

重庆市永川区 HPV 感染情况回顾性分析*

彭书生,王科,袁永强[△]

(重庆医科大学附属永川医院检验科,重庆 402160)

摘要:目的 了解重庆市永川区人乳头瘤病毒(HPV)感染率、亚型及年龄分布,分析 HPV 感染流行的现状,为区域性 HPV 疫苗的研发和本地区 HPV 感染的防治提供一定依据。方法 采用聚合酶链式反应(PCR)和反向膜杂交技术对 2015 年 9 月至 2017 年 5 月在该院就诊且满足纳入要求的 10 889 例患者进行 HPV 检测。结果 重庆市永川区 HPV 阳性率为 24.60%,高、低危型感染前 3 位分别是 HPV52、16、53 亚型与 HPV81、43、42 亚型。单一、二重、多重(三重及以上)感染率分别为 71.89%、18.96%、9.15%,其中二重感染以 HPV52 合并其他亚型最常见。HPV 感染以 40~<50 岁感染率最高,感染率曲线整体呈倒“U”形,各年龄段 HPV 感染率差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 重庆市永川区 HPV 的感染率、亚型及年龄分布较该地区以往研究有所变化,揭示了该地区 HPV 感染的现状及流行趋势,为区域性 HPV 疫苗的研发和该地区 HPV 的防治提供了切实依据。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因分型; 人乳头瘤病毒疫苗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.16.002

中图法分类号:R737.33

文章编号:1673-4130(2019)16-1925-04

文献标识码:A

Retrospective analysis of HPV infection status in Yongchuan District of Chongqing*

PENG Shusheng, WANG Ke, YUAN Yongqiang[△]

(Department of Clinical Laboratory, Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China)

Abstract: Objective To investigate the infection rate, subtypes and age distribution of human papillomavirus (HPV) in Yongchuan District of Chongqing, and to analyze the epidemic status of HPV infection, so as to provide a basis for the development of regional HPV vaccine and the prevention and treatment of HPV infection in this area. **Methods** HPV was detected by polymerase chain reaction (PCR) and reverse membrane hybridization in 10 889 patients who met the inclusion requirements from September 2015 to May 2017. **Results** The positive rate of HPV in Yongchuan District of Chongqing was 24.60%. The top three high-risk and low-risk infections were HPV52, 16, 53 and HPV81, 43 and 42. The single, double and multiple (triple and above) infections rate were 71.89%, 18.96% and 9.15% respectively, of which HPV52 combined with other subtypes was the most common, and the infection rate of HPV was the highest in 40- <50 years old. The overall line was inverted “U” shape, and there was significant difference in HPV infection rate among different age groups ($P<0.05$). **Conclusion** The infection rate, subtype and age distribution of HPV in Yongchuan District of Chongqing have changed compared with previous studies in this area, revealing the current situation and epidemic trend of HPV infection in this area, and providing a practical basis for the development of regional HPV vaccine and the prevention and treatment of HPV in this area.

Key words: human papillomavirus; genotyping; human papillomavirus vaccine

人乳头瘤病毒(HPV)是一类感染表皮和黏膜鳞状上皮的小 DNA 病毒,具有高度种属特异度,人类皮肤角质形成细胞/黏膜鳞状上皮细胞是其天然宿主,目前最新研究认为 HPV 基因型有 100 多种,其中有 40 多种与人类生殖道感染相关。多中心、多样本研究

表明超过 70% 的女性一生中至少感染一次 HPV,其中大部分能自身清除,也有少部分持续感染高危型 HPV 的女性逐步发展成宫颈上皮内瘤变(CIN),并进一步发展为宫颈癌^[1]。多个国家相关的临床指南推荐将高危型 HPV 检测用于筛查宫颈癌^[2-3]。本研究

* 基金项目:国家高技术研究发展计划(863 计划)(2011AA02A111)。

作者简介:彭书生,男,在读研究生,主要从事女性肿瘤方面的研究。△ 通信作者, E-mail: s2yyyq@163.com。

本文引用格式:彭书生,王科,袁永强.重庆市永川区 HPV 感染情况回顾性分析[J].国际检验医学杂志,2019,40(16):1925-1928.

对就诊于本院的患者进行 23 种 HPV 常见亚型检测,了解本地区 HPV 感染现状和亚型分布情况,为 HPV 疫苗的选用以及宫颈癌预防提供一定的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入标准:2015 年 9 月至 2017 年 5 月来本院就诊并接受 HPV 基因分型检测的女性患者。排除标准:患者资料完整度低于 80%;月经期间、严重的疾病或精神疾患无法配合的患者。经筛选后得到 10 889 例患者,分别来源于妇科、产科、计划生育科、健康管理科、泌尿科等 15 个科室门诊或住院部,年龄 16~84 岁,平均年龄 43.76 岁。

1.2 试剂和仪器 普通 PCR 扩增仪(杭州博日生物技术有限公司),恒温金属浴(上海嘉鹏科技有限公司),H18 全自动核酸杂交仪(深圳亚能生物技术有限公司),高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),HPV23 型基因芯片检测试剂(深圳亚能生物技术有限公司)。

1.3 标本采集及保存 患者自愿接受检查并在采集标本前将相关事宜告知:月经正常的妇女,在月经来潮后第 10~18 天为最佳检查时间,检查前 3 天内不要做阴道冲洗,不要用避孕药膏等阴道内用药物;检查前 24 h 内不应有性行为。以专用宫颈脱落细胞采集器对宫颈外口鳞-柱上皮移行区进行采样。完成采样后,将拭子或采集器放入专用的样本保存管中,并贴上患者的条形码,标本一经采集,应尽快用冰壶或泡沫箱加冰袋密封送检,标本室温保存不超过 12 h,4℃保存不超过 7 d,-20℃保存不超过 3 个月,避免反复冻溶。

1.4 方法

1.4.1 样本 DNA 提取 充分震荡洗脱宫颈刷,将洗脱液 0.5 mL 转移到 1.5 mL 微量离心管中,13 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液,保留管底的细胞块。加入 100 μL 裂解液悬浮沉淀,100℃加热 10 min,13 000 r/min 离心 10 min,保留上清待用。

1.4.2 PCR 扩增 取 PCR 反应管,在管壁上做好标记,低速离心机瞬时离心 2 s,然后分别加入上一步保留的上清液(即待测样本 DNA)5 μL,PCR 反应的总体积为 25 μL。按以下条件进行扩增:50℃15 min;95℃10 min;94℃30 s,42℃90 s,72℃30 s,40 个循环;72℃15 min。PCR 扩增完成后,95℃变性 10 min,立即置冰上 2 min。

1.4.3 芯片杂交和显色 取出全自动核酸杂交仪孵育盒,依次放入标有编号的膜条(在膜条的一角用签字笔标记),然后将上一步中变性后产物全部加入全自动核酸杂交仪孵育盒,进行 PCR 膜杂交、洗膜与显色。

1.4.4 HPV 结果判读 HPV 杂交膜条 IC 位置出现蓝色,可认为此次结果有效,否则为病例取样不成功或试验操作不成功;经由芯片阅读仪扫描读取分析

结果,将大于 8.8 灰度值(int)的检测结果显示为阳性。

1.5 统计学处理 使用 SPSS20.0 统计软件,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验进行数据分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 感染 本研究所纳入的 10 889 例患者标本中,检出 HPV 感染者 2 679 例,感染率为 24.60%。HPV6、11、16、18、31、33、35、39、42、43、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、81、82、83 型共 23 种亚型均有检出。其中单一型、二重型、多重型(三重及以上)感染例数分别为 1 926、508、245 例,感染率分别为 17.69%、4.67%、2.25%,见表 1。

表 1 HPV 感染情况(%)

感染类型	n	感染率	构成比
单一感染	1 926	17.69	71.89
二重感染	508	4.67	18.96
多重感染	245	2.25	9.15

2.2 HPV 感染的亚型分布 单纯高危型别(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82)和单纯低危型别(HPV6、11、42、43、81、83)感染例数分别为 1 538 和 388 例,感染率分别为 14.12%和 3.56%,单纯高危型检出数是单纯低危型检出数的 3.96 倍。高危型(含单一、二重、多重)感染率前 3 位分别是 HPV52、16、53,感染例数分别为 588、503、296 例,感染率分别为 5.40%、4.62%、2.72%,在 HPV 感染的患者中所占比例分别为 21.95%、18.78%、11.05%。低危型(含单一、二重、多重)感染率前 3 位分别是 HPV81、43、42,感染例数分别为 359、167、116 例,感染率分别为 3.30%、1.53%、1.07%,在感染患者中所占比例分别为 13.40%、6.23%、4.33%。见表 2。

在二重型感染中,高危型以 HPV52 和 HPV68 混合感染为主,其次为 HPV16 和 HPV52(或 HPV51 和 HPV52)混合感染、HPV52 和 HPV53(或 HPV52 和 HPV58)混合感染,分别为 16、14、13 例。低危型以 HPV43 和 HPV81 混合感染为主,其次为 HPV42 和 HPV43(或 HPV42 和 HPV81)混合感染,分别为 14、2 例。高低危混合型以 HPV52 和 HPV81 为主,其次为 HPV16 和 HPV81、HPV43 和 HPV52 混合感染,分别为 13、11、10 例。

2.3 不同年龄段感染 HPV 情况 根据就诊患者生理及社会生活特点,将所有患者分为 <20 岁、20~30 岁、30~40 岁、40~50 岁、≥50 岁共 5 个年龄组。各年龄段总感染例数分别为 15、298、545、1 071、750 例,分别占总感染患者的 0.56%、11.12%、20.34%、39.98%、28.00%。整个研究对象以单一感染为主,

高发年龄 40~<50 岁;二重感染次之,高发年龄 50 岁及以上;多重感染最少,高发年龄 50 岁及以上;二重及多重感染中年龄越大,感染率越高。整个年龄组以 40~<50 岁感染率最高,其次 50 岁及以上年龄段,整体呈倒“U”型。见表 3、图 1。HPV 感染率在不同年龄组间差异具有统计学意义($\chi^2 = 13.26, P < 0.05$)。

表 2 HPV 感染的亚型分布(n)

高/低危	亚型	单一型	二重型	多重型	合计
高危	HPV16	314	105	84	503
	HPV18	84	32	25	141
	HPV31	21	25	26	72
	HPV33	70	36	35	141
	HPV35	20	23	29	72
	HPV39	39	19	24	82
	HPV45	18	12	11	41
	HPV51	91	52	50	193
	HPV52	349	139	100	588
	HPV53	134	86	76	296
	HPV56	63	36	41	140
	HPV58	128	72	54	254
	HPV59	68	31	32	131
	HPV66	36	39	30	105
	HPV68	81	62	48	191
	HPV73	11	4	17	32
	HPV82	11	6	3	20
低危	HPV6	45	30	26	101
	HPV11	30	18	17	65
	HPV42	51	28	37	116
	HPV43	71	51	45	167
	HPV81	181	97	81	359
	HPV83	10	12	11	33

注:二重型及多重型感染例数不能由此表纵向直接相加得到,因为这样二重型及多重型包含的 HPV 亚型会存在重复计算,其具体例数需排除重复部分

表 3 不同年龄段感染 HPV 情况

年龄组(岁)	HPV 感染构成			例数 (n)	占感染者 比例(%)
	单一	二重	多重		
<20	8	6	1	15	0.56
20~30	199	64	35	298	11.12
30~40	438	80	27	545	20.34
40~50	832	177	62	1 071	39.98
≥50	449	181	120	750	28.00
合计(n)	1 926	508	245	2 679	100.00

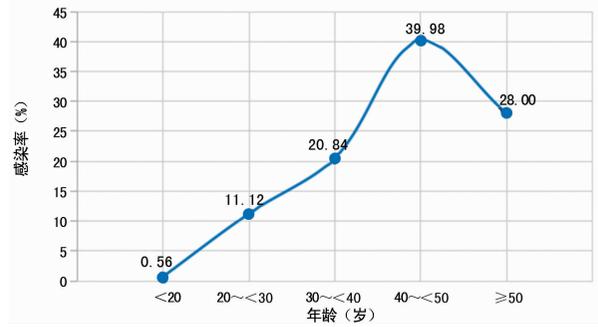


图 1 不同年龄段感染 HPV 情况

3 讨论

全球性的调查研究显示,宫颈癌在女性恶性肿瘤中占据第二位^[4]。研究表明 HPV 感染与宫颈疾患有着密切联系,WHO 于 1995 年将 HPV 感染确定为宫颈癌的病因,高危型 HPV 持续性感染是导致上皮内瘤变发生的重要条件,若不及时处理,可进一步发展为宫颈癌^[5]。可见,HPV 感染能对广大女性的健康造成严重影响,甚至威胁生命。因此,临床对高危人群筛查 HPV 感染能及时发现高危感染并进行适时适当的干预,预防上皮内瘤变甚至宫颈癌的发生、发展。同时,研究不同地区 HPV 感染现状有助于评估各地区 HPV 流行情况,制订针对性的防治措施,还能为国产 HPV 疫苗的研制方向提供指导。

本研究发现重庆市永川地区进行 HPV 检测的 10 889 人中,检出 HPV 感染者 2 679 例,感染率 24.60%,与我国大部分同类研究结果基本一致,但 HPV 感染型别上存在一定差异^[6-7]。在永川地区感染 HPV 亚型中,高危型 HPV 感染前 3 位分别是 HPV52、16、53,低危型 HPV 感染前 3 位分别是 HPV81、43、42。与本地区先前的研究^[8]相比,各型别所占比例发生改变,HPV52 亚型取代 HPV16 亚型成为高危型中感染率最高的型别,与国内外部分研究报道的 HPV16 亚型感染率最高有一定的差异^[9-10],与云南省的一项大样本分析一致^[11]。其原因可能是 HPV 亚型分布存在明显的地区差异,我国人口众多,人文地理环境复杂,人口流动、当地经济、教育条件、某区域生活方式或风俗的不同等均可使各地区 HPV 亚型分布不尽相同^[12],但有研究显示地理位置靠近的区域 HPV 感染的流行情况接近^[13],结合我国各地优势 HPV 亚型基本一致的特征,本文将其特点归纳为总体呈现“大体符合,区域差异”。同时本研究也提示某地区 HPV 的流行情况可能会随着时间推移发生变化,这表明即使是同一地区,也应定期进行 HPV 的流行病学调查,以便及时调整该地区的防控策略。本地区二重感染的感染率较高,而多项研究结果表明混合感染特别是高危型混合感染可大幅增加宫颈病变和发展为宫颈癌的风险^[14]。因此,针对这部分患者的早期诊断和及时干预显得尤为重要。此外本研究结果还显示目前 HPV 感染率以 40~<50 岁最高,整体呈

倒“U”形,与国内外部分研究结果显示 HPV 检出率呈双峰年龄分布存在差异^[15-16]。这可能与纳入的样本量或地区差异有关,也可能与本地区人群对 HPV 筛查重视程度有关。

自 2006 年美国批准使用 HPV 疫苗以来,一项来自澳大利亚的研究显示女性接种人群 HPV 感染率下降了 77%,效果显著^[17]。2016 年 7 月我国也正式批准 HPV 疫苗在我国的应用,但目前使用的疫苗由于从国外引进,二价疫苗(HPV16、18 亚型)、四价疫苗(HPV6、11、16、18 亚型)均没有针对 HPV52、58 亚型是我国 HPV 感染常见亚型的特点,尽管疫苗对未包含的亚型存在交叉保护作用,但仍难以达到较全面有效的 HPV 预防^[18]。本地区高危型 HPV52、16、53、58 亚型的感染率较高,预防接种时选取九价 HPV 疫苗能更好地进行覆盖。根据本地区随着年龄增加 HPV 感染率增高的特点及 HPV 疫苗在感染前接种效果更好的特性,推荐本地区有接种条件的女性尽早进行疫苗接种。但由于我国人口基数大及九价疫苗价格昂贵,覆盖范围受限,因此,推动针对我国国情或区域特点的国产 HPV 疫苗研制,可能将更合理、高效地防控 HPV 感染,使宫颈癌有望成为人类第一个通过综合防控战胜的恶性肿瘤^[19]。

4 结 论

重庆市永川地区 HPV 的感染率、感染亚型及年龄分布较本地区以往研究有所变化:感染率前 5 的亚型分别为 HPV52、16、81、53、58 型,HPV52 超过 HPV16 成为感染率最高的 HPV 亚型;感染率最高的年龄段也由 30~<40 岁变为 40~<50 岁,感染率曲线整体呈倒“U”形。根据本地区特点,推荐有接种条件的女性尽早进行 HPV 亚型覆盖面更广的疫苗的接种,并加强本地区 HPV 宣传及筛查工作,实现 HPV 的有效防控并为区域性 HPV 疫苗的研制提供指导。

参考文献

[1] JOURA E A, GIULIANO A R, IVERSEN O E, et al. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(8):711-723.

[2] SASLOW D, SOLOMON D, LAWSON H W, et al. American cancer society, American society for colposcopy and cervical pathology, and American society for clinical pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer[J]. *J Low Genit Tract Dis*, 2012, 16(3):175-204.

[3] 朱方培,任青玲. 宫颈癌及癌前病变早期筛查的新进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(1):149-152.

[4] JEMAL A, SIMARD E P, DORELL C, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2009, featuring the burden and trends in human papillomavirus (HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105(3):175-201.

[5] 黄熙理,陈智颖. 宫颈癌高危因素研究进展[J]. *福建医药杂志*, 2015, 37(1):125-127.

[6] 钱丽丽,张宇,崔大伟,等. 浙江地区妇女人乳头瘤病毒感染亚型及年龄分布现状[J]. *中国微生态学杂志*, 2016, 28(4):392-395.

[7] 姜树朋,李艳,汪明. 武汉地区女性 HPV 感染状况及其基因型分布[J]. *实用预防医学*, 2015, 22(8):909-911.

[8] 代红莹,张晓静. 重庆永川地区人乳头瘤病毒感染亚型、年龄分布及多重感染影响的研究[J]. *重庆医学*, 2013, 42(6):619-621.

[9] 马玉花,阿依古丽·依布拉音木,杨杰,等. HPV 分型检测及其在宫颈病变中的意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(6):977-981.

[10] 肖松舒,范洁琳,贺斯黎,等. 16 320 例妇科门诊患者 HPV 感染情况分析[J]. *中南大学学报:医学版*, 2015, 40(4):373-379.

[11] LI Z, LIU F, CHENG S, et al. Prevalence of HPV infection among 28,457 Chinese women in Yunnan Province, southwest China[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:21039.

[12] 王乐,肖长义. HPV 感染与人类学相关因素的研究进展(9)[J]. *海南医学*, 2017, 28(18):3016-3019.

[13] 彭夔,徐燕,康厚纯,等. 溧阳地区 HPV 感染情况及基因亚型分析[J]. *中国继续医学教育*, 2018, 10(5):62-64.

[14] TROTTIER H, MAHMUD S, COSTA M C, et al. Human papillomavirus infections with multiple types and risk of cervical neoplasia[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15(7):1274-1280.

[15] 张青,杨真,袁小林,等. 大连地区 2 755 例不同年龄组 HPV 亚型感染状况分析[J]. *现代预防医学*, 2014, 41(2):345-348.

[16] CAMARGO M, SOTO-DE LEON S C, SANCHEZ R, et al. Frequency of human papillomavirus infection, coinfection, and association with different risk factors in Colombia[J]. *Ann Epidemiol*, 2011, 21(3):204-213.

[17] GARLAND S M. The Australian experience with the human papillomavirus vaccine[J]. *Clin Ther*, 2014, 36(1):17-23.

[18] 吉赛赛,李克莉,李燕,等. 预防性人乳头瘤病毒疫苗的研发和使用进展[J]. *中国疫苗和免疫*, 2017, 23(2):222-229.

[19] 乔友林,赵宇倩. 宫颈癌的流行病学现状和预防[J]. *中华妇幼临床医学杂志*, 2015, 11(2):1-6.

(收稿日期:2018-11-24 修回日期:2019-02-04)