

· 论 著 ·

## 1 294 例女性高危型人乳头瘤病毒基因分型结果回顾性分析

曾昭瑛, 李亚娜, 苏建荣<sup>△</sup>

(首都医科大学附属北京友谊医院临床检验中心, 北京 100050)

**摘要:**目的 了解北京地区妇科门诊就诊女性高危型人乳头瘤病毒(HPV)的感染及其基因亚型分布情况,为该市今后防治人乳头瘤病毒感染和宫颈癌提供参考依据。方法 回顾性分析 2013 年 1 月至 2014 年 5 月该院妇科门诊就诊的 1 294 例女性宫颈拭子的 13 种高危型 HPV 基因分型检测结果,比较不同基因型的流行病学特点。采用 SPSS17.0 对数据进行统计学分析。结果 1 294 例妇科门诊就诊女性中,以 58 型、16 型和 52 型 HPV 最为常见,检出率分别为 10.5%、9.2% 和 8.2%。各年龄段就诊女性中,30~<40 岁的 HPV 感染率最高(39.9%),其次为 40~<50 岁、大于或等于 60 岁,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 该地区妇科门诊就诊女性高危型 HPV 感染率较高,应加强 HPV 筛查力度,为今后 HPV 相关疾病的防治提供基础依据。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因型; 宫颈癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.06.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)06-0796-03

## Retrospective analysis of high risk human papillomavirus genotypes infection among 1 294 women

Zeng Zhaoying, Li Yana, Su Jianrong<sup>△</sup>

(Clinical Laboratory Center, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China)

**Abstract: Objective** To understand the prevalence and sub-genotypes distribution situation of high risk human papillomavirus (HPV) infection in the gynecological outpatient department in Beijing area in order to provide the reference basis for the prevention and treatment of HPV infection and cervical cancer. **Methods** The detection results of 13 kinds of high risk HPV genotypes among 1 294 women in the gynecological outpatient department of this hospital from January 2013 to May 2014 were performed the retrospective analysis for comparing the epidemiological characteristics of different HPV genotypes. The SPSS17.0 software was adopted to perform the statistical analysis. **Results** Among 1 294 detected women, HPV-58, HPV-16 and HPV-52 were most common, the detection rates were 10.5%, 9.2% and 8.2% respectively. Among various age groups, the 30- <40 years group had the highest HPV detection rate (39.9%), followed by the 40- <50 years group and the  $\geq 60$  years group, but the difference among them had no statistically significance ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The women going to the local outpatient department have the higher prevalence of high risk HPV infection. The intensity of HPV screening should be strengthened in order to provide the fundamental basis for the prevention and treatment of HPV related diseases.

Key words: human papilloma virus; genotype; cervical cancer

人乳头瘤病毒(HPV)是一种 DNA 病毒,能引起人体皮肤黏膜的鳞状上皮细胞增殖。宫颈癌是女性第二常见的恶性肿瘤,发病率仅次于乳腺癌,全球每年约有  $270 \times 10^3$  例女性死于宫颈癌,几乎所有的宫颈癌病例(99%)都与生殖系统的 HPV 感染有关<sup>[1]</sup>。目前,HPV 基因检测已成为各大医院筛查宫颈癌的有效方式。不同种族不同地区不同研究人群感染的基因亚型有所不同,明确 HPV 在特定地区的感染率及型别分布差异能为该地区宫颈癌防治及流行病学调查提供依据,对 HPV 疫苗的开发应用有着积极的指导意义。本研究回顾性分析 2013 年 1 月至 2014 年 5 月本院 1 294 例妇科门诊就诊女性宫颈拭子的 HPV 基因型检测结果,以了解该人群的 HPV 感染率以及基因亚型的分布。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2013 年 1 月至 2014 年 5 月本院妇科门诊就诊的 1 294 例女性,年龄 15~84 岁,平均(41.9±11.3)岁,所有就诊女性均初次检测 HPV。

**1.2 仪器与试剂** 美国 ABI 公司提供的 ABI7300 实时荧光定量 PCR 仪;上海之江生物科技有限公司提供的 HPV 分型核酸测定试剂盒(荧光 PCR 法)。

## 1.3 方法

**1.3.1 标本采集及处理** 用无菌棉拭子将宫颈口过多的分泌物轻轻擦拭干净,更换宫颈刷将其置于宫颈口轻轻顺时针旋转 4 周,取得宫颈分泌物和脱落细胞,将宫颈刷放入已加有细胞保存液的取样管内,拧紧瓶盖立即送检或放入 -20 ℃ 冰箱保存。

**1.3.2 DNA 提取** 按照试剂盒所提供的操作要求进行。取含有宫颈细胞的细胞保存液 1~1.5 mL 离心管中,13 000 r/min 离心 5 min。沉淀加无菌生理盐水 1 mL 混匀,13 000 r/min 离心 5 min,小心吸弃上清。沉淀直接加入 100  $\mu$ L 核酸提取液充分混匀,沸水浴 10 min,13 000 r/min 离心 5 min,取上清液作为 PCR 反应的 DNA 模板。

**1.3.3 实时荧光 PCR 扩增** 按照试剂盒说明书配置 PCR 反应混合液。每 1 份标本进行 8 管荧光 PCR 扩增,依次检测 HPV 16、56、18、45、35、59、39、51、58、52、31、33、68 型。反应总体积为 40  $\mu$ L,将配制好的 8 种 HPV 核酸荧光 PCR 检测混合液 36  $\mu$ L 分别置于 PCR 反应管中,然后将待检标本、阳性对照品、H<sub>2</sub>O(阴性对照)4  $\mu$ L 分别加入 PCR 反应管,立即放入荧光 PCR 仪中进行 PCR 扩增反应。PCR 循环参数为 94 ℃ ×

2 min; 93 °C × 10 s → 62 °C × 31 s, 循环 40 次; 单点荧光检测 62 °C。

**1.3.4 结果判读** 按照说明书进行操作, 检测 13 种高危型 HPV 基因型 (16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 型), 并在 1 h 内分析结果。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 高危型 HPV 在不同年龄层的感染率比较采用  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

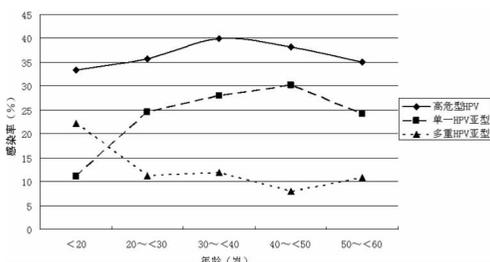
**2 结 果**

**2.1 HPV 检测结果及亚型分布** 在 1 294 例妇科门诊就诊女性中, HPV 阳性者 484 例, 检出率为 37.4%。13 种高危型 HPV 以 58、16 和 52 型检出率最高, 分别为 10.5%、9.2% 和 8.2%。随后依次为 56、39、51、68、18、31、33、59、35 和 45 型。其中单一 HPV 基因亚型感染者 349 例 (27.0%), 多重基因亚型感染者 135 例 (10.4%)。2 种亚型感染者 90 例, 3 种亚型感染者 35 例, 4 种亚型感染者 9 例, 5 种亚型感染者 1 例。多重基因亚型感染中, 以 58 型和 52 型合并其他型别最为多见, 其次是 16 型。

**2.2 各年龄层的 HPV 感染情况** 484 例 HPV 阳性的妇科门诊就诊女性中, 最小 15 岁, 最大 77 岁, 平均 (41.65 ± 11.1) 岁。各年龄段就诊女性中, 30~<40 岁的 HPV 感染率最高 (39.9%), 其次分别为 40~<50 岁 (38.2%)、大于或等于 60 岁 (37.5%)、20~<30 岁 (35.7%)、50~<60 岁 (35.0%) 和 小于 20 岁 (33.3%)。不同年龄层的 HPV 感染情况分布见表 1, 各型 HPV 感染率分布见图 1。经  $\chi^2$  检验, 不同年龄层的高危型 HPV 感染率比较差异无统计学意义 ( $P = 0.830$ ); 单一亚型和多重亚型高危型 HPV 感染在不同年龄分层上比较差异无统计学意义 ( $P = 0.239$ )。各年龄层不同高危型 HPV 基因亚型的分布见表 2, 从表 2 中可以看出在小于 20 岁和 30~<40 岁的年龄层中 HPV-16 型感染率最高; 在 20~<30、40~<50、50~<60 岁和大于或等于 60 岁的年龄层中 HPV-58 型感染率最高。

**表 1 各年龄层的不同型别 HPV 感染率比较 [n (%)]**

年龄	n	高危型 HPV	单一 HPV 亚型	多重 HPV 亚型
<20	9	3(33.3)	1(11.1)	2(22.2)
20~<30	249	89(35.7)	61(24.5)	28(11.2)
30~<40	353	141(39.9)	99(28.0)	42(11.9)
40~<50	338	129(38.2)	102(30.2)	27(8.0)
50~<60	297	104(35.0)	72(24.2)	32(10.8)
≥60	48	18(37.5)	14(29.2)	4(8.3)
合计	1 294	484(37.4)	349(27.0)	135(10.4)



**图 1 各年龄层高危型 HPV、单一亚型及多重亚型 HPV 感染率分布**

**表 2 各年龄层不同高危型 HPV 基因亚型感染率比较 (%)**

HPV 基因亚型	<20 岁	20~<30 岁	30~<40 岁	40~<50 岁	50~<60 岁	≥60 岁
16	22.2	10.0	17.0	8.9	6.1	2.1
18	0.0	2.4	2.8	2.1	3.0	0.0
31	11.1	2.4	2.8	2.1	1.7	2.1
33	0.0	2.0	3.6	1.8	1.3	2.1
35	0.0	1.2	2.8	1.8	1.3	0.0
39	0.0	3.2	6.7	5.0	4.4	0.0
45	0.0	1.2	0.0	0.3	0.0	2.1
51	0.0	3.6	5.1	3.3	4.4	2.1
52	11.1	8.8	11.1	5.9	9.1	16.7
56	0.0	2.4	5.5	5.3	4.4	2.1
58	11.1	11.2	15.8	9.2	9.1	18.8
59	11.1	2.0	2.0	2.1	1.3	0.0
68	0.0	2.8	3.6	3.0	3.0	2.1

**3 讨 论**

HPV 感染是生殖道最常见的病毒性感染, 高危型 HPV 感染是宫颈癌发生的必要条件。研究表明 HPV 疫苗用于从未感染 HPV 的 16~24 岁妇女, 可有效地预防 HPV 持续感染和相关宫颈疾病的发生。几项随访 2~5 年的大规模研究显示, HPV 疫苗对疫苗病毒型别相关的宫颈癌前病变的保护效率几乎可达 100%<sup>[1]</sup>。因此, 对女性进行 HPV 分型检测以了解该地区 HPV 感染情况和基因亚型的分布对宫颈癌的早期诊断和疫苗预防宫颈癌具有重要意义。

不同地区感染的 HPV 基因型别有所不同。本研究中高危型 HPV 感染的基因型别以 58 型 (10.5%)、16 型 (9.2%) 和 52 型 (8.2%) 为主。华南的一项研究显示<sup>[2]</sup>, 香港研究队列中高危型 HPV 各亚型感染率降序排列依次为 16、52、58、18、33、68 和 45 型, 而广州研究队列各亚型感染率降序排列依次为 52、16、31、58、18、33 和 68 型。另外一项来自浙江的研究显示<sup>[3]</sup>, 在该研究人群中高危型 HPV 的感染率为 10.2%, 52 型、16 型和 58 型感染率最高。而一项辽宁的研究中<sup>[4]</sup>, 16 型感染率最高, 随后依次为 58、52、33、53 和 31 型。尽管, 中国不同地区的研究中高危型 HPV 各基因亚型感染率各不相同, 但 16、52 和 58 型在各地均属高感染率基因亚型。全世界 70% 的宫颈癌与 HPV-16 型和 HPV-18 型相关, 目前大多数国家注册可用的 HPV 疫苗也主要是针对 16 型和 18 型<sup>[1]</sup>。然而在本研究中, 16 型和 18 型的感染率分别占第 2 位和第 8 位, 故这两种型别的 HPV 疫苗的本地区目标人群中的保护效果亦与其他地区不同。因此在考虑用 HPV 疫苗免疫目标人群时, 应根据不同地区不同基因型别的感染率情况考虑有针对性地进行 HPV 疫苗研制。

HPV 感染因年龄和地理位置不同亦有所差异。来自上海的一项研究显示, 不同年龄层的高危型 HPV 感染率呈 U 型曲线, 小于 20 岁和大于或等于 60 岁 HPV 感染率较高<sup>[5]</sup>。西安地区的一项研究中<sup>[6]</sup>, 高危型 HPV 感染率随年龄增长呈上升趋势, 18~30 岁 HPV 感染率最低 (21.7%), 大于 60 岁 HPV 感染率达到顶峰 (30.5%)。而本研究中 HPV (下转第 800 页)

检测亦为阴性。

表 3 中 12 种肿瘤标志物,联合检测总灵敏度 75.11%,特异度 95.66%,单项检测中 CA125 灵敏度最高,为 44.05%,其特异度为 97.58,灵敏度最低的为  $\beta$ -HCG,仅为 2.15%,但特异度为 100.0%。表 4 中 1 项阳性的阳性率最高,为 75.11%,良性疾病组、健康体检组分别为 20.31%和 4.34%,但假阳性较多,需要进行相应的确证实验。两项阳性率 3 组分别为 52.57%、11.52%、0.98%,假阳性开始下降,3 项和 4 项阳性率开始下降,假阳性显著下降,第 5 项开始至第 7 项阳性联合检测明显下降。各项阳性联合检测差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。本研究实验结果表明 4 项肿瘤标志物阳性是最优化的联合检测,假阳性可忽略不计,这个结论与国内外众多学者相关报道<sup>[7-20]</sup>基本一致。

综上所述,C-12 蛋白芯片诊断技术用于恶性肿瘤在健康体检者肿瘤的普查,高危人群的肿瘤诊断、肿瘤患者的治疗及预后复发等有一定的临床应用价值,且有简单、实用性强、对生物样本要求低、价格相对较低、无放射性污染,且可同时完成多种实体肿瘤,多个肿瘤标志物检测等优点<sup>[15]</sup>,应用于临床有不可替代的价值,并随着不断改进和发展而发挥越来越大的作用。但由于肿瘤细胞生物特性的复杂性和多样性,联合检测在提高检出率的同时也不可避免地存在着假阳性及假阴性的问题。因此,应用肿瘤标志物检测的同时应密切结合临床表现,特别结合影像学检测、细胞学或组织病理学结果综合判断,是提高肿瘤诊断准确性最有效的方法和措施之一。

参考文献

[1] 杨琴,于本章,许静,等.多肿瘤标志物蛋白芯片技术临床应用价值探讨[J].上海预防医学杂志,2005,17(6):282.

[2] 张亚南,冀杨,贾楠,等.多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统在消化系统疾病的应用评价[J].中国实验诊断学,2011,15(3):500-503.

[3] 孙旭东,王含章.膀胱肿瘤标志物检测方法的研究进展[J].现代泌尿外科杂志,2012,17(3):319-321.

[4] Sturgeon C. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic [J]. Clin Chem,2002,48(8):1151-1159.

[5] 孙长义.多肿瘤标志物蛋白芯片检测技术对卵巢癌的诊断价值分

析[J].国际检验医学杂志,2011,32(16):1818-1819.

[6] 张暑手,张金华.联合检测多项肿瘤标志物对原发性肝癌诊断价值的探讨[J].临床医学杂志,2003,23(10):15.

[7] 向大开,谢家印,罗维,等.多肿瘤标志物蛋白芯片中 CA19-9 表达水平升高对恶性肿瘤的诊断价值[J].实用癌症杂志,2012,27(2):147-152.

[8] 何江,余伍忠,邹红云,等.多肿瘤标志物蛋白芯片在胃癌术后复发监测中的应用价值[J].现代检验医学杂志,2010,25(5):25-27.

[9] 赵静.12 种肿瘤标志物检测在卵巢癌诊断中的应用[J].山东医药,2011,51(30):52-53.

[10] 何玲.肿瘤相关抗原 CA125、TPS 及铁蛋白联合检测对卵巢肿瘤的诊断价值研究[J].中外医疗,2010,29(2):16-18.

[11] 马红.CEA、CA125、铁蛋白在卵巢癌诊断中的应用[J].慢性病学杂志,2010,12(7):608-611

[12] 吴健雄,余宏迅,邵永孚,等.CEA 和 CA242 在大肠癌诊断中的意义[J].中华肿瘤杂志,1995,17(6):438-440.

[13] 何江,丁剑冰,余伍忠.多肿瘤标志物蛋白芯片对食管癌诊断的 I 临床评价[J].陕西医学杂志,2011,40(3):280-283.

[14] 杨雪琴,仲召阳,王东,等.C-12 多肿瘤标志物蛋白芯片监测胃肠道肿瘤复发转移的临床评价[J].重庆医学,2010,39(4):427-429.

[15] 王晓飞,王玉洁.多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统在消化道恶性肿瘤的临床应用价值[J].中国实验诊断学,2011,15(7):1111-1113.

[16] 周建光,杨梅.多肿瘤标志物蛋白芯片检测在肿瘤诊断中的临床应用及研究进展[J].中华医学检验杂志,2010,11(3):165-166.

[17] 王震,梅晓冬.12 种肿瘤标志物对肺癌的诊断价值[J].广东医学,2011,32(3):353-355.

[18] 王勇,卜智斌,张志培,等.C-12 多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统在肺癌诊断中的价值[J].现代肿瘤医学,2011,19(1):49-51.

[19] 陈亚楠,王士,斯晓明,等.多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统在肺癌诊断中的临床评价[J].现代肿瘤医学,2011,19(7):1345-1348.

[20] 邱志远,许文林,奚艳,等.蛋白芯片技术检测肿瘤标志物对乳腺癌治疗的临床价值[J].现代肿瘤医,2010,18(12):2386-2389.

(收稿日期:2014-10-18)

(上接第 797 页)

的高发年龄为 30~<40 岁(39.9%),考虑到本研究样本量的差异在一定程度上影响了感染率的计算。关于北京社区妇女 HPV 认知情况的一项调查显示,在所有年龄层中,30~35 岁妇女对于 HPV 的知晓率(40.63%)明显高于 15~19 岁(16.18%)<sup>[7]</sup>。较低的 HPV 认知程度造成了妇科门诊就诊女性中低龄人数偏低,故应加强这一年龄层的女性相关知识的普及。同时,各级医疗机构加强对 HPV 感染的筛查,以了解不同地区不同基因亚型 HPV 感染的分布情况,为 HPV 相关疾病的防治提供非常宝贵的流行病学基础资料,并指导政府卫生部门的公共卫生政策的制定与实施。

参考文献

[1] Ronco G, Segnan N. HPV testing for primary cervical cancer screening[J]. Lancet,2007,370(9601):1740-1742.

[2] Liu SS, Chan KY, Leung RC, et al. Prevalence and risk factors of Human Papillomavirus (HPV) infection in southern Chinese women—a population-based study [J]. PLoS One, 2011, 6 (5):

19244.

[3] Ye J, Cheng X, Chen X, et al. Prevalence and risk profile of cervical Human papillomavirus infection in Zhejiang Province, south-east China: a population-based study [J]. Virol J. 2010, 23(7):66.

[4] 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.

[5] Xue Y, Zhang W, Chen M, et al. “U” shape of age-specific prevalence of high-risk human papillomavirus infection in women attending hospitals in Shanghai, China [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2009, 145(2):214-218.

[6] 侯萌,李娜,朱广霞,等.妇科门诊患者宫颈乳头瘤病毒的感染情况分析[J].西安交通大学学报:医学版,2013,34(2):229-232.

[7] 李静,屠铮,赵超,等.北京市社区妇女人乳头瘤病毒感染率及其对 HPV 和疫苗认知情况的调查分析[J].中国肿瘤,2008,17(3):168-172.

(收稿日期:2014-11-10)