

• 论 著 •

7 746 例妇女宫颈脱落细胞 HPV 基因分型结果研究*

郑红云¹, 杨 鹏¹, 申复进², 李 艳^{1△}

(1. 武汉大学人民医院检验科, 武汉 430060; 2. 武汉大学人民医院妇产科, 武汉 430060)

摘 要:目的 了解湖北省人民医院就诊的女性患者人乳头瘤病毒(HPV)基因亚型及年龄分布,并对 HPV 感染特征进行分析。**方法** 对 2016 年 1 月 6 日至 2017 年 1 月 12 日在湖北省人民医院就诊的 7 746 例女性患者的宫颈脱落细胞样本进行 HPV 感染基因分型检测。**结果** 7 746 例女性患者标本,检出 HPV 阳性 1 336 例,总阳性率为 17.2%;HPV 感染的各亚型分布中感染频率前 8 位依次为 HPV16 型、HPV52 型、HPV58 型、HPV53 型、HPV81 型、HPV18 型、HPV39 型、HPV56 型;单一亚型感染 1076 例,占 80.5%;二重感染 202 例,占 15.1%;三重感染 47 例,例占 3.5%;四重感染及以上 11 例,占 0.9%;HPV 总感染率及中高危及亚型感染率随年龄的增长而升高,低危及亚型感染率随年龄的增长呈下降趋势;比较不同年龄组 HPV 感染检出率,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** HPV 基因亚型基本符合亚洲人群分布规律,HPV 高危亚型感染年龄主要分布在 40 岁以上。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因分型; 宫颈癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.24.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)24-3391-03

The research on HPV genotyping of cervical exfoliated cells from 7 746 women*

ZHENG Hongyun¹, YANG Peng¹, SHEN Fujin², LI Yan^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China;

2. Department of Obstetrics and Gynecology, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

Abstract: **Objective** To investigate the distribution of Human papillomavirus(HPV) genotyping and age in women treated in People's Hospital of Hubei Province. At the same time, we want to analyse the characteristics of HPV infection. **Methods** HPV genotyping was detected from the cervical exfoliated cell samples from 7 746 female patients treated in People's Hospital of Hubei Province from January 6, 2016 to January 12, 2017. **Results** There were 1 336 positive cases detected in 7 746 cases of female patients, and the total positive rate was 17.2%. The top eight of HPV subtype infection were 16, 52, 58, 53, 81, 18, 39, 56. There were 1 076 cases of single infection, accounting for 80.5%, and the infection of the two types were found in 202 cases, accounting for 15.1%. There were 47 cases of triple infections, accounting for 3.5% and fourfold infection and more were in 11 cases, accounting for 0.9% of all cases. The infection rate of HPV and the infection rate of middle and high risk subtype increased with age, and the infection rate of low risk subtype decreased with age. The detection rate of HPV infection in different age groups had a statistically significant difference($P<0.05$). **Conclusion** The survey of female HPV infection subtype in Hubei Province conforms to the Asian population distribution, and the HPV high-risk subtype infection is mainly distributed in the population over the age of 40.

Key words: human papillomavirus; genotyping; cervical carcinoma

宫颈癌是危害妇女健康的主要恶性肿瘤之一^[1],全球每年约有 53 万的新发病例和 27 万的死亡病例,其中 85% 发生在发展中国家。近年来年轻妇女宫颈癌发病率有升高趋势,据估计到 2020 年其新发病例将增至每年 66 万例^[2-3]。为了解湖北地区人乳头瘤病毒(HPV)亚型感染的情况及 HPV 亚型感染和年龄分布的关系,并进一步探讨 HPV 分型对于宫颈癌筛查的临床意义,收集 2016 年 1 月 6 日至 2017 年 1 月 12 日在湖北省人民医院就诊的 7 746 例女性宫颈脱落细胞进行 HPV27 种基因型检测分型,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月 6 日至 2017 年 1 月 12 日在湖北省人民医院就诊的 7 746 例女性患者,年龄 18~58 岁,平均(43.52±1.49)岁。由临床医师操作取宫颈脱落细胞样本。

1.2 仪器与试剂 实时荧光定量 PCR 仪;生物安全柜;电热恒温金属浴;低温高速离心机;美国 Luminex200 多功能流式

点阵仪,上海透景生命科技有限公司高危型人乳头瘤病毒核酸分型检测试剂盒(流式荧光杂交法)。

1.3 方法 (1)扩增试剂准备:按试剂盒操作说明进行。(2)提取样本 DNA。(3)加样处理:向所设定的 n 个 PCR 反应管中分别加入处理过的样本 5 μ L,开始进行 PCR 扩增。(4)PCR 扩增。(5)杂交检测:微球杂交混合 PCR 扩增产物后加入荧光素 SA-PE 显色。48 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。(6)结果判读:Luminex 200 多功能流式点阵仪读取微球编码及其对应荧光强弱信号,经配套计算软件判读检测结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素 ANOVA 检验;计数资料采用百分率(%)表示,比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 的感染率分布情况 7 746 例女性患者标本中,检出 HPV 阳性患者 1 336 例,总阳性率 17.2%。HPV 感染总频

* 基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(2015CFB185、2015CFB723)。

作者简介:郑红云,女,副主任技师,主要从事肿瘤分子诊断与个体化医疗方向研究。△ 通信作者,E-mail:yanlitf@163.com。

次为 1676,,各亚型分布为:16 型 16.6%(279/1 676)、52 型 13.0%(218/1 676)、58 型 9.2%(155/1 676)、53 型 4.9%(83/1 676)、81 型 4.8%(81/1 676)、18 型 4.6%(77/1 676)、39 型 4.6%(77/1 676)、56 型 4.6%(77/1 676)、61 型 4.2%(71/1 676)、51 型 4.1%(69/1 676)、43 型 3.6%(61/1 676)、33 型 2.9%(48/1 676)、66 型 2.7%(46/1 676)、6 型 2.6%(44/1 676)、59 型 2.4%(41/1 676)、55 型 2.1%(36/1 676)、44 型 2.0%(34/1 676)、11 型 1.9%(33/1 676)、35 型 1.6%(26/1 676)、31 型1.5%(25/1 676)、42 型 1.3%(21/1 676)、82 型 1.3%(21/1 676)、40 型 0.8%(13/1 676)、68 型 0.8%(13/1 676)、83 型 0.7%(11/1 676)、45 型 0.6%(10/1 676)、26 型 0.4%(6/1 676)。

2.2 HPV 感染年龄分布情况 7 746 例受检者根据年龄分成≤20,20~30,30~40,40~50,>50 共 5 组。各年龄段 HPV 感染率分别为 30.2%(13/43),17.3%(213/1233),16.7%(355/2127),16.4%(435/2645),18.8%(320/1698)。大部分 HPV 感染者在 30~40 岁,40~50 岁及>50 岁这 3 个年龄段。不同年龄组 HPV 感染检出率差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 HPV 单一感染和多重感染分布情况 HPV 单一型感染 1076 例,占阳性样本比例为 80.5%;2 种 HPV 亚型感染 202 例,占 15.2%;3 种 HPV 亚型感染 47 例,占 3.5%;4 种及 4 种以上亚型感染 11 例,占 0.8%。各年龄组间单一、多重亚型感染比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 不同年龄段 HPV 感染亚型分布								
年龄 (岁)	1 种		2 种		3 种		4 种及以上	
	<i>n</i>	百分率(%)	<i>n</i>	百分率(%)	<i>n</i>	百分率(%)	<i>n</i>	百分率(%)
<20	8	0.7	3	1.5	0	0.0	2	18.2
20~30	164	15.3	37	18.3	10	21.3	2	18.2
30~40	287	26.7	54	26.7	12	25.5	2	18.2
40~50	376	34.9	49	24.3	9	19.1	1	9.1
>50	241	22.4	59	29.2	16	34.1	4	36.3

3 讨 论

宫颈癌发病率居全球女性恶性肿瘤的第 2 位,仅次于乳腺癌,每年约有 50 万宫颈癌新发病例,其中约 1/3 为死亡病例^[4]。HPV 为环状双链 DNA 无包膜病毒,是一种高种群特异性的病毒^[5]。大量研究表明,高危型 HPV 的持续感染是引发宫颈癌和宫颈上皮瘤变的主要原因,持续 HPV 高危型病毒感染的妇女发生宫颈上皮癌变的风险大大增加^[6]。因此早期筛查 HPV 感染是非常重要的,可以预测发病风险,也可以提高细胞学检测的有效性。

1 项中国不同地区宫颈癌 HPV 型别分布横向比较分析结果显示,该数据共涉及 18 个省份,经过加权合并后,HPV 整体感染率为 87.2%,各省间差异较大(78.7%~97.2%)。在型别方面,在所有地区 HPV16 均为最主要感染型别。在全国范围内宫颈癌中 HPV16 和 HPV18 累计感染率达 75.5%^[7]。1 955 例武汉市农村妇女发现 HPV 感染 1 115 例,感染率为 57.03%,HPV16 型感染率最高(18.16%),其次是 HPV58 型(13.35%)、HPV52 型(11.00%)、HPV33 型(5.68%)^[8]。北京市展览路社区妇女 HPV 感染总阳性率(15.38%),高危型 HPV 感染率(13.34%)及低危型 HPV 的感染率(3.25%),均接近于我国其他地区^[9]。本研究中 7 746 例样本发现 1 336 例阳性样本,阳性率为 17.2%,与大城市文献报道结果基本一致,但明显低于农村妇女,考虑与农村卫生条件较差及对疾病

认识不够有关。在型别方面,HPV16 型感染率最高(16.6%),其次是 HPV58 型(13.0%)、HPV52 型(9.2%)、HPV53 型(4.9%)、HPV81 型(4.8%)、HPV18 型(4.6%)。该数据明显低于各省大数据整体感染率。与北京市数据比较接近。

本研究中最常见的 HPV 感染亚型依次为 16、52、58、53、81、18、39 和 56 型,且无论是在单一型还是多重型感染中 16 和 52 两种基因型是最为常见的。研究表明 HPV16 型为世界上最常见的基因亚型,HPV52、58 型的常见率仅在 HPV16 之下。高危型感染率与低危型相比,上升趋势更为明显,这也和已知的大部分文献报道相一致^[10]。本研究中,50 岁以下的女性 HPV 的总感染率和高危型的感染率随着年龄的增长有增高的趋势,而低危亚型则在女性 30~40 年龄段处有峰值,表明年轻女性多以低危型感染为主,这与年轻女性性活跃有关。各年龄组都是以单一型感染为主,在多重感染中以两种亚型感染最为常见^[11]。

目前针对宫颈癌筛查主流方法是细胞学结合 HPV 基因分型,对于 HPV 基因分型主要有流式荧光杂交技术和导流杂交基因芯片技术^[12-13]。关于宫颈癌 HPV 相关性预防性疫苗目前在部分临床试验中也已取得初步成效^[14],但疫苗接种给社会经济环境带来了特殊的挑战。但随着分子生物学和免疫学的迅速发展,国家对 HPV 及 HPV 疫苗的认知的积极开展,HPV 预防性疫苗也必将在宫颈癌的综合治疗中发挥越来越大的作用^[15]。而针对本次调查结果湖北省可以尝试针对 HPV16、52、58 型的疫苗研究。

本研究显示湖北地区女性 HPV 感染较为常见,单一型感染居多,特别是高危型 16、52、58 感染更是常见且集中在大于 30 岁的女性。研究者倡导年龄大于 30 岁的女性均应做 HPV 分型筛查,做到早发现、早诊断、早治疗宫颈癌,及早预防宫颈癌的发生,提高妇女的生存质量,减少宫颈癌患病率。

参考文献

[1] 吴洁丽,张爱慕,杜珂珂.徐峰 HPV L1 壳蛋白检测联合细胞学筛查宫颈变病的临床价值[J].中国妇幼保健研究,2017,28(6):694-696.

[2] 胡丽梅,陈云贞,蒙秀坚.多指标联合检测对宫颈癌的诊断价值研究[J].国际检验医学杂志,2017,38(11):1557-1559.

[3] 原亚莉,贺桂芳,卞美璐.人乳头状瘤病毒的精准检测与宫颈癌防治[J].中日友好医院学报,2017,31(3):179-181.

[4] 王京伟,赵礼文,吴薇.李艳湖北地区 9 058 例女性人乳头瘤病毒基因分型分析[J]微循环学杂志,2017,27(2):37-42.

[5] 王爱萍,蒋敏,栗宁,等.人乳头瘤病毒 16 型 L1 蛋白 B 细胞表位预测[J].细胞与分子免疫学杂志,2016,32(4):442-445.

[6] 陈鸣华,印永祥,张玉娟,等.11 231 例女性宫颈 HPV 基因分型的回顾分析[J].中国妇幼保健,2014,29(34):5570-5573.

[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,2013,220(23):1845-1851.

[8] 邱琳,张雅琪,周爱芬,等.1 955 例武汉(下转第 3395 页)

本研究结果显示 I 级慢性肾病患者与健康对照人员血清 CTGF 比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 这是因为 I 级肾损害较轻, CTGF 水平上升不明显, 但随着肾脏损伤的加重, 分级的增加, 血清 CTGF 水平呈现进行性上升趋势, 反映了肾纤维化的严重程度。同时本研究结果显示肾脏轻度损伤时, 血清 HGF 水平上升不明显, 随着肾脏损伤加重其水平逐渐上升, 表明 HGF 在慢性肾病的发展过程中起保护作用, 随疾病的发展, CTGF 水平的升高而分泌增加来维持细胞外基质的生成及降解平衡。而 IV 级慢性肾病患者血清 HGF 水平开始下降, 这可能与终末期肾病患者肾功能衰竭, 血清 HGF 经肾排泄过多有关。可见慢性肾病的发生发展就是 CTGF 与 HGF 相互作用、相互拮抗的过程, 当 CTGF、HGF 间的平衡关系被破坏, 则可能导致肾脏纤维化, 本研究结果还提示肾间质纤维化除了与 CTGF 上升有关外, 还与 HGF 表达下降密切相关。Chen 等^[15]研究发现外源性 HGF 补充可能对肾损伤模型纤维化产生逆转也证明了这一点。但目前关于 CTGF 在慢性肾病肾纤维化的变化及其与 HGF 的关系相关研究尚少, 有待日后通过大样本、多中心数据进一步分析。本研究结果还显示血清 BUN、Cr、Cys-C 水平虽与肾小球硬化积分、肾小管间质纤维化积分正相关, 但相对于 CTGF 及 HGF 在相关性上还有一定差距。

综上所述, 慢性肾病患者血清 CTGF 呈现逐渐上升趋势, 而 HGF 水平在早中期肾病中高表达, 而终末期肾功能衰竭后 HGF 水平反而下降; 另外血清 CTGF、HGF 相对血清 BUN、Cr、Cys-C 与肾纤维化有更好的相关性, 因此联合检测血清 CTGF、HGF 的水平可对肾纤维化的诊断、疗效观察、预后判断提供更大的临床价值。

参考文献

[1] 张亚莉, 冯婕, 姜莎莎, 等. 单核细胞趋化蛋白-1 和转化生长因子 $\beta 1$ 及结缔组织生长因子在 2 型糖尿病肾病大鼠肾组织中的表达[J]. 中国全科医学, 2013, 16(21): 2473-2476.

[2] 施颖, 沈卫强. 联合检测 CTGF 和 PAI-1 对原发性 IgA 肾病病情评估价值研究[J]. 浙江医学, 2016, 38(11): 854-856.

[3] 蒋新华, 马萍, 王丽, 等. 实验室常用指标在肾病中的应用分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(24): 3357-3359.

[4] 刘红燕, 王瑞, 施菁玲, 等. 糖尿病肾病患者血清结缔组织生长因子和肿瘤坏死因子表达及其临床意义[J]. 医学临

床研究, 2014, 3(1): 53-54.

[5] 张丽英, 梦雅平. 核转录因子- κB 及结缔组织生长因子在 IgA 肾病中的表达及意义[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(15): 2543-2545.

[6] 郝成罗, 廖常彬. IgA 肾病患者外周血单核细胞含量及肾组织中 NF- κB 、CTGF、OPN 表达量的检测及临床意义[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(11): 1079-1081.

[7] Tuncdemir M, Ozturk M. The effects of angiotensin-II receptor blockers on p-odocyte damage and glomerular apoptosis in a rat model of experimental strepto-zotocin-induced diabetic nephropathy[J]. Acta Histochem, 2011, 113(8): 826-832.

[8] Ono T. Roles of coagulation pathway and factor Xa in chronic kidney disease (CKD) [J]. Yakugaku Zasshi, 2012, 132(4): 449-453.

[9] 易斌, 蔡旭, 张浩, 等. 基因组 DNA 和结缔组织生长因子基因启动子甲基化状态与 2 型糖尿病肾病的关系[J]. 中华肾脏病杂志, 2012, 28(3): 189-193.

[10] 包慧兰, 叶赏和, 楼时先, 等. 早期糖尿病肾病血清 HGF、Cys C 和 TGF- $\beta 1$ 水平及平肾汤干预的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(6): 1128-1131.

[11] 朱虹, 刘铁奇. 不同 2 型糖尿病肾病患者血清肝细胞生长因子水平的观察[J]. 中华全科医师杂志, 2015, 14(10): 765-767.

[12] Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M, et al. Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor [J]. Nature, 1989, 342(6248): 440-443.

[13] 陈雨思, 李均. 肝细胞生长因子抗肾纤维化的机制[J]. 海南医学, 2016, 27(20): 3364-3366.

[14] 向杨, 龙家乐, 邢健生, 等. 近交系五指山小型猪骨髓间充质干细胞体外分泌肝细胞生长因子延缓慢性肾脏病纤维化进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2016, 41(12): 1260-1269.

[15] Chen X, Chen Z, Wang H, et al. Plasmid p UDK-HGF encoding human hepatocyte growth factor gene attenuates gentamicin-induced kidney injury in rats[J]. Exp Toxicol Pathol, 2013, 65(5): 541-547.

(收稿日期: 2017-07-05 修回日期: 2017-08-30)

(上接第 3392 页)

市农村妇女 HPV 感染状况与危险因素分析[J]. 实用妇产科杂志, 2013, 29(9): 662-666.

[9] 李静, 屠铮, 赵超, 等. 北京市社区妇女人乳头瘤病毒感染率及其对 HPV 和疫苗认知情况的调查分析[J]. 中国肿瘤, 2008, 17(3): 168-172.

[10] Husaiyin S, Niyazi M, Wang Lh, et al. HPV infection among uygur women in a rural area of Hetian Prefecture, Xinjiang uygur autonomous region, China[J]. Biomed Environ Sci, 2013, 26(11): 934-936.

[11] 马均益, 郁晓燕, 高沛. 3167 例妇科患者 HPV 感染基因分型检测分析[J]. 疾病预防控制中心通报, 2014, 29(5): 37-38.

[12] 崔鲂, 孟江萍, 向瑜. 流式荧光杂交技术和导流杂交基因芯片技术在 HPV 分型检测中的应用评价[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(5): 395-397.

[13] 董长林, 陈国军, 陆建红. 采用流式荧光杂交技术调查嘉兴地区女性 HPV 感染及分型[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(16): 3468-3470.

[14] 张晓琴, 李胜泽. HPV 疫苗预防宫颈癌的研究进展[J]. 中华全科医学, 2015, 13(9): 1511-1513.

[15] 王卡娜, 郗明蓉. HPV 治疗性疫苗研究现状[J]. 实用妇产科杂志, 2017, 33(2): 89-91.

(收稿日期: 2017-05-12 修回日期: 2017-07-25)