

• 临床检验研究论著 •

宫颈组织病变与检测 HPV 基因分型的意义

张达衡, 陈红玲, 杨春媚, 陈瑞林

(广东省茂名市人民医院检验科 525000)

摘要:目的 了解宫颈病变患者人乳头瘤病毒 HPV 感染率及基因型分布情况。探讨人乳头瘤病毒基因分型与宫颈组织病变的相关性,为临床宫颈癌的筛查、防治提供参考。方法 收集在本院诊治 2 000 例疑似宫颈病变女性,应用基因芯片技术检测 23 种 HPV 基因型,统计 HPV 各基因型的感染率,分析 HPV 及基因型分布与子宫病变的关系。结果 2 000 例宫颈疑似宫颈病变女性中,基因芯片检测出的 HPV 阳性标本 662 例,HPV 感染率为 33.1%(662/2 000)。354 例宫颈不同程度病变组织中 HPV 阳性 295 例,其中 LSIL,HSIL 及宫颈癌样本中 HPV 的检出率分别为 76.6%(157/205)、91.9%(125/136)、100%(13/13)。共检出 12 种 HPV 基因型,检出率最高的 5 种基因型分别为 HPV16,18,58,31,52。宫颈病变级别越高,HPV 多重感染率越高。结论 HPV 亚型感染与宫颈组织不同程度病变密切相关,HPV 基因分型检测及诊断在宫颈病变及宫颈癌筛查及防治过程中具有重要意义。

关键词:宫颈疾病; 乳头状瘤病毒科; 基因型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.13.014

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)13-1664-02

The significance of HPV genotyping in cervical lesions

Zhang Daheng, Chen Hongling, Yang Chunmei, Chen Ruilin

(Department of Clinical Laboratory, Maoming Municipal Peoples' Hospital of Guangdong Province, Maoming, Guangdong 525000, China)

Abstract: Objective To investigate the infection rate of human papillomavirus (HPV) and distribution of HPV genotypes in cervical lesions, and discuss the correlation between HPV genotypes and cervical lesions to provide a reference for cervical cancer screening, prevention and treatment. **Methods** 2 000 cases of women with suspected cervical lesions were detected by 23 cases of HPV genotyping based on gene chip technology, and infection rates of HPV genotypes and the correlation between HPV genotypes and cervical lesions were analyzed. **Results** 662 cases were HPV positive in 2 000 cases of women with suspected cervical lesions, with the HPV infection rate of 33.1%(662/2 000), and 295 cases were HPV positive in 354 cases of women with cervical lesions. For LSIL, HSIL and cervical cancer, HPV detection rates were 76.6%(157/205), 91.9%(125/136), 100%(13/13), respectively. 12 kinds of HPV genotypes were detected, and the top five genotypes of the highest detection rate were HPV16, 18, 58, 31, 52. The higher the level of cervical lesions, HPV multiple infection was higher. **Conclusion** HPV infection and cervical lesions is closely related, HPV genotyping is important in the cervical cancer screening and prevention.

Key words: uterine cervical diseases; papillomaviridae; genotype

人乳头瘤病毒(HPV)是一种无包膜的小 DNA 病毒,研究表明 HPV 病毒感染与女性宫颈病变有密切的关系。有研究报道在宫颈癌患者中有 99.7% 可检测出 HPV-DNA^[1]。HPV 病毒感染是宫颈癌发生的必要条件^[2]。HPV 依照核酸序列不同可以分为不同亚型,现在已知有 100 多种基因型,其中致癌的基因型有 20 余种。根据其致癌性分为高危型和低危型两大类。在此我们采用 PCR-膜芯片技术和特定设计的 18 种高危型和 5 种低危型分型探针,通过杂交及显色方法对来我院就诊的 2 000 例妇科疑似宫颈病变患者进行检测,以评价宫颈组织病变与 HPV 基因分型检测的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从 2011 年 1 月至 2012 年 12 月来茂名市人民医院诊疗患者及健康体检者中随机筛选出 2 000 例宫颈可疑病变女性作为研究对象。年龄 18~67 岁,平均(35.0±10.0)岁,均有性生活史 1 年以上,宫颈糜烂,宫颈接触性出血,无生殖道急性炎症,无宫颈锥切和子宫切除术。

1.2 方法

1.2.1 HPV-DNA 分型检测 先用扩阴器暴露宫颈,用无菌

棉签轻轻拭净宫颈表面分泌物,再用亚能公司专用宫颈脱落细胞采集器伸入颈管内 0.5 cm,单向旋转 4 圈,收集宫颈脱落细胞,将颈管刷置于细胞保存液中保存,送检。采用亚能生物技术(深圳)有限公司提供的试剂盒进行 HPV 分型检测,能同时检测 23 种基因型,包括 18 种高危亚型:HPV16,18,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,68,73,MM4,83;5 种低危亚型:HPV6,11,42,43,44。实验步骤:(1)分泌物中细胞的 DNA 提取;(2)聚合酶链反应(PCR)扩增;(3)杂交;(4)洗膜;(5)显色及结果观察。

1.2.2 阴道镜检查及镜下多点活检或颈管搔刮送病理科进行病理分析。病理分析结果包括:宫颈正常或炎症、低度鳞状上皮细胞病变(LSIL)、高度鳞状上皮细胞病变(HSIL)、宫颈癌。

1.2.3 统计学处理 采用卡方检验进行统计分析,应用 SPSS17.0 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 宫颈病理检查结果 2 000 例宫颈疑似宫颈病变女性中,基因芯片检测出的 HPV 阳性标本 662 例,HPV 感染率为 33.1%(662/2 000)。经组织病理学确诊 354 例为不同程度宫

颈病变,病变率达 17.7%(354/2 000)。1 646 例宫颈正常或炎症中,367 例检出 HPV 阳性,检出率为 22.2%。354 例不同程度病变患者中 295 例检出 HPV 阳性,检出率达 83.3%,其中 LSIL 样本 HPV 检出率为 76.6%(157/205);HSIL 样本,HPV 检出率为 91.9%(125/136);宫颈癌样本 HPV 检出率为 100%(13/13)。

2.2 HPV 感染基因型与宫颈病理病变的关系 354 例不同程度病变宫颈组织中共检出 12 种 HPV 基因型,分别为 HPV16、18、52、58、68、33、31、45、66、31、6、11。其中 HPV16 型检出率最高,在 LSIL、HSIL 和宫颈癌样本中的检出率分别为:23.7%、57%、75%。采用卡方趋势检验,各组间差异显著,有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.3 HPV 多重感染与宫颈病理关系 157 例 LSIL 中 HPV 单型感染,多重感染率分别为 51.4%,48.6%。125 例 HSIL

中 HPV 单型感染,多重感染率分别为 39.7%、60.3%。13 例宫颈癌中 HPV 单型感染,多重感染率分别为 38.5%、61.5%。宫颈病变级别越高,HPV 多重感染率越高,见表 2。

表 1 HPV 各基因型在宫颈病变组织中的分布

基因型	<i>n</i>	检出率(%)
HPV16	155	43.8
HPV18	56	15.8
HPV58	52	14.7
HPV31	29	8.2
HPV52	29	8.2
其他亚型	33	9.3

表 2 不同病变多重 HPV 感染率

病变级别	<i>n</i>	单型感染率(%)	多重感染率(%)	二重感染率(%)	三重感染率(%)	四重感染率(%)	五重感染率(%)
LSIL	157	51.4	48.6	28.1	17.1	2.7	0.7
HSIL	125	39.7	60.3	37.5	18.4	4.4	1.5
宫颈癌	13	38.5	61.5	38.5	15.4	7.6	0.0

3 讨 论

近年来,国内外的研究提示 HPV 不同亚型对宫颈上皮细胞的致病力不同,存在较大的差异。LSIL、HSIL 病变时与浸润性宫颈癌密切相关的癌前病变,其发病 5 年内,约 40%逆转为正常,10%进展为原位癌,通常从发现高度病变到发展成浸润癌是一个由量变到质变持续发展的过程,大约需要 10 年的时间^[3]。研究资料表明,99.7%宫颈癌患者存在 HPV 感染,HPV 感染是宫颈癌发生的首要因素且为始动因素^[4]。在各种宫颈病变及癌组织中,>90%亚型为 HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV56、HPV58、HPV59 和 HPV68 型,因此,高度重视 HPV 的筛查和基因分析研究,做好高危型 HPV 感染妇女的追踪观察,对宫颈癌的早期发现、早期诊断和早期治疗具有重要的价值^[5]。

本实验研究结果显示,HPV 感染率为 33.1%,与国内吴意等^[6]的报导 34.54%。较一致,而与国外 Munoz^[7]报导的 57.4%有一定差距,这可能与筛选的方法和对象不同及不同种族和地区存在明显差异。实验研究发现,HPV 基因亚型感染与宫颈病变关系密切,随着宫颈病变级别的增加 HPV 感染的阳性率随之升高,正常或炎症组、LSIL 组、HSIL 组 HPV 感染者分别占 22.2%、76.6%、91.9%,HISL 组明显高于其他两组,差异显著($P<0.001$);另外与感染的亚型有关,感染率最高为 HPV16 型占 43.8%,其次为 HPV18 型占 15.8%,其余分别为 HPV58 型占 14.7%、HPV31 型占 8.29%、HPV52 型占 8.29%。在病变宫颈组织中新检出的 HPV 亚型均为高危型,高危性 HPV 的高检出率进一步证实了高危型 HPV 是宫颈组织细胞恶变的重要诱因,其观点与国内外学者一致。

HPV 的多重感染是否是增加或促成宫颈癌变的发生、发展的因素目前无统一说法。从本研究表 2 的结果来看,宫颈癌

变的 HPV 感染存在多重感染,且随着宫颈病变的级别增加,多重感染率亦会随之增加。证明多重 HPV 感染可能促进宫颈癌的发生。

HPV 高危亚型感染尤其是 HPV16 型、HPV18 型的感染是宫颈病变的主要因子。因此,在宫颈病变组织中进行 HPV 基因分型检测对宫颈癌的癌前病变及早期发现宫颈癌有着重要的意义,如果能早期在癌前病变阶段被确诊并进行治疗和监测,可降低宫颈癌的发生率和死亡率。因此进行 HPV 基因分型检测是诊断及监测和预防宫颈癌的有效途径。

参考文献

[1] Valdespio VM,Valdespion VE. Carvical cancer screening state of the art[J]. CurrOpinObstet Genecol,2006,18(1):35-40.

[2] ScheurerME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthzk. Human papillomavirus infection:biology,epidemiology,and prevention[J]. Int J Gynecol cancer,2005,15(5):727-746.

[3] 李建,薄莉,门新华. 人乳头瘤病毒及行为危险因素与子宫颈癌的关系[J]. 中国性科学,2005,14(6):12-13.

[4] Bosch FX,Lorincz A,Munoz N,et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer[J]. J ClinPathol,2002,55(4):244-264.

[5] 邱惠萍,姚水洪,徐卫东. 女性人乳头瘤病毒感染与子宫颈病变的关系研究[J]. 中国性科学,2009,19(1):835-838.

[6] 吴意,吴正林,周晓梅. HVP 基因分型与宫颈组织病变的相关性[J]. 中国妇幼保健学,2009,24:3021-3025.

[7] Munoz N,Bosch FX,Castellsague X,et al. Againstwhich human-papillomavirus tapes shall we vaccinate and screen ? The international perspective[J]. int J caner,2004,111:278.