

Humán papillomavírusok kimutatása méhnyakrákban

PÓKA RÓBERT DR., CZEGLÉDI JUDIT DR.¹,
HERNÁDI ZOLTÁN DR.

A Debreceni Orvostudományi Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikája (igazgató: Lampé László dr., egyetemi tanár) és Mikrobiológiai Intézete (igazgató: Gergely Lajos dr., egyetemi tanár)¹ közleménye

Összefoglalás: A szerzők szövettanilag igazolt invazív cervix carcinomából származó szövetmintákban vizsgálják a humán papillomavírusok 6, 11, 16 és 18-as típusának előfordulását Southern-blot DNS-hibridizációs módszerrel, P³²-vel jelzett teszt-DNS felhasználásával. A 16 és 18-as típusoknak gyakori jelenlétük alapján jelentőséget tulajdonítanak a méhnyakrák kialakulásában. Vizsgálataik szerint a rákos folyamat kiterjedésével párhuzamosan emelkedik a vírusok kimutathatósága, így azoknak a betegség előrehaladásában is jelentősége lehet.

Kulcsszavak: humán papillomavírus, típus, méhnyakrák, DNS-hibridizáció

A méhnyakrák a második leggyakoribb nőgyógyászati rosszindulatú daganat, az összes daganat között pedig az ötödik helyen áll. A világ minden tizedik rosszindulatú daganatos betege méhnyakrákban szenved. A fejlődő országokban ez az arány lényegesen magasabb, eléri a 25%-ot (WHO). Világszerte, évente több mint félmillió új esetet ismernek fel. A korai szűrőmódszerek kiterjedt alkalmazása révén a fejlett országokban csökken az előfordulásuk, de a fejlődő országokban továbbra is a legjelentősebb nőgyógyászati rosszindulatú daganat.

Több mint egy évszázada fennáll a gyanú, hogy nemi úton átvihető tényezők is szerepet játszanak a méhnyakrák kialakulásában. Sorolhatnánk a különböző korszakokban kijelölt fekete bárányokat, kezdve az úgynevezett miazmával, folytatva a smegmával, a hemophilus vaginalissal és a chlamidia cervicalissal (Blythe). Az elmúlt 20 évben a figyelem nagyrészt a vírusokra terelődött. A 70-es években a genitális herpeszvírusok játszották a fekete bárány szerepét. Bár rendkívül sok adat gyűlt össze a genitális kórfolyamatokban igazolt jelentőségükről, a méhnyakrák kialakulásában játszott szerepüknek még ma sincs kézzel fogható bizonyítéka (Vonka). Ennek ellenére igen hasznosnak bizonyult ez a faktor, ugyanis nagyban hozzájárult a vírus-replikáció mechanizmusának megismeréséhez, a rekombináns DNS-technikák kidolgozásához, és végül, de nem utolsósorban az utód, a humán papillomavírusok szerepének felismeréséhez. Ezzel elérkeztünk a 80-as évek „fekete bárányához”, melynek a jelentősége bár a korábbiakénál lényegesen nagyobbtnak tűnik, de azokhoz hasonlóan nem tehetők egyedül felelőssé a méhnyakrák kialakulásáért.

Betegek és módszerek

Vizsgálatainkat a DOTE Női Klinikáján diagnosztizált illetve kezelt méhnyakrákos betegekből származó daganatszövetmintákon

A betegek stádium-megoszlása

I. táblázat	
Ia, Ib	14
IIa, IIb	17
IIIa, IIIb	16
IVa	3
Összesen	50

végeztük el. A betegek átlag életkora 50,2 (25–84) év volt, stádium-megoszlásuk az I. táblázaton látható. A viszonylag kis számú beteganyag jól tükrözi klinikánk több évtizedes méhnyakrák-regiszterének hasonló paramétereit.

A próbaexcízió vagy radikális műtét során eltávolított tumorszövetekből a DNS-t kivontuk és Southern blot DNS-hibridizációs módszerrel vizsgáltuk a teszt-DNS komplementer szekvenciáinak jelenlétét (Southern). A hibridizációt igen szoros feltételek mellett (Tm-18°C; 5xSSC; 50% formamid) végeztük (Fuchs, Czegele). A próbákat autoradiográfia útján, az egyes HPV-típusok ismert képei alapján értékeltük.

Eredmények

Szövettanilag azonosított 50 cervix carcinomás szövetmintából 33 esetben tudtuk kimutatni a humán papillomavírusok valamennyik típusát. A 33 (66%) HPV-pozitív eset között leggyakrabban a 16-os típus volt ki-

Típus-specifikus HPV DNS-ek előfordulása invazív cervix-carcinomából származó szövetmintákban

II. táblázat	
HPV-teszt eredménye	Esetszám
Negatív	17
Pozitív	33
HPV-6	11
HPV-11	7
HPV-16	19
HPV-18	9
Összesen	50/33

mutatható (II. táblázat). A 16-os típusú HPV DNS-szekvenciáit a pozitív minták 57%-a hordozta. A nem onkogén természetű 6 és 11-es típust 11 (22%) illetve 7 (14%) esetben mutattuk ki. A humán papillomavírusok negyedik leggyakoribb típusát, a 18-as típust is viszonylag nagy arányban (18%) hordozták cervix carcinomás mintáink. Cervix adenocarcinoma eseteiben elsősorban ez a típus volt kimutatható.

Összehasonlítási alapon a vírus-DNS jelenlétének vizsgálatát elvégeztük 22 normál cervixből származó szövetmintán is. Ezek az anyagok cervix-kürettből illetve rehabilitációs cervix-plasztika során eltávolított portiórészletből származtak. Szemben a cervix carcinomás mintákkal ezek között csak 3 esetben volt jelen a HPV-k valamelyik típusának DNS-e (III. táblázat). A HPV 6, 11 és 16-os típusa egy-egy mintában volt kimutatható, míg a 18-as típus egyikben sem volt jelen. Természetesen fokozott figyelemmel kísérjük annak a betegnek a sorsát, akinél HPV-16 fertőzöttség igazolódott.

III. táblázat
Típus-specifikus HPV DNS-ek előfordulása normál cervixből származó szövetmintákban

HPV-teszt eredménye		Esetszám
Negatív		19
Pozitív		3
	HPV-6	1
	HPV-11	1
	HPV-16	1
	HPV-18	0
Összesen		22/3

IV. táblázat
Típus-specifikus HPV DNS-ek előfordulása stádiumonként invazív cervix carcinomából származó szövetmintákban

HPV-teszt eredménye		Stádium			
		I.	II.	III.	IV.
Negatív	6	9	1	1	2
Pozitív	8	8	15	2	
	HPV-6	3	6	0	2
	HPV-11	2	3	12	
	HPV-16	2	3	12	2
	HPV-18	1	3	3	2
Összesen		14/8	17/8	16/15	3/2

A IV. táblázat az egyes HPV-típusok stádiumonkénti megoszlását mutatja be. Minden stádiumban 60%-nál magasabb volt a pozitív minták aránya, legmagasabb a III. stádiumban (93%). Ebben a stádiumban vett anyagok közül érdekes módon egyik sem tartalmazott 6 és 11-es HPV DNS-t, viszont 1 kivétellel mindegyikükben jelen volt a 16 vagy 18-as típus. A korai (I. II.) stádiumokban vett anyagok között is igen magas volt a vírus-pozitív minták aránya, de az onkogén típusok mellett a 6 és 11-es típus volt gyakrabban kimutatható. A 3 IV. stádiumból származó mintából 2 volt vírus-pozitív és ezekben a vizsgált négy HPV-típus mindegyike jelen volt.

Megbeszélés

A szexuálisan átvihető faktorok jelentősége a méhnyakrák kialakulásában régóta ismert. A 80-as években egyre nagyobb figyelem fordult a humán papillomavírusok karcinogenezisben játszott szerepére. Hazai vizsgálatok is igazolták a cervix préblasztómás elváltozásainak kapcsolatát a HPV-fertőzöttséggel (Hernádi, Nemes). Nemzetközi viszonylatban is viszonylag kevés tanulmány foglalkozik a definitív cervix carcinomás anyagok vírusfertőzöttségével (Ji, Wilczynski). Bár ez érthető a már kikristályosodott kezelési elvek szempontjából, de nem nélkülözhető abban a vonatkozásban, hogy a vírusok daganatprogresszióban játszott szerepének tanulmányozásával újabb támadáspontokat nyerhetünk a kezelés számára.

50 szövettanilag igazolt invazív cervix carcinomás szövetminta 66%-ában mutattuk ki a HPV-k valamelyik típusát. Ji hasonló esetszámú anyagában (43 beteg) ez az arány 69,8% volt. Wilczynski 41 cervix carcinomás mintából 26 esetben (63%) tudta kimutatni a HPV-k különböző típusaira jellemző DNS-szekvenciát. Anyagunkban a 33 HPV-pozitív eset között leggyakrabban (57%) a 16-os típus volt kimutatható. A teljes anyagban a HPV-16 előfordulási gyakorisága 38%, igen hasonló Ji 44%-os eredményéhez valamint Schneider és Wilczynski tanulmányaiban közölt 50- illetve 41%-os arányhoz. Elsősorban azért érdekes ez a hasonlóság, mert földrajzilag és gazdaságilag igen eltérő kínai, nyugatnémet és kaliforniai populációt reprezentálnak.

Az irodalomban nem áll rendelkezésre olyan adat, amely a HPV-k stádiumonkénti kimutathatóságára utalna. Vizsgálataink szerint előrehaladott stádiumban gyakrabban mutathatók ki a humán papillomavírusokra jellemző DNS-szakaszok és azon belül az onkogén típusok is emelkedő gyakoriságot mutatnak. Míg a korai (I., II.) stádiumból származó minták között 9 (29%) esetben mutattuk ki a 16 illetve 18-as HPV-típust, addig az előrehaladott (III., IV. stádium) esetek mindegyike hordozta valamelyik onkogén típust. Ezek alapján jogosan feltételezhetjük, hogy a vírusok a betegség progressziójában is szerepet játszanak. Természetesen az ehhez hasonló epidemiológiai vizsgálatokból egyértelmű patogenetikai következtetés nem vonható le, s így továbbra sem állíthatjuk, hogy ebben az autóban a HPV-k a volánnál ülnek vagy csak utasként vannak jelen (Koss). Ahhoz, hogy ezt a kérdést eldöntsük természetesen további vizsgálatokra van szükség.

IRODALOM

1. World Health Organization: Genital human papillomavirus infections and cancer: Memorandum from a WHO Meeting. Bulletin of the World Health Organization. 65, 817 (1987). — 2. Blythe, J. G.: Cervical bacterial flora in patients with gynecologic malignancies. Am. J. Obstet. Gynecol. 131, 438 (1978). — 3. Vonka, V., Kunka, I., Girsch, H., Zavadova, H., Krcmar, M., Suchanova, A., Rezacova, D., Broucek, J., Press, M., Domorazkova, E., Syrochoda, B., Havrankova, A., Jelinek, J.: Prospective study on the relationship between cervical neoplasia and herpes simplex type-2 virus. II. Herpes simplex type-2 antibody presence in sera taken at enrollment. Int. J. Cancer 33, 61 (1984). — 4. Southern, E. M.: Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. J. Mol. Biol. 98, 503 (1975). — 5. Fuchs, P. G., Girardi, F., Pfister, H.: Human papillomavirus DNA in normal, metaplastic,

preneoplastic, and neoplastic epithelia of the cervix uteri. *Int. J. Cancer* 41, 41 (1988). — 6. Ceglédi J., Gergely L., Hernádi Z., Póka R.: Papillomavirus DNS kimutatása a női genitális rendszer alsó szakaszában. *Orv. Hetil.* 129, 1637 (1988). — 7. Hernádi Z., Gergely L., Lampé L.: Vírusfertőzések szerepe a portió kóros hámlésváltozásainak kialakulásában. *Orv. Hetil.* 50, 239 (1987). — 8. Nemes J., Gergely L., Czegledy J., Pintér A., Dömötör L., Avar Z., Várnai F.: Adatok a humán papillomavírus (HPV) szerepéhez a méhnyak karcinogenezisében. *Orv. Hetil.* 44, 2347 (1988). — 9. Ji, H. X., Syrjänen, S., Syrjänen, K., Wu, A. R., Chang, F. J.: In situ hybridization analysis of HPV DNA in cervical precancer and cervical cancers from China. *Arch. Obstet. Gynecol.* 247, 21 (1990). — 10. Wilczynski, S. P., Bergen, S., Walker, J., Liao, S. Y., Pearlman, L. F.: Human Papillomaviruses and Cervical Cancer: Analysis of Histopathologic Features Associated with Different Viral Types. *Human Pathol.* 19, 697 (1988). — 11. Schneider, A., Sawada, E., Gissman, L., Shah, K.: Human Papillomaviruses in Women with a History of Abnormal Papanicolaou Smears and their Male Partners. *Obstet. Gynecol.* 69, 554 (1987). — 12. Koss, L. G.: Cytologic and Histologic Manifesta-

tions of Human Papillomavirus Infection of the Female Genital Tract and Their Clinical Significance. *Cancer* 60, 1942 (1987).

Póka, R., Czegledy, J., Hernádi, Z.: *Detection of Human Papillomavirus DNA-sequences in Tissue Samples From Invasive Cervical Cancer*

Authors report on results of detecting human papillomaviruses 6, 11, 16 and 18 by type-specific DNA-sequences in tissue samples from histologically proved invasive cervical cancer cases by Southern DNA-hybridization method. By the data of high prevalences, they set the significance of type 16 and 18 HPVs in the genesis of cervical cancer. They found a stage — dependent increase in the detectability of oncogenic viral types which may prove a substantial relation to the advancement of the disease. Comparative international data are presented.

Key words: human papillomavirus types, cervical cancer, DNA-hybridization

Közlésre elfogadva: 1990. augusztus 1.