

河南地区 22 673 例女性 HPV 感染状况及分型研究*

吴道远,刘 慧,陈广军,王 坤,王 艺,张 贺[△]

郑州大学附属肿瘤医院病理科,河南郑州 450008

摘要:目的 调查河南地区女性人乳头瘤病毒(HPV)感染情况及基因分型,了解该地区 HPV 感染的流行病学特征,为女性宫颈癌防治提供依据。方法 专用取样器采集宫颈脱落细胞,通过 PCR 和导流杂交法对郑州大学附属肿瘤医院 2015 年 4 月至 2019 年 4 月门诊及住院患者的宫颈脱落细胞标本进行 37 种 HPV 基因亚型检测。结果 在 22 673 例女性患者 HPV 筛查样本中,HPV 感染阳性者共 8 505 例,HPV 感染总阳性率为 37.51%;其中 HPV 高危型、低危型、疑似高危型感染阳性者依次为 5 117 例(60.16%)、994 例(11.69%)、804 例(9.45%),感染阳性率较高的亚型是 HPV 16、52、58。18~<25 岁与 55~<65 岁 HPV 感染阳性率较高 25~<35 岁 HPV 感染阳性率最低。不同年龄段 HPV 感染阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=93.407, P<0.05$)。结论 河南地区女性宫颈 HPV 感染主要以单一型、高危型为主,且与年龄有关。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因型; 感染; 年龄**中图分类号:**R711.32**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2020)23-3404-03

宫颈癌是目前全球女性发病率及致死率排名前三的恶性肿瘤,每年约有 52 万的新增病例及 26 万的死亡病例^[1]。调查研究显示几乎所有的宫颈癌发病都与人类乳头瘤病毒(HPV)感染密切相关^[2-3]。HPV 是一种小型的球形双链环状 DNA 病毒,能引起人体皮肤黏膜的鳞状上皮增殖。目前已发现的 HPV 基因型达 200 余种,根据致病力强弱可分为高危型、疑似高危型和低危型,而高危型(如 HPV 16 和 18)感染或双重、多重 HPV 感染使得宫颈癌的发病机制更加复杂^[4]。因此,女性宫颈组织标本的大规模 HPV 筛查对于宫颈癌的早期预防和治疗具有重要意义。本研究选取郑州大学附属肿瘤医院妇科门诊与住院女性患者的宫颈脱落细胞 22 673 例,应用 PCR 和导流杂交法对 HPV 不同基因型感染的检测结果进行分析研究,为河南地区女性宫颈癌的流行病学特征研究及防治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2015 年 4 月至 2019 年 4 月于本院门诊就诊或住院的 HPV 可疑感染者(包括体检健康女性)共计 22 673 例的临床资料,年龄 18~91 岁,平均(47.2±10.8)岁。

1.2 仪器与试剂 仪器选择 Applied Biosystem 2720 热循环 PCR 仪与 HPV 检测系统(潮州凯普生物化学有限公司,含 HPV DNA 提取试剂盒、HPV DNA 扩增试剂盒、HPV 分型检测试剂盒及 HHM-2 型医用快速杂交仪)。37 种 HPV 分型检测试剂盒的分型定性检测包括 HPV 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68 型 14 种高危型别,HPV 26、53、

70、73、82 型 5 种疑似高危型别,以及 HPV 6、11、40、42、43、44、81(CP8304)、34、54、55、57、67、61、69、71、72、83、84 型 18 种低危型别。

1.3 标本采集与处理 就诊者非月经期采样,采样前 3 d 内禁止使用阴道内药物或对阴道进行冲洗,检查前阴道禁止进行醋酸或碘液涂抹,且就诊者 24 h 内无性行为。宫颈脱落细胞的取样由医生以窥阴镜暴露宫颈,用消毒棉拭子将宫颈过多分泌物擦去,将专用宫颈刷置于宫颈口顺时针轻轻旋转 3~5 圈后取出,放入专用细胞保存液后立即送检或放置 4℃ 冰箱 3 d 内检测。

1.4 检测方法 采用 PCR 和导流杂交法进行 HPV 分型检测。具体步骤:(1)DNA 分离提取:取含有宫颈脱落细胞的细胞保存液 0.5~1.0 mL,14 000 r/min 离心 1 min 后弃上清,按凯普公司细胞裂解液(分离法)试剂盒说明书操作提取 DNA;(2)PCR 扩增:取 1 μL 抽提好的 DNA 样本作为模板进行 PCR 扩增,在每个反应管分别加入 PCR 试剂 23.25 μL 及 DNA Taq 酶 0.75 μL,混合均匀后在 PCR 仪上进行扩增(每批次检测同时设置阴性对照与阳性对照);(3)杂交过程:取 PCR 产物在 95℃ 下加热 5 min 后立即冰水浴 2 min,随后按照试剂盒说明书在杂交仪中进行导流杂交(保持杂交液温度为 45℃);(4)显色判读:按操作步骤进行显色反应后,取出杂交膜置于吸水纸上,通过肉眼观察显色的蓝紫色圆点与 HPV 探针排列图比对,从而判断阳性点为何种 HPV 类型(杂交显色质控点与 PCR 质控点均需为阳性)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件对数据

* 基金项目:河南省普通科技攻关项目(192102310374)。

[△] 通信作者,E-mail:zhanghe072@163.com。

进行统计分析,样本组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 感染阳性率及亚型分布 在 22 673 例女性患者 HPV 筛查样本中,HPV 感染阳性者共 8 505 例,HPV 感染总阳性率为 37.51%。HPV 感染阳性率较高的亚型是 HPV 16、52、58 型,依次为 13.76%、4.08%、4.02%。

2.2 HPV 感染类型分布 8 505 例 HPV 感染阳性者中,HPV 高危型、低危型、疑似高危型感染阳性者依次为 5 117 例(60.16%)、994 例(11.69%)、804 例(9.45%)。HPV 混合感染情况比较见表 1。

表 1 HPV 混合感染情况比较(%)			
感染情况	n	占总阳性数百分比	占总人数百分比
单一感染	5 853	68.82	25.81
双重感染	1 715	20.16	7.56
三重感染	565	6.64	2.49
多重感染	372	4.37	1.64

2.3 不同年龄段间 HPV 感染情况比较 各年龄段 HPV 感染阳性者依次为 18~<25 岁 114 例(44.36%)、25~<35 岁 985 例(33.53%)、35~<45 岁 2 387 例(35.20%)、45~<55 岁 3 175 例(38.00%)、55~<65 岁 1 380 例(43.62%)、65~≤91 岁 464 例(39.39%)。18~<25 岁与 55~<65 岁 HPV 感染阳性率较高,25~<35 岁 HPV 感染阳性率最低。不同年龄段 HPV 感染阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=93.407, P<0.05$)。

3 讨 论

HPV 是无包膜的小型双链环状 DNA 病毒,颗粒呈球形,直径 45~55 nm,DNA 分子长度约 7 900 bp。流行病学和分子生物学研究认为,HPV 持续感染是导致宫颈癌发生的重要因素,其中高危型 HPV 感染更易导致癌前病变,进而诱发宫颈癌^[5]。HPV 感染宿主后,可以与宿主细胞染色体整合。整合后的 DNA 发生致癌作用的基因主要是 E6、E7,大量 HPV 被持续转录成 E6/E7 mRNA 时,抑癌蛋白 p53 和 Rb 的表达将会受到显著抑制,导致细胞修复及凋亡途径失能,促使细胞癌变^[5-6]。

有研究表明,不同国家、地区之间的 HPV 感染阳性率不尽相同^[7]。世界范围内,非洲人群 HPV 感染阳性率最高^[8]。对我国而言,澳门、浙江、福建等地区女性 HPV 感染阳性率相对较高,而新疆、山西、山东等地区 HPV 感染阳性率相对较低^[9],这可能与各地区的环境气候、经济发展水平及生活习惯有一定关联。本研究结果显示,河南地区女性 HPV 感染总阳性率为 37.51%,与文献^[10-12]调查研究结果较为一致,而明显高于另一些 HPV 感染阳性率的调查统计结果^[13-14]。近年来,部分地区的 HPV 感染阳性率呈

上升趋势,HPV 的早期筛查有助于及时发现和治疗癌前病变,降低宫颈癌发病率^[15]。

年龄是 HPV 持续感染致病的主要危险因素^[16]。本研究发现,18~<25 岁与 55~<65 岁 HPV 感染阳性率较高,25~<35 岁 HPV 感染阳性率最低。这与国内外研究结果基本一致^[13,17]。年轻女性 HPV 感染阳性率最高,这或许与不适当的性行为有关,而老年女性再次出现 HPV 感染高峰,这可能与机体免疫力下降有关,研究结果提示应该对这两阶段的人群进行重点关注。从 HPV 感染亚型来看,河南地区 HPV 感染阳性率较高的亚型是 HPV 16、52、58 型,这与文献^[18-21]研究结果一致。但是除了 HPV 16 亚型在全世界范围内常见外,其余亚型的感染分布均有一定的区域性,因此调查各地区 HPV 感染的流行型别,对于指导该地区女性宫颈癌的预防筛查、疫苗研究具有重要意义。

宫颈癌的发病率及病死率逐年上升,而 HPV 持续感染是导致宫颈癌发生的重要因素。本研究调查了河南地区女性 HPV 感染的特征与分型状况,对于高危型 HPV 感染的人群建议定期随访检测,早发现、早诊断、早治疗,以降低宫颈癌发病风险。

参考文献

[1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Inter J Cancer, 2015, 136(5): 359-386.

[2] SCHIFFMAN M, WENTZENSEN N, WACHOLDER S, et al. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2011, 103(5): 368-383.

[3] BAVA S V, THULASIDASAN A K, SREEKANTH C N, et al. Cervical cancer: a comprehensive approach towards extermination[J]. Ann Med, 2016, 48(3): 149-161.

[4] VÉRONIQUE B, ROBERT B, KURT S, et al. A review of human carcinogens—part B: biological agents[J]. Lancet Oncol, 2009, 10(4): 321-322.

[5] STOLER M H, RHODES C R, WHITBECK A, et al. Human papillomavirus type 16 and 18 gene expression in cervical neoplasias[J]. Human Pathol, 1992, 23(2): 117-128.

[6] DANIELA G, PAOLO G R, ELENA C, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16INK4a-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening[J]. Am J Clin Pathol, 2016, 145(1): 35-45.

[7] DE MARTEL C, PLUMMER M, VIGNAT J, et al. World-wide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type[J]. Int J Cancer, 2017, 141(4): 664-670.

[8] LI N, FRANCESCHI S, HOWELL-JONES R, et al. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication[J]. Int J Cancer, 2011, 128(4): 927-935.

(下转第 3413 页)

- cellular address codes in development and disease[J]. Cell, 2013, 152(6): 1298-1307.
- [2] QI X, ZHANG D H, WU N, et al. ceRNA in cancer: possible functions and clinical implications[J]. J Med Genet, 2015, 52(10): 710-718.
- [3] BHAN A, SOLEIMANI M, MANDAL S S. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. Cancer Res, 2017, 77(15): 3965-3981.
- [4] MISAWA A, TAKAYAMA K I, INOUE S. Long non-coding RNAs and prostate cancer[J]. Cancer Sci, 2017, 108(11): 2107-2114.
- [5] WU J H, TANG J M, LI J, et al. Upregulation of SOX2-activated lncRNA ANRIL promotes nasopharyngeal carcinoma cell growth[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 3333-3341.
- [6] WANG R, WANG C F, QIN H M, et al. Association between polymorphisms in the promoter region of miR-17-92 cluster and systemic lupus erythematosus in a Chinese population[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(1): 4016-4020.
- [7] PANG X X, LUO S D, ZHANG T, et al. Association of interleukin-27 gene polymorphisms with susceptibility to HIV infection and disease progression[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(4): 2410-2418.
- [8] SONG Z, ZHANG X, LIN Y, et al. LINC01133 inhibits breast cancer invasion and metastasis by negatively regulating SOX4 expression through EZH2[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(11): 7554-7565.
- [9] LIU M, SHEN C, WANG C. Long noncoding RNA LINC01133 confers tumor-suppressive functions in ovarian cancer by regulating leucine-rich repeat Kinase 2 as an miR-205 sponge[J]. Am J Pathol, 2019, 189(11): 2323-2339.
- [10] YANG X Z, CHENG T T, HE Q J, et al. LINC01133 as ceRNA inhibits gastric cancer progression by sponging miR-106a-3p to regulate APC expression and the Wnt/beta-catenin pathway[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 126-141.
- [11] ZHANG J, ZHU N, CHEN X. A novel long noncoding RNA LINC01133 is upregulated in lung squamous cell cancer and predicts survival[J]. Tumour Biol, 2015, 36(10): 7465-7471.
- [12] HUANG C S, CHU J, ZHU X X, et al. The C/EBPbeta-LINC01133 axis promotes cell proliferation in pancreatic ductal adenocarcinoma through upregulation of CCNG1[J]. Cancer Lett, 2018, 421(1): 63-72.
- [13] FENG Y, QU L, WANG X, et al. LINC01133 promotes the progression of cervical cancer by sponging miR-4784 to up-regulate AHDC1[J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(12): 1453-1461.
- [14] KONG J, SUN W, LI C, et al. Long non-coding RNA LINC01133 inhibits epithelial-mesenchymal transition and metastasis in colorectal cancer by interacting with SRSF6[J]. Cancer Lett, 2016, 380(2): 476-484.
- [15] TU Z, SCHMOLLER L J, CUIFFO B G, et al. Microenvironmental regulation of long noncoding RNA LINC01133 promotes cancer stem cell-like phenotypic traits in triple-negative breast cancers[J]. Stem Cells, 2019, 37(10): 1281-1292.
- (收稿日期: 2020-02-03 修回日期: 2020-10-21)
- (上接第 3405 页)
- [9] 乌恩奇, 赵焕虎, 刘微. 中国不同地区宫颈癌中 HPV 型别分布数据横向比较分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(23): 1845-1851.
- [10] 李秀凤, 李宗明, 高同举. 人乳头瘤状病毒亚型在河南新乡的分布特征[J]. 当代医学, 2013, 19(34): 159-160.
- [11] 王小利, 常永超, 刘海花, 等. 洛阳地区女性 HPV 感染及病毒亚型分布特征研究[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(14): 1905-1907.
- [12] 张亚丽, 彭仁佳, 范毅凯, 等. 郑州地区 22 708 例女性 HPV 感染及基因亚型分布研究[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(11): 1537-1540.
- [13] 智艳芳, 李肖甫, 班振英, 等. 河南地区女性 HPV 感染及基因型分布研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2014, 21(9): 660-664.
- [14] 李瑞敏, 宋文月, 尹保娜, 等. 女性 HPV 感染及基因分型年龄分布的临床调查[J]. 医学新知杂志, 2019, 29(1): 48-50.
- [15] THEODOROS A, KIMON C, TAXIARCHIS K, et al. Primary screening for cervical cancer based on high-risk human papillomavirus (HPV) detection and HPV 16 and HPV 18 genotyping, in comparison to cytology[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119755.
- [16] 雷晓琴, 陈汶, 于露露, 等. 2016 河南新密农村地区妇女生活方式、膳食因素与高危型 HPV 持续感染的关系研究[J]. 卫生研究, 2016, 45(1): 45-50.
- [17] WINER R L, KOUTSKY L A. The epidemiology of human papillomavirus infections[J]. J Clin Virol, 2005, 32(1): 16-24.
- [18] 刘敏, 王传新, 邓小梅, 等. 应用液相基因芯片技术筛查山东地区高危人群人乳头瘤病毒基因型[J]. 中华流行病学杂志, 2007, 28(5): 487-490.
- [19] EUN HEE L, TAE HYUN U, HYUN-SOOK C, et al. Prevalence and distribution of human papillomavirus infection in Korean women as determined by restriction fragment mass polymorphism assay[J]. J Korean Med Sci, 2012, 27(9): 1091-1097.
- [20] LI H, ZHANG J, CHEN Z, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes among women in Hunan province, China[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2013, 170(1): 202-205.
- [21] 郑红云, 杨鹏, 申复进, 等. 7 746 例妇女宫颈脱落细胞 HPV 基因分型结果研究[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(24): 3391-3392.
- (收稿日期: 2020-03-04 修回日期: 2020-10-10)