

# 喉癌前病变与HPV感染的相关性研究

高妍, 王忠巧, 司峰志

新疆医科大学第二附属医院耳鼻喉科, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2023年7月13日; 录用日期: 2023年8月8日; 发布日期: 2023年8月15日

## 摘要

目的: 探讨喉癌前病变与HPV感染之间的相关性。方法: 对本院30例喉癌前病变组织标本(喉癌前病变组)并以30例声带息肉患者标本为对照(声带息肉组)进行37种HPV亚型检测、HPV DNA检测、HPV mRNA提取。结果: 喉癌前病变组HPV阳性率为16.66%, 声带息肉组HPV阳性率为3.33%, 喉癌前病变组HPV感染阳性的喉癌标本共5例, 其中共检测出HPV毒株6株, 其中67单一型感染1例, 16型单一感染3例, 16、45混合型感染1例, 喉癌HPV阳性率在不同年龄、性别、病程患者对比中无差异, 且喉癌前病变患者组织HPV DNA检测阳性5例, HPV E7 mRNA拷贝数为 $<10^3$  2例,  $>10^3$ 且 $<10^4$  3例。结论: 喉癌前病变患者的发病、恶化与HPV感染存在一定的关联, HPV病毒在诱发喉癌前病变演变为喉癌的过程中有一定的作用, 但喉癌前病变后患者感染HPV与其性别、年龄、病程并无明显关联。

## 关键词

喉癌前病变, 喉癌, HPV感染, 相关性

# A Study on the Correlation between Laryngeal Precancerous Lesions and HPV Infection

Yan Gao, Zhongqiao Wang, Fengzhi Si

Department of Otolaryngology, The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

Received: Jul. 13<sup>th</sup>, 2023; accepted: Aug. 8<sup>th</sup>, 2023; published: Aug. 15<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

**Objective:** To explore the correlation between laryngeal precancerous lesions and HPV infection.  
**Method:** 37 HPV subtypes, HPV DNA, and HPV mRNA extraction were performed on 30 specimens

of laryngeal precancerous lesions in our hospital (laryngeal precancerous lesion group) and 30 specimens of vocal cord polyps patients as controls (vocal cord polyp group). Result: The HPV positivity rate in the precancerous lesion group of the larynx was 16.66%, and the HPV positivity rate in the vocal cord polyp group was 3.33%. There were a total of 5 laryngeal cancer specimens with HPV infection positivity in the precancerous lesion group of the larynx, of which 6 HPV strains were detected, among them, 1 case of 67 monotypic infections, 3 cases of 16 single type infection, and 1 case of 16, 45 mixed type infection. The HPV positivity rate in laryngeal cancer did not differ among patients of different ages, genders, and disease courses, and 5 cases of tissue HPV DNA test positivity in the precancerous lesion group of the larynx. HPV E7 mRNA copy numbers were  $<10^3$  in 2 cases,  $>10^3$  and  $<10^4$  in 3 cases. Conclusion: There is a certain correlation between the onset and deterioration of laryngeal precancerous lesions and HPV infection. HPV virus plays a certain role in inducing the progression of laryngeal precancerous lesions to laryngeal cancer, but there is no significant correlation between HPV infection in patients with laryngeal precancerous lesions and their gender, age, and course of disease.

## Keywords

Precancerous Lesions of the Larynx, Laryngeal Cancer, HPV Infection, Relativity

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

喉癌是发生于喉部的恶性肿瘤，该疾病临床表现主要为声音嘶哑，后呈现为进行性加重，喉部有异物感，吞咽不适，咽下后有疼痛感，伴有刺激性咳嗽，咳痰中带血，还可能导致患者呼吸困难，颈部出现肿块[1]。该疾病的高发人群为中老年男性，且存在地域性差异。喉癌病因复杂，可能与吸烟、性激素、HPV感染、癌前病变、遗传等因素相关，临床多数学者认为喉癌是多种因素协调作用的结果，且与病毒感染存在一定关联。而喉癌前病变是喉部的黏膜现在还处于没有癌变的一种状态，其发生恶性变化可能性较高，临床上常见的为声带白斑、慢性肥厚性喉炎、喉乳头状瘤。HPV即人乳头瘤病毒，对皮肤和粘膜具有较大亲和力，正常状态下，HPV在人体内为潜伏状态，待到人体生理防御功能缺失或免疫功能低下时处于“休眠期”的HPV将会恢复活性，引起相应病变[2]。本次研究将对2020年1月至2022年6月本院活检和手术切除标本30例展开分析，旨在探讨喉癌前病变与HPV感染之间的相关性，现研究报道如下。

## 2. 资料与方法

### 2.1. 基本资料

选择2020年1月至2022年6月本院活检和手术切除标本为研究对象。所有病例均经病理证实以及2位以上病理科医师读片确诊，所有患者于术前均未接受放射治疗或化学治疗及免疫治疗。其中喉癌前病变组30例，男性28例，女性2例，年龄40~70岁，平均年龄( $51.19 \pm 4.53$ )岁，并依照联合国世界卫生组织将其按照年龄划分为青年组(44岁及以下)3例，中年组(45~59岁)12例，老年组(59岁以上)15例，病程中，14例病程 $<12$ 个月，12例12~24个月，4例24个月以上。对照声带息肉组为30例声带息肉石蜡包埋组织标本。

## 2.2. 方法

收集患者相关病例, 采买检测相关试剂及器械设备: 研究主持人对团队内参与研究的相关医务人员进行培训, 为其讲解本次研究实施的目的意义与索要达到的最终目的, 讲解研究具体步骤, 确保项目组内的每个成员均能熟悉掌握筛查适合患者的方法。检测 HPV 采用的仪器为 Tab.1AnfeHPV 核酸扩增分型检测试剂盒购自凯普生物化学有限公司; HybriMax HHM-2 HybriMax 核酸分子快速杂交仪(食药管械(准字 22004 第 2400106 号凯组别普生物科技有限公司, 上海)。

样品制备: 将样品玻片置于稀硝酸中过夜, 浓度为 10%, 隔天将样品捞出, 自来水冲洗 1~2 小时, 后用蒸馏水冲洗 3~5 遍, 晾干后置于无水酒精中浸泡 5 分钟, 再次晾干备用。玻片防脱片处理可置于稀释的多聚赖氨酸溶液中 5 分钟, 注意其温度需保持在 18~26 摄氏度, 捞出后置于 60 摄氏度的烘箱中干燥 1 小时, 便可装盒备用。

HPV DNA 检测: 对冻存的组织行 HPV-6、11、16、18、26、31、33、34、35、39、40、42、44、45、51、52、53、54、55、56、57、58、59、61、66、67、68、69、70、71、72、73、81、82、83、84 共 37 种病毒 DNA 检测, 并依照试剂盒说明书展开具体操作流程, 阴性及阳性对照品已于试剂盒中提供, 检测反应液中含有 dNTPs、引物、缓冲液等。

HPV mRNA 提取: 使用逆转录试剂盒展开实时荧光定量 PCR 检测 HPV mRNA 提取, 具体操作需严格遵照产品说明书, 加入 RNA 样本, 充分混匀反体系后, 进行离心、上样。具体反应条件为: 42℃, 60 min, 99℃, 5 min 后终止反应, 并将产物置于 4℃ 的条件下冷却, 若非度以时间展开检验可置于 -20℃ 条件下储存。PCR 反应需将标本处于低温条件下离心 10 s, 所选用仪器为罗氏荧光定量 PCR 扩增仪。每步反应温度传递率设为 20℃/s, 在 622C40S 处对每个循环进行荧光检测设置。实验污染选用阴性对照组展开监控, RNA 是否抽取成功选用阳性对照展开监控。(理想标准曲线相关系数-110.1 左右为较理想, 误差系数越小越好)。以 E6、E7 的表达量与内参 B-actin 表达量的比值作为其相对表达量。

HPV DNA 检测结果判定: 观察检测最终结果, HPV 阳性即呈现为蓝紫色圆点, 也可进一步依照芯片上不同的 HPV 基因型分布相应的圆点判断有无感染 HPV 以及进行亚型判断。

## 2.3. 数据分析

运用 SPSS22.0 统计学软件进行统计学分析, 计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )进行表述, 两组均数计量值采用  $t$  值检验, 计数资料采用百分比%进行统计表述, 两组计数值采用  $X^2$  值检验,  $P < 0.05$  时为差异有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. 喉癌前病变组织与声带息肉组织 HPV 阳性表达情况对比

喉癌前病变组织的发生、恶化与 HPV 感染有一定程度上的关联, 声带息肉组织的病发与 HPV 感染的可能无相关性, 见表 1。

**Table 1.** Comparison of HPV positive expression between laryngeal precancerous lesion tissue and vocal cord polyp tissue [cases (%)]

**表 1.** 喉癌前病变组织与声带息肉组织 HPV 阳性表达情况对比[例(%)]

组别	例数	HPV 表达		$X^2$ 值	$P$ 值
		阳性	阴性		
喉癌前病变组	30	5	25	2.962	0.085
声带息肉组	30	1	29		

### 3.2. 喉癌前病变组织中 HPV 感染的病株分布情况

本研究 HPV 感染阳性的喉癌标本共 5 例，其中共检测出 HPV 毒株 6 株，其中 67 单一型感染 1 例，16 型单一感染 3 例，16、45 混合型感染 1 例。分布情况见表 2、表 3。

**Table 2.** Distribution of high and low subtypes of HPV infection in the laryngeal cancer group

**表 2.** 喉癌组中 HPV 感染的高、低位亚型分布情况

亚型	低危亚型		高危亚型		合计
	67	合计	16	45	
株数	1	1	4	1	4
百分率	16.66	16.66	66.66	16.66	83.33

**Table 3.** Distribution of high and low subtypes of HPV infection in the vocal cord polyp group

**表 3.** 声带息肉组中 HPV 感染的高、低位亚型分布情况

亚型	低危亚型		高危亚型		合计
	67	合计	16	45	
株数	0	0.00	1	0	1
百分率	0	0.00	100.00	0.00	100.00

### 3.3. 不同年龄、性别、病程患者喉癌前病变组织 HPV 感染率对比

30 例喉癌患者中，青年组 HPV 感染率为 33.33% (1/3)，中年组感染率为 25.00% (3/12)，老年组感染率为 6.66% (1/15)，将 3 组患者喉癌前病变组织中 HPV 阳性率比较差异无统计学意义，表明不同年龄段患者喉癌前病变组织中 HPV 感染率无明显差异，并且随着年龄的不断增长感染率有下降趋势。男性患者 HPV 阳性率为 17.85% (5/28)，女性患者 HPV 阳性率为 0.00% (0/2)，差异无统计学意义，表明不同性别患者喉癌前病变组织中 HPV 感染率无明显差异。病程 < 12 个月的患者 HPV 感染率为 7.14% (1/14)，病程 12~24 个月的患者 HPV 感染率为 16.66% (2/12)，病程 > 24 个月的患者 HPV 感染率为 50.00% (2/4)，将三组患者的喉癌前病变组织 HPV 阳性率进行比较其差异无统计学意义，表明不同病程患者喉癌前病变组织中 HPV 感染率无明显差异，但其感染率随着病程的增长有逐渐升高的趋势。

### 3.4. HPV mRNA 表达与喉病发展的关系

息肉组患者组织 HPV DNA 检测阳性 1 例，HPV E7 mRNA 拷贝数为  $>10^3$  且  $<10^4$ ，喉癌前病变组患者组织 HPV DNA 检测阳性 5 例，HPV E7 mRNA 拷贝数为  $<10^3$  2 例， $>10^3$  且  $<10^4$  3 例。

## 4. 讨论

喉癌前病变，是指与常规病变相比较，更容易在内源性有害因素下发生癌变的喉部疾病。临床相关研究表明，喉癌前病变可长时间维持不发生癌变，但任有半数患者逐渐演变为喉癌，临床传统观念一般认为细菌是引起炎症最主要的原因，但在呼吸道疾病中，病毒感染占比高达 70%~80% [3] [4] [5] [6]。目前，临床检验技术不断改进，病毒致病理论日趋完善，许多病毒感染而引发肿瘤已在临床得到相应证实，喉癌前病变恶化后引起的喉癌与病毒的感染也有一定的关联[7]。

HPV 广泛存在于自然界中,有 150 多种类别,人们较为熟知的为宫颈癌,在 90%的宫颈癌和 50%~75%的阴茎癌组织中可检测出 HPV 病毒,并且均以 HPV16 型病毒感染为主[8] [9]。宫颈癌是患癌症女性死也的第二位原因,但喉癌的产生与其也有着一定的关联。

HPV 与喉癌前病变的关系:在美国,被诊断为 HPV 阳性口咽癌的头颈癌比例从 1980 年代的 16.3% 上升到 2000 年代的 72.7%以上,这些患者都被证实有过口腔性接触[10]。1982 年 SYRJANEN 等对 36 例喉鳞状细胞展开检测,检测结果中得出有 13 例 HPV 阳性患者,首次提出 HPV 的感染与喉癌存在一定关联,而喉癌由喉癌前病变恶化而形成,且其中其主要作用的是高危型 HPV 病毒,主要为 HPV-16 与 HPV-18 [11] [12]。经临床 HPV-16 病毒基因转染皮肤角朊细胞发现其可是的该细胞永生代,从而得出 HPV 会促进上皮细胞发生过度反应以及基因突变。但徐雅南等经 HybriMax 技术对喉鳞状细胞癌展开研究发现在喉癌中 HPV 阳性发生率仅为 4.9%,其通过研究认为喉癌的发生、恶化与 HPV 并无明显相关性[13] [14] [15] [16]。

在本次研究中,采用导流杂交基因芯片技术对喉癌前病变组织展开检测,不仅能检测组织中是否出现 HPV 病毒,还能准确区分 HPV 的 37 中亚型,确定患者组织中存在的 HPV 病毒毒株是单株感染还是多株混合感染情况。运用该方式展开检测更加方便、省时、简易,可运用于大量标本的检测与筛查,不仅能提高分子杂交特异性与检测灵敏度,还可对 37 中 HPV 病毒亚型展开明确区分。本次研究结果显示,在喉癌前病变患者组织的检测中,喉癌前病变组患者以及对照声带息肉组患者标本的 HPV 检出率均较低,并且两组之间一般资料具有可比性,表示喉癌前病变进一步发展、恶化为喉癌与感染 HPV 存在一定关联。但本研究与徐雅南采用相同的方法对患者的喉部组织展开检测,本研究结果与其检测结果任有部分出入,究其原因可见其中样本差距较大,本研究样本明显少于徐雅南等的研究样本,可能存在一定的样本数据误差,而徐雅南通过大量样本检测最终提出喉癌的发展、恶化与 HPV 病毒并无明显关联,其研究结果的说服力也较高,上述临床研究结果表明,喉癌前病变与 HPV 病毒亚型的检测阳性率差别较大,与其存在关联的因素还有样本数量、样本质量、检验方法等。而 HPV 病毒中通过 mPNA 检测后统计的 E6、E7 蛋白也可促进正常细胞不正常增殖、分化,激活致癌因子,从而使得喉癌前病变进一步恶化为喉癌,且受染细胞与 E6、E7 协同作用下还会缩短细胞的永生代周期,以此进一步发挥其致癌作用[17] [18] [19] [20]。

在声带息肉样本的检验中,既往临床研究使用 PCR 技术对 50 例声带息肉标本进行检验,检验 HPV 中 13 种亚型,阳性率 68%,可见声带息肉与 HPV 也有一定的关联。但在本研究中,充当对照作用的声带息肉 30 例样本中,仅仅只检测出 HPV 病毒 1 例,与其研究存在部分出入。究其原因可能为本次研究仅仅只检测 HPV 病毒亚型其中较为常见的 37 种,为当前较为常见的亚型种类,但也有可能存在漏检、误检现象,也可能为标本处理方式不当而出现假阳的可能性。

虽然喉癌前病变有半数可能会演变为喉癌,但学会预防该病毒感染,在很大程度上可以降低患病几率,对下面这几类人而言,中招的风险要比一般人高,建议筛查:长期抽烟的人,最好要重视。对于老烟民来说,很多人都会出现喉部不适,因为自己经常抽烟,觉得原因无非就是抽烟,但殊不知喉癌跟咽炎等常见咽喉问题也是有一定关联的,当身体总是出现同一种或多种不舒服时,有可能是喉内有癌,切勿将其当成慢性咽炎。烟草中的有害物质会刺激到咽喉,使其一步一步受损,长期下去就易增加癌变几率。尤其是吸得多且烟龄比较久的人,更应重视。还有酒不离口的人、经常嚼槟榔的人、这些东西都会对喉部产生刺激,还有长时间处于污染环境下、熬夜的人。对于喉癌前病变患者,当其在治疗后任出现出现 1) 声音嘶哑:一般而言,如果是咽炎引起的,不会持续太久,但若是喉部有癌,持续时间就比较久。该表现是很常见的,原因也比较多,很容易被忽视,提醒大家若持续出现要留心,及时查一下喉镜,别总当初咽炎治,防止错失治疗最佳时机。如果肿瘤发生于声带上或称声门区,几乎是所有声门型喉癌患者的首发症状。当声门上癌室带受侵或向下侵犯声带时也时常有不同程度的声音嘶哑。2) 刺痛感:早期

表现不是太明显，通常会有刺痛感，可能还有灼烧感。若是炎症，有急性和慢性，也会有疼痛，尤其在吃了刺激性强的食物后感觉更为明显。3) 吞咽困难：它的早期表现容易混淆，不被当回事，癌细胞发展比较大的话，就容易转移，引起该症状。随着疾病的发展，除了该部位的不适，不适感的范围还可能会扩散到其他地方，逐渐地，整个身体都会受到影响，出现乏力、体重下降等不适。4) 咽部异物感：如果病变发生于喉的上部，即所说的声门上区，大多数会厌癌可能在较早期仅有咽部异物感。此症状被患者忽视；如肿物在会厌较大时可能嗓音出现某些变化，说话时发出“含球样嗓音”。5) 颈部肿块：约 1/4 至 1/3 的患者以颈部肿块而就诊。肿块主要位于上颈的胸锁乳突肌前缘处；可于淋巴转移时触摸到肿大淋巴结，触感较硬，无疼痛感，并不断增大，普通抗生素治疗无明显缩小成效。

因此，喉癌前病变患者若要避免因 HPV 感染而导致喉癌前病变进一步恶化为喉癌，应当管住嘴，远离烟酒、槟榔等物，多喝水多吃蔬果，在食物种类的选择上也要均衡，不要偏食，口味尽量淡一些。尽量少熬夜，守住免疫力。对于高风险人群来说，定期筛查，若喉部已经出现不适感，及早检查。若已经出现慢性炎症，要及时干预，避免炎症的性质发生恶性变化，降低癌变几率。

## 5. 结论

综上所述，喉癌前病变患者的发病、恶化与 HPV 感染存在一定的关联，HPV 病毒在诱发喉癌前病变演变为喉癌的过程中有一定的作用，但喉癌前病变后患者感染 HPV 与其性别、年龄、病程并无明显关联。可于喉癌前病变期间展开适当的预防。

## 基金项目

新疆维吾尔自治区卫生健康青年医学科技人才专项科研项目，编号：WJWY-202038。

## 参考文献

- [1] 周思含, 肖洋, 马丽晶, 等. 幼年型复发性呼吸道乳头状瘤病中人乳头状瘤病毒感染状态与病情变化的相关性分析[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2023, 30(2): 103-106.
- [2] 李恒勇, 杨宋, 周凯, 等. 336 例 HPV 相关性与非相关性口咽鳞癌患者生存分析[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2022, 20(4): 378-383.
- [3] 杨庆军. EGFR 和 Cyclin D1 在喉癌前病变组织中的表达及其与预后的相关性[J]. 实用癌症杂志, 2022, 37(8): 1237-1240.
- [4] 舒中献, 詹红星, 王越, 等. 外周血 NLR、VEGF、miRNA let-7a 水平与喉癌患者淋巴结转移的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(4): 647-650.
- [5] 刘健丰, 陈建良, 徐允良, 等. PTTG1、LncRNA H19 的表达与早期声门型喉癌经口内镜 CO<sub>2</sub> 激光切除术后远期疗效的相关性[J]. 海军医学杂志, 2023, 44(2): 162-167.
- [6] 胡倩倩, 杜静, 宋宝莉. miR-340-5p、c-Myc、TCF-4 在喉癌前病变组织中表达及其与临床病理特征的相关性分析[J]. 实用癌症杂志, 2023, 38(3): 391-393, 397.
- [7] 季洁, 陈亚军. 中性粒细胞/淋巴细胞比值与喉癌预后相关性的 Meta 分析[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2022, 29(7): 473-476.
- [8] 何晓丽, 江洪, 邓夏. 喉癌前病变组织中 Sox2、cMyc 表达与其临床病理特征及预后的相关性[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(4): 647-651.
- [9] 延青, 杨花荣, 王娜娜. 声门上型喉癌患者血清 LncRNA PCAT1、miR-210 表达与预后的关系[J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 2022, 30(4): 250-254.
- [10] 周海婷, 赵瑜, 邱影. 喉癌前病变组织中 miR-340-5p、c-Myc、TCF-4 的表达及临床意义[J]. 中国医药导报, 2022, 19(5): 110-114.
- [11] 屈慧, 皇海, 张蕊. 血清细胞角蛋白 18、骨桥蛋白水平与原发喉癌患者临床分期相关性研究[J]. 陕西医学杂志, 2021, 50(11): 1452-1456.

- 
- [12] Syrjanen, K., Syrjanen, S. and Pyrhonen, S. (1982) Human Papilloma Virus (HPV) Antigens in Lesions of Laryngeal Squamous Cell Carcinomas. *ORL*, **44**, 323-334. <https://doi.org/10.1159/000275612>
- [13] Xu, Y., Liu, S., *et al.* (2014) Human Papillomavirus Infection in 674 Chinese Patients with Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *PLOS ONE*, **9**, e115914. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115914>
- [14] 吴筱蔓, 周兴星, 顾翔, 等. LC3、MMP-14 及 PD-1 在喉癌中的表达及与病理特征和预后的相关性[J]. 西部医学, 2021, 33(12): 1787-1792.
- [15] 杨雪, 冯志星, 彭丽娜, 等. 喉癌前病变组织中 MMP-2 和 VEGF 的表达与转移相关性的研究[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(10): 1917-1920.
- [16] 刘丹丹, 孙健, 邬剑. 子宫颈癌及癌前病变中 E6/E7 mRNA 的表达水平及与 HR-HPV 感染的相关性分析[J]. 中国医学创新, 2023, 20(1): 127-131.
- [17] 程明艳, 孙亚男, 周书杰, 等. 血清 TGF- $\beta_1$ , INF- $\epsilon$  及 microRNA-21 在宫颈癌及癌前病变中的表达变化及与 HPV 感染的相关性[J]. 中国处方药, 2023, 21(4): 156-159.
- [18] 李磊, 王月妹, 吴娟. 阴道内环境, 阴道病原体感染性疾病与高危型 HPV 感染的相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(1): 93-96.
- [19] 贾源君, 焦娜, 薛秀珍, 等. 女性生殖道不同 HPV 感染类型与阴道感染性疾病相关性分析[J]. 实验与检验医学, 2023, 41(1): 32-35.
- [20] 朱文静, 徐耀辉. HSIL 患者 LEEP 术后 HPV 感染与血清 CD4+ 的相关性研究[J]. 医药卫生, 2023(2): 4.