

• 临床检验研究论著 •

宫颈病变中人乳头瘤病毒感染特征分析

肖虹¹, 郑绘霞¹, 武丽娜¹, 郭雪桃², 李 宁¹, 梁 钢¹, 白 涛¹, 张松瑞¹, 赵杨璐³, 梁建芳^{1△}
(1. 山西医科大学第一医院病理科, 太原 030001; 2. 山西医科大学第一医院妇科, 太原 030001;
3. 上海交通大学新华临床医学院临床医学专业, 上海 200092)

摘要:目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)在妇女宫颈病变中的型别分布特征及感染特点。方法 收集 2009~2011 年 1 213 例宫颈病变活检组织标本(CIN I 317 例, CIN II 233 例, CIN III 208 例, 宫颈鳞状细胞癌 198 例, 慢性宫颈炎 257 例), 采用 PCR-反向点杂交法进行 HPV DNA 分型检测。结果 HPV 在女性宫颈病变中的平均感染率为 69.74%, 随着病变严重程度的增加 HPV 感染率亦增加, 二者呈正相关($P<0.05$)。各组病变中以 HPV16 的感染率最高, 其次为 HPV58、18、33、11。CIN I 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、11; CIN II 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、33; CIN III 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、18; SCC 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、18、58; 宫颈炎组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、33。每组病变都存在单纯感染和复合感染, 复合感染随着病变严重程度的增加而减少。结论 HPV 的感染率及型别分布在不同病变的宫颈组织中均有一定的差异, 致癌性肯定的 HPV 亚型中感染率较高的为 HPV16、18 和 58。

关键词: 乳头状瘤病毒感染; 宫颈疾病; 聚合酶链反应

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.009

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)14-1796-02

Analysis the prevalence and type distribution of human papillomavirus in cervical lesions

Xiao Hong¹, Zheng Huixia¹, Wu Lina¹, Guo Xuetao², Li Ning¹, Liang Gang¹,
Bai Tao¹, Zhang Songrui¹, Zhao Yanglu³, Liang Jianfang^{1△}

(1. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;

2. Department of Gynecology, the First Affiliated Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;

3. Shanghai Jiaotong University School of Xinhua Clinical Medicine, Shanghai 200092, China)

Abstract: Objective To explore the prevalence and subtype distribution of human papillomavirus(HPV) in cervical lesions.

Methods From 2009 to 2011, 1213 specimens, included 257 cases of chronic cervicitis, 758 cases of CIN, and 198 cases of cervical squamous cell carcinoma(SCC), were collected for this study. PCR-reverse dot blot was adopted for HPV-DNA testing. **Results** The positive rate of HPV was 69.74% and was increased along with the severity of cervical lesions in all cases. The HPV 16 was the most common subtype, followed by HPV58, 18, 33, 11. The top three HPV subtype were HPV16, 58, 11 in CIN I group, were HPV16, 58, 33 in CIN II group, were HPV16, 58, 18 in CIN III group, were HPV16, 18, 58 in SCC group and were HPV16, 58, 33 in chronic cervicitis group. Single and composite infection were in all groups. The rate of composite infection was negatively correlated with the degree of cervical lesions. **Conclusion** HPV infection rate and distribution vary in various lesions of cervical tissue. HPV 16, 18 and 58 were the most common types in carcinogenic HPV genotypes.

Key words: papillomavirus infections; uterine cervical diseases; polymerase chain reaction

近年来, 宫颈癌的防治日益得到全球的重视。由于明确人乳头瘤病毒(human papilloma virus HPV)感染是导致子宫癌发生的主要因素^[1], 针对宫颈 HPV 的检测也已广泛开展。HPV 有 100 余种亚型, 能引起宫颈癌的亚型称为高危型。但对于高危型 HPV 的认定当今医学界一直处于不断地修订当中^[2]。正确解读 HPV 分型检测结果对预测宫颈病变的发展和指导临床治疗都十分重要。本研究检测了确诊的宫颈病变中 HPV 感染亚型, 分析了 HPV 在宫颈病变中的型别分布特征及感染特点, 以期对高危型 HPV 的认定及临床宫颈病变诊治提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2009 年 1 月至 2011 年 12 月, 山西医科大学第一临床医学院病理科宫颈活检标本 1 213 例(本研究遵循的程序符合本院人体试验委员会所制定的伦理学标准, 得到该委员会批准, 取得受试对象的知情同意, 并与受试患者签署临床研究知情同意书)。其中, CIN I 级 317 例(CIN I 组), CIN II 级 233 例(CIN II 组), CIN III 级 208 例(CIN III 组), 宫

颈鳞状细胞癌 198 例(SCC 组), 慢性宫颈炎 257 例(宫颈炎组)。患者年龄 21~79 岁, 平均 41.35 岁; 所有患者均无子宫切除术、宫颈手术史; 当前未妊娠、无宫颈病变治疗史。

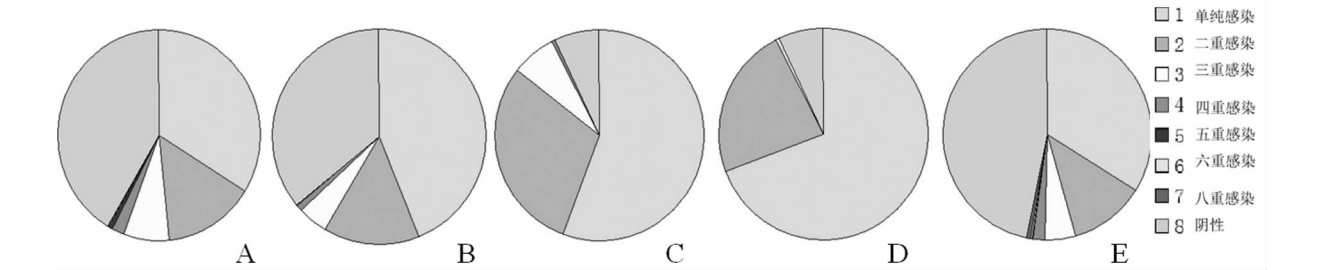
1.2 研究方法 本研究采用 PCR-反向点杂交法检测 18 种高危型(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 83, MM4)和 5 种低危型(6, 11, 42, 43, 44) HPV 感染。HPV-DNA 检测试剂盒为亚能生物技术(深圳)有限公司生产。检测原理: 采用 PCR 体外扩增和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术, 利用 HPV 基因特点设计特异引物, 扩增出 23 种 HPV 亚型, 再将扩增产物与固定在膜条上的 23 种分型探针进行杂交, 判断是否有这些亚型的 HPV 感染。取 5 μ m 的石蜡切片 5~10 片, 加入 100 μ L 裂解液悬浮沉淀, 其余具体步骤及结果判定按说明书进行。

1.3 统计学处理 全部统计学分析均采用 SPSS 17.0 软件进行, Spearman 等级相关系数用于分析 HPV 感染率与病变严重程度的相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

HPV 在女性宫颈病变中的平均感染率为 69.74% (846/1 213)。各实验组均有不同比例的 HPV 感染, 宫颈炎组 52.92%, CIN I 组 58.36%, CIN II 组 63.95%, CIN III 组 92.31%, SCC 组 92.93%。其中宫颈炎组中 HPV 感染率最低, SCC 组中 HPV 感染率最高, HPV 感染率随着病变严重程度的增加而增加, 二者呈正相关 ($r=0.397, P=0.000$)。各组病变中 HPV 感染的情况见表 1。此次在各组病变中检测了 23 种 HPV 亚型, 以 HPV16 的感染率最高, 其次为 HPV58、18、33、11; HPV39、73、78 的检出率较, 均低不足 5 例; HPV44 只检测到 1 例; 未检出 HPVMM4 亚型的感染。各组病变中 HPV 感染亚型不尽相同。CIN I 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、11; CIN II 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、33; CIN III 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、18; SCC 组中感染最

多的前 3 位为 HPV16、18、58; 宫颈炎组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、33。每组病变都存在单纯感染和复合感染: 单纯感染中 CIN I 组 107 例, CIN II 组 102 例, CIN III 组 127 例, SCC 组 137 例, 宫颈炎组 87 例; 复合感染中, 2 重感染 CIN I 组 46 例, CIN II 组 34 例, CIN III 组 48 例, SCC 组 46 例, 宫颈炎组 30 例; 3 重感染 CIN I 组 23 例, CIN II 组 10 例, CIN III 组 16 例, SCC 组 1 例, 宫颈炎组 12 例; 4 重感染 CIN I 组 6 例, CIN II 组 3 例, CIN III 组 1 例, SCC 组 0 例, 宫颈炎组 5 例。CIN I 组和宫颈炎组中存在较为复杂的复合感染。检测到: CIN I 组, 6 重感染 1 例, 5 重感染 2 例; 宫颈炎组, 6 重感染、8 重感染各 1 例。复合感染随着病变严重程度的增加而减少。每组病变 HPV 感染情况比例见图 1。



A: CIN I 组, 单纯感染 33.75%, 二重感染 14.51%, 三重感染 7.26%, 四重感染 1.89%, 五重感染 0.63%, 六重感染 0.32%, 八重感染 0%, 阴性 41.64%。B: CIN II 组, 单纯感染 43.78%, 二重感染 14.59%, 三重感染 4.29%, 四重感染 1.29%, 五、八重感染 0%, 阴性 36.05%。C: CIN III 组, 单纯感染 61.06%, 二重感染 33.08%, 三重感染 7.69%, 四重感染 0.48%, 五、八重感染 0%, 阴性 7.69%。D: 宫颈鳞组, 单纯感染 69.18%, 二重感染 23.24%, 三、八重感染 0%, 阴性%。E: 宫颈炎组, 单纯感染 33.85%, 二重感染 11.67%, 三重感染 4.67%, 四重感染 1.95%, 五重感染 0%, 六重感染 0.39%, 八重感染 0.39%, 阴性 47.08%。

图 1 各组病变中 HPV 感染情况比例

HPV 分型	组别					合计 (n)
	CIN I组	CIN II组	CIN III组	SCC 组	宫颈炎组	
6	16	13	18	13	12	72
11	22	14	18	14	16	84
42	5	3	0	4	0	12
43	8	3	4	0	3	18
44	0	0	1	0	0	1
16	82	63	126	103	38	412
18	13	15	18	28	16	90
31	12	11	15	13	3	54
33	15	16	17	19	18	85
35	6	4	8	2	8	28
39	1	0	0	0	1	2
45	1	3	0	3	1	8
51	6	5	9	2	7	29
52	10	15	17	6	7	55
53	10	5	6	0	7	28
56	18	7	5	0	9	39
58	27	19	21	19	23	109
59	12	5	2	0	7	26
66	8	7	1	0	9	25
68	7	1	1	0	2	11
73	1	1	1	0	1	4
83	1	2	0	0	1	4
MM4	0	0	0	0	0	0
合计(n)	281	212	288	226	198	1 196

3 讨 论

宫颈癌是妇女最为严重的疾病之一, 其发病率位居女性恶性肿瘤第 2 位。宫颈癌 5 年生存率约 69%^[3], 我国每年约有 5 万女性死于宫颈癌。由于宫颈癌有一个较长的、可逆转的癌前病变期, 因此对宫颈病变进行早期筛查是发现和预防宫颈癌的重要手段。研究发现, 99.7% 的宫颈癌与 HPV 感染有关, 而不同 HPV 亚型的致病性也有一定差异, HPV 分型检测可有助于致癌性 HPV 亚型研究, 为高危型 HPV 的认定提供可靠的实验依据。

目前宫颈癌的筛查多通过细胞学进行, 本研究利用确诊的宫颈病变组织进行 HPV 分析检测, 希望能更客观、准确地显示 HPV 感染与宫颈病变之间的关系。本研究显示, HPV 在女性宫颈病变中的平均感染率为 69.74%, 其中 HPV16 的感染率最高, 与全球感染特点相同。其次为 HPV58, 符合亚洲感染特点。HPV 感染率与疾病程度正相关, CIN III 和 SCC 组 HPV 感染率超过 90%。不同病变中 HPV 感染亚型不同, 最近第 100 届 IARC (the International Agency for Research on Cancer) 专题会议定义了较为肯定的 HPV 致癌的亚型为 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58 及 59^[4]。此次在 SCC 组中除检测到感染率较高的 HPV16、18、58, 还检测到 HPV6、11、42、31、33、35、45、51 和 52, 进一步肯定了这几种 HPV 亚型的致癌性; 而 IARC 专题会议中提到的 HPV39、56 及 59 在此次研究中未发现, 可能这 3 种 HPV 亚型的检出率受样本量及(或)地域等因素的影响, 其致癌性需进一步在今后的工作中证实。HPV53、66、73、83 和 MM4 (下转第 1800 页)

铜绿假单胞菌中,对两种或两种以上抗菌药物耐药的多重耐药菌株 2010 年 14 株,2011 年 19 株,2012 年 16 株,甚至有少数菌株表现为全耐药。临床应引起高度重视,对确定或疑似多重耐药菌感染或定植的患者,在标准预防的基础上,施行有效的接触隔离,制止耐药菌随宿主的转移在院内的传播。另有研究发现治疗铜绿假单胞菌感染时,多利培南和美洛培南较亚胺培南具有更好的抗菌活性^[11];有报道称利用噬菌体治疗铜绿假单胞菌所产生的细菌性生物膜也有一定的疗效^[12],上述研究仍有待进一步临床观测证实。

本研究显示本院 ICU 中 2010~2012 年铜绿假单胞菌感染呈逐年增多趋势,并表现为对多种抗菌素具有一定的耐药率,建议加强院内感染控制的预防,ICU 在加强针对性治疗的同时须正确鉴别定植菌和致病菌,及时隔离患者,做好病区的消毒隔离措施,根据体外药敏结果合理使用抗菌素,并进一步完善细菌的耐药性监测,从而有效控制铜绿假单胞菌在院内的传播,遏制或延缓耐药菌株出现。

参考文献

[1] Maraki S,Mavros MN,Kofteridis DP,et al. Epidemiology and antimicrobial sensitivities of 536 multi-drug-resistant gram-negative bacilli isolated from patients treated on surgical wards[J]. Surg Infect(Larchmt),2012,13(5):326-331.

[2] 庄俊华,黄宪章,杨洁,等. 广州地区耐亚胺培南铜绿假单胞菌的感染现状及耐药性检测[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(2):111-112.

[3] 沈黎,严晓敏,李春红,等. 1998~2007 年医院感染铜绿假单胞菌

及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(4):570-572.

[4] 辛续丽,杨朵,王松雪,等. 铜绿假单胞菌院内感染分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(1):99-101.

[5] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2011 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2012,12(5):321-329.

[6] 杨慧,向平超,郭伟安,等. RICU 多重耐药菌的耐药及危险因素分析[J]. 中国呼吸与危重病监护杂志,2011,9(1):19-22.

[7] Medell M,Hart M,Marrero O,et al. Clinical and microbiological characterization of pneumonia in mechanically ventilated patients[J]. Braz J Infect Dis,2012,16(5):442-447.

[8] 文细毛,任南,吴安华,等. 864 例次耐亚胺培南铜绿假单胞菌医院感染特征分析[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(16):2416-2418.

[9] 朱雪明,周惠琴,金辉,等. ICU 分离铜绿假单胞菌耐药特征及菌株聚类分析研究[J]. 中华医院感染学杂志,2008,18(2):157-159.

[10] Ferrara AM. Potentially multidrug-resistant non-fermentative Gram-negative pathogens causing nosocomial pneumonia[J]. Int J Antimicrob Agents,2006,27(3):183-195.

[11] Kiratisin P,Keel RA,Nicolau DP. Pharmacodynamic profiling of doripenem,imipenem and meropenem against prevalent Gram-negative organisms in the Asia-Pacific region[J]. Int J Antimicrob Agents,2013,41(1):47-51.

[12] Yilmaz C,Colak M,Yilmaz BC,et al. Bacteriophage Therapy in Implant-Related Infections: An Experimental Study[J]. J Bone Joint Surg Am,2013,95(2):117-125.

(收稿日期:2012-11-08)

(上接第 1797 页)

一直被划分为高危型 HPV 亚型,认为其与宫颈癌的发病关系密切,此次研究中却除 SCC 组外的各组中均有检出,可能说明其致癌性的不确定。上述 HPV53 等这几种被定义为高危型 HPV 亚型,因有其致癌潜能的报道^[5],故仍有定义为高危型 HPV 的理由,但要进一步确定这几种 HPV 亚型的致癌性需进行不同种族及地域的大样本研究。HPV6,11,42,43,44 被定义为低危亚型,此次 SCC 组未检出低危亚型单独感染的病例,提示低危亚型需与致癌亚型联合作用才能最终导致宫颈癌的形成。而高危型 HPV 却可以单独或联合导致宫颈癌,SCC 组的复合感染以 2 重感染为主,不似 CIN I 或宫颈炎组的复合感染类型复杂,提示随着疾病严重程度的增加复合感染率却减少。

宫颈炎及 CIN 各组中感染率居前 3 位的几乎都是高危型 HPV,宫颈炎组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、33;CIN I 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、11;CIN II 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、33;CIN III 组中感染最多的前 3 位为 HPV16、58、18。CIN I 组和宫颈炎组中又存在较为复杂的复合感染,但由于多数 HPV 感染者 8~10 月后会自愈,仅 10%~15%会持续感染,发展为浸润性宫颈癌的只有 1%~2%^[6],此时应按照宫颈癌筛查指南^[7]进行定期复查,并综合年龄、机体免疫等宫颈癌危险因素综合考虑。

本研究对确诊的宫颈病变组织,利用 PCR-反向点杂交法检测 23 种 HPV 亚型,较为客观、准确地分析了 HPV 在宫颈病变中的型别分布特征及感染特点,并着重讨论了 SCC 中 HPV 感染的亚型,对正确判定致癌性的 HPV 亚型,提示高风险患病人群,进行病变预测及预后判断,以及研制针对性疫苗

的都有着积极意义。

参考文献

[1] Shastri SS,Dinshaw K,Amin G,et al. Concurrent evaluation of visual,cytological and HPV testing as screening methods for the early detection of cervical neoplasia in Mumbai,India[J]. Bull World Health Organ,2005,83:186-194.

[2] Castle PE. The evolving definition of carcinogenic human papillomavirus[J]. Infect Agent Cancer,2009,11(4):7.

[3] Siegel R,Naishadham D,Jemal A. Cancer statistics,2012[J]. CA Cancer J Clin,2012,62:10-29.

[4] Bouvard V,Baan R,Straif K,et al. A review of human carcinogens-Part B:biological agents[J]. Lancet Oncol,2009,10(2):321-322.

[5] Arbyn M,Kyrgiou M,Simoens C,et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta — analysis[J]. BMJ,2008,18(337):a1284.

[6] Cervical Pathology,and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer[J]. CA Cancer J Clin,2012,62(3):147-172.

[7] Saslow D,Solomon D,Lawson HW,et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer[J]. CA Cancer J Clin,2012,62(3):147-172.

(收稿日期:2012-12-23)