



**DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS DNAs IN  
PATIENTS WITH CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA AND  
CERVICAL CANCER**

UAMPORN SIRIPANYAPHINYO

**With compliments**  
of  
*Faculty of Graduate Studies  
Mahidol University*

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE (MICROBIOLOGY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1996

TH  
U11d  
1996

ชื่อวิทยานิพนธ์	การตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อฮิวแมนแพปิลโลมาไวรัส ในผู้ป่วยมะเร็งเยื่อบุปากมดลูกระยะก่อนลุกลามและ ระยะลุกลาม
ผู้วิจัย	เอี่ยมพร สิริปัญญาภิญโญ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	ประเสริฐ เอื้อวรากุล, Dr. med. สนทนา สิริตันติกร, Dr. rer. nat. พิไลพันธ์ พุทวณิช, Ph.D. สมศักดิ์ ไหลเวทพิทยา, พ.บ.
วันที่สำเร็จการศึกษา	8 ตุลาคม พ.ศ. 2539
	บทคัดย่อ

ในประเทศกำลังพัฒนา มะเร็งเยื่อบุปากมดลูก (cervical cancer) เป็นมะเร็งที่พบบ่อยมากเป็นอันดับหนึ่งของมะเร็งในสตรี มะเร็งปากมดลูกระยะก่อนลุกลาม (cervical intraepithelial neoplasia) เป็นระยะนำก่อนที่จะกลายเป็นระยะลุกลามได้ในผู้ป่วยบางราย จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า เชื้อฮิวแมนแพปิลโลมาไวรัส (human papillomavirus, HPV) มีความเกี่ยวข้องเป็นปัจจัยสำคัญของการก่อมะเร็งเยื่อบุปากมดลูก โดยเฉพาะ HPV ทยปี 16 และ 18 ซึ่งเป็น ทยปีที่มีบทบาทสำคัญ ผู้ที่ติดเชื้อ HPV ทยปีนี้จะมียัตรการเสี่ยงสูงต่อการเป็นมะเร็งเยื่อบุปากมดลูก ดังนั้นการตรวจพบเชื้อ HPV โดยเฉพาะ ทยปีที่มีความสัมพันธ์กับการก่อมะเร็งเยื่อบุปากมดลูก จะเป็นประโยชน์ในการวางแผนการรักษาและการเฝ้าระวังผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูกระยะก่อนลุกลาม

ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะทำการตรวจการติดเชื้อ ฮิวแมนแพปพิลโลมาไวรัส ทัยปี 6, 11, 16, 18, 31, 33 และ 35 โดยวิธี polymerase chain reaction (PCR) และ *in situ* hybridization (ISH) โดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อ (cervical biopsies) ตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ HPV ด้วยวิธี ISH เปรียบเทียบกับการตรวจหาดีเอ็นเอของ HPV ในเซลล์ที่ล้างจากช่องทางคลอด (cervico-vaginal lavages) โดยวิธี PCR

วิธี PCR ใช้ตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ HPV ในสิ่งส่งตรวจที่เป็นเซลล์ที่ล้างจากช่องทางคลอดของกลุ่มคนปกติจำนวน 102 ราย กลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อเมือกปากมดลูกระยะก่อนลุกลาม 57 ราย และผู้ป่วยมะเร็งเยื่อเมือกปากมดลูกระยะลุกลาม 23 ราย ผลการศึกษาพบว่า ในกลุ่มคนปกติ ตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อ HPV เป็นจำนวน 5 ราย (ร้อยละ 5) ในกลุ่มที่ให้ผลบวกนี้ตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อ HPV 6, 11, 16 และ HPV 18 ด้วย ในกลุ่มมะเร็งเยื่อเมือกปากมดลูกระยะก่อนลุกลามนั้น ตรวจพบเชื้อจำนวน 26 ราย (ร้อยละ 46) แยกเป็น HPV 16 ร้อยละ 69, HPV 33 ร้อยละ 15, HPV 18 ร้อยละ 8, HPV 11 ร้อยละ 4 และ HPV16 ร่วมกับ HPV33 ร้อยละ 4 ในกลุ่มมะเร็งเยื่อเมือกปากมดลูกระยะลุกลามตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อ HPV จำนวน 14 ราย (ร้อยละ 61) แยกเป็น HPV 16 ร้อยละ 86 HPV 16 ร่วมกับ HPV 33 ร้อยละ 7 HPV 18 ร่วมกับ HPV 31 ร้อยละ 7

การตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อโดยวิธี ISH ในสิ่งส่งตรวจที่เป็นชิ้นเนื้อ ผลการศึกษาพบว่า ในผู้ป่วยมะเร็งเยื่อเมือกปากมดลูกระยะก่อนลุกลามจำนวน 37 ราย ตรวจพบมีการติดเชื้อ HPV จำนวน 14 ราย (ร้อยละ 38) แยกเป็น HPV 16 ร้อยละ 71 HPV 11, 18, 31 และ 33 ร้อยละ 7 ในแต่ละทัยปี ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งเยื่อเมือกปากมดลูกระยะลุกลามจำนวน 18 ราย ตรวจพบเชื้อ 7 ราย (ร้อยละ 39) แยกเป็น HPV 16 ร้อยละ 71 และ HPV 16 ร่วมกับ HPV 18 ร้อยละ 29

จากการศึกษาการติดเชื้อ HPV ด้วยวิธี PCR พบอัตราการติดเชื้อได้สูงกว่าวิธี ISH วิธี PCR เป็นวิธีที่ไวและการเก็บตัวอย่างตรวจโดยใช้เซลล์ที่ล้างจากช่องทางคลอดนั้นทำได้ง่ายกว่าการเก็บชิ้นเนื้อ การติดเชื้อ HPV ทัยปี 16 และ 18 เป็นทัยปีที่มีความเสี่ยงสูงในการก่อมะเร็งเยื่อบุปากมดลูก ในการศึกษาที่พบว่าการติดเชื้อ HPV ทัยปี 16 ได้สูงในผู้ที่เป็นมะเร็งเยื่อบุปากมดลูกระยะก่อนลุกลามและระยะลุกลาม เช่นเดียวกับผลการศึกษาในกลุ่มประชากรกลุ่มอื่นในประเทศไทยและภูมิภาคอื่นของโลก



Thesis Title                      Detection of Human Papillomavirus DNAs in Patients with  
Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cervical Cancer

Name                                Uamporn Siripanyaphinyo

Degree                              Master of Science (Microbiology)

Thesis Supervisory Committee

Prasert                            Auewarakul, Dr. med.

Sontana                          Siritantikorn, Dr.rer.nat.

Pilaipan                          Puthavathana, Ph.D.

Somsak                            Laiwejpithaya, M.D.

Date of Graduation            8 October B.E. 2539 (1996)

## **ABSTRACT**

Cervical cancer is the most common female malignancy in developing country. The cervical intraepithelial neoplasia (CIN) is considered as a precancerous stage which may progress to cervical cancer (CA). Epidemiological studies have suggested that infection with the high-risk type of HPV is an important factor for the development of cervical cancer. HPV 16 is predominantly observed in CIN and CA. Therefore, detection of specific type of HPV should be a marker for early identification of women at high-risk for development of cervical cancer.

The objectives of this study are to establish the polymerase chain reaction (PCR) and *in situ* hybridization (ISH) for detection of HPV infection as well as to determine the prevalence of HPV infection in patients and normal controls. In this study, cervico-vaginal lavages and biopsy specimens from patients with CIN and CA as well as controls were used to detect HPV DNA including HPV types 6, 11, 16, 18, 31, 33 and 35.

The PCR was used to detect HPV DNA in cervico-vaginal lavages of 102 women with normal cytology, 57 cases with CIN and 23 cases with CA. The prevalence of HPV infection by PCR was 5% (5 cases) in normal females, 46% (26 cases) in CIN and 61% (14 cases) in CA. Infection of HPV 6, 11, 16, and 18 could be found in normal women. Of 26 CIN cases, 69, 15, 8 and 4% were infected by HPV type 16, 33, 18, and 16&33, respectively. Of 14 cervical cancer cases, single infection with HPV type 16 was detected in 86%, and dual infection with two types, 16&33 or 18&31 were found in 7% of each combination.

HPV DNA in cervical biopsy specimens as detected by ISH were found in 38 and 39% of the cases with CIN and CA, respectively. Of 14 cases infected with HPV, 71% were HPV type 16 and 7% were each type of 11, 18, 31 and 33. Of 7 cervical cancer cases infected with HPV, HPV types 16 and types 16&18 were detected in 71 and 29% respectively.

The results of our study showed that PCR is a sensitive and specific technique for detecting HPV DNAs in cervico-vaginal lavage specimens when compared with ISH. The PCR can be used as a tool for study of the HPV infection. Prevalence of the HPV infection in patients with CIN and CA were higher than the normal controls. These findings supported the association of HPV infection with the development of cervical cancer. However, the prevalence is varied on the population studied and methods used for investigation. The high-risk HPV types, i.e., HPV 16 is a predominant type found in CIN and CA which is similar to those reported by other Thai investigators and worldwide.