

Вариабельность генов E6-E7 вируса папилломы человека 16 генотипа при различных локализациях злокачественных новообразований, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией

Холопов Д.В.¹, Вязовая А.А.², Гладких А.С.², Лялина Л.В.^{2,3}, Топузов Э.Э.^{3,4}

¹СПБ ГБУЗ «Городская поликлиника № 109», Санкт-Петербург

²ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург

³ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург;

⁴СПБ ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург

Введение.

Злокачественные новообразования (ЗНО) полости рта, миндалин, ротоглотки, анального канала, вульвы, влагалища и шейки матки относятся к заболеваниям, ассоциированным с вирусом папилломы человека (ВПЧ) [1]. ВПЧ-ассоциированные неоплазии нередко сопровождаются различными мутациями вирусной ДНК [2]. Возникновение данных неоплазий косвенно стимулируется хроническим воспалением, обусловленным активностью вирусных онкогенов E6 и E7 [3]. В России данных о вариабельности генов E6-E7 вируса 16 генотипа недостаточно.

Цель исследования: изучить распространенность и мутации в генах E6/E7 ВПЧ 16 типа при ЗНО различных локализаций.

Материалы исследования: исследовано 136 образцов опухолевой ткани, полученных у пациентов онкологического диспансера с морфологически верифицированными ЗНО полости рта, миндалин, ротоглотки, анального канала, вульвы, влагалища и шейки матки.

Методы исследования:

- ПЦР в режиме реального времени на приборе RotorGene 6000 с использованием комплектов реагентов фирмы «Amplisens®» для выявления и генотипирования ВПЧ в образцах опухолевой ткани,

- секвенирование генов E6-E7 по методу Сэнгера для поиска однонуклеотидных полиморфизмов в сравнении с референсной последовательностью ВПЧ 16 K02718 Европейской линии [4],

- методы медицинской статистики (для установления статистической значимости использовали критерий Фишера ($p < 0,05$)).

Результаты исследования.

ВПЧ в опухолевой ткани при ЗНО различных локализаций обнаружен в 80,9% (n=110) образцов (табл. 1).

Таблица 1.

Распространенность ВПЧ среди пациентов с ЗНО различных локализаций

Локализация	Количество обследованных	ВПЧ-статус n (%)	
		ВПЧ (+)	ВПЧ (-)
Орофарингеальный рак			
Анальный канал			
Вульва		10 (58,8)	7 (41,2)
Влагалище		6 (100,0)	0
Шейка матки	77	67 (87,0)	10 (13,0)
Всего	136	110 (80,9)	26 (19,1)

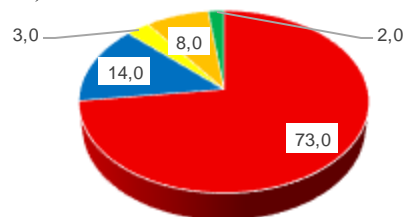
Доля моно-инфицирования ВПЧ 16 генотипа составила 91,8% (n=101), другими генотипами - 8,2% (n=9) случаев (табл. 2).

Таблица 2.

Результаты генотипирования ВПЧ при ЗНО различных локализаций

Локализация	Количество обследованных	Генотипы ВПЧ n (%)	
		ВПЧ 16 (+)	ВПЧ 18,33,45,52
Орофарингеальный рак			
Анальный канал			
Вульва		9 (90,0)	1 (10,0)
Влагалище		6 (100,0)	0
Шейка матки	67	59 (88,1)	8 (11,9)
Всего	110	101 (91,8)	9 (8,2)

Анализ последовательности генов E6-E7 100 ВПЧ16-положительных образцов по сравнению с эталонной последовательностью выявил 5 нуклеотидных вариаций в 86,2% (56/65) случаев, преимущественно в гене E6 (96,4%; n=54). Мутация 350G была наиболее распространённой – выявлена в 73% образцов ($p=0,001$). Частота встречаемости европейского варианта 350T при различных локализациях ЗНО достигала 16,3% ($p > 0,05$). Две и более однонуклеотидные замены обнаружены в 9,2% (6/65) образцов. (рис.1).



■ 350G, n=48 ■ 350T (E6), n=9 ■ 350T (E7), n=2
■ 109c/350G, n=5 ■ 257G/350G, n=1

Рисунок 1. Аллельные варианты в генах E6-E7 при ВПЧ16-ассоциированных ЗНО

Распределение мутации 350G в гене E6 по локализациям ЗНО составило: орофарингеальная зона — 87,5% ($p=0,005$), анальный канал — 72,7% ($p=0,012$), шейка матки — 69,8% ($p=0,001$), вульва и влагалище — 100,0% ($p > 0,05$) (рис. 2).

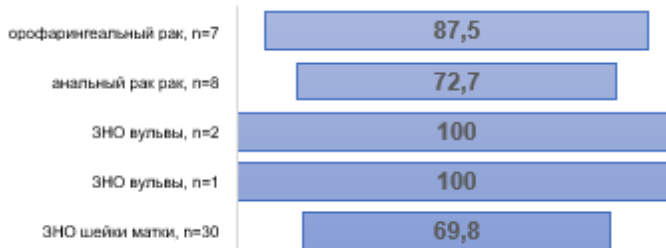


Рисунок 2. Частота мутации 350G в гене E6 в зависимости от локализации ВПЧ-ассоциированных ЗНО (%)

В гене E7 выявлены полиморфизмы 712A и 822G в 3,2% случаев (n=2).

Выводы: ВПЧ при различных локализациях ЗНО обнаруживается в 59–100% случаев с подавляющим преобладанием 16 генотипа. При ВПЧ16-ассоциированном раке независимо от локализации опухоли выявлены мутации преимущественно в гене E6, где доминирует вариант 350G.

Литература:

- Wild C.P., Weiderpass E., Stewart B.W., editors. World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention // Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2020. Available from: <http://publications.iarc.fr/586>. Licence: CC BY-NC-ND 3.0 IGO
- Tan G., Duan M., Li Y., Zhang N., Zhang W., Li B., Qu P. Distribution of HPV 16 E6 gene variants in screening women and its associations with cervical lesions progression. *Virus Res*, 2019, vol. 273, pp. 197740. doi: 10.1016/j.virusres.2019.197740
- Henmat N., Bannazadeh Baghi H. Association of human papillomavirus infection and inflammation in cervical cancer. *Pathog Dis*, 2019, vol. 77, no 5, eflz048. doi: 10.1093/ftz048
- Loubatier C., De Monte A., Cannavo I., Chevallier A., Bongain A., Boyer L., Giordanengo V. Relationship between E6-E7 lineage sequences, viral loads, and integration of HPV16 in women with atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) pap smears. *2018. Obstet Gynecol Rep*, vol. 2, no 1, pp. 1-8. doi: 10.15761/OGR.1000119

Контакты: e-mail: Xolopov.D.V@yandex.ru

