

• 调查报告 •

472 例疑似宫颈病变患者 HPV 亚型检测结果分析

万小涛, 钟方财

(四川省内江市第一人民医院检验科 641000)

摘要:目的 分析该地区各年龄段疑似宫颈病变患者人乳头瘤病毒(HPV)感染情况及 HPV 亚型的分布情况。方法 运用核酸分子快速导流杂交法对 472 例疑似宫颈病变患者进行 HPV 分型。结果 472 例疑似宫颈病变患者中,以 30~39 岁年龄段感染率最高;在 HPV 各亚型中,以 HPV52、16、58 高危型所占比例最高。结论 各地区 HPV 感染存在地区分布差异,该地区与其他地区亚型分布有一定差异,但与国内调研结果总体基本一致。在年龄分布上 HPV 的感染以中年期女性为主,与女性性活跃程度有关。

关键词:宫颈疾病; 人乳头瘤病毒; 基因分型; 年龄分布

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.07.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)07-0815-02

HPV subtype analysis in 474 cases of suspected patients with cervical diseases

Wan Xiaotao, Zhong Fangcai

(Department of Laboratory, the First People's Hospital of Neijiang City, Neijiang Sichuan 641000, China)

Abstract: Objective To analyze the prevalence of human papilloma virus(HPV) and its subtypes in suspected patients with cervical diseases. **Methods** 472 cases of suspected patients with cervical diseases were detected for HPV subtype by using nucleic acid flow-through hybridization. **Results** In the total of 472 patients, infection rate of subjects at 30—39 years old was the highest. In all HPV subtypes, high risk HPV, including HPV52, 16 and 58, were with the highest proportion. **Conclusion** The infection rate of HPV might be different for different regions, and the distribution of HPV subtypes might be with a little difference, compared with other regions, but consistent with research results in China. HPV could mainly infect middle age woman, and it might be related with sexual activity of females.

Key words: uterine cervical diseases; human papillomavirus; genotype; age distribution

宫颈癌是女性常见癌症之一,仅次于乳腺癌。在中国,宫颈癌已取代乳腺癌成为女性首位恶性肿瘤,而宫颈癌患者中 99% 以上可检测出 HPV DNA^[1-2]。人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)为乳多空病毒科 A 属成员,是一类感染表皮和黏膜鳞状上皮的双链环状 DNA 病毒,主要以接触传播为主。根据 HPV 致病力的不同,可分为低危型、中危型和高危型。低危型和中危型与外生殖器良性病变或宫颈上皮内瘤变 I 级(CIN I)有关,主要为 HPV6、11、42、43 和 44 亚型;而高危型与宫颈内高度病变及宫颈癌有关,较常见的有 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 68 等亚型。本研究采用核酸分子快速导流杂交对患者进行检测,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 该院门诊及住院 20~60 岁疑为宫颈病变(炎症、畸形、子宫内异位症及肿瘤)的患者进行宫颈脱落细胞采集,共采集样本 472 例进行 HPV 核酸分子快速导流杂交分型检测。

1.2 样本采集 样本采集前用无菌生理盐水洗去宫颈外分泌物,再用专用采集器采集宫颈分泌物,并置于细胞保存液中密封送检。样本如不能立即检测,可于 -20℃ 暂时保存。

1.3 仪器与试剂 达安 DA7600 扩增仪,凯普生物化学有限公司核酸分子快速导流杂交仪及试剂盒。

1.4 检测方法 取 0.5 mL 样本,采用分离法抽提 DNA;PCR 扩增体系(每例份):PCR mix 23.25 μL, DNA Taq 酶 0.75 μL, DNA 模板 1 μL,按照条件扩增;扩增后取 20 μL PCR 扩增产物加入 0.5 mL 杂交液 45℃ 杂交,其余所有操作均按试剂盒说明书进行。根据 HPV 分型分布图即可判断阳性点为何种亚型。

1.5 统计学处理 使用 SPSS 10.0 软件分析,以百分率作 HPV 感染评价指标,HPV 检出率差异进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。对多重感染者,在 HPV 亚型分布统计时各亚型的阳性率重复计算。

2 结果

2.1 对 472 例样本进行 HPV 核酸分子快速导流杂交法检测,共检测出 98 例阳性患者,阳性率 20.8%(98/472)。由于多重感染,98 例阳性患者检出不同亚型例数合计 164 例。在本研究中,未发现 HPV43、44、51、56 和 59 亚型感染患者。见表 1 和表 2。

表 1 各年龄段宫颈病变患者 HPV 感染检出率[n(%)]

年龄(岁)	例数(n)	HPV 阳性
≤29	86(18.2)	22(25.6)
≤39	181(38.3)	52(28.7)
≤49	162(34.3)	21(13.0)
≤60	43(9.1)	3(7.0)

2.2 患者感染 HPV 的高峰在 30~39 岁。20~29 岁的感染率为 25.6%,30~39 岁感染率为 28.7%,两个年龄段间差异无统计学意义($P > 0.05$);而 40 岁之后感染率明显下降,HPV 感染检出率存在明显差异,30~39 岁与 40~49 岁年龄段之间差异有统计学意义($\chi^2 = 12.68, P < 0.05$)。感染患者中,单一感染占 11.02%(52/472),多重感染占 9.7%(46/472)。感染的基因型表明,以高危型为主,感染率最高的是 HPV52、16、58,分别占 20.7%、19.5%和 13.4%。高危型共占 80.5%(132/164),低危型占 19.5%(32/164)。

表 2 HPV 亚型在宫颈病变患者中的分布情况

HPV 亚型	阳性数(n)	百分比(%)	HPV 亚型	阳性数(n)	百分比(%)
52	34	20.7	58	6	3.6
16	32	19.5	CP8304	6	3.6
58	22	13.4	11	4	2.4
33	12	7.3	39	4	2.4
31	10	6.1	56	4	2.4
18	9	5.5	35	3	1.8
6	8	4.9	42	2	1.2
53	7	4.3	45	1	0.6

注:对多重感染者,各亚型的阳性率重复计算。

3 讨 论

HPV 核酸分子快速杂交分型检测能对 HPV DNA 进行快速分型,具有重要临床意义。宫颈癌是女性癌症死亡率最高的疾病之一。年龄是 HPV 感染的一个重要因素,在 40 岁以前感染率逐渐增加,30~40 岁达到高峰,随着年龄的增长其感染率又降低,这可能与女性的性活跃程度有密切关系,即部分感染为一过性的,而非持续感染;另一方面,可能感染后产生免疫抵抗力而不会重复感染同一亚型 HPV。但也有报道提示,随着年龄增加到一定程度,HPV 的感染率会增高,原因为人体雌、孕激素的改变使得 HPV 更易侵袭,本研究中未发现这一现象,估计是人们生活水平的提高使这些激素改变而延迟。HPV 的亚型分布显示,主要以高危型为主,其中 HPV52 占 20.7%,HPV16 占 19.5%,HPV58 占 13.4%,其他包括中国人常见的 CP8304 亚型及低危型共计不到 50%,这与国际癌症协会(IARC)的调查结果不尽相同(不包括中国人)^[3]。可见 HPV 基因型分布存在明显的地区差异,而且中国不同地区之间也存在着分布差异,如华中地区以 HPV16 最多^[4-5]。国内外报道的 HPV18 是仅次于 HPV16 的主要致病型^[6],在本研究中仅占 5.5%,列第 6 位。有报道江西省宫颈癌患者以 HPV16、58、33、31 为主,且感染率相近,与本研究也有一定差别^[7]。可见地区差异对 HPV 亚型分布的影响是比较明显的。

(上接第 814 页)

3 讨 论

表 1 显示,经过初筛的标本与未经过初筛的不合格率进行比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),因此采血前进行快速检测谷丙转氨酶,将大大降低采血后谷丙转氨酶的不合格率,提高血液采集效率,既节省血源,也节约检验成本等;同时也给献血者提示,如何健康饮食和健身运动。表 2 显示两种方法检测结果差异无统计学意义($P > 0.05$),说明用干式化学法快速检测是可行的,也是必要的。

对肝炎病毒作血液筛检时,谷丙转氨酶的检测有一定价值。其异常除了与肝脏疾病有关外,还可能同其他疾病有关,不仅可排除谷丙转氨酶异常的献血者,还可以排除肝脏以外的其他某些疾病患者。谷丙转氨酶血液筛查在某种程度上能减少丙型肝炎病毒“窗口期”感染和乙型肝炎病毒隐匿性感染的风险。造成谷丙转氨酶升高的常见原因有多种,除肝脏本身的疾病外,药源性或中毒性肝损害以及药物过敏等都可导致其升高。另外,对健康献血者而言,献血前饮酒、劳累或熬夜、剧烈运动、近期吃过多油腻食物、体型肥胖等也会使谷丙转氨酶升

在 472 例患者中,有部分患者(46 例)为多重感染,但未发现多重感染因素与宫颈病变存明显的相关性。另有 5 个亚型(43、44、51、56、59)在本组检测中未发现,在其他一些报道中这几个亚型的比例也较低。就 HPV 亚型在中国的分布情况而言,本地区与其他地区总体上还是存在较多相似之处。本研究阳性率较高,可能与采集的样本是高危患者有一定关系。

总之,通过对 HPV 亚型在各年龄段感染情况的研究,可以帮助对高发年龄段的人群进行定期体检,以及早期发现宫颈病变,并对其采取合理干预。通过对 HPV 亚型分布的分析比较,可以明确本地区与其他地区 HPV 感染亚型及其比例的不同,因此可据此设计包括该地区常见亚型的导流杂交膜或基因芯片,以用于筛查诊断,还可根据常见类型研究制备针对性的疫苗。

参考文献

- [1] Vadespino VM, Valdespinl VE. Cervical cancer screening state of the art[J]. Curr Opin Obstet Genecol, 2006, 18(1): 35-40.
- [2] Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer[J]. Clin Pathol, 2002, 55(4): 244-265.
- [3] Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective[J]. Int J Cancer, 2004, 111(2): 278-285.
- [4] 史娅萍,朱宇宇,周丽琴,等. 人乳头瘤状病毒基因型在宫颈疾病中的分布特点[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(9): 1009-1012.
- [5] 赵敏,董汉生,陈雪,等. 尖锐湿疣组织 HPV 基因芯片分型及亚型分析[J]. 中国皮肤性病杂志, 2006, 20(8): 490-491.
- [6] 刘继红,黄欣,廖革望,等. 中国和澳大利亚宫颈癌患者人乳头瘤状病毒感染及其他危险因素的对比研究[J]. 中华医学杂志, 2003, 9(2): 748-753.
- [7] 吴玉萍,陈裕隆,李隆玉,等. 宫颈癌患者人乳头瘤病毒(HPV)主要亚型及其感染研究[J]. 病毒学报, 2005, 21(8): 269-273.

(收稿日期:2012-01-21)

高。若有这些不良习惯者前来献血,谷丙转氨酶的检测具有临床意义。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB18467-2001 献血者健康检查要求[S]. 北京:中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2001.
- [2] 陈长荣,彭琼,张永昌. 厦门市无偿献血者谷丙转氨酶检测结果分析[J]. 中国输血杂志, 2002, 15(6): 401-403.
- [3] 宫伟,高东英,张桂枝. 北京市街头无偿献血情况统计分析[J]. 中国输血杂志, 2002, 15(4): 268-269.
- [4] Kaplan LA, Pesce AJ, Kazmierczak SC. Clinical Chemistry[M]. St. Louis, MO: Mosby, 2003: 384-387.
- [5] Henry JB, Davey FR, Herman CJ, et al. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods [M]. Philadelphia: Saunders, 2001: 290-293.

(收稿日期:2012-02-13)