

• 论 著 •

探究 ADAMTS1 对非小细胞肺癌血管生成及预后的影响*

陈大明¹, 王 布², 项保利², 黄攀登², 苑 程², 赵建清^{2△}

(河北北方学院附属第一医院: 1. 输血科; 2. 呼吸内科, 河北张家口 075000)

摘 要:目的 研究 I 型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶(ADAMTS1)表达水平对非小细胞肺癌(NSCLC)血管生成及预后的影响。方法 收集该院 2014 年 1—10 月因 NSCLC 行外科手术切除的患者 68 例, 分别取部分肺癌组织及癌旁组织进行实时荧光定量 PCR 检测, 另取部分组织经石蜡包埋后行微血管密度(MVD)测定, 统计分析各病理参数之间的相关性, 并随访 5 年观察 ADAMTS1 表达水平对患者预后的影响。结果 与癌旁组织相比, NSCLC 原位灶中 ADAMTS1 mRNA 表达水平下降, 并伴随血管内皮生长因子(VEGF) mRNA 表达水平及 MVD 升高($P < 0.05$); ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 VEGF mRNA 表达水平及 MVD 呈负相关; ADAMTS1 mRNA 的表达水平与肺癌患者病理特征无关($P > 0.05$), 而与 TNM 分期显著相关($P < 0.05$); 生存曲线显示, 低表达水平 ADAMTS1 的 NSCLC 患者生存率显著下降, Cox 比例风险模型显示, NSCLC 患者原发灶中 ADAMTS1 的表达水平是影响患者预后的危险因素。结论 ADAMTS1 是一种 NSCLC 生长抑制因子, 低表达水平的 ADAMTS1 可促进 NSCLC 组织中血管生成, 是患者预后不良的重要影响因素。

关键词: I 型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶; 非小细胞肺癌; 血管生成

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.23.016

中图法分类号: R446.9; R734.2

文章编号: 1673-4130(2020)23-2888-05

文献标识码: A

To investigate the effect of ADAMTS1 on angiogenesis and prognosis in non-small cell lung cancer*

CHEN Daming¹, WANG Bu², XIANG Baoli², HUANG Pandeng², YUAN Cheng², ZHAO Jianqing^{2△}

(1. Department of Blood Transfusion; 2. Department of Respiratory Medicine,

the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China)

Abstract: Objective To study the effect of expression level of a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS) 1 on angiogenesis and prognosis of non-small cell lung cancer(NSCLC). **Methods** A total of 68 patients with NSCLC who underwent surgical resection from January to October 2014 in this hospital were collected, and some lung cancer tissues and paracancerous tissues were taken for real time fluorescent quantitative PCR detection, another part of the tissue was embedded in paraffin for microvascular density (MVD) determination, statistical analysis of the correlation between various pathological parameters, and follow-up for 5 years to observe the effect of ADAMTS1 expression level on the patient's prognosis. **Results** Compared with paracancerous tissue, the expression level of ADAMTS1 mRNA decreased in NSCLC in situ and accompanied by an increase in vascular endothelial growth factor(VEGF) mRNA and MVD ($P < 0.05$). The expression level of ADAMTS1 mRNA was negatively correlated with the expression level of VEGF mRNA and MVD. The expression level of ADAMTS1 mRNA was not related to the pathological characteristics of lung cancer patients ($P > 0.05$), but was related to The TNM stage was significantly related ($P < 0.05$). The survival curve showed that the survival rate of NSCLC patients with low expression level of ADAMTS1 decreased significantly; Cox proportional hazard model showed the expression level of ADAMTS1 in primary lesions of NSCLC patients was a risk factor affecting the prognosis of patients. **Conclusion** ADAMTS1 is a NSCLC growth inhibitory factor, low expression level of ADAMTS1 may promote angiogenesis in NSCLC cancer tissues, and is an important influential factor for poor prognosis in patients.

Key words: a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 1; non-small cell lung cancer; angiogenesis

* 基金项目: 河北省张家口市科技攻关计划(1821039D, 1712008D)。

作者简介: 陈大明, 男, 技师, 主要从事肺癌相关生化指标及其临床意义的研究。△ 通信作者, E-mail: 289974726@qq.com。

本文引用格式: 陈大明, 王布, 项保利, 等. 探究 ADAMTS1 对非小细胞肺癌血管生成及预后的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(23):

非小细胞肺癌(NSCLC)是我国十分常见的恶性肿瘤,具有进展快、易转移、病死率高等特点^[1]。肿瘤血管生成是肿瘤生长和转移的基础,有效抑制肿瘤组织的血管生成对控制其复发和转移具有积极意义^[2]。血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶(ADAMTS)家族属于分泌型蛋白酶,有 19 个亚型,参与机体多种生理及病理过程,包括止血、关节炎和肿瘤发生等^[3]。I 型 ADAMTS (ADAMTS1) 是 ADAMTS 家族中的一种亚型^[4]。近年来有研究表明,ADAMTS1 在结肠癌等多种肿瘤组织中起了重要作用,具有抗血管生成作用^[5]。然而目前关于 ADAMTS1 在 NSCLC 中的表达情况少有报道。本次笔者就 ADAMTS1 mRNA 表达水平对 NSCLC 血管生成及患者预后的影响展开研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选择本院 2014 年 1—10 月因诊断 NSCLC 并行外科手术切除的患者 68 例,其中男性 38 例,女性 30 例,年龄 37~69 岁,平均(53.5±1.5)岁。纳入标准:(1)入组资料完整;(2)均为首发,术前未行放、化疗;(3)均经病理诊断证实。其中鳞状上皮细胞癌 25 例,腺癌 22 例,大细胞癌 21 例;分化类型中,高分化 7 例,中分化 21 例,低分化 40 例;临床分期 I~II 期 32 例,III~IV 期 36 例;有淋巴结转移 27 例,无淋巴结转移 41 例。所有患者及家属均签署知情同意书,自愿入组。

1.2 方法

1.2.1 标本处理 每例患者分别取肺癌组织及距肿瘤切缘>5 cm 的癌旁正常肺组织(简称癌旁组织)。所有组织均分为 2 块,一部分加入 Trizol 试剂(约每 1 mm³ 组织中加入 1 mL Trizol),置于-80℃冰箱保存,另一部分利用石蜡包埋,制成切片。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR) 参照 Trizol 试剂说明书和反转录试剂盒说明书,将肺癌组织及癌旁组织中的 RNA 在低温下提取并反转录成 cDNA。ADAMTS1 的上游引物为 5'-CCTGGTGGTG-

GTGA AGAT-3',下游引物为 5'-TTCACCACCAC-CAGGCTAAC-3';血管内皮生长因子(VEGF) mRNA 的上游引物为 5'-G GCAGAATCATCACGAAGT-3',下游引物为 5'-CACAGGATGGCTTGAAGAT-3';选取 β -actin 作为内参,上游引物为 5'-AGATCAAGATCAT-TGCTCCTC-3',下游引物为 5'-ACTCGTCA TACTC-CTGCTT-3'。反应条件:94℃预变性 10 min,94℃变性 45 s,退火 45 s,72℃延伸 45 s,经过 35 个循环扩增后,72℃ 7 min。PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳,采用 GelPro Analyzer 3.1 软件进行半定量分析,计算得到相对表达量^[6-9]。

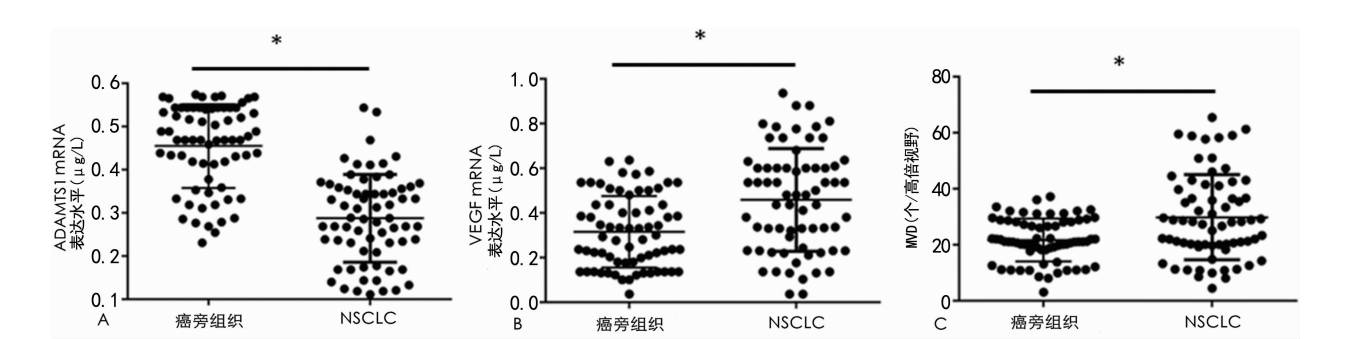
1.2.3 微血管密度(MVD)测定 参照 Weidner 法^[10],首先在低倍镜(10×10)下扫描整张切片,找到“热点区”,即 FⅢ Ag 明显染为棕褐色的微血管区。然后换为高倍镜(10×40)下观察计数。在肿瘤组织之间及肿瘤组织与周围结缔组织之间每一个被染为棕褐色的细胞或细胞簇计数为 1 个血管,最终结果以 3 个视野的平均数表示^[11-12]。

1.3 术后随访 分别于术后 1 个月、3 个月、6 个月进行随访,之后每半年随访一次,并记录患者的术后肿瘤复发、死亡等情况,随访 5 年。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件进行数据统计分析,计数资料以频数表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较行独立样本 t 检验,组内比较行配对样本 t 检验。采用 log-rank 检验进行生存曲线比较,Cox 比例风险模型进行生存状况影响因素分析。检验水准均选取双侧 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

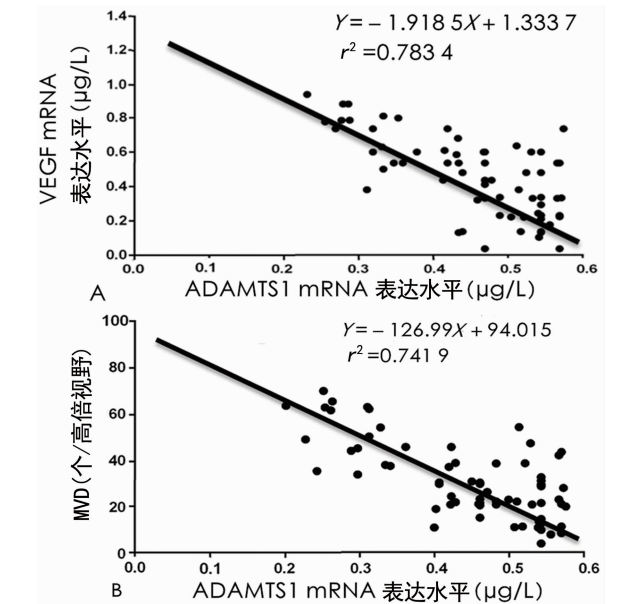
2.1 NSCLC 原位灶及癌旁组织中 ADAMTS1、VEGF mRNA 表达水平及 MVD 检测结果比较 qRT-PCR 结果显示,NSCLC 组织中 ADAMTS1 mRNA 表达水平低于癌旁组织,VEGF mRNA 表达水平、MVD 高于癌旁组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 1。



注:A为 NSCLC 原位灶与癌旁组织 ADAMTS1 mRNA 表达水平比较;B为 NSCLC 原位灶与癌旁组织 VEGF mRNA 表达水平比较;C为 NSCLC 原位灶与癌旁组织 MVD 比较。NSCLC 原位灶与癌旁组织比较,* $P<0.05$ 。

图 1 NSCLC 原位灶及癌旁组织中 ADAMTS1、VEGF mRNA 表达水平及 MVD 对比

2.2 NSCLC 原位灶中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 VEGF mRNA 表达水平及 MVD 的相关性 由相关性结果分析可得,NSCLC 原位灶中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 VEGF mRNA 表达水平及 MVD 呈负相关。NSCLC 原位灶中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平越低,其 VEGF mRNA 水平越高,MVD 测定越多。见图 2。



注:A为NSCLC原位灶中ADAMTS1与VEGF mRNA表达水平的相关性;B为NSCLC原位灶中ADAMTS1的表达水平与MVD的相关性。

图2 NSCLC原位灶中ADAMTS1 mRNA的表达水平与VEGF mRNA表达水平及MVD的相关性

2.3 NSCLC 原位灶中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 NSCLC 病理特征的相关性 ADAMTS1 mRNA在NSCLC原位灶中的表达水平与患者性别、年龄、吸烟史、肿瘤位置、病理类型、分化程度无相关性,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表 1 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 NSCLC 病理特征的相关性				
临床特征	n	ADAMTS1 mRNA		
		高表达(n)	低表达(n)	
性别				0.345 0.861
男	38	18	20	
女	30	16	14	
年龄(岁)				0.271 0.733
>65	37	18	19	
≤65	31	16	15	
吸烟史				1.843 0.551
有	33	17	16	
无	35	18	17	
肿瘤位置				1.691 0.413
上	21	10	11	

续表 1 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 NSCLC 病理特征的相关性				
临床特征	n	ADAMTS1 mRNA		
		高表达(n)	低表达(n)	
中	23	11	12	
下	24	11	13	
病理类型				3.045 0.433
鳞状细胞癌	25	12	13	
腺癌	22	11	11	
大细胞癌	21	12	9	
分化程度				1.022 0.333
低	40	23	17	
中	21	11	10	
高	7	3	4	

注:ADAMTS1 mRNA 的表达水平大于 qPCR 结果中的平均值为高表达,小于平均值为低表达。

2.4 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 TNM 分期的相关性 ADAMTS1 mRNA在NSCLC原位灶中的表达水平与TNM分期相关,TNM分期越高,NSCLC患者ADAMTS1低表达的比例越高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表 2 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 TNM 分期的相关性				
临床特征	n	ADAMTS1 mRNA		
		高表达(n)	低表达(n)	
T				3.714 0.031
T1	28	9	19	
T2	25	10	15	
T3、T4	15	3	12	
N				4.113 0.029
N0	14	3	11	
N1	21	8	13	
N2	22	5	17	
N3	11	2	9	
M				4.333 0.013
M0	41	11	30	
M1	27	9	18	

注:ADAMTS1 mRNA 的表达水平大于 qPCR 结果中的平均值为高表达,小于平均值为低表达。

2.5 NSCLC 中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与患者预后的相关性 生存曲线显示,低表达水平的ADAMTS1的NSCLC患者生存率下降;Cox比例风险模型分析显示,NSCLC患者原发灶中ADAMTS1 mRNA的表达水平是影响患者预后的危险因素。ADAMTS1 mRNA的表达水平越低,患者预后越差。见图3、表3。

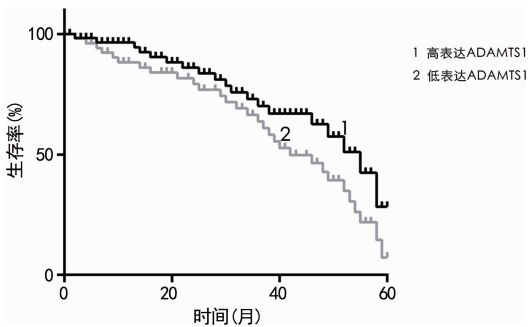


图 3 ADAMTS1 mRNA 的表达水平对 NSCLC 患者生存率的影响

表 3 Cox 比例风险模型生存分析结果

影响因素	回归系数	标准误差	Wald	P	RR(95%CI)
ADAMTS1 表达	0.934	0.317	7.333	0.005	2.651(1.203~5.733)
TNM 分期	0.967	0.311	7.601	0.037	2.189(1.233~5.081)

3 讨 论

ADAMTS 家族属于分泌型蛋白酶,有 19 个亚型,可由多种细胞合成和分泌,参与机体多种生理及病理过程,包括止血过程、器官生成、血管生成、关节炎和癌症等,其与基质金属蛋白酶(MMPs)相同,二者均属于金属蛋白酶,结构非常相似^[13-15]。目前对 MMPs 在生命活动中的功能已有大量研究,但对 ADAMTS 家族的研究并未深入^[16]。对于 ADAMTS 结构的研究发现,ADAMTS 家族含有多个结构域,其主要结构特点是 C-端含有凝血酶敏感蛋白(TSP)基序^[17]。ADAMTS1 是 ADAMTS 家族中的一种亚型^[18]。有研究表明,ADAMTS1 在多种肿瘤组织中起重要作用,具有抗血管生成作用^[19],但关于 ADAMTS1 在 NSCLC 中的表达情况少有报道。笔者就 ADAMTS1 表达水平对 NSCLC 血管生成及患者预后的影响展开本次研究。

本研究结果显示,ADAMTS1 mRNA 在 NSCLC 原位灶与癌旁组织中存在差异性表达。ADAMTS1 mRNA 在 NSCLC 原位灶中的表达水平远远低于癌旁组织,且 VEGF mRNA 表达水平及 MVD 高于癌旁组织。该结果提示 ADAMTS1 的低表达水平可能与 NSCLC 的发生有关,表明 ADAMTS1 是一个肿瘤生长抑制因子。相关性分析指出,NSCLC 原位灶中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 VEGF mRNA 表达水平及 MVD 呈负相关,低表达水平的 ADAMTS1 可能促进肿瘤组织中血管的生成,高表达水平可能会抑制血管的生成,表明 ADAMTS1 也是一个肿瘤血管生成抑制因子,这与很多研究报道中结果相一致。有研究报道指出,在体外试验中,ADAMTS1 C-末端 TSP1 基序能够结合内皮生长因子,从而抑制 VEGF 165 达到抑制血管内皮细胞增殖的作用;另外 AD-

AMTS1 也可与成纤维细胞生长因子-2(FGF2)共同作用,导致 FGF2 裂解,产生 TSP,释放出具有抗血管生成片段,该片段同样通过抑制血管内皮细胞增殖,达到抑制血管新生的作用^[20-21]。本研究推测 ADAMTS1 是通过抑制血管内皮细胞增殖从而抑制新生血管生成,低表达水平的 ADAMTS1 对新生血管的抑制作用降低,从而表现出 NSCLC 原位灶中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 VEGF mRNA 表达水平及 MVD 呈负相关。

本研究证明了 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与肺癌患者病理特征和 TNM 分期的相关性。研究结果显示,ADAMTS1 mRNA 的表达水平与肺癌患者病理特征无关,而与 TNM 分期相关。肿瘤血管生成是肿瘤生长和转移的基础,这与上述结果相互印证。目前有研究表明,肿瘤在头颈部癌转移灶中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平高于原发癌灶,且 ADAMTS1 在经淋巴结转移后的病灶中的表达水平高于无淋巴结转移及原发灶,对于其具体机制目前研究尚不十分清楚,这与本研究中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平与 TNM 分期相关相吻合^[22]。目前研究发现 ADAMTS1 与多种肿瘤组织预后相关,如:结肠癌等^[23]。本研究通过 Cox 分析显示,NSCLC 患者原发灶中 ADAMTS1 mRNA 的表达水平是影响患者预后的危险因素。ADAMTS1 mRNA 的表达水平越低,患者预后越差。生存曲线显示低表达水平 ADAMTS1 的 NSCLC 患者生存率下降。该结果表明 ADAMTS1 mRNA 表达水平与 NSCLC 患者预后呈负相关。该结果表明,ADAMTS1 是影响 NSCLC 患者预后的重要因素之一,其主要机制或与 ADAMTS1 抑制肿瘤中血管内皮细胞增殖,抑制新生血管的生成有关。

4 结 论

ADAMTS1 可能是一种 NSCLC 生长抑制因子,低表达水平的 ADAMTS1 可能促进 NSCLC 组织中血管生成,是患者预后不良的重要影响因素,其机制可能与抑制 NSCLC 组织中血管内皮细胞增殖及新生血管的生成有关。ADAMTS 家族在机体生命活动中所产生的作用及其作用机制目前尚不清楚,对于 ADAMTS1 在 NSCLC 的病理病程中的作用机制尚需进一步探讨。

参考文献

[1] CHEN C, LIN D M, WU Y H, et al. ADAMTS1 gene polymorphism and its association with C-reactive protein in patients with carotid artery plaques [J]. J Electrocardiol Circulat, 2018, 37(1): 7-10.

[2] AYDOS O S, YUKSELTEN Y, OZKAVUKCU S, et al. ADAMTS1 and ADAMTS5 metalloproteases produced by Sertoli cells; a potential diagnostic marker in azoospermia [J]. Syst Biol Reprod Med, 2018, 65(1): 29-38.

- [3] LI K, WANG Z W, HU Z P, et al. Assessing serum levels of ADAMTS1 and ADAMTS4 as new biomarkers for patients with type a acute aortic dissection[J]. Med Sci Monit, 2017, 23: 3913-3922.
- [4] LI M L, LIU Q, LEI J Y, et al. MiR-362-3p inhibits the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis by targeting ADAMTS1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 493(1): 270-276.
- [5] TANG J H, ZHANG H M, ZHANG Z H, et al. Effect of tetramethylpyrazine combined with cisplatin on VEGF, KLF4 and ADAMTS1 in Lewis lung cancer mice[J]. Asian Pac J Trop Med, 2017, 10(8): 813-818.
- [6] KILIC M O, AYNEKIN B, KARA A, et al. Differentially regulated ADAMTS1, 8, and 18 in gastric adenocarcinoma[J]. Bratisl Lek Listy, 2017, 118(2): 71-76.
- [7] ÖZLER S, ÖZTAS E, TOKMAK A, et al. Role of versican and ADAMTS-1 in polycystic ovary syndrome[J]. J Clin Res Ped Endocrinol, 2017, 9(1): 24-30.
- [8] VORKAPIC E, FOLKESSON M, MAGNELL K, et al. ADAMTS-1 in abdominal aortic aneurysm [J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0178729.
- [9] GOHARITABAN S, AMIRI I, ASL S S, et al. Abnormal expressions of ADAMTS-1, ADAMTS-9 and progesterone receptors are associated with lower oocyte maturation in women with polycystic ovary syndrome[J]. Arch Gynecol Obstet, 2018, 299(1): 277-286.
- [10] 吕晨铃, 陈超, 张震中, 等. ADAMTS-1 基因多态性与脑梗死患者颈动脉粥样硬化性斑块易损性及阿托伐他汀降脂疗效的相关性研究[J]. 中华神经医学杂志, 2018, 17(10): 997-1002.
- [11] WANG L W, NANDADASA S, ANNIS D S, et al. A disintegrin-like and metalloproteinase domain with thrombospondin type 1 motif 9 (ADAMTS9) regulates fibrinogen fibrillogenesis and turnover[J]. J Biol Chem, 2019, 294(25): 9924-9936.
- [12] DING S, ZHAO X R, WANG R T, et al. Expression of ADAMTS-4, VCAM-1 and TAK1 in cartilage tissue of osteoarthritis[J]. J Biomater Tissue Eng, 2019, 9(1): 124-127.
- [13] XUE W R, ZHANG Z J, ZENG S, et al. Expression and clinical significance of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) and a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 1 (ADAMTS1) in post-kidney-transplant bladder tumors[J]. Ann Transplant, 2017, 22: 622-630.
- [14] 申锴, 陈瑞珍, 杨英珍, 等. ADAMTS-1 与小鼠急、慢性病毒性心肌炎心肌纤维化相关性的初步研究[J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(9): 854-858.
- [15] 刘理静, 于小华, 张平. 白藜芦醇通过 TGF- β 1/ADAMTS-1 信号通路抑制肺纤维化[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(3): 425-431.
- [16] 陈静, 戴冬秋, 支宇, 等. 胃癌和转移淋巴结组织 ADAMTS1 表达及其生物学意义的探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(1): 59-62.
- [17] 申锴, 陈瑞珍, 杨英珍, 等. ADAMTS-1 的基础研究与临床意义[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2006, 26(1): 29-30.
- [18] 肖兴洲, 张平, 李婉霜, 等. ADAMTS-1 在肺纤维化大鼠肺组织中的表达及意义[J]. 国际呼吸杂志, 2012, 32(6): 413-416.
- [19] 刘江, 吴延庆. ADAMTS-1 与血管损伤关系的研究进展[J]. 南昌大学学报(医学版), 2011, 51(2): 99-101.
- [20] WANG K, SONG Y, LIU W, et al. The noncoding RNA linc-ADAMTS5 cooperates with RREB1 to protect from intervertebral disc degeneration through inhibiting ADAMTS5 expression[J]. Clin Sci (Lond), 2017, 131(10): 965-979.
- [21] SUNA G, WOJAKOWSKI W, LYNCH M, et al. Extracellular matrix proteomics reveals interplay of aggrecan and aggrecanases in vascular remodeling of stented coronary arteries[J]. Circulation, 2017, 137(2): 166-183.
- [22] WOLTERS F J, BOENDER J, DE VRIES P S, et al. Von Willebrand factor and ADAMTS13 activity in relation to risk of dementia: a population-based study[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 5474.
- [23] GEYS L, ROOSE E, SCROYEN I, et al. Platelet rescue by macrophage depletion in obese ADAMTS13 deficient mice at risk for thrombotic thrombocytopenic purpura[J]. J Thromb Haemos, 2018, 16(1): 150-163.

(收稿日期: 2020-02-03 修回日期: 2020-06-16)

(上接第 2887 页)

- [17] 姚军, 李曼, 钟萍, 等. HPV 亚型感染的地域分布与宫颈病变的关系[J]. 实用妇产科杂志, 2011, 27(1): 34-38.
- [18] BAO Y P, LI N, SMITH J S, et al. Human papillomavirus type distribution in women from Asia: a meta-analysis [J]. Int J Gynecol Cancer, 2008, 18(1): 71-79.
- [19] 袁艳, 王焰, 马莉, 等. 贵州地区 8 102 例就诊妇女 21 种 HPV 亚型检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(9): 1159-1161.
- [20] 李和楼, 刘庆华. 山东省三地区 34 258 例 HPV 感染率及基因型别分布情况[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(20): 4910-4913.
- [21] 杨炼, 陆小军, 叶远馨, 等. 四川大学华西医院 8 944 例健康体检女性 HPV 感染情况分析[J]. 中国循证医学杂志, 2017, 17(6): 634-639.
- [22] SELLORS J W, KARWALAJTYS T L, KACZOROWSKI J, et al. Incidence, clearance and predictors of human papillomavirus infection in women[J]. CMAJ, 2003, 168(4): 421-425.
- [23] CLARKE M A, RODRIGUEZ A C, GAGE J C, et al. A large population-based study of age-related associations between vaginal pH and human papillomavirus infection [J]. BMC Infect Dis, 2012, 12: 33.

(收稿日期: 2020-02-28 修回日期: 2020-08-10)