

• 论 著 •

武汉地区女性人乳头瘤病毒感染及基因分型分析*

黄景涛,白 莉,李 艳[△]

武汉大学人民医院检验科,湖北武汉,430060

摘 要:**目的** 探讨武汉地区人乳头瘤病毒(HPV)感染及各亚型分布情况。**方法** 收集 2018 年 5 月至 2020 年 12 月于该院东院就诊的 7 152 例女性患者的宫颈脱落细胞标本,采用荧光定量 PCR 对本标本进行检测,分析 HPV 亚型分布及感染情况。**结果** 7 152 例受检女性患者中,共检出 HPV 阳性 1 332 例,总体阳性率为 18.62%。单一感染 919 例,占 68.99%;多重感染 413 例,占 31.01%。女性 HPV 阳性率随年龄的增加呈现 U 型分布,其中 14~<20 岁阳性率最高,达 41.49%,其次是 50~89 岁和 20~<30 岁,阳性率分别为 22.72%和 20.35%。HPV 阳性率排名前 5 的 HPV 亚型分别是 HPV52、HPV16、HPV58、HPV53 和 HPV81 型。**结论** 武汉地区 HPV 感染以单一感染为主,不同年龄段 HPV 阳性率存在差异,HPV52、HPV16、HPV58 型是优势感染亚型。提高武汉地区女性 HPV 筛查意识,尤其是针对 HPV52、HPV16、HPV58 型这 3 种最常见亚型的筛查,能有效降低宫颈癌的发生率。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因分型; 武汉; 阳性率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.03.002 **中图法分类号:**R737.33

文章编号:1673-4130(2022)03-0262-04 **文献标志码:**A

Analysis of human papillomavirus infection and genotyping among women in Wuhan area*

HUANG Jingtao,BAI Li,LI Yan[△]

Department of Clinical Laboratory,Wuhan University People's Hospital,
Wuhan,Hubei 430060,China

Abstract:**Objective** To investigate the human papillomavirus (HPV) infection and the distribution of its subtypes in Wuhan. **Methods** The cervical exfoliated cell specimens of 7 152 female patients who were treated in the East Hospital of the hospital from May 2018 to December 2020 were collected. The specimens were detected by fluorescence quantitative PCR, and the distribution and infection of HPV subtypes were analyzed. **Results** Among the 7 152 female patients tested, a total of 1 332 HPV positive cases were detected, and the overall positive rate was 18.62%. There were 919 cases of single subtype infection, accounting for 68.99%, and 413 cases of multiple infection, accounting for 31.01%. The positive rate of HPV in women showed a U-shaped distribution with increasing age. The positive rate of 14—<20 years old was the highest, which as 41.49%, followed by 50—89 years old and 20—<30 years old, with positive rates of 22.72% and 20.34%, respectively. The top 5 HPV subtypes with the highest HPV positive rate were HPV52, HPV16, HPV58, HPV53 and HPV81. **Conclusion** The HPV infection in Wuhan is mainly a single infection, and there are differences in the positive rate of HPV in different age groups. HPV52, HPV16 and HPV58 are the dominant subtypes. Raising awareness of HPV screening among women in Wuhan, especially screening for the three most common subtypes of HPV52, HPV16, and HPV58, can effectively reduce the incidence of cervical cancer.

Key words: human papillomavirus; genotyping; positive rate; Wuhan

人乳头瘤病毒(HPV)感染是一种常见的生殖道病毒感染,可促进多种肿瘤的发生发展。目前鉴定出超过 200 种 HPV 亚型,近一半的亚型可以感染生殖道^[1]。根据诱发肿瘤能力的不同,将 HPV 分为低危型(HPV6、HPV11 型等)和高危型(HPV16、HPV18 型等),持续性的高危型 HPV 感染是宫颈上皮内瘤

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81902141)。
作者简介:黄景涛,男,主管技师,主要从事疾病的早期分子诊断相关研究。 [△] 通信作者,E-mail:yanlitf1120@163.com。
本文引用格式:黄景涛,白莉,李艳. 武汉地区女性人乳头瘤病毒感染及基因分型分析[J]. 国际检验医学杂志,2022,43(3):262-265.

变、宫颈癌的重要危险因素;而低危型 HPV 与生殖道外生性湿疣类、扁平湿疣类病变相关。不同的 HPV 亚型具有不同的致病能力,而 HPV 亚型的复合感染是导致宫颈病变加重的重要原因^[2-3]。因此,HPV 不同亚型感染情况对宫颈癌的早期诊断和预防具有重要意义。本研究对湖北省武汉市的 7 152 例女性的宫颈脱落细胞进行了 21 种 HPV 亚型检测,并对检测结果进行分析,旨在为武汉地区女性宫颈癌的流行病学特征研究及防治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 5 月至 2020 年 12 月于武汉大学人民医院东院就诊的 7 152 例女性患者的宫颈脱落细胞标本,对其进行 HPV 基因分型检测。纳入研究的患者年龄 14~89 岁,平均(37.50±11.3)岁。根据年龄分布,将患者分为 5 组,分别为 14~<20 岁组 94 例,20~<30 岁组 1 853 例,30~<40 岁组 2 531 例,40~<50 岁组 1 455 例及 50~89 岁组 1 219 例。本研究经本院医学伦理委员会批准,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 HPV 分型检测试剂盒及配套的核酸提取试剂盒(江苏硕世生物科技公司),可检测 HPV 高危型 17 种:HPV 16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、26、82 型,HPV 低危型 4 种:HPV 6、11、73 和 81 型。全自动核酸提取仪(江苏硕世生物科技公司);LightCycler480 II 实时荧光定量 PCR 仪(瑞士罗氏公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 采样前,用棉拭子轻轻擦拭宫颈口过多的分泌物,将宫颈采样刷伸入宫颈口鳞柱上皮交界处,顺时针旋转 3~5 圈采集宫颈脱落细胞,将其放入取样管内,密闭送检。4℃保存,3 d 内完成检测。

1.3.2 DNA 提取和 PCR 扩增 按照核酸提取试剂盒说明书提取 DNA。按照说明书配制好 PCR 反应混合液(包含 dNTP、Taq 酶、引物、荧光探针、UNG 酶等)18 μL 加入到反应管中,分别加入 2 μL 的已提取的 DNA 标本,作为阴性对照和阳性对照。扩增条件为:50℃ 5 min,UNG 酶处理;95℃ 10 min,预变性;95℃ 10 s,58℃ 40 s,循环 45 次;58℃ 检测荧光强度。

1.3.3 结果判读 根据厂家说明书判读结果,阴性对照无典型 S 型扩增曲线;阳性对照呈典型 S 型曲线且循环阈值(Ct 值)≤30.0;内参基因扩增曲线呈典型 S 型曲线且 Ct 值≤36.7。此时根据说明书中 HPV 亚型定性参考值表判读结果,若扩增曲线呈典型的 S 型曲线且 Ct 值<参考值,则判断为阳性;若无典型的 S 型曲线或 Ct 值≥参考值,则判断为阴性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件对数据进行处理和分析,计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 感染的总体情况 7 152 例患者中共检出 HPV 感染者 1 332 例,阳性率为 18.62%。HPV 阳性患者中,仅感染低危型 HPV(HPV6、HPV11、HPV73 和 HPV81 型)的患者 129 例,占 9.68%;感染高危型 HPV 的患者 1 049 例,占 78.75%;同时感染高危型 HPV 和低危型 HPV 的患者 154 例,占 11.56%。另外,HPV 阳性患者中,主要是单一感染(919 例),占 68.99%,二重感染 279 例,占 20.95%;三重及三重以上的感染 134 例,占 10.06%,见表 1。

表 1 武汉地区女性 HPV 感染的总体情况		
感染情况	n	占比(%)
单一感染	919	68.99
二重感染	279	20.95
三重感染	77	5.78
四重感染	31	2.33
五重感染	14	1.05
六重感染	8	0.60
七重感染	3	0.23
八重感染	1	0.08
合计	1 332	100.00

2.2 不同年龄段 HPV 感染情况分析 7 152 例女性患者中,30~<40 岁组 HPV 阳性例数最多,14~<20 岁组的 HPV 总体阳性率和高危型阳性率最高,不同年龄组间阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=69.76,P<0.05$),见表 2。HPV 总体阳性率和高危型阳性率随年龄增加的变化趋势相同,都呈 U 型的变化曲线;14~<20 岁组 HPV 阳性率最高,随着年龄增加,HPV 阳性率逐渐降低,30~<40 岁组阳性率最低,进入围绝经期和绝经后期后 HPV 阳性率开始升高,见图 1。

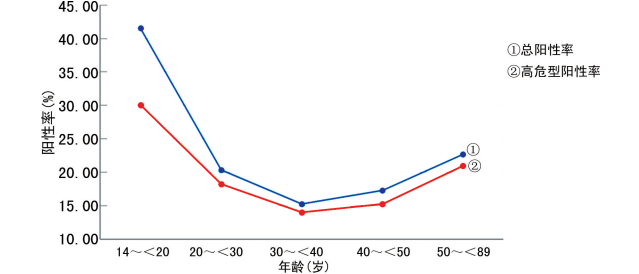


图 1 各年龄段 HPV 总体阳性率和高危型阳性率趋势图

2.3 不同 HPV 亚型检出情况分析 HPV 总体阳性率排名前五的亚型分别是 HPV52、HPV16、HPV58、HPV53、HPV81 型。不同年龄组的 HPV 亚型分布有细微差别,如 14~<20 岁组最常见的 HPV 感染是

HPV16、HPV6 和 HPV11 型,而其余年龄组最常见 表 3。
的 HPV 感染均为 HPV52、HPV16、HPV58 型,见

表 2 不同年龄段 HPV 感染情况分析[n(%)]

年龄(岁)	n	HPV 阳性	HPV 阴性	高危型阳性	高危型阴性
14~<20	94	39(41.49)	55(58.51)	32(4.04)	62(65.96)
20~<30	1 853	377(20.35)	1 476(79.65)	338(18.24)	1 515(81.76)
30~<40	2 531	387(15.29)	2 144(84.71)	355(14.03)	2 176(85.97)
40~<50	1 455	252(17.32)	1 203(82.68)	222(15.26)	1 233(84.74)
50~89	1 219	277(22.72)	942(77.28)	256(21.00)	963(79.00)

表 3 不同年龄段 HPV 各亚型阳性率分布[n(%)]

HPV 亚型(型)	总计	14~<20 岁	20~<30 岁	30~<40 岁	40~<50 岁	50~89 岁
HPV6	89(1.24)	12(12.77)	37(2.00)	18(0.71)	11(0.76)	11(0.90)
HPV11	59(0.82)	9(9.57)	28(1.51)	6(0.24)	9(0.62)	7(0.57)
HPV16	206(2.88)	13(13.83)	67(3.62)	50(1.98)	36(2.47)	40(3.28)
HPV18	78(1.09)	5(5.32)	31(1.67)	16(0.63)	8(0.55)	18(1.48)
HPV26	3(0.04)	0(0.00)	1(0.05)	1(0.04)	1(0.07)	0(0.00)
HPV31	38(0.53)	1(1.06)	15(0.81)	8(0.32)	5(0.34)	9(0.74)
HPV33	77(1.08)	1(1.06)	18(0.97)	21(0.83)	13(0.89)	24(1.97)
HPV35	32(0.45)	0(0.00)	9(0.49)	4(0.16)	7(0.48)	12(0.98)
HPV39	112(1.57)	0(0.00)	34(1.83)	36(1.42)	14(0.96)	28(2.30)
HPV45	14(0.20)	0(0.00)	6(0.32)	4(0.16)	2(0.14)	2(0.16)
HPV51	103(1.44)	4(4.26)	38(2.05)	33(1.30)	17(1.17)	11(0.9)
HPV52	339(4.74)	7(7.45)	98(5.29)	99(3.91)	49(3.37)	86(7.05)
HPV53	132(1.85)	4(4.26)	37(2.00)	37(1.46)	22(1.51)	32(2.63)
HPV56	77(1.08)	4(4.26)	16(0.86)	19(0.75)	20(1.37)	18(1.48)
HPV58	201(2.81)	8(8.51)	61(3.29)	63(2.49)	34(2.34)	35(2.87)
HPV59	74(1.03)	4(4.26)	28(1.51)	20(0.79)	9(0.62)	13(1.07)
HPV66	88(1.23)	3(3.19)	35(1.89)	22(0.87)	16(1.10)	12(0.98)
HPV68	78(1.09)	2(2.13)	21(1.13)	18(0.71)	14(0.96)	13(1.07)
HPV73	5(0.07)	0(0.00)	1(0.05)	1(0.04)	2(0.14)	1(0.08)
HPV81	146(2.04)	6(6.38)	35(1.89)	43(1.70)	31(2.13)	31(2.54)
HPV82	28(0.39)	6(6.38)	5(0.27)	8(0.32)	3(0.21)	6(0.49)

3 讨 论

宫颈癌是威胁女性健康最常见的肿瘤之一,每年约有 50 万以上妇女罹患宫颈癌,30 万以上妇女因宫颈癌死亡,严重影响全球女性生命健康^[1,4]。HPV 是一种无包膜的双链环状 DNA 病毒,直径在 45~55 nm。HPV 特别是高危型 HPV 持续感染是诱发宫颈癌的高危因素。在长期感染过程中,HPV 整合至宿主 DNA 后,导致原癌基因 E6、E7 的高表达,抑癌基因 p53 和 Rb 失活,引发组织病变,从而致使宫颈癌的发生^[5]。因此,针对 HPV 的早期筛查和治疗能够有效地降低宫颈癌的发生率。有研究推荐将 HPV 筛查作为首选的宫颈癌筛查手段,初始筛查年龄为 25 岁,建议定期筛查 HPV 以降低罹患宫颈癌的风险^[6]。

宫颈癌的发生率呈现地区差异性,在低收入国家

和地区的宫颈癌的发生率和死亡率是高收入国家的 2~3 倍^[7]。HPV 阳性率也呈现相同的趋势,低收入国家和地区的 HPV 阳性率远高于高收入国家,非洲地区具有较高的 HPV 阳性率和宫颈癌的发生率和死亡率^[8]。由于我国地域和民族差异性及经济发展差异性,HPV 阳性率和分布存在差异,有研究表明我国的 HPV 阳性率从 10.00%到 30.00%不等,如上海浦东地区的 HPV 阳性率为 23.43%^[9],北京海淀区的 HPV 阳性率为 22.60%^[10],厦门地区的 HPV 阳性率为 16.47%^[11]。江西地区的 HPV 阳性率为 23.68%^[12]等。本研究发现武汉地区 HPV 的阳性率为 18.62%,略低于北京、上海和江西地区的 HPV 阳性率,高于厦门地区的阳性率。AGODI 等^[13]研究发现,女性在 25 岁前会出现第 1 个 HPV 感染高峰,随

后下降;在围绝经期或绝经期出现第 2 个感染高峰。在本研究中,HPV 的第 1 个感染高峰出现在 14~<20 岁组,随后阳性率下降,在 50~89 岁组出现第 2 个感染高峰。年轻女性 HPV 阳性率最高,原因可能与性生活频繁有关,但是 HPV 感染多为一过性感染,会被机体自身免疫力清除,致使 HPV 阳性率随着年龄增长逐渐降低;50~89 岁组存在第 2 个 HPV 感染高峰可能是由于激素水平改变和免疫力下降。

在不同地区和不同人种间,HPV 亚型感染分布存在差异,欧洲和北美地区最常见的 HPV 感染是 HPV16、HPV18、HPV31 和 HPV53 型,亚洲地区最常见的 HPV 感染主要是 HPV16、HPV52 和 HPV58 型^[8]。对于国内 HPV 亚型阳性率,不同的研究间亦存在差异。苏州地区最常见的是 HPV52、HPV81、HPV16 型^[14],厦门地区最常见的是 HPV52、HPV16、HPV58、HPV53 和 HPV39 型^[11],北京地区最常见的是 HPV52、HPV16、HPV58、HPV53 和 HPV56 型^[10]。本研究中,笔者发现武汉地区最常见的 HPV 亚型分别是 HPV52、HPV16、HPV58 型,与国内报道的 HPV 常见亚型相符,但在不同组中有些许差异,14~<20 岁组由于性生活活跃,HPV6、HPV11 型等 HPV 亚型阳性率较其他年龄组高。

宫颈癌的三级预防可以有效地降低宫颈癌的发生率,其中一级预防为 HPV 疫苗接种,是最有效的保护手段。最新的一项 167 万参与的群体水平研究发现,10~30 岁女性接种四价 HPV 疫苗,能够使女性浸润性宫颈癌的发病率下降 63%,证实 HPV 疫苗接种可以降低宫颈癌的发生率^[15]。目前我国已有二价(HPV16、HPV18 型)、四价(HPV6、HPV11、HPV16、HPV18 型)和九价(HPV6、HPV11、HPV16、HPV18、HPV31、HPV33、HPV45、HPV52、HPV58 型)疫苗上市,针对不同年龄段女性,早期接种疫苗可以有效降低宫颈癌的发病率。

综上所述,本研究发现武汉地区 HPV 阳性率不低,主要以单一感染为主,不同年龄组 HPV 阳性率存在差异,14~<20 岁组和 50~89 岁组阳性率较高;总体阳性率较高的 5 种亚型从高到低依次为 HPV 52、HPV16、HPV58、HPV53 和 HPV81 型。提高女性 HPV 筛查意识,定期进行 HPV 检测,大力引入和推广 HPV 疫苗,可以有效地降低 HPV 阳性率,预防宫颈癌的发生。

参考文献

[1] SOTO D, SONG C, MCLAUGHLIN-DRUBIN M E. Epigenetic alterations in human papillomavirus-associated

cancers[J]. *Viruses*, 2017, 9(9):248.

[2] CLARKE M A, GRADISSIMO A, SCHIFFMAN M, et al. Human papillomavirus DNA methylation as a biomarker for cervical precancer: consistency across 12 genotypes and potential impact on management of HPV-positive women[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(9):2194-2202.

[3] RODEN R B S, STERN P L. Opportunities and challenges for human papillomavirus vaccination in cancer[J]. *Nature reviews Cancer*, 2018, 18(4):240-254.

[4] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.

[5] LITWIN T R, CLARKE M A, DEAN M, et al. Somatic host cell alterations in HPV carcinogenesis[J]. *Viruses*, 2017, 9(8):206.

[6] FONTHAM E T H, WOLF A M D, CHURCH T R, et al. Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(5):321-346.

[7] ARBYN M, WEIDERPASS E, BRUNI L, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis[J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(2):e191-e203.

[8] CROW J M. HPV: the global burden[J]. *Nature*, 2012, 488(7413):2-3.

[9] 刘华, 李青, 曹磊, 等. 上海浦东地区宫颈 HPV 感染状况的流行病学调查分析[J]. *中国现代医生*, 2019, 57(33):136-139.

[10] 王海滨, 张冬青, 赵娇. 北京市海淀区女性人乳头瘤病毒感染结果分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(10):1411-1414.

[11] 张玉凤, 雷丽云, 林云, 等. 厦门地区 9 249 例女性人乳头瘤病毒基因分型检测及结果分析[J]. *中国当代医药*, 2020, 27(34):185-188.

[12] 袁建晖, 范燕燕, 胡小青. 江西省妇女 HPV 分型感染大样本分析[J]. *医学理论与实践*, 2020, 33(22):3842-3845.

[13] AGODI A, BARCHITTA M, LA ROSA N, et al. Human papillomavirus infection: low-risk and high-risk genotypes in women in Catania, Sicily [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2009, 19(6):1094-1098.

[14] 李伟, 王燕华, 杨如, 等. 苏州地区不同年龄女性 HPV 感染的流行病学调查[J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(10):1753-1756.

[15] LEI J, PLONER A, ELFSTRÖM K M, et al. HPV Vaccination and the risk of invasive cervical cancer[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(14):1340-1348.

(收稿日期:2021-05-10 修回日期:2021-11-18)