

论著·临床研究

某部队女性 HPV 感染情况及流行病学分析*

欧红玲,马盈盈,李晓宁,白 静,张巧云,王 岩,王欣茹[△]

(火箭军特色医学中心医学检验科,北京 100088)

摘要:目的 了解某部队女性人乳头瘤病毒(HPV)感染情况和各亚型分布及特点,为部队女性宫颈癌防治及流行病学研究提供依据。**方法** 采用荧光 PCR 方法对某部队 660 例女性宫颈脱落细胞进行 HPV 17 种基因亚型检测。**结果** 660 例标本中共检出低危型阳性 47 例,阳性率为 52.22%。检出高危型阳性 156 例,阳性率为 23.64%。高危型前五位依次是 58、39、16、52 和 66。其中以单一感染为主,31~50 岁为 HPV 检出率最高组,为 HPV 感染高发人群,各年龄组的 HPV 阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 实时荧光 PCR 方法能同时检测 HPV-DNA 的 17 种亚型,高发年龄段妇女更应及早进行 HPV 基因分型检测,有助于早期发现宫颈病变因素,及时防治,降低宫颈癌的发生率。

关键词:人乳头瘤病毒; 人乳头瘤病毒分型; 荧光 PCR

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.08.006

中图法分类号:R824

文章编号:1673-4130(2019)08-0917-03

文献标识码:A

HPV infection and epidemiological analysis among women in Certain Troop*

OU Hongling, MA Yingying, LI Xiaoning, BAI Jing, ZHANG Qiaoyun, WANG Yan, WANG Xinru[△]

(Department of Clinical Laboratory, the PLA Rocket Force Characteristic

Medical Center, Beijing 100088, China)

Abstract: **Objective** To investigate the infection of human papilloma virus (HPV) and the distribution and characteristics of subtypes, and to provide evidence for the prevention and control of cervical cancer to armed forces female. **Methods** 17 kinds gene of HPV was detected by fluorescence PCR to 660 female cervical exfoliated cells. **Results** A total of 47 low-risk positive samples were detected in 660 specimens, with a positive rate of 52.22%. 156 cases of high-risk type were detected, and the positive rate was 23.64%. The top five high-risk types are 58, 39, 16, 52, and 66. Among them, single infection was the main group, and the highest detection rate of HPV was from 31 to 50 years old. It was the high incidence of HPV infection. The positive rate of HPV in each age group was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Real time fluorescent PCR method can simultaneously detect 17 subtypes of HPV-DNA, women with 31—50 years old should detect the HPV genotyping early, which can contribute to the early detection of cervical lesions, timely prevention, reduce the incidence of cervical cancer.

Key words: human papillomavirus; HPV genotyping; fluorescence PCR

人乳头瘤病毒(HPV)是感染人表皮和黏膜鳞状上皮细胞的常见 DNA 病毒。在已发现的 HPV 200 多种不同亚型中,超过 40 种可以感染人类的生殖器官,约 30 种与肿瘤有关^[1]。HPV 可以通过多种途径感染生殖道而导致尖锐湿疣及宫颈病变,甚至引起宫颈癌的发生^[2]。本研究应用荧光 PCR 方法对 2012 年 1 月至 2018 年 4 月期间 660 例某部队患者的生殖道脱落细胞进行基因分型,旨在探讨 HPV 基因分型检测在部队女性宫颈癌防治方面的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 标本来源于 2012 年 1 月至 2018 年

4 月期间来本院筛查的某部队 660 例女性患者的宫颈脱落细胞。年龄 19~65 岁,平均 37.2 岁。

1.2 仪器与试剂 上海之江 SLAN 96P PCR 扩增仪(上海之江生物科技股份有限公司),高危型 HPV 分型核酸测定试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司),低危型 HPV 分型核酸测定试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 使用专用配套的 HPV 采样管。采样前拭去宫颈口过多的分泌物,再用宫颈刷于子宫颈外口处,轻压并依顺时针方向旋转 3~4 周。采样

* 基金项目:全军医学科技青年培育课题(16QN030)。

作者简介:欧红玲,女,副主任技师,主要从事分子生物学及临床免疫学研究。 [△] 通信作者, E-mail: wangxinru@126.com。

本文引用格式:欧红玲,马盈盈,李晓宁,等.某部队女性 HPV 感染情况及流行病学分析[J].国际检验医学杂志,2019,40(8):917-919.

宫颈刷浸入盛有 1 mL 无菌生理盐水的专用 HPV 样本管中,充分漂洗贴壁挤干后丢弃,立即送检。未即时检测样本置于 2~8 ℃ 医用冰箱保存,所有样本均于当天或次日检测完毕。

1.3.2 标本处理 从专用 HPV 采样管中吸取混匀后液体 1~1.5 mL 离心管中(如分泌物较多,只取 0.2 mL)13 000 r/min 离心 5 min。小心吸弃上清,沉淀加无菌生理盐水 1 mL 混匀,13 000 r/min 离心 5 min,再次小心吸弃上清。沉淀直接加 100 μL 核酸提取液充分混匀,沸水浴 10 min,然后 13 000 r/min 离心 5 min,取上清作为 PCR 反应模板。吸弃的上清液、核酸提取后的剩余上清液及相关废弃物均按医疗废弃物处理。每次检测均设置阴阳对照:取阴阳对照品各 100 μL 置于 1.5 mL 离心管中(冻存试剂融解后震荡混匀 10 s),分别加入核酸提取液 50 μL 充分混匀,沸水浴 10 min,然后 13 000 r/min 离心 5 min,取上清作为 PCR 反应模板。

1.3.3 PCR 扩增 取 4 种 HPV 核酸荧光 PCR 检测混合液 n×36 μL 分别与 4 份 n×0.4 μL Taq 酶,振荡混匀数秒,3 000 r/min 离心数秒。加入已提取好的待测样本 DNA 4 μL 配置 PCR 反应体系,然后,低速离心数秒后,按下述参数进行 PCR 反应:94 ℃×2 min;再按 93 ℃×10 s→62 ℃×31 s,循环 40 次;单点荧光检测在 62 ℃。反应体系为 40 μL。仪器自动读取实验结果。4 种 HPV 核酸荧光 PCR 检测混合液分别用于检测 16、56、31 和内部参照;18、52、58、68;45、82、33、35;39、51、59、66 基因型。当阳性对照品扩增曲线为典型的 S 型,且 FAM 和 VIC 通道 ct 值 35,阴性对照为阴性时,判断结果有效。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件对实验数据进行统计学分析,各年龄段的阳性率统计分析用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 总体感染和各亚型分布情况 对 570 例女性患者的宫颈脱落细胞进行 13 种高危型 HPV 基因分型,包括 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 68 型。570 例女性患者中,后期入组的 294 例女性患者的宫颈脱落细胞增加了 2 种高危型 HPV 基因分型,包括 66 和 82 型。对 90 例女性患者的宫颈脱落细胞进行 2 种低危型 HPV(6+11)检测。HPV 阳性者共 203 例,其中 156 例为高危型感染,47 例为低危型感染。HPV 高危亚型感染率前五位依次是:HPV 58(4.9%)、HPV 39(4.04%)、HPV 16(3.68%)、HPV 52(3.5%)、HPV 66(2.72%),低危型 HPV(6+11)阳性率 52.2%。见表 1。

2.2 HPV 混合感染情况 156 例高危 HPV 感染者中,以单一感染为主,其次为双重感染,三重感染次之。单一高危 HPV 感染 111 例,占总感染者 71.15%,双重 HPV 感染 29 例,占总感染者 18.59%,三重及以上感染

(同时存在 3 种或以上 HPV 亚型感染)共 16 例,占 10.26%,见表 2。

表 1 检测标本 HPV 17 种基因亚型分布情况			
HPV 亚型	病例数	阳性例数	阳性百分比(%)
6+11	90	47	52.2
16	570	21	3.68
18	570	11	1.93
31	570	10	1.75
33	570	4	0.70
35	570	1	0.18
39	570	23	4.04
45	570	4	0.71
51	570	3	0.53
52	570	20	3.50
56	570	9	1.58
58	570	28	4.90
59	570	6	1.05
66	294	8	2.72
68	570	6	1.05
82	294	2	0.68

表 2 570 例标本中 HPV 混合感染情况[% (n/n)]			
感染情况	n	占高危 HPV 总阳性例数百分比	占高危 HPV 总病例数百分比
单一感染	111	71.15(111/156)	19.47(111/570)
双重感染	29	18.59(29/156)	5.09(29/570)
三重感染	10	6.41(10/156)	1.75(10/570)
多重感染	6	3.85(6/156)	1.05(6/570)
合计	156	100(156/156)	27.36(156/570)

2.3 各年龄段高危 HPV 感染情况 3 个年龄段高危 HPV 感染检测数、例数百分比、阳性率、检出率和占阳性数百分比最高的年龄段均是>30~50 岁,其次是≤30 岁年龄段。对 3 个年龄段的阳性率进行 χ^2 检验,表明感染者的年龄差异有统计学意义($\chi^2=9.96$, $P<0.05$)。见表 3。

表 3 不同年龄段 HPV 感染情况					
年龄(岁)	n	例数百分比 (%)	阳性数 (n)	检出率 (%)	占阳性数百分比 (%)
≤30	94	16.49	18	19.15	11.54
>30~50	431	75.61	132	30.63	84.61
>50	45	7.89	6	13.33	3.85
合计	570	100	156	63.11	100

3 讨 论

在全球妇科肿瘤中,宫颈癌的发病率位居第二,仅次于乳腺癌,严重威胁女性健康。据统计全球每年

约有 46.6 万宫颈癌新发病例,中国约占世界新发病例总数的 1/5^[3]。近年来,大量研究表明 HPV 感染是引起宫颈癌变的主要因素之一,宫颈癌患者约有 99.7% 能检测出 HPV DNA^[4]。HPV 属于乳头瘤病毒科,目前已发现 200 多种基因亚型^[5]。根据 HPV 亚型致病力大小或致癌危险性大小不同,HPV 可分为高危型和低危型。低危型致病力相对较弱,不整合于细胞基因组中,主要导致皮肤疣类感染、生殖道及肛门周围皮肤等湿疣样良性疾病(如尖锐湿疣和性传播疾病),而高危型致病力强,整合于细胞基因组中,主要导致宫颈癌和非典型增生。有学者认为 HPV 病毒载量与宫颈癌及宫颈癌前病变呈正相关^[6],HPV DNA 病毒载量越高,整合到宿主细胞的机会越多,患者宫颈病变越严重^[7]。特别在免疫机能较弱的女性,因无法消灭进入体内的 HPV,导致高危 HPV 持续感染,从而增加了罹患宫颈癌的风险,因此将 HPV 检测列入宫颈癌筛查方案,用于指导宫颈癌的预防^[8]。

本研究中,某部队女性人群高危 HPV 感染率为 23.64%,在 156 例高危 HPV 感染者中,HPV 单一型别的感染率为 71.15%,双重感染率次之,为 18.59%,多重感染率(>3)最低,为 3.85%。与李欣荣等^[9]报道的湖南 HPV 阳性率为 26.57%,单一感染占 72.52%,双重感染率为 19.74%的结果相似。另外,从本研究基因亚型分布情况可见,HPV 高危亚型感染以 58 (4.9%)、39 (4.04%)、16 (3.68%)、52 (3.5%)、66 (2.72%) 最为常见,而 16 和 18 亚型在单一感染中出现颇多,在混合感染中也较常出现,可见 16 和 18 亚型与宫颈病变之间有密切联系。低危型(6+11)感染在临床有症状病人中检出率很高,达到了 52.2%,表明其对尖锐湿疣等疾病的发生发展发挥了重要的作用。再者,本研究中 HPV 感染前七位亚型分别是 58、39、16、52、66、18 和 31,与 DE SANJOSÉ 等^[10]报道的东南亚地区不一致,与赵芹等^[11]报道的东莞地区常见亚型不一致,也与龙馨等^[12]报道的重庆地区亚型分布有差异。结果表明,在 HPV 基因亚型分布上,存在明显的地区差异。本研究中,进行 HPV 检测数最多的年龄段是 >30~50 岁,这个年龄段的检出率较高,可能与 HPV 传播途径有关,凡有性生活的女性,都有可能通过性接触将 HPV 带入生殖道内,因此加强此年龄段女性筛查的力度及宣传教育,对宫颈癌的早预防具有积极作用。另外,≤30 岁年龄段的检出率也不低,为 19.15%,说明高危 HPV 感染具有年轻化的趋势,这可能与年龄相对小的女性对 HPV 抵抗力弱或过早性交有关,因此应加大部队中青年女性 HPV 的普查力度。

4 结 论

综上所述,持续的高危型 HPV 感染是宫颈癌发

生的危险因素。利用实时荧光 PCR 技术对 HPV 进行基因分型检测,灵敏度高,重复性好,操作简单,适合大批量样本检测。通过 HPV 筛查,可进一步了解 HPV 感染及各亚型的分布情况,有助于指导部队进行女性宫颈癌的预防筛查及宫颈癌的早期诊断、早期治疗,从而降低宫颈癌的发生率和病死率。

参考文献

- [1] BELINSON S E, BELINSON J L. Human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening[J]. Mol Diagn Ther, 2010, 14(4): 215-222.
- [2] 张瑞. 人乳头瘤病毒基因分型检测参考物质及其应用研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.
- [3] SAW A R, NESSA A, ESMY P O, et al. Visual inspection methods for cervical cancer prevention[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2012, 26(2): 221-232.
- [4] JALIL E M, BASTOS F I, MELLI P P, et al. HPV clearance in postpartum period of HIV-positive and negative women: a prospective follow-up study [J]. BMC Infect Dis, 2013, 13(6): 564.
- [5] MCLAUGHLIN-DRUBIN M E, MUENGER K. Oncogenic activities of human papillomaviruses[J]. Virus Res, 2009, 143(2): 195-208.
- [6] 刘康燕, 王彬. 组织微小 RNA-21 表达及高危型 HPV 病毒载量与宫颈癌发生发展的相关性研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(7): 645-648.
- [7] SHEN G, CHENG J, WANG Y, et al. Viral DNA load of high-risk human papilloma virus is closely associated with the grade of cervical lesions[J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(12): 5826-5831.
- [8] KOH W J, ABU-RUSTUM N R, BEAN S, et al. Cervical cancer, version 3. 2019, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2019, 17(1): 64-84.
- [9] 李欣荣, 刘岱璿, 周小容, 等. 湖南省 3451 例宫颈人乳头瘤病毒感染状况分析[J]. 检验医学与临床, 2014(z1): 38-40.
- [10] DE SANJOSÉ S, DIAZ M, CASTELLSAGU? 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] 赵芹, 李忠信. 东莞地区女性宫颈人乳头瘤病毒感染及基因型别分布情况分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(22): 3029-3030.
- [12] 龙馨, 周德平, 杨君, 等. 重庆地区 29580 例女性人乳头瘤病毒感染分布特点分析[J]. 实用妇产科杂志, 2016, 32(6): 464-467.

(收稿日期: 2018-10-04 修回日期: 2018-12-24)