

• 论 著 •

常州地区女性人乳头瘤病毒感染及基因型分布特点分析*

曹佩霞¹, 陈 兰¹, 施如霞², 周蓓蓓³, 钟丽燕⁴, 李淑萍¹, 孔彩霞¹, 莫一超¹

(1. 常州市中医院, 江苏常州 213003; 2. 常州市第二人民医院, 江苏常州 213003; 3. 常州市妇幼保健院, 江苏常州 213000; 4. 常州市武进人民医院, 江苏常州 213002)

摘要:目的 分析常州地区女性生殖道人乳头瘤病毒(HPV)感染状况以及分布特点,为女性宫颈癌的防治及 HPV 疫苗研制提供流行病学依据。方法 收集 2014 年 1 月至 2016 年 6 月常州市中医院、常州市妇幼保健院、常州市第二人民医院和常州武进医院的女性宫颈脱落细胞样本共 32 215 份,检测 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82 共 17 种高危亚型和 HPV6、11、42、43、81、83 共 6 种低危亚型。按年龄将研究对象分为 6 组: <20 岁组、≥21~30 岁组、≥31~40 岁组、≥41~50 岁组、≥51~60 岁和 ≥61 岁组,并对 HPV 感染病例的年龄分布及基因型进行分析。结果 共检测样本 32 215 例,检出 HPV 阳性样本 8 396 例,HPV 阳性检出率为 26.06%。HPV 高危亚型按检出频次由高到低依次为 16(4.55%)、52(4.43%)、58(2.75%)、53(2.42%)、51(2.16%)、68(1.85%)、56(1.73%)、33(1.40%)、18(1.38%)、66(1.33%)、59(1.26%)、39(1.08%)、31(1.02%)、35(0.89%)、45(0.42%)、73(0.26%)和 82(0.15%)。HPV 低危亚型由高到低依次为 81(2.96%)、43(1.86%)、42(1.62%)、6(1.27%)、11(0.80%)和 83(0.26%)。结论 常州地区女性生殖道 HPV 感染的主要亚型为高危亚型 HPV16、52。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因型; 年龄

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.23.022

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)23-3280-03

Genotype distribution of HPV infection among women in Changzhou

CAO Peixia¹, CHEN Lan¹, SHI Ruxia², ZHOU Peipei³, ZHONG Liyan⁴, LI Shuping¹, KONG Caixia¹, MO Yichao¹

(1. Changzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine; 2. The Second People's Hospital of Changzhou;

3. Changzhou Maternal and Child Health Care; 4. Changzhou Wujin Hospital, Changzhou Jiangsu 213003, China)

Abstract: Objective To observe the human papillomavirus(HPV) prevalence and its distribution character among females in Changzhou and to provide epidemiological data for the prevention of cervical cancer and development of HPV vaccine. **Methods** The clinical material consisted of 32 215 women, who were from Changzhou Hospital T. C. M, Changzhou Maternal and Child Health Care, The Second People's Hospital of Changzhou and Changzhou Wujin Hospital from January 2014 to June 2016. 17 kinds of high-risk subtypes (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) and 6 kinds of low-risk subtypes (HPV6, 11, 42, 43, 81, 83) were detected. All cases were divided into six groups according to the age (<20; ≥21 to 30; 31 to 40; 41 to 50; 51 to 60; and ≥61) and the age distribution of women infected with HPV and genotypes of HPV were analyzed. **Results** Out of 32215 cervical cell specimens, 8396 cases were detected HPV infections with the position rate of 26.06%. In seventeen types of high-risk HPV, HPV 16 (4.55%) were the most common subtype, followed by 52 (4.43%), 58 (2.75%), 53 (2.42%), 51 (2.16%), 68 (1.85%), 56 (1.73%), 33 (1.40%), 18 (1.38%), 66 (1.33%), 59 (1.26%), 39 (1.08%), 31 (1.02%), 35 (0.89%), 45 (0.42%), 73 (0.26%), and 82 (0.15%). Six types of low-risk HPV were detected, of which HPV 81 (2.96%) was the most common subtypes, followed by 43 (1.86%), 42 (1.62%), 6 (1.27%), 11 (0.80%) and 83 (0.26%). **Conclusion** The predominant genotypes of HPV 16 and 52 infection in female reproductive tract are the highest.

Key words: human papillomavirus; genotype; age

宫颈癌是威胁亚洲妇女健康的第二大恶性肿瘤^[1],而人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌的明确病因,病毒生活周期中 DNA 含量变化情况和各种 mRNA 和蛋白质的表达与宫颈病变各个阶段的发生发展联系密切^[2]。根据 2013 年中国肿瘤登记年报,我国宫颈癌发病率城市是 0.138 3‰,农村为 0.115 5‰,每年新发宫颈癌病例约 15 万,约 8 万妇女死于宫颈癌^[3]。宫颈 HPV 筛查是预防和早期诊断宫颈癌的有效手段,本文对 2014—2016 年常州地区妇女宫颈 HPV 筛查结果进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014 年 1 月至 2016 年 6 月分别在常州

市中医院、常州市妇幼保健院、常州市第二人民医院和常州市武进医院妇科门诊就诊的 32 215 名女性患者的宫颈上皮细胞标本,年龄 16~89 岁,平均 36.43 岁。20 岁及以下 464 例、21~30 岁 10 375 例、31~40 岁 10 484 例、41~50 岁 8 242 例、51~60 岁 2 064 例、60 岁及以上 586 例。由 2 位经验丰富的技术人员按照说明书规范操作,同时复习其相关资料。

1.2 仪器与试剂 基因扩增仪为新加坡生产的 Gene Amp PCR system 2400 型;恒温杂交仪为亚能生物技术(深圳)有限公司生产的 YN-H16 型;高速冷冻离心机为德国生产的 Eppendorf 5810 R 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

* 基金项目:常州市科技计划项目(CJ20159047)。

作者简介:曹佩霞,女,主任医师,主要从事中西医结合妇科肿瘤及不孕症方面研究。

的-20℃冰箱等。HPV 基因分型检测试剂盒由亚能生物技术(深圳)有限公司提供。显色液须即用即配,根据需要的浓度用蒸馏水调配。宫颈细胞采样器为亚能生物技术(深圳)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本的采集及保存 采用窥阴器或阴道扩张器充分暴露宫颈,用棉拭子擦去宫颈口过多的分泌物,将采样宫颈刷置于宫颈口,顺时针旋转宫颈刷 4~5 圈,慢慢抽出,以获得足够的宫颈上皮细胞标本,然后沿刷柄折痕处折断刷头,将宫颈刷头部放入洗脱管中,旋紧洗脱管盖,做好标本标识,保持采集管直立,放入-20℃冰箱保存待测。

1.3.2 DNA 的提取 将宫颈刷头充分漂洗后,把洗脱液全部转移至 1.5 mL 的离心管中,13 000 r/min 离心 10 min 后,弃去上清液,保留管底的细胞。随后加入裂解液 50 μL,充分振荡混匀,在金属浴中加热 100℃10 min,立即 13 000 r/min 离心 10 min 后,取上清中间层 DNA 溶液待用。按照试剂盒说明书对 DNA 提取液扩增出 23 种 HPV 基因型(16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、6、11、42、43、81、83)的目的片段,再将扩增产物与固定在膜条上的包括 17 种高危型(16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82)和 6 种低危型(6、11、42、43、81、83)在内的分型探针进行杂交,依据杂交信号的有无来判断是否有这些 HPV 基因型的感染。以人基因组 DNA(β-actin)质控,实施全程监控。

1.4 统计学分析 应用统计软件包 SPSS 13.0,计量资料以

$\bar{x}\pm s$ 表示,对各组变量进行正态性检验,对非正态性数据经变换进一步分析,各组样本均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同年龄段 HPV 感染情况 20 岁及以下以 16/52/6(低危)/51/58 为主;21~30 岁以 16/52/58/51/81(低危)为主;31~40 岁以 52/16/81(低危)/58/53 为主;41~50 岁以 16/52/81(低危)/58/53 为主;51~60 岁以 16/52/81(低危)/58/53 为主;61 岁及以上以 16/52/58/56/81 为主。见表 1、2。

表 1 不同年龄段 HPV 感染情况				
年龄	HPV 检测阳性 (<i>n</i>)	阴性 (<i>n</i>)	HPV 感染阳性率 (%)	总数 (<i>n</i>)
20 岁以下	146	318	31.47 ^{bc}	464
21~30 岁	2 643	7 732	25.47 ^{ae}	10 375
31~40 岁	2 628	7 856	25.07 ^{ade}	10 484
41~50 岁	2 191	6 051	26.58 ^{ace}	8 242
51~60 岁	625	1 439	30.28 ^{bcd}	2 064
61 岁以上	163	423	27.82	586

注:“a”,“b”,“c”,“d”,“e”分别表示以“20 岁以下”,“21~30 岁”,“31~40 岁”,“41~50 岁”,“51~60 岁”作为参照组时, $P<0.05$ 。

2.2 单重及多重感染情况 单重感染 5 764(17.89%),二重感染 1 815(5.63%),三重感染 817(2.54%),四重及以上感染 243(0.75%)。单重感染以 16 型和 52 型最为常见。见表 2、3。

表 2 不同年龄段多重感染阳性的统计表(*n*)

感染阳性性别数	20 岁及以下	21~30 岁	31~40 岁	41~50 岁	51~60 岁	61 岁及以上	总数
一重	75	1 737	1 898	1 551	412	91	5 764
二重	34	618	534	443	146	40	1 815
三重	18	205	154	144	39	14	574
四重	8	56	29	44	19	10	166
五重	5	21	10	6	6	2	50
六重	3	4	4	2	2	3	18
七重	2	1	0	1	1	2	7
八重	0	1	0	0	0	0	1
九重	0	0	1	0	0	0	1

表 3 每型别在本次大样本检测中出现感染阳性的占比

型别	数量(<i>n</i>)	占比(%)
高危	16	1 466
	18	446
	31	327
	33	450
	35	286
	39	349
	45	136
	51	697
	52	1 428
	53	780
	56	556
	58	886
	59	405
	66	429

续表 3 每型别在本次大样本检测中出现感染阳性的占比

型别	数量(<i>n</i>)	占比(%)
低危	68	595
	73	84
	82	47
	6	408
	11	259
	42	523
	43	600
	81	955
	83	84

3 讨 论

宫颈癌是最常见的女性生殖道恶性肿瘤,发病率在妇科肿瘤中位居全球第四,高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)持续感

染将导致宫颈癌的发生^[4]。宫颈上皮内瘤变(CIN)主要由HR-HPV持续感染所致^[5],如不接受治疗,2%~21% CIN I可进展为CIN III甚至浸润癌^[6]。

2014年,欧洲4个国家的随机对照试验结果发现,在第2.5年随访时,HPV检测与细胞学检查对子宫颈癌的检出效果相似,而在第3.5年和第5.5年随访时 HPV 阴性者子宫颈癌的累积发生率低于细胞学检查阴性者,HPV 筛查预测子宫颈癌的效果相当于在细胞学检查方法的基础上提高了60%~70%^[7]。近年来^[8],随着分子生物学技术的发展,HPV的检测方法不断改进、检测质量日趋更新和精准,为宫颈癌筛查中的病原分辨、基因分型、风险分层、病变分流、随诊分析及疫苗接种的监测提供了有力的手段。而目前,经美国食品与药品管理局(FDA)批准的 HPV 基因检测方法共有4个,分别是HC-II、Cervista HPV检测、Cobas和 Aptima HPV检测^[9]。

HPV16、HPV18和 HPV45感染在宫颈腺癌中起着关键作用,其感染率占有宫颈腺癌的90%以上^[10]。Bao等^[11]通过Meta分析得出在亚洲宫颈癌患者的 HPV 感染优势亚型是16、18、58、33和52。2010年,在包括欧洲、美洲、南美洲中部、非洲、亚洲、太平洋地区在内的全球回顾性横断面研究显示,子宫颈癌中 HPV 感染各亚型位于前8位者依次为 HPV16、18、31、33、35、45、52、58型^[12]。马莉等^[13]发现 HPV16、52和58型感染者发生 $\geq$ CIN II病变的可能性大,HPV18型虽不是主要 HPV 感染亚型,但其与 $\geq$ CIN II病变密切相关。而本研究发现常州地区各年龄段均以 HPV16、52感染为主。

本研究通过对2014—2016年常州地区妇女宫颈 HPV 检测的结果进行分析,发现:(1) HPV 感染在31~50年龄段感染阳性人数最多,也是我们重点防治宫颈癌的主要年龄段。(2)常州地区32 215例受检女性宫颈上皮细胞标本中检出 HPV 阳性感染者8 396例,阴性者10 957例,HPV 总的阳性率为26.06%(8 396/32 215), HPV 感染的主要亚型为高危亚型 HPV16、52。

综上所述,常州地区女性生殖道 HPV 感染以31~50岁人群的阳性检出率最高,因此应重视对这一年龄段人群宫颈癌的筛查及知识宣教工作。女性生殖道 HPV 感染的主要亚型为 HPV16、52,而目前,全球获得 FDA 认证上市的 HPV 疫苗为默克公司的4价疫苗(HPV6、11、16、18)和葛兰素史克公司的2价疫苗(HPV16、18)^[14-15],从疫苗覆盖的 HPV 型别分析,2价疫苗仅对约11.98%的常州地区 HPV 感染女性有保护作用,所以若要有效预防 HPV 感染,研发适合本地区人群的 HPV 疫苗非常重要。而目前上市的 HPV 疫苗对常州地区女性 HPV 感染的预防作用有限,期待本研究结果能够为常州地区女性宫颈癌防治和 HPV 疫苗研发提供有价值的流行病学依据。

参考文献

- [1] 于露露,陈汶.子宫颈癌筛查技术新进展[J].中华妇产科杂志,2015,4(4):312-315.
- [2] 吴泽妮,陈汶.人乳头瘤病毒自然史与空间分布特征对宫颈癌筛查技术的影响[J].中华肿瘤杂志,2016,38(4):

241-245.

- [3] 冯宁,杜其云,吴久玲,等.中国-瑞典宫颈癌筛查服务管理的比较[J].中国妇幼保健,2014,29(29):4700-4703.
- [4] SyrjÄNen S, Naud P, Sarian L, et al. Up-regulation of 14-3-3sigma (Stratifin) is associated with high-grade CIN and high-risk human papillomavirus (HPV) at baseline but does not predict outcomes of HR-HPV infections or incident CIN in the LAMS study[J]. Am J Clin Pathol, 2010,133(2):232-240.
- [5] 周建斌,胡华,阳帅,等.宫颈鳞癌和上皮内瘤变组织中 TRF1, TRF2 及 HPV16, HPV18 的检测及其意义[J].中国实用妇科与产科杂志,2010,26(4):292.
- [6] 曹泽毅.中华妇产科学[M].北京:人民卫生出版社,1999:567.
- [7] Ronco G, Dillner J, Elfström KM, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials [J]. Lancet, 2014,383(9916):524-532.
- [8] 李广太. HPV 检测在子宫颈癌筛查中的意义[J].中华妇产科杂志,2015,4(4):241-245.
- [9] Nolte FS, Ribeiro-Nesbitt DG. Comparison of the aptima and cervista tests for detection of high-risk human papillomavirus in cervical cytology specimens[J]. Am J Clin Pathol, 2014,142(4):561-566.
- [10] Pirog EC, Lloveras B, Molijn A, et al. HPV prevalence and genotypes in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma, a worldwide analysis of 760 cases [J]. Mod Pathol, 2014,27(12):1559-1567.
- [11] Bao YP, Li N, Smith JS, et al. Human papillomavirus type distribution in women from Asia: a meta-analysis[J]. Int J Gynecol Cancer, 2008,18(1):71-79.
- [12] Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial [J]. Lancet Oncol, 2010,11(3):249-257.
- [13] 马莉,丛笑,卞美璐,等.高危型 HPV 分型检测作为子宫颈癌及其癌前病变初筛手段的探讨[J].中华妇产科杂志,2015,50(4):246-252.
- [14] De Melker H, Kenter G, Van Rossum T, et al. Developments in HPV vaccination[J]. Ned Tijdschr Geneesk, 2012,156(47):A5410.
- [15] Chan PK, Cheung TH, Li WH, et al. Attribution of human papillomavirus types to cervical intraepithelial neoplasia and invasive cancers in southern China[J]. International Journal of Cancer, 2012,131(3):692-705.

(收稿日期:2017-07-07 修回日期:2017-09-02)