

• 临床检验研究论著 •

某院女职工人乳头瘤病毒感染及基因分型检测结果分析

张春蕾¹, 张青¹, 袁小林^{1△}, 华正宇^{2▲}, 杨真¹, 李小欢¹
 (1. 大连大学附属中山医院中心实验室, 辽宁大连 116001;
 2. 大连医科大学附属第一医院病理科, 辽宁大连 116011)

摘要:目的 了解该院女职工人乳头瘤病毒(HPV)感染情况。方法 采用聚合酶链反应(PCR)和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术对该院 670 例女职工进行 HPV 感染及 HPV 亚型检测。结果 HPV 感染率为 12.39%(83/670), 其中单一、双重和三重及其以上基因型感染者分别占 75.90%(63/83)、14.46%(12/83)和 9.64%(8/83); 单纯低危型和单纯高危型感染率分别为 10.84%(9/83)和 78.31%(65/83), 低危型与高危型混合感染率为 10.84%(9/83)。共检出 19 种基因型, 以高危型 HPV52 检出率最高[2.84%(19/670)]。结论 该院女职工 HPV 感染率较高, 多重感染及高危型感染情况较为严重, 应重视 HPV 筛查在疾病预防中的重要作用。

关键词: 宫颈肿瘤; 人乳头瘤病毒; 基因亚型; 宫颈癌; DNA 芯片

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.06.022

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)06-0689-02

Analysis of HPV infection and genotypes in female medical workers in certain hospital

Zhang Chunlei¹, Zhang Qing¹, Yuan Xiaolin^{1△}, Hua Zhengyu^{2▲}, Yang Zhen¹, Li Xiaohuan¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian Liaoning 116001, China;
 2. Department of Pathology, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian Liaoning 116011, China)

Abstract: Objective To understand the prevalence of human papillomavirus (HPV) infection in female medical workers in this hospital. Methods Gene chip technique was performed for the detection of HPV infection and HPV genotypes in 670 cases of female medical workers. Results HPV infection rate was 12.39%(83/670), and single, double and treble genotypes infection were 75.90%(63/83), 14.46%(12/83) and 9.64%(8/83) respectively among all positive cases. Single low-risk and single high-risk genotype infection rates were 10.84%(9/83) and 78.31%(65/83). Nineteen genotypes could be demonstrated and the most predominant subtype was HPV52[2.84%(19/670)]. Conclusion HPV infection rate might be relatively high in female medical workers in this hospital, and the prevalence of multiple infection and high-risk genotype infection was severe. HPV screening should be performed for the prevention of relative diseases.

Key words: uterine cervical neoplasms; human papillomavirus; gene subtypes; cervical carcinoma; DNA chip

人乳头瘤病毒(HPV)可通过多种途径感染女性生殖道, 导致尖锐湿疣以及宫颈病变, 甚至可能引发宫颈癌^[1]。因此, 有针对性地进行 HPV 分型检测对于宫颈癌的早期诊断和治疗具有重要意义。本研究采用聚合酶链反应(PCR)和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术对 670 例该院女职工进行 HPV 定性及分型检测, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1~2 月于大连大学附属中山医院参加健康体检的女职工 670 例, 年龄 23~63 岁, 平均 39 岁。

1.2 仪器与试剂 人乳头瘤病毒基因分型检测试剂盒[亚能生物技术(深圳)有限公司]; BHC-1300 II A/B₂ 生物洁净安全柜(苏州净化设备有限公司), JS-400A 恒温金属浴(上海培清科技有限公司), TC-XP 基因扩增仪(杭州博日科技有限公司), DK-600B 电热恒温水槽(上海森信实验仪器有限公司), FYY-3 分子杂交仪(江苏兴化市分析仪器厂)。

1.3 方法 标本采集及 HPV DNA 提取、扩增及杂交检测严格按照仪器及试剂说明书操作。杂交检测结果有效需同时满足以下条件:(1)每张膜条在显色质控点必须出现蓝色信号;(2)阴性质控品检测, 除显色质控点出现蓝色信号外, 其余位点均不出现显色信号;(3)阳性质控品检测, 除显色质控点出现蓝色信号外, 须在相应 HPV 基因型位点出现显色信号。根据斑点

显色情况判读结果, 显示蓝色斑点时判为对应基因型阳性。

2 结果

2.1 不同 HPV 感染类型分布情况 共检出 HPV 阳性者 83 例, 阳性率为 12.39%(83/670), 不同 HPV 感染类型检出情况见表 1~2。

表 1 单一或多重感染分布情况

感染类型	n	构成比(%)	阳性率(%)
单一基因型	63	75.90	9.40
双重基因型	12	14.46	1.79
三重及以上基因型	8	9.64	1.20
合计	83	100.00	12.39

表 2 高危性、低危型或混合型感染分布情况

基因型	n	构成比(%)	阳性率(%)
低危型	9	10.84	1.34
高危型	65	78.31	9.71
低危型+高危型	9	10.84	1.34
合计	83	100.00	12.39

2.2 不同 HPV 基因型分布情况 共检出 19 种基因型,不同基因型检出情况见表 3。

表 3 不同 HPV 基因型分布情况

HPV 基因型	n	构成比(%)	阳性率(%)
低危型	6	5.36	0.89
42	4	3.57	0.60
43	9	8.04	1.34
高危型	16	15.18	2.54
18	5	4.46	0.75
31	7	6.25	1.04
33	3	2.68	0.45
35	4	3.57	0.60
39	1	0.89	0.15
45	2	1.79	0.29
51	1	0.89	0.15
52	19	16.97	2.84
53	1	0.89	0.15
56	5	4.46	0.75
58	13	11.61	1.94
59	4	3.57	0.60
66	7	6.25	1.04
68	3	2.68	0.45
83	1	0.89	0.15

3 讨 论

HPV 是一类体积较小的能特异性感染人类皮肤和黏膜的双链闭合环状 DNA 病毒。目前已知的 HPV 基因型有 100 多种,其中近 40 种能导致生殖道感染^[2]。根据致病力的大小可将 HPV 分为低危型和高危型。生殖道感染高危型 HPV 是宫颈癌及宫颈上皮内瘤变(CIN)的主要危险因素。因此,HPV 感染及基因分型检测是宫颈疾病筛查不可缺少的指标。

本研究采用 PCR 和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术对 670 例健康体检女职工进行 HPV 感染及基因分型检测,共检出 HPV 阳性者 83 例,阳性率为 12.39%,单一、双重和三重及其以上基因型感染者在 HPV 阳性者中分别占 75.90%(63/83)、14.46%(12/83)和 9.64%(8/83),说明 HPV 多重感染现象较为严重,且大部分多重感染者可检出高危型 HPV。据文献报道,无症状女性多重 HPV 感染率约为 15.8%,而宫颈癌患者多重感染率为 3%~4%,可能与多重感染导致 HPV 致病性改变有关^[3]。关婷等^[4]的研究显示,在 166 例 HPV 阳性的 CIN 患者中,单基因型感染占 78.92%,二重和三重感染分别占 15.06%和 6.02%,说明宫颈感染不同亚型 HPV 的数量与宫颈病变的级别不一定呈正比。随着对宫颈癌病因学研究的不断深入,已证实宫颈癌的最主要致病因素是高危型 HPV 持续或反复感染。本研究结果显示,单纯低危型和单纯高危型感染者分别占 10.84%(9/83)和 78.31%(65/83),低危型与高危型混合感染者占 10.84%(9/83),可见高危型 HPV 感染情况较为严重。HPV 的致病性与其亚型有关,如低危型感染仅诱发生殖器疣样病变,高危型感染则是导致宫

颈癌的最主要原因^[5]。因此,加强高危型 HPV 的筛查对有效降低宫颈癌发病率和致死率有重要意义。

国际癌症研究中心(IARC)数据显示 15 种常见 HPV 亚型依次为(递减)16、18、45、31、33、52、58、35、59、56、39、51、73、68、66。18 亚型以感染率 12.6%~25.7%居第 2 位。45 亚型在非洲、欧洲、南亚、北美居第 3 位,但在南美居第 3 位的是 31 亚型^[6]。在亚洲国家,52、58 亚型所占比例要高于 45、31、33 亚型,52 亚型在日本居第 2 位,58 亚型在韩国居第 3 位。18、58、52 亚型在中国大陆地区分别居第 2、3、4 位,在中国台湾地区,除 16、18 亚型外,31、33、35 亚型的感染率也比较高^[7-9]。中国辽宁地区 HPV 优势型别依次为 16、58、52、33、53 和 31^[10]。彭敏等^[11]的研究发现,119 例患者不同 HPV 基因型感染率由高到低依次为 HPV52 占 22%,HPV16 占 15%,HPV58 占 14%。本研究共检出 19 种基因型,包括低危型 HPV6、42、43 和高危型 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、83,以高危型 HPV52 检出率[2.84%(19/670)]最高,其次为 HPV16 的 2.54%(17/670)和 HPV58 的 1.94%(13/670),优势型别检出情况与相关文献报导相同,但阳性率明显降低^[11]。郭广洲等^[12]的调查显示,深圳白领女性 HPV 感染率为 7.37%,其中高危型 HPV16 阳性率最高(2.74%),其次为 HPV33(阳性率为 1.18%),可见该人群不同亚型 HPV 感染率也相对较低。产生上述差异的原因可能与不同女性在工作、生活习惯及受教育程度等方面存在差异有关。

HPV 感染是宫颈癌的主要致病因素,HPV 筛查仍是现阶段控制和预防宫颈癌的主要手段。DNA 芯片技术是可用于 HPV 筛查及分析 HPV 感染与宫颈癌关系的简便、快速、特异的方法。

参考文献

- [1] Bosch FX. Human papillomavirus: science and technologies for the elimination of cervical cancer[J]. Expert Opin Pharmacother,2011,12(14):2189-2204.
- [2] 陈忠领,魏新燕,范美珍,等. 女性感染人乳头瘤病毒基因分型结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(9):944-945.
- [3] Lin H, Moh JS, Ou YC, et al. A simple method for the detection and genotyping of high-risk human papillomavirus using seminested polymerase chain reaction and reverse hybridization[J]. Gynecol Oncol,2005,96(1):84-91.
- [4] 关婷,张志文,谢燕芳,等. 人乳头瘤病毒基因型与宫颈上皮内瘤样病变的关系[J]. 中国妇幼保健,2006,21(7):960-963.
- [5] 李晓阳,郭学青. 北京石景山地区人乳头瘤病毒(HPV)感染的分子流行病学研究[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(8):866-868.
- [6] Munoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer [J]. N Engl J Med,2003,348(6):518-527.
- [7] An HJ, Cho NH, Lee SY, et al. Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with human papillomavirus (HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method[J]. Cancer,2003,97(7):1672-1680.
- [8] Lo KW, Wong YF, Chan MK, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a multicenter study in China[J]. Int J Cancer,2002,100(3):327-331.
- [9] Huang LW, Chao SL, Hwang JL, et al. Human papillomavirus-31-related types predict better survival in cervical(下转第 692 页)

表 1 不同研究组血栓前状态标志物检测结果比较(̄x±s)

组别	n	D-D(μg/L)	FIB(g/L)	t-PA(ng/mL)	vWF(%)	hs-CRP(mg/L)
DR 组	106	731.09±129.89#▽	4.04±0.77#▽	2.96±0.60#▽	139.32±13.40#△	4.05±0.82#△
BDR 组	58	670.67±132.96	3.71±0.67	3.25±0.55	138.64±12.90	3.58±0.69
PDR 组	48	781.10±105.32▲	4.31±0.74▲	2.71±0.54▼	141.58±11.67▼	4.43±0.73▼
NDR 组	72	597.33±115.59#	3.27±0.60#	3.55±0.56#	137.84±18.31#	3.22±0.55#
NC 组	66	191.52±43.72	2.88±0.69	4.28±0.78	103.15±11.26	1.16±0.44

: P<0.001, 与 NC 组比较; ▽ : P<0.001, △ : P<0.05 与 NDR 组比较; ▲ : P<0.05, ▼ P<0.001, 与 BDR 组比较。

3 讨 论

3.1 D-D、FIB 与 DR 2 型糖尿病患者体内常存在高凝倾向, 有微血管病变者更为明显^[6]。FIB 和 D-D 作为均为反映凝血和纤溶系统功能的指标; 前者反映凝血状态, 是糖尿病血管病变独立危险因素; 后者则是反映高凝状态、血栓形成和继发性纤溶的标志物^[7-8]。有研究显示, 糖尿病病情严重程度与 FIB、D-D 水平呈正相关, 说明糖尿病患者体内存在明显的高凝状态^[9]。DR 的发病机制尚未完全明确。有文献报道, 糖尿病病程、血糖水平和高血压是诱发 DR 的主要危险因素^[10]。本研究中 DR 组、NDR 组 D-D、FIB 水平均高于 NC 组(P<0.001), 说明 DR 患者和 NDR 患者均处于高凝和纤溶亢进状态; DR 组 D-D、FIB 水平高于 NDR 组(P<0.001), 提示 DR 患者体内高凝和纤溶亢进状态更严重。与 BDR 组相比, PDR 组 D-D、FIB 水平均升高(P<0.05), 提示随着 DR 患者的病情进展, 高凝和纤溶亢进状态进一步加重。上述研究结果与许德英等^[11]的研究结果基本一致。

3.2 t-PA、vWF 与 DR t-PA 由血管内皮细胞合成、贮存并释放入血, 能使纤溶酶原转化为纤溶酶, 进而降解和消除纤维蛋白凝块, 是纤溶系统主要的生理性激活剂。当血管内皮细胞受损时, t-PA 的合成和释放减少以致纤溶活性降低是 PTS 发病机制之一。vWF 亦由血管内皮细胞合成和分泌, 为Ⅶ:C 凝血因子中的载体蛋白, 是血管内皮细胞损伤标志物之一, 在启动外源性凝血途径中发挥关键作用。本研究显示, DR 组 t-PA 水平低于 NDR 组和 NC 组(P<0.001); 与 BDR 组比较, PDR 组 vWF 水平升高而 t-PA 水平降低(P<0.001); 说明 2 型糖尿病患者中, 有血管并发症者的血管内皮细胞损伤程度较无血管并发症者严重, 且随着病情进展, 血管内皮细胞损伤程度进一步加重。

3.3 hs-CRP 与 DR hs-CRP 是低水平炎症反应标志物之一。有研究显示, hs-CRP 与糖尿病微血管病变的发生有关^[12]。本研究中, NC 组、NDR 组和 DR 组 hs-CRP 水平渐次升高(P<0.001), 且 PDR 组 hs-CRP 水平亦高于 BDR 组(P<0.001); 说明 DR 的发生可能与炎症反应过程相关, 且炎症反应强度与微血管损伤程度平行。

血浆 D-D、FIB、t-PA、vWF 以及血清 hs-CRP 是血管内皮损伤、微血栓形成及纤溶亢进的敏感标志物。本研究结果表

明, DR 患者上述指标均出现不同程度的改变, 提示 DR 患者凝血和纤溶功能出现不同程度的异常, 处于血栓前状态, 且随着病情的进展, 其高凝和纤溶亢进状态进一步加重。因此, 应对 2 型糖尿病患者进行血栓前状态标志物早期检测, 以便为 DR 的早期诊断及预后判断提供重要依据。

参考文献

- [1] 谢驰, 张兴兵, 方严. C-反应蛋白、糖化血红蛋白与 2 型糖尿病视网膜病变的关系[J]. 临床眼科杂志, 2011, 19(2): 130-132.
- [2] 邹海东, 张哲, 朱剑锋, 等. 上海市北新泾街道糖尿病患者视网膜病变的患病率调查[J]. 中华眼底病杂志, 2006, 22(1): 31.
- [3] 王淑娟. 关于选择血栓前状态实验室诊断指标的建议[J]. 中华医学检验杂志, 1998, 21(5): 305.
- [4] World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complication[M]. Geneva, Switzerland: WHO/NCS, 1999; 31-32.
- [5] 中华医学会眼科学分会眼底病学组. 糖尿病视网膜病变分期标准[J]. 眼底病, 1985, 1(1): 42.
- [6] 杜国有, 顾向明. 2 型糖尿病患者凝血四项指标变化的分析[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(12): 1151-1152.
- [7] Coban E, Sari R, Ozdogan M, et al. Levels of plasma fibrinogen and d-dimer in patients with impaired fasting glucose[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2005, 113(1): 35-37.
- [8] 王鸿利, 王学峰. D-二聚体检测的方法及其临床应用[J]. 中华医学杂志, 2004, 84(2): 171-173.
- [9] 罗郎楚, 王笑微, 郁忠勤. 糖尿病与血栓[M]//王鸿利, 王学峰. 血栓病临床新技术. 北京: 人民军医出版社, 2003: 402-409.
- [10] 韩昌洪, 陈瑶. 糖尿病视网膜病变临床因素的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(8): 750-755.
- [11] 许德英, 郜恒友, 江涛. 血浆 D-二聚体及纤维蛋白原与糖尿病视网膜病变关系的研究[J]. 中华眼底病杂志, 2011, 27(3): 278-279.
- [12] Tsunoda K, Arita M, Yukawa M, et al. Retinopathy and hypertension affect serum high sensitivity C-reactive protein levels in type 2 diabetic patients[J]. Diabetes Complications, 2005, 19(1): 123-127.

(收稿日期: 2011-10-08)

(上接第 690 页)

carcinoma[J]. Cancer, 2004, 100(2): 327-334.

[10] Sun ZR, Ji YH, Zhou WQ, et al. Characteristics of HPV prevalence among women in Liaoning province, China[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2010, 109(2): 105-109.

[11] 彭敏, 宋春林, 王夷黎, 等. 基因芯片技术检测宫颈病变中 HPV 感

染的临床研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(5): 583-584.

[12] 郭广洲, 姜萍, 张冰凌, 等. 深圳白领女性 HPV 感染调查及其亚型分布[J]. 中国热带医学, 2007, 7(10): 1775-1776.

(收稿日期: 2011-11-19)