

• 临床检验研究 •

基因芯片技术检测宫颈病变中 HPV 感染的临床研究

彭 敏, 宋春林, 王夷黎, 周东华, 秦 艳

(广东省佛山市妇幼保健院 528000)

摘要:目的 应用基因芯片技术检测宫颈疾病中人乳头瘤病毒(HPV)感染的基因型别及分布特点探讨其临床意义。方法 回顾性分析经病理确诊的 119 例宫颈癌前病变及宫颈癌中应用基因芯片技术检测 23 种 HPV 基因型的感染情况。结果 总共检测出 23 种 HPV 基因型中的 19 种基因型,其中 HPV52 和 HPV16 居感染的前两位,在 CIN3 及宫颈癌中排在前 6 位的基因型是 HPV16,33,58,31,52,68,宫颈癌中排在第 1 位的是 HPV16。HPV 双重或多重感染在宫颈病变各级别中均占有一定的比例。结论 导致宫颈高级别病变及宫颈癌的仍然是高危型 HPV,但存在地理差异。HPV16 感染仍然是宫颈癌的最大威胁,多重感染的问题值得关注。

关键词:宫颈上皮内瘤变; 宫颈癌; 基因型; 人乳头瘤病毒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.05.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)05-0583-02

Clinical Analysis of Human Papillomavirus in Paraffin-embedded Cervical Lesion Tissues by Gene Chip Technology

Peng Min, Song Chunlin, Wang Yili, Zhou Donghua, Qin Yan

(Maternal and Child Health Care Hospital of Foshan, Foshan Guangdong 528000, China)

Abstract: Objective Gene chip technology was used to detect the genotyping and distribution characteristics of human papillomavirus (HPV) in cervical disease. The clinical significance of gene chip technology was discussed. **Methods** 119 pathologically diagnosed samples with cervical cancer and precancerous pathological changes were retrospectively analyzed to detect the infection situations of 23 kinds of HPV types, using gene chip technology. **Results** 19 of the all 23 kinds of HPV types were detected, headed by the HPV52 and HPV16 types. The 6 most popular types in the infection CIN3 and cervical cancer were HPV16, 33, 58, 31, 52 and 68. HPV16 is the most popular type in cervical cancer. **Conclusion** The high-risk HPV types was the reason to cause the high-level cervical lesions and cervical cancer. However, there was geographic variation. The infection caused by HPV16 type was still the most dangerous threat. More attention should be paid to multiple infection in cervical cancer.

Key words: Cervical intraepithelial neoplasia; Cervical cancer; Genotyping; Human papillomavirus

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)是定向感染人体皮肤及粘膜复层鳞状上皮的一类乳头瘤病毒,主要通过直接或间接接触污染物品或性接触传染。HPV 感染可以引起多种良、恶性疾病,其中长期、反复的高危型 HPV 感染是女性宫颈癌发生的主要原因^[1-2]。本文回顾性分析经病理确诊的 119 例癌前病变及宫颈癌中应用基因芯片检测 23 种 HPV 基因型的感染情况,分析探讨其临床意义。

1 材料与方 法

1.1 一般资料 病例均来源于 2008 年 8 月至 2010 年 8 月在本院经新柏氏液基超薄细胞学检查异常后经阴道镜下活检病理确诊的 119 例宫颈癌前病变及宫颈癌的病例同时又做了 HPV 基因分型检测,平均年龄 35.5 岁。所有对象均排除妊娠并且无宫颈锥切史。

1.2 方法 HPV DNA 分型检测采用亚能 HPV 基因分型检测系统进行 23 种 HPV DNA 基因型分析。(1)样本采集:窥器暴露宫颈,轻轻拭去宫颈表面分泌物,用亚能专用宫颈刷伸入颈管内 0.5 cm,顺时针和逆时针各旋转 4 圈,收集宫颈分泌物中的脱落细胞,取出刷子置毛刷头于保存液中,保证所取样本百分百送检;(2)检测系统:该检测系统能同时检测 23 种基因型的 HPV,包括 18 种高危型,即 HPV16,18,31,33,35,39,45,51,53,56,58,59,66,68,73,MM4,83;5 种低危型,即 HPV6,11,42,43,44;(3)检测原理:该方法利用人乳头瘤病毒 L 区相对保守区设计简并引物,通过 PCR 反应对待测样品中可能存在的不同基因型 HPV 进行大量复制,同时对待测样品进行标记,再将扩增后的待测样品与固定在膜芯片上的含有各基因型的特异性探针进行杂交,通过化学显色后的芯片插入 HPV 分型基因芯片阅读系统即可读取分型结果。

1.3 统计学方法 使用 SPSS10.0 软件包进行统计分析。统

计不同级别宫颈病变中 HPV 的感染率以及所感染 HPV 基因型的分布情况。

2 结 果

2.1 HPV 在宫颈癌前病变及宫颈癌中的感染率 本试验在 119 例宫颈癌前病变及宫颈癌中:CIN1 级 64 例占 54%,其中 HPV 感染 51 例占 80%。CIN2 级 23 例占 19%,其中 HPV 感染 17 例占 74%。CIN3 级 24 例占 20%,其中 HPV 感染 19 例占 79%。宫颈鳞癌 8 例占 7%,其中 HPV 感染 7 例占 88%。HPV 感染率与宫颈病变级别之间无正相关性。HPV 阳性 94 例占 79%,HPV 阴性 25 例占 21%,最多为 7 种基因型同时感染。其中单一型感染 51 例占 43%;二重感染 21 例占 18%;三重感染 10 例占 8%;四重感染 8 例占 7%;五重感染 2 占 2%例;七重感染 1 例占 1%。HPV 双重感染或多重感染在 CIN1 中 26 例占 51%,CIN2 中 6 例占 26%,CIN3 中 8 例占 33%,HPV 双重或多重感染在宫颈病变各级别之间占有不同比例,值得关注。

2.2 HPV 基因型的分布 119 例病例中 HPV 基因型感染频度由高到低依次为 HPV 52 占 22%,HPV16 占 15%,58 占 14%,33 占 9%,56 占 9%,31 占 6%,68 占 6%,43 占 6%,11 占 5%,18 占 4%,42 占 4%,35 占 3%,51 占 3%,6 占 3%,39 占 2%,53 占 2%,59 占 2%,66 占 2%,83 占 2%。其中 HPV52 型和 16 型居感染的前 2 位,两者感染率占 37%(44/119)。高危型 45,73,MM4 和低危型 44 未检出。在 CIN3 及宫颈癌中 HPV 感染排在前 6 位的是 HPV16,33,58,31,52,68,说明 HPV 高危型仍是导致宫颈的高级别病变及宫颈癌的主要诱因。引起宫颈鳞癌的依然主要是 HPV16 型。

3 讨 论

随着现代医学的发展,子宫颈癌发病机理逐渐明了,即高

危型 HPV 长期反复感染是子宫颈癌发生的必要因素。子宫颈癌成为在肿瘤发生研究中唯一一个机理明确的肿瘤。这一突破不仅为肿瘤发生的机理指出了新的方向,更为子宫颈癌最终有效的预防提供了可能。HPV 作为宫颈癌的主要病因的发现揭示了其感染性疾病的本质,这对预防和治疗都产生了巨大的影响^[3]。

HPV 的基因型分布存在明显的地区差异,但全世界范围内共同的最常见感染基因型为 HPV16 型,在国际癌症研究协会(International Agency for Research on Cancer, IARC)最新报道的包括全球 25 个国家的 3607 例宫颈癌患者中 HPV16 在所有 HPV 阳性的宫颈癌者中的平均感染率为 57.4%^[4]。由 IARC 最新公布的 15 种最常见的基因型依次为(递减) 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58, 35, 59, 56, 39, 51, 73, 68, 66。除 HPV16 型外, HPV18 感染居第 2 位, HPV45 在非洲、欧洲、南亚及北美居第 3 位,但在南美洲居第 3 位的是 HPV31^[5],在亚洲国家 HPV52 和 HPV58 感染更常见,日本 HPV52 型居第 2 位,在上海有 42.5% 的宫颈癌标本存在 HPV52, 58 感染,在台湾除 HPV16, 18 外, HPV31, 33, 35 的感染率较高^[6]。国内研究结果表明,中国南方长江中下游地区 HPV58 和 HPV59 感染明显高于北方,在湖南省和广州市, HPV58 和 HPV59 仅次于 HPV16, 18 并列位居第 3 常见型,而且湖南地区的 HPV58 阳性率明显高于广州^[7]。这些结果均说明 HPV 基因型感染存在着地区差异。我们的研究结果:检测出 HPV23 种基因型中的 19 种,其感染频度由高到低依次为 HPV52, 16, 58, 33, 56, 31, 68, 43, 11, 18, 42, 35, 51, 6, 39, 53, 59, 66, 83。HPV52 及 HPV58 居第 1 位和第 3 位, HPV16 居第 2 位,但 HPV16 在 CIN3 及鳞癌中仍是感染的主要基因型,说明 HPV16 的致癌性最强,临床上在制定治疗方案时应特别注意。研究结果与文献报道有一致性,但也反映出有地区差异。

HPV 的多重感染是否促进宫颈癌的发生在目前还存在争议,有学者认为多重感染促进宫颈癌的发生,并使治疗棘手^[8]。在我们的研究中,双重或多重感染在宫颈病变各级别中均占有相当高的比例也说明多重感染的问题值得进一步研究。HPV16 型感染参与了宫颈各级别病变中的多重感染,因而联合感染中不同基因型对宫颈疾病发展的作用也值得思考。

HPV 感染是子宫颈癌发生的病因,凡是有 HPV 高危型感染的女性患宫颈癌的可能性是未感染者的 250 倍。直接病因的检测是真正意义上的子宫颈癌早期筛查和早期预防。HPV 高危型的早期筛查可以高度浓缩子宫颈癌高危人群。有

性活动的女性患宫颈炎的几率很大。几乎所有类型的炎症刺激(感染因素,内分泌因素等)均可导致宫颈上皮细胞一定程度的形态学改变,但只有 HPV 感染导致的细胞形态学改变才有真正意义上的肿瘤发生的可能。同时 HPV 感染的一定阶段并不引起明显的细胞形态学改变,但其致癌因子对感染细胞的肿瘤诱导却是客观存在的。HPV 分型检测为客观检测方法,特异性,重复性等较好,可以有效地指导医生临床诊治。HPV 的检测有助于对液基细胞学阴性, ASCUS 和 LSIL 的结果再分类。对大部分 ASCUS 和 LSIL 患者来说,如 HPV 检测阴性,其细胞学转阴的几率大为增加,通常无需进行临床干预,仅定期复查即可。如果 HPV 持续阳性(排除新感染),其肿瘤发生的几率大为增加,并提示治疗无效或干预后不彻底。了解宫颈疾病中 HPV 高危型基因型的分布,对宫颈疾病的预后判断,治疗效果检测以及 HPV 疫苗的研制等方面具有重要价值。

参考文献

- [1] Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer[J]. *J Clin Pathol*, 2002, 55(4):244.
- [2] Palefsky JM, Holly EA. Molecular virology and epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1995, 4(4):415-428.
- [3] 郎景和. 迎接子宫颈癌预防的全球挑战与机遇[J]. *中华妇产科杂志*, 2002, 37(8):129-131.
- [4] Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen[J]. *Int J Cancer*, 2004, 111(12):278-285.
- [5] Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papilloma virus types associated with cervical cancer[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(6):518-527.
- [6] 陶萍萍, 卞美璐. 女性生殖道人乳头状瘤病毒基因型研究进展[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2005, 21(8):507-508.
- [7] 郎景和. 妇科学新进展(子宫颈病变的防治)[M]. 北京:中华医学电子音像出版社, 2005:34-41.
- [8] Bechtiry B, Obermair A, Dreier B, et al. Impact of multiple HPV DNA infection on response to treatment and survival in patients receiving radiotherapy for cervical cancer[J]. *Int J Cancer*, 2002, 102(3):237-243

(收稿日期:2010-05-10)

(上接第 542 页)

护和肿瘤治疗靶点的研究进展[J]. *生命科学*, 2010, 22(6):556-560.

- [3] 顾孔珍, 王晓春. Caspase 活性测定与 siRNA 对宫颈癌 CaSki 细胞凋亡的影响[J]. *实用预防医学*, 2008, 15(4):975-976.
- [4] Litvak DA, Bilbik AF, Cabot MC. Modulators of ceramide metabolism sensitize colorectal cancer cells to chemotherapy: A novel treatment strategy[J]. *J Gastrointest Surg*, 2003, 7(12):140-148.
- [5] 孙国平, 沈玉先, 张玲玲, 等. 丹皮酚对 HepA 荷瘤小鼠免疫调节和抑瘤作用研究[J]. *中国药理学通报*, 2003, 19(8):160-162.
- [6] Dharap SS, Qiu B, Williams GC. Molecular targeting of drug delivery systems to ovarian cancer by BH3 and LHRH peptides[J]. *Journal of Controlled Release*, 2003, 91(10):61-73.
- [7] Liu JW, Chandra D, Tang SH, et al. Identification and characterization of Bimgamma, a novel proapoptotic BH3-only splice variant of Bim[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(10):2976-2981.
- [8] Petros AM, ET Olejniczak, SW Fesik. Structural biology of the Bcl-2 family of proteins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1644(2-3):83-94.

- [9] Lutz R. J. Role of the BH3 (Bcl-2 homology 3) domain in the regulation of apoptosis and Bcl-2-related proteins[J]. *Biochem Soc Trans*, 2000, 28(2):51-56.
- [10] 张宇雯, 刘兴汉. 唯 BH3 域蛋白与细胞凋亡[J]. *医学分子生物学杂志*, 2007, 4(2):143-146.
- [11] 卫菊, 王椿. 从 BCL-2 凋亡抑制因子家族的调控中寻找癌症治疗的新途径[J]. *世界临床药物*, 2006, 27(5):270-273.
- [12] 覃尚忠. Bcl-2 家族蛋白质相互作用的机制和应用[J]. *中国医药生物技术*, 2007, 2(3):218-221.
- [13] 蔡应木, 张俏忻, 肖颖秀, 等. 2-甲氧雌二醇对 HL60 白血病细胞增殖和凋亡的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2007, 28(11):961-963.
- [14] 郭文娟, 王爱英. 凋亡抑制基因 Bcl-xL 的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(25):2871-2876.
- [15] 张文毅, 詹辉, 王剑松. 凋亡素诱导肿瘤细胞凋亡机制研究及其进展[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2007, 10(7):551-553.

(收稿日期:2010-08-20)