

• 论 著 •

深圳市女性医务人员 HPV 感染现状及 HPV 基因分型的研究

刘秀卿, 李卓成[△], 李延武

(广东省深圳市第二人民医院检验科, 广东深圳 518035)

摘要:目的 了解健康女性医务人员 HPV 感染的阳性率与各年龄段的关系及各亚型的分布情况以及自然清除率, 为该人群宫颈癌的早期防治及流行病学研究提供理论依据。方法 采用 PCR 扩增-反向点杂交法检测 23 种 HPV 基因型, 包括 18 种高危型和 5 种低危型 HPV, 分析受检者 HPV 感染率和基因型分布情况, 对比各年龄段的感染率并对比 1 年后 HPV 复查情况计算自然清除率。结果 1 366 例标本中阳性 176 例, 阳性率为 12.88%, 21~<30 岁与 60 岁及以上的感染率出现两个弱高峰; 检测出 22 种 HPV 基因型, HPV83 型未被检出, 高危型主要以 HPV52、53、16 为主, 低危型以 HPV81、42 较为常见; 1 年后 HPV 的自然清除率为 32.95%。结论 对健康人群进行 HPV 基因分型筛查能较好地指导宫颈癌的早期防治, 同时要加强对青年和中老年女性医务人员的 HPV 感染防控。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因分型; 反向点杂交-基因芯片; 自然清除率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.09.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)09-1207-03

Investigation of HPV infection and HPV genotyping of female medical staffs in Shenzhen

Liu Xiuqing, Li Zhuocheng[△], Li Yanwu

(Department of Clinical Laboratory, The Second People's Hospital of ShenZhen, Guangdong 518035, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between the positive rate of female healthy medical staffs HPV infection and all ages and the distribution of each subtype and the rate of nature clearance, in order to provide the basis for the prevention and control of cervical cancer and epidemiological study. **Methods** The dot blot hybridization reverse-gene chip was used to detect 23 kinds of HPV genotype, including 18 types of high risk and 5 types of low risk HPV, to calculate the positive rate of HPV infection and the subtypes distribution. All ages positive rate of HPV were compared and analyzed, meanwhile, the positive cases in contrast with recheck results after one year to evaluate the nature clearance. **Results** 176 in 1 366 cases were positive. The total positive rate of HPV infection was 12.88%. The HPV infection peak ages were ≥ 60 years and $21 < 30$ years. 22 genotypes of HPV were detected. The HPV83 had not been detected. The more common high-risk genotype and low-risk genotypes were HPV52, HPV53, HPV16 and HPV81, HPV42, respectively. The nature clearance rate of HPV was 32.95% after one year. **Conclusion** The screening of HPV genotypes for healthy person is meaningful in early prevention of cervical cancer and epidemiological studies of HPV, and we should pay more attention in the prevention of HPV for young and elderly female medical staffs.

Key words: human papilloma virus; gene subtypes; dot blot hybridization reverse-gene chip; nature clearance

人乳头瘤病毒(HPV)是一种强嗜上皮的 DNA 病毒, 具有严格的组织特异性和宿主范围, 人是 HPV 的唯一自然宿主。现阶段发现的 HPV 有 100 多种亚型, 其中有 33% 与生殖道感染有关, HPV 感染是引起宫颈癌发生、发展的主要危险因素, 宫颈癌患者中 99.7% 均检出伴有高危型 HPV 感染^[1-3]。根据 HPV 对宫颈致癌性可分为高危型和低危型, 因此分型检测具有重要意义。了解健康女性医务人员的 HPV 的感染现状, 回顾分析了 1 366 例本院职工体检结果, 本研究旨在累积 HPV 感染的流行病学数据, 探讨其自然清除率, 为健康人群 HPV 疫苗的研发及宫颈癌的防治提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2013 年 1 月至 2013 年 3 月本院女性职工体检 1 366 例, 年龄 21~80 岁, 以年龄段为分组依据。入选对象 TCT 检查宫颈均未出现病理改变, 未进行医学干预。

1.2 仪器与试剂 HPV 基因分型检测试剂购于深圳亚能生物技术有限公司, 配有试剂盒 I 和试剂盒 II, 试剂盒 I 主要为 PCR 反应液, 试剂盒 II 为 HPV 杂交膜条、裂解液、POD 母液、30% H₂O₂ 以及 TMB 等。PCR 仪为珠海黑马的 HeMa9600, 杂交仪为亚能全自动杂交仪 YN-H18。

1.3 方法

1.3.1 标本采集与保存 在月经期过 5 d 后, 48 h 内不使用阴道内药物或冲洗, 24 h 内禁止性生活。由妇科医生采用专用宫颈刷深入体检者宫颈口内 2~3 cm, 顺时针旋转 2~3 圈, 置于保存液中并于 -20℃ 保存, 3 d 内检测, 避免反复冻溶。

1.3.2 HPV 分型检测方法 采用 PCR 扩增-反向点杂交法检测 23 种 HPV 基因型, 包括 18 种高危型 HPV (包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、83) 和 5 种低危型 HPV (包括 HPV6、11、42、43、81)。

1.3.3 检测过程 包括: (1) 核酸的提取; (2) PCR 扩增; (3) 反向点杂交, 将包被有型特异性探针的杂交膜放入亚能全自动核酸杂交仪中, 通过反向点杂交检测扩增变性产物, 采用酶标显色; (4) 检测结果阳性点呈现蓝色圆点, 有两种或两种以上 HPV 亚型阳性者为 HPV 多重感染, 整张膜条无阳性点且 IC 点未出者判试验无效。

1.3.4 HPV 阳性者一年后按同样的方法复查 HPV 结果。

1.4 统计学处理 应用 SPSS19.0 统计软件处理数据。计数资料以率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 的感染率 1 366 例标本中阳性 176 例,阳性率为 12.88%,检测出 22 种 HPV 基因型,HPV83 型未被检出。高危型主要以 HPV52、53、16、58、56 为主,低危型以 HPV81、42 较为常见。具体基因型感染情况见表 1。

表 1 1 366 例标本中 HPV 各基因型的感染率		
基因型	感染例数(n)	感染率(%)
HPV16	19	1.39
HPV18	9	0.66
HPV31	3	0.22
HPV33	5	0.37
HPV35	5	0.37
HPV39	8	0.59
HPV45	1	0.07
HPV51	10	0.73
HPV52	38	2.78
HPV53	25	1.83
HPV56	11	0.81
HPV58	13	0.95
HPV59	6	0.44
HPV66	4	0.29
HPV68	9	0.66
HPV73	1	0.07
HPV82	2	0.15
HPV6	2	0.15
HPV11	1	0.07
HPV42	16	1.17
HPV43	9	0.66
HPV81	24	1.76

2.2 HPV 感染类型 主要以单一感染为主,176 例感染者中单一感染 148 例,占 84.09%,多重感染中最多见的是二重感染,最多混合为四重感染,但多重感染中至少有一型是高危型,结果见表 2。

表 2 单一与多重感染比例表		
感染类型	检出的例数(n)	百分比(%)
单一感染	148	84.09
二重感染	23	13.07
二重以上感染	5	2.84

2.3 不同年龄组 HPV 感染情况 从表 3 可见,60 岁以上的感染率最高,为 17.31%,其次是 21~<30 岁的体检者,为 16.52%。各年龄组的 HPV 阳性检出率用 χ^2 检验, $\chi^2=3.941$, 差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 3 各年龄组 HPV 感染情况			
年龄组段(岁)	检测数(n)	阳性数(n)	感染率(%)
21~<30	115	19	16.52
30~<40	539	64	11.87
40~<50	368	44	11.96
50~<60	240	31	12.92
≥60	104	18	17.31

2.4 自然清除率 从表 4 可见一年后高危型感染者有 45 例转阴,低危型感染者有 13 例转阴,总共有 58 例转阴,其总自然清除率为 32.95%(58/176),而多重感染者无一例全部转阴,故不单独计算其清除率。其中 HPV52 型感染者的清除率为 10.53%,而 HPV53 型感染者的清除率为 40.00%,采用 χ^2 检

验, $\chi^2=7.58$, 差异有统计学意义($P<0.05$),见表 5。

表 4 高危亚型组与低危亚型组的自然清除率			
检测项目	阳性例数 (n)	一年后转阴例数 (n)	自然清除率 (%)
HPV 高危亚型组	115	45	39.13
HPV 低危亚型组	33	13	39.39

表 5 HPV52 型与 HPV53 型的自然清除率			
检测项目	阳性例数 (n)	一年后转阴例数 (n)	自然清除率 (%)
HPV52	38	4	10.53
HPV53	25	10	40.00

3 讨 论

HPV 感染是一种性传播疾病,与性行为因素有关。HPV 的感染率很高,在性活跃人群中可达到 80%,当人体不能通过自身免疫调节清除病毒时,在多种因素的影响下将引起皮肤的多种乳头状瘤或疣及生殖道上皮增生性损伤,而治疗 HPV 感染只能治症状,并无特效药可直接清除 HPV,故保护健康人群才是根本。

3.1 健康医务人员是理想的研究对象 作为医务人员对 HPV 的认知要比其他工作者更深刻,因此会更加注意个人卫生,减少行为因素的影响,但医务人员常年需要上夜班,睡眠不足抵抗力下降更容易感染 HPV,所以研究健康医务人员的 HPV 感染率更具代表性,更能体现健康人群自身因素的易感性,可以更好地针对健康人群疫苗的研发提供参考依据。

3.2 HPV 的感染情况 本研究显示,深圳地区女性医务工作者 HPV 感染率为 12.88%(176/1366),与严粉琴等^[4]报道的 HPV 感染率比较一致。实验结果显示健康人群感染主要以单一型感染为主,高危型以 HPV 52、53、16、58、56 较为常见,低危型以 HPV81、HPV42 较为常见,多重感染以二重感染为主^[5-9]。HPV16 感染率低于世界其他研究结果,这可能与选择健康人群有关,而 HPV52 和 HPV58 感染率相对较高,与国内其他地区先前的报道相一致^[10-13],也符合亚洲人群研究结果。其中 HPV53 检出率较高与检测方法有关,临床上常用的实时荧光 PCR 法和 HC2-HPVDNA 检测法均不包含 HPV53 型,存在一定的漏检率,故检测机构选择试剂时可参考本地区的 HPV 感染基因型情况,提高检出率,真正起到筛查作用。

3.3 HPV 感染的年龄分布特点 本实验分析显示不同年龄组 HPV 感染率无统计学差异,这可能与所选人群有关,但 21~<30 岁和 60 岁及以上的年龄组 HPV 感染率还是比别的年龄组略高^[14-17]。年轻女性 HPV 感染阳性率高可能与生活习惯有关,作息不规律,保护意识较弱,未婚先有性生活,家庭尚未稳定,性伴侣不固定;而老年妇女可能是由于处于绝经期,激素水平紊乱、降低、保护性乳酸杆菌的减少及阴道 PH 值变化等而使得机体免疫功能衰退,HPV 易感性增加及清除 HPV 的能力降低^[18-20]。

3.4 HPV 感染的自然清除率 持续性高危型 HPV 感染是引起宫颈癌的主要因素,而 90%的 HPV 感染者通过自身免疫调节清除,只引起一过性的感染,但因个人宫颈微环境的好坏和自身免疫能力强弱的不同,清除病毒的时间长短也有明显差异。本实验中 HPV 感染者一年后的自然清除率为 32.95%,

而两年后其自然清除率能否达到 90% 还有待证实。HPV 自然清除率还与其基因型致病性强弱有关, 根据实验数据显示 HPV52 型的自然清除率 10.53% 要比 HPV53 型的 40.00% 低很多, 在相同条件下 HPV52 型的致病性强于 HPV53 型, 故有些报道将 HPV53 归于中间型甚至低危型^[21]。

3.5 HPV 感染的预防 近年来宫颈癌发病呈增长、年轻化趋势, 发病史缩短, 这与 HPV 感染率上升有一定的关系, 所以宫颈癌的防治关键在于 HPV 感染的预防。HPV 基因分型检测有利于 HPV 疫苗的研发生产, 不同的区域不同的人群 HPV 基因型的感染率有明显差异, 就如深圳地区 HPV52 型的感染率居首位, 而现有上市的疫苗只针对 HPV16、18 型, 并不能起到有效的预防作用, 故应根据各地区的流行病学数据生产有针对性的疫苗。除了加强全民对 HPV 的认知度和提高自身免疫力之外, 国家还可免费强制性实施预防针的接种, 因为 HPV 感染主要通过性传播途径, 在初次性生活之前接种预防性 HPV 疫苗可有效降低女性 HPV 感染率^[22-23]。HPV 疫苗的接种并非只针对女性, 加强男性的接种力度才是重中之重, 切断传播途径后女性濒临 HPV 危险的人数将大幅降低。

综上所述, 加强健康人群 HPV 基因分型的普查力度有利于宫颈癌的早期防治和流行病学的研究, 使宫颈癌的发病率降低, 为疫苗的研发和选择提供可靠的依据。

参考文献

- [1] Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer [J]. J Clin Pathol, 2002, 55(4): 244-265.
- [2] 李金明. 实时荧光 PCR 技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2007: 240-255.
- [3] Szarewski A. Cervarix®: a bivalent vaccine against HPV types 16 and 18, with cross-protection against other high-risk HPV types [J]. Expert Rev Vaccines, 2012, 11(6): 645-657.
- [4] 严粉琴, 耿建祥, 肖微, 等. 已婚女性宫颈上皮细胞中人乳头瘤病毒基因分型 2000 例分析[J]. 实用妇产科杂志, 2012, 28(5): 390-393.
- [5] 刘永林, 张丽, 陈益民, 等. 浙江地区 1088 例妇科就诊患者 HPV 感染状况调查[J]. 中华临床感染病杂志, 2011, 4(2): 106-108.
- [6] 汪欣, 赵素萍, 魏建威. 福州地区 935 例妇女 HPV 感染情况的分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2011, 3(1): 33-35.
- [7] 宿瑞俊, 杜瑞军. 内蒙古自治区中西部地区妇女宫颈人乳头瘤病毒感染现状调查及分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2011, 3(3): 173-176.
- [8] 张满娥, 黄文蓉, 张洪彬. 1456 例女性 HPV 基因分型结果的回顾

分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2013, 5(1): 32-35.

- [9] Dai M, Bao 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] Li Y, Wang Y, Jia C, et al. Detection of human papillomavirus genotypes with liquid bead microarray in cervical lesions of northern Chinese patients[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2008, 182(1): 12-17.
- [11] Bao YP, Li N, Smith JS, et al. Human papillomavirus type-distribution in the cervix of Chinese women: a meta-analysis[J]. Int J STD AIDS, 2008, 19(2): 106-111.
- [12] Chan PK, Li WH, Chan MY, et al. High prevalence of human papillomavirus type 58 in Chinese women with cervical Cancer and precancerous lesions[J]. J Med Virol, 1999, 59(2): 232-238.
- [13] 龙华泉, 陈世豪, 张伟坚. TCT 和 HR-HPV-DNA 检测在宫颈癌筛查中的价值[J]. 海南医学, 2012, 23(24): 100-102.
- [14] 贺望娇. 不同年龄段的女性感染人乳头瘤病毒情况分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(4): 449-450.
- [15] 陈国斌, 王月云, 李晴, 等. 不同年龄组妇女 HPV 感染流行病学研究[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(14): 2155-2157.
- [16] 李肖甫, 李雁青, 智艳芳, 等. 高危型人乳头瘤病毒感染相关危险因素分析[J]. 现代预防医学, 2012, 39(7): 1655-1657.
- [17] 何建方, 钱福初, 王翔, 等. 人乳头状瘤病毒 23 种基因型的分子流行病学调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(3): 428-431.
- [18] 兰旭青, 白海峰. 女性 HPV 感染与年龄相关性分析[J]. 放射免疫学杂志, 2013, 26(1): 108-109.
- [19] 靳琼, 沈铿, 李辉, 等. 西藏自治区妇女宫颈人乳头状瘤病毒感染现状调查及相关因素分析[J]. 中华妇产科学杂志, 2009, 44(12): 898-902.
- [20] Clarke MA, Rodriguez AC, Gage JC, et al. A large, population-based study of age-related associations between vaginal pH and human papillomavirus infection[J]. BMC Infect Dis, 2012, 12(2): 33.
- [21] 魏葆珺, 李学祥, 齐军. 13452 例 HPV 亚型感染检测结果分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2013, 20(3): 169-171.
- [22] Joura EA, Garland SM, Paavonen J, et al. Effect of the human papillomavirus (HPV) quadrivalent vaccine in a subgroup of women with cervical and vulvar disease: retrospective pooled analysis of trial data[J]. BMJ, 2012, 344(3): 1401.
- [23] 邵淑娟, 岳天孚, 张丽琴. 女性 HPV 感染情况及对 HPV 和 HPV 疫苗的认知[J]. 天津医科大学学报, 2013, 19(2): 127-130.

(收稿日期: 2015-02-02)

(上接第 1206 页)

- Zhi, 2009, 17(3): 221-222.
- [5] 李晨, 邢少军, 段学章, 等. 乙型肝炎肝硬化患者外周血调节性 T 细胞频率及血清 IL-1 β , IL-6 和 IL-10 水平的变化[J]. 实用肝脏病杂志, 2012, 15(3): 244-246.
- [6] Erhardt A, Biburger M, Papadopoulos T, et al. IL-10, regulatory T cells, and Kupffer cells mediate tolerance in concanavalin A-induced liver injury in mice[J]. Hepatology, 2007, 45(2): 475-485.
- [7] Musil R, Schwarz MJ, Riedel M, et al. Elevated macrophage migration inhibitory factor and decreased transforming growth factor-beta levels in major depression—no influence of celecoxib treatment[J]. J Affect Disord, 2011, 134(1/3): 217-225.
- [8] Terrazas CA, Huitron E, Vazquez A, et al. MIF synergizes with

Trypanosoma cruzi antigens to promote efficient dendritic cell maturation and IL-12 production via p38 MAPK[J]. Int J Biol Sci, 2011, 7(9): 1298-1310.

- [9] Tanahashi T, Osada S, Yamada A, et al. Extracellular signal-regulated kinase and Akt activation play a critical role in the process of hepatocyte growth factor-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. Int J Oncol, 2013, 42(2): 556-564.
- [10] Chen H, Zhang D, Wang S, et al. Significance of correlation between interferon- γ and soluble intercellular adhesion molecule-1 and interleukin-17 in hepatitis B virus-related cirrhosis[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2013, 37(6): 608-613.

(收稿日期: 2015-01-06)