

3 讨 论

血液凝固的平衡主要依赖于凝血和抗凝血的调节,若平衡失调则会发生出血或血栓形成^[2]。肝脏是合成多种血浆凝血因子的场所,在目前已确定的 14 种凝血因子中有 12 种凝血因子是由肝脏参与合成,这些凝血因子半衰期甚短,但能合成和灭活纤维蛋白的溶解物与抗纤溶物质,因此肝脏在体内的止凝血过程中起着非常重要的作用^[3-4]。PT 是检测外源性凝血系统最常见的试验,它反映因子Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅹ的含量和血循环中有无抗凝物质存在;APTT 是反映内源性凝血系统最常用和较敏感的筛选试验,测定因子Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ、Ⅻ的凝血活性和因子Ⅴ、Ⅹ的水平;TT 是反映共同凝血途径因子Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ的活性。当肝胆疾病引起肝细胞损害时,肝脏合成凝血因子的功能减退,脂溶性维生素 K 依赖因子合成减少;在重症肝炎、肝坏死、肝硬化及肝癌时,肝细胞损伤释放出“凝血活酶样”物质,这种物质能激活内源凝血系统,而不能被受损伤或坏死的肝细胞清除;同时,可以引起血小板质和量的改变和抗凝物质的增多,其合成使“肝素物质”灭活的肝素酶减少,可以使凝血酶原不能转变为凝血酶^[5],造成凝血障碍,从而使 PT、APTT 和 TT 延长。FIB 在肝脏合成,当严重肝实质损害时其含量明显降低^[6]。肝胆有着极为密切联系,胆道发生病变都会使肝脏受到一定的损害,并根据胆道疾病的实质变化的不同,结果也不同,PT 和 APTT 延长与对照组比较差异有统计学意义,TT 和 FIB 与对照组比较差异无统计学意义,这说明肝脏合成凝血酶原、因子Ⅴ、Ⅶ、Ⅹ的能力下降,而合成其他因子能力变化不大。化脓性胆管炎的 FIB 高于其他胆道疾病,主要是由于 FIB 是一种急性时相反应蛋白,化脓性的局部炎症可引起机体的一种非

特异反应所致。本组结果显示,在 4 项凝血指标的 APTT 和 FIB 愈异常,肝脏受损愈严重,肝功能愈差,PT、TT 异常出现较早,APTT、FIB 异常出现较晚,提示 APTT、FIB 异常是肝病恶变的一种先兆。当 4 项凝血指标都异常时,表明患者血液处于低凝状态,具有出血倾向,肝细胞已受到严重损害,导致肝脏功能极度下降,甚至失去代偿能力。因此,血浆 4 项凝血指标检测在肝胆疾病尤其是严重肝病的凝血功能方面具有重要临床意义,可作为观察肝病止、凝血和预后判断、评估的一个可靠的诊疗依据。

参考文献

- [1] 谭齐贤. 临床血液学和血液检验[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2004:324-325.
- [2] 戴万荣,郭金星. 检验医学临床应用[M]. 上海:上海科普出版社,2001:55-56.
- [3] 储海燕. 病毒性肝炎患者凝血纤溶系统的研究[J]. 血栓与止血杂志,2001,7(2):62-63.
- [4] 叶跃红,张莉萍. 肝炎后肝硬化患者凝血和抗凝及纤溶指标检测的临床意义[J]. 重庆医学,2003,32(3):344-345.
- [5] 叶维法. 临床肝胆病学[M]. 天津:天津科学技术出版社,1996:90-91.
- [6] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京:东南大学出版社,1997:159-160.

(收稿日期:2011-07-11)

• 临床研究 •

广东清远地区女性感染人乳头瘤病毒基因型分析

刘冬霞(广东省清远市妇幼保健院检验科 511500)

【摘要】 目的 了解和分析广东省清远地区女性宫颈感染人乳头瘤病毒(HPV)基因型的分布情况,为预防 HPV 感染和宫颈癌防治提供理论依据。**方法** 采用聚合酶链反应体外扩增和 DNA 反向点杂交相结合的基因芯片技术,对 2010 年 1~12 月来该院就诊的 525 例可疑患者进行 23 种 HPV 基因亚型检测。其中包括 18 种高危亚型(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、83、MM4)及 5 种低危亚型(HPV6、11、42、43、44)。**结果** 525 例患者中共检出 HPV 阳性 187 例,阳性率为 36%。其中高危型感染 162 例,占阳性率的 86.6%,低危型感染 25 例,占阳性率的 13.4%。高危型感染率排前五位的基因型依次是 HPV16(24%)、52(17%)、58(9%)、56(7%)、33(7%)。低危型基因主要以 HPV6、11 为主。单一基因型感染 152 例,占感染人数的 81.3%,其中以 HPV16 和 HPV52 基因型为主,感染的总例数为 76 例,占感染人数的 41%。多重基因型感染 35 例,占感染人数的 18.7%。其中两重感染 27 例,占感染人数的 14.4%;三重基因型以上感染的 8 例,占感染人数的 4.3%。HPV39、44、MM4 三种基因型未检出。**结论** 广东省清远地区女性宫颈 HPV 感染率较高,主要为单一基因型感染,感染亚型以 HPV16 和 HPV52 型为主,其次是 HPV58、56、33、18 型。对适当年龄段的女性进行 HPV 感染筛查及早治疗,并对阳性者进行定期的跟踪是防治宫颈癌的重点。

【关键词】 宫颈疾病; 人乳头瘤病毒; 基因型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.02.036 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)02-0197-02

宫颈癌是人类所有癌症中唯一病因明确的疾病,即人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌发生的主要病因。目前已发现的 HPV 亚型有 100 余种,而不同的基因亚型对宫颈上皮的致病力不同。近年来的研究更进一步提出高危型的 HPV 反复持

续感染是导致宫颈癌及癌前病变发生的主要致病因素。因此,对 HPV 亚型的分型研究,对预测病变进展、判断预后、指导治疗有重要价值。本文通过对 2010 年 1~12 月来本院就诊的 525 例可疑患者进行 HPV 分型检测,从而了解本地区 HPV

亚型的分布情况。

1 资料与方法

1.1 研究对象 从 2010 年 1~12 月来本院进行妇科检查的 525 例可疑患者,每例均检测 18 种高危基因型和 5 种低危基因型。

1.2 试剂与仪器 试剂:HPV 基因分型检测试剂盒,由深圳亚能生物技术有限公司提供;仪器:美国 ABI 公司生产的 stepone plus real-time PCR system,分子杂交仪型号为 FINEPCRCombi-H12。

1.3 方法

1.3.1 标本 DNA 提取 将洗脱过棉拭子的生理盐水转移到 1.5 mL 微量离心管中,13 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,保留管底的细胞块,然后加入 50 mL 裂解液悬浮沉淀,100 ℃ 加热 10 min,13 000 r/min 离心 10 min,保留上清液待用。

1.3.2 PCR 扩增 参照试剂盒使用说明,取 PCR 反应管于 5 000 r/min 离心 2 s 后,分别加入已提取的待测样品 DNA 5 μL,反应总体系为 25 μL。按以下条件进行扩增:50 ℃ UNG 酶消化 15 min,95 ℃ 预变性 10 min,94 ℃ 变性 30 s,42 ℃ 复性 90 s,72 ℃ 延伸 30 s,扩增 40 个循环之后 72 ℃ 延伸 5 min,

PCR 产物应 4 ℃ 保存。

1.3.3 杂交 取 15 mL 塑料离心管,放入标有样本编号的膜条,加入 A 液(2×SSC,0.1%SDS)5~6 mL 及所有(25 μL)的 PCR 产物,置于沸水中加热 10 min 后放入 51 ℃ 杂交箱杂交 1.5~4 h。同时取 50 mL 塑料离心管,加入 50 mL B 液(0.5×SSC,0.1%SDS)于杂交箱中预热至 51 ℃。

1.3.4 洗膜 取出膜条,移至装有预热 B 液的 50 mL 离心管中,于 51 ℃ 轻摇洗涤 5 min。

1.3.5 显色 取出膜条,置于 A 液配制 1:2 000 的 POD 溶液中,室温中轻摇浸泡 30 min,弃去 POD 溶液,用 A 液在室温中摇洗 2 次,每次 5 min,用 C 液在室温中洗膜 1~2 min,同时配制显色液。将膜条浸泡于显色液中避光显色至少 30 min 后移至去离子水中即可观察结果。

2 结 果

2.1 广东清远地区女性宫颈癌 HPV 感染率及 HPV 基因亚型分布情况 2010 年 1~12 月来本院就诊的 525 例可疑患者中,HPV 阳性患者 187 例,阳性率为 36%,其中高危型占阳性率的 86.6%,低危型占 13.4%。共检测 HPV23 个亚型,各亚型分布见表 1。

表 1 187 例 HPV 感染阳性亚型分布

项目	低危型 HPV					高危型 HPV																	
	6	11	42	43	44	16	18	31	33	35	39	45	51	52	53	56	58	59	66	68	73	83	MM4
阳性例数	7	8	42	6	0	44	8	2	13	3	0	1	4	32	9	13	17	1	5	8	1	1	0
阳性率(%)	3.7	4.3	2	3	0	24	4.3	1	7	1.7	0	0.5	2	17	5	7	9	0.5	2.7	4.3	0.5	0.5	0

2.2 从表 1 中可见清远地区 HPV 高危亚型以 16 型感染例数最多,占 24%,其次为 52 型,占 17%;低危型以 11 型和 6 型为主。说明本地区与宫颈癌相关的高危亚型以 16 型为主。

2.3 23 种 HPV 亚型主要为单一型感染为主,有 152 例,感染率为 81.3%;多重感染 35 例,感染率为 18.7%。其中双重感染的有 27 例,感染率为 14.4%,三重以上的 8 例,感染率为 4.3%。

3 讨 论

近年来,HPV 引起的生殖道感染发病率逐年上升,在我国已跃居性病的第 2 位^[1]。根据病毒致病力不同,HPV 分为高危型和低危型。高危型可导致宫颈上皮内瘤样病变(CIN),与宫颈癌的发生关系密切。低危型 HPV 主要引起尖锐湿疣及低度 CIN 等,可治愈^[2]。HPV 的基因型分布存在着明显的地区差异,但全世界范围内共同的最常见的感染亚型为 HPV16 型,在国际癌症研究协会最新报道的包括全球 25 个国家的 3 607 例宫颈癌患者中 HPV16 型的感染率为 57.4%^[3],而 18 亚型的感染率居第 2 位,45 型在非洲、欧洲、东南亚及北美洲居第 3 位,但在南美洲居第 3 位的是 31 亚型^[4]。在亚洲国家 52 和 58 亚型感染率更常见,日本 52 亚型居第 2 位。在上海有 42.5%的宫颈癌标本存在 52 亚型和 58 亚型感染,在台湾除 16 亚型、18 亚型外,31、33、35 亚型的感染率较高^[5]。

本次研究表明,广东清远市地区女性 HPV 感染亚型主要以 HPV16 型为主,占感染率的 24%,其次为 HPV52 亚型,占 17%,而 58 亚型居第 3 位,占 9%。这一研究表明不同城市的

HPV 感染亚型会不同,通过本次研究可以更好地掌握不同地区的亚型分布情况,更好地研究适合我国国情的 HPV 亚型的多价 HPV 疫苗,对预防 HPV 感染所导致的宫颈癌的发生有重要意义。

参考文献

[1] 叶顺章,邵长庚.性病诊疗与预防[M].北京:人民卫生出版社,2002:252-254.

[2] 王莉,张文夺,归绥琪. HPV 持续感染与免疫调节机制[J].现代妇产科进展,2004,13(2):134-136.

[3] Muñoz N,Bosch FX,Castellsagué X,et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective[J]. Cancer,2004,111(2):278-284.

[4] Muñoz N,Bosch FX,de Sanjosé S,et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med,2003,348(6):518-527.

[5] 陶萍萍,卞美璐.女性生殖道人乳头状瘤病毒基因型研究进展[J].中国实用妇科与产科杂志,2005,21(8):507-509.