

# 人類乳突病毒 (HPV) 在口咽癌所扮演的角色 及其重要性—來自於南台灣的經驗

高雄長庚耳鼻喉科 簡志彥

## 摘要

目前已知造成頭頸部上皮癌形成的原因，研究已經證實，以檳榔、菸草、酒精的相關性最大。根據目前國外最新的研究顯示，感染人類乳突病毒 (human papilloma virus, HPV) 與口咽癌的形成也有相關性，尤其是人類乳突病毒 16 型，在歐美國家口咽癌腫瘤細胞核中 HPV 的盛行率有許多均超過 50%，但本土的口咽癌之成因有許多是煙、酒、檳榔所造成的，相信其腫瘤細胞核中 HPV 的盛行率與歐美國家應有所不同。本研究目的乃在探討口咽癌腫瘤細胞核中 HPV 南臺灣的盛行率與其治療預後所扮演的角色。

## 前言

頭頸部上皮癌形成的原因，不外乎與檳榔、菸草、酒精的使用有關。而本篇文章的主題主要探討另一個重要的頭頸部致癌因子—人類乳突病毒。根據目前國外最新的研究顯示，感染人類乳突病毒 (human papilloma virus, HPV) 與口咽癌的形成也有相關性，尤其是人類乳突病毒 16 型<sup>[1]</sup>。研究報告顯示口咽癌也可能發生在不抽煙、不喝酒、不吃檳榔的病人。人類乳突病毒是一種男性與女

性都可能感染的常見病毒。它是一種 DNA (去氧核糖核酸) 病毒，大小約為 50 uM，專門感染於人類的表皮和黏膜組織，它的種類超過 100 種。大部分的人類乳突病毒不會引發任何病徵或症狀，不需治療就可自行消失，但約有 35 種的人類乳突病毒被稱為生殖器類型病毒 (genital HPV)，它們會感染生殖器部位。這類人類乳突病毒其中又以 HPV16 及 HPV18 型最為著名，因為它們會導致子宮頸內襯層的細胞產生變化，進而轉變為癌細胞，導致子宮頸癌。

目前醫界發現，口交時口腔或口咽部若是遭到人類乳突病毒的感染，可能會增加罹患鱗狀上皮癌的機會<sup>[2]</sup>。歐美近年來罹患口咽癌的病人年齡逐漸下降，許多是四十歲婦女，其中六成患者的扁桃腺組織上，被驗出感染人類乳突病毒，而病毒型別多數正是與子宮頸癌有關的 HPV16 及 HPV18 型病毒。和人類乳突病毒有關的口咽癌，美國每年至少有五千多例。美國國家癌症研究所統計了三十多年的資料，將四萬六千多個癌症病例分類為人類乳突病毒導致的癌症、與非人類乳突病毒導致的癌症兩種；統計結果發現，從 1973 年到 2001 年，白種男性罹患人類乳突病毒導致口咽癌的發生率穩定成長，變得與香菸和酒精所導致的口咽癌一樣常見<sup>[3]</sup>。

有關人類乳突病毒導致癌症的機轉，根

據分子生物學的研究，人類乳突病毒在人類的表皮和黏膜組織內，會產生兩種致癌蛋白質—分別是 E6 和 E7。這兩種致癌蛋白質會進一步促使另外兩種腫瘤抑制蛋白 p53 及 pRb 的去活化，進一步導致細胞週期的自我調節能力喪失，進而引起表皮或黏膜細胞的不穩定變性，最終導致癌症的發生<sup>[4]</sup>。根據美國的報告，全美五成以上的女性一生至少會感染到一次人類乳突病毒，只是大部分會恢復正常。而根據世界衛生組織 (WHO) 估計，2001 年全球約有 6.3 億人 (9%–13%) 感染人類乳突病毒。台灣目前在人類乳突病毒的流行病學及其與口咽癌之間關聯性的相關研究，還不是很普遍，尤其是南台灣方面的研究資料更是有限。所以，本文將分析討論高雄長庚醫院多年來累積的病例研究，探討人類乳突病毒與口咽癌的關聯性、腫瘤抑制蛋白 p16、p53 及表皮生長因子 (Epidermal growth factor receptor, EGFR) 與口咽癌的相關性。

## 材料與方法

從 1992 年 1 月至 2008 年 3 月，高雄長庚十六年來總共有 274 個罹患口咽癌的病人納入研究分析。這些病人均有接受治療，有些接受手術治療，有些手術治療再加上放射線治療，有些則是手術治療加上放射線治療與化學治療，還有一些是單純接受放射線治療或化學治療。而若我們將這些病人依其接受治療的時間，則可分成兩個不同的群組，群組 A 所代表的是從 1992 年 1 月到 2005 年 12 月的病患，其數量為 220 位病人，平均年齡為 51.2 歲 (20 歲到 89 歲)；群組 B 則代表

從 2006 年 1 月到 2008 年 3 月的病患，其總數為 54 位病人，平均年齡為 51.3 歲 (31 歲到 84 歲)。

有關人類乳突病毒 (HPV) 的偵測方面，我們使用 paraffin-embedded tumor block 來萃取 genomic DNA，並使用適當的引子 (primer) 進行聚合酶連鎖反應 (PCR) 來偵測人類乳突病毒的有無。為進一步確認 PCR 產物的正確性與避免假陰性的結果，我們亦用嵌套式聚合鏈反應 (nested PCR) 來提高結果的正確性。其後再利用原位雜交 (In situ hybridization) 的方法不僅確認人類乳突病毒位在腫瘤細胞的位置外，此外同時也可測出不同型態的 HPV 如常見的 HPV6、HPV11、HPV16 和 HPV18 等亞型；另外我們會使用 Linear Array HPV Genotyping Test (Roche) 的方法，來做進一步偵測非 HPV6、HPV11、HPV16 和 HPV18 亞型的其他人類乳突病毒。有關腫瘤抑制蛋白 p16、p53 和表皮生長因子 EGFR 的偵測，我們是使用在 paraffin block 的腫瘤細胞上，做免疫組織學 (Immunohistochemistry) 方面的染色。

## 結果

分析所有病患其人類乳突病毒 DNA 陽性的盛行比率，若依腫瘤發生部位比較，其盛行率由低至高分別為扁桃腺癌 12.6%、軟顎癌 15.8%、舌根癌 18.3%。若根據時間分類，2006 年以前的群組 A，其盛行率為 15%，而 2006 年以後的群組 B，其盛行率為 22.2%，代表人類乳突病毒相關之口咽癌，近年來有逐步上升的趨勢。針對人類乳突病毒陽性的病例進行統計，分析人類乳突

病毒亞型所佔的比例結果如下：HPV16 型所佔比例為 77.8%、HPV18 型所佔比例為 8.9%、HPV16/HPV18 型所佔的比例為 6.7%、HPV31 型所佔的比例為 2.2%、HPV16/HPV31 型所佔的比例為 2.2%、HPV16/HPV11 型所佔的比例為 2.2%。其中以 HPV16 型所佔的比例為最高，代表著 HPV16 型是南台灣造成人類乳突病毒所引起的口咽癌中最常見的亞型。

研究中又另外發現腫瘤細胞中呈現人類乳突病毒陽性的病患，以下列三種族群居多：(1) 女性族群，(2) 不嚼檳榔的族群，(3) 不抽煙的族群。若將其分為人類乳突病毒陽性和人類乳突病毒陰性兩個群組來比較，我們發現人類乳突病毒陽性的群組，其五年的整體存活率明顯高過人類乳突病毒陰性的群組，其差距也達到統計學上的意義 ( $p = 0.0084$ )。

分析群組 A 的 220 位罹患口咽癌病人，根據腫瘤抑制蛋白 p16 染色程度區別為 p16 陰性及 p16 陽性兩類，p16 陽性病人五年的整體存活率明顯高過 p16 陰性病人，其差距達到統計學上的意義 ( $p = 0.035$ )。這些統計結果顯示，腫瘤抑制蛋白 p16 呈現陽性以及人類乳突病毒呈現陽性的口咽癌病患，其預後相對較好。另外針對表皮生長因子 EGFR 之染色程度，將病患分成高 EGFR 及低 EGFR 兩群組進行比較，我們發現 EGFR 高表現組其五年的整體存活率明顯低於 EGFR 低表現組，其差距達到統計學上的意義 ( $p = 0.013$ )。若將病人分為腫瘤抑制蛋白 p53 高表現群組和腫瘤抑制蛋白 p53 低表現群組，此兩群組比較發現，p53 高表現組其五年的整體存活率明顯低於 p53 低表現組，其差距

也達到統計學上的意義 ( $p = 0.011$ )。這些結果似乎代表表皮生長因子 EGFR 高表現以及腫瘤抑制蛋白 p53 高表現的口咽癌病患，其預後相對較差。

另外還是從群組 A 的 220 位罹患口咽癌的病人由多重分析來看五年整體存活率。若將其分為人類乳突病毒陰性和人類乳突病毒陽性兩個群組來比較，我們發現人類乳突病毒陰性的群組，其五年整體存活率較差，危險值是人類乳突病毒陽性群組的 2.037 倍，其差距達到統計學上的意義 ( $p = 0.019$ )。若將其依腫瘤分期分為 T3、T4 群組和 T1、T2 群組來比較，我們發現 T3、T4 群組其五年整體存活率較差，危險值是 T1、T2 群的 2.851 倍，其差距也達到統計學上的意義 ( $p < 0.001$ )。其代表著人類乳突病毒呈現陰性以及腫瘤分期屬於 T3、T4 晚期的口咽癌病患，其五年整體存活率相對較低。

從另外一個角度來分析，我們發現腫瘤抑制蛋白 p16 有陽性的表現和人類乳突病毒有陽性表現的腫瘤，是有正相關的關聯性，並且達到統計學上的意義 ( $p < 0.001$ )。其代表著腫瘤抑制蛋白 p16 是足以當作偵測人類乳突病毒的指標。另外研究發現，腫瘤抑制蛋白 p16 及人類乳突病毒的表現，與表皮生長因子 EGFR 的表現，是呈現負相關的關聯性，達到統計學上的意義 ( $p < 0.001$ )。同時腫瘤抑制蛋白 p16 及人類乳突病毒的表現，與腫瘤抑制蛋白 p53 的表現，也是呈現負相關的關聯性，也達到統計學上的意義 ( $p < 0.001$ )。

## 討論

根據以上的結果，我們繼續再加以討論。首先，在頭頸部惡性腫瘤中，發現有人類乳突病毒感染的個案，近年來有逐步上升的趨勢。根據 D'Souza 等學者在 N Engl J Med 2007 所發表的論文指出，口咽內若被人類乳突病毒感染，其之後導致口咽癌的比率是一般人的 15 倍<sup>[5]</sup>。又根據 Ringstrom 等學者在 Clin Cancer Res 2002 所發表的論文指出，人類乳突病毒所導致的口咽癌個案，多半為較少吸煙者<sup>[6]</sup>。至於人類乳突病毒所導致的口咽癌是否有性別方面的傾向，則有待繼續研究。

有關人類乳突病毒陽性口咽癌的臨床特色如下：

1. 根據我們在 2008 年所發表的論文<sup>[7]</sup>，以及 Fakhry 等學者在 J Clin Oncol 2006 所發表的論文<sup>[8]</sup>指出，人類乳突病毒所導致的口咽癌，相對其他原因導致的口咽癌，會有比較好的預後。
2. 根據 Kumar 等學者在 J Clin Oncol 2008 所發表的論文指出，人類乳突病毒所導致的口咽癌，對化學治療較為敏感<sup>[9]</sup>。
3. 根據 Westra 等學者所發表的論文指出，人類乳突病毒所導致的口咽癌，相對其他原因導致的口咽癌，其癌化的範圍較為侷限<sup>[10]</sup>。
4. 根據 Herrero 等學者在 J Natl Cancer Inst 2003 所發表的論文指出，人類乳突病毒所導致的口咽癌，其在口腔及口咽的黏膜上，有比較少的角質化上皮<sup>[11]</sup>。
5. 根據 Licitra 等學者在 J Clin Oncol 2006 所發表的論文指出，人類乳突病毒所導致的口咽癌，其有較少的機會同時併發其他的癌症<sup>[12]</sup>。

關於人類乳突病毒，我們必須知道，它原是屬於性生殖器的傳染病毒，和子宮頸癌有著密切的關係。但近年來，性觀念越來越開放，男女口交的比例提高，人類乳突病毒便可能經由口交的媒介，進一步導致口咽的感染。根據 Sok 等學者<sup>[2]</sup>所發表的論文指出，導致女性子宮頸癌的人類乳突病毒 (HPV)，也是導致男性口腔癌的一大元兇。研究人員指出，HPV 如今與香菸以及酒精並列造成許多上咽喉癌症的元兇之一，其原因可能在於口交率提高所至。因此，今後如果要說導致口咽癌化的致癌因子，除了檳榔、菸草、酒精之外，還需要加上人類乳突病毒 (HPV) 的感染。

關於人類乳突病毒 (HPV) 標計與口咽癌相關的研究還有很多，有：

1. 根據 Wong 等學者所發表的論文指出，一般菸草、酒精引發的口咽癌，其腫瘤抑制蛋白 p16 是很少會呈現陽性的<sup>[13]</sup>。
2. 而根據 Reimers 等學者 2007 年所發表的論文指出，人類乳突病毒所導致的口咽癌，其腫瘤抑制蛋白 p16 常常會呈現陽性，其印證了腫瘤抑制蛋白 p16 的表現和人類乳突病毒的感染，是有高度的正相關的<sup>[14]</sup>。
3. 根據 Nogueira 等學者所發表的論文<sup>[15]</sup>、Khademi 等學者所發表的論文<sup>[16]</sup>，還有 Mineta 等學者在 1998 年所發表的論文<sup>[17]</sup>指出，在一般的頭頸部鱗狀上皮癌中，常常會見到腫瘤抑制蛋白 p53 的突變，導致過度的表現，並且也伴隨著較差的預後。
4. 而根據 Licitra 等學者發表的論文指出，人類乳突病毒的致癌蛋白質 E6 會使得腫



瘤抑制蛋白 p53 去活化，進一步降低 p53 突變的機率，最終造成在人類乳突病毒所導致的口咽癌中，腫瘤抑制蛋白 p53 有比較低的表現<sup>[12]</sup>。

5. 而根據 Ciardiello 等學者發表的論文指出，過度表現的表皮生長因子 EGFR，往往與惡性度較高的惡性腫瘤、較頑強的治療抵抗性、以及較差的預後有關<sup>[18]</sup>。此外根據 Kumar 等學者在發表的論文<sup>[9]</sup>指出，過度表現的表皮生長因子 EGFR，與長期吸煙有著正相關的關係。
6. 有一篇很重要的論文，是根據 Reimers 等學者<sup>[14]</sup>在 2007 年所發表的，其說明口咽癌若呈現陽性的腫瘤抑制蛋白 p16、同時呈現陰性的表皮生長因子 EGFR，比較於口咽癌呈現陰性的腫瘤抑制蛋白 p16、加上呈現陽性的表皮生長因子 EGFR，它的五年疾病存活率是比較優異的；這也代表著，口咽癌若呈現陽性的腫瘤抑制蛋白 p16、同時呈現陰性的表皮生長因子 EGFR，我們應該盡量採取比較保守的器官保存之治療方針。

## 結論

根據以上所有的討論，我們可以給予下列五點結論：(1) 在南台灣，雖然人類乳突病毒所導致的口咽癌其盛行率還不是很高，但近兩年來有逐步上升的趨勢。(2) 在南台灣，人類乳突病毒所導致的口咽癌，其病毒亞型以 HPV16 型所佔的比例為最高，代表著 HPV16 型是南台灣最主要也最需預防的亞型。(3) 女性族群、不嚼檳榔的族群、及不抽煙的族群，發現其腫瘤細胞中呈現人類

乳突病毒陽性的機率較高。(4) 口咽癌腫瘤，若其表皮生長因子 EGFR 有較高的表現、或其腫瘤抑制蛋白 p53 有較高的表現、或是腫瘤抑制蛋白 p16 呈現較低的表現，其預後相對較差。(5) 除了腫瘤的臨床分期之外，人類乳突病毒的陽性與否，也可以當作口咽癌預後判斷的有效指標。

以上就是高雄長庚醫院—來自於南台灣的經驗—關於人類乳突病毒 (HPV) 與口咽癌的關聯性，以及腫瘤抑制蛋白 p16、p53 和表皮生長因子 EGFR 與口咽癌相關性的各項研究結果，與大家分享之。

## 參考文獻

1. Ha PK, Califano JA. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15(4):188-196.
2. Sok JC, Grandis JR. Genetic screening for oral human papillomavirus infections and cancers of the head and neck. *Clin Cancer Res.* 2008; 14(21):6723-6724.
3. Golas SM. Trends in palatine tonsillar cancer incidence and mortality rates in the United States. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2007; 35(2):98-108.
4. Whiteside MA, Siegel EM, Unger ER. Human papillomavirus and molecular considerations for cancer risk. *Cancer.* 2008; 113(S10):2981-2994.
5. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2007; 356(19):1944-56.

6. Ringström E, Peters E, Hasegawa M, et al. Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res.* 2002; 8(10):3187-92.
7. Chien CY, Su CY, Fang FM, et al. Lower prevalence but favorable survival for human papillomavirus-related squamous cell carcinoma of tonsil in Taiwan. *Oral Oncol.* 2008; 44(2):174-179.
8. Fakhry C, Gillison ML. Clinical implications of human papillomavirus in head and neck cancers. Clinical implications of human papillomavirus in head and neck cancers. *J Clin Oncol.* 2006; 24(17):2606-2611.
9. Kumar B, Cordell KG, Lee JS, et al. EGFR, p16, HPV Titer, Bcl-xL and p53, sex, and smoking as indicators of response to therapy and survival in oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol.* 2008; 26(19):3128-3137.
10. Westra WH, Taube JM, Poeta ML, et al. Inverse relationship between human papillomavirus-16 infection and disruptive p53 gene mutations in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res.* 2008; 14(2):366-369.
11. Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95(23):1772-83.
12. Licitra L, Perrone F, Bossi P, et al. High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2006; 24(36):5630-5636.
13. Wong TS, Man MW, Lam AK, et al. The study of p16 and p15 gene methylation in head and neck squamous cell carcinoma and their quantitative evaluation in plasma by real-time PCR. *Eur J Cancer.* 2003; 39(13):1881-1887.
14. Reimers N, Kasper HU, Weissenborn SJ, et al. Combined analysis of HPV-DNA, p16 and EGFR expression to predict prognosis in oropharyngeal cancer. *Int J Cancer.* 2007; 120(8):1731-1738.
15. Nogueira CP, Dolan RW, Gooley J, et al. Inactivation of p53 and amplification of cyclin D1 correlate with clinical outcome in head and neck cancer. *Laryngoscope.* 1998; 108(3):345-350.
16. Khademi B, Shirazi FM, Vasei M, et al. The expression of p53, c-erbB-1 and c-erbB-2 molecules and their correlation with prognostic markers in patients with head and neck tumors. *Cancer lett.* 2002; 184(2):223-230.
17. Mineta H, Borg A, Dictor M, Wahlberg P, Akervall J, Wennerberg J. p53 mutation, but not p53 overexpression, correlates with survival in head and neck squamous cell carcinoma. *Br J Cancer.* 1998; 78(8):1084-1090.
18. Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res.* 2001; 7(10):2958-2970.