

重庆地区人乳头瘤病毒各亚型感染情况的临床分析

李 童, 李 甜, 马永鹏, 贺淑丹, 廖 璞(重庆市第三人民医院 400016)

【摘要】 目的 了解重庆地区人乳头瘤病毒(HPV)各亚型感染的分布情况,为重庆地区 HPV 分子流行病学研究提供依据。**方法** 采用导流杂交技术,同时检测 21 种 HPV 亚型,其中高危型 HPV 13 种,低危型 HPV 5 种和中国人群众常见型 HPV 3 种。**结果** 3 884 例临床标本共检出阳性 1 144 例(29.45%, 1 144/3 884),单一 HPV 亚型感染 750 例(19.31%, 750/3 884),复合感染 394 例(10.14%, 394/3 884),其中高危型 HPV 515 例(13.26%, 515/3 884, 不含复合感染);21 种 HPV 亚型均被检出,其中 HPV52、16、58、33、68 是最常见的高危型;58 例男性标本中检出 31 例(53.45%)阳性,主要为复合型和 HPV6 型。**结论** HPV 各亚型检测对于 HPV 感染的诊断、治疗及宫颈癌的早期干预和预防具有重要意义。

【关键词】 人乳头瘤病毒; 基因型; 导流杂交

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.16.005 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)16-1979-03

A type-specific clinical analysis of human papillomavirus in infected in Chongqing LI Tong, LI Tian, MA Yong-peng, HE Shu-dan, LIAO Pu (The Third People's Hospital of Chongqing, 400016, China)

【Abstract】 Objective To learn type-specific prevalence and distribution of human papillomavirus (HPV) in screening in Chongqing region for supplying basis for study on epidemiological. **Methods** A total of 21 genotypes including 13 high-risk types, 5 low-risk types and 3 chinese universal types were tested by flow-through rapid hybridization. **Results** Among the 3 884 patients, HPV was detected in 1 144 patients (29.45%). The high-risk types were 515 cases (13.26%, uninclude multiple infection). The infection of single genotype was 750 cases (19.31%, 750/3 884) and multiple infection was 394 cases (10.14%, 394/3 884). Total 21 genotypes were detected. HPV52, 16, 58, 33 and 68 were the most prevalent high-risk types. In 58 male case, 31 were positive, the main types were mixture and HPV 6. **Conclusion** The detection of human papillomavirus genotype is important for the patients who underwent cytologic screening in early period diagnosis and prevention.

【Key words】 human papillomavirus; genotype; flow-through rapid hybridization

近年来,中国宫颈癌发病率和病死率逐渐上升,并明显趋向年轻化。目前,已有大量研究证实人乳头状瘤病毒(HPV)感染是引起宫颈癌及其癌前病变的主要原因^[1-2]。HPV 是一种可引起人类皮肤和黏膜组织良性或恶性肿瘤的无包膜双链环状小分子 DNA 病毒,到目前为止,超过 100 种 HPV 亚型被发现,至少 40 多个亚型与人类生殖道疾病有关^[3],特别是高危型是宫颈癌发生的直接原因^[4],不同的地区、不同的种族感染 HPV 型别并不相同。导流杂交法是一种新检测技术,可一次性快速准确地检测 21 种 HPV 亚型的基因分型,并能对混合型 HPV 感染作出诊断。因此,利用导流杂交法对本地区 HPV 感染类型进行调查,有利于针对性开展 HPV 感染的筛查工作,对宫颈癌早期预防具有十分重要的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2009 年 2 月至 2011 年 3 月重庆地区各医院门诊及住院患者 3 884 例,年龄 16~76 岁,(≤20 岁 430 例, >20~30 岁 1 768 例, >30~40 岁 971 例, >40~<50 岁 567 例, ≥50 岁 148 例,其中男性患者 58 例)。

1.2 仪器与试剂 PCR 仪(KP-CT48)、Hybri Max 医用核酸分子快速杂交仪(凯普生物化学有限公司);HPV-DNA 提取试剂盒和 HPV 核酸扩增分型检测试剂盒(凯普生物化学有限公司)。

1.3 标本采集 使用凯普一次性宫颈细胞采集器,用棉拭子

将宫颈口过多的分泌物擦去,深入受检者宫颈口内 2~3 cm,顺时针旋转 3~5 圈,取出宫颈刷放入装有保存液的样本管中;男性患者收集阴茎皮肤拭子,取出拭子放入装有保存液的样本管中,将多余的刷柄折断,旋紧管盖,注明编号和日期。如不能马上检测,应将样本置于 4℃ 条件下存放,并在 2 周内完成检测。应避免样本反复冻融。

1.4 HPV 基因分型检测 (1) HPV-DNA 提取:使用凯普基因组提取试剂盒,严格按照其操作步骤提取。如不立即进行扩增,提取的 DNA 可暂存于 4℃ 冰箱,长时间则需于 -20℃ 保存;(2) HPV-DNA 扩增:按照 PCR 扩增试剂盒操作程序使用 KP-CT48 PCR 仪进行扩增。PCR 产物保存备用,短时间可于 4℃ 存放,长时间则需于 -20℃ 存放;(3) 导流杂交法和 HPV 基因分型:使用由凯普生物科技有限公司生产的杂交试剂盒和医用核酸分子快速杂交仪(凯普 HPV21 分型产品)进行杂交分型;(4) 结果判读:肉眼观察检测结果,阳性点呈现清晰的蓝紫色圆点,根据 HPV 分型分布图判断 HPV 亚型(图 1),如果出现一个或一个以上 HPV 分型点则为单一或复合 HPV 感染,生物素对照点(Biotin,反映酶与显色液反应)和内对照点(IC,质控模板 DNA 探针)出现阳性,表示结果正确(图 2)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件,统计采用行列表(R×C)资料分析,以百分率作 HPV 感染的评价指标。并对各年龄段间 HPV 感染率进行 χ^2 检验。对复合型感染者,各亚型

的阳性率不重复计算。

2 结果

2.1 HPV 各基因型感染情况 3 884 份样本中共检测出 1 144 例阳性,其 HPV 基因型分布情况见图 3~5。1 144 例 HPV 阳性患者中 21 种 HPV 亚型均被检出。其中高危型(不包括复合型)HPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68)515 例,低危型(不包括复合型)HPV(6、11、42、43、44)119 例,中国人常见型 HPV(53、66、CP8304)116 例,复合型 394 例。其中高危型 HPV52 (14.50%)、16 (12.50%)、58 (9.00%)、33 (6.38%),低危型 HPV11 (7.25%),复合型 (49.25%)的感染率比较高。

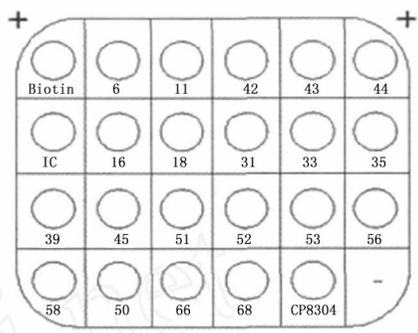


图 1 杂交膜探针分布示意图

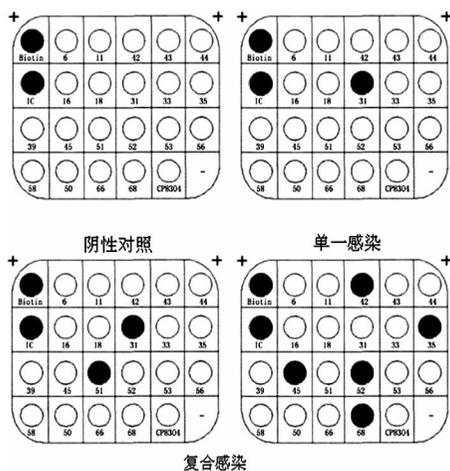


图 2 HPV 基因分型结果示意图

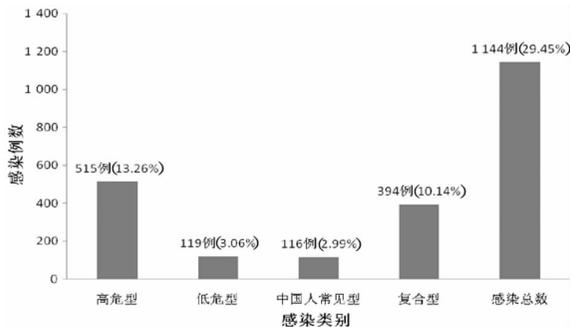


图 3 HPV 阳性结果统计图

2.2 HPV 感染与年龄关系 HPV 感染各年龄段分布见图 6。2 884 例受检者在 ≤ 20 岁、 $>20\sim 30$ 岁、 $>30\sim 40$ 岁、 $>40\sim 50$ 岁与 ≥ 50 岁各年龄段 HPV 的感染率分别为 33.49%、30.60%、26.47%、26.98% 和 33.11%,各年龄段间差异有统

计学意义($P < 0.05$)。其中 ≤ 20 岁受检者感染率最高,达到 33.49%,其次是 ≥ 50 岁受检者,达 33.11%。

2.3 HPV 感染情况 58 例男性受检者中共检出 31 例阳性,其中 HPV 高危型(不包括复合型)6 例,HPV16、33、39、52、56、59 各 1 例(3.23%)。HPV 低危型(不包括复合型)8 例,HPV6 6 例(19.35%)、HPV 112 例(6.46%)。复合感染 16 例。复合感染率较高,占总感染的 51.61%,其次是 HPV 低危型(HPV6)占总感染的 19.35%。中国人常见亚型 CP8304 型 1 例(3.23%)。

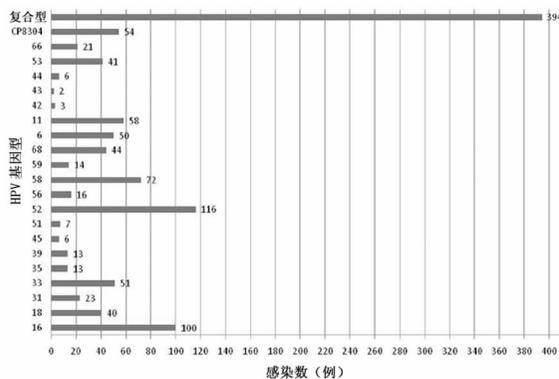


图 4 1 144 例 HPV 阳性患者感染基因型分布

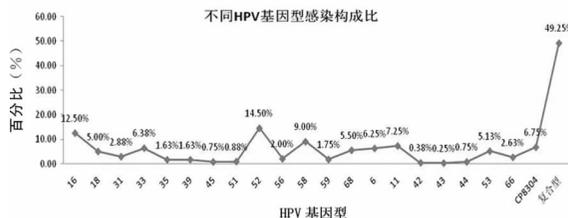


图 5 不同 HPV 基因型感染阳性率

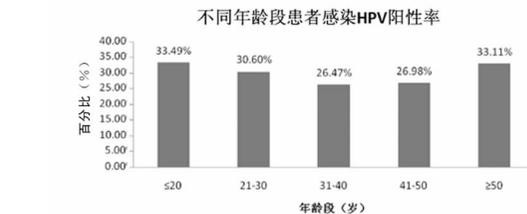
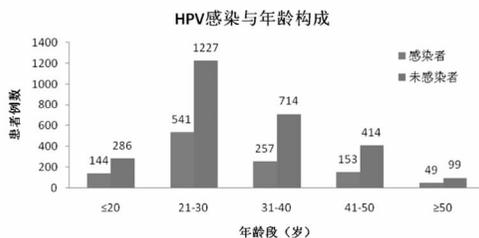


图 6 3 884 例患者 HPV 感染情况与各年龄段构成比

3 讨论

HPV 是一种无包膜的双链闭环小分子 DNA 病毒,主要感染人的皮肤或黏膜上皮细胞,引发感染部位的良、恶性病变^[5]。根据核酸的同源性对 HPV 进行基因分型,当相关序列的同源性在 90%~98% 时,可认为是同一个亚型,现在已发现 100 多个亚型的 HPV。根据 HPV 的致癌危险性的不同,可将 HPV 分为低危型和高危型两大类。低危型 HPV 常在宫颈良

性或低度病变的病灶中检测到,而高危型 HPV 通常在高度病变及宫颈癌中发现^[6]。不同 HPV 基因型感染率,存在着较大的地区差异。因此,对 HPV 进行检测和基因分型,具有重要的临床意义:(1)明确受检者所感染的 HPV 病毒类型(高危型,低危型或复合型),了解患者是持续感染还是新感染;(2)根据感染的 HPV 亚型预测受检者的发病风险,以制定正确、合理且有效的治疗方案和决定随访时间;(3)用于治疗后的效果监测;(4)积累本地区人群 HPV 感染具体亚型的分布以及其与年龄的关系,为研制适合中国人群的 HPV 预防和治疗性疫苗提供数据。

本研究统计 HPV 基因型表明重庆地区高危组的 HPV52 型和 HPV16 是高发型,低危组的 HPV11 型为高发型,且本地患者复合型感染占到 49.25%。有研究发现,全世界范围内 HPV16 型是最主要的基因型,其次是 HPV18 型^[7]。其余的基因型中,HPV58、52 型在亚洲相对较流行。本调查结果显示,HPV52、16、11 型是重庆地区最主要的高发型,基本复合世界地区和亚洲地区的研究结果,同时存在地区特异性,这与陈雪梅等^[8]报道的宁波地区 HPV 感染分布情况和梁凤荣等^[9]报道的济宁地区 HPV 感染分布情况均略有不同。提示在重庆地区,高危型 HPV52、16 型是影响宫颈癌发生的重要型别,提示患者要及时进行检查和定期随访,降低癌变率,提高患者生活质量,延长寿命。本研究发现,HPV 复合感染率占 49.25%,明显高于梁凤荣等^[9]报道的 25.3%,提示重庆地区,HPV 复合感染的概率较大,更易导致宫颈病变的发生。同时,对 58 例男性患者进行了分型,结果表明复合型在男性患者中感染率最高(占 51.61%),其次是单一低危型 HPV6 型感染率较高(占 19.35%),综合感染率达 53.45%,这高于报道的男性 HPV 感染率 50% 的平均水平,表明重庆地区是男性 HPV 感染的高发区。

年龄是 HPV 感染和宫颈癌发生的相关因素,本研究对各年龄段的人群进行筛查发现,人群中 HPV 感染高发年龄在 ≤20 岁,其次是 ≥50 岁的人群,第 3 位的是 >20~30 岁年龄段的人群。这与多篇文献报的不同,梁凤荣等^[9]报道济宁地区 ≥50 岁年龄段的感染率较高,美国调查研究发现 20~24 岁女性发病率最高^[10];意大利对无症状性女性进行 HPV 亚型检测显示 20~30 岁发病率最高^[11]。可见,重庆地区 HPV 感染趋于年轻化和老年化,这可能是由于 ≤20 岁组对 HPV 感染相关知识认识不够,而 ≥50 岁组则可能是因为自身的免疫力下降导致其容易感染。针对不同人群进行普及 HPV 的相关知识,同时加大对这两年龄段人群进行筛查的力度,可以降低 HPV 感染率并及时控制其发生、发展而降低癌变率。

本研究采用导流杂交法,对重庆地区的 HPV 基因型进行了感染性临床分析,该方法的优点有:(1)快速,即在 PCR 扩增后产物只需 40 min 就可得到杂交结果。(2)高通量,可一次性检测 21 种 HPV 亚型感染,既可以显示具体某种亚型 HPV 感染,也可以显示混合型多重感染。(3)准确,可在同一张低密度

基因芯片薄膜上同时完成扩增对照和杂交对照,对整个实验过程实行全面质量控制。

总之,导流杂交法可检测 HPV 多种亚型,对 HPV 感染亚型的鉴别及宫颈癌的预防与治疗具有较好的临床应用价值。同时,通过对重庆地区 HPV 基因型的分析表明,HPV52、16、6 型以及复合型在重庆地区感染率较高,这一研究结果对进一步了解 HPV 的传播、HPV 疫苗的研制及 HPV 相关肿瘤预防策略的制定具有重要意义,同时也提供了重要的流行病学资料。

参考文献

- [1] Cai HB, Ding XH, Chen CC. Prevalence of single and multiple human papillomavirus types in cervical cancer and precursor lesions in Hubei, China[J]. *Oncology*, 2009, 76(3):157-161.
- [2] 李瑞珍,石菊芳,周庆芝,等.应用基因芯片技术检测高危型人乳头瘤病毒在宫颈癌筛查中的评价[J]. *中华医学杂志*, 2006, 86(5):307-311.
- [3] De Villiers E M, Fauquet C, Broker T R, et al. Classification of papillomavirus[J]. *Virology*, 2004, 324:17-27.
- [4] Francesco B, Stefania C, Andrea P, et al. Prevalence and viral load of on cogenic human papillomavirus types associated with carcinoma in apopulation of North Italy[J]. *J Med Virol*, 2009, 81:278-287.
- [5] Dunne EF, Markowitz LE. Genital human apillomavirus infection[J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 43(5):624-629.
- [6] Walboomers JM, Jacobs MV, Mano MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervicalcancer worldwide[J]. *J Pathol*, 1999, 189(1):12-19.
- [7] Clifford GM, Smith JS, Plummer M, et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta analysis[J]. *Br J Cancer*, 2003, 88:63273.
- [8] 陈雪梅,覃世榕,施丹华,等.宫颈上皮内瘤变及宫颈癌患者人乳头状瘤病毒感染的临床研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2010, 20(24):3883-3885.
- [9] 梁凤荣,汤玉美,刘燕,等.宫颈病变患者 HPV 基因分型[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2010, 2(6):390-393.
- [10] Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States[J]. *JAMA*, 2007, 297(8):813-819.
- [11] Del Prete R, Di Taranto AM, Lipsi MR, et al. Prevalence and genotypes identification of human papillomavirus infection in a population of South Italy[J]. *J Clin Virol*, 2008, 42(2):211-214.

(收稿日期:2012-02-12)

(上接第 1978 页)

质量[J]. *中国卫生质量管理*, 2008, 15(3):45-46.

- [2] 徐英. 护工模式负重转身[J]. *中国医院院长*, 2008, 15(8):64-67.
- [3] 姜晓艳,宋静波. 护工管理发展趋势探讨[J]. *中国健康月*

刊:学术版, 2010, 29(11):105-106.

- [4] 卫宇. 加强护工管理改善医疗环境[J]. *江苏卫生事业管理*, 2003, 14(2):43-44.

(收稿日期:2012-02-15)