

人乳头瘤病毒 6/11、16/18 型的检测及临床意义

韦家伟, 许泽辉, 罗世强, 谭建强(广西壮族自治区柳州市妇幼保健院检验科 545001)

【摘要】 目的 用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)法检测低危型人乳头瘤病毒(HPV)(如 6/11)和高危型 HPV(如 16/18),探讨其在宫颈癌防治方面的意义。**方法** 采用实时荧光定量 PCR 对 2 162 例不同年龄组患者进行 HPV-DNA(6/11、16/18)检测。**结果** 低危型 HPV 的感染率为 11.78%,高危型 HPV 的感染率为 11.40%,二者的感染率差别不大。**结论** HPV 为泌尿生殖道感染的重要病原,对妇女进行高危及低危型 HPV-DNA 检测对早期诊断、治疗具有重要的指导意义,高危型 HPV 在宫颈癌早期病变的筛查中具有风险提示作用。

【关键词】 人乳头瘤病毒; 宫颈肿瘤; 实时荧光定量; 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.19.009 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)19-2320-02

The detection and its clinical significance of human papillomavirus types 6/11 and 16/18 WEI Jia-wei, XU Ze-hui, LUO Shi-qiang, TAN Jian-qiang (Department of Clinical Laboratory, Maternal and Child Health Hospital of Liuzhou City, Guangxi 545001, China)

【Abstract】 Objective To detect low-risk human papillomavirus(HPV) types(6/11) and high-risk HPV types (16/18) by the method of real-time fluorescence quantitatian polymerase chain reaction(FQ-PCR) and investigate their roles in the prevention and cure uterine cervix cancer. **Methods** The HPV types of 2 162 patients from different age groups were tested by the method of FQ-PCR. **Results** The low-risk and high-risk HPV-DNA detection rate were 11.78% and 11.40% respectively, showing little difference between their infection rates. **Conclusion** HPV is an important pathogen in urogenital infection. To carry out high-risk and low risk HPV-DNA examination of the woman in early diagnosis is very important to guide the treatment, and the high-risk HPV could be used as an indicator in the screening of cervical cancer early time pathological change.

【Key words】 human papillomavirus; uterine cervical neoplasms; real-time quantitative; PCR

人乳头瘤病毒(HPV)是一类双链环状 DNA 病毒,具有高度组织特异性和宿主特异性,在已发现的 HPV 分型中,约有 30 种可以感染生殖道^[1],依据 HPV 型别与癌发生危险性的 高低分为低危型和高危型。常见的低危型如 HPV6、11、42、43、44 等,可引起外生殖器湿疣等良性病变。常见的高危型如 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、58、59、68 等,与宫颈癌及宫颈上皮内瘤样病变(CIN)的发生有关。用敏感的聚合酶链反应(PCR)技术可以在 99.17%的宫颈癌标本中检测出高危型 HPV-DNA^[2]。作者对 2 162 例女性进行 HPV-DNA 检测,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2 162 例均为 2009 年 7 月至 2010 年 7 月到本院妇科及生殖助孕中心检查患者,年龄 18~71 岁,其中 399 例检测低危型 HPV;1 763 例检测高危型 HPV。

1.2 试验材料 用无菌棉拭子蘸取无菌生理盐水少许,插入宫颈口,均匀用力旋转 5 周,取出后置于无菌试管中。

1.3 试剂与仪器 HPV-DNA 检测采用实时荧光定量 PCR 技术,检测试剂盒为中山大学达安基因股份有限公司生产的高危型及低危型 HPV 检测试剂盒,其中低危型含有 HPV 6、11 亚型,高危型含有 HPV 16、18、31、33、45、52、56、58 等亚型。仪器使用中山大学达安基因股份有限公司的 7600 型实时荧光扩增仪,所有操作均按照试剂盒说明书进行。

2 结 果

对 2 162 例女性进行 HPV-DNA 检测,其中 HPV 6/11 检出 47 例阳性,阳性率为 11.78%(47/399),HPV 16/18 检测 201 例阳性,阳性率为 11.40%(201/1 763),见表 1。

表 1 2 162 例女性 HPV 检出情况

年龄组(岁)	HPV 6/11		HPV 16/18	
	n	阳性 n(%)	n	阳性 n(%)
18~35	288	36(12.50)	1 338	160(11.96)
>35~50	104	10(9.62)	417	38(9.11)
>50	7	1(14.29)	8	3(37.50)
合计	399	47(11.78)	1 763	201(11.40)

3 讨 论

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,在全球女性恶性肿瘤中其发病率仅次于乳腺癌,在发展中国家则居首位。据资料显示,我国目前宫颈癌患者约 40 万,每年新增患者超过 13 万,每年有 3~5 万女性死于宫颈癌,死亡率为 11.34%,居女性死亡率之首^[3]。国际癌症研究中心(IARC)专题讨论会 1995 年明确提出,HPV 感染是宫颈癌的主要危险因素。现在流行病学资料结合实验室的证据已经确定了 HPV 与宫颈癌的病因关系,几乎所有的宫颈癌是由致癌性 HPV 引起的。据文献报道,约 90%感染 HPV 患者能自然清除病毒,而当人体免疫抑制或免疫缺陷时,生殖器 HPV 感染和相关疾病的发生率均增加^[4]。流行病学和生物学资料证明,高危型 HPV 感染是宫颈癌和癌前病变的主要原因,于是高危型 HPV 检测被临床广泛应用。Bosch 等^[5]收集来自 22 个国家 1 008 份宫颈癌活检标本进行 PCR 检测,发现 93%的肿瘤都可以检测出 HPV-DNA,而且各国间无显著差异;大量流行病学资料显示,高危型 HPV 感染是宫颈癌及其病变发生的必要条件。因此,宫颈上皮的 HPV 检测对癌前病变的早期预防和治疗具有重要

意义。

乳头状瘤病毒具有高度组织特异性和宿主特异性,至今尚不能在体外培养,又无合适的实验动物,因而对其检测主要依赖于形态学方法和分子生物学技术。据 Sankaranarayanan 等^[6]报道,印度奥斯马纳巴德地区的 HPV-DNA 检测阳性率为 10.3%,通过 HPV 检测能发现 9/1 000 的女性宫颈有高度的癌前病变,与对照组相比,HPV 筛查可以显著降低(50%)晚期宫颈癌的发生率和死亡率。

本组数据显示,HPV 6/11 型阳性率为 11.78%,比王丽和马杰^[7]报道的 624 例患者 HPV 6/11 感染率 26.3% 低。目前有研究证实,HPV 6/11 型主要引起尖锐湿疣等良性病变,感染癌变的可能性小,HPV 16/18 的感染率为 11.40%,比王丽和马杰^[7]报道的 624 例患者 HPV 16/18 感染率 8.3% 略高,而远低于曾维英等^[8]报道的 192 例就诊者宫颈拭子检测 16/18 型的阳性率 28.1% 的结果,这种差异可能是由于本院检测人群的差异引起的。在疑似宫颈癌及 CIN 患者中,以检测到高危型 HPV 为主。在低危型 HPV 检测中发现 3 个年龄组之间的阳性率并无太大差异,而高危型 HPV 感染中,50 岁以上的阳性率较高,可能提示年龄大的妇女感染高危型乳头瘤病毒的概率较高,提示高龄妇女可能患宫颈癌及 CIN 概率大,也可能是因为 50 岁以上妇女标本太少,数据不够全面,有待今后观察和分析。

高危型 HPV 感染与宫颈癌前病变及宫颈癌发病密切相关,临床上可以作为宫颈癌传统细胞学筛查方法的有效补充;筛查能够有效地从无症状妇女中检查出癌前病变,但是任何有效的筛查策略的关键因素是对筛查阳性的妇女进行随访,以保证对癌前病变的合适处理,对有高危型 HPV 感染没有细胞学和组织学改变的患者也应该定期随访。

(上接第 2319 页)

3 讨 论

3.1 AFP 是实验室诊断原发性肝癌的重要指标,CEA 则对直肠癌的诊断有重要价值^[2],准确测定患者血清中两者的含量对临床诊断有一定意义。医院检验科一般都同时使用多台不同型号的各种仪器进行标本检测分析,各仪器都有各自独立的试剂系统和质控系统,以质控物对分析仪进行测定只是了解单台仪器测定结果,而各自专用的定值质控物不能相互使用,无法反映各仪器检测结果的一致性。室间质评也只是针对每种型号仪器的检测结果进行比较,无法对不同型号仪器间的结果进行评价。只有用新鲜标本定期在不同检测系统之间进行可比性研究,才能发现系统偏倚^[3]。因此,本文参照 NCCLS-EP9A 方案,以参加卫生部临床检验中心室间质评成绩合格的 e601 电化学发光仪为参比仪器,以 TRFIA 时间分辨仪为测定仪器进行比对测试。

3.2 根据测试结果,以 e601 的结果为自变量 X,以 TRFIA 的结果为因变量 Y,计算每台仪器 2 个项目的相关系数(r)和回归方程,以 $r^2 > 0.95$ 为相关性良好。本实验数据的可接受性判断可通过 r 或 r^2 作粗略估计,如 r 和 r^2 均大于 0.95,说明实验数据分布范围合适,直线回归统计的斜率和截距可靠,实验方法精密度较好。本实验两种仪器检测的 40 份标本 AFP 与 CEA 2 个项目结果无差异($P > 0.05$)(表 1),相关性密切($r > 0.976$)(表 2),根据回归方程计算各参数在给定医学决定水平(X_c)处的预期偏倚和相对偏倚,以不同 X_c 允许误差的限值与预期偏倚值判断各项目的偏倚是否可以接受。参照卫生部临

参考文献

- [1] 乌兰娜,吴瑞芳,周艳秋,等.人乳头瘤病毒基因型与宫颈病变的关系[J].中国妇产科临床杂志,2005,6(5):346-350.
- [2] 薛志雯.人乳头瘤病毒与宫颈癌[J].齐齐哈尔医学院学报,2008,30(5):583-585.
- [3] 马丁.建立中国妇女宫颈癌诊疗平台[J].中国妇儿医疗保健动态,2004,10(5):11.
- [4] 梁新郁,郑容,周伟,等.生殖泌尿道的 HPV(6/11)型和 HPV(16/18)型检测及结果分析[J].实用医技杂志,2008,15(13):1679-1680.
- [5] Bosch FX,Manos MM,Munoz N,et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer;a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. [J]. J Natl Cancer Inst,1995,87(11):796-802.
- [6] Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, et al. HPV screening for cervical cancer in rural India[J]. N Engl J Med,2009,360(14):1385-1394.
- [7] 王丽,马杰.人乳头瘤病毒(HPV)6/11、16/18 型检测及结果分析的临床意义[J].分子诊断与治疗杂志,2010,2(1):35-36.
- [8] 曾维英,郑和平,黄进梅,等.性病门诊 192 例就诊者宫颈拭子 HPV 检测结果分析[J].岭南皮肤性病杂志,2005,12(1):29-30.

(收稿日期:2011-05-27)

床检验中心推荐采用的参考方法的允许偏倚范围 AFP、CEA 分别为靶值 $\pm 20\%$ 、 $\pm 20\%$ ^[4],表明 CEA 和 AFP 2 个项目检测结果的偏倚均在允许范围(表 3),检测结果是一致的,具有可比性,完全符合临床需要。

3.3 随着检验医学的发展和对实验室质量要求的提高,人们越来越关注各检测系统间检测结果的相关性。为确保不同检测系统或同一检测系统的不同仪器检测结果的可比性,各实验室应建立适合自己检测系统的质控品参考值,并进行仪器间的比对,使同一标本在不同仪器间的检测结果保持一致性,为临床诊断提供可靠的依据。

参考文献

- [1] National Committee for Clinical Laboratory Standants. EP9-A2:Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples,Approved Guideline[M]. 2nd. Wayne : NCCLS,2002.
- [2] 王兰兰,吴健民.临床免疫学与检验[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2007:7.
- [3] 李涤生.临床检验基础[M].北京:人民卫生出版社,1995.
- [4] 杨有业,李秀明.临床检验方法学评价[J].北京:人民卫生出版社,2008:

(收稿日期:2011-05-27)