

• 短篇论著 •

赤峰地区 2 488 例女性人乳头瘤病毒感染特征分析*

马 成¹, 莫殿军^{2△}, 崔智慧^{1△}, 刘金元³, 李亚波³
(赤峰学院附属医院: 1. 中心实验室; 2. 检验科, 内蒙古赤峰 024005;
3. 上海鼎晶生物医药科技股份有限公司, 上海 201203)

摘 要:目的 了解赤峰地区女性人乳头瘤病毒(HPV)感染基因型别分布情况, 为当地女性宫颈癌的预防、诊断和治疗提供临床依据。**方法** 选取 2018 年 11 月至 2019 年 3 月在赤峰学院附属医院妇科门诊就诊及进行健康体检的女性受试者 2 488 例, 收集女性受试者宫颈拭子标本(宫颈脱落细胞), 采用 PCR-反向点杂交法对标本中的 HPV-DNA 进行 25 种分型检测, 并统计分析 HPV 型别分布情况。**结果** 2 488 例 HPV 标本感染 730 例, 阳性率为 29.34%; 25 种分型中检出 24 种 HPV 亚型, 其中低危亚型 HPV83 没有检出, 高危亚型占前 3 位的分别是 HPV52、16、58, 低危亚型占前 3 位的分别是 HPV42、81、43。单一亚型阳性构成比为 65.62%, 多重亚型阳性构成比为 34.38%; 高危亚型、低危亚型和混合亚型阳性构成比分别为 71.10%、14.38%、14.52%; HPV 阳性构成比最高年龄段为 31~40 岁, 且各年龄段检出率差异不明显。**结论** 赤峰地区女性人群中 HPV 感染率较高, 31~40 岁为 HPV 感染率最高的年龄段, 以单一亚型、高危亚型感染为主, 主要为 HPV52、16、58。

关键词:人乳头瘤病毒; PCR-反向点杂交技术; 基因分型; 宫颈癌
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.02.028 **中图法分类号:**R711.74; R737.3
文章编号:1673-4130(2020)02-0239-03 **文献标识码:**B

人乳头瘤病毒(HPV)是一种无包膜的二十面体衣壳蛋白病毒, 属于一种双链小 DNA 病毒, 由病毒蛋白外壳 L1 和 L2 及遗传物质 DNA 组成^[1], 具有明显的种属特异性, 人是其唯一宿主, HPV 主要感染人的皮肤和黏膜, 致使人体呼吸道、生殖道和皮肤等出现不同程度的病变。宫颈癌的发病率呈现出增高和年轻化的趋势, 许多研究证实, HPV 感染与宫颈癌密不可分。目前, 已发现 200 多种 HPV 亚型, 依据其致病力强弱分为高危型和低危型, 其中, 高危型与多种恶性肿瘤的发生密不可分, 如乳腺癌、结直肠癌等^[2-3], 为宫颈癌和癌前病变的致病因素; 低危型主要诱发外生殖器的尖锐湿疣和子宫颈上皮低级别的非典型增生(CINI)且不引起恶性病变。另外, HPV 感染具有地域和年龄的差异, 本文分析赤峰地区 2 488 例 HPV 检测结果并进行统计分析, 为赤峰地区女性宫颈癌的预防、诊断和治疗提供临床参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 11 月至 2019 年 3 月在妇科门诊就诊及进行健康体检的女性受试者 2 488 例为研究对象, 排除病历资料不完整、月经期或严重疾病及标本细胞过少或不合格的患者, 对其以年龄段为分组依据, 分为≤30 岁组, 31~40 岁组, 41~50 岁组, ≥51 岁组。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 可调试混匀仪(大龙, MS-X); 低温高速离心机(eppendorf, Centrifuge 5424R); 恒温金属浴(上海沪析, HX-20); 实时荧光定量 PCR 仪(Thermo fisher, ABI 7500); 基因扩增仪(杭州晶格, K960); 数显恒温水浴锅(国华电器, HH-2); 分子杂交仪(兴化市分析仪器, FYY-3); 转移脱色摇床(海门其林贝尔, TS-8)。

1.2.2 试剂 HPV 基因分型(25 种分型)检测试剂盒购自艾康生物技术(杭州)有限公司, 可分型检测 25 种 HPV 亚型, 包括 14 种高危型(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、73); 3 种疑似高危型(HPV26、53、66); 8 种低危型(HPV6、11、40、42、43、44、81、83)。

1.3 PCR-反向点杂交法原理 试剂盒采用 PCR 体外扩增和 DNA 反向点杂交相结合的基因检测技术, 通过 HPV 特异引物, 扩增出 25 种目的片段, 与膜条上特异性探针杂交, 依据杂交信号判断 HPV 基因型。

1.4 方法

1.4.1 标本的采集 医护人员采用扩阴器扩阴以暴露宫颈, 用棉拭子擦去宫颈口过多的分泌物, 换取 HPV 专用采集拭子伸入宫颈, 通过上皮交界处旋转 3~4 周以获得足够的宫颈脱落细胞, 将其放入 HPV 专用的细胞保存液中, 密封送检, 4℃ 保存, 1 周内完成检测。

* 基金项目: 2019 年赤峰市自然科学基金项目(SZR2019145)。
△ 通信作者, E-mail: cfmodianjun@126.com; E-mail: cuizh3216@126.com。
本文引用格式: 马成, 莫殿军, 崔智慧, 等. 赤峰地区 2 488 例女性人乳头瘤病毒感染特征分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(2): 239-241.

1.4.2 HPV 分型检测 标本的处理:标本充分震荡混匀后吸取 1.0 mL 于 1.5 mL EP 管中,12 000 r/min 离心 5 min,弃掉上清留沉淀;HPV 阴性、阳性质控品和标本沉淀分别加入混匀的 50 μ L 核酸提取液,混匀后 100 $^{\circ}$ C 干浴 10 min,12 000 r/min 离心 10 min,上清供 PCR 扩增备用。试剂配制与上样:依据检测标本数量配置 PCR 反应液,分别取标本、阴性和阳性质控品上清液 5 μ L 于 PCR 反应液中,按照说明书中 PCR 反应条件进行扩增。杂交、洗膜、显色和结果判读均严格按照说明书进行。

1.5 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率或构成比表示,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 感染率及各亚型分布情况 送检 2 488 例标本中共检出 HPV 阳性标本 730 例,总感染率为 29.34%(730/2 488),共检出 24 种亚型(高危亚型 17 种,低危亚型 7 种),其中低危亚型 HPV83 没有检出,高危亚型占前 3 位的分别为 HPV52(132 例)、HPV16(129 例)和 HPV58(107 例),低危亚型占前 3 位的分别为 HPV42(66 例)、HPV81(44 例)和 HPV43(41 例),各亚型分布情况见表 1。

表 1 HPV 各亚型感染分布情况

HPV 亚型	阳性例数(<i>n</i>)	感染率(%)
HPV52	132	5.31
HPV16	129	5.18
HPV58	107	4.30
HPV53	74	2.97
HPV42	66	2.65
HPV51	63	2.53
HPV39	55	2.21
HPV81	44	1.77
HPV43	41	1.65
HPV66	40	1.61
HPV35	38	1.53
HPV56	37	1.49
HPV31	34	1.37
HPV33	34	1.37
HPV59	32	1.29
HPV68	29	1.17
HPV6	29	1.17
HPV18	26	1.05
HPV40	23	0.92
HPV44	21	0.84
HPV11	12	0.48
HPV45	10	0.40
HPV26	7	0.28
HPV73	4	0.16
HPV83	0	0.00
合计	1 087	43.69

2.2 HPV 单一亚型感染与多重亚型感染情况 730

例阳性标本中,单一亚型占 479 例,阳性构成比为 65.62%;多重亚型占 251 例,阳性构成比为 34.38%,因此,HPV 主要以单一亚型感染为主,见表 2。

表 2 单一亚型感染和多重亚型感染分布情况

HPV 感染类型	阳性例数(<i>n</i>)	阳性构成比(%)
单一亚型感染	479	65.62
二重亚型感染	170	23.29
三重及以上亚型感染	81	11.10
合计	730	100.00

2.3 阳性标本中高危亚型、低危亚型和混合亚型感染情况 730 例阳性标本中,高危亚型 519 例,阳性构成比为 71.10%;低危亚型 105 例,阳性构成比为 14.38%;混合亚型 106 例,阳性构成比为 14.52%,因此,HPV 主要以高危亚型感染为主,见表 3。

表 3 高危、低危和混合亚型分布情况

HPV 感染基因型分组	阳性例数(<i>n</i>)	阳性构成比(%)
高危型组	519	71.10
低危型组	105	14.38
混合型组	106	14.52
合计	730	100.00

2.4 不同年龄组中 HPV 感染阳性率比较 730 例阳性标本在 4 个年龄组阳性例数分布情况为 102、258、239 和 131 例;阳性构成比为 13.97%、35.34%、32.74% 和 17.95%;检出率分别为 29.74%、27.92%、28.25% 和 34.93%。因此,各年龄段阳性构成比存在明显差异,且最高年龄段在 31~40 岁;检出率在各年龄组间差异不明显($\chi^2=7.065, P=0.07$),见表 4。

表 4 各年龄段 HPV 感染亚型分布情况

年龄	筛查例数(<i>n</i>)	阳性例数(<i>n</i>)	阳性构成比(%)	检出率(%)
≤ 30	343	102	13.97	29.74
31~40	924	258	35.34	27.92
41~50	846	239	32.74	28.25
≥ 51	375	131	17.95	34.93
合计	2 488	730	100.00	29.34

3 讨 论

宫颈癌是临床最常见的妇科恶性肿瘤之一,其发病率仅次于乳腺癌,严重威胁女性生命与健康,其早期临床症状不典型,一旦出现明显症状与体征时,临床提示肿瘤恶性程度较高,死亡风险较大^[4]。但是,宫颈癌的发生与发展分为 3 个连续性的阶段,即宫颈上皮内瘤变、原位癌和浸润癌,经历至少 10 年甚至更长时间。因此,对宫颈癌的早期筛查、预防、诊断与治疗尤为重要^[5]。1996 年,世界卫生组织认为 HPV-DNA 是引发宫颈癌的关键致病因子,HPV-DNA 的

基因分型检测可以作为宫颈癌早期筛查的依据。

HPV 感染分布具有地理区域性和年龄差异,不同国家和地区的宫颈癌发生与 HPV 不同型别感染具有相关性,且宫颈癌的检出率呈现年轻化的趋势。

本文对赤峰地区 2 488 例标本进行 HPV 基因分型检测,感染率为 29.34%,单一亚型阳性构成比为 65.62%,高危亚型感染以 HPV52、16、58、53、51 为主,与洪萍等^[6]2019 年 3 月报道的 HPV 感染谱分布特点基本一致,说明相近时间段北方地区 HPV 感染谱具有趋同性。

对比本院检验科李树敏等^[7]2016 年的报道,报道显示,赤峰地区 HPV 阳性率(23.21%)、单一亚型阳性构成比(37.14%)和高危亚型感染优势型别(HPV16、18、31、33、52)与本研究结果存在差异,原因可能与时间、季节、受检人群和标本量有关。在我国 HPV 感染和宫颈癌发病率每年呈上升趋势;且有报道称各季节高危亚型 HPV 感染略有差异,HPV16、58、52 四季中常见,HPV31 春季常见,HPV18 夏季常见,HPV33 秋季常见^[8]。本文选取标本时间主要集中在冬季,因此,HPV18、31、33 高危亚型相对较少;且李树敏等^[7]入组人群为妇科就诊患者,不包括体检人群,大多存在妇科炎症问题和不同程度的宫颈病变,与宫颈腺癌相关的 HPV18 所占比例升高^[9-11],HPV 多重亚型感染与宫颈上皮内病变呈正相关^[12],所以李树敏等^[7]报道以多重亚型感染为主。既往研究证实,女性宫颈疾病的严重程度与 HPV 感染亚型、多重感染亚型和感染持续时间成正相关。

本研究结果显示,HPV 阳性率(29.34%)高于内蒙古自治区中西部的 23.3%^[13],低于邯郸地区的 36.26%^[14];感染优势型别(HPV52、16、58、53、42)与任妹等^[15]报道我国常见 HPV 感染型别(HPV16、18、52、58、33)存在差异,以上数据显示,HPV 感染分布存在时间、季节、人群和地理区域性差异。

本研究将女性受试者按年龄分为 4 组,阳性构成比占比较高的为 31~40 岁和 41~50 岁年龄组,且 31~40 岁最高。因此,加强本年龄组的筛查有利于宫颈癌的防治;各年龄组间检出率差异无统计学有意义($P=0.07$),因为研究对象以来院就诊患者居多,存在不同程度症状,检出率在各年龄组间趋于一致。

本地区 HPV 高危亚型、低危亚型和混合亚型阳性构成比分别为 71.10%、14.38%和 14.52%,高危亚型中前 3 位为 HPV52、16 和 58,与邯郸地区 HPV 感染高危亚型前 3 位存在差异^[14],而 HPV16、58 和 52 亚型在亚洲人群中,尤其是中国高发地区具有重要指导意义。

综上所述,随着宫颈癌项目筛查的进行,HPV 疫苗的普及,公众健康意识的提高,就医人群结构和目的发生变化,区域性 HPV 感染谱呈现动态过程。本研究进一步更新和补充了区域性数据库,为本地区

HPV 最新流行情况、宫颈癌的筛查、预防和治疗提供理论依据,具有重要的指导意义。

参考文献

- [1] ANAB M H. HPV16 L2 improves HPV16 L1 gene delivery as an important approach for vaccine design against cervical cancer[J]. Bratislava Med J, 2016, 117(3): 179-184.
- [2] HSI E D, SVOBODA-NEWMAN S M, STERN R A, et al. Detection of human papillomavirus DNA by polymerase chain reaction and southern blot hybridization in colorectal cancer patients[J]. Am J Dermatopathol, 2009, 14(3): 495-499.
- [3] IBRAGIMOVA M K, TSYGANOV M M, LITVIAKOV N V. Human papillomavirus and colorectal cancer[J]. Med Oncol, 2018, 35(11): 140-148.
- [4] HAMMER A, KONING M N D, BLAAKAER J, et al. Whole tissue cervical mapping of HPV infection: molecular evidence for focal latent HPV infection in humans[J]. Papillomavirus Res, 2019, (2): 366-372.
- [5] RIZZO A E, FELDMAN S. Update on primary HPV screening for cervical cancer prevention [J]. Current Problems in Cancer, 2018, 42(5): 801-810.
- [6] 洪萍, 王培昌, 刘宇, 等. 北京地区妇科门诊患者沙眼衣原体和人类乳头瘤病毒感染及其基因型相关分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(6): 649-652.
- [7] 李树敏, 陈晓梅, 莫殿军, 等. 赤峰地区女性例人乳头瘤病毒感染特征分析[J]. 国际检验医学杂志[J]. 2016, 37(21): 3048-3049.
- [8] 官海涟. 2 318 例人乳头瘤病毒基因分型及相关因素的分析[D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [9] 丛玲华, 陈鲸, 任莹, 等. 宫颈腺癌患者人乳头状瘤病毒感染的基因分型研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(13): 2023-2026.
- [10] 夏林, 王宏景, 耿建祥, 等. 131 例女性宫颈腺癌 HPV 感染基因型分布[J]. 国际检验医学杂志. 2015, 36(9): 1188-1190.
- [11] 张磊, 毕庆庆, 陈文, 等. 宫颈上皮内瘤变和宫颈癌患者人乳头瘤病毒基因型流行率和归因分析[J]. 中国全科医学 2019, 17(1): 1-5.
- [12] 刘宗花, 张国翔, 刘香环. HPV 多重感染与宫颈病变关系的初步研究[J]. 中国妇产科临床杂志, 2015, 16(5): 436-437.
- [13] 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.
- [14] 王蕾, 董志玲, 张利宾, 等. 邯郸地区 10 306 例妇科门诊女性患者 HPV 基因分型及感染特征分析[J]. 医学综述, 2019, 26(6): 1245-1248.
- [15] 任妹, 何雯, 夏洪娇. 人乳头瘤病毒感染及亚型检测应用研究进展[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(5): 710-713.