

• 论 著 •

1 664 例不孕症女性人乳头瘤病毒感染基因亚型分析*

曾青红,周志辉,李梅芳,姚 丹,罗 露,曹 敏[△]
(湖南省妇幼保健院检验科,湖南长沙 410008)

摘 要:**目的** 调查不孕症女性感染人乳头瘤病毒(HPV)的亚型分布情况。**方法** 收集湖南地区 1 664 例不孕症女性(不孕组)和 1 462 例妇科门诊体检女性(对照组)的宫颈脱落细胞,采用核酸基因芯片法进行 24 种 HPV 亚型分析。**结果** 不孕组和对照组的 HPV 感染率分别为 16.3%和 15.5%,2 组单一高危型感染率分别为 12.1%和 11.9%,单一低危型感染率分别为 3.0%和 3.2%,组间感染率差异均无统计学意义($P>0.05$)。不孕组高危型 HPV52 型感染率最高,其次为 18、51、16 型。组间同年龄段 HPV 感染率差异无统计学意义($P>0.05$),HPV 感染率在 31~40 岁组均低于 18~30 岁组和 41~52 岁组($P>0.05$)。**结论** 不孕组与对照组的单一 HPV 感染率无明显差别,2 组不同年龄段 HPV 感染率均不同;湖南地区不孕症女性 HPV 感染高危型主要为 HPV52、18、51、16 型。

关键词:人乳头瘤病毒; 不孕症; 亚型
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.10.010 **中图法分类号:**R737.33
文章编号:1673-4130(2020)10-1190-04 **文献标识码:**A

Analysis of human papillomavirus infection gene subtypes in 1 664 infertile women*
ZENG Qinghong,ZHOU Zhihui,LI Meifang,YAO Dan,LUO Lu,CAO Min[△]
(Department of Clinical Laboratory,Hunan Province Maternal and Child
Health Care Hospital,Changsha,Hunan 410008,China)

Abstract: Objective To investigate the subtype distribution of human papillomavirus (HPV) infection in infertile women. **Methods** Cervical exfoliated cells were collected from 1 664 infertile women (infertility group) and 1 462 women from the gynecological clinic (control group) in Hunan region, and 24 HPV subtypes were analyzed by nucleic acid gene chip method. **Results** The HPV infection rates of the infertility group and the control group were 16.3% and 15.5%, the single high-risk infection rates of the two groups were 12.1% and 11.9%, and the single low-risk infection rates were 3.0% and 3.2%, there was no significant difference in the rate ($P>0.05$); The high-risk HPV52 infection rate was highest in the infertility group, followed by 18, 51, and 16 types. There was no significant difference in the detection rate of HPV infection of the same age group between the groups ($P>0.05$). The 31—40 years old group was lower than the 18—30 years old group and the 41—52 years old group ($P>0.05$). **Conclusion** There is no significant difference in the single HPV infection rate between the infertility group and the control group. There are differences in the HPV infection rates between the two groups at different ages. The high-risk types of HPV infection in infertile women in Hunan are mainly HPV52, 18, 51, and 16 types.

Key words: human papillomavirus; infertility; subtype

人乳头瘤病毒(HPV)是一种小的球形环状双链 DNA 病毒,能特异地引起人体皮肤黏膜的鳞状上皮增殖,可导致多种良、恶性病变,感染途径通常是性传播。有研究表明,女性不孕症可能与高危型 HPV 感染有关,国内一些研究报道了不同地区的不孕症女

性 HPV 感染的情况^[1-3],已发现的 HPV 具有近 200 种亚型,但由于地理环境、人文面貌的不同,HPV 感染的基因型别分布存在地域差异^[4-6]。国内外已有报道不同地区的高危型 HPV 感染的基因分型,湖南地区也有针对普通人群的 HPV 筛查检测^[7-8],但是湖南

* 基金项目:湖南省卫生和计划生育委员会科研计划项目(B2017145)。
作者简介:曾青红,女,主管技师,主要从事临床检验相关工作。 [△] 通信作者,E-mail:drwqz1606@163.com。
本文引用格式:曾青红,周志辉,李梅芳,等.1 664 例不孕症女性人乳头瘤病毒感染基因亚型分析[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(10): 1190-1193.

地区并未开展针对不孕症女性 HPV 感染基因型别的研究。本研究采用北京博晖创新生物技术股份有限公司提供的试剂及仪器,检测湖南地区不孕症女性感染的 HPV 基因亚型,分析不孕症女性 HPV 感染情况与一般人群之间的差异,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 1 月至 2019 年 7 月在湖南省计划生育研究所生殖医学中心进行人类辅助生殖技术的不孕症女性 1 664 例(不孕组)、妇科门诊就诊的体检女性 1 462 例(对照组)的宫颈脱落细胞,人群均来自湖南省不同地区,年龄 18~52 岁。不孕症者定义为有 1 年未避孕性生活,仍未受孕或无活产者;对照组入选标准为月经规律,已婚已育且为自然受孕。

1.2 仪器与试剂 核酸芯片检测仪购自中国北京博晖创新生物技术股份有限公司,型号 BHF-VI,检测方法采用 PCR 体外扩增和 DNA 反向斑点杂交法相结合的 DNA 芯片技术,检测 24 种 HPV 核酸亚型,包括高危型 HPV 亚型与低危型 HPV 亚型,分别为:HPV 6、11、16、18、31、33、35、39、42、43、44、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、81、82、83 型。宫颈脱落细胞采集器购自中国北京博晖创新生物技术股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 所有女性均在月经来潮后 10~18 d 采集标本,采集前 3 d 不做阴道冲洗,不用避孕药膏等阴道内用药物,不进行醋酸或碘液涂抹,采集前 24 h 无性行为。先以窥阴器或阴道张开器暴露宫颈,用棉拭子将宫颈口过多的分泌物擦去,取出宫颈刷置于宫颈口,单方向旋转 4~5 周以获得足量的上皮细胞标本,然后将宫颈刷头部放入洗脱管中,沿刷柄折痕处将宫颈刷柄折断,旋紧洗脱管盖,做好标本标识,并保持洗脱管直立放置。标本采集后尽快送检,当天来不及上机检测的标本-20℃保存,避免反复冻融。

1.3.2 标本检测 充分洗脱宫颈刷,并在管壁上挤干。取 1 mL 洗脱液转移至 1.5 mL 离心管内,13 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液,保留 100 μL,使用移液器轻吸打 3~5 次,混匀待用。按照仪器说明书依次准备好仪器与试剂,手动加 50 μL 处理好的标本至微流控芯片加样孔。运行 HPV 检测试剂盒(生物芯片法)操作程序,依次进行核酸提取、PCR 扩增、反向斑点杂交、扫描分析实验结果。

1.3.3 结果判读 杂交膜的显色质控探针与内参质控点都有阳性斑点,HPV 探针出现阳性斑点,提示标本为该探针对应亚型阳性。杂交膜的显色质控探针与内参质控点都有阳性斑点,HPV 探针无阳性斑点出现,提示标本为该探针对应亚型阴性。

1.4 统计学处理 采用 Excel 对数据进行统计分析,

分别统计感染的亚型、不同年龄阶段及感染种类(单种和多重感染),组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组 HPV 亚型感染情况 不孕组 1 664 例女性 HPV 总感染率为 16.3%,对照组 1 462 例女性总感染率为 15.5%,不孕组与对照组均是高危型 HPV 感染率最高。2 组间的总感染率,低危型、高危型 HPV 感染率差异无统计学意义($P>0.05$)。不孕组与对照组 HPV 多重感染率虽然差异有统计学意义($P<0.05$),但由于多重感染例数检出少,不足以支持结果。见表 1。

表 1 2 组中 HPV 亚型感染情况								
亚型	不孕组(<i>n</i> =1 664)			对照组(<i>n</i> =1 462)			χ^2	<i>P</i>
	感染数 (<i>n</i>)	构成比 (%)	感染率 (%)	感染数 (<i>n</i>)	构成比 (%)	感染率 (%)		
低危型	50	18.5	3.0	47	20.8	3.2	0.432	0.511
高危型	202	74.5	12.1	174	77.0	11.9	0.402	0.526
多重感染	19	7.0	1.1	5	2.2	0.3	6.175	0.013
合计	271	100.0	16.3	226	100.0	15.5	0.399	0.528

注: χ^2 、*P* 为 2 组间感染率比较的统计值。

2.2 2 组 HPV 亚型分布情况 在不孕症女性中,18 种 HPV 高危亚型均被检出,感染率最高的是 HPV52 型,其次为 HPV18、51、16 型,较低感染型别分别是 HPV45、83、73 型;6 种 HPV 低危亚型中,HPV81 型感染率最高;共检出多重感染 19 例,其中四重感染 1 例,三重感染 1 例,其余为双重感染。对照组高危 HPV52 型感染率最高,其次为 HPV51、16、18 型,较低感染型别分别是 HPV35、83、73 型。感染率较高的高危型 HPV 在不孕组与对照组中感染率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 2 组 HPV 亚型分布情况							
感染类型	亚型 (型)	不孕组(<i>n</i> =1 664)		对照组(<i>n</i> =1 462)		χ^2	<i>P</i>
		<i>n</i>	占比(%)	<i>n</i>	占比(%)		
低危型	6	10	3.7	8	3.5	0.008	0.929
	11	4	1.5	5	2.2	0.376	0.540
	42	10	3.7	7	3.1	0.029	0.866
	43	4	1.5	9	4.0	0.376	0.540
	44	10	3.7	10	4.4	0.029	0.866
	81	12	4.4	8	3.5	0.054	0.816
高危型	16	21	7.7	18	8.0	0.008	0.929
	18	26	9.6	15	6.6	1.423	0.233
	31	6	2.2	7	3.1	0.377	0.539
	33	8	3.0	5	2.2	0.265	0.607
	35	6	2.2	3	1.3	0.545	0.461
	39	14	5.2	10	4.4	0.147	0.701

续表 2 2 组 HPV 亚型分布情况							
感染类型	亚型 (型)	不孕组(<i>n</i> =1 664)		对照组(<i>n</i> =1 462)		χ^2	<i>P</i>
		<i>n</i>	占比(%)	<i>n</i>	占比(%)		
多重感染	45	2	0.7	5	2.2	1.930	0.165
	51	25	9.2	21	9.3	0.000	0.979
	52	35	12.9	30	13.3	0.014	0.906
	53	4	1.5	5	2.2	0.376	0.540
	56	10	3.7	10	4.4	0.172	0.678
	58	13	4.8	11	4.9	0.001	0.975
	59	5	1.8	6	2.7	0.373	0.541
	66	4	1.5	6	2.7	0.869	0.351
	68	12	4.4	10	4.4	0.000	0.986
	73	3	1.1	4	1.8	0.390	0.532
	82	6	2.2	6	2.7	0.102	0.750
	83	2	0.7	2	0.9	0.033	0.855
	18,51、 52,66	1	0.4	0	0.0	—	—
	35,52	1	0.4	0	0.0	—	—
	52,56	1	0.4	1	0.4	—	—
	39,52	1	0.4	0	0.0	—	—
	18,52	1	0.4	1	0.4	—	—
	52,68	1	0.4	0	0.0	—	—
	58,44	1	0.4	0	0.0	—	—
	53,68	1	0.4	0	0.0	—	—
	82,42	1	0.4	0	0.0	—	—
	39,43	1	0.4	0	0.0	—	—
	31,59	1	0.4	1	0.4	—	—
	39,42、 43	1	0.4	0	0.0	—	—
	68,81	1	0.4	0	0.0	—	—
	18,58	1	0.4	1	0.4	—	—
	39,82	1	0.4	0	0.0	—	—
	33,42	1	0.4	1	0.4	—	—
	39,73	1	0.4	0	0.0	—	—
	35,53	1	0.4	0	0.0	—	—
	51,83	1	0.4	0	0.0	—	—
总计		271	100.0	226	100.0	—	—

注：—表示该项无数据； χ^2 、*P* 为 2 组间感染率比较的统计值。

2.3 不同年龄阶段女性 HPV 感染情况 不孕组 31~40 岁 HPV 感染率低于 18~30 岁($\chi^2=13.66, P=0.000$)与 41~52 岁女性($\chi^2=10.98, P=0.001$);18~30 岁与 41~52 岁 HPV 感染率差异无统计学意义($\chi^2=0.157, P=0.692$)。对照组 31~40 岁 HPV 感染率同样低于 18~30 岁($\chi^2=15.54, P=0.000$)与 41~52 岁女性($\chi^2=11.19, P=0.001$); 18~30 岁与 41~52 岁 HPV 感染率差异无统计学意义

($\chi^2=0.225, P=0.635$)。不孕组不同年龄段的 HPV 感染率与对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 不同年龄阶段女性 HPV 感染情况								
年龄(岁)	不孕组(<i>n</i> =1 664)			对照组(<i>n</i> =1 462)			χ^2	<i>P</i>
	<i>n</i>	感染数 (<i>n</i>)	感染率 (%)	<i>n</i>	感染数 (<i>n</i>)	感染率 (%)		
18~30	455	94	20.6	290	62	21.4	0.055	0.814
31~40	1 000	131	13.1	874	105	12.0	0.500	0.480
41~52	209	46	22.0	298	59	19.7	0.366	0.545
合计	1 664	271	16.3	1 462	226	15.5	0.399	0.528

注： χ^2 、*P* 为 2 组间 HPV 检出率比较的统计值。

3 讨 论

多种因素可以引起不孕,泌尿生殖道感染是其中一个重要的因素,HPV 可从生殖道逆行感染子宫、输卵管等附件,造成慢性宫颈炎、子宫内膜炎或输卵管形态和功能损害,导致育龄女性不孕^[9-10],但 HPV 感染是否为导致不孕症的独立因素,不同学者之间仍存在争议。张立冬等^[11]对比广州市区不孕症女性与体检健康女性的 HPV 感染率,发现不孕症女性 HPV 感染率远高于体检健康女性,而本研究发现在湖南地区,不孕症女性与妇科门诊女性 HPV 高危型和低危型单一感染率差异并无统计学意义($P>0.05$),与伍金华等^[12]发现广东江门地区不孕症女性 HPV 感染率与体检健康女性一致。另有一些研究表明,HPV 多重感染会改变阴道内微环境,较单一感染,多重感染清除难度大、时间长,同时阴道正常环境的改变又容易使其他病毒、细菌、支原体、衣原体等协同感染,多重因素引起子宫、输卵管等慢性炎症,最终导致不孕^[13-14]。本研究发现不孕组 HPV 多重感染率高于对照组,但由于多重感染例数检出少,不足以支持结果,较少文献报道 HPV 多重感染与不孕症之间的直接关系,故 HPV 多重感染是否是造成女性不孕的独立因素有待继续研究。

本研究发现,湖南省不孕症女性主要感染的类型为 HPV52 型,其次为 HPV18、51、16 型,不同于张立冬等^[11]发现广州市区不孕症女性主要感染类型为 HPV16、18、41、51 型的报道,伍金华等^[12]发现广东江门地区不孕症患者主要感染 HPV52、58、16、66 型及周潞等^[1]发现四川地区非输卵管不孕主要感染 HPV16、53、58 型,输卵管不孕主要感染 HPV58、52 型的报道。这可能是由于 HPV 亚型分布存在地域差异。从年龄分析表明不孕组与对照组在不同年龄阶段 HPV 感染率并无明显差别,但不孕组和对照组在 18~30 岁和 41~52 岁的 HPV 感染率均高于 31~40 岁,且差异有统计学意义($P<0.05$),这可能是因为 18~30 岁人群性生活活跃,性伴侣数量为多个的概率较大,41~52 岁人群自我保健意识不强,自身抵抗能

力下降^[15-16]。

4 结 论

不孕组女性与对照组女性 HPV 单一感染率无明显差别, HPV 感染率在不孕组与对照组同年龄段比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), HPV 感染是否是造成女性不孕的独立因素仍有待继续研究。

参考文献

[1] 周璐, 黄薇. 不孕与宫颈人乳头瘤病毒感染的关系研究[J]. 实用妇产科杂志, 2015, 31(2): 147-149.

[2] AMBÜHL L M M, ULRIK B, KAREN D, et al. Human papillomavirus infection as a possible cause of spontaneous abortion and spontaneous preterm delivery[J]. Infect Dis Obstet Gynecol, 2016, 36(1): 1-19.

[3] 王晓昌, 陈俊, 侯铁塔, 等. 西北地区 524 例不孕症女性高危型人乳头瘤病毒感染与支原体和衣原体感染的相关性研[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(20): 2786-2787.

[4] SABEENA S, BHAT P V, KAMATH V G, et al. Community-based prevalence of genital human papilloma virus (HPV) infection: a systematic review and meta-analysis[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2017, 18(1): 145-154.

[5] TRICCO A C, NG C H, GILCA V, et al. Canadian oncogenic human papillomavirus cervical infection prevalence: Systematic review and meta-analysis[J]. BMC Infect Dis, 2011, 11(1): 235.

[6] 何成山, 马晨芸, 陆志成. 上海部分区域人乳头瘤状病毒基因分型及感染状况[J]. 职业与健康, 2018, 34(1): 2226-2229.

[7] 吴颖, 曹芬芳, 刘太林, 等. 湖南地区 7 076 例女性 HPV

感染情况及分型分析[J]. 实用预防医学, 2019, 26(4): 474-476.

[8] 肖松舒, 范洁琳, 贺斯黎, 等. 16 320 例妇科门诊患 HPV 感染情况分析[J]. 中南大学学报(医学版), 2015, 40(4): 373-379.

[9] 裴杰, 崔子宸, 李运清. 病毒感染与不育不孕相关性检测方法的研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2017, 12(11): 126-1129.

[10] 王红, 麻安喆, 汤莉. 继发性不孕症与免疫性抗体及性激素水平相关性研究[J]. 检验杂志, 2016, 26(13): 1886-1891.

[11] 张立冬, 张慧敏, 裴静, 等. 不孕患者中宫颈 HPV 高危型别感染率及病毒载量的调查[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2007, 12(2): 159-161.

[12] 伍金华, 陈建勇, 梁惠强. 778 例不孕患者宫颈 HPV 分型结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2013, 18(23): 2980-2981.

[13] 濮德敏, 彭宇洪, 闻良珍, 等. 输卵管妊娠与人乳头状瘤病毒感染相关性研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 1997, 25(2): 133-135.

[14] 李丕宇, 葛华. 人乳头瘤病毒感染和不孕症关系的研究进展[J]. 中国医师杂志, 2010, 12(1): 140-141.

[15] LIU M, HE Z, ZHANG C, et al. Transmission of genital human papillomavirus infection in couples: a population-based cohort study in rural China[J]. Sci Rep, 2015, 5: 10986.

[16] 单玮, 张涛, 张铁军, 等. 我国女性人乳头瘤病毒(HPV)感染的流行病学现状[J]. 中华疾病控制杂志, 2017, 21(1): 89-93.

(收稿日期: 2019-12-11 修回日期: 2020-02-03)

(上接第 1189 页)

[7] 杨莉洁, 周伟. 弥漫大 B 细胞淋巴瘤组织中 Bcl-2、NF- κ B、c-Myc 蛋白表达及临床意义[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2016, 8(11): 125-128.

[8] 马瑞, 郭新红, 顾霞, 等. Toll 样受体 4 和 NF- κ Bp50 在不同类型淋巴瘤中的表达及其意义[J]. 新疆医科大学学报, 2012, 35(1): 32-36.

[9] 张森, 贺海燕, 李晶, 等. 弥漫大 B 细胞淋巴瘤中 BCL-2 等蛋白表达与临床预后的相关性研究[J]. 宁夏医学杂志, 2017, 39(8): 769-771.

[10] 魏华萍, 赵小利, 王全顺, 等. BCL-2 蛋白在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达及预后价值[J]. 中国实验血液学杂志, 2015, 23(6): 1607-1611.

[11] 余正平, 丁家华, 陈宝安, 等. 影响弥漫大 B 细胞淋巴瘤预后的主要危险因素分析[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(12): 830-835.

[12] 黄荷, 张勇, 杨舒婷, 等. DFMG 调节 TLR-4 抑制损伤内皮细胞对平滑肌细胞增殖和迁移促进作用[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2016, 13(1): 1-5.

[13] 江宁红, 隋龙. TLR4/iNOS 信号通路在宫颈癌局部免疫

调节中的作用机制[J]. 实用妇产科杂志, 2015, 31(5): 338-341.

[14] YANG S S, TANG L, LI R G, et al. The effects of sub-clinical hypothyroidism on serum lipid level and TLR4 expression of monocyte in peripheral blood of rats[J]. Neuro Endocrinol Let, 2014, 35(1): 80-86.

[15] 陈素芹, 李君, 夏金英. 核转录因子 κ B 在炎症相关癌症中的作用[J]. 临床荟萃, 2010, 25(16): 1471-1473.

[16] 闫新星, 王晶, 张巍, 等. Toll 样受体 4 在淋巴瘤细胞株中的表达及其对细胞增殖和耐药的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2016, 43(6): 437-441.

[17] ZHANG B, CALADO D P, ZHE W, et al. An oncogenic role for alternative NF- κ B signaling in DLBCL revealed upon dereg-ulated BCL6 expression[J]. Cell Rep, 2015, 11(5): 715-726.

[18] 周永芹, 韩莉. NF- κ B 与肿瘤关系的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2008, 16(5): 855-858.

(收稿日期: 2019-12-15 修回日期: 2020-02-28)