

驻石部队师职女干部高危型 HPV 基因型分布

王宪灵, 王缚鲲, 赵博华

(白求恩国际和平医院检验科, 河北 石家庄 050082)

【摘要】 目的 了解驻石部队师职女干部宫颈高危型人乳头瘤病毒(HPV)感染情况及亚型分布特点,为宫颈癌的预防与诊治提供理论依据。方法 采集 2013 年 6 月至 2016 年 8 月于白求恩国际和平医院妇科体检的 588 例师职女干部宫颈脱落细胞,应用实时荧光 PCR 对其进行高危型 HPV 基因分型检测。结果 588 例受检者高危型 HPV 总感染率为 11.9% (70/588),其中单一感染率为 8.2%,多重感染率为 3.7%,检测出的高危型 HPV 主要型别依次为 HPV52 型(14.6%)、58 型(14.6%)、68 型(14.6%)、18 型(12.5%)、66 型(12.5%)。HPV 感染年龄分布情况:≤40 岁组 4 例均未感染;41~50 岁组感染率为 11.2% (33/294),主要型别依次为 HPV66 型、52 型、18 型;51~60 岁组感染率为 12.8% (32/250),主要型别依次为 HPV68 型、58 型、52 型; > 60 岁组感染率为 12.5% (5/40),主要型别为 HPV58 型;各年龄组的 HPV 感染率比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 驻石部队师职女干部高危型 HPV 感染以单一感染为主,感染率较高的亚型是 HPV52、58、68 型,不同年龄分布的感染率无显著差异。

【关键词】 人乳头瘤病毒;基因分型;感染率;师职女干部

【中图分类号】 R711 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)14-2306-03

Genotype distribution of high-risk human papillomavirus in female division-level cadres in Shijiazhuang area.

WANG Xian-ling, WANG Fu-kun, ZHAO Bo-hua. Department of Clinical Laboratory, Bethune International Peace Hospital of PLA, Shijiazhuang 050082, Hebei, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the genotype distribution of high-risk human papillomavirus (HPV) infection of female division-level cadres in Shijiazhuang area, and to provide evidence for the diagnosis and prevention of HPV infection. **Methods** A total of 588 cervical exfoliated cell samples was collected from female division-level cadres who underwent physical examination in Bethune International Peace Hospital from June 2013 to August 2016. HPV genotypes were determined with real-time fluorescent PCR (Real-time PCR) assay. **Results** Among the 588 cases, 70 cases were tested for HPV-positive with the total positive rate of 11.9%. Among the positive cases, 8.2% were determined to be infected with single HPV genotype and 3.7% with multiple HPV genotypes. The most prevalent HPV subtypes in the present study were as follows: HPV52 (14.6%), HPV58 (14.6%), HPV68 (14.6%), HPV18 (12.5%), and HPV66 (12.5%). The HPV-positive rate were 0 (0/4) in the age ≤40 group, 11.2% (33/294) in the range age of 41~50 group with the most prevalent HPV subtypes as followed HPV66, HPV52, HPV18, 12.8% (32/250) in the age of 51~60 group with the most prevalent HPV subtypes of HPV68, HPV58, HPV52 and 12.5% (5/40) in the age >60 group with the most prevalent HPV subtypes of HPV58, respectively. There was no significant difference among different age groups ($P>0.05$). **Conclusion** For the female division-level cadres in Shijiazhuang area, single infection is the major form of HPV infection. The most prevalent high-risk HPV subtypes are HPV52, HPV58 and HPV68. There is no significantly difference in the HPV positive-rate among different age groups.

【Key words】 Human papillomavirus (HPV); Genotyping; Infection rate; Female division-level cadres

人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)是一种嗜皮肤和黏膜上皮细胞的双链环状 DNA 病毒,人是其唯一宿主,目前已发现 170 多种亚型^[1]。感染 HPV 的型别不同,临床表现也不相同。人们依据其不同型别致癌危险性高低分为低危险型和高危险型 HPV,低危险型 HPV 主要引起疣等良性病变,而高危险型 HPV 则与宫颈癌的发病密切相关。高危型 HPV 主要有 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、82 等型别。为了解高危型 HPV 在驻石部队师职女干部中的感染情况,制定有效的防治措施,笔者通过实时荧光

定量 PCR 技术对 588 例驻石部队师职女干部的宫颈脱落细胞进行了高危型 HPV 的基因分型检测,并对型别分布进行统计分析。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选择 2013 年 6 月至 2016 年 8 月于白求恩国际和平医院妇科体检师职女干部,剔除复查数据,共计 588 例,年龄 39~63 岁,平均 52.3 岁;其中 ≤40 岁组 4 例,41~50 岁组 294 例,51~60 岁组 250 例,>60 岁组 40 例。

1.2 主要仪器和试剂 ABI7500 Real-time PCR

System 及其配套分析软件(美国 ABI 公司); HPV 提取及分型检测试剂盒由上海之江生物科技股份有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 宫颈脱落细胞的收集 月经干净后至少 3 d, 检查 3 d 内无性生活史、无阴道用药及冲洗史。用无菌生理盐水棉球洗去宫颈外分泌物, 将宫颈刷伸入宫颈处停留 5 s, 顺时针轻轻转动宫颈刷 3~5 圈, 慢慢取出宫颈刷, 将其放入装有专用细胞保存液的样本管中送检, 标本于 -20°C 保存, 避免反复冻融。

1.3.2 DNA 提取 严格按照操作步骤提取 DNA。标本室温复融, 充分震荡混匀 15 s, 吸取 1 mL 液体转至 1.5 mL 离心管中, 13 000 r/min 离心 5 min, 沉淀加无菌生理盐水 1 mL 混匀, 13 000 r/min 离心 5 min, 小心吸弃上清, 沉淀直接加入 100 μL 核酸抽提液充分混匀 15 s, 100°C 水浴(99°C 干浴) 10 min, 13 000 r/min 离心 5 min, 上清即为 PCR 反应模板。同时取阴性和阳性对照各 100 μL 于 1.5 mL 离心管中(冻存试剂融解后需震荡混匀 10 s), 分别加入核酸提取液 100 μL 充分混匀, 100°C 水浴 10 min, 13 000 r/min 离心 5 min, 取上清作为 PCR 反应模板。

1.3.3 DNA 扩增 取 4 种 HPV 核酸荧光 PCR 检测混合液 $n \times 36 \mu\text{L}$ 分别与 4 份 $n \times 0.4 \mu\text{L}$ Taq 酶(n 为反应管数), 震荡混匀数秒, 3 000 r/min 离心数秒。上述 4 种配制好的混合液各 36 μL 分别置于薄壁 PCR 反应管, 然后将待检标本、阴性、阳性对照品的处理上清液 4 μL 分别加入上述反应管中, 盖好管盖, 立即进行 PCR 扩增反应。扩增条件为: $94^{\circ}\text{C} \times 2 \text{ min}$; 再按 $93^{\circ}\text{C} \times 10 \text{ s} \rightarrow 62^{\circ}\text{C} \times 31 \text{ s}$, 循环 40 次; 单点荧光检测在 62°C 。反应体系为 40 μL , 能检出 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、82 共 15 个型别。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 14.0 统计软件进行数据分析, 率的比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。多重感染者则重复计算各基因型阳性率。

2 结果

2.1 HPV 感染情况 588 例体检者中, 检出高危型 HPV 感染 70 例, 总感染率为 11.9%。其中单一感染 48 例(8.2%); 双重感染 18 例(3.0%), 其中 39+68 型 4 例, 33+58 型 2 例, 58+66 型 2 例, 16+18 型 2 例, 58+16 型 2 例, 68+31 型 1 例, 52+59 型 1 例, 58+18 型 1 例, 39+68 型 1 例, 66+68 型 1 例, 52+18 型 1 例; 三重感染 4 例(0.7%), 18+51+52 型、31+58+66、18+56+66 型、16+52+68 型各 1 例。

2.2 HPV 感染亚型分布 588 例体检者高危型 HPV 感染的各亚型分布中, 其感染频度前 5 位依次为 HPV52 型 14 例(14.6%)、HPV58 型 14 例(14.6%)、

HPV68 型 14 例(14.6%)、HPV18 型 12 例(12.5%)、HPV 66 型 12 例(12.5%)。不同年龄段检出的高危型 HPV 各亚型分布见表 1。

表 1 588 例体检者不同年龄段检出的高危型 HPV 各亚型分布(例)

HPV 型别	≤ 40 岁	41~50 岁	51~60 岁	> 60 岁	合计	构成比(%)
16	0	4	3	1	8	8.3
18	0	6	5	1	12	12.5
31	0	0	2	0	2	2.1
33	0	2	1	1	4	4.2
39	0	5	5	0	10	10.4
51	0	1	1	0	2	2.1
52	0	7	6	1	14	14.6
56	0	0	2	0	2	2.1
58	0	5	7	2	14	14.6
59	0	1	1	0	2	2.1
66	0	8	3	1	12	12.5
68	0	5	9	0	14	14.6

2.3 高危型 HPV 感染年龄分布 588 例体检者在 ≤ 40 岁、41~50 岁、51~60 岁和 > 60 岁组高危型 HPV 的感染率分别为 0、11.2%、12.8%、和 12.5%。除 ≤ 40 岁组检测例数较少不参与统计外, 对其余 3 个年龄组进行 χ^2 检验, 显示不同年龄段高危型 HPV 感染情况差异无统计学意义 ($\chi^2=0.329, P > 0.05$), 见表 2。

表 2 588 例体检者不同年龄段高危型 HPV 感染情况

年龄(岁)	检测例数	HPV 阳性例数	阳性率(%)
≤ 40	4	0	0
41~50	294	33	11.2
51~60	250	32	12.8
> 60	40	5	12.5
合计	588	70	11.9

3 讨论

宫颈癌是全球除乳腺癌之外导致妇女死亡的第二大恶性肿瘤, 根据我国国家癌症中心公布的最新数据估计, 2015 年我国宫颈癌新发病例约 10 万例, 死亡病例约 3 万例^[2]。生殖道高危型 HPV 持续感染是导致宫颈癌和子宫颈上皮内瘤变(CIN)的必要因素之一^[3-4], 一旦发生感染, 患宫颈癌的危险性相对增加 250 倍^[5]。HPV 是一种具有种属特异性的病毒, 人是 HPV 感染的唯一宿主, 具有高度的宿主特异亲和力^[6]。有 70%~80% 的女性一生中至少感染过一种 HPV 型, 但大多数为一过性感染, 1~2 年可自然清除, 只有少数免疫系统较弱的女性才会造成持续感染。持续感染尤其是高危型 HPV 持续感染是引起宫颈癌及癌前病变的重要因素^[7-8]。从感染到发生癌变一般需要 10 年左右的时间^[9]。

不同型别的 HPV 感染有地域性差异, 世界范围内以高危型 HPV16、18 型感染率最高^[10], 亚洲常见 HPV58、52 型感染^[11]。岑尧等^[12]所做的中国女性人乳头瘤病毒感染状况及高危型别分布的 Meta 分析显示:

我国高危型 HPV 感染主要型别依次为 16 型、52 型、58 型、33 型、18 型,南方地区和北方地区高危型 HPV 型别分布存在差异,南方地区以 16 型和 52 型为主,北方地区则以 16 型和 58 型常见。本研究共检测 15 个高危型 HPV 基因,除 35、45、82 三个型别未检出外,其他型别均有检出。检出的高危型 HPV 主要型别依次为 52 型、58 型、68 型、18 型、66 型,而我国最常见感染型别 HPV16 型在本研究中检出例数较少,且不同年龄段间型别分布略有差异。目前针对 HPV 感染尚无特效治疗办法,虽已研制出宫颈癌疫苗,但其针对的高危型别仅为 16、18 型,并且对接年龄有一定要求,以 11~12 岁为佳。疫苗只有预防作用,对宫颈癌或癌前病变没有治疗作用。在宫颈癌的防治上早期发现 HPV 感染、早期分型、早期干预治疗具有重要意义^[13]。

本研究显示高危型 HPV 感染率(11.9%)低于 2008 年中国癌症基金会发布的一项流行病学研究,即中国汉族妇女高危型 HPV 感染率约为 15%,这可能与本研究所选人群为部队师职女干部,与其文化水平较高、卫生状况较好有关。感染类型以单一型别为主,与王烈宏等^[14]的报道一致。单一型别感染率为 8.2%,多重型别混合感染率为 3.7%,多重感染更易导致宫颈癌变的发生^[15]。高危型 HPV 在各年龄段均存在一定的感染,不同年龄段感染无显著差异,和赵夏丰等^[16]的研究一致。虽然本研究例数较少,但足以说明在临床无症状人群中,高危型 HPV 仍存在较高的感染率,有必要加强宣传宫颈癌的防治知识,加大普查力度,以进一步减少宫颈癌的发生。

不同地区、不同种族 HPV 感染率以及感染型别存在差异^[17],不同型别所致宫颈癌的危险性亦不同,HPV 基因分型检测对于生殖道感染以及子宫颈癌的早期发现、预防及治疗具有重要意义。

参考文献

- [1] Bzhalava D, Guan P, Franceschi S, et al. A systematic review of the prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus types [J]. *Virology*, 2013, 445(12): 224-231.
- [2] 董丽, 乔友林. 宫颈腺癌与 HPV [J]. *实用妇产科杂志*, 2016, 32(8): 561-562.
- [3] Schneider A, Petry U, Erdemoglu, et al. HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer [J]. *Lancet*, 2014, 383 (9925): 1294-1295.
- [4] Srivastava S, Shahi U P, Dibya A, et al. Distribution of HPV genotypes and involvement of risk factors in cervical lesions and invasive cervical cancer: a study in an Indian population [J]. *Int J Mol Cell Med*, 2014, 3(2): 61-73.
- [5] 朱端荣, 戴莉, 戴雯. 高危型人乳头瘤病毒检测联合阴道镜下宫颈活检对 CIN 和早期浸润癌的诊断价值[J]. *海南医学*, 2017, 28(3): 423-425.
- [6] 金秀萍, 凌伟江, 俞月萍, 等. 刘小香孙爱华绍兴地区妇科就诊妇女高危型人乳头瘤病毒感染及亚型分布调查[J]. *中华全科医学*, 2015, 13(1): 66-68, 71.
- [7] 张晓琴, 李胜泽. HPV 疫苗预防宫颈癌的研究进展[J]. *中华全科医学*, 2015, 13(9): 1511-1513.
- [8] 徐军娟, 裘雅芬, 冯燕. 高危型人乳头瘤病毒对不同程度宫颈病变发生、发展及预后的影响研究[J]. *中华全科医学*, 2016, 14(6): 1050-1052.
- [9] 陈锐, 赵健, 朱丽荣, 等. 人类乳头瘤病毒分型检测在宫颈癌筛查中的应用分析[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2014, 28(6): 429-432.
- [10] 杨瑞利, 翟华丽, 沈建军, 等. 西安市 2841 例女性人乳头瘤病毒感染状况及基因型分析[J]. *海南医学*, 2016, 27(6): 885-887.
- [11] An HJ, Cho NH, Lee SY, et al. Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with human papillomavirus (HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method [J]. *Cancer*, 2003, 97(7): 1672-1680.
- [12] 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): 765-781.
- [13] 龚源, 陈晓辉, 张纯萍. 干扰素治疗宫颈人乳头瘤病毒亚临床感染 56 例临床观察[J]. *海南医学*, 2016, 27(10): 1619-1621.
- [14] 王烈宏, 张建青. 青海省不同海拔地区汉、藏、回族妇女 HPV 感染及其 HPV 分型[J]. *青海医学院学报*, 2014, 35(2): 104-109.
- [15] 林永恩, 任丽萍, 蔡奎, 等. 贺州市妇女人乳头瘤病毒感染疫情分析[J]. *海南医学*, 2014, 25(19): 2859-2861.
- [16] 赵夏丰, 杨小华, 刘庆峰. 547 例妇科门诊就诊者 HPV 基因分型结果的回顾分析[J]. *临床医学工程*, 2010, 17(4): 145-146.
- [17] 王烈宏, 张建青. 青海省不同海拔地区汉、藏、回族妇女 HPV 感染及其 HPV 分型[J]. *青海医学院学报*, 2014, 35(2): 104-109.

(收稿日期: 2017-01-18)