

[16] LIU M, XU L J, WU J X. Changes of circulating CD4 (+)CD25(+)/CD127(low) regulatory T cells in patients with acute coronary syndrome and its significance[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4):15930-15936.

[17] 李婷. 急性冠脉综合征患者中 sfg12 及 Treg 表达的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.

(收稿日期: 2018-09-20 修回日期: 2018-12-28)

• 短篇论著 •

## 南京地区女性高危型 HPV 亚型分布特征及与宫颈病变的临床分析\*

张美娟<sup>1</sup>, 成祥君<sup>1</sup>, 邱胜丰<sup>1,2,Δ</sup>

(1. 南京医科大学第一附属医院检验学部, 江苏南京 210029; 2. 江苏省妇幼保健院检验科, 江苏南京 210036)

**摘要:**目的 探讨南京地区女性高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)亚型分布特征, 并分析其在宫颈疾病诊治中的应用价值。方法 收集 2017 年 1—12 月江苏省妇幼保健院门诊就诊、自愿接受 HPV 分型检测的 3 598 例女性患者的宫颈脱落细胞标本, 采用罗氏 Cobas 4800 HPV 检测系统进行 14 种 HR-HPV 分型(16、18 型和其他 12 种亚型)检测, 对 HPV 分型检测阳性病例进行阴道镜检查, 有异常者行多点活检。分析 HR-HPV 感染与宫颈病变的关系。结果 3 598 例患者中检出 HR-HPV 感染 1 404 例, 阳性率为 39.02%。HPV 阳性患者主要集中于 25~<55 岁, 占 89.58%。随着年龄的增长, HR-HPV 阳性率逐渐增高, 阳性率最高的是 65 岁以上人群, 阳性率为 58.06%。以单一亚型感染为主, 共 1 247 例(88.82%), 双重感染 154 例(10.97%)。HPV16 阳性 318 例(20.33%), HPV18 阳性 99 例(6.33%), 其他 12 种 HR-HPV 阳性 1 147 例(73.34%)。在不同程度的宫颈病变中均以单一亚型感染为主(83.37%), 但双重感染患者宫颈病变级别明显升高, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。HPV16 阳性患者宫颈病变率高达 72.33%, 引发宫颈病变为高级别宫颈鳞状上皮内病变(宫颈上皮内瘤变 II~III)及以上者占 53.88%, 明显高于其他 HPV 亚型, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 南京地区女性 HR-HPV 阳性率随年龄增长逐渐增高。以单一感染为主, 但多重感染能显著增加宫颈病变发生率, 其中 HPV16 亚型感染更易引发宫颈高级别病变。

**关键词:**人乳头瘤病毒 16; 人乳头瘤病毒 18; 宫颈疾病; 江苏

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.026

**中图分类号:**R373;R711.74

**文章编号:**1673-4130(2019)10-1258-04

**文献标识码:**B

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一, 近年来呈明显上升和年轻化趋势<sup>[1]</sup>。宫颈癌前病变的发生、发展与高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)的持续感染密切相关<sup>[2]</sup>。HPV 是女性通过性传播感染的最常见病毒。至今已发现的 HPV 亚型有 150 多种, 其中 HR-HPV 包括 16、18、52、58 型等, 不同 HPV 亚型所致疾病存在差异。

目前, 我国宫颈癌筛查仍以细胞学检查为主, 但在宫颈疾病诊治中 HPV 感染检测及分型检测的应用也逐渐得到推广<sup>[3]</sup>。为探讨 HR-HPV 亚型检测诊断宫颈病变的价值及南京地区女性患者 HR-HPV 的分布, 本研究对 2017 年在江苏省妇幼保健院就诊患者的 HR-HPV 亚型分布进行了分析, 并与细胞学结果进行了比较, 以便优化诊疗路径。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2017 年 1 月 1 日至 12 月 31 日在江苏省妇幼保健院妇科因各种原因就诊、经知情同

意自愿接受宫颈 HPV 分型检查的 3 598 例女性患者的病例资料, 年龄 16~86 岁, 平均(39.73±9.39)岁, 中位年龄 40 岁。部分患者疑似存在宫颈病变, 其中 831 例同时进行了宫颈细胞学及阴道镜组织学病理检查。纳入标准: (1)既往有性生活史; (2)3 个月内未使用性激素; (3)非妊娠期; (4)非月经期; (4)无严重自身免疫性疾病。

**1.2 仪器与试剂** 采用罗氏 Cobas 4800 HPV 检测系统[包括 Cobas x480 DNA 提取仪, 实时荧光定量 Cobas z480 聚合酶链反应(PCR)仪及循环数(Ct)值自动读取软件平台]进行检测, Cobas HPV 检测试剂盒购自美国罗氏公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 用干净棉球擦净宫颈口分泌物, 然后用专用毛刷前半部于宫颈管内 1.0~1.5 cm 适当加压, 顺时针旋转 5 圈左右, 收集宫颈管内及外口的脱落上皮细胞, 置于保存液中, 用漩涡法洗脱刷头上细胞, 标明信**

\* 基金项目: 江苏省自然科学基金青年基金资助项目(BK20151035); 江苏省卫生健康委员会科研课题(Y2015065)。

Δ 通信作者, E-mail: 13813930278@163.com。

息后送分子实验室。Cobas HPV 检测试剂盒可同时检测 14 种 HR-HPV, 包括 16、18 和其他 12 种 HR-HPV(31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68b)。按试剂盒说明书的要求, 提取 HPV DNA, 并将已自动加样的 PCR 板移至 Cobas z480 PCR 仪中进行 PCR 扩增和荧光检测。读取 Ct 值并报告检测结果。以  $\beta$ -globin 保守基因作为内部质控, 每次实验中均设置阴性和阳性质控。

**1.3.2 细胞学检查与宫颈组织活检** 细胞学检查采用液基细胞学检查(TCT)。分类诊断结果为:(1)未见宫颈上皮病变或恶性改变(NILM);(2)未明确诊断的非典型鳞状上皮细胞(ASCUS);(3)非典型鳞状上皮细胞不除外高级别鳞状上皮内病变(ASC-H);(4)低级别宫颈鳞状上皮内病变(LSIL);(5)高级别宫颈鳞状上皮内病变(HSIL);(6)宫颈癌(包括鳞状细胞癌、腺癌)。ASCUS 及以上病变判定为细胞学检查阳性。经细胞学诊断为 ASCUS 及以上或 HR-HPV 阳性者经阴道镜评估后取宫颈活组织进行病理检查。宫颈组织病理活检结果报告方式为:(1)良性病变、慢性炎症;(2)宫颈上皮内瘤变(CIN) I ;(3)CIN II ;(4)CIN III ;(5)鳞状细胞癌;(6)腺癌。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 统计软件对数据进行分析, 计数资料以率(%)表示, 采用  $\chi^2$  检验。检验标准:  $\alpha=0.05$ , 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 HR-HPV 整体感染情况** 3 598 例标本中 HR-HPV 阳性 1 404 例, 阳性率为 39.02%。根据美国中期指南确定的筛查年龄已由 30 岁提前至 25 岁<sup>[4]</sup>, 因此, 本研究将 25 岁作为划分界限。HR-HPV 感染人群主要集中于 25~<55 岁(89.58%)。随着年龄的

增长, HR-HPV 阳性率逐渐增高。阳性率最高者是 65 岁以上人群, 阳性率为 58.06%, 其次为 55~<65 岁年龄段, 阳性率为 46.52%。35~<45 岁患者 HPV 阳性率为 40.98%; 25~<35 岁患者 HR-HPV 阳性率为 35.00%。各年龄组患者 HR-HPV 阳性率比较, 差异有统计学意义( $\chi^2=20.364, P=0.001$ )。见表 1。

**2.2 HR-HPV 混合感染及不同亚型分布情况**

1 404 例阳性患者中以单一亚型感染者最多, 1 247 例(88.82%); 双重感染者 154 例(10.97%); 三重感染者仅检出 3 例。单一感染中以其他 12 种 HR-HPV 最多, 991 例(79.47%); HPV16 阳性 211 例(16.92%); HPV18 阳性 45 例(占 3.61%)。双重感染以 HPV16 与其他 12 种 HR-HPV 混合感染较多见, 102 例(66.23%); 其次是 HPV18 与其他 12 种 HR-HPV 的混合感染, 50 例(32.47%); HPV16 和 HPV18 的双重感染仅检出 2 例。为分析不同 HR-HPV 亚型的感染情况, 将多重感染病例中不同亚型进行分别计算, HPV16 阳性 318 例(20.33%), HPV18 阳性 99 例(6.33%), 其他 12 种 HR-HPV 阳性 1 147 例(73.34%)。

表 1 HR-HPV 整体感染及年龄分布情况

年龄组(岁)	n	HPV 阳性(n)	HPV 阴性(n)	HPV 阳性率(%)
<25	157	55	102	35.03
25~<35	1 154	404	750	35.00*
35~<45	1 242	509	733	40.98*
45~<55	827	331	496	40.02*
55~<65	187	87	100	46.52*
≥65	31	18	13	58.06*
总计	3 598	1 404	2 194	39.02

注: 各年龄组 HPV 阳性率比较,  $\chi^2=20.364, * P=0.001$

表 2 HPV 多重感染与宫颈病变的关系[n(%)]

HPV 感染	NILM	ASCUS	LSIL(CIN I)	HSIL		宫颈癌	合计
				CIN II	CIN III		
单一感染	335(45.83)	64(8.76)	112(15.32)	75(10.26)	139(19.02)	6(0.82)	731(87.97)
双重感染	21(21.21)	4(4.04)	20(20.20)	25(25.25)	25(25.25)	4(4.04)	99(11.91)*
三重感染	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(0.12)
合计	356(43.92)	68(8.18)	132(15.88)	101(12.15)	164(19.74)	10(1.20)	831(100.00)

注: 与单一感染比较,  $\chi^2=35.846, * P=0.000$

**2.3 831 例同时进行了宫颈细胞学及阴道镜组织学病理检查患者宫颈病变分析** 在不同程度的宫颈病变中, 均以单一亚型感染为主(87.97%)。单一感染者中发生 HSIL 及以上宫颈病变率为 30.10%(220/731); 而双重感染者发生 HSIL 及以上宫颈病变率为 54.55%(54/99)。相较于单一感染, 双重感染发生宫颈病变级别明显升高, 差异有统计学意义( $\chi^2=35.846, P=0.000$ )。三重感染因患者数较少, 故未进行统计学分析。见表 2。为分析不同 HPV 亚型与宫颈病变的关系, 对 831 例有病理诊断患者中的多重感

染病例分别进行计算。HPV16 阳性患者宫颈病变率最高, 达 22.34%, 且病理诊断主要是 HSIL(CIN II~III)者, 占 53.88%(111/206); HPV18 阳性患者宫颈病变率为 7.38%, 病理学检查结果为 HSIL(CIN II~III)者仅占 29.41%(20/68), 而 LSIL(CIN I)较多, 达 23.53%; 其他 12 种 HR-HPV 阳性患者宫颈病变率为 70.28%, 病理诊断为 HSIL(CIN II~III)者占 28.70%(186/648)。三组患者宫颈病变情况比较, 差异有统计学意义( $\chi^2=16.721, P=0.000$ )。因本研究纳入的宫颈癌患者数较少, 故 HPV16 和 18 阳性率分

别为 2.43% 和 4.41%，其他 12 种 HR-HPV 阳性率更低，仅有 0.93%。见表 3。

表 3 不同 HPV 感染亚型与宫颈病变的关系

HPV 型别	NILM	ASCUS	LSIL(CIN I)	HSIL		宫颈癌	合计
				CIN II	CIN III		
HPV16	57(27.67)	9(4.37)	24(11.65)	38(18.45)	73(35.41)	5(2.43)	206(22.34)
HPV18	23(33.82)	6(8.82)	16(23.53)	13(19.12)	7(10.29)	3(4.41)	68(7.38)*
其他 12 种 HR-HPV	297(45.83)	57(8.80)	102(15.74)	77(11.88)	109(16.82)	6(0.93)	648(70.28)*
合计	377(40.89)	72(7.81)	142(15.40)	128(13.88)	189(20.50)	14(1.52)	922(100.00)

注:3 种 HPV 型别宫颈病变情况比较,  $\chi^2=16.721$ , \*  $P=0.000$

### 3 讨论

宫颈癌发病率居全球妇科恶性肿瘤第 2 位,流行病学及基础医学研究已证实,HR-HPV 的持续感染是 CIN 和宫颈癌的主要病因<sup>[5]</sup>。所以,对 HR-HPV 的早期分型检测能及时发现宫颈病变并进行早期治疗,以降低宫颈癌发病率,起到早发现、早诊断、早治疗的作用。目前,很多国家和地区均将 HPV 的基因分型检测纳入到宫颈癌前筛查计划中<sup>[6]</sup>。

我国 HPV 的阳性率因地区和研究人群不同而存在明显差异<sup>[7]</sup>。本研究结果显示,本院妇科门诊就诊人群 HR-HPV 阳性率为 39.02%,与王珑等<sup>[8]</sup>在赣南地区进行的研究结果类似,但明显高于夏艳等<sup>[9]</sup>在上海地区进行的研究结果(23.66%)。究其原因,除地域、人群差异外,与使用的检测方法不同亦有关。本研究结果显示,随年龄的增长,HR-HPV 阳性率逐渐增高,阳性率最高的是 65 岁以上人群,与林亚珍等<sup>[10]</sup>在漳州地区进行的研究结果类似。考虑到本研究中 65 岁以上人群的样本量较少,今后应更多关注老年女性 HPV 感染情况。值得注意的是在 25 岁以下的年轻女性中 HPV 阳性率也高达 35.03%,可能与年轻女性宫颈上皮修复功能尚未成熟有关,过早的性生活、多个性伴侣等因素易增加感染的风险。因此,有必要扩大对年轻女性 HPV 基因分型检测的普查范围。尽管年轻女性感染 HR-HPV 后绝大部分可自然清除,但持续感染仍可能罹患宫颈癌,因此,青春期女性可考虑尽早接种 HPV 疫苗<sup>[11]</sup>。

由于不同亚型 HPV 其编码外壳的基因变异很大,不同 HPV 亚型之间基本无交叉保护性抗体,易造成不同 HR-HPV 的多重感染<sup>[12]</sup>。有学者认为,HPV 多重感染出现持续感染的危险性更大,易导致宫颈病变。但也有文献报道多重 HPV 亚型感染与宫颈病变进展无关,可能与研究纳入的样本人群不同有关<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,HR-HPV 感染者中以单一亚型感染为主,占 87.97%,与大多文献报道结果一致<sup>[13]</sup>。但双重感染者发生 HSIL 及以上宫颈病变显著多于单一感染者(分别为 54.55%、30.10%),可能与在单一感染状态下自身免疫系统更易清除病毒有关。

不同亚型 HPV 感染对宫颈细胞恶变的发生、发

展具有显著差异<sup>[14]</sup>。本研究结果显示,其他 12 种 HR-HPV 感染者宫颈病变率最高,占 70.28%,其次为 HPV16 阳性者,占 22.34%,HPV18 阳性最低,仅占 7.38%。通过研究明确了本地区 HPV 感染流行的主要型别,将对 HPV 感染引起的宫颈病变的预防和治疗提供可靠依据。根据目前的资料显示,相较于 HPV16 和 HPV18,其他 12 种 HR-HPV 的致癌风险相对较低,阳性患者只需定期复查<sup>[15]</sup>。因本研究所用检测方法的局限性,是对 12 种 HR-HPV 亚型感染的汇总结果,并不能具体到某一型别。随着对不同 HR-HPV 亚型感染与宫颈病变研究的深入,发现其他 12 种 HR-HPV 亚型对宫颈病变的预防治疗也具有越来越重要的意义。因此,通过其他检测方法对 12 种 HR-HPV 亚型进行具体分型检测,也是今后 HR-HPV 分型检测的方向。

本研究结果显示,HPV16 阳性患者宫颈病变为 HSIL(CIN II ~ III)者最多,占 53.88%,显著高于 HPV18 阳性和其他 12 种 HR-HPV 阳性患者的宫颈病变为 HSIL(CIN II ~ III)者(分别占 29.41%、28.70%),不同 HR-HPV 亚型宫颈病变程度比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。由此可见,HPV16 是致病力最强的亚型,更易致宫颈高级别病变。与大多数文献报道结果一致。其原因可能是 HPV16 感染后抑制机体免疫应答能力更强,更易实现持续性感染有关<sup>[16]</sup>。故应加强对 HPV16 阳性患者的管理,发现阳性者积极进行阴道镜检查,及早发现宫颈高级别病变。

宫颈癌的发生、发展是由量变到质变、渐变到突变的连续过程。因此,在宫颈疾病治疗前有必要了解 HR-HPV 感染状况及基因型别,将有利于宫颈癌的预防、疫苗的研制和接种,以及对宫颈疾病患者的术后管理,应引起患者、医院和社会的高度关注。

南京地区女性 HR-HPV 阳性率随年龄的增长逐渐增高。以单一感染为主,但多重感染能显著增加宫颈病变发生率,其中 HPV16 亚型感染更易引发宫颈高级别病变。

### 参考文献

[1] HERZOG T J, WRIGHT J D. The impact of cervical

- cancer on quality of life—the components and means for management [J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 107(3): 572-577.
- [2] 耿建祥, 黄华艺, 刘建华, 等. HPV 感染疾病相关问题专家共识(2017)[J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(12): 1238-1241.
- [3] 王轶英, 王悦, 乔友林, 等. 中国宫颈癌筛查未来之路—细胞学初筛的弃或守[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2017, 33(3): 324-326.
- [4] HUH W K, AULT K A, CHELMOW D, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancerscreening: interim clinical guidance [J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 136(2): 178-182.
- [5] 李凌佳, 张胜, 刘彤云, 等. 人乳头瘤病毒分子流行病学及临床相关疾病诊疗进展[J]. *皮肤病与性病*, 2017, 39(1): 21-23.
- [6] 严鸣光, 殷卫兵. 高危型 HPV 基因型在门诊就诊人群中的分布特征[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2018, 10(1): 30-33.
- [7] 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.
- [8] 王珑, 吴霞, 谢爱华, 等. 赣南地区 1452 例女性宫颈重度炎症和 TCT 阳性患者人乳头瘤病毒(HPV)感染型别分析探讨[J]. *实验与检验医学*, 2017, 35(5): 791-793.
- [9] 夏艳, 金志军, 倪云翔, 等. 上海市人乳头瘤病毒感染及病毒分型与宫颈病变的探讨[J]. *第二军医大学学报*, 2017, 38(12): 1526-1531.
- [10] 林亚珍, 唐忠辉, 黄仲庆, 等. 漳州地区 HPV 感染的基因型分布特点与宫颈病变的关系[J]. *山西医科大学学报*, 2014, 45(12): 1147-1150.
- [11] HARIRI S, BENNETT N M, NICCOLAI L M, et al. Reduction in HPV 16/18-associated high grade cervical lesions following HPV vaccine introduction in the United States-2008-2012[J]. *Vaccine*, 2015, 33(13): 1608-1613.
- [12] 姬川刚, 甘霖, 彭霖希, 等. 高危型 HPV 分型检测在宫颈疾病诊治中的应用价值[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2015, 7(6): 29-32.
- [13] 梁艳华, 毕超, 梁景耀, 等. 不同亚型 HPV 感染与女性宫颈疾病的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2017, 9(3): 196-200.
- [14] DUNNE E F, MARKOWITZ L E. Emerging Infections: Genital human papillomavirus infection [J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 43(5): 624-629.
- [15] ARK Y, LEE E, CHOI J, et al. Comparison of the abbot real time high-risk human papillomavirus (HPV), roche cobas HPV, and hybrid capture 2 assays to direct sequencing and genotyping of HPV DNA[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(7): 2359-2365.
- [16] 殷艳, 韦业平, 黄燕, 等. HPV 分型检测在宫颈细胞学阴性妇女宫颈病变诊断中的临床意义[J]. *山西医科大学学报*, 2016, 47(3): 281-284.

(收稿日期: 2018-09-27 修回日期: 2018-12-25)

## • 短篇论著 •

## 德阳地区地中海贫血基因型分析

王 秀, 曹桂群, 文 强, 徐志红

(德阳市人民医院生殖遗传科, 四川德阳 618000)

**摘要:**目的 了解德阳地区地中海贫血(地贫)的基因型检出情况及分布特点。方法 对 2012 年 2 月至 2018 年 9 月该院就诊疑诊为地贫患者 2 498 例采用聚合酶链反应和反向斑点杂交技术进行地贫基因检测。结果 2 498 例疑诊患者中检出地贫基因携带者 1 537 例, 检出率为 61.53%, 共检出 41 种地贫基因突变类型, 其中  $\alpha$  地贫 756 例, 占 49.19% (756/1 537); 前 4 位  $\alpha$  地贫的基因型及构成比分别为  $-\text{SEA}/\alpha\alpha$  [74.87% (566/756)]、 $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$  [12.70% (96/756)]、 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$  合并  $-\alpha 3.7$  [3.70% (28/756)]、 $\alpha 4.2/\alpha\alpha$  [2.65% (20/756)]。 $\beta$  地贫 752 例, 占 48.93% (752/1 537), 检出前 4 位突变基因型及构成比分别是 CD41-42 [35.37% (266/752)]、IVS-2-654 [26.60% (200/752)]、CD17 [24.20% (182/752)]、-28 [5.98% (45/752)];  $\alpha\beta$  复合型地贫 29 例, 占 1.89% (29/1 537), 主要以 CD41-42 合并  $-\text{SEA}/\alpha\alpha$  和  $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$  为主。结论 德阳地区地贫基因的检出率较高且类型较多,  $\alpha$  地贫与  $\beta$  地贫携带率相接近, 分布具有区域性特点, 可为该地区地贫的诊疗与遗传咨询、产前诊断提供依据。

**关键词:** 地中海贫血; 基因型; 聚合酶链反应; 四川**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.027**中图法分类号:** R556.6; R446.61**文章编号:** 1673-4130(2019)10-1261-04**文献标识码:** B

地中海贫血(地贫)是一种常染色体隐性遗传病, 是由于编码珠蛋白的基因发生缺失或点突变, 使珠蛋