

• 调查报告 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.27.022

妇科门诊妇女人乳头瘤病毒感染现状及基因亚型分布*

黄江渝¹, 唐建², 杨淑哲², 刘成桂²

(1. 成都市第三人民医院检验科, 成都 610041; 2. 成都市妇女儿童中心医院检验科, 成都 610041)

摘要:目的 了解妇科门诊妇女宫颈人乳头瘤病毒(HPV)感染现状及基因亚型分布。方法 采用 PCR 体外扩增和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术检测 HPV 感染的基因亚型。结果 共检测 5 052 份妇科门诊患者宫颈脱落细胞样本, HPV 感染总阳性率为 17.52%。各年龄组 HPV 感染差异有统计学意义($P < 0.01$), 其中 20~25 岁组的阳性率分别高于 26~30 岁组和 31~35 岁组, 差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$); 36~40 岁组的阳性率高于 26~30 岁组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。高危亚型 HPV 基因的阳性检出率(18.1%)高于低危亚型(5.5%), 差异有统计学意义($P < 0.01$)。高危亚型中以 HPV52 亚型最多, 占 15.03%, 其次是 HPV16 和 HPV58 亚型; 低危亚型以 HPV81 亚型居多, 占 7.98%。结论 妇科门诊妇女 HPV 感染阳性率较高, 且以高危亚型居多; 建议针对不同年龄群开展 HPV 基因亚型的常规检测。

关键词:人乳头瘤病毒亚型检测; PCR-反向点杂交; DNA 芯片技术; 妇科门诊

中图分类号: R711

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)27-3614-03

Human papillomavirus infection situation and its genotype distribution among gynecological outpatients*

Huang Jiangyu¹, Tang Jian², Yang Shuzhe², Liu Chengui²

(1. Department of Clinical Laboratory, Chengdu Municipal Third People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610041, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Chengdu Women and Children Central Hospital, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: Objective To understand the status quo of human papillomavirus (HPV) infection and its genotypes distribution among gynecological outpatients in Chengdu region. Methods The DNA microarray technique combined with PCR and DNA reverse hybridization technology was used to detect the genotypes of HPV infection. The data were analyzed by the SPSS 13.0 software. Results A total of 5 052 samples of cervical exfoliated cells among gynecological outpatients were detected, and the total positive rate of HPV infection was 17.52%. The differences of HPV infection among various age groups were statistically significant, especially the positive rate of HPV infection in the 20-25 years age group was higher than that in the 26-30 years age group and the 31-35 years age group ($P < 0.05$), and which in the 36-40 years age group was also higher than that in the 26-30 years age group ($P < 0.05$). The positive detection rate of high risk HPV subgenotypes was 18.1%, which was higher than 5.5% of low risk subgenotypes with statistical difference ($P < 0.01$). HPV 52 was the most frequent subgenotypes in high risk subgenotypes, accounting for 15.03%, followed by HPV 16 and HPV 58; HPV 81 was the most frequent subgenotypes in low risk subgenotypes, accounting for 7.98%. Conclusion The positive rate of HPV infection among gynecological outpatients is higher, and the majority of genotypes are high risk. It is suggested that the routine examination of HPV subgenotypes detection focused on different age groups should be recommended.

Key words: human papillomavirus; PCR reverse hybridization technology; DNA microarray technique; gynecological outpatient

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染已被公认为是宫颈癌发生的确切病因^[1]。目前已知的 HPV 有 100 余种亚型, 其中 30 多种亚型可感染人类生殖道并引起宫颈病变^[2]。HPV 各亚型的分布存在地域性差异, 其致癌性和后果也不同^[3]。根据其致病性差异, HPV 可分为低危型和高危型, 低危型引起尖锐湿疣, 高危型是诱发宫颈癌的重要病原学因素之一^[4]。通过了解 HPV 的本土化流行病学特征, 开展基因分型检测, 这对今后各地区制定本土化的宫颈癌筛查策略、研发应用 HPV 疫苗及宫颈癌的防治具有重要意义。本文旨在分析 5 052 例妇科门诊妇女的 HPV 感染现状及基因亚型分布, 为 HPV 防治策略提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 宫颈脱落细胞标本来自 2013 年 7~11 月成都市妇女儿童中心医院妇科门诊就诊的 5 052 例患者, 年龄 20~55 岁, 平均 30.67 岁, 其中以 26~30 岁者居多(占 39.8%), 并将患者按年龄分为 7 个组, 见表 1。标本采集过程按照宫颈细胞学取材的常规取样步骤和要求, 将标本放置保存液中送检验科 PCR 室检测。

1.2 方法

1.2.1 试剂与仪器 采用亚能生物技术有限公司提供的检测试剂盒及仪器, 包括 Hema 9600 梯度基因扩增仪、YN-H16 恒温杂交仪。

* 基金项目: 四川省卫生厅科研课题基金(120511)。 作者简介: 黄江渝(1961—), 大专, 主任技师, 2010~2013 年曾在成都市妇女儿童中心医院工作, 主要从事临床免疫、分子生物学技术方面的研究。

1.2.2 原理与方法 采用 PCR 体外扩增和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术。利用 HPV 的基因特点设计特异引物,再将扩增产物与固定在膜条上的 23 种 HPV 亚型(18 种高危亚型:16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、83 和 5 种低危亚型:6、11、42、43、81)探针进行杂交,依据杂交信号有无来判断是否存在 HPV 基因型。检测步骤完全按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计数资料采用 χ^2 检验;若计数资料的最小理论频数小于 1,则采用 Fisher 确切概率法。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 感染现状 宫颈脱落细胞 HPV 亚型阳性共 885 例,阳性率为 17.52%。各年龄组 HPV 感染差异有统计学意义($P < 0.01$)。20~25 岁组的阳性率分别高于 26~30 岁组和 31~35 岁组,差异均有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$)。36~40 岁组的阳性率高于 26~30 岁组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。其余各组的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 不同年龄组患者感染 HPV 情况(n)

年龄组别(岁)	妇科门诊患者		检测样本	
	患者例数	构成比(%)	阳性	阳性率(%)
20~25	896	17.7	191	21.3
26~30	2 012	39.8	310	15.4 ^a
31~35	936	18.5	144	15.4 ^b
36~40	533	10.6	111	20.8 ^c
41~45	388	7.7	74	19.1
46~50	211	4.2	38	18.0
51~55	76	1.5	17	22.4
合计	5 052	100.0	885	17.5

^a: $P < 0.01$, 20~25 岁组与 26~30 岁组比较; ^b: $P < 0.05$, 20~25 岁组与 31~35 岁组比较; ^c: $P < 0.05$, 26~30 岁组与 36~40 岁组比较。

2.2 HPV 基因亚型分布 本研究 HPV 基因亚型阳性率(23.57%, 1 191/5 052) 高于患者感染 HPV 的阳性率(17.52%, 885/5 052), HPV 分型检测包括 17 种高危亚型(915 例, 76.83%) 和 5 种低危亚型(276 例, 23.17%), 且高危亚型的阳性检出率(18.1%) 高于低危亚型(5.5%), 差异有统计学意义($P < 0.01$)。17 种高危亚型中以 HPV52 亚型最多, 占 15.03%, 其次是 HPV16 和 HPV58 亚型。5 种低危亚型中以 HPV81 亚型居多, 占 7.98%。见表 2。

表 2 HPV 基因亚型分布

基因亚型	阳性例数(n)	构成比(%)
高危亚型		
HPV52	179	15.03
HPV16	147	12.34
HPV58	126	10.58
HPV33	62	5.21

续表 2 HPV 基因亚型分布(n=1 191)

基因亚型	阳性例数	构成比(%)
HPV18	54	4.53
HPV56	48	4.03
HPV68	48	4.03
HPV53	47	3.95
HPV59	47	3.95
HPV51	39	3.27
HPV31	35	2.94
HPV66	33	2.77
HPV35	21	1.76
HPV39	11	0.92
HPV45	11	0.92
HPV73	4	0.34
HPV83	3	0.25
低危亚型		
HPV81	95	7.98
HPV43	73	6.13
HPV42	40	3.36
HPV6	38	3.19
HPV11	30	2.52
合计	1191	100.00

3 讨 论

本文对 5 052 例妇科门诊宫颈脱落细胞 HPV 感染基因型的检测结果显示, 感染人群总 HPV 亚型阳性率为 17.52% (885/5 052), 较相关文献报道较低^[5], 这可能与本研究的检测方法或地区差异性有关^[6]。本研究 HPV 基因亚型阳性率(23.56%) 高于患者感染 HPV 的阳性率(17.52%)。提示不同患者可能存在着多重感染。HPV 基因亚型中, 高危亚型占 76.83% (915/1 191); 低危亚型占 23.17% (276/1 191), 结果与国内的多篇文献报道基本一致^[7]。

HPV 感染具有年龄差异。本研究发现, 51~55 岁组女性样本的 HPV 阳性率最高(占 22.4%), 原因可能与该年龄妇女的免疫功能降低有关, 也不排除样本量偏少导致阳性率相对增高, 但与其他各年龄组相比, 差异并无统计学意义($P > 0.05$)。20~25 岁组 HPV 感染阳性率分别高于 26~30 岁和 31~35 岁组, 差异有统计意义($P < 0.01, P < 0.05$), 原因可能与该年龄段性行为活跃提前等因素密切相关。提示对该年龄段妇女应加强关于宫颈癌的预防和检测的健康教育。

HPV 感染基因亚型包括 17 种高危亚型和 5 种低危亚型, 且高危亚型的阳性检出率显著高于低危亚型, 这与国内宁波市镇海区的流行病学调查结果基本一致^[8]。高危亚型中 HPV52、16、58 居多, 这与重庆地区^[9]、浙江丽水地区^[10] 及合肥地区^[11] 的调查研究基本一致, 仅在感染顺序上有略有差别。提示 HPV 感染虽有一定的地区分布差异, 但各地区 HPV 高危亚型的总体分布趋于一致。

综上所述, 本研究通过对 5 052 例妇科门诊妇女的 HPV

感染现状及基因亚型分布分析,为 HPV 基因亚型疫苗研制与临床应用提供了参考依据。建议将宫颈 HPV 基因亚型检测作为妇科门诊患者常规检测项目,可对宫颈癌或尖锐湿疣等疾病的早期防治起到早诊、早治的目的。

参考文献:

- [1] Psyrri A, Dimaio D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer[J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2008, 5(1):24-31.
- [2] Dell G, Gaston K. Human papillomaviruses and their role in cervical cancer[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2001, 58(12/13):1923-1942.
- [3] 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(1):63-73.
- [4] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide[J]. *J Pathol*, 1999, 189(1):12-19.
- [5] 孙丽君, 娄雪玲, 王东红, 等. 贵州省部分地区妇女宫颈人乳头瘤病毒感染现状调查及分析[J]. *中国综合临床*,

2009, 25(9):923-927.

- [6] 黄江渝, 杨淑哲, 唐健, 等. HC2 HPV 检测在宫颈病变筛查中的临床应用[J]. *实用妇产科杂志* 2013, 29(8):617-619.
- [7] 姚军, 李曼, 钟萍, 等. HPV 亚型感染的地域分布与宫颈病变的关系[J]. *实用妇产科杂志*, 2011, 27(1):34-38.
- [8] 姚琦, 胡燕琴, 俞凤, 等. 宁波市镇海区成年女性人乳头瘤病毒感染状况及流行病学调查[J]. *放射免疫学杂志*, 2013, 26(5):661-662.
- [9] 杨君, 周德平, 陈凤娟, 等. 重庆地区 2497 例妇科就诊患者 HPV 感染状况分析[J]. *重庆医科大学学报*, 2012, 37(4):347-349.
- [10] 蒋卫平, 丁茂文, 张晓梅, 等. 浙江省丽水地区妇科患者 21 种人乳头瘤病毒感染状况分析[J]. *浙江医学杂志*, 2009, 31(9):1323-1324.
- [11] 齐丽敏, 凌斌, 冯定庆, 等. 合肥地区 506 例子宫颈人乳头瘤病毒感染情况分析[J]. *中国临床保健杂志*, 2010, 13(2):141-144.

(收稿日期:2014-03-21 修回日期:2014-06-28)

(上接第 3601 页)

呈下降趋势,研究中观察到等渗盐水组肝细胞线粒体改变以肿胀为主,同时有固缩存在。综合分析认为线粒体的通透性增强,其细胞氧化功能受损,能量合成障碍,其损伤进一步导致细胞受损,严重可引起细胞坏死,导致生理功能的降低或丧失。参照本研究电镜结果,结合测算线粒体的有关参数结果分析, Rg1、三七总甙、秋水仙碱均能在一定程度上减轻 Ccl₄ 诱导的肝纤维化大鼠肝细胞脂肪空泡变性程度,减轻线粒体的肿胀及固缩,并对胶原纤维的沉积有改善作用,其中又以 Rg1 高、中剂量组为最明显,其次为三七总甙,再次为秋水仙碱。

综上所述,三七总甙是疗效确切、安全的抗肝纤维化药物,其主要作用是由单体成分人参皂苷 Rg1 发挥的, Rg1 的抗肝纤维化作用在一定范围内与剂量成正相关。本研究结果可能为今后提取三七总甙抗肝纤维化成分、临床药物研发提供理论依据。

参考文献:

- [1] 郑光植, 杨崇仁. 三七生物学及其应用[M]. 北京:科学出版社, 1994:85.
- [2] Chen J, Jin HY, Dai B, et al. Effect of inorganic fertilizer on quality of Panax ginseng[J]. *Zhong Yao Cai*, 2012, 35(6):847-850.
- [3] 马岚青, 梁兵, 柳波, 等. 人参皂苷 Rg1 抗肝纤维化的实验研究[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2007, 15(3):165-

168.

- [4] 郑富盛. 细胞形态立体计量学[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1990:26-39.
- [5] Mann DA, Smart DE. Transcriptional regulation of hepatic stellate cell activation[J]. *Gut*, 2002, 50(6):891-896.
- [6] Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, et al. Reversibility of hepatic fibrosis: from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery[J]. *Keio J Med*, 2011, 50(2):58-65.
- [7] Geng JW, Peng W, Huang YG, et al. Ginsenoside-Rg1 from Panax notoginseng prevents hepatic fibrosis induced by thioacetamide in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 634(1/3):162-169.
- [8] Cho JS, Moon YM, Um JY, et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rg1 on extracellular matrix production via extracellular signal-regulated protein kinase/activator protein 1 pathway in nasal polyp-derived fibroblasts[J]. *Exp Biol Med*, 2012, 237(6):663-669.
- [9] 马岚青, 董向前, 梁兵, 等. 人参皂苷 Rg1 对纤维化肝脏肝细胞超微结构及其表达基质金属蛋白酶组织抑制剂-1 的影响[J]. *中华肝脏病杂志*, 2010, 18(4):304-306.

(收稿日期:2014-03-03 修回日期:2014-06-18)

2014 年本刊投稿须知

尊敬的广大读者,本刊一律接受网上投稿,不再接受纸质和电子邮箱投稿!请您直接登陆网站 <http://cqyx.journalserv.com/> 进行注册投稿以及稿件查询。咨询电话:023-63604477。

来稿须将审稿费 50 元通过邮局或支付宝汇至本刊编辑部,编辑部若未收到审稿费,稿件将不予处理。

感谢您对本刊工作的支持!