

HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪检测人乳头状瘤病毒分型的观察

邹 敏, 谢春艳, 谭初珍(广东省乐昌市人民医院检验科 512201)

【摘要】 目的 探讨 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪在检测人乳头状瘤病毒(HPV)分型中的临床价值, 从而为临床提供借鉴意义。**方法** 选取该院妇科 2012 年 9 月至 2013 年 7 月收治的宫颈病变患者 300 例, 对其采用 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪对 HPV 进行分型检测, 同时将其中的 100 例和细胞病理学诊断结果进行比较。**结果** 300 例患者中检测结果显示 HPV 为阳性者 90 例, 阳性率 30%, 具体检测结果为 HPV 亚型 21 种, 检出率比较高的亚型分别是 16、11、58、52 等。且宫颈病变程度越高, HPV 的检出率则越高, 宫颈上皮内瘤样变(CIN) I 16 例, CIN II 18 例, CIN III 24 例。**结论** HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪不但可以提高 HPV 的检出率, 而且还可以降低假阴性率, 目前是一种有效的 HPV 分型的诊断方法。

【关键词】 宫颈上皮内瘤变; HybriMax; 人乳头状瘤病毒

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.10.049 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)10-1408-02

有相关报道指出, 人乳头瘤状病毒(HPV)感染是造成宫颈上皮内瘤变(CIN)的主要因素, 且由于 HPV 亚型的不同, 造成的后果也存在着差异, 所以对 HPV 进行分型检测在防治宫颈癌以及 CIN 方面具体显著意义^[1-3]。为了能够探究 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪在分型检测 HPV 上的价值, 并且对这种方法是否能够应用于临床治疗, 以及临床治疗是否科学、安全, 为此本院对这种方法的临床型试验进行研究, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院在 2012 年 9 月至 2013 年 7 月收治的宫颈病变患者 300 例, 年龄 23~65 岁, 平均(36.4±12.4)岁。所有患者均符合宫颈病变的病理判断。该组患者液基细胞学检测出现异常(ASC-US 及以上)的用 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪进行 HPV 检测, 同时将其其中 100 例患者的检测结果和宫颈细胞病理学诊断结果进行比较, 以病理学诊断作为标准将 100 例患者进行分组, 具体为细胞学正常者 16 例, CIN I 者 18 例, CIN II 者 26 例和 CIN III 者 24 例, 宫颈癌患者 8 例, 非特异炎症患者 8 例。

1.2 仪器 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪, DNA 提取试剂盒和 HPV 分型检测试剂盒, 由潮州凯普生物科技有限公司研制。DNA 扩增仪由广州中山达安公司提供。

1.3 HPV 检测^[4] 本研究采用核酸分子快速导流杂交基因芯片即医用核酸分子快速杂交仪的方法检测 HPV 感染:(1)标本采样要求患者采集前 3 d 内不使用阴道内药物或对阴道进行冲洗; 24 h 内没有性行为; 非月经期。窥阴器暴露宫颈, 将宫颈刷置于宫颈口, 轻轻搓动宫颈刷使其顺时针方向转 5 圈, 慢慢取出后放入标有患者编号的已加有专用细胞保存液的取样管中, 立即送检或 4℃ 保存 4 d 内检测。(2)DNA 分离提取采用凯普基因组提取试剂盒进行 DNA 分离提取。(3)聚合酶链反应(PCR)扩增采用 DNA 扩增试剂盒进行。(4)杂交及显色采用 HPV 核酸扩增分型检测试剂盒在 HybriMax 杂交仪内进行杂交及显色反应。

1.4 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪检测原理 在扩增病毒基因的 DNA 基础上, 采用核酸分子快速导流杂交技术将

目的分子导流经低密度基因芯片薄膜穿过, 低密度基因芯片薄膜上装有 DNA 探针, 当目的分子穿过时就出现了杂交。作者选取的 HPV 分型检测仪能够检测出 20 种左右的 HPV 基因型, 除了常见的高危型还可以检测出低危型。

1.5 结果判断 检测结果阳性点为肉眼清晰可见的蓝紫色圆点, 根据膜条 HPV 分型分布图(试剂盒提供)判断结果。Biotin 对照点及内对照点出现清晰可见的蓝紫色圆点为实验有效, 否则视为实验无效。

1.6 统计学处理 使用 SPSS11.0 统计软件进行分析, 计数资料以率表示, 采用 χ^2 检验对相关数据进行比较分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 300 例患者中检测结果显示 HPV 为阳性者 90 例, 阳性率 30%, 具体检测结果为 HPV 亚型 21 种, 检出率比较高的亚型分别是 16、11、58、52 等, 其中单型感染 176 例(58.67%), 多型感染 124 例(41.33%)。见表 1。

表 1 HPV 感染的亚型分布构成比

HPV 亚型	株数(n)	构成比(%)
HPV16 型	82	11.13
HPV11 型	73	9.91
HPV52 型	68	9.23
HPV58 型	64	8.68
HPV6 型	62	8.41
HPV33 型	51	6.92
HPV18 型	49	6.64
HPV68 型	46	6.24
HPV53 型	37	5.02
HPV31 型	32	4.34
CP8304 型	27	3.66
HPV66 型	24	3.25
HPV45 型	22	2.98

续表 1 HPV 感染的亚型分布构成比

HPV 亚型	株数(n)	构成比(%)
HPV39 型	19	2.57
HPV56 型	16	2.17
HPV59 型	14	1.89
HPV42 型	12	1.62
HPV35 型	12	1.62
HPV51 型	11	1.49
HPV44 型	9	1.22
HPV43 型	7	0.94
合计	737	100.00

2.2 100 例患者的 HybriMax 检测结果 宫颈病变程度越高, HPV 的检出率则越高。HybriMax 医用核酸分子快速杂交检测仪检测结果显示: 细胞学正常者占 25% (4/16), 宫颈癌者占 75% (6/8), CIN I 者占 44.4% (8/18), CIN II 者占 53.8% (14/26), CIN III 者占 87.5% (21/24)。细胞学异常的各组 HPV 阳性率都比细胞学正常组高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨 论

近年来 CIN 的发病率呈现升高的趋势, 因此引起了医学界对 CIN 治疗诊断的广泛关注。但是在临床治疗的过程中, CIN 的形态学变化并不能直接观察, 所以在治疗上具有难度^[5-7]。通过检测 HPV 可以在一定程度上帮助临床诊断, 有效提高检出率。同时检测 HPV 有利于及时诊断病情, 采取相应的治疗手段予以干预, 提高治愈率, 降低病死率^[8]。

研究发现, HPV 在年轻妇女中的感染率最高, 而且感染率较高的年龄分布在 18~28 岁。虽然目前研究并没有表明年轻妇女感染 HPV 的程度, 但是 HPV 的感染与年龄和性行为习惯有关。在感染的 HPV 中, 通过自身的免疫系统, HPV 的病毒能够在短时间内消除, 使患者恢复正常。其中低危型感染患者在 18 个月左右会痊愈, 大部分 HPV 被清除。但是高危型 HPV 的感染率高, 而且主要分布的年龄为 20~30 岁。随着年龄的增长, HPV 的感染率逐渐下降。35 岁后 5%~10% 患者为高危 HPV 持续感染状态^[9]。对于 HPV 感染的阳性率在 40 岁之后是否开始上升或下降还存在一些争议, 尚需更详细的资料加以验证^[10]。

此次研究采用 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪对 HPV 进行了分型检测, HPV 阳性率达到 30%, 共检出 HPV 亚型 18 种, 排名靠前的依次为 16、52、58 等符合国内相关专家的报道, 提示 HybriMax 对 HPV 分型的检出率较为准确。在 300 例妇女中, 不同宫颈病变的 HPV 阳性检出率差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。HPV 无包膜, 属于双链 DNA, 1995 年 IARCA 专题讨论会认为, 宫颈癌发生的主要原因是 HPV 感染。因此根据其致癌的危险性, 将 HPV 分为高危型和低危型两类, 其中高危型主要包括 HPV66、59、58、56、52、51、45、39、35、33、31 以及 18、16、68 型, 低危型则主要包括恶化概率低, 与性病湿疣等有关的如 44、43、42、11、6 型, CP8304 属于不确定型。HPV 的感染型别因地域和病理类型不同而呈现差异, 本研究显示的 300 例女患者中, 宫颈病变的主要原因在于多型

别 HPV 感染的比例较高。一般认为, 高危型比低危型 HPV 检出率高 5.0%, 因此可以认为宫颈病变程度越高, HPV 的检出率也相对越高。针对 HPV 的检测应该与细胞学检测联合应用, 该方法在妇科宫颈癌“三早”预防中具有重要的意义, 可以有效提高筛查的价值。随着 HPV 宫颈病变程度的加深, 阳性率也会增高, 同时细胞学异常的各组 HPV 阳性率都比细胞学正常高, 反映了高危型 HPV 感染和 CIN 的发生有着较为密切的联系^[5]。

对 HPV 的预防主要是防止性接触传播, 性生活时建议使用避孕套, 可以帮助预防 HPV 的传播。多年的临床实践证明, 使用避孕套的男性要比那些偶尔使用避孕套或者从来没有使用过避孕套的男性患上生殖疣的概率低^[11-12]。临床研究还显示, 包皮切除术对于抵抗 HPV 的感染也能够起到显著的保护作用。因为多数的子宫颈癌都和 HPV 的感染有关, 因此子宫颈癌的筛查也是极为重要的。它可以在肿瘤扩散之前就得到早期的发现和治疗^[13-14]。总之做好定期检查工作在预防 HPV 方面是必不可少的。对于 HPV 的治疗, 目前还没有发现治愈的方法, 治疗的目的也只是起到缓解的作用, 一般采取的药物为凝胶、5% imiquimod 软膏, 除此之外激光也适用于治疗。

综上所述, HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪不但可以提高 HPV 的检出率, 而且还可以降低假阴性率, 该方法是一种有效的 HPV 分型的诊断方法, 值得在临床上推广。

参考文献

- [1] 陈仲波, 朱宛青, 俞华, 等. 1169 例宫颈癌患者人乳头状瘤病毒感染状况分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(6): 809-811.
- [2] 张建国, 周杨杨, 程建平, 等. 328 例宫颈病变妇女高危型人乳头瘤病毒感染及基因型分析[J]. 临床输血与检验, 2011, 13(2): 117-120.
- [3] 陈东晓, 朱远丰. 负载 HPV16E6 基因树突状细胞疫苗的构建[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(15): 1185-1186.
- [4] 陈玲, 赵银玲, 耿晓星. HPV 感染种系型别与宫颈癌变的相关性研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(10): 874-877.
- [5] 郭兰英, 孟和, 张明. 蒙古族门诊体检女性 220 例 HPV 检测结果分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(24): 1925.
- [6] 宋丽君, 陈春丽, 罗淑桂. HPV 基因分型检测与宫颈病变的相关性研究[J]. 检验医学, 2012, 27(3): 163-166.
- [7] 亚力坤, 穆罕默德, 刘开江. HPV 在宫颈炎, 宫颈癌前病变, 宫颈癌中的检测及意义[J]. 新疆医科大学学报, 2010(2): 160-162.
- [8] 程静新, 姚立丽, 沈谷群, 等. p16INK4A 蛋白及 HPV 感染与宫颈上皮内瘤变和宫颈鳞癌的关系研究[J]. 现代妇产科进展, 2011, 20(8): 624-627.
- [9] 罗招云, 杨立业, 翁妙珊, 等. 潮州地区人乳头瘤病毒型别分布特征分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2011, 3(3): 177-180.
- [10] 刘桂依, 黄艳美. TCT 联合 DNA 定量细胞学检查对宫颈病变临床诊断价值研究[J]. 临床和实(下转第 1411 页)

表 3 PSD 组和 CON 组研究对象 BDNF 和炎症因子对比($\bar{x} \pm s$)

组别	BDNF(ng/mL)	hs-CRP(mg/L)	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-6(pg/mL)	IL-8(pg/mL)	IL-10(μ g/mL)
PSD 组	9.1 \pm 2.5	4.7 \pm 1.1	37.6 \pm 5.2	0.5 \pm 0.3	19.4 \pm 3.9	32.3 \pm 6.1	7.5 \pm 2.7
CON 组	16.6 \pm 5.1	0.8 \pm 0.3	7.1 \pm 2.4	0.2 \pm 0.1	4.6 \pm 1.8	10.7 \pm 2.5	16.9 \pm 4.6
<i>t</i>	13.205	34.205	53.255	9.487	34.456	32.765	17.623
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表 4 脑卒中后抑郁患者血清 BDNF 与炎症因子相关性分析

炎症因子	相关系数 r_s	<i>P</i>
hs-CRP	-0.357	0.011
TNF- α	-0.306	0.025
IL-1 β	-0.431	0.002
IL-6	-0.372	0.029
IL-8	-0.495	0.008
IL-10	0.428	0.017

3 讨 论

脑卒中后脑组织损伤可引起去甲肾上腺素和 5-羟色胺水平下降,导致患者发生认知和情感障碍,从而发生脑卒中后抑郁等症状。研究证实,神经递质水平可反映脑卒中后抑郁的病情及预后^[4]。BDNF 可与受体酪氨酸激酶(TrkB)结合后发挥神经元的营养作用营养神经元的功能,可降低内源性和外源性损伤对神经元的伤害,同时营养支持 5-羟色胺神经元及多巴胺神经元,促进神经递质及其他神经营养因子的合成,体内外试验均证实患者皮质 BDNF 和 TrkB 蛋白的表达减少与脑卒中后抑郁发病机制直接相关,抗抑郁药物可增加 BDNF 的水平,从而发挥治疗作用^[5-6]。本研究中,脑卒中后抑郁患者血清 BDNF 水平明显低于健康者,证实脑卒中后抑郁患者血清 BDNF 的低水平状态与其病情及预后紧密相关。

脑卒中后炎症反应主要表现为炎症细胞浸润剂小胶质细胞激活,导致神经元坏死及活性氧自由基产生,激活炎症级联反应,反馈促进炎症因子及趋化因子的分泌,导致炎症细胞释放白细胞介素及肿瘤坏死因子显著增加,这些炎症因子被公认与卒中后抑郁病情及预后直接相关。目前报道的与之相关的炎症因子包括 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 IL-10,其中 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 为促炎因子,IL-10 为抑制炎症因子^[7]。本研究中,脑卒中后抑郁患者血清 IL-10 明显低于健康者,hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 均明显高于健康者,证明促炎症因子和抑制炎症因子平衡失调在脑卒中后抑

郁发病机制中的临床意义;进一步相关性分析表明 BDNF 与 hs-CRP、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 均呈负相关($r_s < 0, P < 0.05$),与 IL-10 呈正相关($r_s > 0, P < 0.05$),这些证据表明 BDNF 与炎症因子的密切相关。基于炎症因子与脑卒中后抑郁的关系及 BDNF 与脑卒中后抑郁的关联,推测 BDNF 可能与炎症因子类似,具有评估脑卒中后抑郁患者病情及预后的临床价值。值得关注的是,本研究仅通过间接证实 BDNF 在脑卒中后抑郁中的价值,BDNF 与炎症因子间是否有直接作用关系有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 刘晓洁,梅志刚,王明智,等.胆碱能抗炎通路:缺血性脑卒中炎症反应的可能调节机制[J].中国老年学杂志,2013,33(5):1211-1214.
- [2] 王建平,刘晓芳.脑源性神经营养因子及其通路相关蛋白与卒中后抑郁的关系[J].中华行为医学与脑科学杂志,2013,22(3):286-288.
- [3] 陈贵海.炎症与缺血性脑卒中[J].中华神经科杂志,2010,43(8):531-533.
- [4] 关键.靶向室管膜区胶质的脑源性神经营养因子治疗大鼠脑缺血卒中的实验研究[D].北京:北京协和医学院,2012.
- [5] 丁兆生,周芳,林马明,等.氟西汀对缺血性脑卒中患者血清脑源性神经营养因子水平的影响及临床疗效观察[J].实用临床医药杂志,2012,16(24):17-19.
- [6] 李云,郭旭,李永刚.脑卒中后抑郁大鼠额前皮质脑源性神经营养因子和酪氨酸激酶受体 B 蛋白的表达变化[J].中华行为医学与脑科学杂志,2013,22(6):507-509.
- [7] 陈岩,郭荷娜,李伟,等.炎症前因子在缺血性脑卒中早期病情进展中作用研究[J].陕西医学杂志,2012,41(11):1462-1463.

(收稿日期:2013-11-18 修回日期:2014-02-05)

(上接第 1409 页)

验医学杂志,2011,10(7):514-515.

- [11] 王瑜敏,陈洁,周武,等.温州地区宫颈疾病妇女人乳头状瘤病毒感染现状分析[J].中华医院感染学杂志,2010,20(19):2958-2960.
- [12] 伍金华,吴艳梅,牛映红.血红蛋白和宫颈黏液对人乳头状瘤病毒分型的影响[J].检验医学与临床,2012,9(10):1180-1182.

- [13] 杨琴,吕连华.导流杂交基因芯片技术检测人乳头状瘤病毒基因分型的观察[J].临床误诊误治,2012,25(7):99-100.
- [14] 程静新,袁敏,沈谷群,等.人乳头状瘤病毒感染与新疆地区宫颈病变的关系[J].中国妇幼保健,2010,25(29):4185-4187.

(收稿日期:2013-10-23 修回日期:2013-12-25)