·论　　著·

STAT3 基因多态性与 HPV 感染及宫颈病变的关系

张　英[1],邓丽娜[1],徐传彬[2]
(广东省深圳市宝安区中心医院:1.妇产科;2.病理中心实验室　518102)

摘　要:目的　研究信号转导及转录活化因子 3(STAT3)单核苷酸基因多态性(SNPs)与人乳头瘤病毒(HPV)感染、宫颈病变的关系。**方法**　选取 2010 年 6 月至 2016 年 6 月经病理组织学确诊的健康子宫者 80 例(NC 组)、低度鳞状上皮内病变(LSIL)80 例(LSIL 组)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)82 例(HSIL 组)及宫颈鳞状细胞癌(SCC)85 例(SCC 组),采用聚合酶链反应(PCR)测定 HPV 感染情况,同时采用 PCR-限制片段长度多态性(RFLP)测定各组 STAT3 基因 C1697G 多态性。**结果**　与 NC 组比较,LSIL 组、HSIL 组及 SCC 组高危 HPV 阳性率明显升高,SCC 组高于 HSIL 组和 LSIL 组,HSIL 组高于 LSIL 组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与 NC 组比较,LSIL 组、HSIL 组及 SCC 组 C/C 型基因比例明显升高,SCC 组 C/C 型基因比例高于 LSIL 组、HSIL 组,HSIL 组 C/C 型基因比例高于 LSIL 组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与 HPV 阴性比较,HPV 阳性 C/C 型基因比例更高,差异有统计学意义($P<0.05$)。调整年龄因素后,与 G/G 基因型比较,C/G 基因型 HPV 感染风险上升到 2.980(95%*CI* 为 0.859～4.986),发生宫颈癌的风险上升到 3.750(95%*CI* 为 0.925～5.233);C/C 型基因 HPV 感染风险上升到 3.450(95%*CI* 为 0.889～4.896),发生宫颈癌的风险上升到 5.020(95%*CI* 为 0.958～5.712)。**结论**　STAT3 基因 C1697G 多态性与 HPV 易感性、宫颈病变的发生有密切关系。

关键词:信号转导及转录活化因子 3;　基因 C1697G 多态性;　人乳头瘤病毒;　宫颈病变
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.21.030　**文献标志码:**A　**文章编号:**1672-9455(2017)21-3211-03

Association of STAT3 gene polymorphism with HPV infection and cervical lesions

ZHANG Ying[1],*DENG Lina*[1],*XU Chuanbin*[2]
(1.*Department of Obstetrics and Gynecology*;2.*Central Laboratory of Pathology*,*Baoan District Central Hospital*,*Shenzhen*,*Guangdong* 518102,*China*)

Abstract:Objective　Objective to investigate the relationship between single nucleotide polymorphism (SNPs) of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and human papillomavirus (HPV) infection and cervical lesions. **Methods**　From June 2010 to 2016 6 80 cases diagnosed by histopathology of healthy uterus (NC group),low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) 80 cases (LSIL group),high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) in 82 cases (HSIL group) and cervical squamous cell carcinoma (SCC) and 85 cases (SCC group),the polymerase chain reaction (PCR) determination of HPV infection at the same time,the application of PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) detected STAT3 gene C1697G polymorphism. **Results**　Compared with the NC group,the positive rate of high-risk HPV in group LSIL,group HSIL and group SCC was significantly higher,SCC group was higher than that of group HSIL and group LSIL,and that of group HSIL was higher than that of group LSIL,the difference was statistically significant ($P<0.05$). Compared with NC group,LSIL group,HSIL group and SCC group C/C genotype proportion increased significantly in group SCC C/C genotype proportion is higher than the LSIL group,HSIL group,HSIL group,C/C genotype proportion is higher than that of LSIL group,the differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with HPV negative,the proportion of HPV positive type C/C genes was higher,the difference was statistically significant ($P<0.05$). After adjustment of age,compared with the G/G genotype,C/G genotype HPV infection risk rose to 2.980 (95%*CI*:0.859－4.986),the risk of SCC increased to 3.750 (95%*CI*:0.925－5.233);type C/C gene HPV infection risk rose to 3.450 (95%*CI*:0.889－4.896),the risk of SCC up to 5.020 (95%*CI*:0.958－5.712). **Conclusion**　The C1697G polymorphism of STAT3 gene is closely related to the susceptibility of HPV and the occurrence of cervical lesions.

Key words:signal transducer and activator of transcription 3;　gene C1697G polymorphism;　human papillomavirus;　cervical lesion

宫颈癌是女性常见的妇科恶性肿瘤之一,患者发病率及病死率呈逐年上升趋势,且有年轻化倾向[1]。目前,普遍认为人乳头瘤病毒(HPV)尤其是高危型 HPV 长期感染是引起宫颈癌前病变及宫颈癌的危险因素[2]。然而,流行病学研究表明[3],患者感染 HPV 后,大部分能通过自身免疫功能清除,只有少部分持续感染患者最终会进展为上皮内瘤变(CIN)或宫颈癌。导致 HPV 感染转归不同除与病毒及环境因素有关外,还与宿主自身对病毒的免疫状态及易感性有关。信号转导及转录活化因子 3(STAT3)属于能被非受体酪氨酸激酶及生长因子受体激活的转录因子,可参与细胞增殖、分化、炎性反应及凋亡等多种生命活动[4]。研究表明,STAT3 可持续诱导炎性微环境,导致机体免疫应答功能紊乱,降低机体免疫功能,从而增加机体病原菌感染风险[5]。HPV 感染可异常激活 STAT3 表达,导致感染部位癌变。本研究将探讨 STAT3 基因单核苷酸基因多态性(SNPs)与 HPV 感染、宫颈病变的关系,旨在为宫颈癌临床防治提供指导。现报道如下。

作者简介:张英,女,副主任医师,主要从事妇产科方面的研究。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选取 2010 年 10 月至 2016 年 10 月宫颈病变患者 402 例；年龄 22～45 岁，平均(28.6±2.8)岁；孕次 1～3 次，平均(1.8±0.2)次。根据液基薄层细胞检测及病理标本将宫颈病变分为低度鳞状上皮内病变(LSIL)80 例(LSIL 组)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)82 例(HSIL 组)、宫颈鳞状细胞癌(SCC)85 例(SCC 组)。另选取 80 例自愿者健康子宫组织(NC)80 例(NC 组)；年龄 22～45 岁，平均(28.6±2.8)岁；孕次 1～3 次，平均(1.8±0.2)次。各组患者年龄、孕次比较差异无统计学意义($P>0.05$)，具有可比性。纳入标准：(1)患者均经实验室诊断、影像学诊断及病理组织学确诊；(2)近 3 个月内未接受过抗 HPV 治疗；(3)均签署知情同意书，愿意配合研究。排除标准：(1)接受过宫颈手术者；(2)合并糖尿病患者；(3)其他部位恶性肿瘤者；(4)自身免疫功能缺陷症者。

1.2　方法

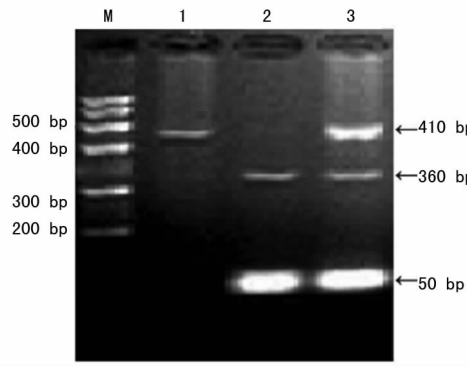
1.2.1　HPV 类型检测　各组检测时取仰卧位，张开双腿，应用宫颈脱落细胞取样器在宫颈外口顺时针或逆时针旋转 4～5 圈，将标本置于密封试管中，置于－20 ℃保存待测。采用 HybiMax 基因芯片(凯普公司)，以导流杂交方法测定各组 HPV-DNA 情况，操作过程严格按试剂盒说明进行。该方法可检测 11 种高危 HPV(包括 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV56、HPV58、HPV59、HPV68)及 5 种中低危型(HPV6、HPV11、HPV42、HPV43、HPV44)及 3 种其他类型(HPV53、HPV66、cp8304)。患者检测到任何 1 种 HPV-DNA 则判定为 HPV 阳性；当高危险与中低危型 HPV 同为阳性或高危险 HPV 为阳性时，则判定为高危 HPV 感染。

1.2.2　STAT3 基因 SNPs 测定　制备病理组织学标本：取各组病理组织 5 cm×5 cm，采用 10%甲醛固定，石蜡包埋，并切成厚为 3 μm 切片共 9 张，1 张行苏木精-伊红染色(HE 染色)，8 张用于制备 DNA，病理切片均经资深病理医师确诊。采用聚合酶链反应(PCR)测定 STAT3 基因型，构建 STAT3 引物(上游引物：5′-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3′，下游引物：5′-GTTGGGCTCAAATACGGTGG-3′)，以 β 球蛋白基因(350 bp)作为内参基因，取上下游引物各 2 μL、DNA 聚合酶 25 U、氯化钾 50 mmol/L、氯化镁 1.5 mmol/L 及相应缓冲液。反应条件：94 ℃预变性 5 min，变性 30 s，63 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，经 35 个循环后 72 ℃延伸 5 min；采用 1.5%琼脂糖凝胶电泳分析 PCR 扩增产物基因型。采用 PCR-限制片段长度多态性(RFLP)测定各组 STAT3 基因 C1697G 多态性。

1.3　统计学处理　采用 SPSS19.0 统计软件对数据进行统计学处理；计数资料采用例数或率表示，组间比较采用 χ^2 检验；以比值比(OR)及 95%置信区间(95%CI)表示相对危险度；以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　STAT3 酶切结果分析　STAT3 基因远端 G-C 位点突变后会被 Rsaiv 位点限制性内切酶识别，纯合突变型(C/C)会产生 410、360、50 bp 等 3 个片段，而野生型(G/G)只产生 410 bp 等 1 个片段。见图 1。



注：1 为野生纯合子 G/G 型；2 为突变纯合子 C/C 型；3 为杂合子 G/C 型；M 为 100 bp DNA 标记物

图 1　PCR-RFLP 分析 STAT3 基因 SNPs 结果

2.2　高危 HPV 感染与宫颈病变程度的关系　与 NC 组比较，LSIL 组、HSIL 组及 SCC 组高危 HPV 阳性率明显升高，且 SCC 组高于 HSIL 组和 LSIL 组，HSIL 组高于 LSIL 组，差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1　高危 HPV 感染与宫颈病变程度的关系

组别	n	HPV16(n)	HPV18(n)	HPV31(n)	HPV33(n)	HPV39(n)	HPV45(n)	总阳性[n(%)]
NC 组	80	3	1	1	—	—	—	5(6.25)
LSIL 组	80	22	12	2	1	1	—	38(47.50)*
HSIL 组	82	35	20	3	3	2	1	64(78.05)*#
SCC 组	85	32	28	10	5	3	2	80(94.12)*#△

注：－表示未检出 HPV；与 NC 组比较，* $P<0.05$；与 LSIL 组比较，# $P<0.05$；与 HSIL 组比较，△ $P<0.05$

2.3　各组 STAT3 基因 SNPs 分析　与 NC 组比较，LSIL 组、HSIL 组及 SCC 组 C/C 型基因比例明显升高，且 SCC 组 C/C 型基因比例高于 LSIL 组、HSIL 组，HSIL 组 C/C 型基因比例高于 LSIL 组，差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2　各组 STAT3 基因 SNPs 分析[n(%)]

组别	n	G/G 型	G/C 型	C/C 型
NC 组	80	75(93.75)	3(3.75)	2(2.50)
LSIL 组	80	48(60.00)	10(12.50)	22(27.50)*
HSIL 组	82	30(37.50)	12(14.63)	40(48.78)*#
SCC 组	85	7(8.23)	10(11.76)	68(80.00)*#△

注：与 NC 组比较，* $P<0.05$；与 LSIL 组比较，# $P<0.05$；与 HSIL 组比较，△ $P<0.05$

2.4　宫颈病变 HPV 阳性与阴性的 STAT3 基因 SNPs　LSIL 组、HSIL 组及 SCC 组患者 HPV 阳性 C/C 型基因比例高于 HPV 阴性，差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3～5。

表 3　LSIL 组 HPV 阳性与阴性 STAT3 基因 SNPs[n(%)]

HPV 感染状态	n	G/G 型	G/C 型	C/C 型
阴性	42	35(83.33)	5(11.90)	2(4.76)
阳性	38	13(34.21)	5(13.16)	20(52.63)*

注：HPV 阴性比较，* $\chi^2=22.929$，* $P<0.05$

2.5　STAT3 基因型分布频率与 HPV 感染、宫颈癌的相关

性　调整年龄因素后，C/G 基因型 HPV 感染风险上升到 2.980(95%*CI* 为 0.859～4.986)，发生宫颈癌的风险上升到 3.750(95%*CI* 为 0.925～5.233)；C/C 型基因 HPV 感染风险上升到 3.450(95%*CI* 为 0.889～4.896)，发生宫颈癌的风险上升到 5.020(95%*CI* 为 0.958～5.712)。

表 4　HSIL 组 HPV 阳性与阴性 STAT3 基因 SNPs[*n*(%)]

HPV 感染状态	*n*	G/G 型	G/C 型	C/C 型
阴性	18	10(55.55)	6(33.33)	2(11.11)
阳性	64	20(31.25)	6(9.37)	38(59.37)*

注：与 HPV 阴性比较，* $\chi^2=13.098$，* $P<0.05$

表 5　SCC 组 HPV 阳性与阴性 STAT3 基因 SNPs[*n*(%)]

HPV 感染状态	*n*	G/G 型	G/C 型	C/C 型
阴性	5	3(60.00)	2(40.00)	0(0.00)
阳性	80	4(5.00)	8(10.00)	68(85.00)*

注：与 HPV 阴性比较，* $\chi^2=21.250$，* $P<0.05$

3　讨　论

CIN 是宫颈癌最主要的癌前病变，尽早筛查及干预对阻断 CIN 进展为宫颈癌具有重要意义。目前，普遍认为 HPV 是宫颈癌发生的高危因素，生殖道持续感染 HPV 可诱发宫颈病变。

HPV 感染存在明显的地域差异，亚洲人群中主要以 HPV16、HPV18、HPV31 类型为主。本研究中 LSIL 组、HSIL 组及 SCC 组患者均以 HPV16、HPV18 为主。随着宫颈病变程度加重，患者 HPV 感染阳性率明显升高，提示 HPV 感染与宫颈病变有密切关系。由于宫颈癌的发生、进展属于病理逐步改变过程，患者从 CIN 早期炎性浸润发展为癌症是一个量变到质变的过程，而从感染 HPV 到进展为宫颈癌所需时间为 10～20 年，因此尽早对 HPV 感染情况及 HPV 分型进行诊断，对预防宫颈癌具有重要意义[6-7]。

高危 HPV 感染是宫颈癌发生的危险因素，但并不是宫颈癌发生的唯一因素。宫颈癌的发生还与机体免疫水平、炎性反应及相关细胞信号通路被激活有关[8]。信号传导及转录激活因子(STATs)属于细胞质转录因子，可与细胞核内 DNA 结合并参与靶基因调控，从而介导肿瘤细胞增殖、侵袭、浸润、转移及凋亡等一系列病理生理活动。STATs 是恶性肿瘤发生及病情进展的重要调控因子。Lin 等[9]研究发现，胃癌复发及转移与 STAT3 被激活有密切的关系，通过阻断 STAT3 信号转导通路将有助于提高患者化疗效果，降低患者耐药性。陈飞等[10]认为，多种恶性肿瘤的发生与 STAT3 基因 SNPs 有关。SNPs 在基因组中具有保守及高密度等特点，是人类基因组 DNA 序列中最常见的变异形式，决定人类药物反应及疾病易感性，在机体易患病体质、抗药性及个体化差异中起重要作用。因此，本研究采用 PCR-RFLP 测定 STAT3 基因 SNPs 并分析基因型，研究 STAT3 基因 SNPs 与 HPV 感染、宫颈病变的关系。

本研究结果显示，随着宫颈病变程度加深，患者 STAT3 基因 C/C 型比例明显升高，且 HPV 阳性 C/C 型比例高于与 HPV 阴性，提示 STAT3 基因 SNPs 与 HPV 感染、宫颈癌发生有密切关系。调整年龄因素后，C/G 基因型 HPV 感染风险上升到 2.980(95%*CI* 为 0.859～4.986)，发生宫颈癌的风险上升到 3.750(95%*CI* 为 0.925～5.233)；C/C 型基因 HPV 感染风险上升到 3.450(95%*CI* 为 0.889～4.896)，发生宫颈癌的风险上升到 5.020(95%*CI* 为 0.958～5.712)，进一步表明 STAT3 基因突变可增加 HPV 感染及宫颈癌的风险。其机制可能为 HPV 感染后激活 STAT3 信号通路，并介导 E6、E7 致癌蛋白生成；致癌蛋白通过各种途径促进细胞增殖、恶化及血管形成，表现出致癌作用[11]。

综上所述，宫颈癌的发生是多因素共同作用、相互影响的结果，STAT3 基因突变后会增加患者 HPV 感染风险及宫颈癌风险，提示 STAT3 在宫颈癌发生、病情进展过程中起重要作用，可作为 HPV 感染及早期宫颈癌诊断的重要指标之一。

参考文献

[1] 叶郁红，张声，王行富，等. 宫颈癌相关危险因素分析[J]. 中国医科大学学报，2014，43(7)：659-660.

[2] 汤传梅，李斐. 南阳市女性宫颈癌及癌前病变危险因素人群归因危险度研究[J]. 中国妇幼保健，2015，30(23)：4008-4010.

[3] 姚立丽，战英杰，李贺月，等. 新疆地区汉族和维吾尔族宫颈癌临床流行病学分析[J]. 中国妇幼保健，2014，29(35)：5749-5752.

[4] 陈滢，程艳香. JNK 和 STAT3 蛋白在宫颈病变组织中的表达及临床意义[J]. 实用癌症杂志，2014，5(6)：611-613.

[5] 王森，陈荏槐，康海鲜，等. 利用 RNA 干扰技术探讨 STAT3 对宫颈癌 C33a 细胞增殖的影响[J]. 中国医药指南，2014，2(22)：81-82.

[6] Sivars L，Landin D，Haeggblom L，et al. Human papillomavirus DNA detection in fine-needle aspirates as indicator of human papillomavirus-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma：a prospective study[J]. Head Neck，2017，39(3)：419-426.

[7] Yang J，Dai LX，Chen M，et al. Inhibition of antiviral drug cidofovir on proliferation of human papillomavirus-infected cervical cancer cells[J]. Exp Ther Med，2016，12(5)：2965-2973.

[8] Setiawan D，Dolk FC，Suwantika AA，et al. Cost-Utility analysis of human papillomavirus vaccination and cervical screening on cervical cancer patient in Indonesia[J]. Value Health Regional Issues，2016，9(4)：84-92.

[9] Lin L，Jou D，Wang Y，et al. STAT3 as a potential therapeutic target in ALDH$^+$ and CD44$^+$/CD24$^+$ stem cell-like pancreatic cancer cells[J]. Int J Oncol，2016，49(6)：2265-2274.

[10] 陈飞，程琪，王立波，等. STAT3 和 MDM2 在宫颈腺癌组织中的表达及意义[J]. 中国妇幼保健，2014，29(19)：3154-3155.

[11] Subramaniam KS，Omar IS，Kwong SC，et al. Cancer-associated fibroblasts promote endometrial cancer growth via activation of interleukin-6/STAT-3/c-myc pathway[J]. Am J Cancer Res，2016，6(2)：200-213.

(收稿日期：2017-05-11　修回日期：2017-07-22)