

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.05.040

人乳头瘤病毒感染及亚型检测应用研究进展

任 妹, 何 雯 综述, 夏洪娇 审校

(1. 江西省萍乡市人民医院检验科 337000; 2. 南昌大学公共卫生学院, 江西南昌 330000)

关键词: 人乳头瘤病毒; 感染; 宫颈癌**中图分类号:** R373.9**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2019)05-0710-04

宫颈癌是妇女中常见的一种恶性肿瘤, 发病率在全国范围内排名第 2, 仅次于乳腺癌, 而导致宫颈癌前病变并转化为宫颈癌的主要危险因素是人乳头瘤病毒(HPV)的持续感染。因此, 对 HPV 本身及其致癌机制、针对 HPV 检测和预防措施的研究在宫颈癌的诊断、预防和治疗中起了十分重要的作用。本文就 HPV 的生物学特性、致癌机制、流行病学等方面作如下综述。

1 HPV 生物学特性

HPV 是一种无包膜的二十面体衣壳蛋白病毒, 为球形 DNA 病毒, 属乳多空病毒科 A 亚群, 相对分子质量 5×10^6 , 长度为 8 kb 左右, 直径约为 45~55 nm^[1]。HPV 具有明显的种属特异性和宿主特异性亲和力, 人是其唯一的宿主, 其主要感染人体的皮肤和黏膜, 导致人类皮肤、生殖道、呼吸道不同程度的病变。目前已知的有 200 多种亚型, 根据其致病性的强弱, 可分为高危型和低危型, 高危型包括 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59 等型, 与食管癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤的发生密切相关, 是宫颈癌和癌前病变的致病因素; 低危型包括 6、11、42、43 等型, 主要与外生殖器尖锐湿疣、扁平疣和低级别的子宫颈上皮非典型增生(CIN I)有关, 不引起恶性病变^[2]。

HPV 的基因组为闭合环状的双链 DNA, 约含有 8 000 个碱基对^[3], 根据功能可以将 HPV 基因组分为 3 个区, 即非编码区、早期区和晚期区。非编码区包括启动子、增强子、沉默子序列等, 含有不同转录受体和激活因子, 调控早期区和晚期区基因的复制、转录和病毒颗粒的合成; 早期区包括 E1、E2、E4、E5、E6 和 E7 6 个基因, 编码早期蛋白, 与病毒复制、转录、翻译和细胞转化等有关, 其中 E1 在病毒复制中起关键作用, E2 负性调控 E6、E7, E4 编码蛋白可结合和破坏细胞角质蛋白网, 主要作用为破坏细胞的骨架结构^[3], E6、E7 编码的蛋白对病毒的生长繁殖具有调控作用, 是 HPV 主要的致癌基因, 病毒与宿主细胞整合的位点广泛分布于整个病毒基因组, 但主要集中在 E1 和 E2 基因所在位点^[4]; 晚期区包含 L1、L2 两个基因, 编码的晚期蛋白组成病毒的衣壳, 形成完整的病毒颗粒, 所以 L1、L2 又称为衣壳蛋白或结构蛋白, 又因 L1 与 L2 的构成不同, 比值约为 30 : 1, 所以 L1 称

为主要衣壳蛋白, L2 称为次要衣壳蛋白。研究显示, 这些基因之间并不是彼此独立, 它们之间存在重叠和选择性剪切现象, 如 E2 的基因框内编码了 E2 和 E4 蛋白, 即 E2 开放阅读框(ORF)中包含了 E2 ORF^[5]。

2 HPV 与宫颈癌

宫颈癌是临床最常见的妇科恶性肿瘤, 也是目前唯一病因明确的妇科恶性肿瘤, 许多的研究都证实了 HPV 感染与宫颈癌有着密切的关系^[6]。ADENIS 等^[7]在法属圭亚那关于宫颈细胞学检查结果与 HPV 感染的相关性报道说明, HPV 感染与异常的宫颈涂片结果显著相关。全世界每年有 27 万人因宫颈癌死亡, 同时出现 53 万新发病例, 其中 85% 的病例发生在发展中国家^[8], 其主要原因在于早期病变筛查和治疗的贫乏。在我国, 2015 年的中国癌症统计报告显示, 2015 年宫颈癌新发病例估计 9.89 万例, 死亡人数 3.05 万例^[9], 这一疾病的发生给无数患者和所在的家庭带来了极大的痛苦。世界卫生组织在 1996 年将 HPV 定为引发宫颈癌的根本性致病因子, 使全世界大大加强了对 HPV 的关注力度。宫颈癌的发生、发展是一个具有阶段性的连续的发展过程, 即从宫颈上皮内瘤变(CIN)到原位癌再到浸润癌的过程, 从感染 HPV 到发展成为宫颈癌至少需要 10 年的时间, 甚至更长, 而宫颈癌的早期临床症状不清晰, 无法明确诊断, 而到了晚期又无法治愈, 同时, 癌细胞可直接向邻近组织或器官蔓延, 如膀胱、直肠等, 导致许多并发症, 随着时间的推移, 患者不仅可因宫颈癌这一主要诊断死亡, 还可因为其他疾病导致死亡^[10]。因此, HPV 的筛查对于早期诊断宫颈癌并予以尽早的治疗具有十分重要的意义。

3 HPV 致癌机制

HPV-DNA 在宿主细胞中有两种存在形式。机体感染 HPV 后, 环形 DNA 以游离在宿主细胞核中的形式潜伏存在, 通过利用宿主细胞核内的物质合成病毒衣壳蛋白, 实现病毒的繁衍。多数患者可通过自身免疫功能清除体内病毒, 只发生一过性感染, 只有少数患者由于阴道微环境改变、机体免疫功能下降等不利因素导致感染持续存在进入进展期, 病毒 DNA 以单拷贝或多拷贝串联的方式整合到宿主细胞的 DNA 中, 因其结合位点大多位于病毒基因中的 E2 基

因附近,整合导致 HPV E2 基因片段的丢失或灭活^[11]。E2 编码蛋白是一种 DNA 结合蛋白,可结合 E6、E7 启动子上特异的 DNA 识别序列,抑制 E6、E7 转录的开始,E2 基因的缺失导致癌基因 E6、E7 的过度表达,持续编码癌蛋白 E6、E7,通过影响细胞基因的稳定性、转录活性等使细胞向恶性转化。

E6、E7 基因是病毒癌基因,其编码的 E6、E7 蛋白共同调节细胞的无限增殖和转化,在病毒致癌过程中起关键作用^[3]。p53 是一种肿瘤抑制基因,当 DNA 损伤时,p53 基因表达增多,促进 p21 基因的转录,增加 p21 蛋白的合成,通过诱导细胞停滞在 G 期使细胞增殖受到抑制。E6 蛋白可与 p53 蛋白结合,依赖蛋白酶系统使其降解,导致细胞周期失控及抑制凋亡,从而使细胞过度增殖。E7 蛋白的主要功能是与另一种肿瘤抑制基因视网膜母细胞瘤蛋白(pRb)结合,使 Rb-E2F 复合物解离,从而使 E2F 发挥其转录因子的作用,导致细胞周期失控而保持过度增殖状态。

人端粒酶可维持真核细胞染色体末端端粒的长度。人端粒酶催化中心由人端粒 RNA(hTR)亚单位和一个称为人端粒酶反转录酶的蛋白(hTERT)亚单位组成。hTR 亚单位在大多数组织细胞中表达,而 hTERT 常常只在增殖的细胞中表达。E6 可激活 hTERT 的转录,同时 E7 蛋白也可诱导维持端粒酶的表达,端粒酶的激活可抑制细胞凋亡和维持端粒的长度,使细胞持续分裂增殖。

4 HPV 的流行病学

4.1 HPV 的感染率 HPV 感染具有很强的地域性,在世界范围内存在着 HPV 感染率和型别分布的不同程度的差异。全球女性宫颈 HPV 的平均感染率约为 10.4%^[12],其中欧洲南部和东南亚为 6%~7%,非洲和拉丁美洲为 20%~30%,亚洲感染率为 8.3%左右,可以看出感染率的差异与国家的公共卫生发展水平有很大的关系。我国地域辽阔,而各地经济发展水平和文化等各方面差异明显,HPV 感染情况也不尽相同,即使在同一省的不同地区,也存在着差异。张靖等^[13]通过检索 2004—2013 年公开发表的文献并进行数据分析得出,我国女性宫颈 HPV 感染率约为 25.0%,全国 7 个地理区域的 HPV 感染情况:华南地区 20.0%,西北地区 23.2%,西南地区 24.1%,华东地区 25.2%,华北地区 30.4%,华中地区 31.3%,东北地区 34.6%。岑尧等^[14]针对我国高危型 HPV 型别分布的 Meta 分析得出南北方地区的差异,北方地区(41.57%)显著高于南方地区(14.81%),在普通女性中 HPV 的感染率为 15.71%,这与张靖等^[13]报道的感染率有明显差异,原因在于人群范围不同,后者主要为门诊患者,大多存在妇科炎症问题和不同程度的宫颈病变,故标本的阳性率要明显高于普通人群筛查标本的阳性率。此外,许多学者对不同城市地区的

就诊患者做了研究报道,阳性率差异明显,湖北地区为 27.86%^[15],西安地区为 30.45%^[16],浙江金华地区为 36.9%^[17]。即使是同一省内不同市级地点感染情况也差异明显,江西南昌地区为 20.94%^[18],九江地区为 29.4%^[19]。

4.2 HPV 感染的型别分布 HPV 的基因型在地域上存在着明显的差异,有研究表明,HPV16 是在世界范围内阳性率最高的型别^[20]。李霓等^[21]的 Meta 分析显示,东亚地区主要以 HPV16、HPV18、HPV58、HPV33、HPV52、HPV45、HPV31 型为主;张东红等^[22]的 Meta 分析得出,HPV 的型别分布在我国以 HPV16、HPV58、HPV18、HPV52 和 HPV33 为主;岑尧等^[14]的 Meta 分析显示,全国范围内前 6 位常见高危型 HPV 分布依次为 HPV16、HPV52、HPV58、HPV33、HPV18、HPV31 型;张靖等^[13]的 Meta 分析显示,感染率较高的高危型别依次为 HPV16、HPV52、HPV58、HPV18、HPV33 和 HPV31。以上多项不同时间段的具有针对性的研究基本一致,可以得出 HPV16、HPV18、HPV52、HPV58 和 HPV33 为我国常见的 HPV 型别,其中 HPV16 为最常见的感染型别,与世界范围的研究一致,其他型别在不同地区的分布有不同程度的差异。如南昌地区以 HPV52、HPV16 和 HPV58 这 3 种亚型感染率最高^[18],九江地区最常见的是 HPV16、HPV18 和 HPV58 型^[19]。

在多重感染方面,各个地区均以双重感染为主,随着感染型别数量的增多,感染率呈现递减趋势,感染型别的数量也不尽相同。还有研究指出,HPV16 与 HPV52、HPV58、HPV39 与 HPV68、HPV52 与 HPV58 更容易交叉复合感染^[23]。有研究者专门针对 HPV 多型别组合进行了分析,也发现了一些共同的规律:HPV16 与 HPV18 具有较高的与其他型别 HPV 形成共同感染的趋势;重复感染中高危型 HPV 更加常见;具有相似 DNA 序列的 HPV 型别之间更有可能发生共同感染^[24]。但由于不同研究者的结果有很大的差异,形成这些差异的原因是 HPV 自身的生物学特性因素,宿主的生物学特性因素还有待研究。

4.3 HPV 感染与年龄的关系 多项研究在针对年龄分组时,分段方式有所不同,但大体概况都表现为 30 岁以下和 50 岁以上两个年龄组女性相较于其他年龄段感染率较高,国内外都有文献报道将这一分布情况描述为“U”型分布,病毒的自然清除率在不同年龄段有所区别,50 岁以上女性最低,而 30 岁以下的女性最高,随着年龄的增长自然清除率逐渐降低,小于 30 岁年龄段女性性生活活跃,性生活过早、性伴侣多、婚外性生活等是此年龄段易感染的原因,过早和过频繁的性生活增加了女性生殖道黏膜机械性损伤和接触 HPV 的机会,为感染创造条件,50 岁以上者性生活相

对较少,但由于机体免疫系统功能和体内激素水平降低,阴道微环境的改变导致清洁能力下降,使病毒不利于自然清除^[25]。有研究发现,人体感染 HPV 后免疫状况良好,抵抗力强,则 HPV 可自行清除,而当机体免疫力下降时,则引起了临床及病理改变,更严重者导致宫颈癌的发生,证实了上述观点^[26]。

5 HPV 主要检测方法

目前 HPV 分子生物学检测方法主要包括 HPV-DNA 的检测和以 HPV E6/E7 mRNA 为靶分子的 HPV-RNA 检测,针对 HPV-DNA 的检测主要包括核酸杂交方法和聚合酶链反应(PCR)技术,核酸杂交法主要有免疫印迹、原位杂交、第二代杂交捕获法(HC-2)等。HC-2 是最早获得美国食品及药品管理局(FDA)批准用于 HPV 检测的技术,该技术利用基因杂交、化学发光和信号放大的原理进行半定量检测,客观性较强,但不能对 HPV 进行分型和全定量。

随着实验室检测技术的发展,实时荧光定量 PCR 检测的应用愈加广泛,其将荧光基团加入 PCR 反应体系,荧光染料在 PCR 反应过程中特异性结合 DNA 双链,在被水解、游离后发射荧光信号,采用全自动荧光定量扩增分析仪可显著降低工作量,也避免了人为因素的影响,保证了结果的准确性。

近年来 HPV E6/E7 检测成为子宫颈癌筛查研究的重点内容^[27],HPV-DNA 检测阳性只能说明存在病毒,不能说明 HPV 是否整合到宿主细胞上,而 E6/E7 mRNA 检测阳性则说明 HPV 在宿主细胞中增殖、翻译,以此可避免一过性 HPV 感染的过多检出。乔屹^[28]对 E6/E7 mRNA 检测在诊断宫颈病变的价值研究结果得出,相对于 HPV 分型检测,该方法检测宫颈病变的准确率、特异度、阴性预测值和阳性预测值等都更高,差异有统计学意义($P < 0.05$),但检测费用也更昂贵。

6 HPV 与疫苗

2006 年首批 HPV 疫苗被 FDA 认证上市,在多个国家和地区广泛使用。目前有单价抗 HPV16、二价(抗 HPV16/18)、四价(抗 HPV6/11/16/18)和九价(抗 HPV6/11/16/18/31/33/45/52/58)3 种疫苗,全球临床研究充分证明了 HPV 疫苗的保护作用,在从未间断的检测过程中也证实了其安全性^[29],虽然不是完全无风险,但严重的不良反应发生率很低,获益远大于风险。但是目前在疫苗方面仍存在许多问题,目前上市的疫苗覆盖亚型有限,不同地区感染情况不同而受益情况各异;人们对疫苗的重要性还缺乏认识,目前在全球范围内接种率仍较低;疫苗起到预防保护作用,无法清除已经感染的 HPV 和阻止恶性增生,因此治疗性疫苗的研发具有重要意义。

7 总 结

不同地区的女性感染 HPV 亚型情况各有不同,

在明确具体感染情况之后,可针对各地区高发亚型同时考虑经济条件等因素应用不同的方法进行筛查和疫苗应用,在节约医疗资源的同时也提高了疫苗的利用率,近几年我国食品药品监督管理局已通过了 HPV 疫苗的使用许可,这对中国女性预防 HPV 感染无疑是个福音。总之,对区域性 HPV 分型和感染情况进行统计分析,明确地区性 HPV 亚型分布特点,有利于制订具有针对性的筛查和防治措施,有利于推进适用 HPV 疫苗的设计和应用,对预防和控制 HPV 感染和宫颈癌的发生具有重要的指导意义。

参考文献

- [1] NASCIMENTO M S, VIDAL F B, BATISTA J E, et al. Prevalence of human papillomavirus infection among women from quilombo communities in northeastern Brazil [J]. BMC Womens Health, 2018, 18(1): 1-5.
- [2] 马秋林. 全自动核酸分子杂交平台在 HPV 基因分型中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(21): 3065-3067.
- [3] 卫玮. 1 040 例妇科门诊患者 HPV 感染状况分析[D]. 南宁: 广西医科大学, 2013.
- [4] LIU Y, LU Z M, XU R P, et al. Comprehensive mapping of the human papillomavirus (HPV) DNA integration sites in cervical carcinomas by HPV capture technology [J]. Oncotarget, 2016, 7(5): 5852-5864.
- [5] TAN C L, GUNARATNE J, LAI D, et al. HPV-18 E2-E4 chimera: 2 new spliced transcripts and proteins induced by keratinocyte differentiation [J]. Virology, 2012, 429(1): 47-56.
- [6] PAZZULUETA M, ÁLVAREZPAREDES L, DÍAZ J C, et al. Prevalence of high-risk HPV genotypes, categorised by their quadrivalent and nine-valent HPV vaccination coverage, and the genotype association with high-grade lesions [J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 112-116.
- [7] ADENIS A, DUFIT V, DOUINE M, et al. The singular epidemiology of HPV infection among French Guianese women with normal cytology [J]. BMC Public Health, 2017, 17(1): 279-283.
- [8] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [9] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [10] 王玉兰. HPV 检测在宫颈癌筛查和治疗中的临床意义 [J]. 中国实用医刊, 2016, 43(12): 4-6.
- [11] ZHANG R Y, SHEN C L, ZHAO L J, et al. Dysregulation of host cellular genes targeted by human papillomavirus (HPV) integration contributes to HPV-related cervical carcinogenesis [J]. Int J Cancer, 2016, 138(5): 1163-1174.
- [12] DE SANJOSÉ S, DIAZ M, CASTELLSAGUÉ X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervi-

cal human papillomavirus DNA in women with normal cytology; a meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis, 2007, 7(7):453-459.

[13] 张靖,高波,康赞,等. 中国女性宫颈人乳头瘤病毒感染型别分布区域性特征的 Meta 分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2014, 34(12):913-920.

[14] 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):75-81.

[15] 王京伟,赵礼文,吴薇,等. 湖北地区 9058 例女性人乳头瘤病毒基因分型分析[J]. 微循环学杂志, 2017, 27(2):1005-1740.

[16] 冀静,张海满,李娜,等. 西安地区门诊机会筛查妇女 HPV 感染状况分析[J]. 海南医学, 2017, 28(18):3004-3006.

[17] 许维东,李月,滕贤麟,等. 浙江省金华市人民医院妇科门诊女性感染宫颈上皮细胞人乳头瘤病毒亚型分布特征分析[J]. 中国基层医药, 2017, 24(8):1225-1228.

[18] 曾选. 江西 117 799 例女性 HPV 基因分型结果回顾性分析[J]. 江西医药, 2017, 52(5):459-461.

[19] 孔令和,柯云霞,高素香,等. 1 312 例妇女人乳头瘤病毒 (HPV) 感染状况及其亚型分布情况调查[J]. 实验与检验医学, 2014, 32(6):780-782.

[20] ABDULLAH A, QASIM M, SHAFIQ M, et al. Molecular diagnosis and phylogenetic analysis of human papilloma-virus type-16 from suspected patients in Pakistan[J]. Infect Agent Cancer, 2016, 11(1):1-7.

[21] 李霓,张思维,陈万青,等. 亚洲妇女宫颈癌中人乳头状瘤病毒型别分布的 Meta 分析[J]. 中国肿瘤, 2010, 19(3):195-202.

[22] 张东红,林美珊. 人乳头瘤病毒在国人宫颈病变中感染及型别分布特征的 Meta 分析[J]. 中国全科医学, 2010, 13(12):1287-1290.

[23] 方莉,叶红,许媛,等. 四川东北部地区女性高危型人乳头瘤病毒感染情况分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(3):352-354.

[24] 成帆,肖长义,叶红. 宫颈 HPV 多型别感染中的型别组合研究进展[J]. 海南医学, 2016, 27(3):449-452.

[25] 鄢春晖,陈林,袁蔓莉,等. 重庆地区 12196 例妇科门诊患者 HPV 亚型感染情况分析[J]. 重庆医学, 2014, 43(35):4746-4748.

[26] GOODMAN A. HPV testing as a screen for cervical cancer[J]. BMJ, 2015, 350:h2372.

[27] TJALMA W A, DEPUYDT C E. Cervical cancer screening; which HPV test should be used-L1 or E6/E7[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2013, 170(1):45-46.

[28] 乔峤. 高危型 HPV E6/E7 mRNA 检测在诊断宫颈病变方面的价值[J]. 当代医药论丛, 2016, 14(22):64-65.

[29] JOURA E A, GIULIANO A R, IVERSEN O E, et al. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women[J]. N Engl J Med, 2015, 372(8):711-723.

(收稿日期:2018-08-22 修回日期:2018-11-24)

(上接第 706 页)

感的因素之一。本研究中经过干预后观察组自我效能感水平明显高于同期对照组,说明强化自我护理能力在提高初产妇自我效能感方面有一定作用。自我效能感是一种随具体情境改变而改变的不稳定个性特征^[10]。观察组接受强化自我护理能力干预后对于相关知识、技能熟练应用程度均高于对照组,有利于加深观察组对于自我护理重要性的认识,提高其产褥期自我护理信心,可能对提高观察组产妇自我效能感产生积极影响。有研究表明,提高自我效能感对人们的行为选择产生重要影响^[11]。

综上所述,对初产妇进行强化自我护理能力护理干预有助于转变初产妇自我护理观念,提高自我效能感与自我护理能力,使其运用科学、合理的产后自我护理知识与技能改善产褥期护理质量,降低产褥期并发症发生率,提高生活质量,有利于促进母婴健康。

参考文献

[1] 张雯瑶. 健康教育对产褥期妇女应对方式及希望水平的影响[J]. 中国健康教育, 2016, 32(5):458-461.

[2] 夏红霞,朱志萍,杜兰芳. 产后健康宣教对初产妇自我护理能力及产后康复的影响[J]. 中国健康教育, 2015, 31(03):313-315.

[3] 卞龙艳,陈晓玲. 激励式护理对直肠癌术后永久性结肠造口病人自我护理能力及生活质量的影响[J]. 护理研究, 2017, 31(1):90-92.

[4] 李学军,付金英,朱兆凤,等. 授权教育对脑卒中偏瘫伴心理障碍患者自我效能感和日常生活能力的影响[J]. 中华现代护理杂志, 2016, 22(11):1590-1593.

[5] 席卫娟,徐艳丽,张咪. 延续性护理对初产妇产褥期自我护理能力及母婴并发症的影响[J]. 中国药物与临床, 2017, 17(2):306-308.

[6] 张芳,亚宁,赵华,等. 院外微信平台随访对直肠癌造口术患者自我护理能力的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(4):107-110.

[7] 李华,周军. 手机微信平台在初产妇延续性护理中的效果[J]. 解放军医院管理杂志, 2016, 23(11):1080-1082.

[8] 李晓雅,戴姜. 产后 6 周纯母乳喂养对初产妇一般自我效能感及育儿胜任感的影响[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(10):2204-2206.

[9] 孙明玉,杨阳,李小芳. 肺结核患者的病耻感现状及其影响因素[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(1):131-137.

[10] 高蕾,史宝欣. 类风湿关节炎患者自我效能感的研究进展[J]. 中华护理杂志, 2016, 51(7):848-852.

[11] 王迪,李星,苗莹,等. 肝硬化患者自我护理能力与自我效能感的相关性分析[J]. 中华现代护理杂志, 2016, 22(21):3027-3030.

(收稿日期:2018-09-11 修回日期:2018-12-07)