

液相基因芯片技术在崇明地区人乳头瘤病毒检测和分型中的应用*

张莉¹, 冷俊¹, 周晔¹, 张蕾², 杨惠萍², 陈峰³ (上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院: 1. 检验科; 2. 妇科; 3. 病理科 202150)

【摘要】目的 探究液相基因芯片技术在崇明地区人乳头瘤病毒(HPV)检测和分型中的应用。**方法** 选取2011年5月至2013年4月该院妇科门诊就诊者宫颈脱落细胞500例,使用液相基因芯片技术对其进行HPV基因型检测。并对80例患者进行病理诊断,根据组织病理学将80例患者分为炎症反应组、细胞学正常组、宫颈癌组、宫颈上皮内瘤变(CIN) I组、CIN II组、CIN I~II组、CIN III组。将病理诊断结果和HPV DNA亚型分布结果结合分析,对崇明地区宫颈病变程度和HPV感染基因型的关系进行分析。**结果** 500例标本中共180例HPV阳性患者,HPV总感染率为36%,共检出22种基因型,按照感染率从高到低依次为HPV-16、HPV-52、HPV-58、HPV-18、HPV-11、HPV-6、HPV-31。其中高危型感染为85.96%,低危型感染为14.04%。500例标本中共180例HPV阳性患者,其中44例(24.44%)患者年龄为21~25岁的女性,11例(6.15%)患者年龄为51~67岁的女性,随着年龄的增大HPV阳性例数减少。随着宫颈病变级别的升高HPV感染率逐渐升高,两两比较结果显示,炎症反应组与正常组、CIN III组与CIN II组、宫颈癌组与CIN II组、宫颈癌组与CIN III组之间差异无统计学意义($P>0.05$);其余11对两两对比差异具有统计学意义($P<0.05$)。随着宫颈病变级别的升高HPV多重感染率逐渐升高,但是仅炎症反应组与CIN III、CIN II组间差异有统计学意义($P<0.05$)。将组织病理学作为确诊标准,液相芯片HPV DNA检测CIN III、CIN II的特异度为76.63%,灵敏度为88.57%,阴性预测值为92.16%,阳性预测值为68.89%。**结论** 崇明地区常见的HPV感染基因型为HPV-16、HPV-52、HPV-58、HPV-18、HPV-11、HPV-6、HPV-31。HPV阳性多发于年轻女性,且HPV多重感染和感染率均随着宫颈病变的程度加重而加重。因而液相芯片HPV DNA检查对大规模筛查和宫颈病变的临床诊断有十分重要的价值。

【关键词】 液相基因芯片技术; 人乳头瘤病毒; 检测; 分型

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.17.026 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)17-2548-03

Application of liquid gene chip technology in human papillomavirus detection and typing in Chongming area^{*}

ZHANG Li¹, LENG Jun¹, ZHOU Ye¹, ZHANG Lei², YANG Hui-ping², CHEN Feng³ (1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Gynecology; 3. Department of Pathology, Chongming Branch Hospital of Xinhua Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 202150, China)

【Abstract】 Objective To explore the application of the liquid gene chip technology in the human papillomavirus (HPV) detection and genotyping in Chongming area. **Methods** 500 cases of cervical exfoliated cells in the gynecology outpatient department of our hospital from May 2011 to April 2013 were selected and performed the HPV genotyping by using the liquid gene chip technology. 80 cases were performed the pathological diagnosis and divided into the groups of inflammation reaction, normal cytology, cervical cancer, cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I, CIN II, CIN I - II and CIN III according to the histopathology. The pathological diagnosis results and subtype distribution results of HPV DNA were combined to conduct the analysis. The relationship between the degree of cervical lesions and HPV infection genotypes in Chongming area was analyzed. **Results** Among 500 specimens, 180 cases were HPV-positive, the HPV total infection rate was 36%, 22 genotypes were detected, according to the descending order which were in turn HPV-16, HPV-52, HPV-58, HPV-18, HPV-11, HPV-6 and HPV-31. Among them, the high risk infection accounted for 85.96% and low-risk infection for 14.04%. Among 500 cases of samples, 180 cases were HPV-positive patients, including 44 patients (24.44%) aged 21 - 25 years old, 11 cases (6.15%) patients aged 51 - 67 years old, with age increasing, number of HPV-positive cases was decreased. With the increase of cervical lesions severity, the HPV infection rate was increased, the pairwise comparison showed that the differences between the inflammatory group and the normal group, between CIN III and CIN II, between cancer group and CIN II group, between cervical cancer group and the CIN III group was not statistically significant ($P>0.05$); the differences of pairwise comparison in remaining 11 pairs had statistically significant difference ($P<0.05$). With the increase of cervical lesions, the multiple HPV infection rate was gradually increased, but only the differences between the inflammation group with the CIN III, CIN II groups were statistically significant ($P<0.05$). With the histopathology as the diag-

* 基金项目: 上海市崇明县科学技术发展资金资助项目(CK2011-28)。

作者简介: 张莉, 女, 本科, 主任技师, 主要从事临床免疫学研究。

nostic standard, in testing CIN III and CIN II by the liquid chip HPV DNA, the specificity was 76.63%, the sensitivity was 88.57%, negative predictive value was 92.16% and the positive predictive value was 68.89%. **Conclusion** Common genotypes of HPV infection in Chongming area are HPV-16, HPV-52, HPV-58, HPV-18, HPV-11, HPV-6 and HPV-31. The HPV-positive is more common in young women, and the HPV multiple infection and infection rate are aggravated with the aggravation of cervical lesion severity. Thus the liquid chip HPV DNA examination has a very important value for large-scale screening and clinical diagnosis of cervical lesions.

【Key words】 liquid gene chip technology; human papillomavirus; testing; typing

人乳头瘤病毒(HPV)是引起宫颈癌的主要因素, 具有较多的亚型, 临床上已经明确其有 40 多种亚型感染在人生殖道中, 且根据亚型的致病能力将其分为低危型和高危型两种类型^[1]。临床上常用来筛查宫颈癌的重要手段为 HPV 检测, 且基因芯片技术能够与分型同时进行, 是用于 HPV 基因型研究的主要技术^[2]。液相基因芯片技术是优于固相芯片技术将 Luminex XMAP 作为基础系统的新技术, 采用 96 孔板操作, 能够 1 次将 26 种亚型全部呈现出来^[3]。因此本文选取 2011 年 5 月至 2013 年 4 月本妇科门诊就诊者宫颈脱落细胞 500 例, 使用液相基因芯片技术对其进行 HPV 基因型检测。对液相基因芯片技术在崇明地区人乳头瘤病毒检测和分型中的应用进行了探究, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 5 月至 2013 年 4 月本院妇科门诊就诊者宫颈脱落细胞 500 例, 年龄 17~67 岁, 平均(33.6±8.4)岁。并将 80 例患者按照 5 岁 1 个年龄段分为 8 个年龄组。同时给予 80 例患者病理诊断, 将其分为炎性反应组(33 例)、细胞学正常组(23 例)、宫颈癌组(1 例)、CIN I 组(10 例)、CIN II 组(6 例)、CIN I~II 组(1 例)、CIN III 组(6 例)。

1.2 方法

1.2.1 材料 生物素标志 β-globin 引物 PCR、生物素标志 MY09-MY11 通用物 PCR、宫颈脱落细胞 DNA 抽提试剂盒、荧光标志 SA-PE、Luminex 悬浮微球杂交探针, 上述均为上海透景生命科技有限公司生产; Luminex 100 多功能流式点阵分析仪(美国 Luminex 公司生产); Master Cycler Gradient PCR 扩增仪(德国 Eppendorf 公司生产)。

1.2.2 采集标本 根据宫颈脱落细胞取样的要求和步骤采取宫颈细胞, 并将标本保存在有细胞保存液的小瓶中, 放置在 4℃ 的环境中保存等待检测。

1.2.3 HPV 分型检测 提取宫颈脱落细胞 HPV DNA, 进行 HPV PCR 扩增, 液体杂交, 进行 Luminex 100 HPV 分型, 并将结果记录下来。操作步骤和结果的判读严格按照试剂盒的要求进行。

1.3 统计学处理 应用 SPSS19.0 软件对数据结果进行统计学分析, 计数资料以频数表示, 比较采用 χ² 检验。各组间进行两两比较, 以 P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 崇明地区高危人群 HPV 基因型分布 研究结果显示, 500 例标本中共 180 例 HPV 阳性患者, HPV 总感染率为 36%, 共检出 22 种基因型, 按照感染率从高到低依次为 HPV-16、HPV-52、HPV-58、HPV-18、HPV-11、HPV-6、HPV-31。其中高危型感染为 85.96%, 低危型感染为 14.04%。见表 1。

2.2 不同年龄组 HPV 阳性患者在所有 HPV 阳性患者中的构成比 研究结果显示, 500 例标本中共 180 例 HPV 阳性患者, 其中 44 例(24.44%)患者年龄为 21~25 岁的女性, 11 例(6.15%)患者年龄为 51~67 岁的女性, 随着年龄的增大 HPV

阳性例数减少。见表 2。

表 1 崇明地区高危人群 HPV 基因型分布

型别	HPV 基因型	感染例数(n)	构成比(%)
高危型	16	68	26.52
	52	66	25.74
	58	26	10.14
	18	23	8.97
	31	10	3.90
	56	8	3.12
	45	5	1.95
	66	3	1.17
	33	2	0.78
	39	2	0.78
	70	1	0.39
	51	1	0.39
	68	1	0.39
	59	1	0.39
	35	1	0.39
	61	1	0.39
	26	1	0.39
	73	0	0.00
	55	0	0.00
	低危型	11	18
6		15	5.85
53		1	0.39
54		1	0.39
44		1	0.39
42		0	0.00
40	0	0.00	
合计		256	100.00

注: 单一型感染 80 例, 混合型感染 76 例, HPV 各基因型阳性共有 256 例。

表 2 不同年龄组 HPV 阳性患者在所有 HPV 阳性患者中的构成比

年龄组(岁)	阳性(n)	构成比(%)
17~20	3	1.66
21~25	44	24.44
26~30	38	21.11
31~35	25	13.88
36~40	23	12.77
41~45	17	9.44
46~50	19	10.55
51~67	11	6.15
合计	180	100.00

2.3 各病理组 HPV 单一型、多重感染阳性率及总感染率
 研究结果显示,随着宫颈病变级别的升高 HPV 感染率逐渐升高,两两比较结果显示,炎性反应组与正常组、CIN III 组与 CIN II 组、宫颈癌组与 CIN II 组、宫颈癌组与 CIN III 组之间差异无统计学意义($P>0.05$);其余 11 对两两对比差异具有统计学意义($P<0.05$)。随着宫颈病变级别的升高 HPV 多重感染率逐

渐升高,但是仅炎性反应组与 CIN III、CIN II 组间差异有统计学意义($P<0.05$)。将组织病理学作为确诊标准,液相芯片 HPV DNA 检测 CIN III、CIN II 的特异度为 76.63%,灵敏度为 88.57%,阴性预测值为 92.16%,阳性预测值为 68.89%。见表 3。

表 3 各病理组 HPV 单一型、多重感染阳性率及总感染率

分组	感染类型[n(%)]					阳性 [n(%)]	阴性 [n(%)]	
	单一	多重	2 型	3 型	4 型			
正常组	4(17.39)	1(4.34)	1(4.34)	0(0.00)	0(0.00)	6(25.07)	17(74.93)	
炎性反应组	9(27.27)	3(9.09)	2(6.06)	1(3.03)	0(0.00)	15(45.45)	18(54.55)	
CIN	I 组	3(30.00)	2(20.00)	1(10.00)	0(0.00)	0(0.00)	6(60.00)	4(40.00)
	I ~ II 组	1(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(100.00)	0(0.00)
	II 组	2(33.32)	2(33.32)	1(16.66)	0(0.00)	0(0.00)	5(83.30)	1(16.70)
	III 组	2(33.32)	2(33.32)	1(16.66)	0(0.00)	0(0.00)	5(83.30)	1(16.70)
宫颈癌	1(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(100.00)	0(0.00)	
合计	22(27.50)	10(12.50)	6(7.50)	1(1.25)	0(0.00)	39(48.75)	41(51.25)	

3 讨 论

人乳头瘤病毒是一种相对分子质量较小的 DNA 双链病毒,有较强的宿主和组织特异性,强烈的嗜上皮性,会导致人类的黏膜和皮肤增生异常,进而引起多种恶性和良性的病变^[4]。HPV 病毒具有较长的感染潜伏期,多见于亚临床感染,因而需要对 HPV 感染进行准确的早期诊断,预防癌变。液相基因芯片技术是一种将 5.6 μm 的聚苯乙烯微球作为荧光染料进行染色的生物芯片,操作较方便,因而被广泛应用^[5]。因此本文选取 2011 年 5 月至 2013 年 4 月本院妇科门诊就诊者宫颈脱落细胞 500 例,使用液相基因芯片技术对其进行 HPV 基因型检测。对液相基因芯片技术在崇明地区人乳头瘤病毒检测和分型中的应用进行了探究。

本文研究结果显示,500 例标本中共 180 例 HPV 阳性患者,HPV 总感染率为 36%,共检出 22 种基因型,按照感染率从高到低依次为 HPV-16、HPV-52、HPV-58、HPV-18、HPV-11、HPV-6、HPV-31。其中高危型感染为 85.96%,低危型感染为 14.04%。这与以往的研究结果不同,这说明了 HPV 型特异性感染率会受到社会经济、人群、文化、地域等因素的影响^[6]。500 例标本中共 180 例 HPV 阳性患者,其中 44 例(24.44%)患者年龄为 21~25 岁的女性,11 例(6.15%)患者年龄为 51~67 岁的女性,随着年龄的增大 HPV 阳性例数减少。随着宫颈病变级别的升高 HPV 感染率逐渐升高,两两比较结果显示,炎性反应组与正常组、CIN III 组与 CIN II 组、宫颈癌组与 CIN II 组、宫颈癌组与 CIN III 组之间差异无统计学意义($P>0.05$);其余 11 对两两对比差异具有统计意义($P<0.05$)。随着宫颈病变级别的升高 HPV 多重感染率逐渐升高,但是仅炎性反应组与 CIN III、CIN II 组间差异有统计学意义($P<0.05$)。这可能是由于本文所采纳的研究对象过少所致。将组织病理学作为确诊标准,液相芯片 HPV DNA 检测 CIN III、CIN II 的特异度为 76.63%,灵敏度为 88.57%,阴性预测值为 92.16%,阳性预测值为 68.89%。这说明 HPV 感染的分型和早期诊断是处理宫颈病变的重要方法。而本文所使用

的液相基因芯片技术具有以下几个特点:(1)较高的灵敏度:每一个微球上都能够以共价键结合的方式将多个抗体、抗原和核酸包被,同时由于探针具有较高的密度,能够产生较强的信号,加上使用荧光检测具有较高的敏感性,因而液相基因芯片技术具有较高的灵敏度^[7]。(2)较高的通量:液相基因芯片技术能够在同一时间对同一个标本中多种不同的目的分子进行定量和定性的分析,因而具有较高的通量^[8]。(3)较快的反应速度:由于液相基因芯片技术中的杂交过程是在悬浮的液相中进行的,因而其所需要的反应时间较短,同时杂交后可以直接读数不需要进行清洗,能够节省大量的时间,具有较快的反应速度^[9]。(4)较高的灵活性:液相基因芯片技术能够用于对各种核酸和蛋白质的分析,并且可以根据不同的待测项目进行自由组合^[10]。(5)操作简单。

综上所述,崇明地区常见的 HPV 感染基因型为 HPV-16、HPV-52、HPV-58、HPV-18、HPV-11、HPV-6、HPV-31。HPV 阳性多发于年轻女性,且 HPV 多重感染和感染率均随着宫颈病变的程度加重而加重。因而,液相芯片 HPV DNA 检查对大规模筛查和宫颈病变的临床诊断有十分重要的价值。

参考文献

[1] Groner JA, Harris GD, Harper DM, et al. Reduction in HPV prevalence-no evidence to support HPV vaccination reduces HPV prevalence[J]. J Infect Dis, 2014, 209(8): 1302-1304.
 [2] 梁惠萍,邱丽容. 高危型人乳头瘤病毒检测对宫颈病变的诊断价值[J]. 中国医药导报, 2012, 9(34): 48-49.
 [3] 楼玲芳. 液基薄层细胞学检测和高危型人乳头状瘤病毒检测在宫颈癌及癌前病变筛查和预后判断中的应用价值[J]. 中国医师进修杂志, 2013, 36(15): 41-43.
 [4] Smith BC. Comparison of cervical cancer screening strategies incorporating different combinations of cytology, HPV testing, and genotyping for HPV(下转第 2553 页)

续表 1 两组受检者对各项体检质量满意度比较 [% (n/n)]

项目	研究组	对照组	t	P
医生诊疗水平	95.83(92/96)	87.50(87/96)	4.364	<0.05
对体检结果讲解	97.92(94/96)	90.63(87/96)	4.725	<0.05
体检引导	93.75(90/96)	83.33(80/96)	5.134	<0.05
健康知识指导	94.79(91/96)	85.42(82/96)	4.731	<0.05

2.3 两组老年受检者体检不适及护患纠纷例数的比较 对照组老年受检者中发生体检不适 7 例(7.29%),护患纠纷 4 例(4.17%);研究组老年受检者中发生体检不适 1 例(1.04%),未发生护患纠纷。研究组受检者的体检不适发生率和护患纠纷发生率明显低于对照组,两组差异有统计学意义(P<0.05)。

3 讨 论

健康体检是保障人们生活质量、及早发现疾病的主要医疗途径之一^[6]。对于老年人群,其多种高危慢性疾病(糖尿病、高血压、冠心病等)的发病率均随着年龄的增加而显著提升,然而老年人对上述疾病的认识却存在较大的缺失,导致其往往容易忽视其发病初期的预兆,导致疾病被发现时已进入较为严重的状态^[7]。而通过定期进行健康体检,可以及早发现并治疗上述慢性疾病,降低患者因疾病带来的痛苦和风险,并提高治疗效果^[8]。然而,由于门诊体检流程复杂,体检科目较多,所需时间较长,老年人对门诊体检普遍存在着畏惧心理和排斥心理^[9]。已有研究证实,通过对体检流程和服务进行系统化的管理可以提高体检者对体检的接受度和满意度^[10]。因此,本研究拟通过对院内体检流程进行优化和服务质量进行管理达到改善老年人群门诊质量的目的。

通过文献查阅和对实际工作中的经验进行总结,本研究将影响老年人门诊体检质量的因素分为体检者自身因素及医护人员因素。通过对上述因素的改进措施进行逐一分析和实施,老年人群门诊体检服务质量得到了显著改善。研究证实,通过进行服务质量优化,老年体检者的体检时间和体检认可率均显著改善。体检时间显著缩短的原因主要是两个方面,一方面通过改善了体检路径通过增加检测仪器、医检分离及电子化办公等手段降低了体检者的排队等待时间;另一方面通过护士的体检前讲解和体检中的积极服务,使体检者对体检流程更为熟悉,减少因项目检查不完全或找不到检查地点而耽误的时间。本研究证实通过实施服务质量优化可以切实有效的改善老年体检者对于门诊体检的感官,降低医患纠纷和护患纠纷。其原因有二,首先是以人为本的服务理念的贯彻改善了医疗工作者

的服务意识,使医生和护士在进行体检服务时更为细心和耐心。其次是缩短了体检时间优化了体检流程,由于老年体检者对于不熟悉事物普遍具有抗拒心理,通过对其进行详细说明,使其对体检流程更为了解同时通过改进体检流程,使体检过程更为简单方便。同时,通过对比两组体检者的体检不适和护患纠纷发现,实施服务质量优化后体检者的不适和护患纠纷比例均显著降低,证实服务质量的优化不仅可以缩短体检时间、增加体检满意度还可以降低体检者的不适和护患纠纷。

综上所述,门诊体检是保障老年人群健康的重要手段,通过门诊服务质量的优化可以显著降低体检所需时间、提高体检者对体检的满意度和体检结果认可率,并降低体检者的不适和护患纠纷,效果显著具有推广价值。

参考文献

- [1] Bickley L, Szilagyi PG. Bates' guide to physical examination and history-taking[M]. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2012; 1.
- [2] 魏雯,滕清燕,陈靖. 贵宾团体体检客户服务的实践与体会[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(2): 239-241.
- [3] Todd S, O'Hare J, McGuinness B, et al. The physical examination: a guide for old age psychiatrists [M]. USA: Third Edition, Principles and Practice of Geriatric Psychiatry, 2011: 117-121.
- [4] 张艳, 王银. 健康体检中老年人群的护理沟通[J]. 解放军护理杂志, 2011, 28(20): 60-61.
- [5] 张春霞, 马莉, 蒋文, 等. 健康体检质量规范管理的探索与实践[J]. 华南国防医学杂志, 2012, 26(6): 583-584.
- [6] 黄静. 健康体检人群中脂肪肝的检出与分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(7): 869.
- [7] 苑学恩, 张卫东. 中老年健康体检 4 192 例分析[J]. 人民军医, 2011, 54(1): 26.
- [8] Yang ZJ, Liu J, Ge JP, et al. Prevalence of cardiovascular disease risk factor in the Chinese population: the 2007-2008 China national diabetes and metabolic disorders study[J]. Eur Heart J, 2012, 33(2): 213-220.
- [9] 于世梅, 姜万霞, 王文玲. 老年体检者的心理护理分析[J]. 中国实用医药, 2013, 7(33): 185.
- [10] 姜建芳, 沈利英, 叶志弘, 等. 健康体检护理质量管理的探讨[J]. 中华医院管理杂志, 2011, 27(10): 770-772.

(收稿日期: 2015-02-25 修回日期: 2015-03-15)

(上接第 2550 页)

16/18; results from the ATHENA HPV study[J]. Am J Obstet Gynecol, 2013, 208(3): 184-186.

- [5] 王清, 丁显平, 李天俊, 等. 液相芯片快速检测结核耐药基因方法建立[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2012, 49(6): 1364-1368.
- [6] 毕曼曼, 赵学良. 山东省潍坊市尖锐湿疣患儿乳头瘤病毒检测和型别分析[J]. 中华皮肤科杂志, 2014, 47(9): 660-662.
- [7] 刘志忠, 丁秀荣, 袁宝军, 等. 颅咽管瘤患儿血清 IL-6、IL-8、MIP-1 α 含量变化及其意义探讨[J]. 中国免疫学杂志,

2012, 28(1): 78-80.

- [8] 王爽, 赵艳, 张欣, 等. 重症手足口病患儿血清细胞因子检测分析[J]. 北京医学, 2012, 34(3): 185-188.
- [9] 刘志忠, 陈燕, 叶虹, 等. 星形细胞瘤和髓母细胞瘤患儿血清 IL-6、IL-8 和 MIP-1 α 水平变化[J]. 标志免疫分析与临床, 2012, 19(5): 278-281.
- [10] 王敏仪, 洪顺家, 江燕, 等. 液相芯片技术检测卵泡液中细胞因子水平的可行性研究[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(11): 1696-1702.

(收稿日期: 2015-02-19 修回日期: 2015-05-29)