

بررسی ارتباط حضور پاپیلوما ویروس انسانی با تظاهر پروتئین P53 در سرطان سلول سنگفرشی مخاط دهان

غلامرضا جهانشاهی* - پروین محزونی** - حمیرا مردانی***

* دانشیار گروه آموزش آسیب شناسی دهان، دانشکده ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان
** دانشیار گروه آموزش آسیب شناسی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان
*** دستیار تخصصی گروه آموزش آسیب شناسی دهان، دانشکده ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان

چکیده

بیان مسأله: سرطان سر و گردن، ششمین سرطان شایع در جهان است. فعال نشدن یک یا بخش هایی از شبکه ی P53 یا جهش ژن مزبور در درصدی بالا از موارد آن مشاهده شده است. فعال نشدن این ژن به وسیله ی ویروس پاپیلوما (HPV) یکی از ساز و کارهای احتمالی است، که برای آن بیان شده است.

هدف: هدف از این پژوهش بررسی رابطه ی فراوانی عفونت HPV ۱۶ و HPV ۱۸ و پیدایش تغییرات ژن P53 جهش یافته در سرطان سلول سنگفرشی مخاط دهان (Oral SCC) و بررسی ارتباط احتمالی است.

مواد و روش ها: شمار ۴۲ مورد (Oral SCC) انتخاب شدند، که ۳۶ مورد سرطان سلول سنگفرشی مخاط دهان و شش مورد وروکوز کارسینوما از ۲۵ مرد و ۱۷ زن را در بر می گرفت. مقاطع پشت سر هم از نمونه های پارافینی برای انجام رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی (IHC) و واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)، به ترتیب برای تعیین تظاهر P53 و حضور DNA ویروس HPV ۱۶ و ۱۸ فراهم شد. در روش IHC از شیوه ی استاندارد آبیودین- بیوتین و برای استخراج DNA، از روش آماده سازی استاندارد PCR استفاده گردید. داده ها، بر پایه ی آزمون مجذور کای و آزمون فیشر واکاوی شدند.

یافته ها: ژنوم HPV در ۲۱ مورد از ۴۲ نمونه (۵۰ درصد) موارد مثبت بود، که از این شمار، DNA، HPV ۱۶ و ۱۸ در ۱۱ مورد از ۴۲ نمونه (۲۶/۲ درصد)، مثبت بود. تظاهر P53 در ۲۳ مورد از ۴۲ نمونه (۵۴/۸ درصد) مثبت بود، که در ۱۰ مورد از ۲۱ نمونه، HPV مثبت تظاهر پروتئین P53 نیز همزمان وجود داشت، هر چند که، ارتباطی معنادار میان ژنوم کلی HPV و بروز همزمان P53 مشاهده نشد ($p = ۰/۳۵۲$)، اما میان موارد مثبت حضور DNA، HPV ۱۶ و ۱۸ با تظاهر P53، ارتباط معنادار وجود داشت ($p = ۰/۰۴۳$).

نتیجه گیری: در بررسی کنونی، ارتباطی معنادار میان عفونت HPV ۱۶ و ۱۸ و شدت تظاهر پروتئین P53 مشاهده گردید. هر چند که ارتباط آماری آشکار میان ژنوم ویروس پاپیلوما به طور کلی، و حضور P53 وجود نداشت، اما با توجه به بحث انگیز بودن نتایج به دست آمده، پیشنهاد می شود، که در بررسی های آینده، از روش انجماد نمونه ها، که از حساسیت بیشتر برخوردار است و با حجم نمونه ی بیشتر، این موضوع کامل تر بررسی گردد.

کلید واژه ها: PCR، IHC، HPV، HPV ۱۶ و ۱۸، P53

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۴/۱۱/۱۸

تاریخ دریافت مقاله: ۸۴/۶/۲۴

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز. سال ششم؛ شماره ۱ و ۲، ۱۳۸۴. صفحه ی ۱۰ تا ۱۷

* نویسنده مسوول: غلامرضا جهانشاهی. اصفهان- خیابان هزارجریب- دانشکده ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان- گروه

آموزشی آسیب شناسی دهان- تلفن: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۸۷۷- Email: Jahanshahi@dent.mui.ac.ir

مقدمه

به تازگی شواهدی به نسبت پذیرفتنی درباره ی ارتباط انواعی از ویروس پاپیلوما انسانی (HPV*) و سرطان سلول سنگفرشی مخاط دهان (**Oral SCC) مطرح شده است. در این زمینه، اگر چه ساز و کار قطعی هنوز شناخته نشده، اما شواهدی در دسترس هستند مبنی بر این که، بخش های تولید شده ناشی از این ویروس با پیوند به پروتئین های سرکوبگر تومور در سلول های کراتینوسیت، آنها را غیر فعال می سازند. بنابراین چرخه ی سلولی از حالت مهار بیرون می رود. از آنجا که، در سرطان سنگفرشی سر و گردن شیوع بالایی از تغییرات ژن P53، که به عنوان ژن سرکوبگر تومور است، نیز مشاهده شده است، اما این دیدگاه مطرح می گردد، که از دست دادن فعالیت ژن P53، ممکن است در ارتباط با جهش در ژن مزبور، به علت اثرات پاره ای از ویروس های خاص، مانند ویروس های گونه ی ۱۶ و ۱۸ از خانواده ی ویروس های پاپیلوما انسانی باشد^(۱).

ایجاد و پیشرفت سرطان دهان به صورت یک رویداد چند مرحله ای است، که تغییرات ژنتیک ایجاد شده، باعث اختلال در اعمال طبیعی سلول، چون تقسیم سلولی، تمایز و مرگ سلولی می شوند. این تغییرات ژنتیک، ممکن است در اثر تماس پیوسته ی سلول با عوامل خطر و کارسینوژن های شیمیایی (مثل تنباکو) و عفونت با ویروس های، مانند ویروس پاپیلوما انسانی (HPV) رخ دهد. این رخداد در مورد ژن P53 نیز، ممکن است روی دهد^(۲).

جهش P53 شایع ترین ناهنجاری ژنتیک یافت شده در سرطان های انسان، به ویژه در پیشرفت سرطان دهان است. پروتئین P53 در موارد تشکیل کمپلکس با پروتئین های ویروس یا P53 جهش یافته با پیوند به پروتئین های نا به جای میزبان، غیر فعال می شود^(۳). جهش P53، هم سبب از دست رفتن کارکرد سرکوبگری تومور و هم به دست آوردن فانکشن انکوژنیک با ایجاد تغییر در تکرار ژن های

مهار شده ی P53 می شود^(۴ و ۵). P53 طبیعی، در واقع، به عنوان یک پاسدار ژنوم به شمار می آید و در مهار و به هم پیوستگی ژنوم نقشی مهم دارد. سطح پروتئین P53 وحشی (طبیعی) پس از آسیب به DNA، افزایش می یابد و باعث توقف در چرخه ی سلولی در مرحله ی G1 می شود^(۴-۶). افزون بر جهش های ارثی و پیکری، کارکرد ژن P53 با ساز و کارهای دیگر نیز، می تواند غیر فعال شود. از جمله، پروتئین E6 در ویروس های پاپیلوما انسانی، می تواند با پیوند به P53، آن را تخریب کند.

این ویروس ها، که اعضای از جنس پاپیلوما ویروس از خانواده ی پاپوواویریده هستند، پوشش دار نبوده و قطر آنها ۵۰ تا ۵۵ نانومتر است. امروزه، بیشتر از ۱۰۰ فنوتیپ گوناگون از HPV تشخیص داده شده است. شاخص های پادگنی (آنتی ژنیک) تطبیقی اختصاصی گونه ی آن بر روی سطح ویریون قرار گرفته اند. گونه های پاپیلوما ویروس به وسیله ی درجه ای یکنواخت توالی اسیدهای نوکلئیک از یکدیگر مشخص می شوند. چندین گونه از HPV با فنوتیپ های متفاوت با انواع خاصی از سرطان در ارتباط هستند^(۷).

چنانچه عفونت HPV قویاً با ایجاد دیسپلازی و سرطان گردن رحم همراه است و بیشتر از ۹۰ درصد سرطان های گردن رحم دارای DNA HPV گونه های انکوژنیک (پر خطر)، مانند گونه های ۱۸، ۱۶ و ۳۱ هستند. در اصطلاح به انواع ۱۶ و ۱۸، HPV با خطر بالا می گویند^(۷ و ۸).

گونه های مختلف HPV با انواع ترتیب بازهای DNA در پروتئین E6 و E7 مشخص می شوند. این تفاوت های ژنوتیپی سبب دسته بندی ویروس از نظر فنوتیپ انکوژنیک، به سه گونه ی پر خطر، متوسط و کم خطر می شوند^(۹-۱۱).

در این پژوهش کوشش بر این است، که ارتباط عفونت همزمان با HPV ۱۶ و ۱۸ و تظاهر پروتئین P53 را، که نشانه ای از جهش ژن مزبور است، در سرطان سلول سنگفرشی مخاط دهان بررسی گردد. از آنجا که، وجود ژنوم این ویروس، حتی در مخاط

* HPV: Human Papilloma virus

** Oral SCC: Oral Squamous Cell Carcinoma

PCR ۰/۰۵ - ۰/۰۲ گرم بافت وزن شد. تمیز کردن با الکل و استفاده از کاغذ توزین یکبار مصرف انجام شد. قطر برش برای لام H&E و IHC $4-3 \mu$ و برای مقاطع PCR $7-6 \mu$ بوده است.

مقطع مربوط به H&E بر روی لام معمولی، مقطع مربوط به IHC بر روی لام آغشته به Poly-L-Lysin و مقاطع مربوط به PCR، به یک میکروتیوب منتقل گردیدند. شماره ی هر نمونه بر روی لام ها و میکروتیوب نوشته شد. پیش از انجام IHC و PCR هر نمونه، در آغاز، لام H&E بررسی گردید و اگر مقطع مورد نظر مناسب بود و تشخیص سرطان سلول سنگفرشی مخاط دوباره تأیید می گردید، آن نمونه انتخاب می شد. با استفاده از منابع گوناگون برای محاسبه ی شدت رنگ پذیری (Intensity) P53، در نواحی ای، که بیشترین شمار هسته های مثبت مشاهده می شد، اگر رنگ پذیری با درشت نمایی 10×4 قابل مشاهده بود، +++ در نظر گرفته شد و اگر با درشت نمایی 10×10 قابل تشخیص بود، ++ و اگر تنها با درشت نمایی 10×40 مشاهده می شد، + در نظر گرفته شد.

برای تعیین شمار هسته های مثبت سلول ها برای P53، در آغاز در ناحیه ای، که بیشترین تراکم واکنش مثبت مشاهده می شد، 100 سلول شمارش و سپس، درصد موارد مثبت استخراج شد (Labeling Index).

شمار ۴۲ نمونه برای انجام PCR در گرده ژنتیک دانشکده ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انتخاب شدند.

نخستین مرحله ی استخراج DNA از همان بلوک های پارافینی است، که پیشتر با روش ایمونوهیستوشیمیایی برای رنگ آمیزی P53 استفاده شده اند. به طور کلی، این روش خود دربردارنده ی سه مرحله، به شرح زیر است:

الف- پارافین زدایی ب- لیز سلولی پ- خالص کردن DNA

طبیعی دهان نیز، گزارش شده است، اگر بتوان رابطه ای مثبت میان جهش ژن P53 و حضور ژنوم ویروسی را نشان داد، این امر دلیلی به نفع حضور مؤثر ویروس در پیدایش سرطان های سر و گردن، به ویژه سرطان مخاط دهان خواهد بود.

مواد و روش

این یک بررسی توصیفی، مشاهده ای و گذشته نگر است. جامعه ی آماری، موارد سرطان های سلول سنگفرشی مخاط دهان (Oral SCC) است، که به صورت نمونه گیری آسان از بلوک های پارافینی در بخش آسیب شناسی دهان دانشکده ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مربوط به سال های ۱۳۶۹ تا ۱۳۸۳ انتخاب شدند. با توجه به یافته های دیگر بررسی ها، که فراوانی موارد مثبت P53 در سرطان های سلول سنگفرشی مخاط را در حدود ۵۰ درصد به دست آورده اند و با میزان اطمینان ۹۵ درصد و ضریب ثابت $Z = 1/64$ و میزان دقت ۱۰ درصد $d =$ ، شمار نمونه ی مورد نیاز در حدود ۵۰ مورد محاسبه شد. در پایان، این بررسی بر روی ۴۲ بلوک پارافینی مناسب انجام شد.

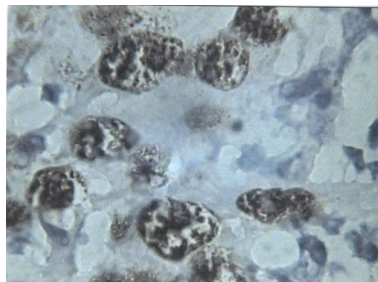
به هر بلوک پارافینی یک کد به شکل (T1 , T2) داده شد و از هر بلوک پارافینی، به شیوه ی زیر، مقاطع مورد نظر انتخاب شد. در آغاز، میکروتوم زیر هود بیولوژیک قرار گرفت. میکروتوم کاملاً با گزیل و الکل تمیز گردید، به گونه ای، که هیچ گونه آلودگی بر روی آن نبود. پیرامون میکروتوم به وسیله ی کاغذ سفید محدود شد. برای هر نمونه ی تیغه کاملاً تمیز و با گزیل و الکل شست و شو داده شد و سپس مورد استفاده نیز، یکبار مصرف بود و پس از فراهم کردن هر نمونه، دستکش عوض می شد. مقاطع به شیوه ی پیوسته انتخاب شد، به گونه ای، که از مقطع نخست برای لام H&E از مقطع دوم، برای لام IHC* (روش استاندارد آیوبیدین- بیوتین) و از مقاطع ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷، برای PCR** استفاده گردید. برای هر نمونه ی

* IHC: Immunohistochemical staining

** PCR: Polymerase Chain reaction

درصد سلول های رنگ گرفته از ۲۵ تا ۵۰ درصد و در هشت نمونه، درصد سلول های رنگ گرفته از ۵۰ تا ۷۵ درصد و در ۱۲ نمونه، درصد سلولهای رنگ گرفته، از ۷۵ تا ۱۰۰ درصد بود و در واقع، بیشتر سلول های تومور رنگ گرفته بودند.

از ۱۹ مورد منفی برای تظاهر P53، ۱۵ مورد به سرطان مخاط دهان (Oral SCC) و چهار مورد به ورکوز کارسینوما مربوط بود. میزان تظاهر P53 برای دو نمونه از ورکوز کارسینوما از ۷۵ تا ۱۰۰ درصد مثبت بود. در جدول ۱، توزیع فراوانی P53 در نمونه های مورد پژوهش مشاهده می شود. در بررسی ای که به وسیله ی PCR برای حضور ویروس های گونه ی HPV ۱۶ و ۱۸ و نوع کلی آن انجام گرفت، نتایج به دست آمد، که به ترتیب در جدول های ۲ و ۳ ارایه شده اند.



شکل ۱: هسته ی سلول های اپی تلیالی با واکنش مثبت P53. رنگ آمیزی هماتوکسیلین آنتی P53. بزرگنمایی $\times 400$

جدول ۱: توزیع فراوانی موارد مثبت P53 در نمونه های مورد پژوهش

درصد	شمار	P53 (درصد)
۴۵/۳	۱۹	منفی
۷/۱	۳	۲۵ تا ۵۰
۱۹	۸	۵۰ تا ۷۵
۲۸/۶	۱۲	۷۵ تا ۱۰۰
۱۰۰	۴۲	جمع

۱۰۰ نانو گرم از DNA خالص به دست آمده را پس از اینکه، از نظر کمیت و کیفیت بررسی شد، به ماشین PCR وارد کرده و سه مرحله ی Denaturation, Annealing و Extension انجام و در پایان، فرآورده PCR الکتروفورز و با محلول اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شد. آن شمار نمونه که بر روی ژل آگارز دو درصد باند داده و باند ها در موقعیت درست نسبت به مارکر و کنترل مثبت قرار داشته، HPV مثبت بوده و آلودگی ویروسی داشتند. در کنار هر نمونه، یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی نیز، به عنوان شاهد PCR به کار رفت تا در درستی عمل هیچ شکمی برجا نماند. اطلاعات به دست آمده به وسیله ی روش های آماری واکاوی شدند.

برای مقایسه ی دو میانگین، از آزمون تی (T) و برای مقایسه ی نسبت ها، از آزمون مجذور کای یا آزمون فیشر استفاده شد. سطح معنادار آماری در سطح $\alpha < 0.05$ محاسبه شد.

یافته ها

از ۴۲ نمونه مربوط به سرطان مخاط دهان ۲۵ (۵۵/۵ درصد) مورد مرد و ۱۷ (۴۰/۵ درصد) مورد زن با میانگین سنی 63.97 ± 12.05 و حداقل سن ۳۴ و حداکثر ۸۰ سال بودند. از نمونه های انتخاب شده، ۳۶ مورد (۸۵/۷۶ درصد)، سرطان مخاط دهان و شش نمونه (۱۴/۳ درصد)، ورکوز کارسینوما بود. تظاهر P53 با ایمونو هیستوشیمیایی کاملاً در هسته ی سلول های اپی تلیالی مشاهده شد (شکل ۱).

هیچ یک از نمونه های کنترل منفی رنگ پذیری قهوه ای رنگ را در سلول های اپی تلیالی یا دیگر سلول ها نشان ندادند و همه ی نمونه های کنترل مثبت، یک واکنش کاملاً مثبت را نشان دادند، که نشانه ی درستی روش به کار رفته بود. در بررسی ۳۶ نمونه ی سرطان مخاط دهان (Oral SCC) و شش مورد ورکوز کارسینوما ۱۹ نمونه هیچگونه رنگ گزینی (staining) مشاهده نشد و در سه نمونه،

مسیرهای چندگانه و چند مرحله ای سرطان زایی دهان باشد (۱۳ و ۱۴).

در بررسی نمونه ها مواردی نمایان گشت، که در بخش‌هایی از تومور تظاهراتی بالا از P53 مشاهده می‌شد و بخش‌هایی دیگر منفی بود، که این یافته‌ها با یافته‌های شین (Shin) و همکارانش (۱۴)، درباره‌ی چگونگی تظاهر P53 همخوانی دارد. در بررسی کنونی ارتباط میان تظاهر P53 با جأ، درجه، جنس و سن معنادار نبود از این رو، از آوردن جدول‌ها و نمودارهای مربوطه در بخش یافته‌ها خودداری شده است، که با بررسی‌های انجام شده همخوانی داشت (۱۴-۱۶).

همچنین، در بررسی کنونی تظاهر p53 در اپی‌تلیومی، که از ناحیه‌ی تومور فاصله داشت، هم در مواردی، که تظاهر HPV مثبت بود و هم در موارد منفی مشاهده شد، که این یافته با نتایج آگدن (Ogden) و کی‌دی (Kiddie) و همکاران (۱۶) همخوانی دارد و این گونه به نظر می‌رسد، که اگر چه این سلول‌ها از نظر ریخت‌شناختی طبیعی به نظر می‌رسند، اما به فرآیند تغییرات بدخیمی دچار شده‌اند.

در این بررسی، میزان شیوع ژنوم HPV به طور کلی، ۵۰ درصد موارد و میزان شیوع HPV ۱۶ و ۱۸، ۲۶/۲ درصد بود، که با یافته‌های بررسی‌های ونز (Wens)، رینگ‌ستروم (Ringstrom)، پوتاگل (Potagal)، مایو (Mao)، گلیسون (Gellison) و شوارتز (Shwartz) (۲۱-۱۷) نزدیک است.

در بررسی ونز (Wens) و همکاران در سال ۱۹۹۷، در ژاپن نیز، شیوع ویروس HPV ۱۶ و ۱۸ در سرطان مخاط دهان، ۲۴/۴ درصد مشاهده شد، که در شش مورد نیز، عفونت با هر دو گونه‌ی HPV ۱۶ و ۱۸ دیده شد (۱۸)، که این نتایج با یافته‌های بررسی کنونی با میزان شیوع HPV ۱۶ و ۱۸، ۲۶/۲ درصد و یک مورد نیز، در سرطان مخاط زبان هر دو گونه‌ی HPV ۱۶ و ۱۸ همزمان مثبت، تا اندازه‌ای نزدیک است. اما در پژوهشی، که بالارم (Balarm) و همکاران در هند انجام دادند، شیوعی بیشتر از عفونت HPV ۱۶ و ۱۸ را در ۷۴ درصد آسیب‌های سرطان دهان و ۸۷ درصد در آسیب‌های پیشین بدخیمی دهان گزارش

جدول ۲: ارتباط میان تظاهر P53 و ژنوم HPV

P53	General HPV genome		جمع
	مثبت (درصد)	منفی (درصد)	
منفی	۱۱ (۵۷/۹)	۸ (۴۲/۱)	۱۹
مثبت	۱۰ (۴۳/۵)	۱۳ (۵۶/۵)	۲۳
جمع	۲۱	۲۱	۴۲

P value \cong ۰/۳۵۲

جدول ۳: ارتباط بین تظاهر P53 و ژنوم HPV ۱۶ و ۱۸

P53	HPV ۱۶ یا ۱۸		جمع
	مثبت	منفی	
منفی	۱۱	۸	۱۹
مثبت	۲۰	۳	۲۳
جمع	۳۱	۱۱	۴۲

P value \cong ۰/۰۴۳

بحث

بررسی‌های مولکولی و همه گیر شناختی (اپیدمیولوژیک) نشان می‌دهد، که عفونت HPV در دستگاه تنفسی بالایی و ژنیتال، ممکن است در پیدایش تومورهای این نواحی نقشی داشته باشد. چنانچه آنکو پروتئین‌های ویروسی به وجود آمده قادر به ایجاد تغییرات اولیه در کراتینوسیت‌های اپی‌تلیالی دستگاه تنفسی بالایی یا ژنیتال و اختلال در تنظیم چرخه‌ی سلولی هستند (۹ و ۱۰). از سویی دیگر، در تومورهای ناشی از HPV جهش‌های P53 بسیار کمیاب است. شاید به دلیل این که، کارکرد P53 به وسیله‌ی آنکو پروتئین E6 از میان رفته است. بنابراین، به نظر می‌رسد، که به احتمال زیاد عفونت با HPV یک رخداد آغاز کننده است و جهش‌های پیکری دیگر برای تغییر شکل بدخیمی ضروری هستند (۱۱).

حضور HPV ۱۶ در مخاط دهانی، که از نظر بالینی طبیعی است، یک عفونت نهفته را نشان می‌دهد (۱۲). بنابراین، عفونت HPV در حفره‌ی دهانی ممکن است نشان دهنده‌ی یک گام نخستین در

HPV ۱۶ و ۱۸ نیز، در حدود ۲۶/۲ درصد موارد مشاهده گردید.

در نمونه های مورد بررسی، از ۱۱ مورد عفونت مثبت HPV ۱۶ و ۱۸ در هشت مورد تظاهر P53 منفی بود، که به احتمال زیاد نشان دهنده ی فعال نشدن و از میان رفتن گونه ی جهش یافته ی P53 به وسیله ی ویروس است. با توجه به یافته های بالا، که در بیماران دچار سرطان مخاط دهان، مراجعه کننده به دانشکده ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در درصد بالایی تغییرات ژن P53 مثبت بود. همچنین، شماری چشمگیر نیز، عفونت با HPV را نشان می دادند و حتی، در حدود ۲۶/۲ درصد عفونت با انواع پرخطر ویروس را داشتند، که همگی احتمال نقش ویروس را در ایجاد سرطان مخاط دهانی، به عنوان یک عامل قابل توجه مطرح می سازند، هر چند که، این بررسی شاید به دلیل کمی شمار نمونه ها نتوانست رابطه ی قطعی و معناداری را میان ژنوم کلی ویروس و P53 نشان دهد. بنابراین، نتایج این بررسی نمی تواند نقش ویروس را به طور قطعی تایید کند. از این رو، پیشنهاد می شود، که با روش PCR و استفاده از نمونه های منجمد، نقش این دو عامل در سرطان مخاط دهانی ارزیابی دوباره شده و بهتر است در بررسی های آینده، نوع ژنوم ویروس و ترتیب توالی DNA آن نیز، مشخص شود تا شاید تفاوت های احتمالی ای که HPV شایع در ایران با دیگر انواع در دیگر نقاط جهان دارد نیز، مشخص گردد.

کردند، که با یافته های بررسی کنونی چندان همانندی ندارد و این، شاید به دلیل تفاوت های ژنتیک در جمعیت های متفاوت و نیز، روش به کار رفته و یا تفاوت در انتشار جغرافیایی ویروس باشد. چنانچه شیوع HPV در سرطان دهان در کشور ایالات متحد با گونه ای آشکار متفاوت گزارش شده است^(۲۲) و حتی در امریکا نیز، نتایجی گوناگون بیان شده است. به طوری که، چندین بررسی در ایالات متحد شیوع HPV را از ۱۲ تا ۱۰۰ درصد بیان کرده اند. در بررسی ای، که به وسیله ی استوالد (Ostwald) و همکاران^(۲۱) انجام شد، میزان شیوع HPV را ۶۱/۵ درصد در سرطان دهان، که بیشتر از انواع HPV ۱۶ و ۱۸ بود، مشاهده کردند. در بررسی آنها، نمونه های منجمد (frozen) به کار رفت، که نتایج آن حساس تر از نتایج بررسی کنونی است، که بخشی به دلیل نمونه های پارافینی قدیمی است، به گونه ای، که برخی پژوهشگران، تفاوت حساسیت این دو روش را از ۲۰ تا ۳۰ درصد بیان کرده اند^(۲۱). این خود مساله ای چشمگیر است، که در بررسی های بعدی بایستی مورد نظر باشد.

نتیجه گیری

در بررسی کنونی، میزان تظاهر P53 در آسیب های سرطان مخاط دهان در ۵۴/۸ درصد از موارد مشاهده گردید. عفونت با ویروس HPV به طور کلی، در ۵۰ درصد موارد وجود داشت، که شیوعی به نسبت بالاست.

References

1. Cortan RS, Kumar V, Collins T. Pathologic Basis of Disease. 6th ed. Philadelphia: Saunders Co. 1999; Chap 6: 409- 464.
2. Williams HK. Molecular pathogenesis of oral squamous carcinoma. J Clin Pathol 2000; 53: 165-172.
3. Frank JL, Bur ME, Garb J. P53 tumor suppressor oncogene expression in squamous cell carcinoma of the hypopharynx. Cancer 1994; 73: 181-186.
4. Raybaud H, Dfiogenene B, Tetu R, Morency A, Fortin RA. P53 over expression in head and neck squamous cell carcinoma. Eur J cancer 1996; 32: 143-149.
5. Custerson BA, Anbuzhagan R, Warren W. Expression of P53 in premalignant and malignant squamous epithelium. Oncogene 1991; 6: 1785-1789.
6. Lane DP, Benchimol S. P53 oncogene or anti-oncogene. Genes News 1990; 4: 1-8.
7. Gonzalez MA, Stankovice R, Sorli R, Trevisan G. HPV and carcinogenesis. Acta Dermatologica 2002; 11(3): 129-132.
8. Tyring SK. Human Papillomavirus infections epidemiology. Dermatol 2000; 43: 518-526.
9. MC Glennen RC. Human Papiloma virus oncogenesis. Clin Lab Med 2000; 20(2): 383- 406.
10. Joel M, Pale F, Ross D. Virology of human papilloma virus infections and the link to cancer. Oncogene 2002; 7: 190-203.
11. Mork J, Lie AK, Glatte E. Human papilloma virus infection and risk factor for squamous cell carcinoma of the head and neck. N Engl J Med 2001; 344: 1125.
12. Syrjanen KJ. HPV infections and oesophageal cancer. J Clin Pathology 2002; 61: 721-728.
13. Cao J, Zhang ZY, Ahang YX, Chen WT. Human papilloma virus infection and P53 alteration in squamous cell carcinoma. Oral Oncology 2000; 3(3): 44-49.
14. Shin KH, Park HH, Hong HJ, Kim JM, Oh JE, Choung PH. Prevalence of microsatellite instability, inactivation of mismatch repair genes, P53 mutation, and human papilloma virus infection in Korean oral cancer patient. Int Oncol 2002; 21(2): 297-302.
15. Langdon JD, Patridge M. Expression of the tumor suppress gene P53 in oral cancer. Br J Oral Maxillofacial Surg 1992; 30: 214-222.
16. Ogden GR, Kiddie RA, Luncy DP, Lanc JM. Assessment of P53 Protein in normal benign and malignant oral mucosa. J Pathol 1996; 22: 389-396.
17. MC Donald JS, Jones H, Pavelic P. Immunohistochemical detection of H-ras, K-ras and N-Ras oncogenes in squamous cell carcinoma of the head and Neck. J Oral Pathol Med 1994; 23: 342-346.
18. Ring Strom A, Edward P, Masayuki H, Marshall Poosner KT. Human papilloma virus type 16 and squamous carcinoma of the head and neck. Clinic Cancer Research 2002; 8: 3187 – 3192.
19. Mural N, Wayne M, Koch R. Evidence for a causal association between human papilloma virus and a subset of head and neck cancer. Cancer 2000; 92(9): 709 – 720.
20. Portugal LC, Coldenberg JD, Wening BL, Ferrerct N, Sabnani JB, Weichselbaum RR, Vokes AE. Human papilloma virus expression and gene mutation in squamous cell carcinoma. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1997; 123 (11): 1230-1234.
21. Ostwald C, Maler P, Barten M, Rutrsatz K, Sonnenburg M, Langosch K, Toning T. Human papilloma virus DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. J Oral Pathol Med 1994; 23(5): 220-225.

22. Costa DJ, Jaya D, Dedhia P, Sanghvi V, Methhta A. Detection of HPV-16 genome in human oral cancers and potentially malignant lesions from India. *Oral Oncology* 1998; 34: 413-424.

Abstract

Evaluation of Correlation between Human Papilloma Virus and P53 Proteins Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma

Jahanshahi GH.*- Mahzooni P.- Mardani H.*****

* Associate Professor, Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences

** Associate Professor, Department of Oral Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences

*** Dentist

Statements of Problems: Head and neck squamous cell carcinoma is the sixth most common cancer worldwide. Inactivation of one or more components of the P53 network is a common event in human neoplasia. In head and neck carcinoma, disability of P53, occurs in a high proportion of cases by mutation in the P53 gene. Cause of inactivation, such as the presence of human papilloma virus (HPV) has also been recognized.

Purpose: The aim of this study was to examine co-incidence of human papilloma viruses type 16, 18 and P53 alteration in oral squamous cell carcinoma.

Materials and Methods: Of 42 oral tissue specimen (36 oral squamous cell carcinoma and 6 oral verrucous carcinoma) including 25 men and 17 women which were visited in Isfahan University, School of Dentistry in 1369-1383, multiple serial sections from formalin fixed, paraffin embedded tissues were prepared. Immunohistochemical detection of P53 protein was carried out by a standard Avidin-Biotin peroxidase procedure. Standard PCR analysis was used for detection of DNA HPV 16 and 18. The data were analyzed with Chi-Square and Fischer Exact tests.

Results: General HPV sequence was detected in 21 out of 42 (50%) tumor specimens. HPV 16 and 18 sequences were detected in 11 of 42 (26.2%) tumor specimens. Over expression of P53 was observed in 23 of 42 (54.8%) oral cancers. Ten of the 21 HPV Positive tumor specimens showed alterations in P53 protein expression. In spite of no significant correlation between observation of general HPV genome and P53 alteration, a significant correlation between HPV 16 and 18 and P53 alteration existed.

Conclusion: In present study, we could not show any significant correlation between general HPV genome and intensity of P53 expression. A remarkable correlation between HPV 16 and 18 and over expression of P53 protein was observed. So, the results of this study remained controversial and we suggest a more precise modified procedure to be performed on this subject. So, frozen technique and more samples would be necessary for further study in future.

Key words: PCR, IHC, HPV, HPV16, HPV18, P53, Correlation

Shiraz Univ. Dent. J. 2005; 6(1,2): 10-17

Surf and download all data from SID.ir: www.SID.ir

Translate via STRS.ir: www.STRS.ir

Follow our scientific posts via our Blog: www.sid.ir/blog

Use our educational service (Courses, Workshops, Videos and etc.) via Workshop: www.sid.ir/workshop