

粤东地区19 178例宫颈样本HPV分型及其与宫颈病变的关系

方炳雄¹, 刘琪¹, 秦泽鸿¹, 殷素华², 李瑞芹³, 阮杰^{4*} (广东省普宁市人民医院 1. 检验科, 2. 妇产科, 3. 病理科, 广东普宁 515300; 4. 广东医科大学医学技术学院, 广东东莞 523808)

摘要: **目的** 了解粤东地区生殖道HPV分型及其与宫颈病变的关系。**方法** 19 178例宫颈样本作HPV分型检测, 其中8 399例进行阴道脱落细胞液基细胞学检查, 分析HPV亚型与宫颈病变的关系。**结果** HPV阳性感染率为16.94%, 其中高危型、低危型HPV分别占81.55%、18.45%; 最常见高危与低危亚型分别是HPV52(16.78%)、HPV6(5.81%)。≥61岁组的总感染率、单一基因及单纯高危亚型感染率均高于21~60岁年龄段($P<0.01$); 癌变组HPV阳性率和高危型感染率明显高于非典型鳞状上皮细胞组和宫颈正常组($P<0.05$)。**结论** 粤东地区女性HPV感染以单一基因和高危亚型感染为主; 随着宫颈病变程度增加, 高危型HPV感染率逐渐升高。

关键词: 人乳头瘤病毒; 基因分型; 宫颈病变

中图分类号: R 737.3

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)01-0040-04

Relationship between human papilloma virus genotyping in 19 178 cervical samples and cervical lesions in the eastern Guangdong

FANG Bing-xiong¹, LIU Qi¹, QING Ze-hong¹, YIN Su-hua², LI Rui-qin³, RUAN jie^{4*} (1. Department of Clinical Laboratory, 2. Department of Obstetrics and Gynecology, 3. Department of Pathology, Puning People's Hospital, Puning 515300, China; 4. College of Medical Technology, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between human papilloma virus (HPV) genotyping in genital tract and cervical lesions in the eastern Guangdong. **Methods** HPV genotyping was performed in 19 178 cervical samples, 8 399 of which were subjected to liquid-based cytology. The relationship between HPV subtypes and cervical lesions was analyzed. **Results** The overall HPV positive rate was 16.94%, and high- and low-risk types accounted for 81.55% and 18.45%, respectively. The most common high- and low-risk subtypes were HPV52 (16.78%) and HPV6 (5.81%), respectively. The total infection rate, single subtype and simple high-risk subtype infection rates were higher in women aged ≥61 years than in 21-60 years ($P<0.01$). HPV positive rate and high-risk subtype infection in cancerous group were increased compared with atypical squamous cells-undetermined significance (ASC-US) and normal cervical group ($P<0.01$). **Conclusion** Cervical infection of single and high-risk HPV subtypes in women is common in the eastern Guangdong. High-risk HPV subtype infection is incremental with the aggravation of cervical lesions.

Key words: human papillomavirus; genotype; cervical lesion

人乳头瘤病毒(HPV)具有嗜上皮细胞性, 可导致人皮肤黏膜多种良性和恶性疾病。目前已报道多种HPV亚型, 其中有30多种亚型已证实能导致癌前病变, 根据其致病性的强弱, 分为高危型和低危型两大类, 其中高危型是女性宫颈癌的主要致病因

素。大多数HPV感染无症状, 90%感染HPV者会自行清除病毒; 另外5%~10%会重复感染和持续感染, 增加患癌症的风险^[1]。研究报道全球女性每年新确诊宫颈癌发病53万例^[2], 其中我国每年宫颈癌新发病例超13万^[3], 2015年死亡病例数为3.05万^[4]。宫颈癌早期一般无症状, 大多数患者可通过常规筛查、HPV疫苗接种和对癌前病变治疗来预防。但全球许多地区对宫颈癌的筛查不足, 其仍然是全球第四常见的女性癌症。因此, 女性HPV基因分型筛查非常重要, 为HPV疫苗开发及癌变患者早预防和早治疗提供参考依据。本文收集19 178例女性标本, 检测其HPV的21种常见亚型的感染情况, 及其中

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金项目(No.20191151652508), 揭阳市科技计划项目(No.sxm036)

收稿日期: 2020-06-04; **修订日期:** 2020-08-26

作者简介: 方炳雄(1985-), 男, 硕士研究生, 副主任技师

通信作者: 阮杰, 女, 博士研究生, 副教授, E-mail: Rjxy2004@163.com

8 399例女性的阴道脱落细胞液基薄层细胞学检测(TCT),分析宫颈病变与HPV基因亚型感染之间的关系,以期对宫颈癌的早期筛查和临床诊疗工作提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收集2016年11月至2019年12月在我院接受HPV分型检查的19 178例女性的临床资料为研究对象,年龄1~97岁。各年龄段受检人数如下,≤20岁的442例,21~30岁的5 446例,31~40岁的5 595例,41~50岁的5 358例,51~60岁的1 739例,≥61岁的598例。其中8 399例女性同时进行了TCT检查。本项目研究通过医院的伦理委员会审批同意。

1.2 主要设备与试剂

阴道脱落细胞DNA提取试剂盒、HPV杂交试剂盒和核酸分子快速导流杂交仪由广东凯普生物科技有限公司提供;定性PCR仪由杭州生物技术有限公司提供;本项目检测范围为HPV 21种亚型,分别是高危型:16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66和68亚型;低危型:6、11、42、43、44和81亚型。

1.3 HPV-DNA分离提取及HPV亚型检测

按照检测试剂说明书的步骤进行HPV-DNA分离提取及亚型检测。(1)DNA分离提取:收集阴道脱落细胞,加入细胞裂解液,煮沸法提取DNA;取DNA溶液进行PCR扩增。(2)目标片段行PCR扩增:PCR产物4℃保温待用。(3)导流杂交:热变性的单链DNA与杂交膜上的探针杂交,进行酶反应。(4)结果判读:显示蓝紫色为阳性,每次实验需要质控阳性,再判读标本结果。

1.4 细胞学检查

应用液基细胞学检查方法(TCT)进行女性宫颈脱落细胞形态学检查。分类诊断结果为:(1)未见宫颈上皮病变或恶性改变(NILM);(2)未明确诊断的非典型鳞状上皮细胞(ASC-US);(3)低级别宫颈鳞状上皮内病变(LSIL);(4)高级别宫颈鳞状上皮内病变(HSIL);(5)宫颈上皮细胞癌(CIN),包括CIN I、CIN II和CIN III;(6)宫颈癌,包括浸润性宫颈癌(ICC)、鳞状细胞癌(SCC)、腺癌(AC)和非典型腺细胞(AGC)。ASC-US以上病变为细胞学检查阳性,其中LSIL、HSIL、CIN I、CIN II、CIN III、ICC、SCC、AC和AGC统一归为癌变组。

1.5 统计学处理

采用SPSS19.0软件和EXCEL2017对数据进行统计分析,计数资料用百分率表示,采用 χ^2 检验比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV感染情况

19 178例患者标本中,HPV阳性感染率为16.94%(3 248/19 178),由于存在多重基因感染,亚型累计检出率23.43%(4 494/19 178),其中单一基因、二重基因、三重基因和四重及以上基因感染率依次为12.48%(2 394/19 178)、3.12%(599/19 178)、0.90%(172/19 178)和0.43%(83/19 178),单纯高危型、单纯低危型和高低危混合型感染率分别为12.94%、2.22%和1.77%。

2.2 HPV基因亚型分布

15种高危型HPV和6种低危型HPV均有检出,高危亚型和低危亚型的累计检出率分别为81.55%(3 665/4 494)和18.45%(829/4 494)。其中最常见的高危亚型依次是HPV52(16.78%)、HPV16(11.53%)、HPV58(9.32%)、HPV39(6.34%)、HPV53(6.23%)和HPV18(5.43%),最常见的低危亚型是HPV6(5.81%)和HPV81(5.18%)。具体结果如图1所示。

2.3 不同年龄段HPV感染情况分析

≤20岁、21~30岁、31~40岁、41~50岁、51~60岁和≥61岁的总感染率依次为37.33%、18.73%、14.37%、15.02%、18.11%和23.24%。≤20岁组的总感染率、单一基因、二重基因、单纯高危型及高低危混合感染率均高于21~60岁各年龄组($P<0.01$)。≥61岁组的总感染率、单一基因及单纯高危型感染率均高于21~60岁年龄段($P<0.05$)。如表1和图2所示。

2.4 TCT检查结果与HPV感染的关系

TCT结果显示,总阳性率为6.04%(507/8 399),包括非典型鳞状上皮细胞(ASC-US)组阳性率为5.20%(437/8 399)和癌变率为0.83%(70/8 399)。与HPV感染关系分析发现,癌变组的HPV感染率(71.43%)最高,ASC-US组(32.72%)的次之,宫颈正常(NILM)组(15.46%)最低,且3组之间感染率差异均有统计学意义($P<0.01$)。3组均以高危型和单一基因感染为主,且癌变组的单一基因和高危型感染率明显高于ASC-US组和NILM组($P<0.05$)。结果如表2所示。

3 讨论

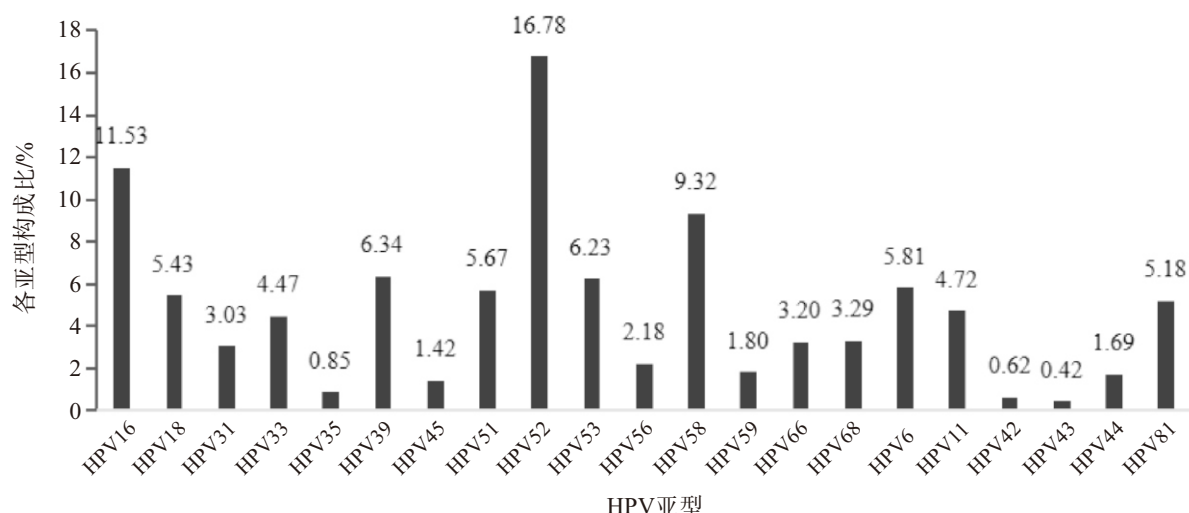


图1 HPV基因亚型分布

表1 不同年龄段HPV感染情况

项目	≤20岁	21~30岁	31~40岁	41~50岁	51~60岁	≥61岁	例(%)
受检人数	442	5 446	5 595	5 358	1 739	598	19 178
总感染率	165(37.33)	1 020(18.73)	804(14.37)	805(15.02)	315(18.11)	139(23.24)	3 248(16.94)
单一基因	94(21.27)	697(12.80)	621(11.10)	642(11.98)	241(13.86)	99(16.56)	2 394(12.48)
二重基因	39(8.82)	209(3.84)	142(2.54)	126(2.35)	56(3.22)	27(4.52)	599(3.12)
三重基因	15(3.39)	75(1.38)	32(0.57)	30(0.56)	10(0.58)	10(1.67)	172(0.90)
四重及以上感染率	17(3.85)	39(0.72)	9(0.16)	7(0.13)	8(0.46)	3(0.50)	83(0.43)
单纯高危型	105(23.76)	731(13.42)	627(11.21)	646(12.06)	258(14.84)	115(19.23)	2482(12.94)
单纯低危型	28(6.33)	139(2.55)	112(2.00)	95(1.77)	37(2.13)	15(2.51)	426(2.22)
高低混合型	32(7.24)	150(2.75)	65(1.16)	64(1.19)	20(1.15)	9(1.51)	340(1.77)

表2 8 399例患者进行TCT检测与HPV感染的关系

TCT检查类别	n	HPV-阴	HPV-H	HPV-L	HPV-H/L	单一基因	多重基因
NILM组	7 892	1 220(15.46)	942(11.94)	167(2.12)	111(1.41)	92(1.17)	297(3.76)
ASC-US组	437	143(32.72)	116(26.54)	11(2.52)	16(3.66)	96(21.97)	47(10.76)
癌变组	70	50(71.43) ^a	47(67.14) ^a	2(2.86)	1(1.43)	38(54.29) ^a	12(17.14)

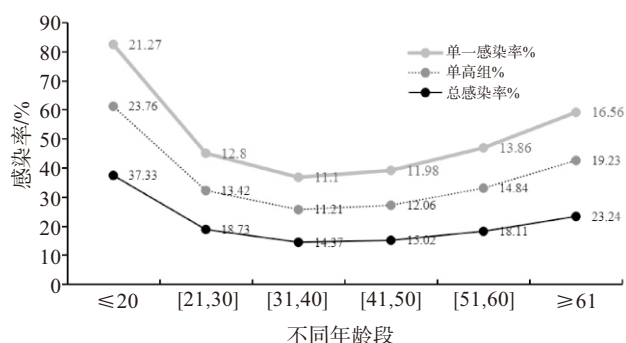
与NILM组、ASC-US组比较：^aP<0.01

图2 不同年龄段HPV感染趋势

HPV是一种嗜上皮细胞病毒,其持续、重复感染是宫颈癌发生的重要原因之一^[5]。早期筛查是目

前预防和早期诊断宫颈癌的主要方法。在不同地区和人群中,HPV的感染率及亚型分布不同。我国经济条件和生活习惯差异大,使得性传播疾病和癌症相关的HPV感染表现出地域和人群差异。因此,为了制定适合特定地区和人群的宫颈癌防控策略,实现科学预防的目标,各地开展HPV筛查工作及研究具有重要价值。

本文回顾性分析了粤东地区2016年11月至2019年12月进行HPV筛查的19 178例女性感染情况发现,HPV总感染率为16.94%,低于2019年韶关地区(25.32%)^[6]和2020年深圳地区(29.12%)^[7]。略高于2019年一项 meta分析报道的中国大陆城市女性感染

率14.1%和农村女性感染率15.7%^[4]。在感染形式上,本地区的单一基因、二重基因、三重基因和四重及以上基因感染率依次为12.48%、3.12%、0.90%和0.43%,单纯高危型、单纯低危型和高低危混合型感染率分别为12.94%、2.22%和1.77%,说明本地区女性HPV感染以单一基因和高危亚型为主。所检测的21种基因亚型均有检出,高危亚型和低危亚型的累计检出率各占81.55%和18.45%,前者远高于后者,所以更应该重视HPV高危亚型的筛查。在阳性标本中,HPV52(16.78%)、HPV16(11.53%)和HPV58(9.32%)构成比明显高于其他亚型,提示这3种高危亚型是易感型,与我国各地报道较为一致^[4, 6-8]。韦梦娜等^[5]2020年的一项meta分析显示,不同级别宫颈病变中HPV型别分布有差异,最常见的前3位,宫颈癌中为HPV16/18/58, CIN3和CIN2中均为HPV16/58/52, CIN1中为HPV16/52/58,提示我们应该重点关注这3种亚型感染的人群,加强防范和相关疫苗的研制及预防接种。

本地区研究的19 178女性年龄范围为1~97岁,其中21~60岁人数为18 138人,约占95%的比例,说明该年龄段的女性对于HPV感染的筛查意识较强,有利于宫颈病变的早发现 and 早治疗。在本文所分的6个年龄段中,≤20岁组的总感染率、单一基因、二重基因、单纯高危型及高低危混合感染率均高于21~60岁各年龄组($P<0.01$)。≥61岁组的总感染率、单一基因及单纯高危亚型感染率均高于21~60岁年龄段($P<0.01$)。HPV感染率随着年龄增加呈现“U”型趋势,即40岁之前感染率呈下降趋势,41岁之后感染率呈上升趋势。提示≤20岁和≥61岁是HPV感染的高危人群,而本地区这两个年龄段的筛查人数仅占5%,本文作者以往研究本地区男性HPV的感染情况,发现这两个年龄段男性人群的筛查人数少和感染率高的情况^[9],故应该提高此类人群的早期筛查意识。

对HPV感染筛查中的8 399人同时进行了TCT检测,其中7 892例TCT结果显示宫颈正常(NILM)组,437例表现为未明确诊断的非典型鳞状上皮细胞(ASC-US)组,70例发生宫颈病变(癌变组),病变率为0.83%。与HPV感染相关性分析发现,癌变组的HPV阳性率、高危型和单一基因感染率明显高于ASC-US组和NILM组,各组之间的多重感染率差异无统计学意义。提示随着宫颈病变程度的增加,HPV高危型感染阳性率呈现逐渐升高的趋势,多重

感染与疾病严重程度不相关。证实HPV高危亚型感染增加了宫颈癌变的机率,与相关的研究报道一致^[10]。

本文对近3年多粤东地区进行HPV筛查的数据分析,为了解本地区女性宫颈感染和病变提供了有用资料。研究揭示了HPV感染在本地区女性人群较为普遍,特别是≤20岁和≥61岁年龄段的女性HPV感染率高,这可能与女性的阴道内部微环境不稳定、正常菌群失调、造成局部免疫功能异常有关^[11],但其筛查人数少,应该提高此类人群的早期筛查意识。TCT检查也提示宫颈病变的女性HPV总感染率和高危亚型感染率明显高于宫颈组织正常的女性。故在女性人群中开展HPV感染筛查很有必要,应加强对本地区各个年龄段女性的HPV筛查,为宫颈癌的早发现和早治疗提供保障。

参考文献:

- [1] SCHIFFMAN M, WENTZENSEN N, WACHOLDER S, et al. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2011, 103(19): 368-383.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics [J]. C A Cancer J Clin, 2015, 65: 5-29.
- [3] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China [J]. C A Cancer J Clin, 2016, 66: 115-132.
- [4] 陈真真. 武汉地区女性人乳头瘤病毒感染情况及基因型分布[D]. 武汉: 江汉大学, 2019.
- [5] 韦梦娜, 余艳琴, 徐慧芳, 等. 中国大陆地区不同宫颈病变人群中人乳头瘤病毒感染率及型别分布的系统研究[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2020, 2(27): 133-137.
- [6] 马占忠, 许红雁, 胡红波, 等. 广东韶关地区54597例女性HPV感染情况及其基因型分布[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 3(31): 335-338.
- [7] 任婷玉, 廖奕浪, 黄婷婷, 等. 深圳地区女性人乳头瘤病毒的检测和感染情况分析[J]. 实用医学杂志, 2020, 7(36): 969-973.
- [8] 朱科静, 孙磊, 李琴芬, 等. 2018年长春市及其周边地区15-70岁女性人乳头瘤病毒感染研究[J]. 中国疫苗和免疫, 2019, 3(25): 292-295.
- [9] 方炳雄, 陈汉强, 秦泽鸿, 等. 551例男性尖锐湿疣患者的人乳头瘤病毒型别特点分析[J]. 中国医药科学, 2018, 8(17): 9-12.
- [10] 杨慧红, 杨永彬. 人乳头瘤病毒亚型感染导致宫颈病变的调查[J]. 上海预防医学, 2020, 1(32): 67-70.
- [11] 陈忆, 吴丹, 李柱南, 等. 细菌性阴道病和阴道微生态改变与高危型人乳头瘤病毒感染的临床分析[J]. 中国医药导报, 2018, 479(21): 92-95.