

安岳地区女性高危型 HPV 基因分型结果分析

莫宗平, 刘 巧, 蒋佳利

(安岳县人民医院检验科, 四川 安岳 642350)

摘要:目的 分析安岳地区女性高危型人乳头瘤病毒的感染以及各亚型的分布情况,为本地区宫颈癌防治及流行病学研究提供依据。方法 收集 2016 年 1 月~2017 年 12 月安岳地区自愿进行 15 种高危型 HPV 检测的女性宫颈脱落细胞标本 2078 例,应用实时荧光定量 PCR 进行包括 16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68 在内的 15 种 HR-HPV 检测,分析 HR-HPV 在人群中的总体和不同年龄段感染情况以及各亚型的分布特点。结果 2078 例女性宫颈脱落细胞标本总阳性检出率为 22.81%,其中单一感染占 17.37%,混合感染占 5.44%;在各年龄组中<20 岁组与>60 岁年龄组 HR-HPV 感染率最高,差异具有统计学意义 ($P<0.05$);15 种高危型中检出前五位的依次为:52 型、16 型、31 型、53 型、58 型。结论 本地区女性人群的高危型 HPV 检出率较高,对本地区相关人群进行高危型 HPV 筛查非常必要。

关键词:人乳头瘤病毒;基因分型;高危型

中图分类号:R737.77

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2018.18.031

文章编号:1006-1959(2018)18-0101-03

Analysis of the Results of High-risk HPV Genotyping in Women in Anyue Area

MO Zong-ping, LIU Qiao, JIANG Jia-li

(Department of Clinical Laboratory, Anyue County People's Hospital, Anyue 642350, Sichuan, China)

Abstract: Objective To analyze the infection and distribution of various subtypes of high-risk human papillomavirus in women in Anyue area, and to provide evidence for prevention and epidemiological studies of cervical cancer in this area. Methods A total of 2078 specimens of cervical exfoliated cells from 15 high-risk HPV patients in the Anyang area from January 2016 to December 2017 were collected and analyzed by real-time fluorescent quantitative PCR 15 HR-HPV tests including 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, analyzing the overall and HR-HPV in the population infection at different ages and distribution characteristics of each subtype. Results The total positive rate of cervical cancer cells exfoliated in 2078 cases was 22.81%, of which single infection accounted for 17.37%, mixed infection accounted for 5.44%; HR-HPV infection rate in <20 years old group and >60 years old age group in all age groups highest, the difference was statistically significant ($P<0.05$); the top five of the 15 high-risk types were: 52, 16, 31, 53 and 58. Conclusion The high-risk HPV detection rate of female population in this region is high, which is necessary for high-risk HPV screening in relevant populations in this region.

Key words: Human papillomavirus; Genotyping; High risk type

人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 是一种嗜人体皮肤和粘膜组织细胞的 DNA 病毒,可广泛感染人类皮肤及生殖道、呼吸道上皮组织,根据其致病性危害程度分为高危型和低危型。高危型人乳头瘤病毒 (high risk human papillomavirus, HR-HPV) 持续感染是宫颈上皮内瘤变和宫颈癌发生的主要原因。美国癌症学会 (ACS)、美国阴道镜和宫颈病理学会 (ASCCP) 及美国临床病理学会 (ASCP) 联合发布的子宫颈癌筛查和预防实践指南,中明确将 HPV 检测列入宫颈癌的筛查中,HPV 检测已成为宫颈癌筛查的有效方式。不同地区 HPV 感染率及型别分布存在差异,因此明确本地区的 HPV 感染情况对本地区的宫颈癌防治及流行病学调查具有重要的指导意义。本文就安岳地区的 HR-HPV 感染情况及亚型分布进行调查,现报道如下。

作者简介:莫宗平(1982.6-),女,四川资阳人,硕士研究生,副主任检验技师,科室副主任,研究方向:α-地中海贫血的基因诊断

1 材料与方法

1.1 研究对象 2016 年 1 月~2017 年 12 月安岳县人民医院门诊妇科就诊的女性患者 2078 例,年龄 16~91 岁,平均年龄(41.74 ± 10.65)岁。由妇产科医生使用一次性宫颈细胞采样器采集宫颈脱落细胞送检。

1.2 仪器与试剂 高危型 HPV 基因分型采用湖南圣湘的高危型人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂盒,试剂组成主要包括:核酸释放剂、高危人乳头瘤病毒-酶混合液、人乳头瘤病毒 16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68 型、β-球蛋白 PCR 反应液,人乳头瘤病毒阴性对照、人乳头瘤病毒阳性对照;PCR 检测仪为上海宏石 SLAN-96S 实时荧光定量 PCR 仪。

1.3 检测方法

1.3.1 HPV DNA 释放及 PCR 反应体系的配制 ① HPV DNA 释放:吸取混匀后的宫颈脱落细胞混合液 1~1.5 ml 灭菌离心管中,瞬时离心后吸取 50 μl 至

另一 1.5 ml 灭菌离心管,加入 50 μ l 核酸释放剂,充分混匀后作为待测样本备用,阴阳性对照分别取 50 μ l 与 50 μ l 核酸释放剂混匀待用。②PCR 反应体系的配制:取 8 种(每种内含 2 种 HR-HPV 亚型)PCR 反应液 $n \times 38 \mu$ l 分别与 8 份 $n \times 2 \mu$ l 酶混合液(n =待测样本数+质控品 2 个)充分混匀成 PCR-混合液,瞬时离心后备用。分别取处理好的样本、阴阳性对照各 10 μ l 加入 8 连管的 8 个反应管中间隔 10 min 以上,然后 8 个反应管内分别加入 40 μ l 上述已配制好的 8 种 PCR-混合液,盖上管盖。

1.3.2 PCR 扩增 将 PCR 反应管放入扩增仪样品槽内,按对应顺序设置阴阳性对照及样本,按下述参数进行 PCR 扩增:50 $^{\circ}$ C/2 min,94 $^{\circ}$ C/5 min,(94 $^{\circ}$ C/15 s,57 $^{\circ}$ C/30 s)45 个循环,25 $^{\circ}$ C/10 s。

1.3.3 检测结果判断 检测结果需同时满足:阴性对照通道 Ct 无显示;阳性对照 Ct 值 24~30 值;见内对照(β -球蛋白)阳性扩增信号($Ct < 40$),保证采集到足量的宫颈上皮细胞、排除 PCR 抑制物以及评价核酸提取的质量)方能判断检测结果有效。

1.4 统计学方法 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计数资料以(%)表示,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 HPV 感染率及亚型分布情况 2078 例标本中高危型 HPV 检出率为 22.81%(同一患者多个亚型混合感染计数一次),其中单一感染者 361 例(17.37%),混合感染者 113 例(5.44%)。

2.2 15 种高危型 HPV 各亚型检出情况 各亚型检测率排名前五的依次为:52 型、16 型、31 型、53 型、58 型,各亚型的检出率(同一患者多个亚型感染,分别计入相应的亚型中),见表 1。

2.3 不同年龄组中高危型 HPV 检出情况 对 2078 例患者按年龄分成 6 个年龄组,各年龄组的阳性检出率,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中 ≤ 20 岁组中检出率最高,占该年龄段的 45.00%,其次为 ≥ 60 岁组,检测率占该年龄段的 33.87%,见表 2。

3 讨论

人乳头瘤病毒感染已被公认为是引起女性宫颈上皮内瘤变以及宫颈癌的主要原因,而同一亚型高危型人乳头瘤病毒(high risk human papillomavirus, HR-HPV)持续感染是宫颈上皮内瘤变和宫颈癌发生的主要原因,在我国正常宫颈、CIN I、CIN II/III、宫颈鳞癌、宫颈腺癌的 HPV 感染率分别为 14.37%、

表 1 15 种高危型 HPV 各亚型检出情况(n,%)

型别	检出数	检出率	阳性占比
52 型	140	6.74	20.35
16 型	109	5.25	15.84
31 型	66	3.18	9.59
53 型	60	2.89	8.72
58 型	56	2.69	8.14
68 型	48	2.31	6.98
51 型	42	2.02	6.10
56 型	38	1.83	5.52
18 型	33	1.59	4.80
33 型	30	1.44	4.36
39 型	20	0.96	2.91
66 型	15	0.72	2.18
35 型	14	0.67	2.03
59 型	9	0.43	1.31
45 型	8	0.38	1.16
合计	688	33.11	100.00

表 2 不同年龄组的高危型 HPV 检出情况(n,%)

年龄组	n	检出率
≤ 20 岁	20	45.00
21~30 岁	325	23.38
31~40 岁	541	22.92
41~50 岁	793	19.42
51~60 岁	271	25.46
≥ 60 岁	128	33.87
合计	2078	22.81

注: $\chi^2=20.34, P=0.001$

72.72%、83.02%、94.17%和 79.17%^[1],因此进行 HR-HPV 基因分型对女性宫颈癌的筛查和防治尤为重要。综合国内不同地区的文献报道,不同地区的 HR-HPV 感染率以及感染的亚型存在差异^[2-6],因此对本地区的 HR-HPV 感染情况进行调查就显得非常必要。通过对本地区的 2078 例样本进行回顾分析,本地区的 HR-HPV 感染率为 22.81%,感染率略低于重庆地区 25.7%^[7],高于两广地区的 14.56%,高于无锡地区^[8]的 13.44%,这表明安岳地区的 HR-HPV 感染率较高,对本地区女性进行 HR-HPV 筛查非常重要。

Lee SA^[9]等研究发现,单一型 HR-HPV 感染使宫颈癌的患病风险增加 19.9 倍,而多种 HR-HPV 混合感染使其风险增加 31.8 倍。胥莎莎^[10]等研究发现多病毒联合感染患者病毒自然清除时间明显延长,感染的分型越多,清除需要的时间越长,这也正说明了多病毒感染者的宫颈癌患病风险要高于单一型。通过本研究发现安岳地区的 HR-HPV 感染率单

一型占 17.37%,混合感染占 5.44%;以单一型感染为主,与其他地区研究一致。

通过国内数据^[1]研究表明,我国 HR-HPV 检测率较高的为 16、18、52、58 型。本研究通过对本地区的 HR-HPV 各亚型感染情况进行统计分析发现:检出率排名前五位的依次为 52 型、16 型、31 型、53 型、58 型,占总检出率的 62.65%。本地区的 HR-HPV 检出主要基因型与四川^[2]的 16、52、58、33、18 型以及重庆地区主要基因型 16、52、58、18 基本一致,但在检出率排序以及个别分型上存在差异,这提示本地区的 HR-HPV 感染型别分布与其他地区存在差异,通过本研究为本地区的宫颈癌防治提供了流行病学依据。

本研究结果显示,在不同年龄段的 HR-HPV 阳性检出率存在差异,在<20 岁和>60 岁组检出率最高,分别占该年龄组的 45.00%和 33.87%。这与张满娥^[3]等研究<20 岁和>60 岁组检出率最高,钱丽丽^[4]等的>54 岁和 17~24 岁年龄组人群感染率最高报道较一致,在年龄的两端出现 HPV 高感染率究其原因可能为:①本研究中<20 岁年龄组样本较少,存在抽样误差;②该年轻患者性生活活跃,处于宫颈鳞柱上皮转化期,生殖道系统相对免疫不成熟,宫颈鳞状上皮细胞对致癌物质较敏感,因而易受 HPV 感染;在>60 岁年龄段 HPV 感染率较高可能与随着年龄的增加该年龄段人群免疫力相对低下,机体对 HPV 的清除能力降低有关。

综上所述,本研究对本地区的 HR-HPV 感染率、感染型别以及各年龄段的检出情况做了统计分析,为本地区的宫颈癌防治提供了可靠的数据。

参考文献:

- [1] 范洁琳.HPV 感染与宫颈病变关系及相关危险因素研究[D].中南大学,2014.
- [2] 马秋林,郭义红,刘彦慧.东莞地区妇女人乳头状瘤病毒感染情况的分析[J].当代医学,2011,17(33):15-16.
- [3] 梁凌云,杜辉,王纯,等.深圳人群人乳头瘤病毒感染亚型分布与宫颈上皮内瘤变现况横断面调查[J].北京大学学报(医学版),2013,45(1):114-118.
- [4] 岑尧,张翠英,张雅丽,等.中国女性人乳头瘤病毒感染状况及高危型别分布的 Meta 分析[J].癌症进展,2013,11(1):75-81.
- [5] 陈红舟,查瑶,周吉航,等.浙江省舟山医院 997 例就诊的女性宫颈炎患者人乳头瘤病毒感染状况及其基因型分布[J].疾病监测,2014,29(9):709-712.
- [6] 陈静娜,陈丽丹,张卫云,等.女性高危型人乳头瘤病毒感染 2501 例调查[J].南方医科大学学报,2015,35(10):1487-1491.
- [7] Tang Y, Lan Z, Yang S, et al. Epidemiology and genotype distribution of human papillomavirus (HPV) in Southwest China: a cross-sectional five years study in non-vaccinated women[J]. Virology Journal, 2017, 14(1):84.
- [8] 陈鸣华,印永祥,张玉娟,等.11231 例女性宫颈 HPV 基因分型的回顾分析[J].中国妇幼保健,2014,29(34):5570-5573.
- [9] Lee SA, Kang D, Seo SS, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA chip [J]. Cancer Lett, 2003, 198(2):187-192.
- [10] 胥莎莎,何鑫,刘英俏,等.高危型人乳头瘤病毒感染患者病毒清除及持续感染的随访性研究[J].首都医科大学学报, 2015, 36(2):212-218.
- [11] Lo KW, Wong YF, Chan MK, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a multicenter study in China[J]. Int J Cancer, 2002, 100(3):327-331.
- [12] Kemin LI, Yin R, Wang D, et al. Human papillomavirus subtypes distribution among 2309 cervical cancer patients in West China[J]. Oncotarget, 2017, 8(17):28502-28509.
- [13] 张满娥,黄文蓉,张洪彬.1456 例女性 HPV 基因分型结果的回顾分析[J].分子诊断与治疗杂志,2013(1):32-35.
- [14] 钱丽丽,张宇,崔大伟,等.浙江地区妇女人乳头瘤病毒感染型别及年龄分布现状[J].中国微生态学杂志.2016,28(4):392-395.

收稿日期:2018-6-13;修回日期:2018-6-23

编辑/李桦