

• 临床检验研究论著 •

南京及深圳两地女性宫颈 HPV 感染基因谱的比较研究*

朱岩¹, 张晓甦², 耿建祥^{2△}, 于红娟², 王宏景², 柏敏², 张劲松², 龙秀荣², 赵雪²
 (1. 南方医科大学深圳妇幼保健院/深圳市妇幼保健院检验科, 广东深圳 518028;
 2. 南京中医药大学第三附属医院病理科/江苏省 HPV 协助组, 江苏南京 210001)

摘要:目的 比较南京及深圳两地女性宫颈细胞中 23 种人乳头瘤病毒(HPV)感染的基因型分布情况及其感染的差异性。方法 宫颈细胞标本取自南京市扬子石化集团公司的 3 678 例及深圳市妇幼保健院体检的 2 915 例女性, 采用基因扩增结合基因芯片技术对 6 593 例宫颈细胞标本进行 23 种 HPV 基因型别的检测, 并对其结果进行分析。结果 6 593 例宫颈细胞标本中共检出 HPV 感染者共 1 002 例, HPV 总感染率为 15.20%(1 002/6 593), 南京地区总的 HPV 感染率为 10.79%(397/3 678), 深圳地区总的 HPV 感染率为 20.76%(605/2 915); HPV 一重感染率南京地区为 9.11%(335/3 678), 深圳地区为 15.09%(440/2 915); HPV 多重感染率南京地区为 1.69%(62/3 678), 深圳地区为 5.66%(165/2 915)。结论 深圳地区 HPV 总的、一重和多重感染率都明显高于南京地区。

关键词:宫颈; 人乳头瘤病毒; 基因谱; 基因分型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)12-1511-03

A comparative research on gene spectrum of cervical cells in women infected with HPV in Nanjing and Shenzhen regions*

Zhu Yan¹, Zhang Xiaosu², Geng Jianxiang^{2△}, Yu Hongjuan²,

Wang Hongjing², Bo Min², Zhang Jinsong², Long Xiuron², Zhao Xue²

(1. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Maternal & Child Health Hospital Affiliated to Southern Medical University, Shenzhen, Guangdong 518028, China; 2. Department of Pathology, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine/HPV Assistance Group of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210001, China)

Abstract: Objective To compare the differences of genotype distribution and infection of 23 kinds of human papillomavirus (HPV) in women cervical cells in Nanjing and Shenzhen regions. **Methods** Cervical cell samples were obtained from 3 678 women worked in Nanjing Yangzi Petrochemical Corporation and 2 915 women who had undertaken physical examination in Shenzhen Women & Child Health Hospital. Genetic amplification combined with gene chips technology was employed to detect genotypes in 23 kinds of HPV in 6 593 samples of cervical cells. **Results** 1 002 in 6 593 samples of cervical cells were detected to be infected with HPV with overall infection rate of 15.20%(1 002/6 593). The overall HPV infection rate in Nanjing was 10.79%(397/3 678) and 20.76%(605/2 915) in Shenzhen. The single HPV infection rate in Nanjing was 9.11%(335/3 678) and 15.09%(440/2 915) in Shenzhen. The multiple HPV infection rate was 1.69%(62/3 678) and 5.66%(165/2 915) in Shenzhen. **Conclusion** The overall, single and multiple HPV infection rates in Shenzhen are all markedly higher than those in Nanjing.

Key words: cervical; human papillomavirus; genetic profile; genotyping

宫颈癌是威胁全世界妇女健康的重大问题,居全球女性恶性肿瘤发病率的第 2 位,也是发展中国家女性最常见的妇科恶性肿瘤。早期宫颈癌一般没有明显的临床症状,任何有性行为的女性都有患宫颈癌的风险。现已证实,人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌的主要致病因素。世界卫生组织新近提出 HPV 感染性疾病的诊断不仅要有临床和病理学诊断,还应具有基因水平的诊断才能确诊^[1-5]。本文采用基因扩增结合基因芯片检测技术对 6 593 例宫颈细胞进行 23 种 HPV 基因型别的检测,并对南京及深圳两地女性宫颈细胞中 HPV 感染的基因谱分布情况及其差异性进行比较。以便为宫颈癌的防治、高危人群的筛查、HPV 疫苗的研发以及分子流行病学的研究提供数据资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 1 月至 2011 年 12 月深圳市妇幼保健院体检中心的 2 915 例女性的宫颈上皮细胞标本,年龄 20~70 岁,平均 37.03 岁,其中年龄 20~29 岁 757 例、30~34 岁 507 例、35~39 岁 543 例、40~44 岁 473 例、45~49 岁 313

例、50~59 岁 280 例、60~70 岁 42 例。收集 2011 年 4~12 月南京地区扬子石化集团的 3 678 例女性职工的宫颈细胞标本,年龄 23~59 岁,平均 41.76 岁,其中年龄 20~29 岁 58 例、30~34 岁 313 例、35~39 岁 736 例、40~44 岁 1 357 例、45~49 岁 1 047 例、50~59 岁 167 例。两地受检者均无宫颈手术史,细胞学检查无异常。由 2 位经验丰富的技术人员按照说明书规范操作。

1.2 仪器与试剂 基因扩增仪为新加坡生产的 Gene Amp PCR system2400 型;分子杂交仪为江苏省兴化市分析仪器厂生产的 FYY-3 型;高速冷冻离心机为德国生产的 Eppendorf 5810R 型;生物安全柜为江苏省苏州市安泰空气技术有限公司生产的 BHC-1300 II A2 型;青岛海尔有限公司生产的 -20℃ 冰箱等。HPV 基因分型检测试剂盒(亚能生物技术(深圳)有限公司)。显色液须新鲜配制,使用时所需浓度加蒸馏水配制。

1.3 方法 采集所有体检者宫颈上皮细胞标本,提取宫颈细胞 DNA 后进行 PCR 扩增,对 PCR 产物进行杂交、孵育、显色、显色后判断结果。以上各操作步骤参照试剂盒说明书。

* 基金项目:江苏省南京市卫生局中医专项资助项目(2009-92)。

作者简介:朱岩,男,副主任技师,主要从事医学分子生物学研究。△

通讯作者, E-mail: dyc720@163.com。

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

2.1 两地 HPV 总感染率、一重及多重感染率 6 593 例女性宫颈细胞标本中共检出 HPV 感染者 1 002 例,HPV 总感染率为 15.20%(1 002/6 593);南京地区总的 HPV 感染率为 10.79%(397/3 678),一重感染率为 9.11%(335/3 678),多重感染率为 1.69%(62/3 678);深圳地区总的 HPV 感染率为 20.76%(605/2 915),一重感染率为 15.09%(440/2 915),多重感染率为 5.66%(165/2 915),两地比较深圳地区 HPV 总的、一重及多重感染率都明显高于南京地区($P<0.05$)。两地自然女性人群中 HPV 总的、一重及多重感染率的比较见表 1~2。

2.2 两地 HPV 一重及多重感染前 5 位检出率及各多重感染的人数 一重感染中南京地区前 5 位的基因型分别为 43 型 80 例、16 型 35 例、58 型 33 例、33 型 23 例、18 型 21 例;深圳地区前 5 位的基因型分别为 52 型 66 例、43 型 56 例、58 型 48 例、16 型 42 例、56 型 28 例。多重感染中南京地区前 5 位的分别为 43 型 24 例、16 型 16 例、18 型 12 例、33 型 12 例、58 型 12 例;深圳地区前 5 位的分别为 43 型 50 例、16 型 47 例、58 型 40 例、52 型 38 例、18 型 23 例和 56 型 23 例(对多重感染者,各型别的阳性例数重复计算)。HPV 多重感染者中南京地区 62 例(其中二重感染 48 例、三重感染 13 例、四重感染 1 例),深圳地区 165 例(其中二重感染 116 例、三重感染 31 例、四重感染 12 例、五重感染 2 例、六重感染 2 例、七重感染 2 例)。

表 1 6 593 例南京及深圳地区自然女性人群中 HPV 总感染率的比较

地区	n	HPV 阳性(n)	HPV 阴性(n)	阳性率(%)
南京	3 678	397	3 281	10.79
深圳	2 915	605	2 310	20.76

表 2 6 593 例南京及深圳地区自然女性人群中 HPV 一重及多重感染率的比较

地区	n	HPV 多重感染(n)	HPV 一重感染(n)	多重感染率(%)
南京	3 678	62	335	1.69
深圳	2 915	165	440	5.66

3 讨 论

HPV 属乳头瘤病毒科,是一类特异感染人类上皮、黏膜的微小共价双链环状 DNA 病毒。它们以闭合超螺旋结构、开放的环状结构、线性分子结构 3 种形式存在。现已发现 HPV 有 200 多个型别、亚型及变异体,至今已鉴定出一百多种^[1-5]。人类是 HPV 的唯一宿主^[1]。分子流行病学调查显示,高危型 HPV 导致宫颈癌的概率约为 1.00%,而低危型 HPV 导致宫颈癌的概率仅为 0.10%^[6]。目前,发现致癌高危型 HPV 20 多种及低危型数种,其中 18 种高危型和 4 种低危型比较常见,约占 98%左右^[1]。本研究选择了 23 种常见致癌致瘤型的 HPV 作为研究的感染源,采用高通量的分型检测技术对南京地区 3 678 例及深圳地区 2 915 例女性的宫颈细胞标本进行了 23 种 HPV 基因分型的对比研究。

本研究报告的南京地区总的 HPV 感染率为 10.79%(397/3 678),一重感染率为 9.11%(335/3 678),多重感染率为 1.69%(62/3 678);深圳地区总的 HPV 感染率为 20.76%

(605/2 915),一重感染率为 15.09%(440/2 915),多重感染率为 5.66%(165/2 915)。两地比较深圳地区自然女性人群中无论 HPV 总的感染率,还是一重及多重感染率都明显高于南京地区。值得进一步去研究宫颈癌发生发展过程中 HPV 感染谱的变化规律及其不同地区的差异性。

研究表明,在宫颈细胞学诊断正常的人群中,亚洲地区的 HPV 优势型别依次为 16、18 和 33 型等,而南美洲为 HPV16、58 和 18 型等。从世界范围来看,HPV 感染的主要型别为 16、18 型,其感染率约占 60%以上,但其他重要型别,如 HPV52、58、56、33 型等存在着较大的地域性差异,并呈不断上升的趋势^[6-11]。从南京地区一重和多重 HPV 前 5 位感染型别对比中,可以看出型别没有发生变化,只是一重感染第 3 位的 58 型,降至多重感染的第 5 位,一重感染第 5 位的 18 型,升至多重感染的第 3 位。深圳地区一重和多重 HPV 前 5 位感染型别对比,型别略有变化,一重感染未出现的 18 型,出现在多重感染的第 5 位,其型别排列顺序也发生了较大的变化,一重感染第 1 位的 52 型,降至多重感染的第 4 位,一重感染第 2 位的 43 型,升至多重感染的第 1 位,一重感染第 4 位的 16 型,升至多重感染的第 2 位。两地都是以 16、18、43、52、56、58 型为优势型别,从一重和多重排序来看,南京地区 18 和 58 型发生了换位,而深圳地区 16、18、43、52 型都发生了换位。可见中国南京和深圳两地 HPV 感染优势型别即有亚洲也有南美洲地区的特点。

本研究报道的南京和深圳两地区 HPV 一重和多重感染中,低危 43 型检出率较高(排序第 1 或第 2 位),从深圳和南京两地区前 5 位 HPV 一重和多重感染率来看,深圳地区出现了 16、18、43、52、56、和 58 型,而南京地区出现了 16、18、33、43、58 型感染。所不同是深圳地区出现了 52 型和 56 型,而南京地区出现了 33 型,由此可见,HPV52、58、56、33 型等感染存在着较大的地域性差异。从两地 HPV 一重和多重感染基因流行谱来看,两地都出现了其他研究未曾报道过的 HPV43 型一重和多重感染现象,HPV43 型一重和多重感染在南京地区都排名第 1 位,而在深圳地区排名一重感染的第 1 位,多重感染的第 2 位,提示 HPV43 型感染在南京和深圳两地都呈高感染状态,值得我们去探索和研究。首先要继续比较 HPV43 型感染在其他地区自然人群大样本中的感染情况,其次要在两地宫颈癌及癌前病变中发现其感染率及致病作用。由于尖锐湿疣发病率在中国的南方比北方高,其传染性很强,这说明 HPV 喜欢在温暖、潮湿的环境和气候中生长、繁殖和传播^[5]。中国南方的深圳市地处南北交界的南京市气候温暖、潮湿,社会的开放度高,以致深圳地区女性自然人群中 HPV 总的、一重和多重感染率都比南京地区高得多,两地比较有显著差异。这说明 HPV 在女性自然人群中的感染率南方比北方高。

由于 HPV 各型别之间无交叉免疫保护作用,HPV 的重叠感染的多重化将呈现不断上升的趋势,目前,HPV 的重叠感染仍以二重和三重感染为主。HPV 多重感染率南京地区为 1.69%(62/3 678),深圳地区为 5.66%(165/2915),两地比较差异显著。深圳地区检出了南京地区没有出现的五重、六重和七重感染,提示深圳地区多重感染比南京地区,不但数量多,而且出现组合型别的多样化,多重感染的比例增加比南京地区高。据报道,HPV 一重感染可使宫颈癌的发病风险增加 19.9 倍,HPV 多重感染可使宫颈癌的发病风险增加 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,是宫颈癌发生非常重要的一个危险因素,且致病力更强,病变发展更快,复发率更高^[5-8,11]。多重感染的出现可能提示

女性机体清除病毒能力降低,多重感染者更容易发展成为持续性感染,从而导致病情的进展。对高危型 HPV 感染,预示着该患者预后可能较差,其病变有进一步恶变的可能。提示体检及妇科医生应加强对 HPV 多重感染女性及病人的随访跟踪和监控的力度。HPV 一重和多重感染的比例一般约为 3 : 1,重叠感染有多重化的趋势^[6-8]。本文报道的南京地区 HPV 一重和多重感染的比例约为 5.4 : 1,比一般的 3 : 1 要高得多,而深圳地区 HPV 一重和多重感染的比例约为 2.7 : 1,比较接近 3 : 1。

由于男性可成为 HPV 的携带者,并可将 HPV 传染给女性性伴,从这个意义上讲,宫颈癌也是一种性传播性疾病。随着人们对 HPV 致癌、致瘤机制日益深入的研究将有助于多价 HPV 疫苗的成功开发和应用,此类疫苗具有广阔的应用前景,并可逐渐减少宫颈癌及其他癌症对人类健康的威胁,而宫颈癌很可能会成为人类第一个可进行有效预防的恶性肿瘤,这将造福于广大女性^[1,11-15]。

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,吴崑崑,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 例肛管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] 魏谨,耿建祥,朴正爱,等. 已婚女性宫颈细胞中人乳头瘤病毒感染的基因分型研究[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(23):5202-5205.
 [7] 董云灿,耿建祥,张劲松,等. 1 722 例已婚女性宫颈细胞中人乳头瘤病毒基因的分型[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(7):817-820.
 [8] 严粉琴,耿建祥,肖蔚,等. 已婚女性宫颈上皮细胞中人乳头瘤病毒基因分型 2 000 例分析[J]. 实用妇产科杂志,2012,28(5):390-393.
 [9] 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.
 [10] 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 Oncel,2006,101(1):40-45.
 [11] 任晓惠,耿建祥,李海,等. 某市 2 109 例女性宫颈细胞中 HPV 基因型别的研究[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(13):1424-1426.
 [12] 李海,耿建祥,张劲松,等. 宫颈 HPV 感染基因型分布的比较研究[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(19):2319-2320.
 [13] Giuliano AR, Tortolero-Luna G, Ferrer E, et al. Epidemiology of human papillomavirus infection in men, cancers other than cervical and benign conditions[J]. Vaccine,2008,26(1):17-28.
 [14] 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.
 [15] 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.

(收稿日期:2013-01-12)

(上接第 1510 页)

[6] 张健,纪龙,徐瑞亮,等. 自身免疫性肝病自身抗体谱的检测及临床应用[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(2):113-115.
 [7] 刘妍,闫惠平,张欣,等. 原发性胆汁性肝硬化患者抗 GP210 抗体的检测及其临床意义[J]. 中国医学创新,2011,8(16):68.
 [8] 肖红霞. 自身抗体联合检测在自身免疫性肝病诊断中的临床意义[J]. 山西职工医学院学报,2011,21(4):27-28.
 [9] 卢建溪,钱师宇. 自身抗体分析在慢性胆汁淤积性肝病鉴别诊断中的价值[J]. 中国热带医学,2011,11(11):1303-1304.
 [10] Hu C, Deng C, Song G, et al. Prevalence of autoimmune liver disease related autoantibodies in Chinese patients with primary biliary cirrhosis[J]. Dig Dis Sci,2011,56(11):3357-3363.
 [11] 卢建溪,钱师宇,王强,等. 自身抗体谱在原发性胆汁性肝硬化诊断中的作用[J]. 中国热带医学,2010,10(11):1310-1312.
 [12] 胡朝军,杨国香,李晔,等. 原发性胆汁性肝硬化患者血清自身免疫性肝病相关自身抗体谱的检测及临床意义[J]. 中华检验医学杂志,2010,33(2):115-120.
 [13] 马琼麟,曾维,黄静,等. 自身抗体检测在自身免疫性肝炎诊断的临床评价[J]. 中国现代医生,2010,48(2):87-88.
 [14] 张洋,李永哲,冯雪,等. 原发性胆汁性肝硬化自身抗体谱的检测及临床应用[J]. 中华检验医学杂志,2009,32(7):760-763.
 [15] 殷明刚,李咏冰,张肃川,等. 20 例自身免疫性肝病患者实验室检测结果分析[J]. 四川省卫生管理干部学院学报,2008,27(1):18-19.
 [16] 高丽霞,张奉春,刘斌. 人工合成 GP210 多肽抗原在原发性胆汁

性肝硬化中的应用[J]. 中华风湿病学杂志,2008,12(10):677-679.
 [17] 徐东,张奉春,刘炜. 原发性胆汁性肝硬化与抗 GP210 抗 sp100 抗体相关性的研究[J]. 中华风湿病学杂志,2008,12(8):540-542.
 [18] Gao L, Tian X, Liu B, et al. The value of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis[J]. Clin Exp Med,2008,8(1):9-15.
 [19] 孙庆国,李永哲,刘镭,等. 核包膜蛋白 GP210 自身抗原基因的克隆、表达、纯化及其临床应用[J]. 中国实验诊断学,2007,11(10):1343-1346.
 [20] 周晔,蒋天舒,陈燕,等. 自身抗原 GP210 融合蛋白的重组表达及其临床应用研究[J]. 中国实验诊断学,2007,11(6):739-742.
 [21] 谭爱国,高明,刘爱华. 原发性胆汁性肝硬化患者血清中抗 GP210 抗体检测的临床意义[J]. 中国医师杂志,2006,8(12):1692-1693.
 [22] 李永哲,刘镭,孙庆国,等. 核包膜蛋白 GP210、p62 和 LBR 自身抗原基因克隆表达及其抗体诊断原发性胆汁性肝硬化的价值初探[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(11):1120-1125.
 [23] Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines[J]. Hepatology,2000,31(4):1005-1013.
 [24] European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines;management of cholestatic liver diseases[J]. J Hepatol,2009,51(2):237-267.

(收稿日期:2012-11-08)