

• 调查报告 •

上海市奉贤区人乳头瘤病毒感染状况及型别分布特征

李晓娇¹, 卢晓佳¹, 张群峰²

(1. 上海市奉贤区中心医院, 上海 201400; 2. 复旦大学附属上海市第五人民医院, 上海 201400)

摘要:目的 了解上海市奉贤区女性宫颈人乳头瘤病毒(HPV)感染状况和基因亚型分布情况,为预防 HPV 感染和宫颈癌防治提供可靠的科学依据。方法 采用 PCR 联合反向斑点杂交技术,对 2011 年 2 月至 2013 年 10 月来本院初次进行 HPV 检查的 18 194 例妇女 HPV 检测结果进行分析。结果 18 194 例样本中阳性例数为 2 986 例,总感染率为 16.41%,其中 21 种基因型全部检出,单一 HPV 病毒感染 2 714 例,2 种 HPV 病毒感染 148 例,占总感染例数的 4.96%,3 种及以上 HPV 病毒感染 124 例。住院患者阳性率为 12.76%,门诊患者阳性率为 16.88%。HPV 感染高危型多于低危型,检出数约为低危型的 7.5 倍。高危型 HPV 感染中,以 16、52、58 型感染最多;低危型 HPV 感染中以 81 型感染最多,其次为 6、11 型。结论 奉贤区 HPV 流行整体符合亚洲人群分布规律,又有独特的地域特征。感染年龄高峰在 51~65 岁,高危型感染高于低危型感染,主要为单基因型感染。

关键词:人乳头瘤病毒; 聚合酶链式反应; 反向斑点杂交技术; 亚型分布; 宫颈病变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.20.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)20-2792-03

Infection situation and type distribution characteristics of human papillomavirus in Fengxian District of Shanghai

Li Xiaojiao¹, Lu Xiaojia¹, Zhang Qunfeng²

(1. Shanghai Fengxian District Central Hospital, Shanghai 201400, China; 2. Affiliated Shanghai Fifth People's Hospital, Fudan University, Shanghai 200240, China)

Abstract: **Objective** To investigate the infection situation and the gene subtype distribution characteristics of human papillomavirus (HPV) in Fengxian District of Shanghai to provide the reliable scientific basis for preventing HPV infection and the prevention and treatment of cervical cancer. **Methods** The PCR combined with reverse dot-blot technique was adopted to analyze the HPV detection results among 18 194 women in our hospital from February 2011 to October 2013. **Results** Among 18 194 cases of sample, 2 986 cases were HPV positive with the total HPV infection rate of 16.41%, in which 21 genotypes were all detected out. Single HPV genotype infection was in 2714 cases, two kinds of HPV genotype infection were in 148 cases (4.96%) and three kinds or more of HPV genotype infection were in 124 cases. The HPV positive rate was 16.88% in the outpatient and 12.76% in the inpatients. In the HPV infection, the high-risk type was more than the low-risk type, its detection number was 7.5 times of low-risk type. Most of the high-risk HPV infection were HPV16, 52, 58; most of the low-risk HPV infection was HPV ep8304, followed by HPV6 and HPV11. **Conclusion** The HPV prevalence in Fengxian District is generally in line with the Asian population distribution rule, but has its own unique regional characteristics. The infection age peak is 51—65 years old. The high-risk type infection is higher than the low-risk type infection, which is dominated by the single genotype infection.

Key words: human papillomavirus; polymerase chain reaction; reverse dot-blot; subtype distribution; cervical lesions

子宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,发病率仅次于乳腺癌,在全球妇女癌症病死率中位居第 2 位^[1]。高危型人乳头瘤病毒(HPV)的持续感染是宫颈癌前病变及宫颈癌的直接原因。HPV 是一种具有种属特异性的嗜上皮病毒,属双链闭合环状小 DNA 病毒,其片段大约为 8 000 bp,包括 8 个开放式阅读框,按功能可分为 3 个结构域:早期蛋白编码区,晚期蛋白编码区和上游调控区。根据 HPV 基因的序列变异可将其分为多种亚型。目前确定的 HPV 型别约有 150 余种,其中有约 40 种可以感染人的生殖器官^[2]。临床上根据 HPV 亚型致癌危险性大小不同,将其分为低危型和高危型,低危型主要包括 HPV-6、11、40、42、43、44、54、61、70、72、81 等亚型,其中以 HPV-6 和 HPV-11 最为常见,主要引起尖锐湿疣等良性病变^[3]。高危型包括 HPV-16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、83、MM4 等,主要引起宫颈癌等恶性病变。HPV 的检测是诊断宫颈病变的重要依据。HPV 的感染具有很强的地域性,不同国家、种族 HPV 的感染率及型别分布均存在差异^[4]。因此,了解本地区 HPV 感染状况及型别的

分布特点,对研究 HPV 感染的防治及 HPV 疫苗开发应用有着重要的指导意义,并且对于宫颈癌早期的预防有着重要的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 3 月至 2013 年 10 月上海市奉贤区中心医院妇科门诊及住院 18 914 名妇女进行 HPV 筛查,其中门诊患者 16 109 例,住院患者 2 085 例,年龄 15~92 岁,有性生活史,初次进行 HPV 筛查,筛查前半年内无宫颈及阴道手术史,检查前 3 d 无性生活及阴道用药。采集宫颈分泌物,4℃保存,3 d 内检测。

1.2 仪器与试剂 ABI7500 荧光定量 PCR 仪、凯普快速核酸杂交仪-HHM-2、eppendorf 高速冷冻离心机及微量加样器、K-30 干式恒温器、其林贝尔漩涡混运器、宫颈脱落细胞采集器均由凯普公司提供。试剂为广东凯普公司生产的 21 种 HPV 分型检测试剂盒(PCR+膜杂交法)。

1.3 方法 将含有宫颈分泌物的保存液混匀,取 500 μL,14 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液,用 DNA 提取液提取

DNA。将 PCR 反应液与 Tag 酶按照比例混合后取 24 μ L 分装在反应管中,加入 1 μ L 提取的 DNA 液用 ABI7500 进行扩增。使用快速核酸杂交仪将扩增后的开链 DNA 用凯普核酸杂交试剂进行 21 种分型检测。结果分析采用直接观察杂交膜,阳性结果为清晰的紫色原点,BIO 及 IC 点均显色为结果有效(若为阳性结果,IC 点可出现不显色)。根据阳性显色点读取 HPV 亚型。本实验可检测 15 种高危型别:HPV-16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68 型及 6 种低危型别:HPV-6、11、42、43、44、81 型。

1.4 统计学处理 运用 SPSS19.0 统计软件进行分析。采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 总感染状况 在 18 194 例样本中,阴性样本 15 208 例,阳性样本 2 986 例,阳性率为 16.41%,其中单一 HPV 病毒感染 2 714 例,占总感染例数的 90.89%,2 种 HPV 病毒感染 148 例,占总感染例数的 4.96%,3 种及以上 HPV 病毒感染 124 例,占总感染例数的 4.15%。21 种型别均有检出。样本中住院患者阳性 266 例,阳性率为 12.76%,门诊患者阳性 2 720 例,阳性率为 16.88%,门诊患者 HPV 感染率高于住院患者。

表 1 HPV 感染基因亚型检出情况

HPV 型别	单一感染(n)	混合感染(n)	总检出数(n)	总检出率(%)	占高/低危型比率(%)
高危型					
16	418	210	628	16.73	18.97
18	143	93	236	6.29	7.13
31	110	84	194	5.17	5.86
33	136	102	238	6.34	7.19
35	10	20	30	0.80	0.91
39	84	49	133	3.54	4.02
45	26	13	39	1.04	1.18
51	9	14	23	0.61	0.69
52	434	246	680	18.11	20.54
53	188	127	315	8.39	9.51
56	28	23	51	1.36	1.54
58	247	148	395	10.52	11.93
59	29	34	63	1.68	1.90
66	65	51	116	3.09	3.50
68	90	80	170	4.53	5.13
低危型					
6	46	47	93	2.48	20.99
11	43	40	83	2.21	18.74
42	9	3	12	0.32	2.71
43	3	1	4	0.11	0.90
44	9	9	18	0.48	4.06
81	140	93	233	6.21	52.60

2.2 HPV 感染的型别分布 在检出的 2 986 例阳性标本中,各型均有检出 HPV 感染,其中高危型多于低危型,检出数高危型约为低危型的 7.5 倍。高危型 HPV 感染中,以 16、52、58 型感染最多,分别占高危型的 18.97%、20.54%、11.93%,占 HPV 基因亚型总检出数的 16.73%、18.11%、10.52%。低危型 HPV 感染中以 81 型感染最多,占低危型的 52.60%,占

HPV 基因亚型总检出数的 6.21%,其次为 6、11 型,分别占低危型的 20.99%和 18.74%,占 HPV 基因亚型总检出数的 2.48%和 2.21%,见表 1。

2.3 HPV 感染的年龄分布 本研究受检者年龄为 15~92 岁,平均(38.75 $\pm$ 11.40)岁。本研究将受检者按年龄分为 $\leq$ 20 岁,20~<25 岁,25~<30 岁,30~<35 岁,35~<40 岁,40~<45 岁,45~<50 岁,50~<55 岁,55~<60 岁,60~<65 岁,65~<70 岁, $\geq$ 70 岁 12 组,不同年龄感染情况如表 2 所示,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 不同年龄 HPV 感染情况

年龄组别(岁)	阳性例数	受检标本数	HPV 感染率(%)
$\leq$ 20	68	346	19.65
20~<25	328	2 023	16.21
25~<30	392	2 690	14.57
30~<35	453	2 719	16.66
35~<40	431	2 665	16.17
40~<45	452	2 874	15.73
45~<50	377	2 239	16.84
50~<55	220	1 161	18.95
55~<60	134	668	20.06
60~<65	86	468	18.38
65~<70	30	209	14.35
$\geq$ 70	15	132	11.36

3 讨 论

3.1 HPV 感染状况 HPV 病毒主要通过性传播致感染,HPV 的持续感染与宫颈癌的发生密切相关^[5]。本研究选取奉贤区 18 914 例有性生活史、初次并且自愿进行 HPV 筛查的女性进行研究,分析发现本地区 HPV 感染的阳性率为 16.41%,高于全国的平均水平。

3.2 HPV 感染的型别特征 高危型 HPV 感染与宫颈癌等恶性疾病密切相关,低危型 HPV 感染与尖锐湿疣等良性病变相关。高危型 HPV 感染在子宫颈癌前期病变和进展中起着重要作用,在发达国家,约 70%的子宫颈癌患者检测发现 HPV 16 和 18 型感染^[6]。本地区 HPV 感染情况的研究中,高危型 HPV 感染多于低危型,检出数约为低危型的 7.5 倍。高危型 HPV 感染中,以 16、52、58 型感染最多,这 3 型与中国最常见的 HPV 感染类型相一致。高危型 HPV-16 是中国最为常见的感染型别^[7-8],而本地区 HPV 感染第一位的是 HPV 52 型,这可能与不同地区 HPV 感染状况不同相关。已有研究表明,地理位置不同,HPV 的流行状况存在差异^[9]。低危型 HPV 感染中以 81 型感染最多,占低危型的 52.60%,占 HPV 基因亚型总检出数的 6.21%,其次为 6、11 型,分别占低危型的 20.99%和 18.74%,占 HPV 基因亚型总检出数的 2.48%和 2.21%。

3.3 HPV 感染的年龄分布 有研究显示 HPV 感染高峰在 34 岁之前,35~45 岁的感染率随之降低,而大于 45 岁组,感染率又有所增加^[10]。本地区 20 岁以下人群的阳性率较高,这可能与过早的性生活史相关,过早的性生活及多个性伴侣是宫颈癌的高危因素。40~<45 岁 HPV 感染率有所下降,45 岁后感染率又逐渐增加,各年龄组感染率之间差异有统计学意义($P<0.05$)。本研究感染高峰在 50~65 岁之间,这可能与绝经后激素水平改变或机体免疫力降低相关,(下转第 2810 页)

[13] Fetar H,Gilmour C,Klinoski R,et al. mexEF-oprN multidrug efflux operon of pseudomonas aeruginosa; regulation by the MexT activator in response to nitrosative stress and chloramphenicol[J]. Ant Agents Chem,2011,55(2):508-514.

[14] Tian ZX,Fargier E,Mac Aogáin M,et al. Transcriptome profiling defines a novel regulon modulated by the LysR-type transcriptional regulator MexT in Pseudomonas aeruginosa[J]. Nucleic Acids Res,2009,37(22):7546-7559.

[15] Han TH, Lee JH, Cho MH, et al. Environmental factors affecting indole production in Escherichia coli[J]. Res Microbiol,2011,162(2):108-116.

[16] Tkachenko AG,Akhova AV,Shumkov MS,et al. Polyamines reduce oxidative stress in Escherichia coli cells exposed to bactericidal antibiotics[J]. Res Microbiol,2012,163(2):83-91.

[17] Wu J, Long Q, Xie J. (p)ppGpp and drug resistance[J]. J Cell Physiol,2010,224(2):300-304.

[18] Coornaert A,Lu A,Mandin P,et al. MicA sRNA links the PhoP regulon to cell envelope stress[J]. Mol Microbiol,2010,76(2):467-479.

[19] Fraud S,Campigotto AJ,Chen Z,et al. MexCD-OprJ multidrug efflux system of Pseudomonas aeruginosa; involvement in chlorhexidine resistance and induction by membrane-damaging agents dependent upon the AlgU stress response sigma factor[J]. Ant Agents Chem,2008,52(12):4478-4482.

[20] Lee S, Hinz A, Bauerle E, et al. Targeting a bacterial stress response to enhance antibiotic action[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2009,106(34):14570-14575.

[21] Hinz A, Lee S, Jacoby K, et al. Membrane proteases and aminoglycoside antibiotic resistance[J]. J Bacteriol,2011,193(18):4790-4797.

[22] Shee C,Gibson JL,Darrow MC,et al. Impact of a stress-inducible Switch to mutagenic repair of DNA breaks on mutation in Escherichia coli[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2011,108(33):13659-13664.

[23] Kindrachuk KN,Fernández L,Bains M,et al. Involvement of an ATP-dependent protease, PA0779/AsrA, in inducing heat shock in response to tobramycin in Pseudomonas aeruginosa[J]. Ant Agents Chem,2011,55(5):1874-1882.

[24] Cirz RT,Romesberg FE. Controlling mutation; intervening in evolution as a therapeutic strategy[J]. Crit Rev Biochem Mol Biol,2007,42(5):341-354.

[25] Baharoglu Z,Mazel D. Vibrio cholerae triggers SOS and mutagenesis in response to a wide range of antibiotics; a route towards multiresistance[J]. Ant Agents Chem,2011,55(5):2438-2441.

[26] Petrosino JF,Galhardo RS,Morales LD,et al. Stress-induced beta-lactam antibiotic resistance mutation and sequences of stationary-phase mutations in the Escherichia coli chromosome[J]. J Bacteriol,2009,191(19):5881-5889.

[27] Landini P. Cross-talk mechanisms in biofilm formation and responses to environmental and physiological stress in Escherichia coli[J]. Res Microbiol,2009,160(4):259-266.

(收稿日期:2014-05-28)

(上接第 2793 页)

具体原因还有待于后续的分析研究。66 岁以后,HPV 感染率逐渐下降,这可能与性生活的减少相关。

综上所述,HPV 感染是一种性传播疾病,与性行为因素相关,较好的经期卫生、同房卫生、固定性伴侣、合理使用避孕工具可以有效降低 HPV 的感染率,通过对本地区 HPV 分型检测及分析,为 HPV 感染的预防诊断及宫颈癌预防治疗提供依据,并可为针对地域性的 HPV 检测试剂及疫苗的研发提供依据^[11]。

参考文献

[1] Liu S, Tian Y, Greenaway FT, et al. A C-terminal hydrophobic, solvent-protected core and a flexible N-terminus are potentially required for human papillomavirus 18 E7 protein functionality[J]. Biochimie,2010,92(7):901-908.

[2] Bernard HU,Burk RD,Chen Z,et al. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments[J]. Virology,2010,401(1):70-79.

[3] D'hauwers KW,Gadet PF,Donders AR,et al. Impact of medical education on knowledge and attitudes regarding the human papilloma virus and vaccination; comparison before and 6 years after the introduction of the vaccines[J]. Vaccine,2013,31(49):5843-5847.

[4] Muñoz N,Bosch FX,Castellsagué 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.

[5] Meyer MF,Huebbers CU,Siefer OG,et al. Prevalence and risk

factors for oral human papillomavirus infection in 129 women screened for cervical HPV infection[J]. Oral Oncol,2014,50(1):27-31.

[6] Maranga IO,Hampson L,Oliver AW,et al. HIV infection alters the spectrum of HPV subtypes found in cervical smears and carcinomas from kenyan women[J]. Open Virol J,2013,7(3):19-27.

[7] Clifford GM,Smith JS,Plummer M,et al. Human papillomavirus types in invasive cervical Cancer worldwide;a meta-analysis[J]. Br J Cancer,2003,88(1):63-73.

[8] Sun ZR, Ji YH, Zhou WQ, et al. Characteristics of HPV prevalence among women in Liaoning province, China[J]. Int J Gynaecol Obstet,2010,109(2):105-109.

[9] Clifford GM,Gallus S,Herrero R,et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys; a pooled analysis[J]. Lancet,2005,366(9490):99198-99199.

[10] de Sanjosé S,Díaz M,Castellsagué X,et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology;a meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis,2007,7(7):453-459.

[11] Drolet M,Laprise JF,Boily MC,et al. Potential cost-effectiveness of the nonavalent human papillomavirus (HPV) vaccine[J]. Int J Cancer,2014,134(9):2264-2268.

(收稿日期:2014-05-08)