

• 论 著 •

## 889 例基于 PCR 反向点杂交技术的 HPV 检测回顾性分析

马永岚, 李永强<sup>#</sup>, 王 颖<sup>△</sup>

(中国人民解放军第四五七医院检验科, 武汉 430012)

**摘要:**目的 分析该院妇产科及泌尿外科就诊的患者 HPV 感染者比例, HPV 高危及低危各亚型的分布及各年龄组高危型 HPV 优势亚型的分布特点, 了解该地区 HPV 感染情况, 为该地区宫颈癌的预防和针对该地区的疫苗研制提供参考依据。方法 采用 PCR 反向点杂交技术检测 2014—2015 年来该院就诊的 889 例女性患者宫颈脱落细胞, 共检测 26 种 HPV 亚型, 其中高危型 17 种, 低危型 9 种。结果 889 例细胞样本中, 检出 HPV 阳性者 168 例, 阳性率为 18.9%, 以单一感染为主, 高危亚型检测出 142 例, 占总阳性例数的 84.5%。共检出了 24 种 HPV 亚型, 仅高危亚型 HPV45 及低危亚型 HPV57 未检出。检出率排名前三的 HPV 高危亚型分别为 HPV52、HPV16、HPV58, 中青年妇女以 HPV16 和 HPV52 为优势感染亚型, >60 岁的妇女主要感染 HPV58。结论 可据此针对不同年龄研发和采用不同亚型疫苗, 防治宫颈癌, 提高本地区女性健康水平。

**关键词:**人乳头瘤病毒; 高危亚型; 宫颈癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.09.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)09-1206-03

## Retrospective analysis on 889 cases of HPV detection based on PCR reverse spot hybrid technology

MA Yonglan, LI Yongqiang<sup>#</sup>, WANG Ying<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, 457 Hospital of PLA, Wuhan, Hubei 430012, China)

**Abstract:** Objective To analyze the proportion of HPV infection among the patients in the gynecology and obstetrics department and urology surgery department of our hospital, distribution of HPV high risk and low risk subtypes and distribution characteristics of high risk HPV predominant subtypes in various age groups, and to understand the HPV infection situation in this area to provide reference for the prevention of cervical cancer and vaccine development aiming at this area. Methods The cervical exfoliated cells in 889 female patients in our hospital during 2014—2015 were detected by PCR reverse spot hybrid technology, 26 HPV subtypes were detected, including 17 high-risk subtypes and 9 low-risk subtypes. Results Among 889 cells samples, 168 cases of HPV positive were detected with the positive rate of 18.9%, which was dominated by single infection, 148 cases of high-risk subtypes were detected, accounting for 84.5% of the total number of positive cases. 24 kinds of HPV subtypes were detected. High risk subtype HPV45 and low risk subtype HPV57 were not detected. The top HPV high-risk subtypes in the detection rates were HPV52, HPV16 and HPV58, in young and middle-age women, HPV16 and HPV52 were predominant infection subtype, accounting for 84.5% of total positive cases. Women >60 years old were mainly infected by HPV58. Conclusion Different subtypes of vaccine can be developed and adopted according to these study results and by aiming at different ages for preventing and treating cervical cancer and increasing the female health level.

**Key words:** HPV; high-risk subtypes; cervical cancer

高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)的持续感染是导致女性宫颈癌的主要病因。由于人种与疾病易感性的不同, 不同国家和地区 HPV 亚型分布存在一定的差异。为了解武汉地区女性 HPV 的感染及亚型分布状况, 以本院 2014—2015 年检测的 889 例 HPV 筛查结果为参考, 对本地区女性宫颈癌患者的防治提供数据支持。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2014 年 6 月至 2015 年 6 月本院妇产科及泌尿外科门诊就诊的 889 例女性患者, 年龄 15~69 岁。

**1.2 仪器与试剂** 杭州朗基 PCR 扩增仪, 深圳亚龙生物分子杂交箱(YN-H10), 深圳港龙 HPV 试剂盒。

### 1.3 方法

**1.3.1 样本采集与保存** 将专用宫颈刷置于宫颈口顺时针旋转 4~6 圈, 取得足够的宫颈脱落细胞, 然后将宫颈刷头部放入

专用储存液中, 2~8℃保存, 3 d 后检测完毕。

**1.3.2 样本检测** 按照说明书操作, 提取样本 DNA 后, 在 PCR 扩增仪中, 95℃高温时变性, 55℃退火, 再调温度至 DNA 聚合酶最适反应温度(72℃左右), 完成基因扩增。在杂交仪中完成基因芯片膜导流杂交。

**1.3.3 结果判断** 根据杂交膜条 HPV 分型分布图, 判断 HPV 基因亚型, CC 和 IC 质控点均应为阳性信号。

**1.4 统计学处理** 数据处理采用统计软件 SPSS19.0 进行。

## 2 结果

**2.1 女性生殖道 HPV 检出情况** 889 例样本中, 共检出 168 例 HPV 阳性, 总阳性率为 18.9%, 其中单一感染者 128 例, 占阳性患者人数的 76.8%(128/168), 双重感染者 25 例, 占阳性患者的 14.9%(25/168), 三重及以上感染者 15 例, 占阳性患者的 8.9%(15/168), 见表 1。

作者简介: 马永岚, 女, 主管技师, 主要从事分子免疫学研究。 <sup>#</sup> 共同第一作者: 李永强, 男, 主管技师, 主要从事分子免疫学研究。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 13995591359@139.com。

| 表 1 889 例女性生殖道 HPV 检出情况 |     |        |
|-------------------------|-----|--------|
| 感染类型                    | n   | 阳性率(%) |
| 单一                      | 128 | 76.2   |
| 双重                      | 25  | 14.8   |
| 多重                      | 15  | 8.9    |

2.2 HPV 阳性患者中高危亚型分布情况 在检测的 17 种 HPV 高危亚型(HR-HPV)中检测出 16 种亚型。高危亚型 HPV45 未检出。检出率排名前三的高危型分别是 HPV52、HPV16、HPV58。168 例 HPV 阳性患者中, HPV 高危亚型 142 例, 占总阳性例数的 84.5%, 见图 1。

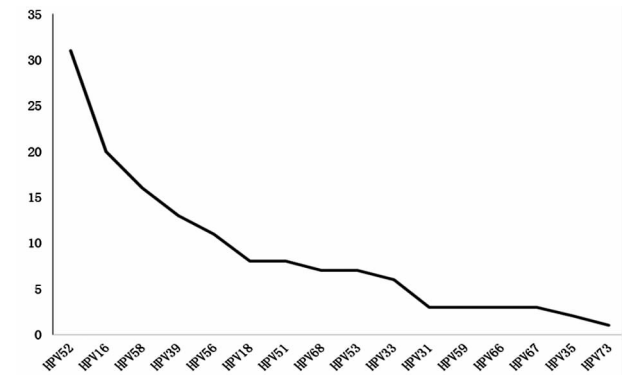


图 1 168 例 HPV 阳性患者中高危亚型分布情况

2.3 HPV 阳性患者中低危亚型分布情况 168 例 HPV 阳性患者中, 共检出了 9 种 HPV 低危亚型中的 8 种, 低危亚型 HPV45 未检出。168 例 HPV 阳性患者中, 检出 95 例感染低危亚型, 其中 HPV6 检出率最高, HPV11 和 HPV54 并列第二, HPV43 检出率排名第三, 见图 2。

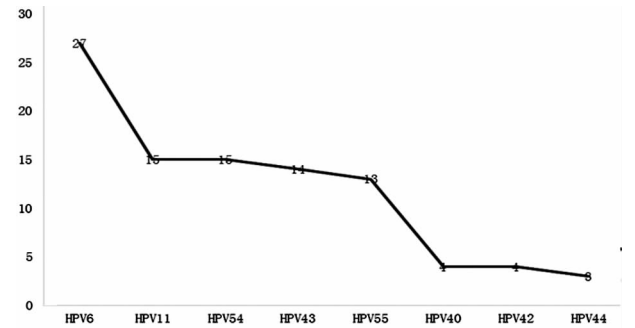


图 2 168 例 HPV 阳性患者中低危亚型分布情况

| 表 2 HPV 各亚型在不同年龄女性中的感染分布情况 |         |          |          |
|----------------------------|---------|----------|----------|
| 年龄段(岁)                     | 检出例数(n) | 第一优势高危亚型 | 第二优势高危亚型 |
| <20                        | 4       | HPV16    | —        |
| 20~30                      | 52      | HPV16    | HPV52    |
| >30~40                     | 39      | HPV52    | HPV16    |
| >40~50                     | 55      | HPV52    | HPV58    |
| >50~60                     | 15      | HPV58    | HPV52    |
| >60~70                     | 3       | HPV58    | —        |

注:—表示无数据。

2.4 HPV 各亚型在不同年龄女性中的感染分布情况 在≤40 岁的中青年妇女中, HPV16 和 HPV52 的感染率是较高的,

在>40~60 岁年龄段女性中, HPV58 和 HPV52 是感染优势亚型, >60 岁后 HPV58 感染率增大, 见表 2。

3 讨论

本次检测的 889 例妇女中, 总的 HPV 感染率为 18.9% (168/889), 低于时宇等<sup>[1]</sup>报道的北京地区 24.73% 的 HPV 感染率, 赵芹等<sup>[2]</sup>报道的广东东莞 25.24% 的 HPV 感染率, 梁华等<sup>[3]</sup>报道的南昌地区 26.6% 的 HPV 感染率, 刘静等<sup>[4]</sup>报道山东地区 29.67% 的 HPV 感染率, 王森钰等<sup>[5]</sup>报道的新疆地区汉族女性人群 21.32% 的 HPV 感染率。本次检测的 889 例妇女中, 以单一及高危亚型 HPV 感染为主, 分别占阳性患者人数的 76.8% 及 84.5%, 与庞艳等<sup>[6]</sup>报道武汉地区的结果一致。

本次检出的 HPV 高危亚型主要是 HPV52、HPV16、HPV58、HPV39、HPV56, 低危亚型主要是 HPV6、HPV11、HPV54、HPV43, 与我国其他地区的感染亚型基本一致<sup>[7]</sup>。HPV 各亚型在不同年龄女性中的感染分布状况, 在≤40 岁的中青年妇女, HPV16 和 HPV52 是优势高危亚型, 在>30~50 岁年龄段的女性中, HPV58 是感染优势亚型, >50 岁后 HPV58 感染率增大。

不同 HPV 亚型致病性存在显著差异, 高危亚型持续感染 是引发宫颈癌的主要因素。国际癌症研究所也提出, 应用 HPV 检测筛查宫颈癌时, 必须考虑不同亚型 HPV 致癌的差异。因此, 明确我国各地区 HPV 感染主要高危基因型, 以及各年龄段妇女中的优势亚型分布, 对我国 HPV 疫苗的针对性研发, 对各地区各年龄段妇女有效预防宫颈癌都有着积极的意义。

流行病学资料表明, 东南亚主要 HPV 高危亚型是 HPV52、HPV16、HPV58、HPV18, 我国与之基本一致。目前为止, 宫颈癌是唯一清楚病原体的癌症, 是唯一可以用疫苗预防的癌症。在世界范围内, 高危型 HPV16 及 HPV18 约占 70%。在欧洲, 宫颈癌发生最多的国家之一塞尔维亚, 其高危型 HPV 最主要是 HPV16, 占 80.39%, 其次是 HPV33 (7.84%)、HPV58 (5.88%)、HPV18 (1.96%)、HPV45 (1.96%) 和 HPV53 (1.96%)<sup>[8]</sup>。目前, 瑞典、英国、塞尔维亚、罗马尼亚等欧洲国家已经开始为 10~17 岁女孩提供 HPV 疫苗<sup>[8-11]</sup>。疫苗主要针对欧洲人群易感高危型 HPV16 和 HPV18。在非洲, HPV16 和 HPV18 也是主要的高危型 HPV, 这两种亚型与 HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV56、HPV58 一起, 共占 54.5%<sup>[12]</sup>。在美国, HPV 疫苗在青少年中的使用率达到了 69%<sup>[13]</sup>。2014 年, 超过 57 个国家将 HPV 疫苗纳入全国性健康项目中。来自数个国家的资料显示, 接种对于 HPV 感染和相关疾病具有预防效果, 并提供了群体免疫的证据。而在我国, HPV 疫苗在青少年乃至成年妇女中的使用仍鲜见报道。

目前, 获得 FDA 认证的 HPV 多价疫苗为美国默东沙公司研发的针对 HPV6、HPV11、HPV16 和 HPV18 的四价疫苗<sup>[14]</sup>, 比利时葛兰素史克公司研发的针对 HPV16 和 HPV18 的二价疫苗, 以及美国默东沙公司研发的九价疫苗 (HPV6、HPV11、HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV45、HPV52、HPV58)。由于价格偏高等原因, 这些疫苗一直都未引进我国。最近, 葛兰素史克公司确认称其希瑞适®[人乳头状瘤病毒疫苗(HPV16 和 HPV18)]获得国家食药监总局(CFDA)的上市许可, 成为我国国内首个获批用于预防宫颈癌的 HPV 疫

苗。已在全球百余个国家实施广泛接种的 HPV 疫苗终于进入了中国市场。武汉地区 HPV 高危优势亚型为 HPV52、HPV16、HPV58, 这种二价疫苗的覆盖面相对偏窄, 预防作用较小。本研究显示, 在本地区中青年人群中, 应当用针对 HPV16 及 HPV52 的疫苗, >50 岁的人群可用针对 HPV58 及 HPV52 的疫苗。研发针对 HPV52、HPV58 的疫苗, 降低疫苗成本, 及早在青年人和成年人中使用适合本国本地区的疫苗, 对于降低宫颈癌的发病率, 提高妇女的健康水平有着非常积极的意义。

参考文献

[1] 时宇, 董瑾, 张静, 等. 北京地区 HPV 各亚型分布情况及与相关疾病关联性分析[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(12): 1684-1686.

[2] 赵芹, 李忠信. 东莞地区女性宫颈人乳头瘤病毒感染及基因型别分布情况分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(22): 3029-3030.

[3] 梁华, 余艺萍, 蓝毓红, 等. 南昌地区女性宫颈细胞中人乳头瘤病毒感染基因型的回顾分析[J]. 实验与检验医学, 2015(5): 549-552.

[4] 刘静, 张玉杰, 王艳春, 等. 山东滨州地区性病门诊 HPV 亚型分布的研究[J]. 医学检验与临床, 2014, 25(4): 3-5.

[5] 王森钰, 热娜·米吉提, 冯阳春, 等. 新疆地区汉族女性人乳头状瘤病毒基因型及感染情况分析[J]. 东南大学学报(医学版), 2015, 34(6): 902-905.

[6] 庞艳, 韩卫全. 武汉市某医院筛查女性人乳头瘤病毒感染及基因型分布特点分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(19): 1501-1504.

[7] 乌恩奇, 赵焕虎, 刘微, 等. 中国不同地区宫颈癌中 HPV 型别分布数据横向比较分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(23): 1845-1851.

[8] Stamenkovic M, Knežević A, Knežević I, et al. High-risk human papilloma virus genotypes in cervical carcinoma of Serbian women; Distribution and association with patho-histological findings [J]. Biologicals, 2016, 44 (5): 412-416.

[9] Mesher D, Stanford E, White J, et al. HPV Serology Testing Confirms High HPV Immunisation Coverage in England [J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150107.

[10] Voidăzan S, Tarcea M, Morariu S H, et al. Human Papillomavirus Vaccine-Knowledge and Attitudes among Parents of Children Aged 10-14 Years; a Cross-sectional Study, Tirgu Mureș, Romania [J]. Cent Eur J Public Health, 2016, 24(1): 29-38.

[11] Rehn M, Uhnöo I, Kühlmann-Berenzon S, et al. Highest vaccine uptake after school-based delivery-a county-level evaluation of the implementation strategies for HPV catch-up vaccination in Sweden [J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0149857.

[12] Ebrahim S, Mndende XK, Kharsany AB, et al. High burden of human papillomavirus (HPV) infection among young women in KwaZulu-Natal, South Africa [J]. PLoS One, 2016, 11(1): e0146603.

[13] Roberts JR, Naifeh M, Jacobson RM, et al. Adolescent vaccination performance in South Carolina compared to the United States [J]. J S C Med Assoc, 2015, 111(4): 117.

[14] Ames A, Gravitt P. Human papillomavirus vaccine update [J]. Current Infectious Disease Reports, 2007, 9(2): 151-158.

(收稿日期: 2016-12-18 修回日期: 2017-02-02)

(上接第 1205 页)

[J]. 中华肺部疾病杂志, 2014, 7(3): 67-71.

[3] 刘治坤, 张前, 李宝萍, 等. 芪蛭益肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠小气道上皮 MMP-9、TIMP-1 表达的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(5): 322-326, 后插 2.

[4] Cui K, Ge Y, Ma L. Association of the TNF- $\alpha$ +489 G/A polymorphism with chronic obstructive pulmonary disease risk in Asians; meta-analysis [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2): 5210-5220.

[5] 牟焕梅, 张桂霞. Hs-CRP 和 MMP-9/TIMP-1 在慢性阻塞性肺疾病急性加重患者血清中的表达意义 [J]. 中国实用医药, 2012, 7(25): 6-8.

[6] 李海燕, 成炜, 丛金鹏, 等. PPAR $\gamma$  和 MMP-9 在慢性阻塞性肺疾病肺血管内皮细胞的表达及意义 [J]. 中华临床医师杂志, 2013, 6(22): 10035-10040.

[7] 梁小裕, 叶宏波, 王鑫, 等. 慢性阻塞性肺病患者诱导痰 VEGF、TNF- $\alpha$ 、IL-13 水平及意义 [J]. 中华全科医学, 2015, 13(12): 1963-1965.

[8] 陈刚, 徐永芳, 顾晓民, 等. 男性慢性阻塞性肺疾病稳定期

患者血清 MMP-9、TNF- $\alpha$  与骨转化指标的关系 [J]. 中华全科医学, 2016, 14(6): 987-989.

[9] Cheng T, Wan HY, Cheng QJ, et al. Computed tomography manifestation of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; a pilot study [J]. Exp Ther Med, 2016, 11(2): 519-529.

[10] Tian Y, Li Y, Li JS, et al. Effects of therapies for regulating and reinforcing lung and kidney on osteoporosis in rats with chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Tradit Chin Med, 2015, 35(2): 175-183.

[11] El-Fatah EM, Ghazy MA, Mostafa MS, et al. Identification of MMP-9 as a biomarker for detecting progression of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Biochem Cell Biol, 2015, 93(6): 541-547.

[12] 刘建明, 廖前德, 唐文祥, 等. TNF- $\alpha$  对慢性阻塞性肺疾病模型鼠营养状态和呼吸肌蛋白质分解代谢的影响 [J]. 南方医科大学学报, 2012, 32(4): 548-552.

(收稿日期: 2016-11-14 修回日期: 2017-01-10)