



第六届

全国肿瘤学术大会  
论文汇编

中国癌症研究基金会学术委员会编

军事医学科学出版社

# 第六届全国肿瘤学术大会 论文汇编

DILIUJIE QUANGUO ZHONGLIU XUESHU DAHUI LUNWEN HUIBIAN

中国癌症研究基金会学术委员会 编

军事医学科学出版社  
·北 京·

## 内 容 简 介

本文收集了第六届全国肿瘤学术大会的部分论文,介绍了近年来肿瘤学界各项科研项目的研究进展、研究水平,适合于从事临床医学、基础医学的广大科技工作者参考阅读。

\* \* \*

### 图书在版编目(CIP)数据

第六届全国肿瘤学术大会论文汇编/中国癌症研究基金会学术委员会编.

- 北京:军事医学科学出版社,2002.3

ISBN 7-80121-399-8

I. 第… II. 中… III. 肿瘤学-学术会议-中国-文集… IV. R73-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 005202 号

\* \*

军事医学科学出版社出版

(北京市太平路 27 号 邮政编码:100850)

新华书店总店北京发行所发行

潮河印刷厂印刷 春园装订厂装订

开本:787mm×1092mm 1/16 印张:9 字数:218 千字

2002 年 3 月第 1 版 2002 年 3 月第 1 次印刷

印数:1-1500 册 定价:12.00 元

---

(本社图书,凡有缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换)

# 目 录

## 全文部分

|                                     |          |
|-------------------------------------|----------|
| 人乳头瘤病毒 16 型突变型外壳蛋白高效表达系统的构建及目的蛋白的表达 | 李楠等(1)   |
| 中国女性乳腺癌易感基因突变                       | 史玉荣等(5)  |
| 高发区宫颈高度鳞状上皮内病变及癌的危险因素分析             | 戎寿德等(8)  |
| 人鼻咽上皮细胞逃避老化期与 EB 病毒 LMP1 诱导端粒酶表达相关  | 杨静等(11)  |
| 术前化疗后乳腺癌组织 p53 蛋白表达及其意义研究           | 洪卫等(15)  |
| 4502 例支气管肺癌外科治疗临床资料分析               | 周清华等(19) |
| 肿瘤血管生成抑制剂研究新进展                      | 马仲才等(21) |
| Ⅲ期非小细胞的多学科综合治疗进展                    | 周清华(30)  |
| 转移相关基因与肺癌 CT 影像学表现的关系研究             | 车国卫等(36) |

## 基础医学

|                                           |          |
|-------------------------------------------|----------|
| 外源性 FHIT 基因表达对肺巨细胞癌细胞株 95D 恶性表型的逆转作用      | 周清华等(42) |
| 恶性肿瘤组织 DNA 倍体分类与细胞动力学的关系                  | 周振英等(42) |
| 丹参酮对人肺癌细胞株的增殖抑制作用及其分子机理                   | 何金涛等(43) |
| 丹参酮诱导人肺癌细胞凋亡及其分子机理                        | 何金涛等(43) |
| 逆癌酮对肺癌细胞的生长抑制作用和机理的初步研究                   | 秦建军等(44) |
| RelA 与 uPA 在卵巢癌细胞系中表达的相关性研究               | 王常玉等(44) |
| I 型尿激酶纤溶酶原激活物抑制因子在卵巢上皮性癌中的表达及意义           | 王常玉等(45) |
| 环氧合酶-2 在子宫内膜癌中的表达                         | 李静等(45)  |
| 非小细胞肺癌 FHIT 蛋白表达研究                        | 姜斌等(46)  |
| $\beta$ -连环素在肺癌中的表达及其与肺癌转移和预后关系的研究        | 唐小军等(46) |
| 上皮型钙粘附素在非小细胞肺癌中的表达及其与肺癌转移和预后关系的研究         | 唐小军等(47) |
| 人肺癌中 FHIT 基因表达下降的临床病理生理意义及与预后的关系研究        | 王允等(48)  |
| 多种基因修饰对肝胆肿瘤细胞生物学行为的影响                     | 王征旭等(48) |
| 大肠癌患者血清中 p16 基因启动子畸变甲基化的检测                | 邹鸿志等(49) |
| 检测 CD82 在大肠腺癌中表达的临床意义                     | 陈玉强等(49) |
| C-ERBB2、C-MYC 及 EGFR 基因共扩增与非小细胞肺癌预后的相关性研究 | 白艳军等(50) |
| 伴神经内分泌分化非小细胞肺癌中 p53、bcl-2 及 c-myc 的表达     | 张伟等(51)  |
| 人巨细胞病毒感染的霍奇金淋巴瘤中 p53 基因突变分析               | 阎庆国等(51) |
| 284 例原发浸润性乳癌 C-erbB2 蛋白的表达及其与预后的关系        | 杨丽芳等(52) |

|                                                                |          |
|----------------------------------------------------------------|----------|
| 人非小细胞肺癌中 FHIT 等位基因的缺失和突变的研究 .....                              | 周清华等(52) |
| TGF $\beta$ 对卵巢癌细胞系生长抑制的研究 .....                               | 马 丁等(53) |
| 人非小细胞肺癌细胞膜钾离子通道特性的研究 .....                                     | 戴天阳等(53) |
| 四环素基因表达系统调控 TRAIL 基因在人白血病细胞系 Jurkat 中的表达及其<br>相关的生物流变学研究 ..... | 王新娟等(54) |
| 人非小细胞肺癌中细胞凋亡与预后关系的研究 .....                                     | 程 玺等(55) |
| 甲胎蛋白对肿瘤生长的促进机理 .....                                           | 李孟森等(55) |
| 急性白血病患者 MTS1 基因 $\alpha$ 转录物和 p16 <sup>INK4a</sup> 表达的研究 ..... | 冯文莉等(56) |
| 肺癌细胞株 PCNA 表达与凋亡的关系 .....                                      | 董继华等(56) |
| 人食管癌相关基因 cDNA 片段的克隆、筛选与初步鉴定 .....                              | 陈 东等(57) |
| 一氧化氮合酶在乳腺肿瘤中的作用研究 .....                                        | 贺建业等(57) |
| 逆转录法制备地高辛标记的食管癌 cDNA 探针 .....                                  | 陈 东等(58) |
| 人肺癌差异表达 cDNA 序列的分离与初步鉴定 .....                                  | 谢海龙等(58) |
| 宫颈腺癌中 MMP-2 和 TIMP-2 的表达及与肿瘤转移和预后的关系 .....                     | 王耕辛等(58) |
| 鼻咽癌恶性转化基因 Tx 核苷酸测序及序列分析 .....                                  | 任 维等(59) |
| 抗人小细胞肺癌单抗 2F7 人-鼠嵌合 Fab 片段基因的构建和表达 .....                       | 林 琳等(59) |
| EB 病毒潜伏膜蛋白 1 在鼻咽癌细胞中调节表皮生长因子受体磷酸化 .....                        | 陶永光等(60) |
| 高三尖杉酯碱的抗癌疗效及药代动力学研究 .....                                      | 仲维学等(60) |
| 血清组织多肽特异抗原水平与肺癌生物学行为的关系 .....                                  | 陈名声等(61) |
| 利用同被引和共词聚类分析探索抗原 CD44 研究历史及现状 .....                            | 郑华川等(61) |
| 膀胱移行细胞癌转化生长因子 $\beta$ 1 过表达的临床意义 .....                         | 刘岩雪等(62) |
| mRAN 差异显示技术筛选乳腺癌转移相关基因 .....                                   | 冯玉梅等(62) |
| 脑膜瘤细胞增殖潜能与术后复发的关系 .....                                        | 赵理乐等(63) |
| 血管内皮生长因子(VEGF)在胃癌组织中的表达及意义 .....                               | 王艳萍等(63) |
| 人非小细胞肺癌中 3P14 区异常的研究 .....                                     | 陈 军等(64) |
| 人体各种正常组织的流式细胞术-DNA 含量参数检测 .....                                | 周振英等(64) |
| 人肺癌中细胞增殖、凋亡水平与预后的关系研究 .....                                    | 王 允等(65) |
| 血管内皮生长因子受体(KDR)在肺癌中的表达及临床意义 .....                              | 丰国卫等(65) |
| 骨髓增生异常综合征(MDS)基因诊断研究 .....                                     | 冯宝章等(66) |
| 上皮性肿瘤表达免疫球蛋白样物质 .....                                          | 黎 明等(66) |
| MTS1/P16 和 MTS2/P15 基因共丢失与原发性非小细胞肺癌预后相关性研究 .....               | 胡 颖等(67) |
| 胶质瘤基因工程单链抗体的制备及其抗瘤效应的初步研究 .....                                | 董 军等(67) |
| 人宫颈癌放射治疗前后 P-gp170 的表达 .....                                   | 惠延平等(68) |
| G 蛋白调节子 16 对胶质瘤 C6 细胞周期的调节 .....                               | 张 丰等(68) |
| 增殖核抗原(PCNA), HSP70 在星形胶质细胞瘤组织中的表达及意义 .....                     | 王 莉等(69) |
| 乳腺癌 TK 酶表达及与 PCNA 的关系 .....                                    | 毛永荣等(69) |
| 乳腺癌肿瘤细胞中的 DNA 含量与 ER、PR 表达之间的研究 .....                          | 朱晓慧(70)  |
| 细胞有丝分裂阻滞剂 Nocodazole 诱导白血病细胞系 HL-60 细胞的凋亡 .....                | 张晓晖等(70) |
| 应用共聚焦显微镜荧光双标记法检测大肠癌组织中 HSP70 及 MMP-2 的                         |          |

|                                                             |          |
|-------------------------------------------------------------|----------|
| 研究 .....                                                    | 李玉松等(71) |
| 过度表达 G 蛋白调节子 16 促进大鼠胶质瘤 C6 细胞增殖 .....                       | 张 丰等(71) |
| 前列腺癌组织中细胞周期蛋白激酶抑制因子 P27 <sup>kip1</sup> 的表达及意义 .....        | 马福成等(72) |
| 子宫内膜癌、癌前病变组织中端粒酶活性的研究 .....                                 | 罗 新等(72) |
| 逆癌酮诱导 Lewis 肺癌细胞凋亡及其机制的研究 .....                             | 秦建军等(73) |
| 逆癌酮对人肺癌恶性表型的逆转作用 .....                                      | 秦建军等(73) |
| 胰腺癌中 Fhit 蛋白的降低表达 .....                                     | 赵 坡等(74) |
| P <sub>16</sub> 、Rb 基因在骨肉瘤中的表达及相关性研究 .....                  | 高大新等(74) |
| 人脑胶质瘤细胞 ERCC2 基因表达与耐药 .....                                 | 陈忠平等(75) |
| N-乙酰氨基葡萄糖(N-GluNAc)残基在发育鼠胃底腺细胞中的表达 .....                    | 武 昕等(75) |
| 肺癌中微血管密度及其与肺癌预后的关系 .....                                    | 车国卫等(76) |
| 人肺癌中 FHIT 等位基因异常的研究 .....                                   | 周清华等(76) |
| $\beta$ -连环素在肺癌中的表达及其与肺癌转移和预后关系的研究 .....                    | 唐小军等(77) |
| nm23 在肺癌中的表达及其与肺癌转移和预后关系的研究 .....                           | 唐小军等(77) |
| nm23 和上皮型钙粘附素在肺癌中的表达及其与肺癌转移和<br>预后关系的研究 .....               | 唐小军等(78) |
| nm23 和 $\beta$ -连环素在肺癌中的表达及其与肺癌转移和预后关系的研究 .....             | 唐小军等(78) |
| 人非小细胞肺癌中 FHIT 基因转录本异常的研究 .....                              | 陈 军等(79) |
| 非小细胞肺癌患者淋巴结、外周血及骨髓微转移的分子诊断研究 .....                          | 周清华等(79) |
| 逆癌酮诱导人肺癌细胞凋亡 .....                                          | 周清华等(80) |
| 人肺癌细胞增殖及凋亡水平与临床病理生理特征的关系研究 .....                            | 王 允等(80) |
| 人非小细胞肺癌中蛋白激酶 C 的表达与预后关系的研究 .....                            | 程 玺等(81) |
| 核增殖抗原表达基因 Ki67 与人肺癌临床病理生理特征及预后的关系研究 .....                   | 王 允等(81) |
| 人肺癌中蛋白激酶 C $\beta$ I 的表达与细胞凋亡的相关性研究 .....                   | 程 玺等(82) |
| 人肺癌中蛋白激酶 C $\beta$ II 的表达与细胞凋亡的相关性研究 .....                  | 程 玺等(82) |
| 过度表达血管内皮生长因子与卵巢癌浸润转移的关系及可能机制 .....                          | 张阿丽等(83) |
| 血塞通对膀胱移行上皮癌的逆转作用初探 .....                                    | 杨策尧等(83) |
| 图像分析研究对卵巢上皮性肿瘤的诊断及预后的意义 .....                               | 殷铁军等(84) |
| 肺癌中血管内皮生长因子基因的表达及其与肺癌预后的关系 .....                            | 车国卫等(84) |
| 血管内皮生长因子在肺癌中的表达及临床意义 .....                                  | 车国卫等(85) |
| 逆癌酮抗小鼠肺癌作用和机理的初步研究 .....                                    | 秦建军等(85) |
| 肺癌中血管生成及其与肺癌预后的关系 .....                                     | 周清华等(86) |
| 结直肠癌脆性组氨酸三体 FHIT 蛋白表达丢失研究 .....                             | 赵 坡等(86) |
| 经蝎毒抗癌多肽处理后 CNE-2Z 细胞膜电位的改变 .....                            | 孔天翰等(87) |
| Cyclin D1 在卵巢上皮性及生殖细胞肿瘤中的表达 .....                           | 段亚辉等(87) |
| 蝎毒抗癌多肽对鼻咽癌细胞生长周期移行和 p53 表达的影响 .....                         | 董伟华等(88) |
| 抗癌中药神应胶囊对小鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 及 IL-8 的影响 ..... | 刘宗印等(88) |
| 细胞周期调节蛋白在食管鳞癌的表达 .....                                      | 黄俊星等(89) |
| 浙江蝮蛇毒诱导人白血病 Jurkat 细胞凋亡 .....                               | 董庆华等(89) |



|                                                                                       |          |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 子宫内膜癌中 PTEN 蛋白的表达 .....                                                               | 史玉霞等(90) |
| 用 GEArray 技术筛选人大肠癌相关的信号转导通路基因 .....                                                   | 方永明等(90) |
| 内皮型、诱导型一氧化氮合酶在乳腺癌中表达的研究 .....                                                         | 彭佳萍等(90) |
| 恶性肿瘤组织 CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>28</sub> <sup>+</sup> 细胞表达与细胞凋亡的关系 ..... | 周振英等(91) |
| 白细胞介素 - 8 在胃癌组织中的表达及意义 .....                                                          | 郭晓临等(91) |
| 卵巢癌高频转移细胞模型的建立及相关特点的研究 .....                                                          | 高庆蕾等(92) |
| 天佛参(TFS)口服液诱导人喉癌细胞 Hep - 2 细胞凋亡及机理探讨 .....                                            | 李新民等(92) |
| 用外周血检测 MDR 基因的初步探讨 .....                                                              | 石于波等(93) |
| FHIT 基因与宫颈癌相关性的研究 .....                                                               | 刘 辉等(93) |
| 乳腺癌粘附分子表达与宿主免疫状态关系的研究 .....                                                           | 杨 毅等(94) |
| 稳定表达人内皮抑素的真核细胞系的构建 .....                                                              | 孝作祥等(94) |

## 临床医学

|                                                                                             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 肺切除合并全上腔静脉切除人造血管重建术治疗肺癌上腔静脉综合征 .....                                                        | 周清华等(95)  |
| 经皮肝穿刺射频热凝治疗肝脏恶性肿瘤 .....                                                                     | 张智坚等(95)  |
| 间歇性肝门阻断下肝腔静脉结合部肝肿瘤的手术切除及疗效观察 .....                                                          | 王 义等(96)  |
| 肺癌中的血管生成及其临床意义研究 .....                                                                      | 丰国卫等(96)  |
| 前、中、侧颅底恶性肿瘤手术进路的探讨 .....                                                                    | 李树春等(97)  |
| 维甲酸 + 小剂量化疗治疗高危骨髓增生异常综合征临床观察 .....                                                          | 马晓苗等(97)  |
| 非小细胞肺癌患者淋巴结、外周血及骨髓微转移的分子诊断研究 .....                                                          | 官友陵等(98)  |
| 喉咽癌切除后喉咽部缺损修复方法的选择 .....                                                                    | 林心强等(98)  |
| 低剂量 5 - FU 持续输注联合每周 L - OHP 治疗晚期胃肠道肿瘤 .....                                                 | 吴勤芳等(99)  |
| 鼻神经内分泌癌六例报告 .....                                                                           | 张海燕等(99)  |
| CT 与彩超对胰腺癌手术切除性的联合估价 .....                                                                  | 李凤华等(100) |
| <sup>99m</sup> Tc - cotreotide 和 <sup>111</sup> In - DTPA - octreotide 受体显像对肿瘤诊断的比较研究 ..... | 管昌田等(100) |
| 康莱特注射液与 NI 方案联用治疗 NSCLC 的临床观察 .....                                                         | 陈茂森等(101) |
| 26 例晚期肝内恶性肿瘤的立体定向适形放射治疗 .....                                                               | 阎卫平(101)  |
| 肺切除合并部分左心房切除术治疗Ⅲb 肺癌的长期生存结果 .....                                                           | 周清华等(102) |
| 恶性心包积液的临床处理(46 附 48 例分析) .....                                                              | 张晓东等(102) |
| 去甲长春花碱及顺铂联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌 .....                                                               | 杨友花等(103) |
| 从胃淋巴流向动态规律看胃癌根治术时胃壁切除范围及是否切除脾脏 .....                                                        | 陈国林等(103) |
| 鱼腥草注射液防治肿瘤化疗引起的免疫功能下降的临床研究 .....                                                            | 邱 萌等(104) |
| 大剂量放疗、化疗结合自身外周血造血干细胞移植治疗难治性恶性淋巴瘤<br>40 例报告 .....                                            | 张伟京等(104) |
| 92 例 P - 糖蛋白检测与并用三苯氧胺和异搏定化疗疗效 .....                                                         | 何 彬等(105) |
| 格拉诺赛特预防肺癌化疗性骨髓抑制的随机对照研究 .....                                                               | 翁毅敏等(105) |
| 乳腺癌危险因素的研究 .....                                                                            | 陈可欣等(106) |
| 进展期消化道肿瘤术后腹腔内化疗评价 .....                                                                     | 崔永旺(106)  |
| 天津市居民对肿瘤知识认知程度的调查分析 .....                                                                   | 钱碧云等(107) |

|                                                               |           |
|---------------------------------------------------------------|-----------|
| 立体定向放疗治疗或放射外科治疗脑干肿瘤的临床分析 .....                                | 李宝生等(107) |
| 介入加 X 线立体定向放射治疗肝门部胆管细胞癌 12 例临床分析 .....                        | 于甬华等(108) |
| EBV、HBV 感染与鼻咽癌远处转移相关性探讨 .....                                 | 邝国乾等(108) |
| 顺铂用药方法探讨 .....                                                | 任 莉等(109) |
| LF 方案与 LFHE 方案治疗晚期大肠癌的对比研究 .....                              | 罗 锋等(109) |
| 恶性肿瘤患者真菌感染危险因素的配对病例 - 对照研究 .....                              | 李志平等(110) |
| 非小细胞肺癌骨髓微转移的临床研究 .....                                        | 杨武威等(110) |
| 哈尔滨市居民胃癌危险因素的病例 - 对照研究 .....                                  | 孙喜文等(111) |
| 肿瘤化疗病人入院评估分析及相关问题研究 .....                                     | 蒋顺玲等(111) |
| 如何提高增强乳腺癌病人的治疗效应 .....                                        | 江 然(112)  |
| 电化学治疗中晚期食管癌、贲门癌 .....                                         | 吴德泰等(112) |
| 食管癌早期基因预防和治疗研究 .....                                          | 冯宝章等(113) |
| 益肺胶囊治疗原发性支气管肺癌的临床研究 .....                                     | 唐由君等(113) |
| 泰素和卡铂联合治疗 20 例晚期非小细胞肺癌 .....                                  | 李 平等(114) |
| 淋巴结外恶性淋巴瘤 14 例临床分析 .....                                      | 鲍 力等(114) |
| 醛氢叶酸/脱氧氟尿苷为主联合化学治疗晚期大肠癌近期临床研究 .....                           | 张景顺等(115) |
| 胆囊癌与胆囊结石关系的临床分析 .....                                         | 邓大伟等(115) |
| 乳腺癌 PCNA、C - erbB - 2 蛋白表达与肿瘤大小、腋窝淋巴结转移的相关性及<br>临床意义 .....    | 王忠明等(116) |
| 肝癌的氩氦刀冷冻治疗 .....                                              | 吴晓安等(116) |
| 上海市区非吸烟女性肺癌病例对照研究的多因素分析 .....                                 | 刘恩菊等(116) |
| 肺癌中的微血管密度及临床意义 .....                                          | 车国卫等(117) |
| 彩色多普勒能量图对早期乳腺癌的诊断意义 .....                                     | 张艳华等(117) |
| 黑龙江省主要城市 1995 年、2000 年恶性肿瘤发病与死亡分析 .....                       | 林英姬等(118) |
| 胃癌患者手术前后血清 CA <sub>724</sub> 和 CA <sub>30</sub> 水平及临床价值 ..... | 陈名声等(118) |
| 顺铂和吉西他滨 21 天方案治疗晚期非小细胞肺癌近期疗效观察 .....                          | 王更利等(119) |
| 顺铂、足叶乙甙联合腹腔化疗治疗癌性腹腔积液疗效观察 .....                               | 蔡 俊等(119) |
| 全身电子线治疗蕈样霉菌病 11 例临床报告 .....                                   | 李月敏等(119) |
| 63 例老年性血液恶性肿瘤的临床特点分析 .....                                    | 李亚雄(120)  |
| 胸腔镜术在晚期肺癌综合治疗中的作用 .....                                       | 谷力加等(120) |
| 口服依托泊甙联合榄香烯乳治疗晚期肺癌临床观察 .....                                  | 周 民等(121) |
| 高龄食管贲门癌术后肺部感染防治体会 .....                                       | 胡振华等(121) |
| 大肠癌致肠梗阻的外科治疗(附 40 例报告) .....                                  | 胡大为等(121) |
| 转移性肾癌 IFN $\alpha$ - 2a 临床治疗分析 .....                          | 王 柯等(122) |
| 胃癌前病变近期低频被引论文的共词和共篇聚类分析 .....                                 | 郑华川等(122) |
| 胸腔和静脉双途径化疗治疗恶性胸腔积液的临床探讨 .....                                 | 王晓红等(123) |
| 肺动脉支气管成形肺叶切除术治疗Ⅲ期中心型支气管肺癌 .....                               | 周清华等(123) |
| 脊柱椎管肿瘤转移的治疗 .....                                             | 夏士安等(124) |
| 肺癌患者血清 CA <sub>125</sub> 检测的临床意义 .....                        | 蒋永新等(124) |



|                                  |              |
|----------------------------------|--------------|
| 70 岁以上肺癌病人的围手术期处理 .....          | 任 群等(125)    |
| 食管癌放疗后手术施术方式的研究 .....            | 信德和等(125)    |
| 婴幼儿颈部巨大囊状淋巴管瘤诊治中几个临床问题的评价 .....  | 王挥戈等(126)    |
| 小儿喉尖锐湿疣诊治中几个临床问题的探讨 .....        | 王挥戈等(126)    |
| 三辨治癌结合介入化疗治疗恶性肿瘤 965 例临床报告 ..... | 张士舜等(127)    |
| 立体定向放射治疗消化系统恶性肿瘤近期疗效观察 .....     | 申 泓等(127)    |
| 乳腺癌患者的不同综合治疗方式与预后的关系 .....       | 肖世全等(127)    |
| 原发性骨淋巴瘤 10 例临床分析 .....           | 郑 玲等(128)    |
| 双铂联合方案治疗中晚期食管癌疗效观察 .....         | 张国华等(129)    |
| 原发性肺类癌 17 例临床分析 .....            | 孔 莉等(129)    |
| 鼻咽癌放疗病人的综合护理体会 .....             | 彭菊华等(129)    |
| 可手术乳腺癌 537 例雌激素受体检测的探讨 .....     | 石晓毅等(130)    |
| <b>列题部分</b> .....                | <b>(131)</b> |

# 人乳头瘤病毒 16 型突变型外壳蛋白高效表达系统的构建及目的蛋白的表达

李楠<sup>1</sup> 章文华<sup>1</sup> 孙亚洲<sup>2</sup> 周兰萍<sup>2</sup> 孙肖红<sup>2</sup>

1. 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所 北京 100021

2. 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所病毒室 北京 100021

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染是宫颈癌的首要病因。HPV 基因组由三个部分组成:非编码区、早期区、晚期区,晚期区开放阅读框架编码 2 个病毒外壳蛋白, L1 和 L2, 以 L1 为主要外壳蛋白。HPV 尚不能在体外培养, 病变组织中病毒颗粒的含量又很少, 严重限制了 HPV 疫苗的研究。但 HPV L1 蛋白可自组装成病毒样颗粒(virus-like particle, VLP)。VLP 与天然病毒具有相同的空间结构和免疫原性, 是目前研究 HPV 感染免疫机制及其疫苗的最佳抗原释放系统<sup>[1]</sup>。目前在多种原核和真核表达系统中均已表达了 L1 蛋白, 如何获得高表达量产物一直是学者们研究的问题。研究发现, L1 基因的突变可明显影响真核表达系统 VLP 的产量<sup>[1]</sup>, 突变 L1 基因在原核系统的表达情况尚不清楚。本研究以突变的 L1 基因片段构建原核表达为载体, 比较其与原型 L1 表达产量的差异, 并探索最佳表达条件。

## 一、材料与方法

### (一)质粒、细菌和试剂

大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 、BL21 菌株、载体质粒 pET30a(+)及含全长 L1 基因的 pET30a(+)-L1 质粒由中国医学科学院肿瘤所病毒室保存。pUC18-L1(m202)由中国预防医学科学院病毒所惠赠, 含有第 6240 碱基突变(C $\rightarrow$ G)的 HPV16 L1 全长基因, 其蛋白产物第 202 位氨基酸由 His 突变为 Asp。DNA 限制性内切酶和 Rnase 等均购自 Promega 公司。Ni-NTA 层析柱购自 Pharmacia 公司。

### (二)pET30a(+)-L1(m202)表达载体的构建

分别从 pET30a(+)/BL21 和 pUC18-L1(m202)/BL21 中提取 pET30a(+)载体质粒和 L1(m202)DNA 片段;用 BamH I 对 pET30a(+)质粒、Bcl I 对 pUC18-L1(m202)质粒分别进行单酶切;用 DEAE-纤维素膜法回收与纯化酶切产物;以 T<sub>4</sub> DNA 连接酶催化 L1(m202)片段与 pET30a(+)载体的连接, 连接产物转化感受态大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 。将转化的感受态细菌涂布到含卡那霉素的 LB 培养板上, 37 $^{\circ}$ C 孵箱倒置培养 14~16 h。从上述培养板上挑取 10 个单菌落分别接种到 2 ml 含卡那霉素的 LB 培养液中, 小量提取质粒, 0.8% 琼脂糖凝胶电泳分离, 根据质粒分子量大小判断是否重组质粒。对分子量确定的重组质粒 DNA 行 EcoR I 酶切反应, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离, 选出阳性克隆。将含上述酶切鉴定的重组质粒转化大肠杆菌 BL21。

### (三)重组蛋白的诱导表达

接种 pET30a(+) - L1(m)/BL21 单菌落于含有 60  $\mu\text{g/ml}$  卡那霉素的 LB 培养液中, 37 $^{\circ}\text{C}$  振荡培养过夜。取过夜菌 100  $\mu\text{l}$  加到 10 ml 含卡那霉素的 LB 培养液中, 37 $^{\circ}\text{C}$  培养至吸光度 A600 值达 0.6~0.7 时, 取 5 ml 继续培养为非诱导对照, 余加入异丙基硫代半糖苷(IPTG)至终浓度 0.5 mmol/L, 在培养的不同时刻(1、2、3、4、5、9 h)各从培养物中取出 1 ml 转移到微量离心管中, 离心收集菌体, 沉淀物用 10 mmol/L Tris - Cl(pH8.0)100  $\mu\text{l}$  悬起, 加等体积的 2 $\times$  SDS 凝胶加样缓冲液, 100 $^{\circ}\text{C}$  煮沸 3 min, SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS - PAGE)分离。另取过夜培养菌 1 ml 加到 50 ml 含卡那霉素的 LB 培养基中, 同样条件培养诱导后离心收集菌体, 沉淀物中加入 50 mmol/L Tris - Cl、2 mmol/L EDTA(pH8.0), 悬浮沉淀, 冰浴超声波破碎细胞, 离心收集上清液及沉淀物, 分别取超声裂解后的上清液及沉淀悬液加等体积的 2 $\times$  SDS 凝胶加样缓冲液混匀, 100 $^{\circ}\text{C}$  加热变性 3 min, SDS - PAGE 分离, 考马斯亮蓝染色, 结果显示目的蛋白位于沉淀悬液中, 即包涵体形式存在, 超声破碎后的上清中几乎无目的蛋白。

### (四)重组蛋白的鉴定

包涵体蛋白、空载体菌体沉淀物经 SDS - PAGE 电泳分离后电转至硝酸纤维素膜上, 以 1:1 000 鼠抗 6 $\times$  His 抗体反应显色。

### (五)包涵体的大量制备

将鉴定过的重组 pET30a(+) - L1(m202)表达菌和 pET30a(+) - L1/BL21 分别接种于含卡那霉素的 LB 培养液中, 取过夜培养菌 4 ml 加到 400 ml 相同的培养液中, 37 $^{\circ}\text{C}$  180 r/min 振荡培养至吸光度 A600 值达 0.6~0.7, 加 IPTG 至终浓度 0.5 mmol/L, 继续培养 5 h, 离心收集菌体, 沉淀物中加入 40 ml 50 mmol/L Tris - Cl、2 mmol/L EDTA(pH8.0), 悬浮沉淀物, 加 80  $\mu\text{l}$  溶菌酶, 4 ml 1% TritonX - 100, 充分混匀, 冰浴超声波破碎, 功率 300 W, 工作 10 s, 间歇 10 s, 共工作 90 s, 离心收集沉淀物, 用 30 ml 50 mmol/L Tris - Cl、2 mmol/L EDTA(pH8.0)充分悬浮沉淀物后离心, 沉淀物用 8 ml TBS 悬起, 分装后于 20 $^{\circ}\text{C}$  保存, 用 8 mol/L 尿素溶解后于紫外分光光度仪测蛋白浓度。

### (六)降低温度表达重组蛋白

将过夜菌扩大培养至对数期后, 加 IPTG 至 0.5 mmol/L, 于 25 $^{\circ}\text{C}$  培养 5 h, 收集菌液提取包涵体, 悬浮于 1/50 菌液体积的 TBS 中。

### (七)重组蛋白的纯化

取 5 ml 50% Ni - NTA resin 装于层析柱中, 以 12.5 ml binding buffer 平衡柱床。将粗提包涵体溶于 6 mol/L 尿素中, 于 4 $^{\circ}\text{C}$  以 10 000 g 离心 20 min, 收集上清液, 以每毫升柱床体积 5 mg 蛋白将蛋白溶液加入柱床, 用 25 ml 的 6 mol/L binding buffer 尿素溶液流洗柱床, 加 15 ml wash buffer, 收集流出液, 加 15 ml elute buffer, 收集洗脱液, 每毫升洗脱液取 5  $\mu\text{l}$  打点于硝酸纤维素膜上, 丽春红染色, 收集洗脱峰蛋白进行 SDS - PAGE 电泳分析。

## 二、结 果

### (一)pET30a(+) - L1(m202)原核重组表达载体的构建

从 pUC18 - L1(m202)中酶切并回收 L1(m202)片段, 将其定向连接到载体 pET30a(+) 的 BamH I 下游, 构建重组原核表达载体 pET30a(+) - L1(m202)(图 1), 转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ , 挑取 10 个克隆经 EcoRI 酶切鉴定, 在插入片段上激酶质粒中有一个 EcoRI 酶切位点, 插入的 L1

(m202)片段下游 0.3 kb 处有一个 *EcoRI* 酶切位点,阳性克隆酶切后出现 2 条带,分别为 0.3 kb 和 6.6 kb,符合 L1(m202)与 pET30a(+)重组质粒的 *EcoRI* 酶切结果。

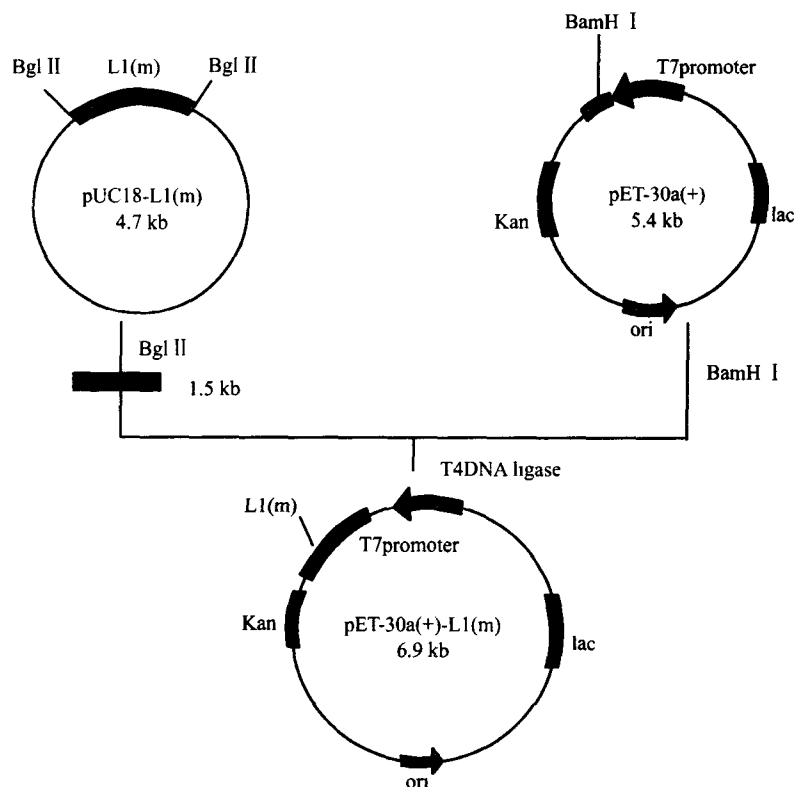


图 1 重组原核表达载体 pET30a(+) - L1(m202)的构建

## (二)重组克隆的表达

挑取一个目的克隆诱导表达,同时挑取下含载体的 BL21 空菌菌落和转化 pET30a(+)空载体的 BL21 菌落,进行同样条件培养和诱导,诱导后各取菌体直接进行 SDS - PAGE 电泳分析。结果表明重组克隆高表达融合蛋白,分子量约 60 kD,而 BL21 空菌和空载体转化的 BL21 菌诱导后均无目的蛋白表达,在诱导 5 h 表达量最高,9 h 与 5 h 表达量相似。

## (三)重组蛋白的鉴定

取诱导表达产物行 SDS - PAGE 电泳后转膜,用 6 × His 抗体进行 Western 印迹分析,结果表明重组质粒表达特异的融合蛋白带,分子量为 60 kD,而含空载体的 BL21 菌无该蛋白带,在低分子量处的显色带为降解的 L1 蛋白。SDS - PAGE 和 Western 印迹分析均表明在原核细胞中成功表达了突变型 L1 融合蛋白。

## (四)重组蛋白的产量

分别将 pET30a(+) - K1/BL21 和 pET30a(+) - L1(m202)/BL21 接种于 LB 培养液中,以相同条件诱导表达并提取包涵体,将包涵体完全溶解于 8 mol/L 尿素中,测得粗提 L1 包涵体蛋白

的表达量为 0.72 mg/ml 菌液,突变型 L1 蛋白为 0.84 mg/ml 菌液。SDS - PAGE 电泳结果显示,突变型 L1 蛋白在包涵体中所占比例高于原型 L1 蛋白,说明突变型 L1 的表达量高于原型 L1。

### (五)降低温度诱导表达重组蛋白

在 25℃ 下诱导表达蛋白,经同样方法提取,SDS - PAGE 结果显示,突变型 L1 蛋白在包涵体中所占比例高于原型 L1 蛋白,说明降低诱导温度可提高全长 L1 蛋白的获取量。

## 三、讨 论

HPV - L1 蛋白约有 530 个氨基酸残基,计算表明其分子量为 55 ~ 60 kD,其中 HPV16 - L1 为 58 kD。我们用原核表达载体 pET30a(+)表达的原型及突变型 L1 相对分子量均约为 60 kD,分子量比计算值略大与蛋白的融合部分有关,与文献报道原核表达 L1 融合蛋白大小相同<sup>[2]</sup>。

研究发现,L1 基因中碱基突变可以改变真核细胞中 L1 - VLP 的产率,在 L1 基因的第 6240 处有一个突变热点,常常由碱基 C 突变为 G,导致 L1 蛋白由原型第 202 位的 His 突变为 Asp,从而使昆虫细胞中 L1 - VLP 的产量大大提高。以 L2 与突变型 L1 共表达的蛋白产量较用 L2 与原型 L1 共表达的蛋白产量提高 1 倍<sup>[1]</sup>。突变型 L1 在原核细胞中是否有类似表达情况尚不清楚。原核表达系统具有产量高,操作简便,成本低,产品易于纯化等独特的优越性,本研究用突变的 L1 基因构建原核表达载体,探讨其是否可进一步提高表达产量。结果显示,经同样的诱导条件及提取方法获得的原型 L1 包涵体为 0.72 mg/ml 菌液,突变型 L1 为 0.84 mg/ml 菌液。SDS - PAGE 电泳结果显示,突变型 L1 蛋白在包涵体中所占比例高于原型 L1 蛋白,说明突变型 L1 的表达量高于原型 L1,这与真核细胞表达的报道相似<sup>[1]</sup>。Zhang W<sup>[2]</sup>等报道原核系统表达的 L1 蛋白经纯化复性后可形成 VLP,但产量较低<sup>[2]</sup>,本研究利用突变 L1 基因高效表达了 L1 蛋白,为提高原核系统中 VLP 的产量创造了条件。Cheng G<sup>[3]</sup>等比较了 L1 原型蛋白与 2 种突变型 L1 蛋白,发现个别氨基酸残基的改变提高了 VLP 的产量,但不改变其免疫特性,突变型 L1 蛋白与原型蛋白具有相同的免疫反应性<sup>[3]</sup>,本研究利用突变 L1 基因高效表达的蛋白可以用于免疫学研究和检测。

从上述结果中可以看到,L1 蛋白极易降解,Western 印迹中分子量位于 30 ~ 40 kD 的蛋白带为降解的 L1 蛋白。文献报道在原核和真核系统中表达的 L1 均有明显降解<sup>[1,4]</sup>,我们的结果与之一致,为此我们改变 pET 载体的常规使用条件,降低诱导温度,在 25℃ 条件下诱导表达,发现同样方法提取的包涵体产量并未降低,而目的蛋白在包涵体中所占比例显著提高,因而进一步提高了目的蛋白的产量和纯度,同时也说明化学诱导性的 pET30a - T7Lac 启动子在 25℃ 时功能并未降低。分析目的蛋白产量提高是由于内源性蛋白酶活性减弱,L1 蛋白降解减少所致,提取过程中使用蛋白酶抑制剂可能会进一步提高目的蛋白产量。

## 参 考 文 献

- 1 Kimbaurer R, Taub J, Greenstone H, *et al.* Efficient self - assembly of human papillomavirus type 16 L1 and L1 - L2 into virus - like particles. *J Virol*, 1993; 67: 6929 ~ 6936
- 2 Zhang W, Carmichael J, Ferguson J, *et al.* Expression of human papillomavirus type 16 L1 protein in *Escherichia coli*: Denaturation, Renaturation, and self - assembly of virus - like particles *in vitro*. *Virology*, 1998; 243: 423 ~ 431
- 3 Cheng G, Icenogle JP, Kimbaurer R, *et al.* Divergent human papillomavirus type 16 variants are serologically cross -

reactive. J Infect Dis, 1995; 172: 1584 ~ 1586

- 4 Bands BL, Matlashewski G, Pim D, *et al.* Expression of HPV16 capsid proteins in bacteria and their antigenic characterization. J Gen Virol, 1987; 68: 3081 ~ 3089

## 中国女性乳腺癌易感基因突变

史玉荣 只向成 牛瑞芳 宁连胜

天津市医科大学附属肿瘤医院 天津 300060

乳腺癌是严重威胁妇女生命的常见恶性肿瘤,在工业发达国家发病率居恶性肿瘤首位,我国近几年来乳腺癌发病率也有上升趋势。乳腺癌的发病机制尚不清楚,流行病学调查显示,有 5% ~ 10% 的乳腺癌患者有家族聚集性,而乳腺癌易感基因 BRCA1 和 BRCA2 是家族性乳腺癌(familial breast cancer, FBC)的主要易感基因,均为抑癌基因。BRCA1 的异常与 45% 的家族性乳腺癌、卵巢癌有关;BRCA2 的异常不仅与 45% 的家族性乳腺癌有关,还与早发乳癌、男性乳腺癌关系密切。这两个基因在人群中没有特别集中的突变热点,然而许多国家发现了一些家族性的突变热点。在犹太人 Ashkenazi 家族中,185delAG 的人群携带者占 1%,185delAG 和 188del11 在该家族 FBC 的发生率为 16% ~ 30%<sup>[1]</sup>;BRCA2 的 6174delT 占早发乳癌的 8%<sup>[2]</sup>。香港和日本均已报道查出 BRCA1、BRCA2 的基因突变,但突变率低于欧美,也未发现突变热点<sup>[3,4]</sup>。我们通过流行病学调查发现在我国 5% ~ 10% 的乳腺癌是具有家族聚集性的,为此本实验对来天津医科大学附属肿瘤医院就诊的 14 个家系和 10 个 35 岁以下早发乳腺癌的 46 例患者的外周血 DNA 标本,进行了 BRCA1 和 BRCA2 基因的全部外显子检测,来探讨我国家族性乳腺癌 BRCA1 和 BRCA2 基因突变特点。现将检测结果报道如下。

### 一、材料和方法

通过乳腺癌病历调查找出乳腺癌家系,符合以下条件者列入家族性乳腺癌:①家族中有两个或两个以上乳腺癌患者;②卵巢癌患者;③男性乳腺癌患者;④35 岁以下发生乳腺癌。共计 14 个家系,10 个 35 岁以下发病的乳腺癌患者的 46 例外周血 DNA 标本纳入本研究。

标本 DNA 提取采用常规的蛋白酶消化,酚、氯仿抽提,乙醇沉淀法提取。选择 BRCA1 和 BRCA2 基因的全部外显子作为引物,对模板 DNA 进行 PCR 扩增,用变性凝胶电泳 SSCP 法,变性凝胶异源双链分析法(heteroduplexes analysis, HET),截断蛋白检测法(protein truncation test)对扩增产物进行检测,对 PCR 扩增产物测序。

### 二、结 果

通过对 46 个标本 DNA 进行了 BRCA1 和 BRCA2 基因的全部外显子扩增后,用上述方法检测和测序。结果共检出 4 人携带 BRCA1 突变基因,1 人携带 BRCA2 突变基因。

在携带 BRCA1 基因突变(表 1)的 4 人中,有 3 人是来自同一家族的三姐妹。2 人是乳腺癌患者,分别在 40 岁和 41 岁时确诊为乳腺癌并接受了手术治疗,1 人是正常人(取血标本时 36 岁),3 人的父亲在其 52 岁确诊为肺癌,54 岁去世,母亲现健在,家系图谱见图 1。3 个人都是

BRCA1 基因的第 11 号外显子发生了突变,即第 11 号外显子上的 1584 位点上的单个核苷酸发生突变(G→T),使第 489 位上的氨基酸发生了改变,Glu 被 Stop 置换,形成肽链截短蛋白的移码突变,该突变位点现无人报道。另 1 例来自其他家庭,为 BRCA1 基因第 16 号外显子突变,突变位点类型为第 16 号外显子上的 5208 单核苷酸 C 缺失。该患者于 32 岁时确诊为乳腺癌并接受了手术治疗。家系成员中母亲和姐姐曾患乳腺癌见图 1。

表 1 4 例 BRCA1 基因突变情况

| 编 号 | 突变基因  | 外显子 | 突变点         | 氨基酸改变      | 以前报道 | 诊断年龄(岁) | 家族史 |
|-----|-------|-----|-------------|------------|------|---------|-----|
| 17  | BRCA1 | 11  | G1584T      | Glu489Stop | 未报道  | 40      | 有   |
| 19  | BRCA1 | 11  | G1584T      | Glu489Stop | 未报道  | 41      | 有   |
| 20  | BRCA1 | 11  | G1584T      | Glu489Stop | 未报道  | 正常人     | 有   |
| 42  | BRCA1 | 16  | 5208delC    | Stop 1639  | 未报道  | 32      | 有   |
| 24  | BRCA2 | 16  | 7833delTTAA |            | 有报道  | 31      | 无   |

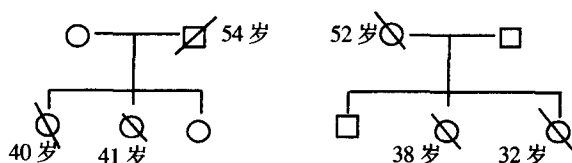


图 1 2 例乳腺癌家族史患者家系图

○—正常女性 □—正常男性 ○—确诊乳腺癌 □—肺癌死亡

我们检测出 1 人携带 BRCA2 突变基因(表 1),突变位点在外显子 16,7883 位上核苷酸 TTAA 缺失,该突变位点在国外已有报道,患者无乳腺癌及其他恶性肿瘤家族史,在 31 岁时确诊为乳腺癌并接受了手术治疗。结果提示在我国散发性乳腺癌存在 BRCA2 基因突变,且突变位点可能与报道的相一致。

以上结果提示:①在我国乳腺癌家系中确实存在 BRCA1 基因突变,而且这种突变在家族成员中的正常人也会携带。②携带突变者年龄都在 45 岁以下。

### 三、讨 论

乳腺癌易感基因(breast cancer susceptibility gene)BRCA1 和 BRCA2 为乳腺癌两大基因, BRCA1 定位于染色体 17q21,全长 100 kb,十分庞大,包含 23 个外显子和 22 个内含子,可转录 7.8 个 kb 的 mRNA,编码 1 863 个氨基酸<sup>[1,2]</sup>。BRCA2 基因定位于 13q12.3,全长 70 kb,包含 27 个外显子,可转录 10.5 kb 的 mRNA,编码 3 418 个氨基酸<sup>[3]</sup>。BRCA1 基因突变在家族性乳腺癌中十分常见,在美国及西欧约 67% 的家族性乳腺癌患者和 80% 家族性卵巢癌患者可发现 BRCA1 突变,到目前为止已确定了 100 多种 BRCA1 的种系突变,包括错义突变、移码突变、缺失突变、无义突变等,导致 BRCA1 蛋白缺失或功能改变。流行病学调查发现 5%~10% 的乳腺癌有家族聚集性<sup>[4]</sup>。我们过去曾对我院 1996~1997 年,住院并手术的 659 例乳腺癌患者进行了家系调查,调查结果显示,有 49 人有乳腺癌家族史。作为研究中国遗传性乳腺癌的第一步,我们仅对 14 个乳腺癌家系(36 个人)和 10 个 35 岁以下无乳腺癌家族史患者的外周血,46 个



DNA 标本进行了 BRCA1 和 BRCA2 的全部外显子 PCR 扩增,发现了 4 人携带 BRCA1 突变基因和 1 人携带 BRCA2 突变基因。BRCA1 基因突变的 4 人中有 3 人是来自同一家系的三姐妹,她们之中有 2 人分别在 40 岁和 41 岁时确诊为乳腺癌并接受了手术治疗,1 人为正常人,在取血标本时年龄为 36 岁,3 人的父亲于 52 岁患肺癌,54 岁去世,母亲健在。在其家庭中癌发病率较高(60%),姐妹三人都为 BRCA1 基因第 11 外显子突变,突变类型均为肽链截短蛋白变异。另外 1 人来自另一家系,测序结果显示 BRCA1 基因的外显子 16 突变,5280 位点上单个核苷酸 C 缺失。BRCA1 第 11 外显子单个核苷酸 2457 突变(C→T),是一种无义突变。这一突变曾见于祖籍是荷兰的一个家系中,该家系三代共 7 例乳腺癌患者,在澳大利亚科学家曾对不足 40 岁的女性乳腺癌进行检测,结果发现乳腺癌肽链截短的 BRCA1 突变携带率为 3.6%,我们检出的 3 例 BRCA1 基因第 11 外显子突变,而导致形成截短蛋白。因此若要阐明这些变异在乳腺癌中的作用,有人建议应当对相当数目的对照组进行筛检,随着对变异功能的深入分析,我们对其生物学作用将会有更深刻的认识,从而阐明其临床意义。

在 BRCA2 的候选编码区中,第一个被检出的序列突变导致其编码的蛋白质翻译过程的破坏,此突变是在代号为 LARC2932 的家系中被检出的<sup>[5,6]</sup>。最近研究发现,在散发性乳腺癌及其他癌症中存在 13 号染色体长臂的杂合性丢失,说明在此区域中存在突变性的肿瘤抑制基因,BRCA2 基因是这个基因的强有力的候选者,称为 BRCA2 杂合性丢失(LDH)<sup>[7]</sup>。杂合性丢失的结果,可使等位基因由杂合性变为纯合性,基因功能随之改变。目前的研究工作正在进行,分析原癌基因中是否存在着 BRCA2 的突变。BRCA2 突变基因携带者的乳腺癌发病风险与 BRCA1 突变基因携带者相同,与 BRCA1 不同的是 BRCA2 突变基因的男性携带者也有较高的乳腺癌发病风险。还有资料表明在 25% 的散发性乳腺癌患者可检出 BRCA2 突变,提示 BRCA2 突变与散发性乳腺癌有非常密切的关系。此外,BRCA2 还与其他几种肿瘤如前列腺癌、卵巢癌、肝癌、胰腺癌有关。所有这些表明 BRCA2 作为新发现的肿瘤易感基因对肿瘤发生的深远影响及在癌基因和抑癌基因研究中的重要地位。在我们的检测中检出了 1 例乳腺癌患者为 BRCA1 突变基因者,该患者无乳腺癌家族史,32 岁时确诊为乳腺癌,该突变位点在西方国家也曾有过报道<sup>[7]</sup>。因此对我国散发性乳腺癌的 BRCA2 基因的检测也应提起注意。

## 参 考 文 献

- 1 Hall JM, Lee MK. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science*, 1990; 250: 2684
- 2 Narod SA, Feunteun J, Litch HT. Familial breast-ovarian cancer locus on chromosome 17q21-q23. *Lancet*, 1991; 338: 82
- 3 Wooster L, Susan L. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science*, 1994; 265: 2088
- 4 Struwing J, et al. The frequency of the BRCA1 185delAG mutation is approximately 1% in Ashkenazi Jewish individuals. *Nature. Genet*, 1995; 11: 198
- 5 Manuela S, et al. BRCA1 and BRCA2 genes: role in hereditary breast and ovarian cancer in Italy. *Int J Cancer*, 1999; 83: 5
- 6 Alex M, et al. BRCA1 and BRCA2 mutation analysis in 86 early-onset breast/ovarian cancer patients. *J med Genet*, 1997; 34: 990
- 7 Jacob ANK, Geeta K, Rajendra PK. Isolation of expressed sequences that include a gene for familial breast cancer (BRCA2) and other transcripts from a five megabase region on chromosome 13q12. *Oncogene*, 1996; 13: 213-217

# 高发区宫颈高度鳞状上皮内病变及癌的危险因素分析

戎寿德<sup>1</sup> 吴令英<sup>1</sup> 陈汶<sup>1</sup> 张询<sup>1</sup> 马俊飞<sup>2</sup> 沈贵华<sup>1</sup> 赵方辉<sup>1</sup> 刘韵源<sup>1</sup> 乔友林<sup>1</sup>

1. 中国医学科学院肿瘤医院、肿瘤研究所 北京 100021

2. 山西省襄垣县妇幼保健院

宫颈癌是发展中国家妇女常见的恶性肿瘤之一,据估计世界每年大约有 46 万宫颈癌新发病例,其中 80% 发生在发展中国家,我国约有 13.5 万,占世界宫颈癌发病例的 28.6%。近年来在宫颈癌的病因学方面的研究,国内外都做了大量的工作,经性行为发生的病毒感染,如高危型人类乳头瘤病毒(HPV)感染、初次性交年龄过小、男方或女方多个性伴侣、免疫力低下及宫颈慢性炎症等良性疾病被认为是宫颈癌发生的重要危险因素<sup>[1,2]</sup>,其他如吸烟、口服避孕药、多孕多产、社会经济地位低下、营养不良,也被认为是导致宫颈癌发生的关联因素<sup>[3]</sup>。宫颈癌的发病在地区内及地区间的差异很大。尽管在世界范围内宫颈癌均呈下降趋势,但仍有一些地区宫颈癌发病与死亡居高不下。例如我国山西省晋东南的某些地区,其宫颈癌死亡率高达 0.036%(36/10 万)<sup>[4]</sup>。为了解该地区宫颈癌的高发原因,我们与美国克里夫兰医学中心协作,于 1999 年 6~7 月对 1997 例妇女进行了宫颈癌筛查,同时进行了危险因素的问卷调查。

## 一、材料和方法

1. 调查对象 调查对象要求年龄 35~45 岁、无子宫切除史、目前未怀孕、无盆腔放射治疗史和 2 年内未进行过妇科检查的已婚妇女。本研究对象采取自愿原则,各项检查及调查均在双盲条件下进行。调查前每一对象都要求签署知情同意书,共有 1997 例妇女参加。病例和对照的选择,按宫颈活检病理诊断结果确定。病例为癌及高度鳞状上皮病变共 86 例,对照为宫颈非癌及鳞状上皮内病变者共 1 784 例(127 例 CIN I 未列入危险因素分析)。

2. 调查表 调查表设计为封闭式问卷。由经培训的人员单独对调查对象进行问卷调查。内容包括五个方面:研究对象的基本信息、月经婚孕史、性行为史及卫生习惯、避孕史、既往疾病史和肿瘤家族史。

3. HPV 检测及病理学检查 问卷完毕,调查对象逐一进行六项临床妇科检查。由美国 Digene 公司采用杂交捕获二代试验(HC-II),对薄层细胞学检查剩余细胞及受检对象自己取阴道分泌物,分别进行 13 种高危型 HPV 检测,其中包括 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 68 型。最终以任何一种标本结果为阳性,即确定受检对象为阳性。每个受检对象均做宫颈四象限及颈管刮取活检,以确定其病例或对照。

4. 数据整理和统计分析 所有完成的问卷都要经过质量控制后,用 FoxPro 输入计算机,然后进行查重、查错。利用 SAS 统计软件对所获得的各危险因素进行单变量分析,对有显著性的单变量进行非条件的 Logistic 逐步回归分析,模型中保留和剔除水平均是  $P > 0.1$ 。