

• 论 著 •

洛阳地区女性 HPV 感染及病毒亚型分布特征研究*

王小利¹, 常永超¹, 刘海花², 刘 刚^{2△}

(河南科技大学临床学院第一附属医院: 1. 检验科; 2. 肿瘤表观遗传实验室, 洛阳 471003)

摘要:目的 分析洛阳地区女性宫颈人乳头瘤病毒(HPV)感染及病毒亚型分布特征。方法 分析 2013 年 6 月至 2015 年 8 月于本院妇科门诊就诊的 1 755 例初诊女性患者宫颈脱落细胞标本 HPV 检测结果。结果 1 755 例标本中检出 HPV 阳性 658 例, HPV 感染率为 37.5%, 高危型感染率为 32.3%, 其中单一感染占 66.6%, 多重感染占 33.4%; 在阳性样本中, 高危型占 86.2%, 在 高危型感染中, 单一感染占 62.3%; 感染率位于前 5 位亚型分别为 HPV16(27.7%)、52(13.4%)、81(11.2%)、53(10.3%)、58(9.0%)。<20、20~<30、30~<40、40~<50、50~<60、≥60 岁患者 HPV 感染率分别为 40.0%、42.7%、34.3%、34.7%、43.7%、38.0%, 高危型感染率分别为 40.0%、34.9%、29.4%、30.3%、38.0%、34.2%。结论 本地区女性宫颈 HPV 感染率较高, 以单一感染为主。在 HPV 感染者中, 高危型感染所占比例较高, 也以单一感染为主。HPV 感染优势型别以 HPV16、52 为主。HPV 感染与女性年龄因素相关, 50~<60 岁患者感染率最高。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因分型; 宫颈癌; 洛阳

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.14.001 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)14-1905-03

HPV infection and genotypes analysis in Luoyang*

WANG Xiaoli¹, CHANG Yongchao¹, LIU Haihua², LIU Gang^{2△}

(1. Clinical Laboratory; 2. Cancer Epigenetics Laboratory, First Affiliated Hospital of the Clinical Medicine College of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

Abstract:Objective To investigate the infection and genotype character of human papilloma virus(HPV) in females of Luoyang. **Methods** Results of HPV genotyping of 1 755 female outpatients in Gynecology Clinic of this hospital, from June 2013 to August 2015, were analyzed. **Results** Among 1 755 cases, 658 cases were positive with HPV, with positive rate of 37.5%, high risk-HPV infection rate of 32.3%. Single genotype infection rate was 66.6%, and multiple genotypes infection rate was 33.4%. In the positive cases, 68.2% was high risk-HPV infection, and the single infection rate was 62.3%. The top five common HPV subtypes were HPV16(27.7%), 52(13.4%), 81(11.2%), 53(10.3%) and 58(9.0%). The HPV positive rates in <20, 20~<30, 30~<40, 40~<50, 50~<60 and ≥60 years group were 40.0%, 42.7%, 34.3%, 34.7%, 43.7% and 38.0%, and high risk-HPV positive rates were 40.0%, 34.9%, 29.4%, 30.3%, 38.0% and 34.2%. **Conclusion** Females in this region could be with high HPV infection rate, with dominant single genotype infection. In HPV positive cases, high risk-HPV infection might be more common, and single high risk-HPV infection might account for a large proportion. The most common HPV genotypes could be HPV16 and HPV52. HPV infection might be associated with age, and females of 50~<60 years old could be with the highest HPV infection rate.

Key words: HPV; gene subtypes; cervical cancer; Luoyang

人乳头瘤病毒(HPV)是一种细小双链环状 DNA 病毒, 可侵犯人类上皮细胞, 引起皮肤和黏膜组织良性及恶性肿瘤。HPV 感染发病率较高, 且具有高度宿主特异性。迄今为止, 已发现 100 多个 HPV 亚型, 各亚型与特定部位感染和病变有关, 其中 40 多个亚型与人类生殖道疾病有关。根据 HPV 致病力强弱, 可将其分为低危型和高危型。低危型以 HPV6、11 等为代表, 一般不导致恶性病变, 主要引起尖锐湿疣、上皮发育不良和 I 度宫颈上皮内瘤变(CIN)。HPV16、18 等则为高危型, 可引起上皮高度发育不良、II 或 III 度 CIN, 且与原位癌、浸润癌等密切相关。据报道, 在全球范围内, 因 HPV 感染诱发宫颈癌的患病率为 100%, 肛门癌为 88%, 会阴癌为 43%, 阴道癌为 70%, 阴茎癌为 50%^[1]。因此, 对宫颈组织标本进行 HPV 分型检测对宫颈癌的早期预防和诊治有重要意义。本研究分析了 1 755 例初诊女性宫颈脱落细胞 HPV DNA 检测结

果。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 6 月至 2015 年 8 月于本院妇科门诊就诊的初诊女性 1 755 例, 均有性生活史, 未接受过抗 HPV 相关药物治疗, 部分患有存在 1 种或几种宫颈疾病, 无宫颈切除术治疗史。排除在本地区居住不足 3 年者, 排除妊娠。患者年龄 17~80 岁, 平均(40.69±10.75)岁。所有受试对象了解本研究内容, 并同意参与本研究。

1.2 仪器与试剂 HPV 基因分型检测试剂盒购自亚能生物技术(深圳)有限公司, 可同时检测 23 种基因型, 包括 18 种高危型(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、83)和 5 种低危型(HPV6、11、42、43、81)。7500 型实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)扩增仪购自美国 ABI 公司。YN-H16 型恒温分子杂交仪购自亚能生物(深圳)有限

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(U1204821)。
作者简介: 王小利, 女, 检验师, 主要从事肿瘤学的研究。 △ 通讯作者, E-mail: liugang72@163.com。

公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 所有受试对象在非月经期采集宫颈上皮脱落细胞标本。由妇科医生以窥器暴露宫颈,使用专用的宫颈脱落细胞采集器,按说明书要求采集宫颈上皮脱落细胞标本。标本采集后立即送检。

1.3.2 HPV DNA 的提取 充分洗脱宫颈刷,并在管壁上挤干。将 1 mL 洗脱液加入 EP 管中,13 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,加入 100 μ L 裂解液悬浮沉淀,沸水浴加热 10 min,13 000 r/min 离心 10 min,保留上清液待用。

1.3.3 PCR 扩增及杂交检测 取出 PCR 反应管,在管盖上做好标记,低速离心数秒,加入已提取的待测 DNA 标本 5 μ L,按要求加入检测试剂,反应总体积为 25 μ L,低速离心数秒。PCR 扩增条件:50 $^{\circ}$ C 15 min,95 $^{\circ}$ C 10 min,94 $^{\circ}$ C 10 s、42 $^{\circ}$ C 90 s、72 $^{\circ}$ C 30 s 循环 10 次,94 $^{\circ}$ C 10 s、46 $^{\circ}$ C 60 s、72 $^{\circ}$ C 20 s 循环 30 次,72 $^{\circ}$ C 5 min。扩增后的反应液杂交、洗膜与显色均按说明书进行操作。每次标本检测均同时设置阴性和阳性对照。结果判读标准参照试剂说明书。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计学软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 感染率分析结果 1 755 例患者标本中,检出阳性样本 658 例,总感染率为 37.5%,高危型 HPV 感染率为 32.3%(见表 1);单一基因型感染率为 66.6%,多重基因型感染率为 33.4%(见表 2)。在阳性样本中,高危型占 86.2%,低危型占 13.8%,在高危型感染中,单一感染占 62.3%,多重感染占 37.7%。

表 1 不同年龄段妇科初诊患者 HPV 检测结果($n=1\ 755$)

年龄(岁)	$n(\%)$	HPV 检测阳性 [$n(\%)$]	高危型 HPV 检 测阳性[$n(\%)$]
<20	10(0.6)	4(40.0)	4(40.0)
20~<30	281(16.0)	120(42.7)	98(34.9)
30~<40	504(28.7)	173(34.3)	148(29.4)
40~<50	597(34.0)	207(34.7)	182(30.3)
50~<60	284(16.8)	124(43.7)	108(38.0)
≥ 60	79(4.5)	30(38.0)	27(34.2)
合计	1 755(100.0)	658(37.5)	567(32.3)

2.2 HPV 感染年龄分布特征 HPV 感染以 50~<60 岁年龄段患者检出率最高,为 43.7%,20~<30 岁其次,为 42.7%,且各年龄段患者 HPV 感染率比较差异有统计学意义($\chi^2=12.09, P<0.05$)。高危型 HPV 感染率则以小于 20 岁和 49~<60 岁年龄段患者最高,分别是 40.0%和 38.0%,但各年龄段患者高危型 HPV 感染率比较差异无统计学意义($\chi^2=8.395, P>0.05$),见表 1。

2.3 HPV 基因型分布特征 在 23 种基因型中,感染率位于前 5 位的依次是 HPV16(27.7%)、HPV52(13.4%)、HPV81(11.2%)、HPV53(10.3%)及 HPV58(9.0%),除 HPV81 外,其余 4 种均为高危型,见表 2。在高危型 HPV 中,HPV16 感染率最高,为 32.1%,见图 1。

表 2 HPV 基因型分布特征

基因型	检出例数(n)	构成比(%)
低危型		
6	53	8.1
11	28	4.3
42	50	7.6
43	21	3.2
81	74	11.2
高危型		
16	182	27.7
18	38	5.8
31	29	4.4
33	38	5.8
35	17	2.6
39	21	3.2
45	5	0.8
51	51	7.8
52	88	13.4
53	68	10.3
56	46	7.0
58	59	9.0
59	28	4.3
66	38	5.8
68	36	5.5
73	5	0.8
82	6	0.9
83	5	0.8
单一感染	438	66.6
多重感染	220	33.4

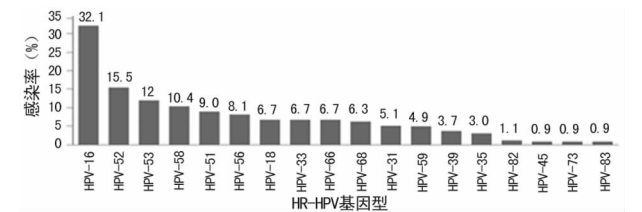


图 1 高危型 HPV 分布特征

3 讨 论

据报道,2008 年,全世界范围内约有宫颈癌患者 529 800 例,其中约 275 000 例患者死亡,且 85%的新增病例出现在发展中国家^[2-3]。国际癌症研究机构(IARC)2004 年度报告显示,HPV 感染是宫颈鳞癌和 CIN 发病的必要因素;有效阻断 HPV 持续性感染,可降低宫颈癌发病风险;高危型 HPV 检测可作为宫颈癌筛查和追踪管理的有效措施。从宫颈癌前病变,即 CIN 进展至癌变需要较长的时间。一般而言,从 HPV 感染、CIN、原位癌、早期浸润癌至浸润癌,需经历 10 年左右的时间。因此,对高危型 HPV 感染人群进行定期随访检测,早发现、早干预潜伏期感染和阻断癌变进程,可有效降低宫颈癌发病风险。

不同国家和地区具有不同的 HPV 感染率,撒哈拉沙漠以南非洲地区为 24.0%,东欧地区为 21.4%,拉丁美洲为 16.1%,亚洲东南部为 14%^[4];在同一个国家的不同地区,HPV 感染率也有所差异,例如,本研究显示洛阳感染率为

37.5%,高于北京地区的 35.1%^[6],昆明地区的33.53%^[6],西安地区的 27.84%^[7],低于浙江绍兴市的43.14%^[8],说明 HPV 感染存在一定的地域特征。本地区高危型 HPV 感染率为32.3%,高于国内高危型感染率,即 9.9%~27.5%^[9],也高于大陆地区 13 个城市的平均值,即 21.07%^[10],可能是由于本院 HPV DNA 检测并未作为宫颈癌筛查的首选指标,往往在液基薄层细胞学检查(TCT)提示“不典型鳞状上皮(ASCUS)或轻中度不典型增生”后才进行 HPV DNA 检测。由此可见,TCT 与 HPV DNA 联合检测更有利于判断 HPV 感染情况,也更有利于宫颈癌的防治。

本地区女性 HPV 感染者及高危型 HPV 感染者均以单一感染为主,说明本地区 HPV 单一感染较为常见。然而,有研究显示,宫颈癌发病风险随着 HPV 感染亚型的增多而升高^[11],因此 HPV 多重感染亦不容忽视。

已有研究表明,HPV 感染优势型别在欧美国家以 HPV16、18 为主,亚洲地区以 HPV52、58 为主^[12],非洲、南美地区以 HPV16、18、31、45、58 为主^[13];在中国,深圳地区以 HPV16、33、58 为主^[14],浙江地区以 HPV52、16、58 为主^[15]。本研究结果显示,本地区 HPV 感染优势型别为 HPV16、52、81、53、58,与邻近的山西省有所差异(山西省以 HPV58、52 为主)^[16],这可能与样本量大小及采样等因素有关,但进一步说明 HPV 感染的基因亚型也存在地域差异。因此,不同地区针对当地 HPV 感染特征制定相应的防治措施十分必要。高危型 HPV 感染分析结果显示,本地区高危型感染优势型别与国内常见优势型别具有一致性,均包括 HPV16、52、58,这为国内 HPV 疫苗研制和生产提供了一定的依据^[10]。

各年龄段患者 HPV 感染率比较差异有统计学意义($P<0.05$),与类似研究结果一致,以 50~<60 岁患者 HPV 感染率最高,为 43.7%。该年龄段患者多数为处于绝经期的女性,卵巢功能降低,雌激素分泌减少,机体免疫力下降,导致潜伏的病毒被再次激活,因此应加强该年龄段女性的宫颈疾病筛查工作,预防高危型 HPV 感染,以降低宫颈癌发病风险。20~<30 岁女性 HPV 感染率位居第二,考虑可能与性行为习惯及免疫系统等因素有关。本研究中,小于 20 岁的患者高危型 HPV 检出率高达 40.0%,可能与该年龄段女性缺乏生理卫生知识,心理尚未成熟,自身健康防护意识较弱有关。因此,应加强针对青少年的生理健康教育工作。不同地区高危型 HPV 感染率存在一定的差异,可能与经济水平,人群受教育程度、消费观念,以及相关部门的关注程度等因素有关。

大部分河南西部地区经济水平较低,人群医学知识相对薄弱,通常在出现宫颈息肉、宫颈糜烂、宫颈肌瘤等疾病症状后才就诊。本研究中较高的阳性检出率可能与上述因素有关。因此,应加强对本地区适龄女性进行 HPV 感染防治知识的普及工作,尤其加大对年轻女性的筛查力度,常规开展 HPV 分型检测,从而提高宫颈癌防治水平,并为疫苗类型的选择提供一定的依据。

参考文献

[1] De Martel C, Ferlay J, Franceschi S, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(4): 607-615.

[2] Arbyn M, Walker A, Meijer CJ. HPV-based cervical-cancer screening in China[J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(8): 1112-1113.

[3] Arbyn M, Castellsague X, De Sanjose S, et al. Worldwide burden of cervical cancer in 2008[J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(13): 2675-2686.

[4] Bruni L, Diaz M, Castellsague X, et al. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings[J]. *J Infect Dis*, 2010, 202(12): 1789-1799.

[5] Yang Y, Li XW, Zhang ZH, et al. Association of human papillomavirus infection and abnormal anal cytology among HIV-infected MSM in Beijing, China[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35983.

[6] 满宝华,汪坚,黄艳梅. 1372 例宫颈感染人乳头瘤病毒基因分型的探讨[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2014, 6(2): 110-112.

[7] 刘静,张晓艳,齐宁霞,等. 西安地区人乳头瘤病毒感染型别分析及临床意义[J]. *中外妇儿健康*, 2011, 19(4): 42-43.

[8] 余鑫煜,孙红岗,李志国,等. 女性人乳头瘤病毒感染及基因型别分析[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(12): 98-100.

[9] Li J, Huang R, Schmidt JE, et al. Epidemiological features of Human Papillomavirus(HPV) infection among women living in Mainland China[J]. *Asian Pacific J Cancer Prevent*, 2013, 14(7): 4015-4023.

[10] Wang R, Guo XL, Wisman GB, et al. Nationwide prevalence of human papillomavirus infection and viral genotype distribution in 37 cities in China[J]. *BMC Infect Dis*, 2015, 15(3): 257-260.

[11] 李霓,代敏. 中国城市妇女人乳头状瘤病毒多重感染情况及其与子宫病变的关系[J]. *中华预防医学杂志*, 2010, 44(5): 423-426.

[12] An HJ, Cho NH, Lee SY, et al. Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with human papillomavirus(HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method[J]. *Cancer*, 2003, 97(7): 1672-1680.

[13] Munoz N, Bosch FX. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(6): 518-527.

[14] Dai Y, Huang YS, Tang M, et al. Distribution and clinical significance of human papillomavirus subtypes in Shenzhen city, People's Republic of China[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2008, 18(2): 295-299.

[15] Ye J, Cheng X, Chen X, et al. Prevalence and risk profile of cervical human papillomavirus infection in Zhejiang province, southeast China: a population-based study[J]. *Virol J*, 2010, 7(1): 66-70.

[16] 王红旗,郭远瑜,汪敏,等. 6868 例妇科门诊病人 HPV 感染状况及基因型分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(5): 1294-1206.