

• 临床检验研究论著 •

鹰潭地区女性宫颈 HPV 感染率及其基因分型特点

朱红英¹, 占葆娥², 陈飞燕¹, 李振莲³

(1. 江西省鹰潭市人民医院铁路分院检验科, 江西鹰潭 335002; 2. 广东省深圳市中医院检验科, 广东深圳 518033; 3. 广东医学院医学检验学院, 广东东莞 523808)

摘要:目的 探讨鹰潭地区女性宫颈人乳头瘤病毒(HPV)感染率及其病毒基因分型特点,为该地区宫颈癌防治提供更科学、可靠的临床数据。方法 回顾分析 2011 年 1 月至 2013 年 6 月来鹰潭市人民医院铁路分院门诊妇科就诊及体检的妇女 4 165 例,采用核酸扩增和反向点杂交技术对 23 种 HPV 基因型进行检测,然后对检测结果进行分析。结果 在 4 165 例患者中,HPV 阳性者有 1 311 例,感染率为 31.48%;一重感染率为 20.86%,二重感染率为 6.27%,三重感染率为 2.76%,四重感染率为 0.84%,四重以上感染率为 0.72%。感染率最高的基因型别是 HPV 52 型,占 12.43%,其次为 HPV 43、58、16 型。>20~25 岁者感染率最高,为 43.19%。结论 鹰潭地区女性宫颈 HPV 感染率有较高的区域性,以 HPV 52、43、58、16 等亚型感染居多。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因亚型; 宫颈癌; 年龄

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.019

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)11-1419-03

The rate of HPV infection and HPV genotyping in women from Yingtan

Zhu Hongying¹, Zhan Baoe², Chen Feiyan¹, Li Zhenlian³

(1. Department of Clinical Laboratory, Railroad Branch of People's Hospital of Yingtan, Yingtan, Jiangxi 335002, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong 518033, China; 3. School of Laboratory Medicine, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China)

Abstract: Objective To determine the rate of human papillomavirus virus (HPV) infection and HPV subtypes distribution in women from Yingtan, so as to provide more reliable and scientific clinical data for the prevention and control of cervical carcinoma. **Methods** 4 165 women were retrospectively analyzed, who were outpatients or physical examination people of Railroad Branch of People's Hospital of Yingtan from January 2011 to June 2013. 23 types of HPV genotypes were detected in cervical samples by using the nucleic acid amplification and reverse dot hybridization technology. **Results** 1 311 HPV positive samples were found in 4 165 women (31.48%), of which 20.86% with single HPV genotype infection, 6.27% with double HPV genotypes infection, 2.76% with triple HPV genotypes infection, 0.84% with quadriad HPV genotypes infection, and 0.72% with more than quadriad HPV genotypes infection. HPV52 had the highest infection rate, accounting for 12.43%, following with HPV43, 58, 16. >20-25 age group had the highest infection rate(43.19%). **Conclusion** Women have high HPV infection rate in Yingtan, and HPV subtypes such as HPV52, 43, 58, 16 are superior infection genotypes.

Key words: human papillomavirus virus; gene subtypes; cervical carcinoma; age

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一,其发病率仅次于乳腺癌^[1]。1977 年 Laverty 在电镜中观察到宫颈癌活检组织中存在 HPV 颗粒^[2],它是一种微小的双链闭环 DNA 病毒,现在已发现 100 多种亚型,其中有 50 多种可以感染生殖道^[3]。现已有多项研究证实 HPV 感染是宫颈癌发生的必要条件,HPV 通过其 DNA 编码的多种蛋白抑制肿瘤细胞的凋亡,实现肿瘤的免疫逃逸。高危型 HPV 导致宫颈上皮肉瘤样病变机会较高,在 53.6% 的宫颈癌患者中发现有 HPV 感染^[4],现已知高危黏膜型 HPV 大约有 15 种,最普遍的为 HPV16 和 HPV18,它们导致了约 70% 的女性宫颈癌^[5]。故对 HPV 进行分型检测有助于宫颈癌早期筛查和判断宫颈癌患者的疗效^[6]。鹰潭市人民医院铁路分院的患者大都是来自铁路工作人员,他们接触的是“四面八方”不同的气候及生活环境,故对鹰潭市人民医院铁路分院患者 HPV 感染状况分析具有一定的代表性。本文通过对 4 165 例患者进行 HPV 检测,并对 1 311 例阳性患者进行 HPV 分型,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1 月至 2013 年 6 月来自鹰潭市人民医院铁路分院妇科门诊就诊 4 165 例患者,年龄 16~67 岁。

1.2 仪器与试剂 HPV 基因分型检测试剂盒(可检测 23 种型别)购自亚能生物技术有限公司;ABI7000 型 PCR 扩增仪(美国 ABI 公司),Combi-H12 型杂交培养箱(上海跃进),THZ-92A 台式恒温振荡器等。

1.3 标本采集 先以扩阴器暴露宫颈,用棉拭子擦去宫颈口过多的分泌物。采用试剂盒中配套的颈脱落细胞采集器中的宫颈刷置于宫颈口,单方向旋转 3~5 周以获得足量的上皮细胞样本,然后将宫颈刷头部放入装有专用细胞保存液的洗脱管中,沿刷柄折痕处将宫颈刷柄折断,捏紧洗脱管盖,做好标记,立即送至检验科,置于-20℃冰箱保存待检。

1.4 方法

1.4.1 HPV DNA 扩增 严格按亚能生物技术有限公司 HPV 基因分型检测试剂盒说明书进行 HPV DNA 提取,提取

液经 PCR 扩增仪扩增。

1.4.2 HPV 杂交分型检测 扩增产物经杂交液杂交(严格按照试剂盒说明书),洗膜,最后显色,经电脑扫描结果判定。每张杂交膜中包含待检的 23 种 HPV 基因型位点,其中包括 18 种高危型,即 16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、83、MM4 型,以及 5 种低危型,即 6、11、42、43、44 型和阳性质控 PC 位点。杂交后的每张膜上在 PC 位点必须出现蓝色显色信号,则表示杂交成功。

1.5 统计学处理 使用 SPSS10.0 软件进行统计学分析,阳性率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

4 165 例患者中, HPV 病毒感染者有 1 311 例,感染率为 31.48%(1 311/4 165)。一重感染率为 20.86%(869/4 165),二重感染率为 6.27%(261/4 165),三重感染率为 2.79%(116/4 165),四重感染率为 0.84%(35/4 165),四重以上感染率为 0.72%(50/4 165),1 311 例 HPV 感染的患者共检出 1 697 株亚型阳性。

5 种低危型别中,感染率最高的为 43 型 200 例占 23 种型别的阳性株 11.78%(200/1 697)。18 种高危型中,其中感染率最高的是 52 型,共 211 例,占 23 种型别的阳性株 12.43%(211/1 697),其次是 58 型 193 例占 11.37%(193/1 697),16 型 190 例占 11.20%(190/1 697),以上 3 种高危亚型均与宫颈癌发生密切相关的^[5]。本研究暂未检出 HPV 44 和 HPV MM4 这 2 种型别。见表 1~3。

表 1 HPV 基因亚型的分布

类别	HPV 型别	阳性株数(n)	构成比(%)
高危型	16	190	11.20
	18	79	4.66
	31	54	3.18
	33	58	3.42
	35	18	1.06
	39	12	0.71
	45	13	0.77
	51	43	2.53
	52	211	12.43
	53	59	3.48
	56	92	5.42
	58	193	11.37
	59	43	2.53
	66	78	4.60
	68	79	4.66
	73	11	0.65
	83	15	0.88
MM4	0	0.00	
低危型	6	112	6.60
	11	66	3.89
	42	71	4.18
	43	200	11.78
	44	0	0.00

表 2 不同年龄段感染 HPV 的情况

年龄(岁)	受检例数(n)	HPV 阳性		高危型	
		n	感染率(%)	n	感染率(%)
16~20	30	10	33.33	5	50.00
>20~25	477	206	43.19	156	75.73
>25~30	1 040	301	28.94	276	91.70
>30~35	819	266	32.48	231	86.84
>35~40	638	176	27.59	141	80.11
>40~45	568	151	26.58	131	86.75
>45	593	201	33.90	161	80.10

注:各年龄组比较 $P < 0.05$ 。

表 3 不同年龄段 HPV 单一感染和多重感染检出情况(%)

年龄(岁)	一重感染	二重感染	三重感染	四重感染	四重以上感染
16~20	33.33	0.00	0.00	0.00	0.00
>20~25	25.58	9.85	4.40	2.10	1.25
>25~30	17.98	6.83	2.98	0.48	0.67
>30~35	22.10	5.98	2.81	0.98	0.61
>35~40	22.10	3.13	1.10	0.78	0.47
>40~45	18.84	5.11	1.76	0.35	0.53
>45	20.40	7.59	4.05	0.84	1.01
合计	20.86	6.27*	2.79*	0.84*	0.72*

*: $P < 0.05$,与一重感染率比较。

3 讨论

宫颈癌是威胁女性生命健康的常见肿瘤之一,近年来其发病年龄也越来越年轻化,故临床上对宫颈癌或宫颈癌前病变的筛查,特别是 HPV 的基因分型具有一定的价值。研究认为,目前世界最常见 HPV 基因型是 HPV 16 型,其他常见基因型存在地域差异。欧洲人群的易感型别以 HPV 16、31、18 型为主,南美地区人群的易感型别以 HPV 16、58、18 型为主,亚洲地区人群易感型别为 HPV 16、18、33 型^[7]。据国内的统计资料显示,HPV 16 型感染率是最高的,其他亚型感染率具有地域差异性。本研究发现,鹰潭地区 HPV 感染率最高的亚型是 HPV 52 型,占 23 种型别的 12.43%,其次是 43 型占 11.78%,58 型占 11.37%,16 型占 11.20%,这与部分报道的结果不一致,感染 HPV 亚型的差异可能是由于受检人群的差异性和检测方法的不同造成的。

早在 150 多年以前,人们就发现在修女中宫颈癌极其罕见,并且未婚和未产妇女中宫颈癌发病率也极低,从而推测宫颈癌的发生与性生活和分娩有关。随着对宫颈癌流行病学研究的深入,越来越多的研究证实宫颈癌的发生与性行为 and 妇女的生殖状况密切相关^[8]。本研究的筛查结果显示,HPV 阳性患者以大于 20~25 岁最多,阳性率为 43.19%,可能是因为该年龄段女性性生活活跃或处于妊娠期,容易感染 HPV。随着年龄的增长,HPV 感染率总体呈下降趋势,但 45 岁以上的女性 HPV 感染率却比大于 40~45 岁的女性高,这可能是由于 45 岁以上的女性,体内雌性激素分泌减少,机体抵抗力下降,从而引起 HPV 持续感染和反复感染。16~20 岁女性的 HPV 感染率达到了 33.3%,但其中只有 50.0% 感染了高危型 HPV,另外一半的感染者感染的是低危型 HPV,它主要是诱发尖锐湿疣,该结果佐证了尖锐湿疣多好发于年轻人的结论^[9]。

本研究发现 HPV 感染以一重感染为主,占总人数的 19.81%,其次是二重感染、三重感染、四重感染,各年龄段中一重感染率与多重感染率比较差异有统计学意义($P < 0.05$),但每个年龄组内的一重感染、多重感染率比较差异无统计学意义

($P > 0.05$)。关于 HPV 感染的基因型别数量是否提高宫颈病变的发生率的争议颇多,有学者认为 HPV 多重感染比单一持续感染的危险性更大,多重感染更易导致宫颈病变^[10]。对于 HPV 感染女性应加强相关知识宣传,以科学的态度应对疾病十分重要,高危型 HPV 持续感染是导致宫颈癌的主要原因,80% 的妇女在一生中的某个时期会感染上 HPV,但通常情况下感染可以自然消退或被人体免疫,而不会引发疾病^[11]。通过抗病毒治疗,HPV 感染也存在一定的转阴率,即使感染高危型别也是有很大转机的,因为要发生癌变的条件除了感染高危亚型外,还有很多其他因素(持续感染、自身免疫力等),临床即使不能通过治疗让所有亚型完全转阴,也可以通过控制其他因素来延长癌前病变时间,为治疗争取时间^[12]。同时,要做好医患沟通,防止患者情绪焦虑,保持良好心态;鼓励患者多参加体育锻炼、提高自身免疫力,并坚持正确使用安全套等等,均有利于 HPV 的清除和避免 HPV 再次感染。

参考文献

[1] 尹一兵. 分子诊断学[M]. 北京:高等教育出版社,2007:213-214.
 [2] 刘辉. 宫颈癌早期诊断研究进展[J]. 武警医学,2012,23(7):632-634.
 [3] De Villiers EM. Human papillvirus infection in skin cancer[J]. Biomed Phannacother,1998,52(1):26-33.
 [4] Rowe LR, Aldeen W, Bentz JS. Prevalence and typing of HPV

DNA by hybrid apture II in women with ASCUS,ASC-H,LSIL, and AGC on ThinPrep Pap test[J]. Diagn Cytopthol,2004,30(6):426-432.
 [5] Arbyn M, Castellsagué X, De Sanjose S, et al. Worldwide burden of cervical cancer in 2008[J]. Ann Oncol,2011,22(12):2675-2686.
 [6] 季雯婷. 人乳头瘤病毒与宫颈病变的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志,2013,40(2):138-141.
 [7] 吴夏枫,喻晶,刘晓翌,等. 1 000 例妇女宫颈人乳头瘤病毒基因分型检测结果分析[J]. 中国实验诊断学,2013,17(5):865-867.
 [8] Zhao F, Forman MR, Belinson J, et al. Risk factors for HPV infection and cervical cancer among unscreened women in a high-risk rural area of China[J]. Int J Cancer,2006,118(2):442-448.
 [9] 黄蓉,凡任芝,孙余婕,等. 尖锐湿疣及疑似患者高危型人乳头瘤病毒检测的临床应用[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(8):1020-1021.
 [10] 杨晓华,秦晓红,夏凤英,等. 成都农村地区女性宫颈 HPV 感染基因别分布状况[J]. 中国医疗前沿,2012,7(3):82-83.
 [11] 黄军旗. HPV 检测在宫颈癌筛查防治及判断预后中的临床分析[J]. 中国社区医师,2011,13(30):219-223.
 [12] 董海新,刘燕,汤玉美,等. 宫颈病变患者 HPV 基因亚型转阴情况的研究[J]. 分子诊断与治疗杂志,2012,4(1):23-25.

(收稿日期:2014-01-20)

(上接第 1418 页)

应答,IgA 担负着黏膜免疫防御的任务,是机体抵抗上呼吸道感染的第一道防线,在本研究中 HSP 患儿的 IgA 水平明显升高,也间接说明了上呼吸道感染是 HSP 发病的主要原因。有研究表明,血清 IgA 水平升高与肠黏膜免疫系统失调有关^[1],IgA 可与食物抗原形成免疫复合物,沉积于全身小血管壁,介导免疫损伤。Yang 等^[12]发现 HSP 急性期患儿转化生长因子 β 、分泌型 T 淋巴细胞水平明显升高,是血清 IgA 水平升高的关键因素之一。本研究中,HSP 患儿血清中的 IgE 水平也较高,表明 I 型变态反应也可能参与 HSP 的致病机制,患儿免疫病理损伤以皮肤紫癜为主。HSP 患儿 C3 水平升高,显示 HSP 患儿存在 IgA 免疫复合物激活补体的现象,补体的激活主要通过旁路途径与凝集素途径,形成原位膜攻击复合物,而造成肾损伤。HSP 患儿 IgA、C3 及其免疫复合物沉积于受累肾小球系膜区及皮肤、肾小球、胃肠道的小动脉、毛细血管和小静脉血管壁,导致小血管炎,损伤涉及血清 IgA 产生增多、IgA 特异性自身抗体异常、IgA1 结构异常、IgA1 受体表达异常、补体参与等,同时介导黏附分子、细胞因子等表达异常^[1]。

从以上分析可以得出,辅助 T 淋巴细胞、NK 细胞表达的减少和 B 淋巴细胞表达的增多均可导致 HSP 的发病,HSP 患儿存在细胞免疫及体液免疫水平失调造成的免疫功能紊乱,淋巴细胞亚群、免疫球蛋白及补体的检测对于从细胞免疫及体液免疫角度了解患儿的免疫功能,探讨疾病的发病机制、辅助诊断及预后有重要意义。

参考文献

[1] 胡晓晶,柳方娥. 过敏性紫癜免疫学发病机制研究进展[J]. 国际儿科学杂志,2010,37(2):183-185.

[2] 金燕樑,周纬,徐亚珍,等. 儿童过敏性紫癜与 T-细胞亚群研究[J]. 临床儿科杂志,2006,24(9):754-755.
 [3] 侯佳宜. B 细胞激活因子与过敏性紫癜相关性研究[J]. 中国免疫学杂志,2012,28(8):752-754.
 [4] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:北京科学技术出版社,2007:168-170.
 [5] Sakakura M, Wada H, Tawara I, et al. Reduced CD4⁺ Cd25⁺ T cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Thromb Res,2007,120(2):187-193.
 [6] Liu B, Zhao H, Poon MC, et al. Abnormality of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Eur J Haematol,2007,78(2):139-143.
 [7] Laman JD, Claassen E, Noelle RJ. Functions of CD40 and its ligand, gp39(CD40L)[J]. Crit Rev Immunol,1996,16(1):59-108.
 [8] Solomou EE, Rezvani K, Mielke S, et al. Deficient CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ T regulatory cells in acquired aplastic anemia[J]. Blood,2007,110(5):1603-1606.
 [9] 林珊. 十种血液病患儿外周血 T 淋巴细胞亚群检测及临床意义[J]. 实验与检验医学,2009,27(2):133-134.
 [10] 王勤,闵月,李晓忠,等. 过敏性紫癜患儿淋巴细胞亚群变化及意义[J]. 江苏医药,2012,38(2):156-158.
 [11] 李秋,杨锡,李永柏,等. 过敏性紫癜 T 淋巴细胞功能状态的研究[J]. 中华儿科杂志,2001,39(3):157-159.
 [12] Yang YH, Huang MT, Lin SC, et al. Increased transforming growth factorbeta(TGF-beta)-secreting T cells and IgA anti-cardiolipin antibody levels during acute stage of childhood Henoch-Schonlein purpura[J]. Clin Exp Immunol,2000,122(2):285-290.

(收稿日期:2014-01-11)