

(dopamine, DA)、去甲肾上腺素含量异常;且 Hcy 水平升高是四氢生物喋呤(tetrahydrobiopterin, BH4)合成发生障碍,而 BH4 是氨酸化酶和色氨酸化酶的辅酶,因而进一步影响 DA 与 5-羟色胺的合成,参与精神分裂症和抑郁症的发生^[1]。另外, Hcy 的细胞毒性作用不仅表现在氧化应激反应,使巯基氧化,引起细胞的死亡,而且可以兴奋氨基酸受体,促进细胞蛋白质酶的释放,引起细胞毒性和精神毒性作用; Hcy 还可以产生过量的氧自由基,这可能也与精神障碍的发病有关^[1]。

本研究显示精神分裂症患者血清 Hcy 水平高于抑郁症患者($P < 0.05$)。这可能是由于 Hcy 水平过高可引起半胱天冬蛋白酶活化,导致细胞凋亡。在神经系统的发育过程中,通过细胞凋亡可以清除与神经元形成连接不适当或功能有缺陷的细胞,以及未能与细胞建立突触联系的神经元,以保证精密、高效神经网络的构建。因此,在神经系统发育过程中,如果细胞凋亡的过程中出现偏差,可导致出生后神经系统的异常,这种异常可能为精神分裂症的发病提供生物学基础^[1]。而 Hcy 水平过高导致抑郁障碍的机制与精神分裂症不同,可能是通过钠、钾-ATP 酶的抑制以及与血管病理性改变、高胆固醇、叶酸缺乏等因素的相互作用而共同致病的,所以抑郁症患者体内 Hcy 水平低于精神分裂症患者^[7]。Hcy 水平与精神分裂症和

抑郁症发病机制的关系还有待进一步研究。

参考文献

[1] 纪孝伟,焦志安,赵贵芳,等. 精神分裂症患者血清同型半胱氨酸水平的研究[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2005, 131(4): 302-303.
 [2] Walker E, Kestler J, Bollini A, et al. Schizophrenia; etiology and course[J]. Annu Rev Psychol, 2004, 55(10): 401-430.
 [3] Berry N, Jobanputra V, Pal H. Molecular genetics of schizophrenia; a critical review[J]. J Psychiatry Neurosci, 2003, 28(6): 415-429.
 [4] Put NM, Straaten HW, Trijbels FJ, et al. Folate, homocysteine and neural tube defects; an overview[J]. Exp Biol Med, 2001, 226(4): 243-270.
 [5] 王薇,赵冬,刘军. 北京城乡人群 1 168 例血浆同型半胱氨酸分布及相关因素研究[J]. 中华流行病学杂志, 2002, 23(1): 32-35.
 [6] 王善信,李浩福,王斌. 住院抑郁症患者血清同型半胱氨酸水平研究[J]. 精神医学杂志, 2008, 21(4): 275-277.
 [7] 辛凤,孙红伟,叶向梅. 抑郁症患者血液同型半胱氨酸和叶酸水平的研究[J]. 黑龙江医学, 2007, 31(9): 659-662.

(收稿日期: 2010-08-04)

深圳城区 5 019 例女性 HPV 感染基因分型情况调查

朱 岩, 廖旭东, 段 纯, 黄 犁, 龙 峰

(南方医科大学附属深圳妇幼保健院, 广东深圳 518028)

摘要:目的 了解就诊女性宫颈感染高危型人乳头瘤病毒基因型分布和宫颈病变情况。方法 采用基因芯片技术对 5 019 例疑似 HPV 感染的女性进行 HPV 基因分型检测,并对 231 例 HPV 感染者进行液基细胞学检查。结果 5 019 例女性中共检测 HPV 阳性者 1009 例,感染率为 20.1%;其中低危型 HPV 感染 154 例,高危型 HPV(hrHPV)感染 855 例;hrHPV 基因型排在前 5 位的依次是 HPV16(36.5%)、HPV58(12.06%)、HPV33(10.92%)、HPV52(9.57%)和 HPV56(8.41%)。hrHPV 单一感染 675 例,占感染人数的 78.9%;双重感染 126 例,占感染人数 14.73%;三重感染 41 例;四重以上感染 13 例。在 855 例感染者中, HPV16 和 18 型感染 298 例。231 例 HPV 感染者行细胞学检查时,低危型感染者细胞学异常者较少,而高危型感染或高、低危型混合感染者细胞学异常明显增多。结论 经该院机会性筛查的女性 hrHPV 感染率较高,以 HPV 单一感染为主; HPV 分型检测对预测病变进展、评估预后、指导治疗有重要价值。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因分型; 基因芯片

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.06.039

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)06-0690-02

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染是宫颈癌的主要病因已是不争的事实^[1]。目前已鉴别出的 HPV 有 100 多种基因型,不同 HPV 基因型的感染与女性宫颈疾病的发生、发展,转归有着不同程度的相关性^[2],因此选择特异性 HPV 检测方法对于预防和诊断 HPV 感染引起的相关疾病,特别是女性生殖道肿瘤的早期发现具有重要意义。本文采用基因芯片技术对 2010 年 1~10 月期间在深圳妇幼保健院就诊的 5 019 例疑似 HPV 感染的女性进行了 HPV 基因分型检测,并对部分 HPV 感染者进行细胞学检查,分析深圳地区妇女宫颈 HPV 感染及其宫颈病变情况,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1~10 月到妇科就诊的女性 5 019 例,年龄 20~40 岁,平均 33.56 岁。其中部分高危 HPV(high risk HPV, hrHPV)感染者行新柏氏全自动超薄液基细胞学检测宫颈(Thinprep Liquid-based cytology test, 简称新柏氏 TCT)。所有研究对象无急性生殖道炎症,无妊娠,无子宫宫颈切和子宫切除术。

1.2 仪器与试剂 HPV 基因分型检测试剂盒(深圳亚能生物技术有限公司提供);分子杂交仪(韩国 FINER, combi-D24);PCR 仪(MJ-Research PTC-100);薄层液基细胞学检测仪器由北京英硕力新柏式公司提供;显色液须新鲜配制,按顺序加入以下溶液:C 液(0.1 mol/L 柠檬酸钠, pH5.4)19 mL,四甲基联苯胺 1 mL,体积分数 3% H₂O₂ 10 μL。20 倍 SSC,质量分数 10%的十二烷基硫酸钠(SDS)、1 mol/L 柠檬酸钠均为深圳亚能生物技术有限公司提供,用时按所需浓度加蒸馏水配制。

1.3 实验方法

1.3.1 样本收集 用窥阴器暴露宫颈,用棉拭子擦去宫颈过多分泌物,然后使用专用的宫颈刷置于宫颈口,轻轻旋动宫颈刷 4~5 圈以获得足量的上皮细胞样本;慢慢取出宫颈刷,然后沿刷柄折痕处将宫颈刷柄折断,放入装有专用细胞保存液的洗脱管中浸泡,旋紧管盖,作好标记送检验室检测。

1.3.2 样本处理 将宫颈刷在洗脱管中充分漂洗(漩涡振荡器上震荡 1 min)后,将洗脱液全部转移到带有相应标记的 1.5 mL 微量离心管中,13 000 r/min 离心 10 min,弃上清,保留管

底的沉淀细胞块。加入 50 μL 裂解液到离心管中,充分混匀,悬浮细胞块沉淀,放入水浴锅或电磁炉中煮沸 10 min,13 000 r/min 离心 10 min,离心半径 8 cm,保留上清待用。

1.3.3 检测方法 检测由本院检验科负责,HPV 基因分型检测步骤主要包括 (1)DNA 提取,(2)PCR 扩增,(3)杂交,(4)洗膜(5)显色及结果判读,操作和结果判读均按试剂盒说明书进行,检测的 23 种基因型包括 18 种高危型和 5 种低危型,18 种高危型分别为 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、MM4 和 83 型,5 种低危型这 6、11、42、43、44。

1.3.4 宫颈细胞学检查 采用宫颈薄层液基细胞学检查(TCT)方法 (1)标本采集:由医生以窥阴器暴露宫颈,擦净宫颈口分泌物,用特制的宫颈刷收集宫颈口及颈管的脱落上皮细胞,并将毛刷头部放入盛有细胞保存液的小瓶内。(2)薄片的制作与阅片:采用 Thinprep 液基薄层制片机(美国赛迪公司产

品)自动制片、染色,光学显微镜检查,以 TBS(the 2001 Bethesda system)分级系统进行细胞学诊断。

1.4 统计学处理 宫颈液基细胞学检查以 ≥LSIL 为阳性,统计不同级别宫颈病变中 HPV 的感染率以及 HPV 阳性率和液基细胞学异常率的差别,差异显著性分析采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 HPV 感染率及 HPV 基因型分布 对 5 019 例疑似 HPV 感染女性进行 HPV 检测,共检测到 22 种 HPV 基因型,未检出 HPV44,5 019 例女性中共检测 HPV 阳性者 1 009 例,感染率 20.1%;其中低危型 HPV 感染 154 例,高危型 HPV (hrHPV)感染 855 例,hrHPV 感染率 17.04%;hrHPV 基因型排在前三位的依次是 HPV16(36.50%)、HPV58(12.06%)、HPV33(10.92%)、HPV52(9.57%)和 HPV56(8.41%),具体情况见表 1。

表 1 妇女 hrHPV 感染基因型分布 (n=855)

hrHPV	16	18	31	33	35	39	45	51	52	53	56	58	59	66	68	73	83	MM4
检出数	312	40	25	90	21	4	8	13	83	16	72	103	18	24	15	4	6	1
感染率(%)	36.5	4.68	2.9	10.5	2.46	0.47	0.94	1.5	9.7	1.87	8.42	12.1	2.1	2.8	1.75	0.47	0.7	0.05

2.2 HPV 感染状况 本研究中以单一基因型感染为主,单一 hrHPV 感染 675 例,占 78.9%,基因型以 HPV16、58、33、52、56 为主;双重感染 126 例,占感染人数的 14.73%;三重及三重以上感染 54 例,受检者中最多达 5 种 HPV 基因型感染。

2.3 宫颈细胞学检测结果 由于随诊条件及经济水平的制约,本调查中仅有 231 例受检者进行了液基细胞学检查,与 HPV-DNA 检测结果对比如下,见表 2。结果提示低危型或低危型混合感染者,其细胞学异常者较少,而高危型感染或高、低危型混合感染者细胞学异常者明显增多,两者差异有统计学意义(P<0.005)。

表 2 HPV 检测结果与细胞学检查比较

HPV 感染	例数 (n)	细胞学				
		正常	ASCUS	LSIL	HSIL	SCC
单一低危型	22	3	6	13		
单一高危型	120	6	20	34	60	
低危型混合	8	3	3		2	
高危型混合	60		12	18	29	1
高、低危型混合	21	3		6	11	1
合计	231	15	41	71	102	2

3 讨 论

调查表明,HPV 基因型分布存在明显地区差异,最常见的为 HPV16 型。国际癌症研究所(IARC)对全球 25 个国家的 3607 例宫颈癌患者的多中心研究报告,HPV16 在所有 HPV 阳性的宫颈癌患者中的平均感染率为 57.14%^[3]。有资料显示^[4],中国南方长江中下游地区 HPV58 基因型感染明显高于北方,在湖南省和广州市,HPV58 仅次于 HPV16、18,位居第 3 位常见基因型。本研究结果亦显示,HPV16 型感染最为常见,其次为 HPV58、HPV33、HPV52 和 HPV56,此 5 种 HPV 感染占总感染率的 77.5%,与上述文献报道相一致。

研究表明,不同 HPV 基因型致癌能力不同,HPV16、18、33、58 等致病力较强,易导致宫颈的高级别病变^[5]。本研究结果也证实不同程度的宫颈病变患者,感染的 HPV 有所不同。感染率最高的 HPV16 与宫颈病变严重程度有明显关系,其在高度鳞状上皮内病变中(HSIL)的感染率明显高于其他组,可

见利用 HPV 分型检测可对患者进行个体化评估,预测宫颈病变发生的风险度,从而决定筛查的间隔、治疗方案的制定等^[2]。

本研究中发现 HPV 多为单一感染,占感染人数 75.6%,双重感染者占 14.73%,三重及以上感染的 9.37%,最多检测到 5 重感染。在二重及多重感染中,最常见的为 HPV 16 型合并的感染,其次为 HPV 18 或 58 合并感染,提示 HPV 16 不仅在单一感染中占有极大比例,在多重感染中也极为常见,进一步说明 HPV16 与宫颈病变的高相关性。

Ho 等^[6]学者认为多重感染出现持续感染的可能性更高,多重感染更易导致宫颈病变及宫颈癌的发生。多重感染与单一感染相比,体内 HPV 可能更难以清除。研究发现 HPV16 是最难清除的基因型,女性感染高危 HPV 后,在随后的 6 年中发展成 CINⅢ级的风险比未感染者高 210 倍^[7],因此临床上要高度重视高危 HPV 多重感染,积极治疗并进行严密追踪随访,降低宫颈癌的发生。

参考文献

- [1] 杨学志. 子宫颈癌前阶段阻断研究[J]. 江西医学院学报, 1991, 31(2):92-95.
- [2] 关婷, 张志文, 谢燕芳, 等. HPV 基因型与宫颈上皮内瘤样病变的关系[J]. 中华妇幼保健, 2006, 21(7):960-962.
- [3] MunozN, Bosch FX, Castellsague X, et al. Againststwhich human pap illomavirus types shall we vaccinate and screen The international per-spective[J]. Int J Cancer, 2004, 111(6):278.
- [4] 朗景和. 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.
- [5] Hwang TS. Detection and typing of HPV genotypes in various lesions by HPV oligonucleotide microarray [J]. Gynecol Oncol, 2003, 90(1):51-56.
- [6] Ho GY. Natural history of cercical aginal papillomavirus infection in young women[J]. N Engl J Med, 1998, 338:423-428.
- [7] 胡兴文. 武汉地区宫颈感染人乳头状瘤病毒基因分析[J]. 实用医技杂志, 2007, 14(14):1831-1833.