

陕西地区宫颈病变妇女 HPV 感染状况研究^{*}

李 军¹, 梅广安², 王一羽¹, 田小飞³, 闫 涛³, 王 平³, 南 星¹, 柳 璞¹, 原 荣¹, 王国庆³, 付玉兰³
(1. 陕西省肿瘤医院基础研究室, 西安 710061; 2. 陕西省妇科肿瘤中心, 西安 710061; 3. 陕西省计划生育指导所, 西安 710065)

【摘要】 目的 研究陕西省妇女宫颈不同病变人乳头状瘤病毒(HPV)感染状况及亚型分布特征。**方法** 采用聚合酶链反应(PCR)体外扩增和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术, 对 1 871 例宫颈不同病变脱落细胞标本进行 HPV 基因分型检测。**结果** 单一型别 HPV 感染在健康人群中前 6 位亚型为 81、52、16、58、43 和 33 型; 慢性宫颈炎为 16、81、43、42、11 和 58 型; 宫颈上皮内瘤变(CIN)为 16、52、58、33、56 和 81 型; 宫颈鳞癌为 16、58、18、52、33 和 56 型。多重感染中 HPV16 亚型最为常见, 占 35.55%; 其次为 52 和 58 型, 分别占 19.20% 和 17.30%。总体 HPV 多重感染常见亚型为 16、58、52、18、56 和 33 型, 共占 81.24%。在宫颈不同病变中仍以单一亚型感染最为常见, 二重感染占多重感染的 70.53%。宫颈鳞癌中主要存在 HPV 高危单一亚型(63.14%)、高危多重亚型(18.91%)和高低危多重亚型(17.95%)感染, 与慢性宫颈炎和 CIN 相比, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** HPV16、58、18、52、56 和 33 亚型均应作为陕西省 HPV 预防的重点高危亚型。

【关键词】 人乳头瘤病毒; 基因分型; 慢性宫颈炎; 宫颈上皮内瘤变; 宫颈鳞癌

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.02.010 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)02-0172-04

Study of HPV infection among women with cervical lesions in Shaanxi area^{*} LI Jun¹, MEI Guang-an², WANG Yi-yu¹, TIAN Xiao-fei³, YAN Tao³, WANG Ping³, NAN Xing¹, LIU Ying¹, YUAN Rong¹, WANG Guo-qing³, FU Yu-lan³ (1. Basic Research Room, Shaanxi Provincial Tumor Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 2. Shaanxi Provincial Gynecologic Oncology Center, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 3. Shaanxi Provincial Guidance Center of Planned Parenthood, Xi'an, Shaanxi 710065, China)

【Abstract】 Objective To investigate the human papillomavirus (HPV) infection situation and subtypes distribution characteristics among women with different cervical lesions in Shaanxi province. **Methods** The exfoliated cell specimens from 1 871 cases of different cervical lesions were detected the genotyping by adopting the gene chip technology of PCR in vitro amplification combined with reverse dot hybridization. **Results** The top 6 subtypes in single genotype HPV infection were the subtypes 81, 52, 16, 58, 43 and 33; which in chronic cervicitis were the subtypes 16, 81, 43, 42, 11 and 58; which in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) were subtypes 16, 52, 58, 33, 56 and 81 and which in cervical cancer were subtypes 16, 58, 18, 52, 33 and 56 respectively. The most common HPV subtype of multiple infection was HPV16, accounting for 35.55% and followed by HPV52(19.20%) and HPV58(17.30%). The common HPV subtypes of multiple infection in overall specimens were the subtype 16, 58, 52, 18, 56 and 33 respectively and accounted for 81.24%. The single subtype infection was still most common in different cervical lesions. The double HPV infections accounted for 70.53% of all multiple HPV infections. The HPV infection in cervical cancer included high-risk single subtype(63.14%), high-risk multiple subtypes(18.91%) and high-low risk multiple subtypes(17.95%), which showed the statistical difference compared with chronic cervicitis and CIN ($P < 0.01$). **Conclusion** The subtype 16, 52, 58, 18, 56 and 33 should serve as the focal high-risk subtypes in the HPV prevention of Shaanxi province.

【Key words】 HPV; genotyping; chronic cervicitis; CIN; cervical squamous cell cancer

人乳头瘤病毒(HPV)是一种小分子双链无包膜 DNA 病毒, 基因组约 8 kb, 可通过人体皮肤和黏膜复层鳞状上皮的微小创口入侵, 从而感染上皮基底层细胞。通常 HPV 感染没有明显症状, 难以引起人们的高度重视, 一旦病毒不能及时清除, 常出现持续性感染, 引起细胞损伤和恶性转变^[1], 导致宫颈癌的发生^[2]。目前 HPV 感染在我国十分常见, 每年约有 13 万

人发病, 几乎占世界发病患者数的 50%, 防治形势十分严峻。HPV 亚型众多, 具有明显的人口特征和地域性^[3-5], 只有确定不同地域 HPV 的亚型分布和流行特征, 才能为本地区宫颈癌的防治提供指导。本文使用 PCR-反向点杂交法对陕西省各地市妇女人群进行 HPV 基因分型检测, 主要对宫颈不同病变 HPV 感染亚型分布进行分析, 以期为本地区宫颈癌的预防提

^{*} 基金项目: 陕西省科技计划发展资助项目(2011K15-06-09)。

作者简介: 李军, 男, 硕士, 研究员, 主要从事肿瘤免疫、肿瘤标志物及肿瘤早期诊断研究。

供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 1 月至 2013 年 1 月陕西省乳腺癌和宫颈癌“两癌”筛查、陕西省机会性筛查、陕西省计划生育指导所各门诊部育龄妇女体检、陕西省单位体检和陕西省肿瘤医院就诊的妇女宫颈鳞状上皮细胞标本,选择 HPV 检测阳性的 1 871 例妇女作为研究对象,其中宫颈病变患者 1 758 例和无宫颈病变者(健康对照者)113 例。宫颈病变患者中,慢性宫颈炎 263 例(年龄 19~61 岁,平均 41.56 岁)、宫颈上皮内瘤变(CIN)342 例(CIN I 68 例,CIN II 119 例,CIN III 155 例;年龄 24~62 岁,平均 42.61 岁)、宫颈鳞癌 1 153 例(I 期 198 例,II 期 545 例,III 期 339 例,IV 期 71 例;年龄 28~69 岁,平均 44.72 岁)。纳入标准:陕西省各市、县常住人口;已婚或有性生活史 1 年以上;无宫颈锥切及子宫切除史;无全身感染或免疫性疾病;检查前 3 d 未做妇科检查、行阴道给药及性生活;智力健全,非妊娠妇女。

1.2 仪器与试剂 HPV 基因分型检测试剂由深圳亚能生物技术有限公司提供,可 1 次检测 18 种高危型(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、83)和 5 种低危型(HPV6、11、42、43、81)病毒亚型。PCR 仪为美国 ABI 公司 7500 型产品,基因检测自动阅读仪为深圳亚能生物科技有限公司 Decipher™ HPV-1000 型。

1.3 方法 采用窥阴器或阴道扩张器充分暴露宫颈,用棉拭子擦去宫颈口处分泌物,将采样宫颈刷置于宫颈口,顺时针旋转宫颈刷 4~5 圈,慢慢抽出,以获得足够的宫颈上皮细胞标本,然后沿刷柄折痕处折断刷头,将宫颈刷头部放入洗脱管中,管中装有细胞保存液,旋紧洗脱管盖,做好标本标识,保持采集管直立,放入-80 ℃冰箱保存待测。DNA 提取、PCR 扩增、杂交、孵育和显色均严格按照说明书操作,并参考文献[5]的具体步骤进行。

1.4 结果判定 显示蓝色斑点者为阳性,根据蓝色斑点有无和位置用专用阅读分析仪判断 HPV 是否感染及基因亚型,当对照膜条阳性对照点显示蓝色斑点时表示试验体系正常,检测结果准确可靠。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 宫颈不同病变 HPV 感染单一亚型分布 人群中 HPV 单一亚型感染在健康妇女中主要亚型前 6 位排序为 81、52、16、58、43 和 33 型,占 50.48%(53/105);慢性宫颈炎为 16、81、43、42、11 和 58 型,占 58.23%(138/237);CIN I 为 16、52、58、33、31 和 53 型,占 62.07%(36/58);CIN II 为 16、52、58、33、81 和 56 型,占 60.61%(60/99);CIN III 为 16、58、52、18、33 和 56 型,占 65.25%(77/118);宫颈鳞癌 I 期为 16、58、18、52、33 和 56 型,占 79.14%(110/139);II 期为 16、58、18、52、33 和 56

型,占 79.55%(280/352);III 期为 HPV16、58、18、52、68 和 33 型,占 92.39%(182/197);IV 期为 16、58、18、52、33 和 56 型,占 95.00%(38/40)。综合统计单一亚型感染前 6 位亚型排序为 16、58、18、52、33 和 81 型,占 68.33%(919/1 345)。高危单一亚型感染前 6 位亚型为 16、58、18、52、33 和 56 型,占高危亚型的 78.60%(918/1 168);低危单一亚型感染排序为 81、43、42、11 和 6 型。综合 CIN 患者 HPV 单一感染常见亚型为 16、52、58、33、56 和 81 型,占 61.82%(170/275);宫颈鳞癌为 16、58、18、52、33 和 56 型,占 79.95%(582/728)。

2.2 宫颈不同病变 HPV 多重感染亚型分布 健康对照者中多重感染(包括高危亚型多重感染和高低亚型多重感染)最常见亚型排序为 16、18、52、58、33 和 31 型,占 62.50%(10/16);慢性宫颈炎为 16、52、18、58、42 和 56 型,占 55.17%(32/58);CIN I 为 16、18、52、56、58 和 31 型,占 54.17%(13/24);CIN II 为 16、52、58、81、18 和 51 型,占 45.83%(22/48);CIN III 为 16、52、81、18、56 和 58 型,占 50.00%(45/90);宫颈鳞癌 I 期为 16、52、81、18、58 和 56 型,占 49.32%(72/146);II 期为 16、52、58、81、42 和 18 型,占 50.22%(233/464);III 期为 16、52、81、58、18 和 42 型,占 50.29%(171/340);IV 期为 16、52、18、56、58 和 42 型,占 50.68%(37/73)。综合统计 HPV 多重感染前 6 位常见亚型排序为 16、52、81、58、42 和 56 型,占 50.68%(638/1 259);低危多重感染排序为 81、42、43、6、11 型。CIN 患者 HPV 多重感染最常见亚型为 16、52、81、18、56 和 42 型,占 51.23%(83/162);宫颈鳞癌为 16、52、81、58、42 和 18 型,占 50.24%(514/1 023)。

2.3 宫颈不同病变 HPV 单一和多重感染结果 见表 1。CIN 多重感染率为 19.59%,宫颈鳞癌多重感染率为 36.86%。健康对照者与慢性宫颈炎比较,宫颈鳞癌 III 期与 IV 期比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。慢性宫颈炎与 CIN 比较,CIN 与宫颈鳞癌比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。二重感染占多重感染的 70.53%(371/526)。

2.4 宫颈不同病变 HPV 高低危单一及多重感染结果 见表 2。可见低危单一亚型感染主要出现在健康对照者(31.86%)和慢性宫颈炎(38.02%),其与 CIN(11.99%)比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$);高危单一亚型感染则在各疾病类别中均有较高的感染率,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。宫颈鳞癌中主要存在 HPV 高危单一亚型感染,占 63.14%(728/1 153);其次为高危多重亚型占 18.91%(218/1 153)和高低危多重亚型占 17.95%(207/1 153),与慢性宫颈炎和 CIN 相比,差异有统计学意义($P < 0.01$)。宫颈鳞癌无低危多重感染,其他各类疾病低危多重感染率也较低;高危多重感染率则随病变严重程度增加而逐步升高,健康对照者与慢性宫颈炎比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);慢性宫颈炎与 CIN、宫颈鳞癌比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。高低危多重感染趋势与高危多重感染基本一致。

表 1 宫颈不同病变 HPV 单一和多重感染结果[n(%)]

疾病类别	<i>n</i>	单一	二重	三重	四重	五重	六重
健康对照者	113	105(92.92)	8(7.08)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
慢性宫颈炎	263	237(90.11)	20(7.61)	6(2.28)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)

续表 1 宫颈不同病变 HPV 单一和多重感染结果[n(%)]

疾病类别	<i>n</i>	单一	二重	三重	四重	五重	六重
CIN I	68	58(85.29)	7(10.29)	2(2.94)	1(1.47)	0(0.00)	0(0.00)
CIN II	119	99(83.19)	15(12.61)	3(2.52)	1(0.84)	1(0.84)	0(0.00)
CIN III	155	118(76.13)	25(16.13)	9(5.81)	2(1.29)	1(0.65)	0(0.00)
宫颈鳞癌 I 期	198	139(70.20)	40(20.20)	13(6.57)	3(1.52)	3(1.52)	0(0.00)
宫颈鳞癌 II 期	545	352(64.59)	138(25.32)	39(7.16)	10(1.83)	5(0.92)	1(0.18)
宫颈鳞癌 III 期	339	197(58.11)	103(30.38)	27(7.96)	8(2.36)	3(0.88)	1(0.29)
宫颈鳞癌 IV 期	71	40(56.34)	22(30.98)	7(9.86)	2(2.82)	0(0.00)	0(0.00)
合计	1 871	1 345(71.88)	371(19.83)	113(6.04)	27(1.44)	13(0.69)	2(0.11)

表 2 宫颈不同病变 HPV 多重感染结果[n(%)]

疾病类别	<i>n</i>	低危单一	高危单一	低危多重	高危多重	高低危多重
健康对照者	113	36(31.86)	69(61.06)	4(3.54)	2(1.77)	2(1.77)
慢性宫颈炎	263	100(38.02)	137(52.09)	13(4.94)	7(2.66)	6(2.28)
CIN I	68	13(19.12)	45(66.18)	2(2.94)	5(7.35)	3(4.41)
CIN II	119	17(14.29)	82(68.91)	3(2.52)	9(7.56)	8(6.72)
CIN III	155	11(7.10)	107(69.03)	1(0.65)	20(12.90)	16(10.32)
宫颈鳞癌 I 期	198	0(0.00)	139(70.20)	0(0.00)	31(15.66)	28(14.14)
宫颈鳞癌 II 期	545	0(0.00)	352(64.59)	0(0.00)	98(17.98)	95(17.43)
宫颈鳞癌 III 期	339	0(0.00)	197(58.11)	0(0.00)	72(21.24)	70(20.65)
宫颈鳞癌 IV 期	71	0(0.00)	40(56.34)	0(0.00)	17(23.94)	14(19.72)
合计	1 871	177(9.46)	1 168(62.43)	23(1.23)	261(13.95)	242(12.93)

3 讨 论

为了解陕西省宫颈不同病变患者 HPV 感染的亚型分布特征,本文对 1 871 例 HPV 感染的正常宫颈和不同宫颈病变妇女人群进行研究,结果发现单一亚型感染在健康妇女和不同宫颈病变人群亚型分布均有较大差异,宫颈不同病变患者中 16 亚型均占首位。这与国外的研究报道基本一致^[6];在宫颈不同病变中其他型别分布特征则与国外报道有一定差异^[7]。对单一亚型感染总体分析发现,常见型别为 16、58、18、52、33、81 型;高危型为 16、58、18、52、33、56 型;低危型为 81、43、42 型。构成了陕西省不同宫颈病变 HPV 单一亚型 HPV 感染的流行特征。

在多重感染中 16 型亦最为常见,占 35.55%;其次为 52 和 58 型,与文献[8]报道基本一致。52 和 58 型在亚洲地区较为常见,在多重感染中亦占有重要位置,较易发生合并感染^[9]。将单一亚型和多重感染合计分析发现,总体 HPV 感染常见亚型为 16、58、52、18、56、33 型,共占 81.24%,构成了陕西省不同宫颈病变 HPV 多重感染的流行特征,也为宫颈癌预防疫苗的研究提供了参考。

有学者认为 HPV 多重感染与宫颈病变严重程度无明显相关,另有学者发现 HPV 多重感染与宫颈病变呈正相关^[10]。本文研究发现随宫颈病变严重程度增加,单一亚型感染率逐步降低,而多重感染率明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$);且多重感染亚型个数也明显增多,与文献[11]报道不尽相同。总体分析发现,单一亚型感染率为 71.88%,多重感染率为

28.11%,高于 Bhatla 等^[12]报道的 20.00%,低于 Sandri 等^[6]报道的 43.00%。说明在宫颈不同病变中仍以单一感染最为常见,且随感染亚型个数的增加,多重感染率逐步降低。与文献[13]报道亦有不同。

Spinillo 等^[14]的研究表明,HPV 多重感染发展为高度病变的风险增高 3 倍。本研究发现低危单一亚型感染率随宫颈病变严重程度增加而降低($P<0.01$),高危多重和高低危多重感染率则随宫颈病变严重程度增加而升高($P<0.01$),与文献[15-16]报道相一致。表明多型别 HPV 感染在宫颈癌前病变及宫颈癌发展中起一定的促进作用,但多重感染亚型间是否具有协同作用则尚需进一步研究。进一步分析多重感染在不同类型宫颈病变中的分布发现,低危单一和低危多重感染主要存在于慢性宫颈炎和 CIN,宫颈鳞癌中并未发现低危单一和低危多重感染,其构成比分析差异有统计学意义($P<0.01$)。而宫颈癌高危单一感染占 63.14%,明显高于高危多重(18.91%)和高低危多重(17.95%)感染($P<0.01$)。进一步说明高危 HPV 感染在宫颈癌发生中的作用。

总之,陕西省宫颈不同病变妇女人群 HPV 感染有其独特的亚型分布特征,其中 16、58、18、52、56 和 33 亚型均应作为陕西省 HPV 预防的重点高危亚型。

参考文献

[1] Lowy DR,Schiller JT.Prophylactic human papillomavirus vaccines[J].J Clin Invest,2006,116(5):1167-1173.

- [2] Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW. Multiple high risk HPV infection are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population 2004[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(1): 68-72.
- [3] Steben M, Duarte-Franco E. Human papillomavirus infection; epidemiology and pathophysiology [J]. Gynecol Oncol, 2007, 107(Suppl 1): 82-85.
- [4] 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.
- [5] 李军, 王一羽, 王平, 等. 陕西省西安地区 2 387 例 HPV 感染及亚型分布特征分析[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(12): 2838-2842.
- [6] Sandri MT, Riggio D, Salvatici M, et al. Typing of human papillomavirus in women with cervical lesions: prevalence and distribution of different genotypes[J]. J Med Virol, 2009, 81(2): 271-277.
- [7] 饶海英, 刘五高, 王艳. 人乳头瘤病毒基因型在宫颈癌及癌前病变中的分布[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(1): 121-122.
- [8] 章涛, 娄雪玲, 李彦, 等. 宫颈疾病 HPV 多重型感染的检测与分析[J]. 现代妇产科进展, 2009, 18(1): 11-13.
- [9] Trottier H, Mahmud S, Costa MC, et al. Human papillomavirus infections with multiple types and risk of cervical neoplasia[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006, 15(7): 1274-1280.
- [10] 陶萍萍, 卞美璐, 欧华, 等. 导流杂交芯片技术在人乳头瘤病毒检测中应用的研究[J]. 中华妇产科杂志, 2006, 41(3): 43-47.
- [11] 赵爱华, 张红华. 多重人乳头瘤病毒感染与宫颈癌及癌前病变的相关研究[J]. 宁夏医学杂志, 2009, 31(8): 684-686.
- [12] Bhatla N, Dar L, Rajkumar P, et al. Human papillomavirus type distribution in women with and without cervical neoplasia in north India[J]. Int J Gynecol Pathol, 2008, 27(3): 426-430.
- [13] 李宏, 苑帆, 张留苗. 人乳头瘤病毒感染临床现状及其与宫颈肿瘤的关系[J]. 中国临床研究, 2012, 25(4): 373-374.
- [14] Spinillo A, Dal bello B, Gardella B, et al. Multiple human papillomavirus infection and high grade cervical intraepithelial neoplasia among women with cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low grade squamous intraepithelial lesions [J]. Gynecol Oncol, 2009, 113(1): 115-119.
- [15] 酈卫星, 陈盼盼, 吕火祥. 人乳头瘤病毒感染分布特点以及宫颈病变的关系[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(11): 2590-2592.
- [16] 苏士海, 陈晓晴, 余坚. 人乳头状瘤病毒多重感染不同类型与宫颈病变程度的关系[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(23): 5292-5294.

(收稿日期: 2015-05-12 修回日期: 2015-08-10)

(上接第 171 页)

综上所述, 血液病患者呼吸道感染中肠杆菌科的耐药与 ESBLs 密切相关, 是导致耐药性增加的重要原因之一。血液科医生在治疗血液病患者呼吸道肠杆菌科感染时, 密切监测 ESBLs 的变化, 将有利于减少耐药肠杆菌科细菌的出现和避免引起医院感染。持续有效的抗菌药物使用管理, 能够降低呼吸道非发酵菌耐药率, 是目前减少多重耐药菌出现的最有效措施之一。同时, 规范和严格的消毒措施、正确的医疗操作也是必需的。

参考文献

- [1] Huoi C, Vanhems P, Nicolle MC, et al. Incidence of hospital-acquired pneumonia, bacteraemia and urinary tract infections in patients with haematological malignancies, 2004—2010; a surveillance-based study[J]. PLoS One, 2013, 8(3): 58121.
- [2] 郝建萍, 王蕾, 朱震宏, 等. 血液科医院感染部位及病原菌分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(19): 4208-4209.
- [3] 方碧兰, 陈蕾, 郑美娣. 血液科医院感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(24): 5643-

5644.

- [4] 陈香丽, 王连才, 郭建民, 等. 血液病房病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(2): 418-420.
- [5] Rhomberg RP, Jones RN. Summary trends for the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection program: a 10-year experience in the United States (1999—2008)[J]. Diag Microbiol Infect Dis, 2009, 65(4): 414-426.
- [6] Delgado-Valverde M, Sojo-Dorado J, Pascual A, et al. Clinical management of infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae [J]. Ther Adv Infect Dis, 2013, 1(2): 49-69.
- [7] Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update[J]. Clin Microbiol Rev, 2005, 18(4): 657-686.
- [8] 余月芳, 沈巨信. 2004~2008 年呼吸内科住院患者医院感染分析及防治对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(19): 2921-2922.

(收稿日期: 2015-05-04 修回日期: 2015-09-25)