

十堰地区妇女宫颈人乳头瘤病毒感染 及基因亚型分布情况调查分析*

陈秀兰¹ 袁学华¹ 赵嵩¹

[摘要] 目的:对十堰地区妇女宫颈(HPV)亚型进行筛查,以探讨其分布规律。方法:采用核酸分子快速导流杂交基因芯片技术,对 1 116 例妇科就诊患者的宫颈刷片标本进行了 21 种 HPV 基因分型检测。结果:1 116 例样本中,HPV 感染者 283 例,总感染率 25.36%,高危型 HPV 感染率 14.52%,低危型 HPV 感染率 2.96%,高危型及低危型混合感染阳性率 7.89%;单一基因型别 195 例,占阳性患者的 68.91%;双重混合感染 59 例,占阳性患者的 20.85%;三重以上混合感染者 29 例,占阳性患者的 10.25%。HPV 感染阳性率居前 5 位的高危亚型依次是 HPV16 型 50 例(4.48%)、HPV52 型 47 例(4.21%)、HPV53 型 28 例(2.51%)、HPV58 型 17 例(1.52%)及 HPV39 型 15 例(1.34%),常见的低危型是 HPV6(1.26%)和 HPV42(1.26%)。结论:十堰地区妇女 HPV 感染率较高,且以高危型 HPV 感染为主,感染型别既符合亚洲及中国地区人群的分布规律,又有独特的区域分布特点,并且多重感染率高,值得重视。

[关键词] 人乳头瘤病毒;导流杂交;DNA 基因分型;宫颈癌

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2014.06.010

[中图分类号] R711.74 **[文献标志码]** A

Distribution of cervical HPV infection and HPV gene subtypes of women in Shiyan area

CHEN Xiulan YUAN Xuehua ZHAO Song

(Maternal and Child Health Hospital of Shiyan City, Shiyan, 442000, China)

Abstract Objective: To screen subtypes of the cervical human papilloma virus (HPV) in women from Shiyan Region and explore their distributions. **Method:** Twenty-one HPV genotypes were detected from cervical cytology specimens of 1 116 gynecological patients by flow-through hybridisation and geno-typing technique (Hybri-Max). **Result:** Of 1 116 subjects, there were 283 positive ones with HPV-infection rate of 25.36%. The infection rates of high-risk, low-risk and mixed were 14.52%, 2.96% and 7.89%, respectively. Single genotype infection was observed in 195 of 283 (68.91%), double in 59 (20.85%) and triple or multiple in 29 (10.25%). The top five high-risk HPV subtypes in turn were HPV16 (50 cases, 4.48%), HPV52 (47 cases, 4.21%), HPV53 (28 cases, 2.51%), HPV58 (17 cases, 1.52%) and HPV39 (15 cases, 1.34%). The common low-risk HPV subtypes were HPV6 (1.26%) and HPV42 (1.26%). **Conclusion:** Women from Shiyan Region had higher HPV-infection rate, mainly high-risk HPV-infection, which were accordance with the population distribution of Asia and China, and were characterized by unique regional distribution as well. Furthermore, it should be paid attention to high multiple infection rate.

Key words human papilloma virus; Hybri-Max; DNA genotype; cervical cancer

生殖道人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染是常见的妇科疾病之一,主要通过性传播,近年来发病率逐年升高^[1]。在已报道的 120 种 HPV 型别中约有 20 余种已证实与宫颈肿瘤有关^[2]。不同 HPV 亚型的感染其致病性和后果也有差异。大量流行病学和分子生物学研究资料表明,HPV 与宫颈癌及癌前病变密切相关,90% 以上的发病是由于 HPV 特别是高危型 HPV 病毒感染引起的^[3]。

根据 HPV 持续感染是宫颈癌发生的必要条件

和主要危险因素,将 HPV-DNA 进行高低危分型检测也成为宫颈癌筛查的必要内容。为了解本地区妇女人群感染 HPV 的情况,为 HPV 早期预防及疫苗的注射提供科学的依据,本研究首次报道湖北十堰地区 HPV 21 种基因型的感染情况,为国内 HPV 流行病学方面的研究做进一步补充。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2012-01—2013-12 来我院妇科就诊的慢性宫颈炎、阴道异常出血及疑为 HPV 感染或自愿申请 HPV 检测的 1 116 例患者;年龄 17~61 岁。按年龄分成 4 组:A 组≤25 岁 338 例;B 组 26~35 岁 457 例;C 组 36~45 岁 258 例;D 组≥46 岁 63 例。每例均行 HPV 21 分型检测。HPV 21 种型别分

* 基金项目:十堰市科学技术研究与开发项目(No: ZD2012043)

¹ 十堰市妇幼保健院(湖北十堰,442000)

为高危型 (high-risk types, HR-HPV)、低危型 (low-risk types, LR-HPV) 和中国人常见型 3 种类别。HR-HPV 有 13 种, 包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 68; LR-HPV 有 5 种, 包括 HPV6、11、42、43 和 44; 中国人常见型包括 CP8304、53 和 66, 检测出其中任何一型 HPV 者即为 HPV 检测阳性。HPV53、66 和 CP8304 的高低危型较难确定, 多数文献^[4]中将其归为高危型。因此, 本文在多重感染分析时也将其归为高危型。

1.2 试剂及仪器

采用广东潮州凯普生物化学有限公司生产的试剂主要有: 细胞分离液(分离法)、PCR 试剂盒及 HPV 分型检测试剂盒(PCR+膜杂交法)。主要仪器有: 广东潮州凯普生物化学有限公司生产的凯普医用核酸分子扩增仪(型号 FQD-33A), 凯普医用核酸分子快速杂交仪(型号 HHM-2), 电子恒温箱, 高速台式离心机, 快速混匀器, 干式恒温仪。

1.3 方法

1.3.1 标本的采集与保存 以窥阴器暴露宫颈, 将宫颈刷置于宫颈口, 轻轻转动宫颈刷使其顺时针旋转 5 圈, 慢慢取出宫颈刷, 将其放入标有患者编号的取样管中, 取样管内加有专用细胞保存液, 拧紧瓶盖, 4℃ 保存待测。标本采集前要求 3 d 内不使用阴道内药物或对阴道进行冲洗, 24 h 内不应有性行为。

1.3.2 检测方法 采用广东潮州凯普生物化学有限公司生产的凯普医用核酸分子快速杂交仪、扩增仪及其配套试剂, 对标本进行 DNA 分离提取、扩增, 以凯普医用核酸分子快速杂交仪为平台, 利用导流杂交原理, 在已经包被好的特异性核酸探针的低密度基因芯片膜上, 可一次性快速检测占中国人 HPV 感染 95% 的 21 种 HPV 亚型的基因分型。包括 13 种高危亚型: 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68。5 种低危亚型: 6、11、42、43、44。3 种中国人常见亚型: 53、66 和 CP8304 型。检测过程严格参照说明书进行, 其中包括: DNA 分离提取, PCR 扩增, 产物杂交, 显色, 结果判断。

1.3.3 结果判断 可通过肉眼观察, 检测结果阳性点为清晰可见的蓝紫色圆点, 再根据膜条 HPV

分型分布图, 判断阳性点为何种 HPV 病毒类型。

1.4 统计学方法

应用 SPSS17.0 统计软件。不同组别阳性率比较采用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 整体感染率

本研究人群 1 116 例妇女中共检出 HPV 阳性患者 283 例, 详见表 1。

2.2 HPV 感染基因型别分布

在 HPV21 分型中, 各亚型全部检出, 283 例阳性标本中, 高危型 162 例, 低危型 33 例, 高危及低危共同感染 88 例; 单一基因型别 195 例, 占阳性患者的 68.91%; 双重混合感染 59 例, 占阳性患者的 20.85%; 三重以上混合感染者 29 例, 占阳性患者的 10.25%。人群中感染前 5 位的高危亚型依次是 HPV-16 型 50 例 (4.48%)、HPV-52 型 47 例 (4.21%)、HPV-53 型 28 例 (2.51%)、HPV-58 型 17 例 (1.52%) 及 HPV-39 型 15 例 (1.34%), 常见的低危型是 HPV-6 (1.26%) 和 HPV-42 (1.26%), 各基因型阳性率见表 2。

2.3 HPV 多重感染

在多重感染中三重、四重多见, 并见五重和六重的混合感染。有高危型—高危型、高危型—低危型和低危型—低危型的 3 种组合形式, 高危型—高危型组合形式较多见。高危多亚型感染 50 例占阳性感染率的 17.67% (50/283); 高低危混合感染 34 例占阳性感染率的 12.01% (34/283); 低危多亚型感染 4 例占阳性感染率的 1.41% (4/283)。在不同的年龄组, 多重感染发生的比例在 HPV 感染人群中较大的不同, ≤ 25 岁组为 38.32% (41/107); 26~35 岁组 28.04% (30/107); 36~45 岁组 24.56% (14/57); ≥ 46 岁组 25.0% (3/12), 各组相比差异无统计学意义 ($\chi^2=2.55$, $P>0.05$)。

2.4 不同年龄组 HPV 感染率

HPV 感染率随着年龄的增长呈下降趋势。不同年龄组总阳性率比较差异有统计学意义。

3 讨论

宫颈癌是继乳腺癌之后的第 2 大妇科恶性肿瘤, 且近几年呈年轻化趋势^[5], 其中 HPV 与子宫颈

表 1 不同年龄段 HPV 感染检出率

例 (%)

感染分类	阳性例数 (n=1 116)	A 组 (n=338)	B 组 (n=457)	C 组 (n=258)	D 组 (n=63)
高危感染	162 (14.52)	57 (5.11)	60 (5.38) ²⁾	36 (3.23) ²⁾	9 (0.81) ¹⁾
低危感染	33 (2.96)	9 (0.81)	17 (1.52) ²⁾	7 (0.63) ²⁾	0 (0) ¹⁾
多重感染	88 (7.89)	41 (3.67)	30 (2.69) ²⁾	14 (1.26) ²⁾	3 (0.27) ¹⁾
合计	283 (25.36)	107 (9.59)	107 (9.59)	57 (5.11) ²⁾	12 (1.08) ¹⁾

与 A 组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

表 2 1 116 例妇女宫颈分泌物 HPV 基因型别分布

基因型别 (总数)	单一感染		双重感染		三重以上感染	
	例数	百分率/ %	例数	百分率/ %	例数	百分率/ %
6(14)	12	1.08	2	0.18	0	0.00
11(6)	5	0.45	1	0.09	0	0.00
16(50)	32	2.87	13	1.17	5	0.45
18(13)	8	0.72	2	0.18	3	0.27
31(12)	9	0.81	2	0.18	1	0.09
33(14)	9	0.81	3	0.27	2	0.18
35(3)	2	0.18	1	0.09	0	0.00
39(15)	10	0.89	3	0.27	2	0.18
42(14)	14	1.26	0	0.00	0	0.00
43(2)	2	0.18	0	0.00	0	0.00
44(1)	0	0.00	0	0.00	1	0.09
45(7)	2	0.18	3	0.27	2	0.18
51(3)	2	0.18	0	0.00	1	0.09
52(47)	34	3.05	8	0.72	5	0.45
53(28)	19	1.70	6	0.54	3	0.27
56(1)	1	0.09	0	0.00	0	0.00
58(17)	9	0.81	6	0.54	2	0.18
59(3)	2	0.18	1	0.09	0	0.00
66(9)	4	0.36	4	0.36	1	0.09
68(10)	6	0.54	3	0.27	1	0.09
CP8304(14)	13	1.17	1	0.09	0	0.00
合计	195	22.85	59	5.29	29	2.60

癌的关联最为密切,95%以上的子宫颈癌病变中都可以检测到 HPV。HPV 病毒的筛查和分型对子宫颈病变的早期发现、判断宫颈疾病类型、宫颈上皮内瘤变(cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)、治疗后的随访以及人群的流行病学状态和病毒疫苗的研制都有重要意义。

性传播是 HPV 感染的主要途径,性活跃程度与 HPV 的感染密切相关,这就造成 HPV 感染在各个年龄段分布的差异。从表 1 可以看出,HPV 感染主要集中在≤25 岁及 26~35 岁年龄段,其次是 36~45 岁和≥46 岁,随着年龄的增加,HPV 感染率呈下降趋势,充分说明年轻女性比中老年女性更易更多的暴露于新的 HPV 感染,年龄是影响 HPV 感染的重要因素。

HPV 感染常见基因型存在地区差别,目前在北京、福建、辽宁、浙江、延边、深圳等地的 HPV 流行病学研究已有文献报道^[6-11]。本研究中 HPV 检测阳性率为 25.36%,低于浙江省台州地区 35.08%,北京地区的 57.10%,高于深圳地区的 17.50%。最常见的 HPV 基因型为 16 型,与全球范围内的最常见感染亚型一致。

目前研究中,HPV-16 是宫颈癌及前期病变中最常见的基因型别,其他常见基因型分布存在地区差异,国际癌症研究所(IARC)新近的研究发现,在宫颈癌患者中,除 HPV16 外,HPV18、45、31、33

比较常见^[12-13],多数亚洲国家的研究提示^[13-14],HPV52、58 的感染率高于 HPV45、31、33。在本研究中,HPV16 亦是最常见的基因型,与世界范围的研究结果一致。HPV52、53、58 仅次于 HPV16,符合亚洲人群的研究结果,也符合张东红等^[15]对中国地区人群的研究结果。本次研究高危型 HPV18、31、33、39、CP8304 阳性率也较高,仅次于 HPV52、53 和 58 型;本地区所见的低危型,除以往研究中普遍较常见的 HPV6(1.26%)和 HPV11(0.54%)外,还有 HPV42(1.26%)、HPV43(0.18%)和 HPV44(0.09%),与陶萍萍等^[16]的研究相同。

本研究发现 HPV 感染主要集中在≤25 岁及 26~35 岁年龄段,其次是 36~45 岁和≥46 岁,随着年龄的增加,HPV 感染率呈下降趋势。不同年龄组在多重感染方面也随着年龄的增加,HPV 感染率逐步下降。说明年轻女性比中老年女性更多暴露于新的 HPV 感染,虽然在年轻人群中 HPV 感染多是一过性的,但 35 岁之后高危型 HPV 的持续感染是发生宫颈癌的直接原因,应高度重视该现象,结合宫颈阴道镜、宫颈液基细胞(TCT)、宫颈组织活检等联合检测,早期预防和治疗。对 HPV 感染与年龄的相关性有 2 种观点:①随年龄增长 HPV 感染率逐渐降低;②在年轻妇女与年长妇女有 2 个 HPV 感染高峰^[17],在年龄<25 岁的妇女及年龄大于 65 岁的妇女中,观察到有 2 个 HPV 感染

高峰。本研究符合第一种观点。

本研究对多重感染型别的组合分析显示,除了高危型与高危型组合形式外,高危型与低危型组合的形式也十分常见,还有低危多亚型感染。在多重感染中 3 重、4 重感染多见,并见 5 重和 6 重的混合感染。HPV 多重感染是否增加宫颈癌的发生? 对此问题争议较多,有学者认为多重感染并不增加宫颈癌的发生,HPV 感染的型别与宫颈病变级别有关,但也有不少学者认为多重感染与宫颈病变有关。Ho 等^[18]认为 HPV 多重感染出现持续感染的危险性更大,其是宫颈病变发生的原因,因此多重感染易导致宫颈病变。Lee 等^[19]认为,多重感染发生宫颈癌的危险比单一型感染者增加约 1.5 倍,因此本研究结果值得重视。

综上所述,HPV 感染率及型别分布在不同的地区均存在差异,本次研究 HPV53 和 HPV39 感染率偏高与其他地区略有不同,说明 HPV 的感染具有很强的地域性。因此,从实际出发研制适合不同地区人群的多价性疫苗亦是十分必要的。目前,临床上尚无预防和治疗 HPV 感染的措施,而且对中晚期宫颈癌的化疗和手术治疗效果也不理想,免疫治疗作为宫颈癌治疗的第 4 模式,研制高效、廉价的 HPV 疫苗,对预防和治疗宫颈癌有着十分重要的意义^[20]。

参考文献

- [1] 刘晓燕,徐萍. 人乳头瘤病毒检测的临床意义[J]. 检测医学,2011,26(5): 321—323.
- [2] NUBIA MUOZ, XAVIER BOSCH F, SILVIA DE SANJOSÉ, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervicad cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348: 518—527.
- [3] ALMONG B, GAMZU R, KUPERMINE M J, et al. Human papillomavirus testing in patient follow-up post cone biopsy due to high-grade cervical intraepithelial neoplasia[J]. Gynecol Oncol, 2003, 88: 345—350.
- [4] NUBIA MUNOZ, XAVIER CASTELLSAGUE, AMY BERRINGTON GONZALEZ et al. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer[J]. Vaccine, 2006, 24: S1—S10.
- [5] 赵富玺,王喜英,燕杰,等. FHIT 基因微卫星变异及人乳头瘤病毒感染与宫颈癌关系的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(6): 404—404.
- [6] DONGMEI WU, LIN CAI, MENG HUANG, et al. Prevalence of genital human papillomavirus infection and genotypes among women from Fujian province, PR China [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2010, 151: 86—90.
- [7] ZHAO Y, LIN H, SHEN D, et al. Distribution of HPV genotypes in uterine cervical lesions in Yanbian, northern China [J]. Pathol Int, 2008, 58: 643—647.
- [8] LIU X, ZHANG S, RUAN Q, et al. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in women with cervical lesions in Liaoning province, China [J]. Int J Gynecol Cancer, 2010, 20: 147—153.
- [9] WU R F, DAI M, QIAO Y L, et al. Human papillomavirus infection in women in Shenzhen city, People's Republic of China, a population typical of recent Chinese urbanisation [J]. Int J Cancer, 2007, 121: 1306—1311.
- [10] ZHAO R, ZHANG WY, WU MH, et al. Human papillomavirus infection in Beijing, People's Republic of China: a population based study [J]. Br J Cancer, 2009, 101: 1635—1640.
- [11] YE J, CHENG X, CHEN X, et al. Prevalence and risk profile of cervical human papillomavirus infection in Zhejiang province, southeast China: a population-based study [J]. Virol J, 2010, 7: 66—66.
- [12] SMITH JS, LINDSAY L, HOOTS B, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high grade cervical lesions: a meta analysis update[J]. Int J Cancer, 2007, 121: 621—632.
- [13] CLIFFORD G M, FRANCESCHI S, DIAZ M, et al. Chapter 3: HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases [J]. Vaccine, 2006, 24: S26—S34.
- [14] BAO Y P, LI N, SMITH J S, et al. Human papillomavirus type distribution in women from Asia: a meta analysis [J]. Int J Gynecol Cancer, 2008, 18: 71—79.
- [15] 张东红,林美珊. 人乳头瘤病毒在国人宫颈病变中感染及型别分布特征的 Meta 分析[J]. 中国全科医学, 2010, 13(40): 1287—1290.
- [16] 陶萍萍,张国荣,卞美璐,等. 妇科门诊 21 种人乳头状瘤病毒感染状况分析[M]. 中日友好医院学报, 2008, 22(4): 208—211.
- [17] 钱建华,谢幸,叶大风等. 子宫颈人乳头状瘤病毒感染的流行病学特征[J]. 中华妇产科杂志, 2003, 38(11): 712—713.
- [18] HO G Y, BIERMAN R, BEARDSLAY L, et al. Natural history of cervi-Covaginal papilloma virus infection in young woman[J]. N Eng J Med, 1998, 338: 423—428.
- [19] LEE S A, KANG D, SEO S S, et al. Multiple HPV infection in crvi-cal cancer screened by HPVDNA Chip [J]. Cancer Letter, 2003, 198: 187—192.
- [20] 林岚. 宫颈癌 HPV 疫苗的应用进展[J]. 天津药学, 2010, 22(6): 66—67.

(收稿日期:2014-02-18)