

福建地区人乳头瘤状病毒流行病学调查研究

王 颖, 黄 毅, 陈 渝 (福建省立医院检验科, 福州 350001)

【摘要】 目的 明确福建地区无症状女性人群宫颈人乳头瘤状病毒(HPV)的感染现状, 指导相关预防性疫苗的接种。**方法** 采用流式荧光杂交法对 2011 年 3 月至 2012 年 3 月采集的 3 052 例健康体检女性人群宫颈脱落细胞样本进行分型检测。**结果** 总 HPV 感染率为 11.3%, 高危型 HPV 感染率为 10.4%, 感染前 5 位的型别分别为 HPV-52(2.3%), HPV-58(1.7%), HPV-16(1.6%), HPV-18(0.8%), HPV-68(0.7%)。HPV 感染年龄分布存在双峰现象, 20~24 岁年龄组的 HPV-16 感染率明显较高。**结论** 福建地区无症状女性人群中, HPV-52 及 HPV-58 的感染率相对较高, 提示包含 HPV-52 及 HPV-58 的第 2 代预防性疫苗能为福建地区女性提供更好的保护。HPV 感染存在 2 个年龄高峰, 对疫苗的适用具有指导意义。对有性生活的年轻女性进行普遍的包含 HPV-16 的预防性疫苗的补救性接种会获得较大收益。

【关键词】 人乳头瘤状病毒; 流行病学; 预防性疫苗

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.24.029 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)24-3099-03

The epidemiologic study on human papillomavirus in Fujian province of China WANG Ying, HUANG Yi, CHEN Yu (Department of Clinical Laboratory, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 35001, China)

【Abstract】 Objective To clear Fujian region in asymptomatic women with cervical human papillomavirus virus (HPV) infection status for guidance to the relevant preventive vaccines targeted. **Methods** 3 052 healthy women cervical exfoliated cell samples were detected by flow fluorescence hybridization methods from March 2011 to March 2012. **Results** The total rate of HPV infection was 11.3%, high-risk HPV infection rate was 10.4%, the infection ranked top five types were HPV-52(2.3%), HPV-58(1.7%), HPV-16(1.6%), HPV-18(0.8%), HPV-68(0.7%) respectively. HPV infection age distribution was the presence of Shuangfeng phenomenon. 20-24 years old age group, HPV-16 infection rate increased significantly. **Conclusion** Fujian region in asymptomatic female population, HPV-52 and HPV-58 infection rates are relatively high, suggests than the second generation of prophylactic vaccines contains HPV-52 and HPV-58 have higher probability of protection for women in Fujian area. Fujian region in asymptomatic female population, HPV infection has presence of two age peaks, this vaccine has guiding significance to apply. It can gain bigger profit to launch preventive vaccine remedial inoculation which contains HPV-16 for sexual life of young women.

【Key words】 human papillomavirus Virus; epidemiology; vaccine

在所有的恶性肿瘤中, 宫颈癌的发病因素最为明确, 99.7% 的宫颈癌患者的标本中可以检出人乳头瘤状病毒(HPV)^[1]。HPV 是一种嗜皮肤和黏膜组织细胞的 DNA 病毒, 目前已经完整测序的 HPV 型别有 100 余种, 与人类常见疾病有关的有 10 多种基因型^[2]。根据与宫颈癌的关联度高低情况, 将 HPV 分为高危型与低危型。高危型 HPV 主要有 16、18、26、31、33、35、39、45、51、52、53、55、56、58、59、66、68、82、83 等亚型; 低危型 HPV 主要有 6、11、40、42、44、61、73 等亚型^[3]。目前正式上市的预防性疫苗主要针对高危型 HPV-16 和 HPV-18, 其研发数据基于欧美国家的 HPV 流行病学资料。然而地区不同, HPV 的人群感染率不同, 优势型别也不同, 由于现有的预防性疫苗对其他型的交叉预防能力有限, 特定地区的 HPV 流行病学资料的获得很有必要^[4]。本研究以福建地区无症状女性人群为研究对象, 明确该地区型别特异性及年龄特异性的 HPV 感染特征, 为该地区第 1 代预防性疫苗的接种及第 2 代疫苗的研发提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 3 月至 2012 年 3 月福建省立医院健

康体检女性 3 052 例, 平均年龄 38.9 岁(20~76 岁)。筛选条件包括: 智力健全、年龄 20~79 岁、当地居民、有完整宫颈、有性生活史、目前无妊娠、无宫颈及阴道异常病史、无异常阴道流血或接触性出血、妇科检查肉眼未见明显宫颈病灶、无其他 HPV 相关疾病史或症状、检查前 3 d 无阴道用药及性生活。

1.2 仪器与试剂 Luminex 100 流式点阵仪(美国 Luminex Corporation 公司提供); TC-96/T/H(a) 基因扩增仪(杭州博日科技有限公司提供); 高危型 HPV 核酸粒测试盒(上海透景生命技术有限公司提供); K10BD 干式恒温器(杭州奥盛仪器公司提供); HC-2517 高速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司提供); XK-96-A 快速混匀器(姜堰市新康医疗器械公司提供); Min-6K 微型离心机(黑马公司提供)。

1.3 方法

1.3.1 核酸提取 混匀样本及质控品, 取 50~200 μ L 加入对应的洁净 1.5 mL 离心管, 14 000 r/min 离心 3 min, 弃上清液, 加入 20 μ L 提取缓冲液, 摇匀, 100 $^{\circ}$ C 15 min, 14 000 r/min 离心 5 min, 取上清液备用。

1.3.2 PCR 扩增 配制聚合酶链反应(PCR)反应管, 加入提

取后上清液 5 μL 于相应管内,盖紧盖子,2 000 r/min 10 s,放入 PCR 仪,90 °C 5 min 预变性,95 °C 30 s→58 °C 30 s→72 °C 30 s,5 个循环,95 °C 30 s→55 °C 30 s→72 °C 30 s,35 个循环,最后 72 °C 3 min。

1.3.3 杂交检测 剪取相应大小的微孔杂交板,每孔加入 22 μL 微球杂交液及 3 μL PCR 扩增产物,混匀,覆盖封口,恒温浴 95 °C 5 min,变性,48 °C 30 min 杂交。每孔加入荧光素 SA-PE 75 μL 混匀,重新封口,48 °C 孵育 15 min。

1.3.4 结果判定 利用透景 HPV 结果计算分析软件可直接得到各个样本的检测结果。HPV-16、18、26、31、33、35、39、45、51、52、53、55、56、58、59、66、68、82、83 定义为高危型别;HPV-6、11、40、42、44、61、73 定义为低危型别^[3]。

2 结 果

2.1 HPV 的流行病学分布 见表 1。3 052 例检测样本中 HPV 阳性共有 344 例,阳性率为 11.3%;344 例阳性样本中,317 例为高危型 HPV 感染,35 例为多重感染。感染率最高的

5 种型别分别为 HPV-52、58、16、18、68。HPV-16 和/或 HPV-18 阳性率为 2.3% (n=70),有 0.1% (n=4) 样本同时感染 HPV-16 及 HPV-18;HPV-6、11、16、18 中的一种及一种以上感染率为 3.0% (n=93),无样本同时检测到这 4 种疫苗相关型别。

表 1 福建地区无症状女性人群 HPV 感染的分布 (n=3 052)

感染类型	n	占人群总感染率(%)	占 HPV 阳性人群比率(%)
HPV 感染	344	11.3	100.0
高危型 HPV 感染	317	10.4	92.2
HPV-52 阳性	69	2.3	20.1
HPV-58 阳性	51	1.7	14.8
HPV-16 阳性	49	1.6	14.2
HPV-18 阳性	25	0.8	7.3
HPV-68 阳性	23	0.7	6.7

表 2 福建地区无症状女性人群年龄特异性 HPV 感染率 (n=3 052, %)

感染分类 (HPV 型别)	n	总感染率	20~24 岁 (n=58)	25~29 岁 (n=190)	30~34 岁 (n=297)	35~39 岁 (n=496)	40~44 岁 (n=557)	45~49 岁 (n=542)	50~79 岁 (n=912)
所有类型	344	11.3	8.6	14.2	10.4	11.1	12.4	11.6	15.1
高危型 HPV	317	10.4	8.6	11.6	9.4	9.9	11.3	10.7	13.8
HPV-52	69	2.3	1.7	3.7	2.0	1.4	1.3	3.1	2.5
HPV-58	51	1.7	1.7	1.6	0.7	1.2	1.8	1.1	2.6
HPV-16	49	1.6	3.4	2.1	1.7	1.2	1.4	0.9	2.2
HPV-18	25	0.8	0.0	0.0	0.0	0.4	0.9	1.3	1.3
HPV-68	23	0.7	0.0	0.0	—	0.7	1.0	0.7	0.9

注:—表示无数据。

2.2 HPV 感染的年龄分布情况 见表 2。该检测人群的平均年龄为 36.9 岁(20~76 岁),以 5 岁为 1 个单位进行分组统计,可见 HPV 感染具有 2 个年龄高峰,第 1 个在 25~29 岁(14.2%),第 2 个在 50 岁以上人群(15.1%) ($\chi^2=15.322, P=0.039$)。高危型 HPV 感染也有类似的 2 个高峰 ($\chi^2=15.932, P=0.026$)。20~24 岁年龄组 HPV-16 亚型感染率显著高于其他组别,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

3 讨 论

宫颈癌是目前惟一可以经过医学干预能使发病率和死亡率下降的人类恶性肿瘤^[4],而在所有的恶性肿瘤中,宫颈癌的发病因素最为明确。Tsai 等^[5] 研究认为高危型 HPV 可引起 95% 以上宫颈癌,从致病机制来说,宫颈癌是一种性传播疾病,通过阻断 HPV 的传播可以预防宫颈癌的发生,世界卫生组织公布宫颈癌是惟一可望被消灭的癌症,HPV 与宫颈癌之间明确的病因学关系促使了 HPV 病毒疫苗的研发。

目前正式上市的两种预防性疫苗包括葛兰素史克公司的 Cervarix 二价疫苗及默沙东公司的 Gardasil 四价疫苗,分别针对 HPV-16 + HPV-18, HPV-6 + HPV-11 + HPV-16 + HPV-18。Ⅲ期临床试验结果显示,对于从未感染过疫苗相关型别的女性,这两种疫苗对于相关型别引起的生殖道病变有非常显著的预防效果^[6]。然而,这两种疫苗的研发数据主要基于欧美国家的 HPV 流行病学资料,由于 HPV 亚型感染率及亚型分布

具有明显的地域性,且疫苗对于没有包含的其他型别感染的交叉保护能力有限,因此对于研发针对特定地区的第 2 代疫苗而言,该地区优势型别资料的获取具有指导意义^[5-6]。福建地区此前在以人群为基础的 HPV 流行病学调查方面尚为空白,急需相关研究的开展。

本研究选择的人群是没有宫颈病变或其他 HPV 相关病史的无症状女性人群,没有同时进行细胞学筛查。一方面,没有排除细胞学异常可能更有利于对本地区人群感染现状的评估;另一方面,根据文献报道,细胞学异常(主要为轻微病变)人群的纳入不会对结果造成显著影响,因此本研究结果与其他研究报道具有可比性^[7]。

在健康人群中,HPV 感染率在不同国家间波动范围在 1.4%~25.6%,在亚洲地区波动范围在 1.6%~14.2%^[8]。本研究资料显示,福建地区 HPV 感染率(11.3%) 低于我国中部地区山西(14.2%),东北部最大城市沈阳(16.6%) 以及南部城市深圳(17.6%),接近沿海地区海南岛(11.9%),在国内处于中、低水平^[9-12]。

世界范围感染率最高的 5 个 HPV 型别分别为 HPV-16、18、31、58 和 52,其中 HPV-16 的感染率最高^[13],而本研究人群中 HPV-52 的感染率最高(2.3%),这一结果与亚洲部分地区及东非地区相类似^[13]。HPV-58 是一种在亚洲人群中比较普遍的型别,在本研究人群中排列第 2 位,感染率为 1.7%,在

感染人群中分布比例为 14.8%；HPV-16 在本研究人群中排列第 3 位,明显低于世界范围平均水平^[13]。4 种现有疫苗相关型别 HPV-16、18、6、11 感染率在福建地区无症状女性人群中其分布均处于中、低水平。HPV-52 及 58 在本研究人群中优势地位比较明确,在感染人群中分布比例分别达 20.1% 及 14.8%,随着越来越多的研究提示,HPV-52 和 58 在亚洲人群中的分布优势较为明显^[9-11,14],并且在东部及东南部亚洲人群宫颈癌病例中,HPV-52 及 58 的表达也明显高于其他地区^[14],作者认为包含 HPV-52 及 58 的第 2 代预防性疫苗可以为我国及其他亚洲国家女性人群提供更好的保护。

本研究中,年龄特异性 HPV 感染具有 2 个高峰。由于在性生活开始不久女性就可以感染 HPV^[15],且年轻女性感染 HPV 的机会更多,对 HPV 的获得性免疫也尚未建立。本研究中 25~29 岁年龄组的第 1 个感染高峰可能与此有关;而围绝经期激素波动可以引起生理和免疫系统的调节障碍,使对病毒感染的清除或抑制作用减弱,此阶段病毒的持续感染增加或潜伏期 HPV 的激活可以很好地解释本研究中观察到的 50 岁以上人群组出现的第 2 个感染高峰^[16]。根据高危性 HPV 感染的年龄特异性及不同年龄阶段感染机制与特征的不同,HPV 预防性疫苗在临床上的投放使用可以更有针对性,更及时有效。

值得注意的是,福建地区年轻女性(20~24 岁)HPV-16 感染率显著高于其他年龄组,考虑到在无症状人群中,随着年龄的增大,部分女性可能已经感染过此型别并将其清除^[17],导致被观察到的 HPV-16 感染率在较大年龄组中下降;而 HPV 预防性疫苗对接种时感染过相关型别的妇女并无临床益处^[6],作者认为该发现意义重大,提示对于年轻、有性生活的女性人群而言,针对性进行普遍的包含 HPV-16 的预防性疫苗的补救接种会获得较大的收益。

参考文献

[1] Bosch FX, Manos MM, Munoz N, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group[J]. J Natl Cancer Inst, 1995, 87(11): 796-802.

[2] Munoz N, Castellsague X, de Gonzalez AB, et al. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer [J]. Vaccine, 2006, 24(13): 1-10.

[3] Herrero R. Human papillomavirus(HPV) vaccines: limited cross-protection against additional HPV types[J]. J Infect Dis, 2009, 199(7): 919-922.

[4] Syljanen S, Shabalova IP, Petrovichev N, et al. Human papilloma virus testing and conventional Pap smear cytology as optional screening tools of women at different risks for cervical cancer in Countries of the former Soviet Union J Low Genit Tract Dis, 2002, 6: 97-110.

[5] Tsai HJ, Wu CH, Lai HL, et al. Association between quantitative high-risk human papillomavirus DNA load and cervical intraepithelial neoplasm risk [J]. Cancer Epi-

demiol Biomarkers Prev, 2005, 14(11): 2544-2549.

[6] Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen OE, et al. A pooled analysis of continued prophylactic efficacy of quadrivalent human papillomavirus (Types 6/11/16/18) vaccine against high-grade cervical and external genital lesions[J]. Cancer Prev Res (Phila Pa), 2009, 2(10): 868-878.

[7] Chan PK, Ho WC, Wong MC, et al. Epidemiologic risk profile of infection with different groups of human papillomaviruses[J]. J Med Virol, 2009, 81(9): 1635-1644.

[8] Clifford GM, Gallus S, Herrero R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis [J]. Lancet, 2005, 366(9490): 991-998.

[9] Dai M, Bao YO, Li N, et al. Human papillomavirus infection in Shanxi Province, People's Republic of China: a population-based study[J]. Br J Cancer, 2006, 95(1): 96-101.

[10] Li LK, Dai M, Clifford GM, et al. Human papillomavirus infection in Shenyang city, People's Republic of China: a population-based study[J]. Br J Cancer, 2006, 95(11): 1593-1597.

[11] Wu RF, Dai M, Quai YI, et al. Human papillomavirus infection in women in Shenzhen city, People's Republic of China, a population typical of recent Chinese urbanization [J]. Int J Cancer, 2007, 121(6): 1306-1311.

[12] 赖燕燕,林海英,刘玲丽. 1 241 例门诊就诊者 HPV 检测结果分析[J]. 海南医学, 2010, 21(22): 42-43.

[13] de Sanjose S, Diaz M, Castellsague 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.

[14] Sukvirach S, Smith JS, Tunsaku L S, et al. Population-based human papillomavirus prevalence in Lampang and Songkla, Thailand[J]. J Infect Dis, 2003, 187(8): 1246-1256.

[15] Winer RL, Feng Q, Hughes JP, et al. Risk of female human papillomavirus acquisition associated with first male sex partner[J]. J Infect Dis, 2008, 197(2): 279-282.

[16] Althoff KN, Paul P, Burke AE, et al. Correlates of cervicovaginal human papillomavirus detection in perimenopausal women [J]. J Women Health (Larchmt), 2009, 18(9): 1341-1346.

[17] Ralston Howe E, Li Z, McGlennen RC, et al. Type-specific prevalence and persistence of human papillomavirus in women in the United States who are referred for typing as a component of cervical cancer screening[J]. Am J Obstet Gynecol, 2009, 200(3): 245-247.