

genes in Europe; report from the SENTRY world-wide antimicrobial surveillance programme[J]. J Antimicrob Chemother, 2003, 52(4): 583-590.

[9] 刘军辉,李鹏,王淑梅,等. 葡萄球菌的耐药性分析[J]. 西安交通大学学报:医学版,2011,32(1):135-137.

• 调查报告 •

[10] 陈自武. 降钙素原、超敏 C 反应蛋白与外周血碱性磷酸酶积分在细菌感染中应用探讨[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(8): 572-573.

(收稿日期:2011-06-09)

某地区人乳头瘤病毒感染现状调查及结果分析

李辉腾¹, 郑 凯¹, 刘国强²

(1. 广东同江医院检验科, 广东佛山 528300; 2. 广东省佛山市顺德人口和计划生育服务中心 528300)

摘要:目的 探讨某地区各年龄段人群感染人乳头瘤病毒(HPV)基因类型分布。分析 HPV 感染相关因素,了解某地区 HPV 的分布流行病学。方法 利用导流杂交基因芯片技术分别对从 2010 年 8 月至 2011 年 4 月来就诊的 757 例疑有 HPV 感染患者的生殖系分泌物标本进行 HPV-DNA 21 种基因亚型检测筛查。结果 HPV(包括单一感染及多重感染)总阳性检测率为 27.9%(211/757),其中高危亚型检出率 23.6%(179/757);低危亚型检测率 10.4%(79/757);3 种中国人群常见亚型检测率 5.5%(42/757)。结论 某地区患者以 HPV-52 感染为主,其次为 HPV-16, HPV-11 等,女性发病率明显高于男性,易感人群组以 21~30 岁最高(占感染人数 54.6%),并且有年轻化的趋势(11~20 岁年龄组占 9.2%)。

关键词:感染; 人乳头瘤病毒; 基因分型; 导流杂交

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.17.035 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2011)17-1992-02

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)能引起人类皮肤的多种乳头状瘤或疣及黏膜生殖道上皮增生性损伤。感染生殖道的 HPV 可分为两种:低危型和高危型。常见的低危型如 HPV-6、HPV-11 等能导致生殖道尖锐湿疣;高危型如 HPV-16、HPV-18 等感染现已证实具有潜在的致癌性,与宫颈癌的发生、发展有密切联系。由于近年来 HPV 感染率呈上升趋势且超过 90% 的宫颈癌都有 HPV 感染,同时,年轻宫颈癌患者发病率以每年 2%~3% 的速度增长,因此其流行病学及可能病因一直被广泛关注及研究^[1-2]。基因芯片技术对于检测 HPV 的多种型别和 HPV 多型别混合感染具有重要意义,可为 HPV 感染和宫颈癌的防治提供重要依据^[3]。本研究采用核酸分子快速反向斑点印迹导流杂交基因芯片分型技术同时可检测 23 种 HPV 型别,包括 18 种高危型和 5 种低危型^[4-5]。本院对 757 例就诊的疑似 HPV 感染患者进行了分型检测研究。通过本研究,笔者掌握了本地区 HPV 感染现状,为临床控制调整其治疗方案提供了有力的实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 8 月至 2011 年 4 月到本院做生殖系疾病筛查者(包括 HPV DNA 检测)757 例,年龄 11~70 岁,其中感染有低危型和高危型 HPV。采集的标本类别为生殖系统分泌物。

1.2 仪器与试剂 采用 PCR 扩增仪(KP-TC48);导流杂交仪(医用核酸分子快速杂交仪 HHM-2);HPV DNA 提取试剂盒;HPV 基因分型检测 PCR 试剂盒;HPV 基因分型检测杂交试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 上述研究对象采集的标本类别为生殖系统分泌物(包括疣体、尿道分泌物和宫颈脱落细胞)。男性采样前禁止小便,女性在非月经期间采样,48 h 内禁止性生活和阴道冲洗及阴道内用药物。

1.3.2 实验方法 采用 HPV 基因分型检测试剂盒,运用反向斑点印迹杂交原理,利用导流杂交技术,严格按照标准操作

规程进行 HPV 21 种亚型分型检测,肉眼观察判读结果,按芯片上 HPV 亚型分布的相应着色点位判断,单个着色位点即为单一 HPV 感染,多个着色位点即为多重 HPV 感染。每张基因芯片上有杂交质控点和 PCR 扩增质控点各一个。21 种 HPV 分为 13 种高危亚型(包括 HPV-16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 型),5 种低危亚型(包括 6、11、42、43、44 型)和 3 种中国人群常见亚型(53、66 和 Cp8304 型)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,统计 HPV 感染的阳性百分率, χ^2 检验比较 HPV 感染的阳性率差异。

2 结果

2.1 HPV 21 种亚型分型检测结果 HPV 21 种亚型基因型均在所有被检标本中检测到,无一漏空。

2.2 HPV 感染亚型分布 HPV 感染总阳性率 27.9%(211/757),其中感染亚型阳性率由高到低依次为: HPV-52 型(7.1%、54/757), HPV-16 型(5.5%、42/757), HPV-11 型(4.8%、36/757), HPV-58 型(4.0%、30/757), HPV-6 型(3.8%、29/757), HPV-53 型(2.8%、21/757), HPV-Cp8304 型(2.0%、15/757), HPV-18 型(1.5%、11/757), HPV-44 型(1.3%、10/757), HPV-33 型(1.2%、9/757)和 HPV-68 型(1.2%、9/757), HPV-31、39、66 型(各 0.8%、6/757), HPV-51、56、59、42 型(各 0.4%、3/757), HPV-35 型(0.3%、2/757), HPV-45、43 型(0.1%、1/757);其中高危亚型占 23.6%(179/757),低危亚型占 10.4%(79/757),3 种中国人群常见亚型占 5.5%(42/757);单一感染亚型占 19.9%(150/757),多重感染亚型占 8.0%(61/757)。

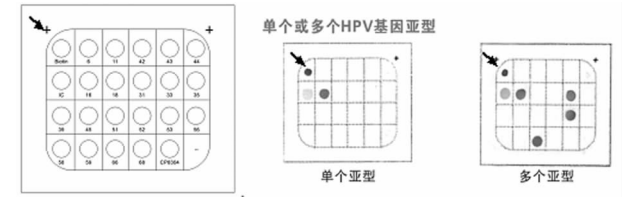
2.3 HPV 感染亚型性别、年龄段分布 其中男性(0.5%、4/757);女性(27.4%、207/757);11~20 岁(2.6%、20/757);21~30 岁(15.2%、115/757);31~40 岁(7.8%、59/757);41~50 岁(1.6%、12/757);51~60 岁(0.6%、4/757);61~70 岁(0.1%、1/757)。

2.4 HPV 各亚型阳性分布率结果 见表 1。

表 1 亚型阳性分布率结果

HPV 类型	性别	年龄段	单一感染 (n)	多重感染 (n)	感染例数 (n)	总例数 (n)	阳性率 (%)
6	男/女	11~60	25	24	29	757	3.8
11	男/女	20~40	20	16	36	757	4.8
42	女	20~60	1	2	3	757	0.4
43	女	30	0	1	1	757	0.1
44	女	11~40	5	5	10	757	1.3
16	女	11~60	27	15	42	757	5.5
18	女	11~40	6	5	11	757	1.5
31	女	20~50	5	1	6	757	0.8
33	女	20~50	3	6	9	757	1.2
35	女	20~30	1	1	2	757	0.3
39	女	11~30	0	6	6	757	0.8
45	女	24	0	1	1	757	0.1
51	女	20~30	1	2	3	757	0.4
52	女	11~50	30	24	54	757	7.1
53	男/女	20~40	10	11	21	757	2.8
56	女	11~30	0	3	3	757	0.4
58	男/女	20~50	15	15	30	757	4.0
59	女	20~30	2	1	3	757	0.4
66	女	20~40	3	3	6	757	0.8
68	女	11~40	5	4	9	757	1.2
Cp8304	女	20~60	6	9	15	757	2.0
合计		11~60	165	155	300	757	39.7

2.5 杂交芯片及感染类型 见图 1。



在杂交基因芯片的左上角第一格(箭头所示)为 PCR 反应质控点(即生物数点),其下方为杂交显色质控点。

图 1 杂交芯片及感染类型

3 讨 论

由于 99% 的宫颈癌和宫颈上皮内瘤变(CIN)存在高危型 HPV 感染,因此 HPV 分型检测作为初筛手段可浓缩高风险人群,比通常采用的细胞学检测更有效,还可以对于未明确诊断意义的不典型鳞状细胞/腺细胞(ASCUS/AGUS)和鳞状上皮内低度病变(LSIL)再筛查^[6]。此方法已经广泛用于宫颈癌的普查与复查,在癌症的早期预防与筛查及发病风险度的确定、子宫颈瘤术后跟踪、癌症防治疫苗的研发及应用等方面有着极其重要的作用。

本次调查结果显示,顺德地区 HPV 总感染率为 27.9%,男性只感染 HPV-6、11、53 和 58 亚型,女性 21 种亚型都有感染,值得重视的是 HPV-52 亚型感染阳性率高居首位。调查显

示,HPV-52 亚型在恶性病变中有 E2 基因组的整合,通常不以附加体(即游离)的形式存在,而是整合到宿主细胞基因组中。正常状态下,E2 基因产物的功能是转录调节,一旦整合,E2 正常的功能被阻断,这似乎是病毒致癌基因起作用的关键所在。所有肿瘤均含有并表达 E6 和 E7,丧失 E2 调节的结果导致了 E6 和 E7 癌蛋白的过度表达,而 E6 和 E7 是很强的细胞转化和致癌基因^[7]。那么感染 HPV 后有 3 种可能的结局:(1) HPV 基因组可能成为稳定的非整合状态的附加体潜伏在宿主内,没有明显的临床症状及形态学变化 90% 可以自行清除(4~6 个月);(2)大量繁殖的 HPV 导致活动性感染,进而诱发鳞状上皮增殖,转变为良性肿瘤(如疣和乳头瘤),低危型 HPV(平均 8.2 个月);(3) HPV 基因组整合到宿主染色体的高危区,干扰了对高度致癌病毒癌基因的控制,从而引起各种肿瘤,高危型 HPV(平均 13.5 个月)。

另一方面,本地区高危型 HPV 感染阳性率远远高于低危型 HPV,单一感染阳性率高于多重感染,女性感染阳性率也大于男性,地区性差异比较显著。这就说明单一的 HPV 高危亚型在女性宫颈癌发病率中存在较大风险。在年轻女性中,HPV 感染非常普遍,但大多可自然缓解,仅少数妇女发展为持续性感染,并可发展为宫颈上皮内瘤变(CIN),甚至进展为浸润型宫颈癌。这提示在大多数 HPV 感染患者中有足够的免疫防御机制对抗病毒。其确切原因还不清楚,这可能是由于女性较男性存在相关的多危险因素,如:性伴侣个数增多、当地文化氛围、气候、吸烟、妊娠次数、口服避孕药等。

总之,HPV 基因分型检测对于多种型别和多型别混合感染的检测有其独特的优势对生殖道感染的早期发现、预防及治疗具有重要意义^[8],可为宫颈病变的相关研究提供流行病学研究。

参考文献

[1] Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer [J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518.

[2] 肖克林, 吴丽娟, 王敏, 等. 宫颈癌病变妇女人乳头瘤病毒感染模式和基因型分布研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(7): 667-669.

[3] 庞伟鸿, 刘红杏, 宁学玲, 等. 基因芯片检测技术在女性生殖道 HPV 分型感染中的应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(7): 630-631.

[4] 何桂蓉, 李芳芳, 何林, 等. 反向斑点杂交技术应用于人乳头瘤病毒基因分型的研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(7): 658.

[5] 陶萍萍, 卞美璐, 欧华, 等. 导流杂交基因芯片技术在人乳头瘤病毒检测中应用的研究 [J]. 中华妇产科杂志, 2006, 41(1): 43-47.

[6] 薛耀华, 陈子祥, 郑宝文, 等. 广东妇女人乳头瘤病毒感染及宫颈细胞学的对照研究 [J]. 中华肿瘤杂志, 2005, 27(5): 283-285.

[7] 郭天棋, 李诚信. 人乳头瘤病毒感染与宫颈癌 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2001, 17(11): 641-642.

[8] 张莉, 李小捷. HPV 基因分型检测在女性生殖道感染中的应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(5): 452.

(收稿日期: 2011-05-25)