

70.

[2] WALSH T J, PERA R R, TUREK P J. The genetics of male infertility[J]. *Semin Reprod Med*, 2009, 27(2): 124-136.

[3] FERNANDEZ-ENCINAS A, GARCIA-PEIRO A, RIBAS-MAYNOU J, et al. Characterization of nuclease activity in human seminal plasma and its relationship to semen parameters, sperm DNA fragmentation and male infertility[J]. *J Urol*, 2016, 195(1): 213-219.

[4] ZHANG Y S, DAI R L, WANG R X, et al. Analysis of Y chromosome microdeletion in 1738 infertile men from northeastern China[J]. *Urology*, 2013, 82(3): 584-588.

[5] 杨会林, 董晶. 严重少精子症及无精子症的遗传学分析[J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18(4): 561-564.

[6] ALIMARDANIAN L, SALIMINEJAD K, RAZI S, et al. Analysis of partial azoospermia factor c deletion and DAZ copy number in azoospermia and severe oligozoospermia[J]. *Andrologia*, 2016, 48(9): 890-894.

[7] 孙思, 李艳, 吴薇. 生精功能障碍患者 Y 染色体 AZF 基因微缺失观察[J]. *山东医药*, 2016, 56(7): 71-72.

[8] KRAUSZ C, HOEFSLOOT L, SIMONI M, et al. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions; state-of-the-art 2013[J]. *Andrology*, 2014, 2(1): 5-19.

[9] ZHENG H Y, LI Y, SHEN F J, et al. A novel Universal multiplex PCR improves detection of AZFc Y-chromosomal microdeletions[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2014, 31(5): 613-620.

[10] ASERO P, CALOGERO A E, CONDORELLI R A, et al. Relevance of genetic investigation in male infertility[J]. *J Endocrinol Invest*, 2014, 37(5): 415-427.

[11] 王燕, 林元, 黄海龙, 等. 特发性不育患者 Y 染色体 AZF 微缺失筛查及表型分析[J]. *中国计划生育学杂志*, 2015, 23(12): 819-821.

(收稿日期: 2017-10-03 修回日期: 2017-12-21)

• 短篇论著 •

## 渝东北地区 7 401 例女性 HPV 感染与基因分型分析\*

孟凡萍<sup>1</sup>, 郝 坡<sup>2△</sup>

(1. 重庆三峡中心医院检验科, 重庆 404000; 2. 重庆三峡医药高等专科学校医学技术系, 重庆 404020)

**摘要:**目的 探讨渝东北地区女性宫颈人乳头瘤病毒(HPV)感染的基因型分布情况, 为预防 HPV 感染和宫颈疾病防治提供理论依据。方法 使用原位杂交技术, 对 7 401 例女性宫颈脱落细胞进行 HPV 亚型检测。结果 2 191 例患者感染 HPV, 总感染率为 29.60%(2 191/7 401)。高危型 HPV 感染率为 82.26%, 居前 5 位的 HPV 基因亚型依次为 HPV-52、16、53、58 和 51 型。低危型 HPV 感染率为 17.74%, 主要基因亚型为 HPV-81、6 和 11 型。单一感染 1 468(66.98%)例, 双重感染 531(24.23%)例, 多重感染 196(8.79%)例。HPV 感染以≤45 岁的年轻女性为主(68.49%), 25~45 岁患者 HPV 感染率最高(65.07%), 45 岁以上感染率为 31.51%。结论 HPV-52、16、53、58 和 51 型感染在渝东北地区最为常见, 总体符合亚洲人群分布规律, 同时又具有独特的地域分布特点。

**关键词:**人乳头瘤病毒; 宫颈癌; 渝东北地区

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.08.026

**文章编号:**1673-4130(2018)08-0986-03

**中图法分类号:**446.5

**文献标识码:**B

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一, 其发病率在女性恶性肿瘤中, 居第二位, 仅次于乳腺癌<sup>[1]</sup>。据统计, 80% 的宫颈癌发生在发展中国家, 其中中国新发病例约占世界宫颈癌新发病例的 24.53%, 宫颈癌已成为中国妇女恶性肿瘤发病率第一位<sup>[2]</sup>。研究已证明持续性人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌发病的主要原因。

目前已知 HPV 有一百多种型别, 其中可以感染生殖道黏膜的有 54 种。根据 HPV 致病的差异性, 将

其分为高危型和低危型两大类<sup>[3]</sup>。鉴于 HPV 基因型分布具有地域性、种族性及多样性的特点, 本文研究了渝东北地区女性宫颈细胞中 23 种 HPV 的感染率及基因型分布情况, 以期能对渝东北地区宫颈癌的防控以及女性对疫苗的选择起到一定的指导意义。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2016 年 1—12 月于重庆三峡中心医院妇产科门诊就诊的 7 401 例女性患者, 年龄 20~80 岁, 平均年龄 42.25 岁。其中 <25 岁患者 253

\* 基金项目: 重庆市卫生局科技计划项目(2011-2-411), 重庆市万州区科研项目(201302002), 重庆三峡医药高等专科学校课题(2014mpxz18)。

△ 通信作者, E-mail: hpo1979@126.com。

本文引用格式: 孟凡萍, 郝坡. 渝东北地区 7 401 例女性 HPV 感染与基因分型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(8): 986-988.

例,25~45 岁患者 4 816 例,45 岁以上患者 2 332 例。对就诊的 7 401 例女性的宫颈细胞进行 23 种 HPV 基因分型检测。

**1.2 仪器与试剂** AGT9601 型 96 孔基因扩增仪购自杭州安杰思生物科技有限公司,YN-H18 型核酸分子杂交仪购自亚能生物技术(深圳)有限公司;Eppendorf 5810R 型高速冷冻离心机购自德国 Eppendorf 公司;HPV 基因分型(23 型)检测试剂盒(PCR 反向点杂交法)购自亚能生物技术(深圳)有限公司。每次实验所需显色液需要用蒸馏水当时配制。

**1.3 方法**

**1.3.1 标本采集** 用一次性阴道扩张器暴露宫颈,擦去宫颈口多余的分泌物,用宫颈刷在宫颈口旋转刷 4~5 圈,慢慢抽出后,将刷尖浸泡在细胞取样管的固定液内,沿刷柄折痕处折断刷头,旋紧管盖后送检。

**1.3.2 DNA 提取** 细胞取样管置于震荡混匀器上充分震荡混匀,吸取细胞保存于 1.0~1.5 mL 离心管中,3 000 r/min 离心 10 min。小心吸弃上清液,在沉淀中加入 100 μL 裂解液,震荡混匀后,放入 100 °C 的金属浴中煮 10 min,随后 3 000 r/min 离心 10 min,吸取上层 DNA 溶液待测。

**1.3.3 DNA 扩增** 吸取上述 DNA 溶液 5 μL 于 HPV 基因分型试剂 1 中,放入 PCR 仪扩增。

**1.3.4 DNA 杂交** 整个实验操作步骤按照亚能 H18 型杂交仪和 HPV 基因分型试剂操作说明书进行。将膜条编号,放入杂交仪对应槽内,将上述 PCR 产物全部加入到对应槽,开始杂交。每份标本显色后根据蓝色圆点的有无和深浅来判断结果。

**1.3.5 判定结果** (1)每份膜条上在 PC 点显出蓝色圆点表示实验有效;(2)阴性质控品不应在对应位置上显示蓝色圆点;(3)阳性质控品应在对应位置上显示蓝色圆点;(4)膜条上有 23 个 HPV 型别位点:其中高危型 16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、83,低危型 6、11、42、43、81。(5)除 PC 点外如有 1 个蓝色圆点为单一感染,2 个为双重感染,同时显示 2 个以上的蓝色圆点则为多重感染。

**2 结 果**

**2.1 HPV 各型别阳性检出率** 本研究通过对渝东北地区 7 401 例宫颈上皮细胞标本进行 23 种 HPV 基因分型检测,查出有 2 191 例阳性患者,5 210 例阴性患者,得到该地区 HPV 感染率为 29.60%(2 191/7 401),其中 HPV52 型是最主要的感染型别,检出率为 23.51%(515/2 191);位于第二位的是 HPV16 型,共 401 例,其阳性检出率为 18.30%(401/2 191);HPV53 型阳性检出率为 16.66%(365/2 191),共有 365 例,见表 1。

**2.2 渝东北地区妇女 HPV 感染的不同亚型构成** 单一 HPV 感染 1 468 例,阳性检出率为 19.84%(1 468/7 401),双重感染 531 例,阳性检出率为

7.18%(531/7 401),多重 HPV 感染 196 例,阳性检出率为 2.65%(196/7 401),见表 2。

**表 1 渝东北地区妇女 HPV 感染的不同亚型构成**

| 型别  | HPV 亚型(n) | 感染例数(n) | 构成比(%) |
|-----|-----------|---------|--------|
| 高危型 | 16        | 401     | 18.30  |
|     | 18        | 144     | 6.57   |
|     | 31        | 36      | 1.64   |
|     | 33        | 63      | 2.88   |
|     | 35        | 57      | 2.60   |
|     | 39        | 75      | 3.42   |
|     | 45        | 15      | 0.68   |
|     | 51        | 180     | 8.22   |
|     | 52        | 515     | 23.51  |
|     | 53        | 365     | 16.66  |
|     | 56        | 61      | 2.78   |
|     | 58        | 214     | 9.77   |
|     | 59        | 121     | 5.52   |
|     | 66        | 121     | 5.52   |
|     | 68        | 133     | 6.07   |
|     | 73        | 32      | 1.46   |
| 低危型 | 82        | 10      | 0.46   |
|     | 83        | 10      | 0.46   |
|     | 6         | 73      | 3.33   |
|     | 11        | 73      | 3.33   |
|     | 42        | 72      | 3.29   |
|     | 43        | 70      | 3.19   |
|     | 81        | 265     | 12.09  |

**表 2 渝东北地区妇女 HPV 不同感染类型构成情况**

| 感染类型 | 感染人数  | 感染构成比(%) | 感染率(%) |
|------|-------|----------|--------|
| 单重感染 | 1 468 | 67.00    | 19.84  |
| 双重感染 | 531   | 24.24    | 7.18   |
| 多重感染 | 196   | 8.95     | 2.65   |

**2.3 不同年龄段女性感染率** HPV 感染以<45 岁的年轻女性为主(68.49%),25~45 岁患者 HPV 感染率最高(65.07%),>45 岁感染率为 31.51%,见表 3。

**表 3 渝东北地区不同年龄段妇女 HPV 感染情况**

| 年龄段   | 人数(n) | 感染例数(n) | 感染构成比(%) | 感染率(%) |
|-------|-------|---------|----------|--------|
| >45   | 2 332 | 690     | 29.59    | 9.32   |
| 25~45 | 4 816 | 1 426   | 29.61    | 19.27  |
| <25   | 253   | 75      | 29.64    | 1.01   |

**3 讨 论**

众所周知,HPV 的持续性感染是宫颈癌的诱因。

绝大多数女性在性活跃期都会有 HPV 感染,全球每年约有 50 万女性新发宫颈癌。HPV 的主要传播途径是性接触传播,与 HPV 阳性者一次性接触后的感染率为 50.00%,可为单一型别 HPV 感染,也可同时感染两种或两种以上型别,即双重感染和多重感染<sup>[4]</sup>。根据致癌风险性的高低,可将 HPV 亚型分成高危型和低危型,前者包括 16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、83 型;低危型包括 6、11、40、42、43、81 型。

大多数情况下,人体感染 HPV 后无明显症状,一般情况下,90%的 HPV 感染可被机体免疫系统清除,低危型 HPV 清除时间 5~6 个月,而高危型则需要 8~24 个月。据流行病学资料表明,高危型 HPV 诱发宫颈癌的概率约为 1.0%,低危型则仅为 0.1%<sup>[5-6]</sup>。因此,对渝东北地区女性宫颈细胞 HPV 基因亚型分型检测,了解该地区女性 HPV 感染情况,对该区域宫颈癌的防治以及流行病学研究具有十分重要的意义。

本研究通过对渝东北地区 7 401 例宫颈上皮细胞标本进行 23 种 HPV 基因分型检测,查出有 2 191 例阳性患者,5 210 例阴性者,得到该地区 HPV 感染率为 29.60%(2 191/7 401),其中 HPV52 型是最主要的感染型别,检出率为 23.51%(515/2 191);位于第二位的是 HPV16 型,共 401 例,其阳性检出率为 18.30%(401/2 191);HPV53 型阳性检出率为 16.66%(365/2 191),共有 365 例。单一 HPV 感染 1 468 例,阳性检出率为 19.84%(1 468/7 401),双重感染 531 例,阳性检出率为 7.18%(531/7 401),多重 HPV 感染 196 例,阳性检出率为 2.65%(196/7 401)。HPV 感染以 <45 岁的年轻女性为主(68.49%),25~45 岁患者 HPV 感染率最高(65.07%),>45 岁感染率为 31.51%。

本研究显示:(1)同国内其他地区一样,渝东北地区女性 HPV 感染也以单一感染为主,另有双重感染和多重感染,单一感染、双重感染、多重感染之比为 7.5:2.7:1,随着 HPV 型别的不断发现,会导致其多重感染比例的增加<sup>[7-8]</sup>。(2)性活跃期的 HPV 感染率更高。本研究中,在 25~45 岁患者 HPV 感染率最高。提示妇科医师要重视此年龄段女性的 HPV 感染情况。(3)研究表明,持续性 HPV 感染会使宫颈癌发生概率增加 5%,而 HPV-16 型的持续性感染,则会使宫颈 CINⅢ 发生概率增加 40%<sup>[9]</sup>。本研究居前 5 位的 HPV 基因亚型依次为 HPV-52、16、53、58 和 51,它们占了高危型 HPV 出现频的 65.61%。因此,临床医师更要特别重视对持续性 HPV 感染和最常见高危型 HPV 的监控,同时证明了开展 HPV 分型检测的重要性,使得临床医师能够对患者进行正确、合理地治疗。

HPV 的持续性感染是宫颈发生恶变的必要因素。因此,对女性宫颈细胞进行 HPV 分型检测,对于宫颈癌筛查和追踪管理非常重要。目前,宫颈癌筛查方法仍然不能达到百分之百的检出。需要联合使用多个检测项目,最大限度地提高检出率,降低漏检率,使宫颈癌成为一种可以防控的癌症,具有极重要的社会意义<sup>[10-11]</sup>。

## 参考文献

- [1] PARKIN D M, BRAY F, FERLAY J, et al. Global cancer statistics, 2002[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 55, (2): 74-76
- [2] KWAN T C, CHAN K L, YIPA M W, et al. Acceptability of human papillomavirus vaccination among Chinese women: Concerns and Implication[J]. BJOG, 2014, 116 (4): 501-510.
- [3] TERESA W, UKASZ K, MARGARITA L, et al. Distribution of CCND1 A870G Polymorphism in Patients with Advanced Uterine Cervical Carcinoma[J]. Path Onc Res, 2014, 7(1): 133-137.
- [4] PINGPING T, WEIPING Z, YUNGEN W, et al. Sensitive HPV Ggenotyping Based on the Flow-Through Hybridization and Gene Chip[J]. J Bio and Biotech, 2014, 13, (4): 533-535.
- [5] 邹琳, 兰建云, 耿建祥, 等. 47 例宫颈腺癌中人乳头瘤病毒感染基因分型的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34 (4): 392-294.
- [6] 魏谨, 耿建祥, 朴正爱, 等. 已婚女性宫颈细胞中人乳头瘤病毒感染的基因分型研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(23): 5202-5205.
- [7] SENKOMAGO V, BACKES D M, HUDGENS M G. Higher HPV16 and HPV18 penile viral loads are associated with decreased human papillomavirus clearance in uncircumcised kenyan men[J]. Sex Trans Dis, 2016, 43 (9): 572-577.
- [8] SENKOMAGO V, BACKES D M, HUDGENS M G. Acquisition and persistence of human papillomavirus 16 (HPV-16) and HPV-18 among men with high-HPV viral load infections in a circumcision trial in Kisumu[J]. J Infect Dis, 2015, 211(5): 811-818.
- [9] 钟茜, 朝霞. 人乳头瘤病毒生殖道感染的流行病学与临床[J]. 实用妇产科杂志, 2013, 29(3): 161-163.
- [10] BRUNI L, DIAZ M, CASTELLSAGUE X, et al. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings[J]. J Infect Dis, 2015, 202(16): 1789-1799.
- [11] RODRIGUEZ A C, SCHIFFMAN M, HERRERO R, et al. Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection[J]. J Natl Cancer Inst, 2016, 102(5): 315-324.