

• 临床检验研究论著 •

宫颈 HPV 感染基因型分布比较研究*

李海¹, 耿建祥^{2△}, 张劲松², 王旭波², 兰建云², 张昶², 董云灿², 魏谨², 孟献威²

(1. 江苏省昆山市第一人民医院病理科, 江苏苏州 215300; 2. 南京中医药大学

第三附属医院病理科 HPV 协作组, 江苏南京 210001)

摘要:目的 比较苏州、南京两地女性宫颈上皮细胞人乳头瘤病毒(HPV)感染基因分布情况。方法 采用基因扩增结合基因芯片技术对 3 084 例宫颈上皮细胞标本进行 23 种 HPV 基因型别检测。结果 3 084 例女性宫颈上皮细胞标本, HPV 总阳性率为 21.37%(659/3 084), 苏州、南京地区 HPV 总阳性率分别为 35.32%(481/1 362)、10.34%(178/1 722), 一重感染阳性率分别为 24.08%(328/1 362)、8.89%(153/1 722), 多重感染阳性率分别为 11.23%(153/1 362)、1.45%(25/1 722), 两地 HPV 总阳性率及一重、多重感染阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 基因扩增结合基因芯片检测技术可应用于宫颈细胞标本 HPV 检测, 对女性宫颈 HPV 感染分子流行病学调查研究具有重要意义。

关键词: 宫颈疾病; 人乳头瘤病毒; 基因分型; 基因芯片技术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.19.008

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)19-2319-02

A comparative study of HPV infective genotypes distribution in cervical cells*

Li Hai¹, Geng Jianxiang^{2△}, Zhang Jinsong², Wang Xubo², Lan Jianyun²,

Zhang Chang², Dong Yuncan², Wei Jin², Meng Xianwei²

(1. Department of Pathology, the First People's Hospital of Kunshan City, Suzhou, Jiangsu 215300, China; 2. HPV

Collaboration of Department of Pathology, Third Affiliated Hospital of Nanjing Traditional Chinese Medical

University, Nanjing, Jiangsu 210001, China)

Abstract: Objective To compare the clinical distribution of human papillomavirus(HPV) genotypes between Suzhou and Nanjing. Methods Polymerase chain reaction and gene-chips technology were utilized for the detection of 23 kinds of HPV genotypes in epithelial cell specimens from 3 084 cases of women. And related materials of all subjects were analyzed. Results The total HPV positive rate was 21.37%(659/3 084) in all specimens. The total positive rates of HPV were 35.32%(481/1 362) and 10.34%(178/1 722) in Suzhou and Nanjing region respectively. The positive rates of single genotype infection were 24.08%(328/1 362) and 8.89%(153/1 722) and of multiple genotypes infection were 11.23%(153/1 362) and 1.45%(25/1 722). All of the positive rates mentioned above were significantly different between the two regions($P<0.05$). Conclusion Gene chip technology could detect HPV genotypes in cervical cell samples, which might be important meaning for the study of HPV genotypes distribution among women.

Key words: uterine; cervica disease; human papillomavirus; genotyping; gene chip technology

肿瘤普查在降低宫颈癌发病率和患者死亡率方面具有重大意义。人乳头瘤病毒(HPV)是诱发宫颈癌的重要病原体, 因此 HPV 检测是宫颈癌筛查的最重要内容^[1-6]。本研究采用基因扩增结合基因芯片技术, 对苏州和南京地区女性宫颈细胞标本进行 23 种 HPV 基因检测, 并对 HPV 感染流行度和基因型进行了对比分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 4~9 月于南京中医药大学第三附属医院妇产科就诊的 1 722 例女性, 年龄 23~56 岁, 平均 41.64 岁; 2011 年 6 月至 2012 年 3 月于昆山市第一人民医院妇产科就诊的 1 362 例女性, 年龄 18~75 岁, 平均 39.75 岁。

1.2 仪器与试剂 Gene Amp PCR System 2400 型聚合酶链反应(PCR)扩增仪(美国 ABI), FYY-3 型分子杂交仪(江苏省兴化市分析仪器厂); 5810R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf); BHC-1300 II A2 型生物安全柜(江苏省苏州市安泰空气技术有限公司)。HPV 基因分型检测试剂盒[亚能生物技术(深圳)有限公司]。

1.3 方法 采集所有就诊者宫颈上皮细胞标本, 提取细胞 DNA 后进行 PCR 扩增, 对 PCR 产物进行杂交、孵育, 显色后判断结果。以上各步骤均参照试剂盒说明书。

1.4 统计学处理 应用统计软件包 SPSS13.0 对相关数据进行统计学处理, 百分率的比较采用 χ^2 检验或确切概率法, 显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

对 3 084 例女性宫颈上皮细胞标本进行 23 种 HPV 基因分型检测, 检出 21 种 HPV 基因型别(未检出 44 型和 MM4 型), HPV 感染总阳性率 21.37%(659/3 084), 苏州及南京地区 HPV 感染总阳性率、一重感染阳性率及多重感染阳性率比较差异有统计学意义(χ^2 值分别为 282.41、133.42、133.79, $P<0.05$), 见表 1。苏州地区 HPV 一重感染前 11 位依次是 16 型 96 例, 58 型 40 例, 52 型 30 例, 43 型 28 例, 18 型 20 例, 31 型 17 例, 6 型 15 例, 11 型和 33 型 13 例, 35 型 11 例, 66 型 10 例; 南京地区 HPV 一重感染前 11 位依次是 43 型 27 例, 58 型 18 例, 16 型 13 例, 33 型和 52 型 11 例, 18 型 10 例, 59 型 9

* 基金项目: 南京市卫生局中医专项资助项目(2009-92)。△ 通讯作者, E-mail: dyc720@163.com。

例,42 型、53 型、66 型和 68 型均为 7 例。苏州地区二重感染 114 例、三重感染 29 例、四重感染 7 例、五重感染 2 例、八重感染 1 例;南京地区二重感染 21 例、三重感染为 4 例。

表 1 女性人群 HPV 检测阳性结果[n 或 n(%)]				
地区	n	总阳性	一重感染	多重感染
苏州组	1 362	481(35. 32)	328(24. 08)	153(11. 23)
南京组	1 722	178(10. 34)	153(8. 89)	25(1. 45)
合计	3 084	659(21. 37)	481(15. 60)	178(5. 77)

3 讨 论

宫颈癌是病因学明确的恶性肿瘤,HPV 感染是诱发宫颈癌及其癌前病变的主要因素。HPV 型别较多,具有明显异质性,其分布也存在种族和地域差异性^[1-5]。因此,了解不同地区 HPV 感染流行度及优势型别分布情况,尤其是进行多中心、大样本分子流行病学研究,对建立不同地区 HPV 感染流行度及优势型别基因库具有重要意义,也能为不同地区的比较提供重要的参考资料和数据。虽然 HPV 疫苗的研究和应用取得了一定的成绩,但是无论是二价疫苗(HPV16、18 型)还是四价疫苗(HPV6、11、16、18 型)都不可能预防目前所发现的近 200 种 HPV 亚型的感染^[7-8]。因此,早期发现、早期诊断仍是预防宫颈癌的主要措施。

以多中心、大样本研究明确不同地区自然女性人群、宫颈癌及宫颈癌前病变群体 HPV 感染基因谱及基因型分布规律,将为 HPV 疫苗的研发提供非常重要的参考资料,也能够为循证医学提供科学依据。由于 HPV 优势型别分布存在明显地域差异,因此国内在研发 HPV 疫苗时,既要充分考虑到全国范围内的 HPV 优势型别,更需针对不同地区的具体情况区别对待。

本研究显示:(1)除 HPV16、18 型外,苏州和南京两地需重视对 HPV33、43、52、56、58 型分布规律及流行度的监测。(2)苏州和南京两地自然女性人群宫颈上皮细胞中即有一重 HPV 感染,也有多重 HPV 感染,以一重感染为主,多重感染为辅。(3)苏州地区 HPV 一重感染前 6 位依次为 16、58、52、43、18、31 型,南京地区 HPV 一重感染前 6 位依次为 43、58、16、33、52、18 型,除 31、33 型外,苏州、南京两地其他型别均有检出,只是排序不同,两地都以 16、58 型为主(前 3 位),同也要关注 43、52、18、31、33。(4)自然女性人群 HPV 感染率高,持续性 HPV 感染率也会同步增高,导致宫颈癌和癌前病变发病率也随之增高。由于苏州地区 HPV 感染率高于南京地区,因此苏州地区宫颈癌和癌前病变发病率一定高于南京地区。据报道,HPV 一重感染可使宫颈癌发病风险增加 19.9 倍,多重感染可使发病风险增加 31.8 倍,而 HPV 多重感染病毒载量高于 HPV 一重感染,癌变相关风险更大,是诱发宫颈癌的重要危险因素,且致病力更强,病变发展更快,复发率更高^[7]。因此,应高度重视 HPV 多重感染者。(5)国内宫颈癌筛查起始年龄在经济发达地区为 25~30 岁,在经济欠发达地区为 35~40 岁;高危人群则需适当提前,且终止年龄大于 60 岁。本研究筛查对象年龄主要为 18~60 岁,符合经济发达地区及高危人群需适当提前的筛查原则。(6)苏州 HPV 总感染率、一重或多重 HPV 感染率均高于南京地区,也高于深圳地区^[9],提示苏州地区 HPV 感染在自然人群中流行度较高,而南京地区流行度较低,这可能和苏州地区外籍人口较多、开放度较高有关。(7)在进行 HPV 感染流行度和优势基因型多地比对时,

一定要采用相同的基因检测方法,否则有可能因方法敏感性、特异性及 HPV 检测基因谱不同而导致结果缺乏可比性。本研究采用相同方法对两地自然女性进行 HPV 基因性别检测,结果可靠,且具有可比性。(8)本研究从 3 084 例女性宫颈上皮细胞标本中检出了 21 种 HPV 基因型别,未检出 HPV44、MM4 型,说明 HPV44、MM4 型不是江苏、南京两地女性宫颈感染的常见型别,提示试剂生产厂家可取消 HPV44、MM4 型检测,扩大其他 HPV 型别检测,以满足宫颈癌癌前病变及宫颈癌筛查的需要。

目前,发达国家已通过宫颈细胞 HPV DNA 定性及定量检测、宫颈液基细胞学、阴道镜宫颈活组织检查,使宫颈癌发病率和患者死亡率都明显下降,而发展中国家在宫颈癌筛查方面还有所不足,导致发展中国家宫颈癌发病率有所上升^[9-14]。因此,加强和扩大宫颈癌筛查力度和范围是降低发展中国家宫颈癌发病率及死亡率上升的关键。

参考文献

[1] 耿建祥,王旭波. 人乳头瘤病毒检测及其临床应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:381-427.

[2] 刘万里,耿建祥,樊志敏,等. 肛管及结直肠恶性肿瘤中人乳头瘤病毒 16/18 型感染的基因分析[J]. 医学研究生学报,2011,24(10):1030-1034.

[3] 张金浩,耿建祥,吴崑崙,等. 结直肠肿瘤中 HPV 感染的基因分析[J]. 医学研究生学报,2011,24(2):391-393.

[4] 耿建祥,樊志敏,丁义江,等. 805 例肛门直肠常见病变中人乳头瘤病毒 16 型和 18 型感染率的分析[J]. 中华胃肠外科杂志,2011,14(12):958-960.

[5] 张金浩,耿建祥,樊志敏,等. 肛管及肛门区尖锐湿疣组织中人乳头瘤病毒基因类型的研究[J]. 医学研究生学报,2011,24(11):1129-1132.

[6] 郎景和. 妇科癌瘤临床诊治的挑战与对策[J]. 中国癌症防治杂志,2012,4(1):1-4.

[7] McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses[J]. Virus Res, 2009,143(2):195-208.

[8] 李海,邓志勇,张阳,等. 人乳头瘤病毒在阴茎鳞癌组织中的表达及意义[J]. 现代实用医学,2010,22(9):391-393.

[9] 靳琼,沈铿,李辉,等. 西藏自治区妇女子宫颈癌人乳头瘤病毒感染现状调查及相关因素分析[J]. 中华妇产科杂志,2009,44(12):898-902.

[10] Dai M, Ban YP, Li N, et al. Human Papillomavirus infection in Shanxi Province, People's Republic of China; a population-based study[J]. Br J Cancer, 2006,95(1):96-101.

[11] Lin H, Ma YY, Moh JS, et al. High prevalence of genital human papillomavirus type 52 and 58 infection in women attending gynecologic practitioners in South Taiwan[J]. Gynecol Oncol, 2006, 101(1):40-45.

[12] Giuliano AR, Tortolero-Luna G, Ferrer E, et al. Epidemiology of human papillomavirus infection in men, cancers other than cervical and benign conditionns[J]. Vaccine, 2008,26(1):17-28.

[13] 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(9):1635-1640.

[14] Jiang P, Liu J, Zeng X, et al. Association of TP53 codon 72 polymorphism with cervical cancer risk in Chinese women[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2010,197(2):174-178.