

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.36.020

四川省东北地区女性宫颈病变与感染人乳头瘤病毒基因型的关系

邓健康¹,陈梦岚²,郭晓兰^{1△}

(1. 川北医学院附属医院检验科,四川南充 637000;2. 川北医学院检验系 2008 级,四川南充 637000)

摘要:目的 了解四川省东北地区女性人乳头瘤病毒(HPV)不同基因型感染、多重感染及其与宫颈病变的关系。方法 采用 PCR 和基于反向膜杂交的基因芯片技术对 213 例女性 HPV 感染者进行 HPV 分型检测,同时检查其宫颈病变程度。结果 213 例 HPV 感染宫颈病变者按病理结果分为慢性炎症(110 例)、宫颈上皮内瘤变(CIN) I (21 例)、CIN II (26 例)、CIN III (28 例)和宫颈癌(28 例)5 组;高危型 HPV 感染以 HPV16、58、33、18 为主,低危型 HPV 感染以 HPV11、6 为主;宫颈慢性炎症、CIN I、CIN II、CIN III、宫颈癌各组中分别以 HPV11/6/16、HPV16/33、HPV16/6、HPV16/58、HPV16/18 感染最常见。单纯高危型 HPV 感染组与高低危型混合 HPV 感染组在不同宫颈病变程度的构成比差异有统计学意义($\chi^2=41.01, P<0.01$), HPV 单一和混合基因型感染对感染者的宫颈病变程度无影响($\chi^2=5.74, P>0.05$)。结论 四川省东北地区女性 HPV16、58、33、18 是主要的高危感染型别, HPV16 与病变程度明显相关;多重 HPV 感染并不会促进宫颈病变的进展。

关键词:人乳头瘤病毒;宫颈病变;基因型

中图分类号:R737

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)36-4914-03

Relationship between cervical lesions and human papillomavirus genotype infection among the women in Northeast region of Sichuan province

Deng Jiankang¹, Chen Menglan², Guo Xiaolan^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan, 637000, China; 2. Trainees of Grade 2008, Department of Laboratory Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan, 637000, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between different genotype infection and multiple infection of human papillomavirus(HPV) with cervical lesions among the women in Northeast region of Sichuan province. **Methods** The cervical exfoliated cells in 213 women with HPV infection were performed the HPV genotype detection by the gene chip technique and the cervical lesion degree was also detected. **Results** 213 cases of cervical lesion with positive HPV infection were divided into five groups according to pathological examination results: chronic inflammation(110 cases), cervical intraepithelial neoplasia(CIN) I (21 cases), CIN II (26 cases), CIN III (28 cases) and cervical cancer(28 cases). The high risk HPV infection was dominated by the genotype HPV16, 58, 33, 18 and the low risk HPV infection was dominated by the HPV genotype 11, 6. The HPV genotype HPV11/6/16, HPV16/33, HPV16/6, HPV16/58 and HPV16/18 infection were most common in the chronic cervical inflammation, CIN I, CIN II, CIN III and cervical cancer groups. The constituent ratio of different cervical lesions had statistical difference between the simple high risk HPV infection group and the low risk HPV infection group ($\chi^2=41.01, P<0.01$). The simple genotypes and the mixed genotype HPV infection had no influence on the cervical lesion degree($\chi^2=5.74, P>0.05$). **Conclusion** HPV 16, 58, 33, 18 are the main high risk HPV genotypes among women in the northeast region of Sichuan province, HPV 16 is significantly related with the cervical lesion degree; multiple HPV genotype infection does not promote the progress of cervical lesion.

Key words: human papilloma virus; cervical lesion; genotype

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)具有嗜黏膜和皮肤上皮性,易引发感染部位的良、恶性病变,与肿瘤发生、发展密切相关。目前已被鉴定出的 HPV 亚型有 200 余种^[1],依据不同型别 HPV 致病力大小或致癌危险性高低不同可将 HPV 分为低危型和高危型两大类。目前已知 HPV6、11、42、43、44 等低危型 HPV 常引起外生殖器湿疣等良性病变,包括宫颈上皮内瘤变 I (cervical intraepithelial neoplasia I, CIN I),一般不诱发癌变;而 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58 等高危型 HPV 则与 CIN II、CIN III 及宫颈癌的发生密切相关^[2]。由于 CIN 和宫颈癌 HPV 感染型别和分布在国家、地理及民族等方面有一定差异^[3],因此分析四川省东北地区女性 HPV 不同基因型别感染状况及其与宫颈病变的关系,可以为该地区宫颈癌的防治提供可靠的数据和参考。

1 资料与方法**1.1 一般资料** 2009 年 5 月至 2012 年 12 月川北医学院附属

医院因生殖系统炎症就诊的门诊和住院女性患者 213 例,所有患者经宫颈活组织检查明确有宫颈病变并同时 HPV DNA 分型检测阳性(相同患者不重复计入),年龄 19~60 岁,平均年龄(39.96±9.36)岁。患者均来自南充、遂宁、广安、达州等四川省东北地区。

1.2 样本采集 使用窥阴器暴露宫颈,用棉拭子拭除阴道或宫颈口过多分泌物,再用 HPV 专用采样刷采集宫颈脱落细胞(若为疣状新生物组织,需用组织剪剪碎),标本采集后隔离保存于宫颈脱落细胞收集器中送分子生物室进行 HPV 分型检测;在电子阴道镜图像异常区进行多点活组织检查,用宫颈活检钳对可疑病变部位行 3、6、9、12 点多点活检,必要时行宫颈管搔刮术,标本用中性甲醛液固定后送病理科进行病理学诊断。

1.3 仪器与试剂 PCR 扩增仪(Bio-Rad 公司)、FYY-3 型分子杂交仪(江苏兴化市分析仪器厂)、HPV-DNA 分型基因芯片

检测试剂盒(由深圳亚能生物技术有限公司提供,可同时检测 23 种 HPV 亚型,包括 HPV16/18/31/33/35/39/45/51/52/53/56/58/59/66/68/73/83 和 MM4 等 18 种高危型和 HPV6/11/42/43/44 等 5 种低危型)。

1.4 试验方法 基因分型检测主要包括样本前处理、HPV DNA 提取、DNA 扩增、扩增产物杂交和显色、结果判定等步骤,各步骤均应严格按仪器和试剂盒说明书进行操作,每次实验都设置阴、阳性对照。组织病理学诊断常规石蜡包埋、切片、巴氏染色、镜检分析。

1.5 统计学处理 受检者资料由专人输入 Excel 表格中建立数据库,剔除二次复查的数据后再进行数据的统计分析。计数资料以百分率表示,组间率的比较采用列联表(R×C) χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 阳性患者年龄与宫颈病变的关系 病理学确诊 HPV 阳性宫颈病变者 213 例,≤30 岁 32 例,31~40 岁 87 例,41~50 岁 70 例,>50 岁 24 例。宫颈慢性炎症 110 例,CIN I 21 例,CIN II 26 例,CIN III 28 例,宫颈癌 28 例。随着年龄的增长,宫颈慢性炎症患者在宫颈病变中的比例逐渐下降,宫颈癌在宫颈病变中的比例则明显上升,见表 1。

2.2 不同程度宫颈病变组 HPV 基因型的分布 由于存在复合感染,213 例 HPV 感染宫颈病变标本共检出 321 例次 HPV 基因型,有 HPV16/18/31/33/35/45/51/52/53/56/58/59/66/68/73 和 MM4 等 16 种高危型 HPV 和 HPV6/11/42/43 等 4 种低危型 HPV 被检出。HPV16 (40. 38%)、HPV58

(17. 37%)、HPV33(9. 86%)、HPV18(7. 51%)是主要的高危 HPV 感染型别,HPV11(25. 32%)、HPV6(19. 25%)是主要的低危 HPV 感染型别。宫颈慢性炎症、CIN I、CIN II、CIN III 和宫颈癌各组中分别以 HPV11/6/16/58/33, HPV16/33/58/66/6/11, HPV16/6/58/11, HPV16/58, HPV16/18 感染最常见。在检出的 20 种 HPV 基因型中,HPV16 与病变程度明显相关,其检出率随宫颈病变级别的增加而逐渐上升,见表 2。

2.3 HPV 感染类型与宫颈病变程度的关系 单纯高危型 HPV 感染组、单纯低危型 HPV 感染组、高低危型混合 HPV 感染组 3 组间在不同宫颈病变程度的构成比差异有统计学意义($\chi^2 = 41.01, P < 0.01$)。见表 3。

表 1 213 例 HPV 阳性患者宫颈病变程度与患者年龄的关系[n(%)]

宫颈病变	≤30 岁	31~40 岁	41~50 岁	>50 岁
宫颈慢性炎症	25(78.13)	42(48.28)	34(48.57)	9(37.50)
CIN I	3(9.38)	10(11.49)	6(8.57)	2(8.33)
CIN II	2(6.25)	15(17.24)	8(11.43)	1(4.17)
CIN III	2(6.25)	14(16.09)	11(15.71)	1(4.17)
宫颈癌	0(0.00)	6(6.90)	11(15.71)	11(45.83)

2.4 单一和混合 HPV 感染与宫颈病变程度的关系 感染单一基因型 HPV 和感染 2 种或 2 种以上基因型 HPV(混合 HPV 感染)对感染者的宫颈病变程度并无影响($\chi^2 = 5.74, P > 0.05$),见表 4。

表 2 不同程度宫颈病变组 HPV 基因型的分布[n(%)]

HPV 基因	宫颈慢性炎症(n=110)	CIN I (n=21)	CIN II (n=26)	CIN III (n=28)	宫颈癌(n=28)	合计(n=213)
16	22(20.00)	10(47.62)	15(57.69)	19(67.86)	20(71.43)	86(40.38)
18	9(8.18)	1(4.76)	1(3.85)	1(3.57)	4(14.29)	16(7.51)
31	5(4.55)	2(9.52)	0(0.00)	2(7.14)	0(0.00)	9(4.23)
33	13(11.82)	4(19.05)	1(3.85)	2(7.14)	1(3.57)	21(9.86)
35	2(1.82)	0(0.00)	2(7.69)	1(3.57)	1(3.57)	6(2.82)
45	3(2.73)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	3(1.41)
51	1(0.91)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(0.47)
52	7(6.36)	2(9.52)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	9(4.23)
53	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(3.57)	0(0.00)	1(0.47)
56	2(1.82)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	2(0.94)
58	20(17.86)	3(14.29)	5(19.23)	7(25.00)	2(7.14)	37(17.37)
59	2(1.82)	0(0.00)	1(3.85)	0(0.00)	0(0.00)	3(1.41)
66	1(0.91)	3(14.29)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	4(1.88)
68	4(3.64)	1(4.76)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	5(2.35)
73	2(1.82)	0(0.00)	0(0.00)	1(3.57)	0(0.00)	3(1.41)
MM4	3(2.73)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	3(1.41)
6	25(22.73)	3(14.29)	9(34.62)	2(7.14)	2(7.14)	41(19.25)
11	43(39.09)	3(14.29)	4(15.39)	2(7.14)	2(7.14)	54(25.32)
42	4(3.64)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	4(1.88)
43	10(9.09)	0(0.00)	1(3.85)	1(3.57)	1(3.57)	13(6.10)

表 3 HPV 感染类型与宫颈病变程度间的关系[n(%)]

HPV 感染类型	宫颈慢性炎症	CIN I	CIN II	CIN III	宫颈癌
单纯高危型 HPV 感染组	41(35.65)	14(12.17)	13(11.30)	24(20.87)	23(20.00)
单纯低危型 HPV 感染组	39(78.00)	5(10.00)	3(6.00)	1(2.00)	2(4.00)
高低危型混合 HPV 感染组	30(62.50)	2(4.17)	10(20.83)	3(6.25)	3(6.25)

表 4 单一和混合 HPV 基因型感染与宫颈病变程度间的关系[n(%)]

HPV 感染类别	宫颈慢性炎症	CIN I	CIN II	CIN III	宫颈癌
单一基因型 HPV 感染	65(48.15)	13(9.63)	15(11.11)	19(14.07)	23(17.04)
混合 HPV 基因型感染	45(57.69)	8(10.26)	11(14.10)	9(11.54)	5(6.41)

3 讨论

资料显示年龄是宫颈病变和 HPV 感染的相关因素^[4],对四川省东北地区 213 例 HPV 阳性患者进行的宫颈病理检查结果也表明患者年龄与宫颈病变程度相关:随着年龄的增长,宫颈病变中宫颈慢性炎症患者的比例逐渐下降,宫颈癌的比例则明显上升。这是因为宫颈癌的发生、发展是一个逐步的病理改变过程,包含了从 CIN 到早期浸润癌直至浸润癌的从量变到质变的连续发展过程,而高危型 HPV 的持续感染又是 CIN 和宫颈癌发生的危险信号^[5],从感染 HPV 到宫颈癌的发生平均时间约为 10~20 年^[6-7],因此,HPV 基因分型对宫颈癌的早期诊治具有积极的意义。

HPV 型别分布存在地域差异,不同地区、不同人群流行的 HPV 型别不尽相同^[8],四川省东北地区宫颈病变女性 HPV16、58、33、18 是主要的高危感染型别,HPV11、6 是主要的低危感染型别。因为不同 HPV 基因型具有不同的致癌潜力^[9],所以 HPV 基因型在各种不同程度宫颈病变中的分布各异。检测发现四川省东北地区女性随着宫颈病变程度的增加,高危型 HPV 检出率有所增加,低危型 HPV 检出率逐渐下降:在宫颈慢性炎症患者组中 HPV11、6、16、58 和 33 检出最多,在 CIN I 组中 HPV16、33、58、66、6、11 为常见类型,CIN II 组中 HPV16、6、58、11 最多见,CIN III 组中 HPV16、58 最常见,宫颈癌组中 HPV16、18 检出率最高。在所检出的 20 种 HPV 基因型中,HPV16 不但在 CIN 组和宫颈癌组中检出率最高,而且其检出率还随宫颈病变程度的增加而逐渐上升,说明 HPV16 是导致该地区女性宫颈病变恶化的最重要的高危型 HPV。因此,分析 HPV 的主要流行型别,不仅可以对在宫颈癌筛查中发现 HPV16、58、33、18 型阳性的宫颈病变患者进行密切观察和干预以防止其进展为宫颈癌,而且还有助于设计检测这些流行 HPV 型别的试剂盒和有效预防这些流行 HPV 型别感染的疫苗。

从表 3 的结果来看,单纯高危型 HPV 感染者 CIN III、宫颈癌的构成比显著高于高低危型混合 HPV 的感染者,而宫颈慢性炎症构成比则显著低于高低危型混合 HPV 的感染者($\chi^2 = 41.01, P < 0.01$),提示 CIN III、宫颈癌的发生与单纯高危型 HPV 感染关系密切。虽然单纯低危型 HPV 感染组与高低危型混合 HPV 感染组间 CIN III、宫颈癌等的构成比差异无统计学意义($\chi^2 = 7.39, P > 0.05$),但由于本研究试验对象数量不多,是否由于抽样误差导致还是二者之间的确不存在某种关系,尚需进一步大样本的研究和观察。

高危型 HPV 的持续感染是宫颈癌和癌前病变发生、发展的必要条件^[10-11],尤其是同一高危型 HPV 的持续感染风险更高^[9]。虽然 Gargiulo 等^[12]认为大部分宫颈内皮损伤主要由一种 HPV 亚型感染引起,共感染的其他 HPV 亚型通常处于潜伏状态而对宫颈内皮损伤不大,然而同时感染多种 HPV 亚型依然会增加宫颈细胞异形增生和妇女患宫颈癌的风险。但 HPV 亚型多重感染与单一感染相比是否更易增加和促进宫颈病变的发生、发展目前存在争议^[13-14],本文研究结果与周武等^[10]一样,发现四川省东北地区女性以单一 HPV 基因型感染为主,高危型和低危型 HPV 的单一或多种感染并不会改变患者的宫颈病变程度。

目前国际上尚无公认的抗 HPV 感染药物,因此预防 HPV 感染至关重要。HPV 基因型检测已成为宫颈癌的常用有效筛检方法,通过该筛查,可以发现宫颈癌早期病变患者或高危人群,这有利于宫颈癌的预防和早期治疗,对降低宫颈癌的发病率和病死率也有着非常重要的意义。

参考文献:

- Castellsaguè X, Bosch FX, Muñoz N. Environmental cofactors in HPV carcinogenesis[J]. *Virus Res*, 2002, 89(2):191-199.
- 李慧引,肖长义. 人乳头瘤病毒与生殖系统肿瘤[J]. *肿瘤学杂志*, 2010, 16(11):864-868.
- Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective[J]. *J Nail Cancer Inst*, 1995, 87(11):796-802.
- Beby-Defaux A, Bourgoin A, Ragot S, et al. Human papillomavirus infection of the cervix uteri in women attending a Health Examination Center of the French social security [J]. *J Med Virol*, 2004, 73(2):262-268.
- Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, et al. Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100(7):513-517.
- Yang L, Parkin DM, Li LD, et al. Estimation and projection of the national profile of cancer mortality in China: 1991-2005[J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(11):2157-2166.
- 夏吉荣,杨双双,祝佳丽,等. 重庆地区妇女人乳头瘤病毒感染调查分析[J]. *重庆医学*, 2012, 41(9):892-894.
- 何进才,李瑞,周丹,等. 人乳头瘤病毒基因分型及其与子宫颈细胞学异常相关性研究[J]. *重庆医学*, 2011, 40(33):3331-3334.
- 龚正,王凤. HPV 基因分型检测在宫颈病变诊治中的应用进展[J]. *重庆医学*, 2012, 41(34):3661-3663.
- 周武,陈占国,陶志华,等. 不同 HPV 亚型的多重感染和年龄因素与宫颈病变的关系[J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(12):2632-2634.
- 代红莹,张晓静. 重庆永川地区人乳头瘤病毒感染亚型、年龄分布及多重感染影响的研究[J]. *重庆医学*, 2013, 42(6):619-621.
- Gargiulo F, De Francesco MA, Schreiber C, et al. Prevalence and distribution of single and multiple HPV infections in cytologically abnormal cervical samples from Italian women[J]. *Virus Research*, 2007, 125(2):176-182.
- 姚军,李曼,钟萍,等. HPV 多重感染与宫颈病变的相关性研究[J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2010, 39(5):705-707.
- 何君梅,尹格平. 21 种 HPV 亚型检测在宫颈病变诊断及预测中的价值[J]. *山东医药*, 2010, 50(15):35-36.