

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.08.027

成都地区妇女宫颈人乳头状瘤病毒 HPV52/58 感染状况调查

张俊英, 杨叔哲, 邓 耀, 贺苇军

(四川省成都市妇女儿童中心医院检验科 610031)

摘要:目的 了解成都地区女性宫颈脱落细胞人乳头状瘤病毒(HPV)52/58 感染情况并提供流行病学依据。方法 采集该地区女性宫颈脱落细胞,采用 HPV 基因分型方法检测 HPV52/58 感染率、年龄特征、感染模式。结果 HPV52/58 是该地区 HPV 高危型感染前 3 位的基因型,HPV52、HPV58 感染率分别为 4.91% 和 2.46%, HPV52/58 感染率在不同年龄组差异有统计学意义($P < 0.05$),具有两个感染高峰年龄段是 < 20 岁和 ≥ 60 岁;HPV52 和 HPV58 单一感染高发年龄段分别为 $30 \sim < 50$ 岁和 $30 \sim < 60$ 岁,HPV 52-高危型混合感染率在 ≥ 60 岁最高(均 $P < 0.05$),HPV58 低危型混合感染率在 < 20 岁高于其他年龄(均 $P < 0.05$),HPV52 最常与 16、58、81、53、51 构成多重感染,HPV58 最常与 52、16、81、53、51 构成多重感染。结论 我国疫苗的覆盖类型有必要考虑到 HPV52/58,加强高危年龄段女性宫颈癌筛查及预防性 HPV52/58 疫苗使用,有效降低 HPV 感染率。

关键词:人乳头状瘤病毒; 感染状况; HPV52/58; 成都地区

中图法分类号:R711.74

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)08-1143-04

Investigation of human papillomavirus HPV52/58 infection in women in Chengdu area

ZHANG Junying, YANG Shuzhe, DENG Yao, HE Weijun

(Department of Clinical Laboratory, Women and Children's Hospital of Chengdu, Chengdu, Sichuan 610031, China)

Abstract: Objective To investigate the prevalence of human papillomavirus HPV52/58 infection in female cervical exfoliated cells in Chengdu area, and to provide epidemiological evidence for HPV52/58 infection. **Methods** The female cervical exfoliated cells were collected in Chengdu area. The HPV52/58 infection rate, age characteristics and infection patterns were detected by HPV genotyping. **Results** HPV52/58 is in the top three in Chengdu, HPV52, HPV58 infection rates were 4.91% and 2.46%, the infection rate of HPV52/58 was statistically significant difference in different age group ($P < 0.05$), HPV52/58 had two infection peak age which were under 20 years and more or equal to 60 years old, HPV52 and HPV58 single infection age were $30 \sim < 50$ and $30 \sim < 60$ years old, HPV 52-high-risk mixed infection rate was the highest in more or equal to 60 years old ($P < 0.05$), low risk HPV58-mixed infection rate in less than 20 years old was higher than that of other age ($P < 0.05$), HPV52 was the most common with 16, 58, 81, 53, 51 the combination of multiple infections, HPV58 was most common with 52, 16, 81, 53, 51 combined into multiple infections. **Conclusion** In our country, it is necessary to take into account the HPV52/58 vaccine, to strengthen the high-risk age women cervical carcinoma screening and the use of HPV52/58 vaccine in order to effectively reduce the rate of HPV infection.

Key words: human papilloma virus; Infection status; HPV52/58; Chengdu area

高危型人乳头状瘤病毒(HPV)感染可能造成女性高风险的宫颈癌病变。调查研究发现,HPV16、18 是世界范围内主要感染的基因亚型,可导致 70% 宫颈癌病例,排名 3~8 位的基因型分别是 HPV33、45、31、58、52、35,而亚洲地区 HPV52/58 为常见感染的基因亚型^[1-2]。CHAN 等^[3]统计全世界 HPV52/58 所致的宫颈病变 Meta 分析指出亚洲 HPV52/58 所致宫颈病变高于其他地区(美洲、欧洲、非洲、大洋

洲),东亚 HPV52/58 感染显著高于亚洲其他地区(东南亚、南亚、西亚)。本文回顾分析 2012 年 7 月至 2016 年 6 月成都地区女性 HPV 宫颈癌筛查生殖道标本共 58 650 例,旨在对宫颈癌的筛查和相关疫苗的开发起到一定的作用,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 7 月至 2016 年 6 月来本院做孕前检查或常规体检女性 58 650 例,年龄 13~

78 岁, 平均年龄 32.56 岁, 以 20~29 岁居多占 39.60%。

1.2 仪器与试剂 仪器包括 Hema9600 梯度基因扩增仪、YN-H16 恒温杂交仪, 采用亚能生物公司人乳头瘤病毒基因分型(23 型)检测试剂盒(PCR 反向点杂交法)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 采用亚能公司提供的专用 HPV 取样器深入宫颈口内 2~3 cm 采集女性宫颈脱落细胞, 顺时针旋转 3~5 周, 停留 10 s 后慢慢取出取样器放入装有保存液的标本管中, 旋紧管盖, 送检。

1.3.2 检测目的 HPV 基因分型采用基因芯片检测技术检测 23 种 HPV 基因型, 包括 18 种高危型(16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82、83 型)和 5 种低危型(6、11、42、43、81 型)。

1.3.3 试验步骤与结果判断 严格按试剂盒的操作规程进行, 首先提取标本中的 HPV-DNA, 再进行 PCR 体外扩增, 随后将扩增产物与固定在膜上的 23 种 HPV 亚型探针杂交, 再通过洗膜, 然后显色, 最后结果判断。通过肉眼判断杂交信号的有无确定是否存在 HPV 感染, 阳性点为蓝色, 每一条膜条上都有 PCR 反应质控点和杂交显色点各一个, 质控点不显色提示试剂失效或操作有误, 需重新试验, 出现多个阳性点判为多重感染。

1.4 统计学处理 采用 Excel2007 统计处理数据, 组间标本率的比较采用 χ^2 检验分析数据, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 58 650 例宫颈脱落细胞 HPV52/58 检出结果 共 12 399 例受检者感染 HPV, 总感染率 21.14%, 18 种高危型感染率排例前 5 位的依次是 HPV52

(4.91%)、HPV16 (2.92%)、HPV58 (2.46%)、HPV53 (1.96%)、HPV51 (1.84%), HPV52 和 HPV58 顺序分别为第 1 位和第 3 位。

2.2 HPV52/58 随年龄分布情况

2.2.1 不同年龄 HPV52/58 检出结果 在 <20 岁、20~<30 岁、30~<40 岁、40~49 岁、50~<60 岁、≥60 岁年龄段女性 HPV52 感染率分别为 7.86%、5.38%、4.57%、4.36%、4.89%、8.13%, HPV58 感染率分别为 6.29%、2.53%、2.21%、2.47%、2.82%、6.16%, <20 岁和 ≥60 岁年龄组的 HPV52/58 感染率高于其他年龄组(均 $P < 0.05$), HPV52/58 感染率随年龄曲线呈 U 型分布, 具有两个感染高峰年龄段是 <20 岁和 ≥60 岁。

2.2.2 不同年龄组 HPV52/58 单一感染及与高危型和低位型混合感染情况 HPV52 单一感染中, 在 30~<50 岁一重感染率最高(均 $P < 0.05$), 30~<40 岁和 40~<50 岁与其他年龄比较(均 $P > 0.05$), <20 岁和 ≥60 岁年龄组感染率最低(均 $P < 0.05$); HPV58 一重感染随年龄先低后升高最后降低(<20 岁最低, 在 30~<40 岁最高, 在 ≥60 岁降到最低点), HPV58 一重感染在 30~<60 岁(HPV58 在 30~<40 岁、40~<50 岁、50~<60 岁比较, 均 $P > 0.05$)感染率高于其他年龄(均 $P < 0.05$), <20 岁和 ≥60 岁感染率最低(均 $P < 0.05$)。HPV52/58 与高危型和低位型混合感染中, HPV52 高危型混合感染在 ≥60 岁感染率最高(均 $P < 0.01$), HPV52 低危型混合感染率随年龄分布曲线差异无统计学意义($P > 0.05$), HPV58 高危型混合感染率随年龄曲线差异无统计学意义($P > 0.05$), HPV58 低危型混合感染在 <20 岁感染率高于其他年龄(均 $P < 0.05$), 见表 1。

表 1 HPV52/58 不同年龄组不同感染模式的感染率[n(%)]

| 年龄(岁) | HPV52 | | | | HPV58 | | | |
|--------|-------|------------|------------|------------|-------|--------------|------------|-----------|
| | n | 单一感染率 | 52 高感染率 | 52 低感染率 | n | 单一感染率 | 52 高感染率 | 52 低感染率 |
| <20 | 25 | 8(32.00) | 8(32.00) | 9(36.00) | 18 | 5(27.78) | 6(33.33) | 7(38.89) |
| 20~<30 | 1 250 | 677(54.16) | 357(28.56) | 216(17.28) | 587 | 5 289(49.23) | 199(33.90) | 99(16.87) |
| 30~<40 | 927 | 600(64.72) | 211(22.76) | 116(12.51) | 448 | 282(62.95) | 109(24.33) | 57(12.72) |
| 40~<50 | 511 | 343(67.12) | 113(22.11) | 55(10.76) | 289 | 172(59.52) | 63(21.80) | 54(18.68) |
| 50~<60 | 132 | 72(54.55) | 41(31.06) | 19(14.39) | 76 | 41(53.95) | 22(28.95) | 13(17.11) |
| ≥60 | 33 | 9(27.27) | 21(63.64) | 3(9.09) | 23 | 5(21.74) | 11(47.83) | 7(30.43) |

2.3 HPV52/58 的感染模式 HPV52 感染 2 878 例, 最多十重感染, 没有九重感染病例, 具体为: 一重 1 708 例(59.35%), 二重 737 例(25.61%), 三重 279 例(9.69%), 四重 96 例(3.34%), 五重 32 例(1.11%), 六重 13 例(0.45%), 七重 7 例(0.24%), 八重 2 例(0.07%), 十重 4 例(0.14%)。HPV58 感染 1 444

例, 最多九重感染, 没有八重感染病例, 具体为: 一重 737 例(51.04%), 二重 555 例(38.43%), 三重 95 例(6.58%), 四重 32 例(2.22%), 五重 13 例(0.90%), 六重 7 例(0.48%), 七重 1 例(0.07%), 九重 4 例(0.28%)。HPV52 和 HPV58 皆以一重感染为主, HPV52 和 HPV58 多重感染中以二重感染为主分别

为 62.99% (737/1 170) 和 78.50% (279/707), 多重感染率随合并感染的型别数增加逐渐下降。HPV52 多重感染处在前 5 位基因型依次为 16、58、81、53、51, 每个基因型分别为 215、191、182、153、149 例; HPV58 多重感染处在前 5 位的是 52、16、81、53、51, 每个基因型分别为 191、105、91、78、64 例。

3 讨论

本研究 18 种高危型感染基因型与来自 3 个省大样本数据都证明了 HPV52/58 是我国女性宫颈分泌物 HPV 感染中排在前三位的位置, HPV52 感染率高于 HPV58 感染率^[4-6]。中国地域宽广, 受到地理位置和民族生活习惯影响, HPV 基因型的流行型别会有差异, 本研究 HPV52 感染率为 4.91% 与重庆^[4] 4.55%、无锡^[5] 3.09% 和山东^[6] 4.22% 基本一致; 本研究 HPV58 感染率为 2.46%, 与重庆^[4] 3.13%、山东^[6] 3.86% 和无锡^[5] 1.92% 相比, 与重庆基本一致而比无锡稍高一些, 说明成都 HPV52/58 感染率与重庆比较接近, 可能与地理位置相近有关。中国的 HPV52/58 感染率比 GUAN 等^[7] 所报道的东亚稍低一些, 东亚 HPV52 感染率为 6.1%, 2 倍于其他地区 (东南亚、南亚、西亚); HPV58 感染率为 10.2%, 4~12 倍于其他地区 (东南亚、南亚、西亚)。

HPV 感染已被公认是宫颈癌发生的确切病因^[8], HPV 感染宿主细胞, 病毒 DNA 以不同程度整合到宿主细胞, 关于 HPV52/58 整合状态与宫颈病变的关系。袁艳^[9] 指出 HPV52/58 整合状态与宫颈病变之间无显著性关系; HPV52/58 所致的宫颈癌中的 E6、E7 常常发生碱基的突变, 这种基因突变可能在宫颈鳞状上皮病变和浸润癌的进展中发挥重要功能, 正是因为 HPV 的 E6、E7 通过使宿主抑癌基因 p53 与 Rb 失去活性, 被认为是重要的致癌因子。

HPV52/58 与宫颈病变的关系, 冯余宽等^[10] 分析来自成都地区 1 226 例宫颈病变患者的基因型, 在高危型病毒感染中, HPV58 是造成宫颈炎和宫颈湿疣主要的基因型, HPV52 同样也是造成宫颈炎主要的基因型, HPV52/58 同 HPV16 一起是造成宫颈癌前病变的最主要的 3 个基因型, 特别在 CIN II 和 CIN III, HPV58 和 HPV16 的感染更为突出。CHAN 等^[3] 分析了 HPV52/58 在全世界女性 ICC 病变中感染率, HPV52 和 HPV58 亚洲感染率分别为 4.9% 和 7.9%, 明显高于其他地区 (美洲、欧洲、非洲、大洋洲), 并且 HPV52/58 感染率从 CIN II 到 ICC 病变的过程中东亚显著高于亚洲其他地区 (东南亚、南亚、西亚), 东亚 HPV52 在 CIN II、CIN III、ICC 感染率分别为 17.8%、15.2%、4.6%, 东亚 HPV58 在 CIN II、CIN III、ICC 感染率分别为 18.1%、18.0%、7.9%。为何亚洲女性 HPV52/58 感染高于其他地区, 一方面因

为遗传因素, 亚洲女性存在 HPV52 和 HPV58 的遗传易感性^[11], 另一方面亚洲女性存在 HPV52 和 HPV58 基因变种。CHAN 等^[12] 指出在含 E7 基因突变患者中有 HPV58 感染的妇女发生宫颈癌的可能性约为无 HPV58 感染妇女的 27 倍, HPV58 携带 E720i/g63s 基因突变的妇女比不携带该突变的妇女增加 6.9 倍的患癌率。

面对 HPV52/58 如此高的感染率, 预防性疫苗是降低宫颈癌的最重要的途径, 我国处在东亚的地理位置更应该重视 HPV52/58 对女性的感染, 2017 年 1 月首次在我国大陆进行 HPV16 和 HPV18 疫苗预防宫颈癌, 对其他基因型感染仅只是有限交叉保护, 对 HPV52/58 交叉保护更小^[13]。因此我国疫苗的覆盖类型有必要考虑到 HPV52/58, 可能覆盖 HPV52/58 的九价疫苗比较符合我国的国情。

HPV52/58 感染率随年龄不同, 总体来说 <20 岁和 ≥60 岁是感染的两个高峰期; 这与重庆^[6] 研究结果一致, <20 岁感染率高, 可能跟此年龄段性行为活跃、免疫系统未被致敏有关。中老年人较高的感染率认为与机体免疫力下降有关。本研究中 HPV52/58 皆以一重感染为主, 分析一重感染在不同年龄段的感染率, HPV52 在 30~<50 岁一重感染率最高, 但在 ≥60 岁 HPV52 与高危型发生混合感染最高。HPV58 在 30~<60 岁一重感染率最高, 在 <20 岁 HPV58 与低位型发生混合感染率最高。我国首次获批准的疫苗是 9~25 岁, 如果在没有感染 HPV 的女性中放宽年龄, 充分考虑到高危年龄段那部分女性获得免疫疫苗的使用, 也许更能有效降低宫颈癌的发生率, 同时根据年龄段 HPV 感染特征加强高危年龄段女性预防 HPV 知识的培训和宫颈癌筛查, 也能有效降低 HPV 感染率。

本研究 HPV52/58 多重感染中以二重感染为主, 多重感染率随合并感染的型别数增加逐渐下降, 符合高危型多重感染的一般特征, 与其他研究一致^[4-6]。多重感染是否增加宫颈癌的发生率, 目前说法不一。SANDRI 等^[14] 报道宫颈病变严重程度与 HPV 多重感染不相关, 与 HPV 亚型密切相关, 2/3 的 CIN 患者的 HPV16 阳性。LEE 等^[15] 研究显示, 单一 HPV 感染可使宫颈癌患病风险增加 19.9 倍, 而多重 HPV 感染使其风险增加 31.8 倍。HPV52/58 多重感染也可能增加宫颈癌的风险, 值得重视。

综上所述, HPV52/58 是我国最常见的基因型, 我国疫苗有必要考虑到 HPV52/58 覆盖; HPV52 和 HPV58 一重感染高发年龄段分别为 30~<50 岁和 30~<60 岁, 同时应重视多重感染严重性。

参考文献

[1] DE SANJOSE S, QUINT W G, ALEMANY L, et al. Hu-

- man papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer; a retrospective cross-sectional worldwide study [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(11):1048-1056.
- [2] BOSCH F X, BURCHELL A N, SCHIFFMAN M, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia [J]. *Vaccine*, 2008, 26(Suppl 10):K1-16.
- [3] CHAN P K, HO W C, CHAN M C, et al. Meta-Analysis on prevalence and attribution of human papillomavirus types 52 and 58 in cervical neoplasia worldwide [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9):e107573.
- [4] 李永川, 徐含青, 赵娜, 等. 重庆地区 32 882 例女性宫颈人乳头瘤病毒的感染状况调查 [J]. *第三军医大学学报*, 2016, 38(9):1031-1034.
- [5] 蔡静芬, 杨幼易. 无锡市 113 207 名妇女宫颈人乳头瘤病毒感染状况分析 [J]. *中国医药导报*, 2014, 11(7):104-107.
- [6] 王睿, 卜范峰, 田欣欣, 等. 山东地区女性人乳头瘤病毒感染亚型、多重感染情况及年龄分布差异 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2016, 29(1):57-60.
- [7] GUAN P, HOWELL-JONES R, LI N, et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: A meta-analysis from cervical infection to cancer [J]. *International Journal of Cancer*, 2012, 131(10):2349-2359.
- [8] PSYRRI A, DIMAIO D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer [J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2008, 5(1):24-31.
- [9] 袁艳. 贵州地区 8102 例就诊妇女 HPV 感染状况及 52、58 亚型存在状态研究 [D]. 贵阳: 贵阳医学院, 2013.
- [10] 冯余宽, 彭英, 朱联, 等. 四川地区 HPV 亚型及多重感染与宫颈癌前病变的关系初探 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2015, 46(3):422-425.
- [11] CHAN P S, CHEUNG J K, CHEUNG T H, et al. HLA-DQB1 polymorphisms and risk for cervical cancer: A case-control study in a southern Chinese population ☆ [J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 105(3):736-741.
- [12] CHAN P S, LAM C W, CHEUNG T H, et al. Association of human papillomavirus type 58 variant with the risk of cervical cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94(16):1249-1253.
- [13] DE VINCENZO R, RICCI C, CONTE C, et al. HPV vaccine cross-protection: highlights on additional clinical benefit [J]. *Gynecol Oncol*, 2013, 130(3):642-651.
- [14] SANDRI M T, 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.
- [15] LEE S A, KANG D, SEO S S, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA chip [J]. *Cancer Lett*, 2003, 198(2):187-192.

(收稿日期:2017-09-22 修回日期:2017-11-28)

(上接第 1142 页)

参考文献

- [1] BRAZDOVA A, SENECHAL H, PELTRE G, et al. Immune aspects of female infertility [J]. *Int J Fertil Steril*, 2016, 10(1):1-10.
- [2] RESTREPO B, CARDONA-MAYA W. Antisperm antibodies and fertility association [J]. *Actas Urol Esp*, 2013, 37(9):571-578.
- [3] AN L F, ZHANG X H, SUN X T, et al. Unexplained infertility patients have increased serum IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-21, TNFalpha, IFNgamma and increased Tfh/CD4 T cell ratio; increased Tfh and IL-21 strongly correlate with presence of autoantibodies [J]. *Immunol Invest*, 2015, 44(2):164-173.
- [4] CHALLIS J R, LOCKWOOD C J, MYATT L, et al. Inflammation and pregnancy [J]. *Reprod Sci*, 2009, 16(2):206-215.
- [5] 徐澄, 陆启滨. Th1/Th2 细胞因子失衡致复发性流产的机制及治疗 [J]. *长春中医药大学学报*, 2014, 30(5):934-936.
- [6] CHAOUAT G, ZOURBAS S, OSTOJIC S, et al. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy [J]. *J Reprod Immunol*, 2002, 53(1/2):241-256.
- [7] ZOU G M, REZNIKOFF-ETIEVANT M F, HIRSCH F, et al. IFN-gamma induces apoptosis in mouse embryonic stem cells, a putative mechanism of its embryotoxicity [J]. *Dev Growth Differ*, 2000, 42(3):257-264.
- [8] 郭辉, 王庆荣, 张朝霞, 等. 反复流产的免疫学研究进展 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2008, 16(2):127-129.
- [9] DUAN Y G, YU C F, NOVAK N, et al. Immunodeviation towards a Th17 immune response associated with testicular damage in azoospermic men [J]. *Int J Androl*, 2011, 34(6 Pt 2):e536-545.
- [10] 张建平. NK 细胞与复发性自然流产母胎免疫紊乱 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2010, 31(4):451-456, 481.
- [11] 齐卫红. 反复自然流产患者外周血及母胎界面中白细胞介素 10、8 及肿瘤坏死因子- α 的表达 [J]. *生殖医学杂志*, 2007, 16(1):52-53.
- [12] 安利峰, 胜利, 赵霏, 等. 不孕症患者外周血中 Th1、Th2 细胞因子与自身抗体产生的相关性 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, 30(5):527-529.

(收稿日期:2017-09-11 修回日期:2017-12-08)