

惠州市成年女性 HPV 感染及其基因型分布

肖和龙¹, 琚雄飞¹, 马剑玲², 段文琴³, 邓 勛³, 邹冬梅⁴, 陈敏敏¹

(1. 惠州市疾病预防控制中心流行病防治科, 广东 惠州 516001;

2. 惠州市第一人民医院; 3. 惠州市仲恺高新区人民医院; 4. 惠州市东江病理诊断中心)

摘要: **目的** 了解本辖区成年女性 HPV 感染状况及人乳头瘤病毒(HPV)基因型分布, 为宫颈癌筛查及防控策略提供科学依据。 **方法** 收集 2009 年 1 月~2011 年 12 月间惠州市部分医院妇科门诊妇检人群宫颈脱落细胞有效标本 5 860 份, 其中宫颈上皮内瘤变 I (CINI) 47 例、CIN II 49 例、CIN III 38 例, 宫颈癌 4 例, 应用核酸分子杂交技术检测 HPV 基因型。 **结果** 5 860 例标本中, HPV 阳性 1 154 例, HPV 阳性率 19.7%, <20 岁年龄组、20 岁~年龄组和 50~60 岁年龄组阳性率较高, 分别达 23.7%、20.2% 和 22.8%。共检出 19 种基因型, 高危亚型 13 种, 占 HPV 阳性 57.89%, 低危亚型 6 种占 42.11%, 高危亚型主要有 HPV16、58、52、33、18、6、45 等 13 种。低危主要有 HPV6、11、40、42、43、44 等 6 种。47 例 CIN I、49 例 CIN II、38 例 CIN III 及 4 例宫颈癌组织中 HPV 阳性率分别为 63.4%、85.3%、92.1%、100%。CIN 检出高危 HPV 基因型 16、58、52、33、18 等, 4 例宫颈癌组织中即检出 HPV 基因型 HPV16、58、33。 **结论** 本辖区成年女性 HPV 感染率为 19.7%, 高危 HPV 感染率达 11.3%。本地女性 CIN 及宫颈癌组织中高危 HPV 感染率较高, HPV16、58、52、33、18 可能是本地区 CIN 及宫颈癌常见的高危 HPV 基因型。

关键词: 宫颈癌; HPV; 基因型

中图分类号: R737.33 文献标识码: A

The Study of HPV Infection and Genotype Among Adult Female in Huizhou City

XIAO Helong, JU Xiongfei, MA Jianling, et al

(The Department of Epidemic Disease, Disease Control and Prevention Center of Huizhou, Huizhou, Guangdong 516001, China)

Abstract: **Objective** To investigate human papilloma virus (HPV) infection and HPV genotype among the adult female in Huizhou city, in order to provide the best policy for cervical cancer screening and prevention. **Methods** From January 2009 to december 2011, we collected 5 860 cases of cervical cell specimens from department of gynecology in hospital. Among the cervical cell specimens, 47 cases of CIN I, 49 cases of CIN II, 38 cases of CIN III, 4 cases of cervical cancer were confirmed by pathology diagnosis, and nucleic acid molecular hybridization technique was adopted for Screening of HPV infection and HPV genotype in all of the cervical cell specimens. **Results** For 5 680 cases of cervical cell specimens, the number of HPV-positive specimens were 1 154, with an infection rate of 19.7%. The female aged under 20 years, 20 to 30 years and 51 to 60 years had higher infection rate of 23.7% (22/93), 20.22% (319/1 578), 22.8% (61/268). 19 species of genotype were detected in the specimens, including 13 species of high risk HPV (hrhpv) genotype and 6 species of low risk HPV (Lrhpv), the rate of hrhpv was 57.9% in the positive specimens, the main hrhpv genotype was hpv16, 58, 52, 33, 18, et al. and the Lrhpv genotype was hpv6, 11, 40, 43, 44, et al. There were higher infection rates in CIN and cervical cancer, the hrHPV-positive rate in 47 cases of CINI, 49 cases of CIN II, 38 cases of CIN

Ⅲ, 4 cases of cervical cancer were 63.4%, 85.3%, 92.1%, 100% respectively. The Lhrpv genotype in CIN were hpv 16, 58, 52, 33, 18, and Lhrpv 16, 58, 33 were found in 4 cases of cervical cancer. **Conclusion** This study indicated the rate of HPV infection was 19.7% for adult female in Huizhou city. There was higher infection rate in CIN and cervical cancer. The main epidemic hrhpv genotype were HPV16, 58, 52, 33, 18 in this locality for CIN and cervical cancer.

Key words: cervical cancer; human papilloma virus; genotype

宫颈癌是可以早期发现和防控的疾病^[1], 据 WHO 统计, 全球每年约 50 万人发病, 其中 80% 集中在发展中国家, 国内新发病例每年约 11 万以上, 约 2.3 万妇女死于宫颈癌。许多证据证实人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染是宫颈癌发生的必要因素。目前已经鉴定了 100 多个 HPV 基因型, 其中约 40 多个基因型可感染女性生殖道^[2]。根据其与其与宫颈癌的相关性, 目前认为有 15 个基因型与宫颈癌发生有关^[3]。不同地域和种族 HPV 流行又具有差异性, 因此, 在宫颈癌的预防和早期识别诊断中越来越倾向于检测 HPV 基因型来评价宫颈病变情况。本研究对辖区内成年女性 HPV 感染特征及 HPV 高危基因型的分布进行分析, 为有效防治宫颈癌提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2009 年 1 月~2011 年 12 月间本市部分医院妇科门诊 5 887 例妇检人群宫颈细胞 HPV 检测及液基薄层细胞检测(TCT)筛查的信息。病例年龄均在 17~65 岁之间, 在本地居住 1 年以上。因细胞量过少不合格标本 27 份, 合格标本共 5 860 份, TCT 阳性共 138 例, 其中 CIN I 47 例, CIN II 49 例, CIN III 38 例, 宫颈癌 4 例, 无细胞学异常者 5 722 例, CIN 及宫颈癌均经病理组织学诊断证实。

1.2 标本采集

专用采样宫颈刷置宫颈口, 顺时针旋转 5 圈后取出, 放入标有患者基本信息专用条形码的保存液中, 6 h 内送广州达安基因检测中心进行 HPV 基因型检测。

1.3 HPV DNA 分型检测

采用凯普公司 HPV 核酸扩增分型检测试剂盒, 检测 37 种 HPV 亚型, 操作按照说明书进行。

1.3.1 提取 DNA 取有宫颈细胞的保存液 0.5 mL, 1 500 rpm 离心 5 min, 弃上清, 加裂解液 I 0.4 mL, 混匀, 100 °C 15 min, 加提取液 II 0.4 mL, 混匀静置 5 min,

1 500 rpm 离心 5 min, 弃上清, 加 0.06 mL 提取液 III, 混匀静置 10 min, 1 500 rpm 离心 1 min, 吸 1 μL DNA 模板置 PCR 反应物内, 石蜡封口。

1.3.2 DNA 扩增 95 °C, 9 min; 95 °C 20 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 循环次数 40 次; 72 °C, 5 min。扩增产物 4 °C 保存, 备用。

1.3.3 DNA 杂交 杂交仪上依次在每孔杂交膜上加入 45 °C 杂交液 800 μL, 预杂交 5 min, 排去杂交液, 再加入杂交液 500 μL, 吸取模板 DNA 25 μL 至杂交液内 10 min, 排尽洗液, 用杂交液洗膜 3 次, 排尽洗液, 调温至 25 °C, 加 500 μL 封阻液封阻 5 min, 排尽液体, 加酶标液 500 μL, 5 min 后排尽, 加 800 μL 溶液 A, 清洗 3 次, 调温度至 36 °C, 加入 500 μL NBT, 反应 5 min, 加 800 μL 溶液 B 清洗 4 次, 取出杂交膜。

杂交膜上出现清晰可见蓝紫色圆点, 即为检出相对应 HPV 基因型。

1.4 统计学分析

采用 SPSS13.0 进行数据库统计分析, 采用卡方检验, $\alpha=0.05$, 双侧检验, $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 感染率及亚型

5 860 例标本中 HPV 阳性 1 154 例, 阴性 4 706 例, HPV 感染率为 19.7%。1 154 例 HPV 阳性标本中高危型 HPV 668 例(包括 52 例混合高危型 HPV), 高危型感染率为 11.38%, 占 HPV 总感染率 57.85%, 主要是 16、58、52、33、18、6、45、51、39、56、59、68 等亚型, 以 HPV16 型最多, 其次为 HPV58 型、HPV52 型。低危 HPV486 例, 感染率为 8.3%(包括 2 例混合低危型 HPV), 占 42.15%, 主要是 6、11、40、42、43、44 等亚型, 其中多重感染 44 例, 占 4.45%。在 20 岁以下年龄组检出 8 种高危基因型, 20~30 岁、30~40 岁年龄组检出 13 种高危基因型, 50~岁、60~岁分别检出 10 种和 7 种高危基因型, 主要是 HPV16、58、52、33、18 等型别(表 1)。

表 1 惠州市 5 860 例成年女性 HPV 感染情况(例)

HPV 基因型	年龄						型别	阳性率(%)	
	<20 岁	20 岁~	30 岁~	40 岁~	50 岁~	60 岁~			
高危 HPV	16	2	40	51	40	8	3	144	12.53
	58	2	34	44	35	7	2	124	10.89
	52	2	30	38	30	6	2	108	9.36
	33	2	20	26	20	4	1	73	6.35
	18	1	17	22	17	3	1	61	5.35
	6	1	11	15	11	2	1	41	3.53
	45	1	7	10	7	2	1	28	2.31
	51	1	7	9	7	1		25	2.12
	39		6	8	6	1		21	1.86
	56		5	6	5	1		17	1.48
	58		3	4	3			10	0.89
	59		2	3	2			7	0.59
	68		2	2	2			6	0.59
	低危 HPV	6	3	39	50	39	8	3	142
11		2	35	46	36	7	3	129	11.26
40		2	25	33	26	5	2	93	8.03
42		1	16	21	16	3	1	58	5.12
43		1	13	17	14	3	1	49	4.23
44		1	3	5	4	1		14	1.15
阳性数小计		22	319	411	321	61	20	1 154	
感染率(%)	23.6	20.22	18.91	19.54	22.76	19.05		19.7	

2.2 高危 HPV 在人群中的年龄分布特征

1 154 例 HPV 阳性年龄分布在 17~65 岁之间, 年龄中位数 34 岁。小于 20 岁年龄组 HPV 感染率最高 23.66%, 高危 HPV 检出率为 12.0%; 其次为 50~60 岁之间年龄组 22.76%, 高危 HPV 检出率达 16.8%, 30~岁组、40~岁组和 60~岁组感染率较低, 经卡方检验, 不同年龄组间高危 HPV 感染率差异有统计学意义, $\chi^2=9.67, P=0.021$ 。见表 2。

表 2 惠州市 18~65 岁 HPV 及高危亚型感染情况(例,%)

年龄(岁)	n	HPV	高危 HPV
<20	93	22(23.66)	12(12.90)
20~	1 578	319(20.22)	172(10.90)
30~	2 173	411(18.91)	229(10.50)
40~	1 643	321(19.54)	197(12.00)
50~	268	61(22.76)	45(16.80)
60~65	105	20(19.05)	13(12.40)

经 χ^2 检验, $\chi^2=9.67, P=0.021$

2.3 不同病理组织中 HPV 感染情况

按组织学分类将筛检对象按正常、慢性炎症、CIN I、CIN II、CIN III、宫颈癌统计, 发现不同组织中高危 HPV 阳性率差异较大, 正常组最低为 9.5%, 宫颈癌组感染率 100%, 经卡方检验, 不同年龄组间高危 HPV 感染率差异有统计学意义, 各组之间差异有

统计学意义 $\chi^2=691.8, P<0.0001$, 详见表 3。CIN 及宫颈癌中检出 HPV16、58、52、33、18 等高危型 HPV 基因型, 这些基因型可能是本地区 CIN 及宫颈癌流行的 HPV 高危基因型。

表 3 不同类型组织中高危 HPV 感染情况(例,%)

组织学类型	n	高危 HPV 感染
正常	3 788	312(9.5)
慢性炎症	1 934	245(12.7)
CIN I	47	30(63.4)
CIN II	49	42(85.3)
CIN III	38	35(92.1)
宫颈癌	4	4(100.0)

经 χ^2 检验, $\chi^2=691.8, P<0.0001$

3 讨 论

过去 30 年, 宫颈癌筛查策略在发达国家的实施显著降低了宫颈癌的发病率与死亡率, 国内由于医疗资源分布不均衡, 细胞学筛查在基层医疗体系中尚不能广泛应用于宫颈癌的防治。但由于 HPV 感染作为宫颈癌重要病因且检测方便, 给宫颈癌筛查和防治提供了新思路。现阶段, 大多数妇科门诊或社区中心进行宫颈癌防治有两方面的策略: 一是检测是否感染高危 HPV 来评价癌前病变的程度, 比如

通过 TCT 联合 HPV 检测来预测宫颈癌及癌前病变;二是加快目标人群对不同基因型 HPV 疫苗的接种来防止 HPV 感染而达到预防和减少宫颈癌的目的^[4]。但不管何种防治策略,均需先了解当地 HPV 感染状况及基因型分布。

国内研究资料显示,HPV 感染率高低与地域、年龄、性行为等因素有关。本资料中 HPV 感染率为 19.7%,与文献^[5]报道深圳 14.5%接近^[5],低于湖南浏阳地区女性感染率 28.4%^[6],亦低于部分粤东地区的 29.7%^[7]。但在年龄特征方面,均存在 <20 岁组及 20 岁~组、绝经期女性 HPV 感染率较高这个倾向。但有资料表明该低年龄段女性 HPV 感染大多数为一过性感染;50 岁~组高感染率也许与绝经期女性高危 HPV 病毒感染的稳定水平有关。岑尧等^[8]对目前国内女性感染情况进行 Meta 分析认为,HPV 在国内普通女性中感染率约为 15.71%,北方地区高危型 HPV 平均感染率高于南方,少数民族自治区高危型 HPV 的平均感染率高于其他省市。邓勃等^[9]在宫颈癌的早期识别诊治资料中,发现 CIN 患者的年轻化趋势越来越明显,且 CIN 合并 HPV 感染在年轻女性患者中常见。国内学者吴心音等^[10]研究资料提示,50 岁~组人群高危 HPV 感染病毒载量较大,若为持续感染,则这一年龄段人群可能为宫颈癌的高危人群,提示在宫颈癌防治工作中,要特别关注这一年龄段人群 HPV 筛查结果,及时加以防癌宣传或者疫苗接种干预,以促进女性健康。

本研究发现,提示辖区内成年女性 HPV 感染涉及高危基因型 13 个,在 CIN I、CIN II、CIN III 组织中 HPV 的感染率分别为 63.4%、85.3%、92.1%,宫颈癌病例 HPV 感染率 100%。基因型主要为高危 HPV16、58、52、33、18、6 等。岑尧等^[8]对目前国内女性感染 HPV 基因型汇总分析认为,全国范围内前 6 位常见高危型 HPV 分布依次为 HPV16、52、58、33、18,HPV16 型是国内最为常见的感染型别,其他型别在不同地区及人群中的分布有一定差异。HPV16、52 和 58 型是中国特有的优势感染型别,本研究结果与其一致。本资料中 CIN 及宫颈癌中检出的高危型 HPV 基因型以 HPV16、58、52、33、18 为主,CIN 及宫颈癌 HPV16 基因型感染率亦高居首位,提示 HPV16、58、52、33、18 是本地区 CIN 及宫颈癌患者 HPV 感染的常见基因型。

近年来,对高危 HPV 基因疫苗的研究已成为宫

颈癌防治中的一个热点^[11]。对妇检人群进行 TCT 筛查和 HPV 基因型检测,有利于对不同地域的女性从病因上预防宫颈癌有更针对性措施,可以根据当地流行的高危 HPV 基因型选择型特异性 HPV 疫苗接种。随着对 HPV 疫苗的深入研究和推广应用,成年女性 HPV 基因型筛检对宫颈癌的预防和控制具有非常重要的指导意义。

参考文献:

- [1] 郎景和. 子宫颈癌预防的现代策略[J]. 中国医学科学院学报,2007,29(5):575-578.
- [2] DeFraneseo MA, Gargiulo F, Sehreiber C, et al. Detection and genotyping of human PaPilloma virus in cervical samples from Italian patients [J]. J Medical Virology, 2005, 75:588-592.
- [3] Munoz N, Bosch FX, De Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human PaPilloma virus types associated with cervical cancer[J]. New England J Medicine, 2003, 348:518-527.
- [4] Marc A, Peter S, Chris JL, et al. Clinical applications of HPV testing: A summary of meta-analyses [J]. Vaccine, 2006, 24(S3):78-89.
- [5] 王月云,彭绩,周海滨,等. 深圳市妇女子宫颈癌病毒分子流行病学分析[J]. 中国慢性病预防与控制,2012,20(3):293-295.
- [6] 邹智伦,何娟. 浏阳地区女性人乳头瘤病毒(HPV)感染状况分析[J]. 实用预防医学,2010,17(10):1964-1966.
- [7] 方裕森,肖亮生,翁雪芬,等. 基因芯片法监测粤东地区妇女人乳头瘤病毒[J]. 河北医学,2011,17(11):1431-1434.
- [8] 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.
- [9] 邓勃,古岭梅,古紫云,等. 宫颈 CIN 患者 138 例临床治疗方式探讨及疗效分析[J]. 中南医学科学杂志,2012,40(4):400-404.
- [10] 吴心音,黄民主,李洪波,等. 女性宫颈高危型 HPV 感染状况及其与宫颈病变剂量效应关系分析[J]. 肿瘤防治研究,2009,36(2):158-161.
- [11] 屈中力,李薇,龙敏芝,等. 人类乳头瘤病毒 16 型 E5 蛋白真核载体的构建及表达[J]. 中南医学科学杂志,2011,39(5):501-506.

(此文编辑:朱雯霞)