

人乳头瘤病毒基因型在宫颈细胞病变中的分布

陈志新,陈建森

摘要:目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)感染在宫颈病变中的分布及其与宫颈病变之间的关系。**方法** 用刷拭子法对1591例门诊就诊妇女采集宫颈细胞,用PCR-膜斑点杂交法进行HPV分型,薄层液基细胞学检查(TCT)观察宫颈细胞病理变化。**结果** 在338例TCT检出宫颈病变的女性中,HPV和HR-HPV感染率分别高达68.64%和63.02%,HPV和HR-HPV感染率均随着宫颈病变级别递增而升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。除HPV51外,其它HR-HPV基因型和HPV CP8304在不同宫颈疾病组中具有极显著差异($P<0.01$)。年龄 $\leqslant 40$ 岁妇女HR-HPV和LR-HPV感染的机率显著高于年龄 >40 岁妇女($P<0.05$);年龄 >40 岁妇女HPV感染罹患宫颈相关疾病的机会显著高于年龄 $\leqslant 40$ 岁妇女($P<0.01$)。**结论** HR-HPV与宫颈病变关系密切,适龄妇女作HPV筛查对预防宫颈癌具有重要意义。

关键词:人乳头瘤病毒;薄层液基细胞检查;宫颈细胞病变;宫颈癌

中图分类号:R446.9

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2013)01-0039-04

Prevalence of human papillomavirus genotype in cervical lesion

CHEN Zhi-Xin, CHEN Jian-Sen

(Fujian Medical University Affiliated Union Hospital, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT: The human papillomavirus (HPV) is a causative agent in the spectrum of cervical lesions. In this study, we explored the prevalence of HPV genotypes and the relationship between HPV infection and cervical pathology. Cervical cells were collected from 1 591 outpatient women with cervical lesion. HPV was genotyped by PCR, membrane-based hybridization, and the pathological changes of cervical cells were observed by Thinprep cytologic test. Our resulted showed that the total HPV infection rate was 38.90% and the high-risk HPV genotype (HR-HPV) was 29.47%. Among 338 patients suffered from cervical intraepithelial neoplasia, HPV and HR-HPV infection rate were 68.64% and 63.02%, respectively. The prevalence of HPV infection was significantly higher among women with high grades squamous intraepithelial lesion (HSIL) than those with low grades squamous intraepithelial lesion (LSIL) ($P<0.01$). Furthermore, the prevalence of HR-HPV and LR-HPV were significantly higher among women below 40 years old than those above 40 years old ($P<0.01$). But the risk of suffering from cervical intraepithelial neoplasia among women above 40 years old was significantly higher than that in women below 40 years old ($P<0.01$). We concluded that HPV genotyping could help to predict the high risk of cervical cancer, which will be benefited for early diagnosis and therapy.

KEY WORDS: human papillomavirus; thinprep cytology test; cervical intraepithelial neoplasia; cervical cancer

宫颈癌目前仍是妇科最常见的恶性肿瘤之一,定期进行宫颈癌筛查,及早发现和治疗是降低宫颈癌发病率、减少死亡率的重要手段。业已证实人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)持续感染是宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)和宫颈癌的主要病因,随着HPV感染与宫颈癌病因关系的明确,HPV-DNA及其基因分型检测越来越受到重视^[1]。HPV检测联合细胞学检查应用于宫颈癌及癌前病变的筛查,为有效地预防

宫颈癌的重要方法之一^[2-3]。本研究采用PCR-膜斑点杂交法对1 591例女性子宫颈脱落细胞标本进行HPV-DNA分型检测和液基薄层细胞学(thinprep cytology test, TCT)检测,旨在探讨HPV感染状况、型别分布及其与子宫颈细胞学异常和年龄的关系,并评价PCR-膜斑点杂交法检测HPV对宫颈病变的临床诊断性能,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2011年1月至2012年6月在福建医科大学附属协和医院门诊接受宫颈细胞涂片检

查者 2020 例中选取 1 591 例, 年龄 20~74 岁, 平均年龄 38.1 岁, 全部入院对象均无妊娠、子宫切除及子宫颈手术史者, 分别进行 HPV 基因分型和 TCT 检查。

1.2 主要仪器和试剂 HPV 基因分型试剂采用凯普生物科技公司的 21 种人乳头状瘤病毒分型检测试剂盒及其配套的医用核酸分子快速杂交仪 (HHM-2), PCR 扩增采用美国 BIO-RAD PTC-200 PCR 仪。

1.3 检测方法 用宫颈脱落细胞采样刷按要求采集宫颈脱落细胞, 置细胞保存液中-20℃以下保存, 1 周内用常规碱裂解法提取 DNA。采用 PCR-膜杂交法进行 HPV-DNA PCR 扩增及其分型检测, PCR 扩增 HPV-DNA, 扩增产物分型检测和结果判读等按 HPV 基因分型试剂盒说明书进行, 该试剂盒可同时检测 21 种 HPV 基因型别, 包括 HPV6、11、42、43、44 和 CP8304 等 5 种低危型别 (low risk HPV, LR-HPV), HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66 和 68 等 16 种高危型别 (high risk HPV, HR-HPV)。TCT 检查由我院病理科按 TBS 分类法进行诊断。即正常范围 (within normal limits, WNL); 不明意义的非典型鳞状细胞 (atypical squamous cells of undetermined significance, ASCUS); 低度鳞状上皮内增生 (low grades squamous intraepithelial lesion, LSIL) 和高度鳞状上皮内增生 (high grades squamous intraepithelial lesion, HSIL)。

1.4 统计学方法 全部数据分析应用 SAS 6.12 软件包进行统计学分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 多组级联相关资料采用 Wilcoxon 秩和检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 感染及其型别分布 1 591 例女性中检出 HPV 阳性 619 例, 感染率为 38.90%, 其中受感染者中 HR-HPV 阳性 469 例, 感染率为 29.47%; LR-HPV 阳性 87 例, 感染率为 5.47%; HR-HPV 和 LR-HPV 混合感染阳性 63 例, 混合感染率为 3.96%。

除 HPV43 型别外, 其余 20 种 HPV 型别均被检出, 按单一型别检出率高低分别为 HPV16、52、58、CP8304、33、53、18、31、11、68、66、6、39、56、HPV35、59、44、45、42 和 51。

单一型别 HPV 感染 459 例, 感染率为 28.85%; 2 个型别 HPV 混合感染 128 例, 感染率为 8.05%; 3 型别 HPV 混合感染 23 例, 感染率为 1.45%; 4 个型别以上 HPV 感染 9 例, 感染率为 0.57%。

2.2 HPV 感染与宫颈病变程度的关系 在 338 例 TCT 检出子宫颈病变的女性中 HPV 感染率为 68.64%, HR-HPV 感染率为 63.02%, 二者其在 ASCUS、LSIL 和 HSIL 中感染率均随着宫颈病变级别递增而升高, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.46, P < 0.05$), 见表 1。用 Wilcoxon 秩和检验分析 HPV 和 HR-HPV 感染与宫颈疾病级别之间的关系, 结果表明 HPV 和 HR-HPV 感染率在不同宫颈疾病组中具有显著差异 ($\chi^2 = 22.42, P < 0.01$); 除 HPV51 外, HR-HPV 其它型别在不同宫颈疾病组中具有极显著差异 ($\chi^2 = 18.60, P < 0.01$); 除 HPVCP8304 外, 其它型别 LR-HPV 在不同宫颈疾病组中无显著差异 ($\chi^2 = 2.44, P > 0.05$)。

表 1 HPV 感染与宫颈病变程度的关系 [n(%)]

Tab. 1 The prevalence of HPV infection among the different cervical lesions

Groups	HPV			HR-HPV		
	Positive	Negative	Positive rate(%)	Positive	Negative	Positive rate(%)
ASCUS	43	37	53.75	42	38	52.50
LSIL	126	51	71.19	110	67	62.15
HSIL	63	18	77.78	61	20	75.31
Total	232	106	68.64	213	125	63.02

2.3 HPV 感染与年龄的关系 将患者按年龄分成 ≤40 岁和 >40 岁两组, 经 Wilcoxon 秩和检验, 结果表明年龄分组在不同疾病组具有显著差异 ($\chi^2 = 20.46, P < 0.01$), 即随着年龄的增加 HPV 感染罹

患宫颈相关疾病的机会大大增加。经 χ^2 检验, 表明年龄分组与 HR-HPV 和 LR-HPV 感染亦具有显著的差异 ($\chi^2 = 13.69, P < 0.01$ 和 $\chi^2 = 4.98, P < 0.05$), 即年龄 ≤40 岁妇女 HR-HPV 和 LR-HPV

感染的机率高于年龄>40岁妇女(表2,3)。

表2 不同年龄组妇女HR-HPV感染率的比较

Tab.2 Comparison of the prevalence HR-HPV in women at different age groups

Age group	HR-HPV		Total
	negative (%)	positive (%)	
≤40	670(70.08)	286(29.92)	956
>40	389(61.26)	246(38.74)	635
Total	1 059	532	1 591

表3 不同年龄组妇女LR-HPV感染率的比较

Tab.3 Comparison of the prevalence LR-HPV in women at different age groups

Age group	LR-HPV		Total
	negative (%)	positive (%)	
≤40	853(89.23)	103(10.77)	956
>40	588(92.60)	47(7.4)	635
Total	1 441	150	1 591

3 讨论

HPV是一类具有高度组织和宿主特异性的嗜上皮细胞病毒,在自然界广泛存在可致人类皮肤和黏膜异常增生,引起宿主组织疣状病变及乳头状瘤病变。HPV具有多种型别,不同型别感染对子宫颈上皮的致病力不同。随着HPV感染与宫颈癌病因关系的明确,HPV-DNA及其基因分型检测越来越受到重视^[4-6]。欧洲生殖道感染和肿瘤组织(EUROGIN)提出的宫颈癌筛查方案中优先推荐HPV基因检测作为宫颈癌筛查的首选方法^[7];美国阴道镜和宫颈病理学会(ASCCP)发布的《子宫颈癌筛查异常妇女处理共识指南》亦明确指出30岁以上的妇女应进行HPV基因分型检测^[8]。

本研究采用PCR-膜斑点杂交法对1 591例标本进行HPV基因分型,结果显示HPV总感染率为38.90%,与国内相关文献报道结果基本一致^[3,7-8]。除HPV43亚型外,其余20种HPV型别均被检出,其中感染居前5位的基因型分别是HPV16、52、58、CP8304和33,除HPV16外,其余型别分布与国内外报道有所不同。其原因可能与地域差异、研究对象和检测方法等不同有关^[9]。HPV16是各地最为常见的感染型别,一项多中心的研究中HPV16在所有HPV阳性的子宫颈癌患者的平均感染率为57.4%,本研究HPV16检出率亦最高。CP8304通

常被认为是与宫颈细胞病变发生关系不大的低危型^[10],然而本研究CP8304感染率居第四位,秩检验表明其与宫颈疾病的进展密切相关($P<0.001$),与部分学者认为CP8304与宫颈疾病发生发展具有较密切的结论一致^[1],因而CP8304可作为中国妇女HPV感染的独立危险因素之一。除HPV51外,其它型别HR-HPV在LSIL以上病变中均有一定优势,提示HR-HPV具有较高的致癌性,因此临幊上在制定相应的治疗方案时应加以注意。因而,为消除地域差异,方法不同造成的结果不同,需进一步加强多中心合作并扩大研究范围以明确HPV感染型别与宫颈疾病之间的关系。

HPV感染可发生于各年龄组,年龄是感染和子宫颈癌发生的相关因素,有研究表明年轻妇女更易感染高危型,进而发展为子宫颈癌且预后较差。本研究结果显示不论HPV总感染率或是HR-HPV和LR-HPV感染率均在40岁以下妇女均高于40岁以上的年长妇女,与文献报道^[11]亚洲国家不同年龄妇女感染HPV较为一致,其原因可能是40岁以下妇女处于性活跃期,特别是性工作者,不同HPV基因型别的多重感染较为常见,因而可间接证实HPV可通过性接触而传播。而与欧美国家和非洲国家妇女HPV感染呈“U”字型分布不同^[12],其原因可能与地域差别,人种和文化传统等不同有关。另一方面,本研究结果表明40岁以上妇女HPV感染罹患宫颈相关疾病的机会显著高于40岁以下妇女,表明HPV的持续感染是宫颈病变发生的必要条件。

总之,本研究采用PCR-膜杂交法检测宫颈HPV感染,具有较高的敏感性和特异性,妇女感染HR-HPV能较好地反映宫颈病变的风险,从而为防治宫颈癌的发生提供一种良好的筛查手段。

参考文献:

- [1]de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis, 2007, 7(7): 453-459. DOI: 10.1016/S1473-3099(07)70158-5
- [2]Pan Q, Belinson JL, Li L, et al. A thin-layer, liquid-based pap test for mass screening in an area of China with a high incidence of cervical carcinoma. A cross-sectional, comparative study[J]. Acta Cytol, 2003, 47(1): 45-50.
- [3]Yang DM, Zhang Y. Evaluation of application of DNA microarray in detection of 21 subtypes of human papillomavirus[J]. Chin J Diagn Pathol, 2011, 18(2): 131-133. (in Chinese)
- 杨冬梅,张勇.导流杂交基因芯片检测人乳头状瘤病毒21种亚

- 型的应用评价.[J]诊断病理学杂志,2011,18(2):131-133.
- [4]Bruni L, Diaz M, Castellsague X, et al. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings[J]. J Infect Dis, 2010, 15, 202(12): 1789-1799.
- [5]Nicol AF, Monsonego J. Summary of the Eurogin 2011 conference: Highlighting the recent advances in HPV-related cancers [J]. Gynecol Oncol, 2011, 123(2): 179-181. DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.09.009
- [6]Guido R. Guidelines for screening and treatment of cervical disease in the adolescent[J]. J Pediatr Adolesc Gynecol, 2004, 17 (5): 303-311. DOI: 10.1016/j.jpag.2004.07.008
- [7]Zhou L, Chen S, Di N, et al. Application of human papillomavirus detection in women with abnormal cervical cytology[J]. Chin J Exp Clin Virol, 2011, 25(2): 143-145. (in Chinese)
周莉,陈姗,狄娜,等.人乳头瘤病毒感染在宫颈病变中的应用价值.[J]中华实验和临床病毒学杂志,2011,25(2):143-145.
- [8]Huang J, Xiao YX, Li L. Analysis on the results of general investigation about cervical human papillomavirus among 2 000 women[J]. Matern Child Health Care China, 2012, 27(7): 987-988. (in Chinese)
黄静,效映霞,李俐.2000例妇女宫颈人乳头瘤病毒普查结果分析.[J]中国妇幼保健,2012,27(7):987-988.
- [9]Yu N, Gu WW, Liu HE, et al. Distribution of the genotypes of human papillomavirus in east Guangzhou and coding sequences of E6/E7 of the dominant genotype[J]. Chin J Zoonoses, 2009, 25 (3): 220-228. (in Chinese)
余南,辜为为,刘红娥,等.广州东部HPV基因型分布及其优势基因型E6/E7核酸序列分析.[J]中国人兽共患病学报,2009, 25(3):220-228.
- [10]Meyer T, Arndt R, Beckmann ER, et al. Distribution of HPV 53, HPV 73 and CP8304 in genital epithelial lesions with different grades of dysplasia[J]. Int J Gynecol Cancer, 2001, 11(3): 198-204.
- [11]Wong OG, Lo CK, Chow JN, et al. Comparison of the Geno-Flow human papillomavirus (HPV) test and the Linear Array assay for HPV screening in an Asian population[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(5): 1691-1697. DOI: 10.1128/JCM.05933-11
- [12]de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study [J]. Lancet Oncol, 2010, 11 (11): 1048-1056. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70230-8

收稿日期:2012-08-19;修回日期:2012-10-30

(上接第 29 页)

- 张福杰,王建,王福生,等.国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册 [M].北京:人民卫生出版社,2012:1-2.
- [4]Xie J, Li TS. HIV-1 drug-resistant mechanisms and testing methods[J]. Chin J AIDS STD, 2005, 11(2): 150. (in Chinese)
谢静,李太生.HIV-1耐药性产生机制及检测方法[J].中国艾滋病性病,2005,11(2):150.
- [5]Shafer RW. Genotypic testing for human immunodeficiency virus type 1 drug resistance[J]. Clin Microbiol Rev, 2002, 15(2): 247-277.
- [6]Wensing AM, Boucher CA. Worldwide transmission of drug-resistant HIV[J]. AIDS Rev, 2003, 5(3):140-155.
- [7]Oette M, Kaiser R, Daumer M, et al. Primary HIV drug resistance and efficacy of first-line antiretroviral therapy guided by resistance testing[J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2006, 41 (5): 573-581.
- [8]Han XX, Dai D, Lu CM, et al. Analysis on primary drug resist-
- ance of HIV-1 infected man having sex with man[J]. Chin J Public Health, 2007, 23 (12) : 1415-1416. (in Chinese)
韩晓旭,代娣,卢春明,等.男男同性恋HIV-1感染者原发耐药性分析[J].中国公共卫生,2007,23(12):1415-1416.
- [9]Liu JF, Yan YS, Yan PP, et al. Study on drug resistance mutations among drug-naive HIV-1 carriers in Fujian province[J]. Chin J AIDS STD, 2007, 13(1): 14-16. (in Chinese)
刘建芳,严延生,颜萍萍,等.福建省未经抗病毒治疗的HIV-1毒株耐药基因变异研究[J].中国艾滋病性病,2007, 13(1):14-16.
- [10]Zhao GL, Feng TJ, Hong CF, et al. Study on drug-resistant gene mutation in HIV-1 infected MSM population in Shenzhen [J]. Chin J AIDS STD, 2009, 15(6):589-591. (in Chinese)
赵广录,冯铁建,洪福昌,等.深圳地区男男同性恋人群中HIV-1感染者耐药基因变异研究[J].中国艾滋病性病,2009,15(6): 589-591.

收稿日期:2012-09-18;修回日期:2012-11-07