分子及血清流行病学方法研究人乳头瘤病毒(HPV)、疱疹病毒Ⅱ型(HSV-2)、人巨细胞病毒(HCMV)与宫颈癌之间的联系,并用Logistic回归分析引起宫颈癌的其它危险因素。

材料与方法

一、标本:病例和对照的宫颈活检或手术后组织经提取DNA后与静脉血分离得到的血清均置-20℃保存,同时用调查表收集有关的流行病学资料。

二、斑点杂交:HPV6、11、16、18DNA重组质粒由德国肿瘤研究所Zur Hausen教授赠送,探针用德国Boehringer Mannheim公司的Digoxigenin-dUTP随机引物标记盒标记,杂交液探针工作浓度为30ng/ml。宫颈组织DNA按每点10μg的量分别点于两张预处理过的硝酸纤维素膜上,然后两张膜分别与Dig-

HPV6/11、Dig-HPV16/18探针杂交,杂交温度为42℃(杂交液含50%甲酰胺),杂交后膜经漂洗、封闭后,与碱性磷酸酶偶联物亲和,再催化底物5-溴-4-氯-3-吲哚磷酸盐(BCIP)和硝基蓝四唑盐(NBT)显色反应。

三、多聚酶链反应:宫颈组织DNA标本用PCR方法检测HSV-2 DNA。HSV-2引物设计及实验方法由上海第二医科大学生化教研室陈诗书教授提供[5]。

四、酶联免疫吸附法:

1.抗原制备:病毒抗原(HCMV-Ag),自行建株人胚肺细胞接种AD-169,病变后收集,超声波粉碎;正常抗原(HL-Ag),取同一代细胞,未接种AD-169,处理方法同上;

2.酶标抗体:酶标记鼠抗人IgM单克隆抗体,批号为8701,购自卫生部上海生物制品研究所,酶标记羊抗人IgG购自丹麦DAKO公司;

3.操作方法:按ELISA常规进行;

1 上海医科大学流行病学教研室 200032

2 上海医科大学附属妇产科医院

4.结果判定：吸光度比法，用自动酶标光度计（美国EL309型），波长490nm测OD值。

五、统计分析方法：选取年龄（≤44岁，45~59岁，≥60岁）、文化程度（文盲，识字，小学，中学，大专以上），经期每日清洗（有，无）、初次性交年龄（岁）、初产年龄（岁）、产次、同房前清洗（有、无）、本人婚次、本人婚外性伴侣数、宫颈糜烂（有、无）、丈夫婚外性伴侣数、HPV6/11感染、HPV16/18感染、HSV-2感染、HCMV感染等15项指标进行统计分析。

统计方法用Logistic回归进行单因素分析，在单因素分析基础上选择有显著性意义的因素进行多因素的Logistic回归分析。

结 果

一、核酸分子斑点杂交结果：57例病例和51例对照宫颈组织DNA用Dig-HPV 6/11、Dig-HPV16/18探针杂交结果见表1。

表1 57例病例和51例对照HPV检测结果

	HPV6/11			HPV16/18		
	+	-	阳性率(%)	+	-	阳性率(%)
病例	14	43	24.56	26	31	45.61
对照	14	37	27.45	5	46	9.80

用单因素Logistic回归分析，平衡年龄因素，两组HPV6/11阳性率差别无显著性意义，病例组HPV16/18阳性率显著高于对照组，见表2。

二、PCR方法检测 HSV-2 DNA结果：57例病例及51例对照宫颈组织DNA标本用PCR方法扩增后检测HSV-2 DNA,结果见表3。

用单因素Logistic回归分析，平衡年龄因素，两组阳性率差别无显著性意义，见表2。

三、ELISA方法检测HCMV抗体结果：57例病例和51例对照血清用ELISA方法检测

IgM抗体的阳性率，见表4。

表2 单因素Logistic回归分析(平衡年龄)

危险因素	β值	P值	OR
文化程度	-0.7350	<0.001*	0.4759
经期每日清洗	1.808	0.039*	6.161
初次性交年龄	-0.2060	0.014*	0.8139
初产年龄	-0.1557	0.044*	0.8558
产 次	0.6599	<0.001*	1.935
同房前清洗	0.9491	0.021*	2.583
本人婚次	1.961	0.087	7.107
本人婚外性伴侣数	-0.1736	0.892	0.8406
宫颈糜烂	2.050	0.012*	7.770
丈夫婚外性伴侣数	0.1247	0.868	1.133
HPV6/11 DNA	0.1230	0.814	1.131
HPV16/18 DNA	2.605	<0.001*	13.54
HSV-2 DNA	0.6633	0.311	1.941
HCMV-IgM	0.4025	0.648	1.496

* P<0.05

表3 108例宫颈组织DNA标本PCR检测 HSV-2 DNA结果

	HSV-2		阳性率(%)
	+	-	
病例	16	41	28.1
对照	4	47	7.8

表4 HCMV-IgM抗体检测结果

	HCMV-IgM		阳性率(%)
	+	-	
病例	7	50	12.3
对照	3	48	5.9

用单因素Logistic回归分析，平衡年龄因素，两组IgM抗体阳性率差别无显著性意义，见表2。

四、宫颈癌危险因素的Logistic回归分析：

1.单因素分析：用Logistic回归分析，平衡年龄因素，达到显著性水平的为：文化程

度、经期每日清洗、初次性交年龄、初产年龄、产次、同房前清洗、宫颈糜烂、HPV16/18感染等8个因素，见表2。

2.危险因素的多因素分析：根据单因素分析所得到的有显著意义的8个因素，再用Logistic回归进行多因素分析，结果在模型中有显著意义的因素为文化程度、产次、HPV16/18感染，见表5。

表5 多因素分析Logistic回归分析(平衡年龄)

危险因素	β值	P值	OR
文化程度	-0.5685	0.049	0.5664
产次	0.6196	0.003	1.853
HPV16/18感染	3.465	<0.001	31.96

讨 论

国内外研究结果表明，性伴侣数、性卫生不良、初次性交年龄、宫颈糜烂等与宫颈癌发生有关，病毒感染尤其是HPV16、18型感染可能是宫颈癌的重要致病因子。本研究检测了病例组和对照组宫颈组织DNA中HPV6/11、HPV16/18、HSV-2感染及血清中HCMV抗体，结合其它危险因素，用Logistic回归模型进行各因素间的相互平衡，分析得出文化程度、产次、HPV16/18感染与宫颈癌的发生有关。

本实验病例组HPV16/18型检出率为45.6%，与国外文献报道的检出率HPV16型30%~60%、HPV18型10%~20%^[1~6]相近。目前，宫颈HPV的感染已被认为是性传播疾病，性行为混乱、性卫生不良均能增加HPV侵入宫颈上皮细胞的机会，并在宫颈糜烂的基础上使炎症加重而导致细胞恶变。

国内外文献均有报道宫颈癌组病人血清中HSV-2抗体阳性率显著高于对照组，但宫颈组织中HSV-2 DNA检出率低^[2,6,7]。Zur Hausen等^[8]认为HPV16/18与HSV-2有协同致癌作用，HSV-2作为“启动子”反复作用于宫颈上皮细胞，HPV16/18作为“促进子”使

细胞发生恶变。Galloway等^[9]认为HSV-2在宫颈癌发生中可能是起“打了就跑”的作用。本实验在108例病例-对照研究中没有发现两组HSV-2感染有显著性差异，这是否可能与HSV-2在肿瘤发生前存在于宫颈组织而肿瘤发生后已经恢复有关。另外，在HCMV抗体的研究中未发现病例组和对照组之间有显著性差异。由于本次研究样本数偏小，故HSV-2、HCMV在宫颈癌发生中所起的作用仍需进一步研究。

本研究发现文化程度越高，发生宫颈癌的相对危险性越低，OR值为0.57，有保护作用。文化程度与性卫生等有密切的关系，这可能是宫颈癌主要发生于发展中国家^[1]的重要因素之一。

妇女在分娩过程中宫颈易发生撕裂和损伤，而宫颈的撕裂和损伤又使宫颈上皮细胞易受外界致病因子的侵袭，故产次对宫颈癌发生有一定影响，其相对危险度(OR)为1.85。

本文在多因素Logistic回归中分析性卫生和性伴侣数未发现有显著意义的指标，这与本次研究样本数偏小也可能有关；有些调查项目(如性伴侣数等)因涉及个人隐私而不能得到很好的配合，使资料的可靠性受到一定影响；多数宫颈癌病例无以往的宫颈糜烂史记录，使该因素不能得到有效的分析。

Epidemiological Study on Risk Factors of Cervical Cancer Wang Yunfei, Liu Peili, Yu Shunzhang, et al., Department of Epidemiology, Shanghai Medical University, Shanghai 200032

The relationship between cervical cancer and risk factors including virus infection of cervix was studied with methods of molecular and serological epidemiology. DNA extracted from cervical biopsies taken from 57 cases and 51 controls were tested for HPV6/11, HPV16/18 by Dot-blot hybridization and for HSV-2 by PCR. Sera were detected for HCMV-IgM by ELISA. The results and risk factors were ana-

lyzed by logistic regression model.

The multiple logistic regression model results showed that HPV 16/18 infection was an important risk factor, the infection rate was significantly higher in the group of cervical cancer, the OR was 31.96. Other risk factors were the educational level and the number of birth, the OR were 0.57 and 1.85, respectively. The difference of HSV-2 infection of cervix and HCMV-IgM in serum was not significant between the two groups.

Key words Cervical cancer Human papillomavirus Herpes simplex virus type 2 Human cytomegalovirus hominis Dot blot hybridization

参 考 文 献

- 1 Munoz N. Human papillomavirus and cervical cancer. WHO, 1989.
- 2 Fred Rapp, Frank J. Jenkins. Genital cancer and virus. Gynecol, 1981, 12 : 25.
- 3 Stoian M, Hozoc M, lasipenco M, et al. Presence of antibodies to human cytomegalovirus in patients with different forms of cancer and in other categories of subjects. Med Virol 1982, 33 : 153.
- 4 Stevenson K, Macnab JCM. Cervical carcinoma and human cytomegalovirus. Biomed and pharmacother, 1989, 43 : 173.
- 5 韩日才, 李昆. 宫颈癌病毒病因研究的过去与未来. 癌症, 1990, 9 (2) : 145.
- 6 Peto R. Virus etiology of cervical cancer. Cold Spring Harbor Laboratory, 1986. 199.
- 7 Zur Hausen H. Human genital cancer: Synergism between two virus infections or synergism between a virus infection and initiating events. Lancet, 1982, 2 : 1370.
- 8 Galloway DA, McDougall JK. The oncogenic potential of herpes simplex viruses: evidence for a 'hit and run' mechanism. Nature, 1988, 302 : 21.

(收稿: 1993-01-28 修回: 1993-05-14)

不同剂量乙型肝炎基因工程疫苗免疫效果观察

袁小珍¹ 董惠卿¹ 何世瑶¹ 谭奕洲¹ 黄伯衡¹ 王淑珍² 韩雅儒²

1991年6月, 我们在广州地区对几所小学及幼儿园157名儿童进行重组痘苗病毒乙型肝炎基因工程疫苗接种试验, 现总结报道如下。

本次全程免后1及4个月抽血检查抗-HBs, 5μg组阳转率分别为98.8%和95.1%, GMT 123.6IU/L和158.5IU/L; 10μg组阳转率免后两次均为100%, GMT 158.5IU/L和234.4IU/L。两组比较, 有显著性差异 ($t=2.263$, $0.05 > P > 0.01$; $t=3.638$, $P < 0.01$); 5μg组两次结果无显著性差异 ($t=1.939$, $P > 0.05$); 而10μg组两次结果具有非常显著性差异 ($t=4.058$, $P < 0.01$)。

我们作为全国多个实验点之一进行的临床免疫效果观察, 未见有任何异常副反应。免疫效果与开封的

乙型肝炎基因工程疫苗初试及本批疫苗的山西结果大致在相同水平上。常规推荐是10μg剂量, 0、1、6月接种方案。本实验两种剂量按0、1、2月接种后采血, 抗体阳转率和GMT均达到免疫效果, 但是三针免后4个月两组剂量比较, 5μg组的GMT值低得多, 一般认为抗体水平 ≥ 10 IU/L具有保护作用, 而全程接种后一个月的抗-HBs水平的高低与保护期长短密切相关。广州是乙型肝炎高发区, 从保护效果看, 我们认为使用10μg剂量较好, 不宜再降低。

(收稿: 1992-10-27 修回: 1992-12-14)

1 广州市传染病医院 510060

2 卫生部北京生物制品研究所