

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.01.002

维吾尔族和汉族妇女人群 HPV 感染类型和宫颈上皮细胞 DNA 倍体的相关性研究^{*}

冯阳春,章 涤,黄艳春[△]

(新疆医科大学附属肿瘤医院检验科,乌鲁木齐 830011)

[摘要] **目的** 探讨维吾尔族和汉族妇女人群不同人乳头状瘤病毒(HPV)感染类型对宫颈上皮细胞 DNA 倍体的影响。**方法** 收集该院妇科门诊 2012 年 7 月至 2014 年 6 月初次就诊的妇女 348 例,其中维吾尔族 181 例,汉族 167 例。利用薄层液基细胞学标本进行 HPV 分型,以及流式细胞术 DNA 倍体分析[以 DNA 指数(DI)和 S 期细胞峰百分比(SPF)表示]。按 HPV 分型检测结果分为阴性组、非高危型感染组、单一高危型感染组和混合高危型感染组。**结果** 汉族单一高危型感染组和维吾尔族单一高危型感染组之间的 DNA 倍体分析比较,DI 值和 SPF 值差异有统计学意义($P=0.033$ 和 $P<0.01$)。汉族混合高危型感染组与维吾尔族混合高危型感染组之间的 DNA 倍体分析比较,DI 值和 SPF 均值差异有统计学意义($P=0.031$ 和 $P<0.01$)。在维吾尔族妇女人群中,单一高危型感染和混合高危型感染出现 DNA 异倍体的可能分别是 HPV 感染阴性者的 19.783 倍和 59.231 倍。在汉族妇女人群中,单一高危型感染和混合高危型感染出现 DNA 异倍体的可能分别是 HPV 感染阴性者的 11.190 和 22.125 倍。**结论** 单一高危型感染和混合高危型感染对维吾尔族和汉族妇女宫颈病变产生程度不同的影响,有必要对不同民族间的高危型 HPV 感染情况和宫颈病变的相关性进行分别研究。

[关键词] 宫颈上皮细胞;乳头状瘤病毒感染;倍体分析;DNA

[中图分类号] R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)01-0005-03

The effects of human papilloma infection status on the DNA ploidy of cervical epithelial cells in Uygur and Han women^{*}

Feng Yangchun, Zhang Di, Huang Yanchun[△]

(Department of Clinical Laboratory, Tumor Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of human papilloma(HPV) infection status on the DNA ploidy of cervical epithelial cells in Uygur and Han women. **Methods** Totally 348 women collected who initially received treatment in Tumor Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University from July 2012 to June 2014, including 181 cases of Uygur and 167 cases of Han women. HPV genotyping was dased on cytology specimens from thin layer of liquid, and DNA ploidy analyze [DNA index(DI) and S phase cells ratio(SPF)] was conducted by using flow cytometry. All the patients were divided into negative infection group, non high-risk infection group, single high-risk HPV infection group and mixed high-risk HPV infection group according to HPV gene type. **Results** There were statistically significance between Uygur and Han women of DI and SPF in the single high-risk HPV infection group($P=0.033$, $P<0.01$), it also present the same trend in mixed high-risk HPV infection group($P=0.031$, $P<0.01$). It was 19.783 times and 59.231 times to appear DNA aneuploid in single high-risk HPV infection and mixed high-risk HPV infection compared to the HPV negative infection group in Uygur women. It was 11.190 times and 22.125 times in Han women. **Conclusion** Single high-risk type HPV infection and mixed high-risk HPV infection had different impact on cervical lesions between Han and Uygur women. It was necessary to respectively study the correlation between cervical lesions and HPV infection for each ethnic groups.

[Key words] cervical epithelial cells; papillomavirus infections; ploidy analysis; DNA

宫颈癌(cervical cancer)是指发生在子宫阴道部及宫颈管的恶性肿瘤。在全球范围内,每年约有 20 多万女性死于宫颈癌。新疆地区是宫颈癌高发区^[1-3],尤其是当地维吾尔族妇女,其宫颈癌患病率 459/10 万~590/10 万,病死率 15.78/10 万^[4]。目前研究认为,宫颈癌是一种感染性疾病,从宫颈癌前病变发展到宫颈癌,是一个较长时间连续发展的过程,大约是 10 年。宫颈脱落上皮细胞 DNA 倍体分析有助于了解人乳头状瘤病毒(HPV)感染后宫颈细胞的改变情况和 HPV 的治疗预后评估^[5-7]。本研究分析了本院就诊的维吾尔族和汉族妇女

不同 HPV 感染类型对宫颈脱落细胞 DNA 倍体的影响,有助于了解不同 HPV 感染类型对不同民族妇女宫颈细胞病变的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 自 2012 年 7 月至 2014 年 6 月,对本院妇科门诊初次就诊妇女人群的相关资料进行研究。收集初次就诊妇女的薄层液基细胞学检查标本共 379 例,其中 21 例因标本量少、标本被污染而排除,10 例其他民族的标本也被排除。最终纳入研究的标本共 348 例,其中汉族 167 例,维吾尔族 181

^{*} **基金项目:**新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2015211C133)。**作者简介:**冯阳春(1987—),硕士,技师,主要从事 HPV 感染和宫颈病变的相关性研究。[△] **通讯作者,**E-mail:huangyanchun0619@sohu.com。

例,中位年龄 46 岁。按 HPV 分型检测结果将两个民族的病例分为阴性组、非高危型感染组、单一高危型感染组、混合高危型感染组(感染亚型中包括至少 1 种高危型 HPV)。

1.2 方法

1.2.1 薄层液基细胞学标本采集 临床医生采集薄层液基细胞学标本,具体操作:窥阴器暴露宫颈,采样器置于宫颈口,将刷子平行插入子宫颈内,刷毛到达子宫颈管内并完全接触到外子宫颈,然后将采样器轻柔旋转 5~10 圈。取出采样器,将其放入专用细胞保存液中,上下涮洗 10 次左右后,快速转动采样器进一步将宫颈脱落上皮细胞样本漂洗下来。

1.2.2 主要试剂和仪器 HPV 分型检测试剂盒(潮州凯普生物化学有限公司);DNA 倍体分析试剂盒及配套分析软件(Beckman coulter);医用核酸分子杂交仪 HB-2012A(潮州凯普生物化学有限公司);FC500 型流式细胞仪(Beckman coulter)。

1.2.3 实验方法 (1)宫颈上皮细胞流式细胞术 DNA 倍体分析:按照流式细胞术 DNA 倍体分析的标本处理原则制备宫颈脱落细胞的单个细胞悬液,并按照 DNA 倍体分析试剂盒的说明对单个细胞悬液进行 PI 染色。流式细胞仪进行上机检测后,通过 DNA 倍体分析软件对结果进行分析,得到每一标本的 DNA 指数(DI)和 S 期细胞峰百分比(SPF)。其中 DNA 倍体结果中以 DI=1.10 为阈值;若 DI>1.10 为 DNA 倍体分析阳性,即出现异倍体;若 DI<1.10 为 DNA 倍体分析阴性。(2)HPV 分型检测:HPV 分型检测按照凯普试剂盒的操作步骤进行,包括病毒 DNA 的提取,DNA 的 PCR 扩增及分子导流杂交等步骤,最后通过对杂交膜进行染色,根据显色部位的不同确定不同的 HPV 分型。该方法可以检测出 21 种不同 HPV 基因型,包括 6、11、16、18、31、33、35、39、42、43、44、45、51、52、53、56、58、59、66、68 和 CP8304 型;其中 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 和 68 型为高危型。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计学处理。计数资料以率表示,采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,首先采用 K-S 进行正态性检验,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 t 检验(方差不齐采用 t' 检验),以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 维吾尔族和汉族人群 HPV 感染情况 维吾尔族和汉族妇女人群 HPV 感染类型,见表 1。

表 1 维吾尔族和汉族人群不同 HPV 感染类型[<i>n</i> (%)]					
民族	<i>n</i>	阴性组	非高危型 感染组	单一高危型 感染组	混合高危型 感染组
维吾尔族	181	72(39.78)	38(20.99)	36(19.89)	35(19.34)
汉族	167	61(36.53)	44(26.35)	40(23.95)	21(12.57)
χ^2		0.389	1.382	0.840	2.942
<i>P</i>		0.533	0.240	0.359	0.086

2.2 不同类型 HPV 感染和 DNA 倍体改变间的关系 宫颈脱落细胞的流式细胞术 DNA 倍体分析结果见图 1~2,对维吾尔族和汉族不同 HPV 感染组间 DNA 倍体分析结果进行统计分析,结果见表 2~3。

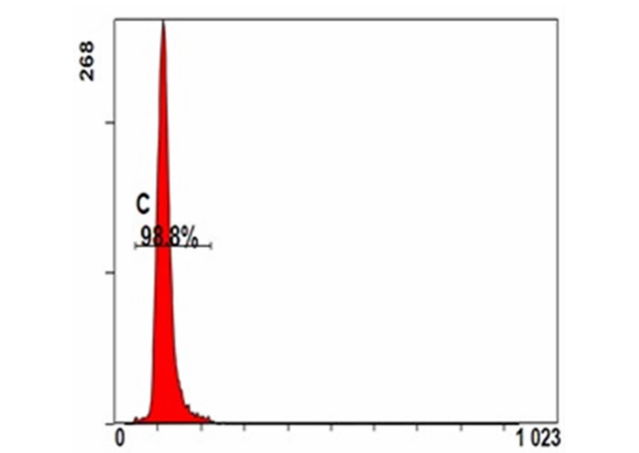


图 1 宫颈上皮细胞正常 DNA 倍体

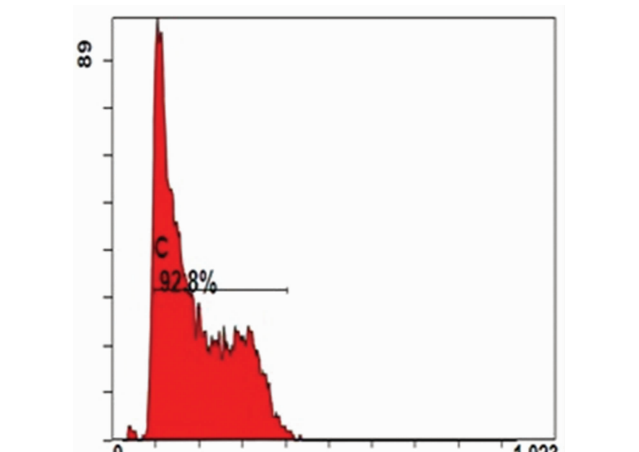


图 2 宫颈上皮细胞异常 DNA 倍体

表 2 维吾尔族和汉族人群不同 HPV 感染类型 DNA 倍体分析 DI 值比较($\bar{x} \pm s$)				
民族	阴性组	非高危型感染组	单一高危型感染组	混合高危型感染组
维吾尔族	1.002±0.036	1.012±0.168	1.135±0.363	1.385±0.308
汉族	1.001±0.047	1.015±0.174	1.095±0.272	1.187±0.295
t	1.023	1.552	3.017	6.011
P	0.871	0.327	0.033	<0.01

表 3 维吾尔族和汉族人群不同 HPV 感染类型 DNA 倍体分析 SPF 值比较($\bar{x} \pm s$)				
民族	阴性组	非高危型感染组	单一高危型感染组	混合高危型感染组
维吾尔族	4.115±0.208	4.906±0.859	7.884±2.385	14.226±4.014
汉族	4.032±0.185	4.842±0.793	6.572±2.089	11.324±3.446
t	1.323	1.752	3.019	8.012
P	0.772	0.307	0.031	<0.01

2.3 HPV 感染和 DNA 异倍体之间的关系 两民族妇女人群中 DNA 倍体分析阳性率和 HPV 感染之间相关性见表 4。结果显示,维吾尔族和汉族的非高危型感染组与阴性组比较,

表 4 维吾尔族和汉族人群不同 HPV 感染类型 DNA 倍体分析阳性率比较

HPV 感染分组	维吾尔族 DNA 倍体分析					汉族 DNA 倍体分析				
	阳性	阴性	阳性率(%)	OR	95% CI	阳性	阴性	阳性率(%)	OR	95% CI
阴性	2	70	2.78	—	—	2	59	3.39	—	—
非高危型感染组	5	33	13.16	5.303	0.977~28.775	5	39	11.36	3.782	0.699~20.476
单一高危型感染组	13	23	36.11	19.783	4.151~94.278	11	29	27.50	11.190	2.326~53.830
混合高危型感染组	22	13	62.86	59.231	12.398~282.964	9	12	42.86	22.125	4.236~115.564

—:此项无数据。

OR 值分别为 5.303 和 3.782,均与阴性组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。维吾尔族和汉族的单一高危型感染组与阴性组比较,OR 值分别为 19.783 和 11.190,均与阴性组之间差异有统计学意义($P<0.05$)。维吾尔族和汉族的混合高危型感染组与阴性组比较,OR 值分别为 59.231 和 22.125,均与阴性组之间差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨 论

本研究显示,维吾尔族和汉族妇女人群 HPV 感染类型差异无统计学意义($P>0.05$),为进一步比较分析不同民族感染 HPV 后对 DNA 倍体的影响奠定了可比性的基础。流式细胞术 DNA 倍体分析可以用 DI 和 SPF 来反映标本中细胞周期的情况。DI 值和 SPF 值越高,表明细胞的增生越活跃^[8-10],高危型 HPV 病毒负荷量和上皮细胞的 DNA 倍体改变呈正相关^[11]。对于维吾尔族和汉族两个人群,无论是 DI 值还是 SPF 值,在单一高危型感染组和混合高危型感染组,两个族别之间差异有统计学意义($P<0.05$)。说明在同样的 HPV 感染情况下,维吾尔族妇女人群宫颈脱落细胞病变的程度较深。目前未见对同样 HPV 感染情况下,汉族和维吾尔族妇女宫颈病变的差异进行的报道。

有研究显示,高危型 HPV 感染可能与 DNA 异倍体的出现呈正相关^[12-13]。在本研究中,两个民族妇女人群单一高危型感染组和混合高危型感染组的 DNA 异倍体检出率均远高于阴性组和非高危型感染组。并且在两个民族妇女人群中,非高危型感染均不是 DNA 异倍体出现的危险因素,而单一高危型感染和混合高危型感染则是 DNA 异倍体出现的危险因素。单一高危型感染组中发生宫颈上皮细胞 DNA 倍体阳性的可能性是阴性组的 19.783(维吾尔族)和 11.190(汉族)倍。混合高危型感染组发生宫颈上皮细胞 DNA 倍体阳性的可能性是阴性组的 59.231(维吾尔族)和 22.125(汉族)倍。同时,对于同一民族,从单一高危型感染到混合高危型感染,其 OR 值在不断增大,提示随着 HPV 感染病情的加深,DNA 异倍体的检出率越高。

研究显示,汉族妇女人群的单一高危型感染组和混合高危型感染组出现 DNA 异倍体的风险均低于维吾尔族妇女人群。Lee 等^[14]报道的单一型 HPV 感染使宫颈癌的患病风险增加 19.9 倍,而 HPV 多重感染可使该风险增加到 31.8 倍,而本研究结果与 Lee 等^[14]的结果存在一定的差异。汉族妇女人群的风险在单一高危型感染组和混合高危型感染组均低于现有的报道,而对于维吾尔族妇女人群,单一高危型感染组的风险和现有的报道差别不大,而混合高危型感染导致 DNA 异倍体的风险明显高于现有的报道。因此,可以看出,单一高危型感染组和混合高危型感染组对不同民族的宫颈病变产生程度不同的影响,因此在以后的研究中,有必要对不同民族间的高危型

HPV 感染情况和宫颈病变的相关性进行分别研究。

在两个民族妇女人群中,混合高危型 HPV 感染导致的宫颈脱落细胞病变程度远高于单一高危型 HPV 感染,可能与持续性感染和一过性感染有关。以前的研究证明,持续性的高危型 HPV 感染是宫颈上皮发生病变的高危因素,而大多数的 HPV 感染有可能是一过性的感染,2~3 年时间存在感染自然消退的现象。推测可能是由于混合高危型 HPV 感染人群中,持续性感染的比例较高,而一过性感染的比例较低,导致了混合高危型 HPV 感染的致病风险更高。而两个民族间同类型 HPV 感染的致病风险同样存在差异,可能也是这种持续性感染和一过性感染导致的。有关维吾尔族和汉族妇女人群中 HPV 一过性感染的流行病学研究未见报道。以往关于 HPV 感染的流行病学调查绝大部分都是横断面的调查研究,按照时间轴进行纵向调查研究的报道很少。在以后关于不同民族妇女 HPV 感染的流行病学研究中,可以跟踪调查某一特定人群,得到不同民族中 HPV 一过性感染和持续性感染的基本情况。

总之,本研究分析了维吾尔族和汉族两个民族不同性质的 HPV 感染和上皮细胞 DNA 倍体改变之间的关系,发现混合高危型感染和单一高危型感染均是宫颈细胞发生病变的危险因素。与单一高危型感染比较,混合高危型感染更可以促进宫颈病变的发生进展。同时发现,相同的 HPV 感染类型在两个民族中导致宫颈病变的风险存在差异,因此,在临床进行 HPV 感染导致宫颈病变的风险评估中,有必要对维吾尔族和汉族妇女人群进行分别研究。

参考文献

[1] 陈文彬,黄霞,黄玫.8 505 例已婚妇女子宫颈癌普查分析[J].新疆医科大学学报,2001,24(3):252.

[2] 唐努尔·阿不力米提,穆也沙尔·吐尔干,古扎丽努尔·阿不力孜,等.新疆宫颈癌高发区维吾尔族人群人乳头瘤病毒亚型的研究[J].中华流行病学杂志,2011,32(5):477-480.

[3] 叶静,林晨,负江力,等.维吾尔族妇女子宫颈癌和 CIN 中 miRNA-101 的表达及其与 HPV 的关系[J].重庆医学,2012,41(27):2810-2811.

[4] Francesco M,Marco S,Mauro S,et al. A controlled trial of natural cycle versus microdoes gonadotropin-releasing hormone analog flare cycles in poor responders undergoing in vitro fertilization[J].Fertil steril,2004(81):1542-1547.

[5] Fe YC,Yang J,Liu CM,et al. DNA ploidy of cervical epithelial cells should be a cure criterion of high-risk HPV infection in Xinjiang Uygur women[J].Onco (下转第 10 页)

证。吕礼应等^[6]和王宏等^[7]两个研究小组分别对常规化学和血细胞分析参考区间行业标准进行了大样本数据的验证,并分别得到了该标准在验证实验室所在地区具有临床适用性的结论。新疆为多民族聚居区域,维族为新疆人口最多的少数民族。因此,参考区间行业标准在维族人群的适用性验证对于新参考区间能否在新疆地区得到广泛推广非常重要。

本研究是基于乌鲁木齐地区汉族和维族健康体检个体的数据,利用体检软件回顾性筛选出健康参考个体。尽管每个参考个体不一定完全符合参考区间建立的标准^[8],但调查人群均为表面健康个体,具有一定的代表性。本研究统计的汉族和维族 WBC、男性 RBC、女性 RBC、男性 Hb、女性 Hb,以及汉族 PLT 的参考区间上、下限与参考区间行业标准的上、下限基本一致,并且在不同民族之间无明显差异。而维族 PLT 的参考区间上、下限明显较 PLT 参考区间行业标准的上、下限高,同时也高于本研究统计的汉族 PLT 参考区间上、下限,提示可能与种族遗传因素有关。但维族参考个体 PLT 检测结果在 PLT 参考区间行业标准之外的比例并未超出 10.00%,符合验证的判断标准。

本研究表明,WBC、RBC、PLT 和 Hb 测定结果在同一民族的男女性别之间差异均有统计学意义($P<0.05$),与其他报道一致^[7,9-10]。第 3 版《全国临床检验操作规程》^[11]提供了 WBC、RBC、PLT 和 Hb 不同性别的参考区间,但本次发布的行业标准仅对 RBC 和 Hb 的参考区间进行了性别分组,对 WBC 和 PLT 未分组。推测可能的原因为 WBC 和 PLT 男女性别之间的差异并不影响对疾病的判断。无论汉族还是维族,本次调查的女性 PLT 参考区间下限和上限均高于男性,与其他报道一致^[7,10,12]。

总之,WBC、RBC、PLT 和 Hb 参考区间行业标准适用于本实验室检测的汉族和维族人群。

参考文献

[1] 尚红,陈文祥,潘柏申,等. 建立基于中国人群的临床常用检验项目参考区间[J]. 中国卫生标准管理,2013,4(1): 17-21.

(上接第 7 页)

Targets and Therapy,2015,8(4):827-833.

[6] 焦红丽,冶亚平,张佳立,等. DNA 倍体分析联合 HR-HPV 检测在宫颈癌筛查中的作用[J]. 中国妇幼保健,2010,25(24):3399-3401.

[7] 张敦兰,阳艳,周利敏. DNA 倍体分析在 ASCUS 分流诊断中的意义[J]. 中华妇产科杂志,2012,47(4):259-262.

[8] Singh M, Mehrotra S, Kalra N, et al. Correlation of DNA ploidy with progression of cervical cancer[J]. J Cancer Epidemiol,2008,2008:1-7.

[9] 金建云,王海波. 结直肠癌 DNA 倍体,S 期比值,增殖指数分析及临床意义[J]. 中国医师进修杂志,2012,35(2): 25-27.

[10] 李建业,朱淑霞,宋时莉. 流式细胞术检测宫颈细胞 DNA 倍体在宫颈病变中的应用[J]. 中国妇幼保健,2008,23

[2] 中华人民共和国卫生部. WS/T405-2012 中华人民共和国卫生行业标准:血细胞分析参考区间[S]. 北京:中国标准出版社,2012.

[3] 尚红,陈文祥,潘柏申,等. 中国成人常用肝功能和电解质及血细胞分析项目参考区间[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(5):393-394.

[4] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2015.

[5] 中华人民共和国卫生部. WS/T404. 1-2012 中华人民共和国卫生行业标准:临床常用生化检验项目参考区间[S]. 北京:中国标准出版社,2012.

[6] 吕礼应,杨九华,刘万利,等. 常规化学参考区间行业标准(WS/T404. 1-2012、WS/T404. 2-2012)的临床适用性验证[J]. 中华检验医学杂志,2014,37(12):951-953.

[7] 王宏,叶琴,陆琳,等. WS/T405-2012 血细胞分析参考区间[J]. 中华检验医学杂志,2015,38(1):62-63.

[8] 中华人民共和国卫生部. WS/T402-2012 中华人民共和国卫生行业标准:临床实验室检验项目参考区间的制定[S]. 北京:中国标准出版社,2012.

[9] Lawrie D, Coetzee LM, Becker P, et al. Local reference ranges for full blood count and CD4 lymphocyte count testing[J]. S Afr Med J 2009,99(4):243-248.

[10] Biino G, Santimone L, Minelli C, et al. Age- and sex-related variations in platelet count in Italy: a proposal of reference ranges based on 40987 subjects' data[J]. PLoS ONE, 2013,8(1):e54289.

[11] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006.

[12] Bain BJ. Ethnic and sex differences in the total and differential white cell count and platelet count[J]. J Clin Pathol,1996,49:664-666.

(收稿日期:2015-08-10 修回日期:2015-09-13)

(1):85-87.

[11] 冯阳春,张园,黄艳春. 高危型人类乳头状瘤病毒负电荷对宫颈上皮细胞 DNA 倍体的影响[J]. 中国病原生物学杂志,2012,7(1):5-7.

[12] 李晓红,董卫红,黄在菊,等. 子宫颈癌前病变组织 DNA 倍体分析与人乳头状瘤病毒亚型检测[J]. 中华妇产科杂志,2006,41(3):205-206.

[13] 余小琴,江蓓蕾,方勇. DNA 倍体分析联合高危型 HPV 检测预测宫颈上皮内瘤变[J]. 中华妇产科杂志,2013,48(6):459-461.

[14] Lee SA, Kang D, Seo SS, et al. Multiple HPV infection cervical cancer screened by HPV DNA chip[J]. Cancer Letters,2003,198(2):187-192.

(收稿日期:2015-08-12 修回日期:2015-09-15)