

陕西地区9 749例女性HPV感染情况及基因分型研究

王蕾,何小波,周再铜,赵芳平,王敏,刘杨,刘孟黎

西安天博医学检验实验室,陕西 西安 710000

【摘要】 目的 通过对陕西地区女性人乳头瘤病毒(HPV)感染情况及基因分型研究,为本地区宫颈癌的筛查、预防、治疗以及对宫颈癌疫苗的研制、选择提供依据。方法 采用PCR-反向点杂交法对2016年1月至2019年4月期间,对来自于陕西地区的9 749例疑似HPV感染病例样本进行HPV基因分型检测。结果 9 749例疑似病例样本中阳性病例3 048例,总体感染率为31.26%;主要的感染类型为单一感染,感染率为19.13%,以高危型感染为主,感染率为14.59%;HPV双重感染次之,为7.12%。3 048例HPV阳性样本中高危型占比最高的依次为16型、52型、53型、58型,感染率分别为6.30%、6.09%、3.82%、3.77%,低危型主要集中在6型、81型、43型、42型,感染率分别为3.34%、2.71%、2.39%、2.33%。对所有感染者进行6个年龄组的划分,不同年龄组之间HPV感染率比较差异均具有显著统计学意义($P<0.01$),其中HPV感染率最高的是 ≤ 20 岁年龄组,感染率为52.39%,其次是 ≥ 61 岁年龄组,感染率为38.46%。21~30岁和31~40岁年龄组的受检人数最多,感染率分别是33.90%、26.60%。结论 陕西地区HPV总体感染率较高,以单一感染为主,最为常见的是HPV16、52亚型; ≤ 20 岁和 ≥ 61 岁是HPV的高发人群,应引起重视。

【关键词】 陕西;人乳头瘤病毒;基因亚型;感染;宫颈癌

【中图分类号】 R711 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)24-3200-04

Human papillomavirus infection and genotyping among 9 749 women in Shaanxi. WANG Lei, HE Xiao-bo, ZHOU Zai-tong, ZHAO Fang-ping, WANG Min, LIU Yang, LIU Meng-li. Xi'an Tianbo Diagnostics Laboratory, Xi'an 710000, Shaanxi, CHINA

【Abstract】 Objective To study the human papillomavirus (HPV) infection rate and genotype distribution among women in Shaanxi, and to provide basic data for screening, prevention and treatment of cervical cancer as well as development and selection of cervical cancer vaccine. **Methods** Between January 2016 and April 2019, a total of 9 749 suspected cases from Shaanxi were collected and the HPV genotypes were tested by PCR reverse spot molecular hybridization. **Results** Among the 9 749 samples, 3 048 cases were found HPV positive with the overall infection of 31.26%. The single infection was the mainly affection HPV type and the ratio was 19.13%. Most importantly, single HPV infection was the high-risk HPV and the ratio was up to 14.59% as compared to the 7.12% of double HPV infection. In the 3 048 positive cases, the top four high-risk genotypes were HPV16 (6.30%), HPV52 (6.09%), HPV53 (3.82%) and HPV58 (3.77%), and the top four low-risk genotypes were HPV6 (3.34%), HPV81 (2.71%), HPV43 (2.39%), HPV42 (2.33%). Furthermore, all of the patients were divided into six groups according to ages and the infection rate of HPV, there were significant differences in the infection rate among different groups ($P<0.01$). The infection rate was the highest in ≤ 20 years group (52.39%), followed by ≥ 61 years group (38.46%) The most people inspected were 21-30 years old and 31-40 years old, and the infection rates were 33.90% and 26.60%, respectively. **Conclusion** Human papillomavirus (HPV) infection rate in Shaanxi is higher, and most of them are single infection. The common infection subtypes are HPV16 and HPV52. More attention should be focused on high-risk population who are ≤ 20 years old and ≥ 61 years old.

【Key words】 Xi'an; Human papillomavirus (HPV); Genotyping; Infection; Cervical cancer

宫颈癌是一种比较常见且发病率较高的女性恶性肿瘤之一,其中85%新发病例都来自于发展中国家^[1]。在我国每年约有10万例新增宫颈癌患者,发病率仅次于乳腺癌,并且呈年轻化趋势。高危型人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)的持续感染是宫颈癌发生的关键因素。目前已有200多种HPV基因分型被发现,与生殖道黏膜感染相关的HPV分型根据其致病性分为高危型和低危型。以16型、18型为代表的高危型HPV可引起恶性肿瘤如宫颈癌,低危型主要

是以6型、11型为代表,可引起良性的病变,如尖锐湿疣等。HPV的感染与地理、气候、生活习惯等因素有关,所以造成各地区感染的HPV基因型存在很大的差异。本文主要对陕西地区疑似HPV感染的样本进行基因分型和频率统计研究,旨在对本地区宫颈癌的预防以及对疫苗的研制、选择起到一定的参考作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2016年1月至2019年4月期间,在西安天博医学检验实验室进行HPV基因分型项目

检测的 9 749 例样本(已除去重复样本),所有样本均来自陕西地区各个医院的疑似病例样本、非大规模普查样本。

1.2 试剂与仪器 深圳亚能生物技术有限公司生产的人乳头瘤病毒基因分型(23 型)检测试剂盒。购自深圳亚能生物技术有限公司的 YN-H18 全自动核酸分子杂交仪、西安天隆科技公司的 Genesy 96T 基因扩增热循环仪及金属浴、低温高速离心机。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取 充分洗脱宫颈刷,并在管壁上挤干。把洗脱液全部转移到 1.5 mL 离心管中,13 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液,保留管底的细胞沉淀。加入 50 μ L 裂解液悬浮沉淀,100 $^{\circ}$ C 金属浴加热 10 min,13 000 r/min 离心 10 min,保留上清液待用。

1.3.2 PCR 扩增 吸取上步提好的 DNA 5 μ L 分别于 HPV 基因分型试剂反应液 1 和反应液 2 中,放入 PCR 仪中进行扩增。阴性质控品和阳性质控品用同样的方法进行加样扩增。每次试验设置一个已知阴性和阳性样本作为室内质控。

1.3.3 DNA 杂交 此步骤按照亚能 YN-H18 型杂交仪说明书进行。将杂交膜条编号,放入对应的杂交盒中,将上步所得 PCR 产物全部加入到对应的杂交盒,开始杂交。每份标本显色后根据蓝色圆点的有无和深浅来判断结果。

1.3.4 结果判定 (1)阴性质控品除 IC 位点有蓝色斑点出现,其他位点均不显色;(2)阳性质控品必须在相应的 HPV 基因型位点及 IC 位点出现显色信号;(3)每张膜条上在 IC 位点处有蓝色斑点出现,表示实验有效;(4)膜条上总共有 23 个 HPV 型别位点:其中高危型 16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82 (17 个),低危型 6、11、42、43、81、83 (6 个);(5)除 IC 位点外如有 1 个蓝色圆点为单一感染,2 个为双重感染,3 个为三重感染,同时显示 4 个及以上的蓝色圆点则为多重感染,若无其他点显色即为阴性结果。

1.4 统计学方法 应用 SPSS19.0 统计学软件进行数据分析,年龄组之间的样本率比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 陕西地区 HPV 分型检出情况 通过对陕西地区 9 749 例疑似病例女性的宫颈脱落细胞标本进行 HPV 23 种分型检测,发现阳性病例 3 048 例,总体感染率为 31.26%。主要的感染类型为单一感染,感染率为 19.13%,占阳性样本总数的 61.19%,单一感染中以高危型为主,感染率为 14.59%;HPV 双重感染人数次之为 7.12%;三重感染及三重以上感染(多重感染)检出率相近。其中通过对高危型 16 和 18 型单独与其他型混合感染类型统计后发现,16 型与其他型混合感染占比较高,两种型别同时感染其他型的占比较低,见表 1。

2.2 阳性标本中 HPV 基因型分布 陕西地区 3048 例 HPV 阳性样本中占比较高的前四位高危型亚型

表 1 陕西地区 HPV 感染情况

感染类型	阳性例数	阳性占比(%)	感染率(%)
单一感染	1 865	61.19	19.13
双重感染	694	22.77	7.12
三重感染	257	8.43	2.64
多重感染	232	7.61	2.38
单一高危	1 422	46.65	14.59
16+其他(不含 18)	387	12.70	3.97
18+其他(不含 16)	108	3.54	1.11
16+18+其他	37	1.21	0.38

依次是 16 型、52 型、53 型、58 型,分别有 614 例、594 例、372 例、368 例。感染率分别为 6.30% (614/9 749)、6.09% (594/9 749)、3.82% (372/9 749)、3.77% (368/9 749)。低危型主要集中在 6 型、81 型、43 型、42 型这四种亚型中,其中感染人数分别为 326 例、264 例、233 例、227 例,感染率依次为:3.34% (326/9 749)、2.71% (264/9 749)、2.39% (233/9 749)、2.33% (227/9 749),见表 2。

表 2 HPV 不同亚型的感染情况

型别	HPV 亚型	阳性例数	阳性占比(%)	感染率(%)
高危型	16	614	20.14	6.30
	52	594	19.49	6.09
	53	372	12.20	3.82
	58	368	12.07	3.77
	51	288	9.45	2.95
	68	235	7.71	2.41
	56	223	7.32	2.29
	59	211	6.92	2.16
	18	200	6.56	2.05
	33	176	5.77	1.81
	66	172	5.64	1.76
	39	137	4.49	1.41
	31	129	4.23	1.32
	35	68	2.23	0.70
低危型	45	48	1.57	0.49
	73	38	1.25	0.39
	82	38	1.25	0.39
	6	326	10.70	3.34
	81	264	8.66	2.71
	43	233	7.64	2.39
	42	227	7.45	2.33
	11	173	5.68	1.77
	83	27	0.89	0.28

2.3 不同年龄组 HPV 的感染情况 受检者年龄分布在 15~92 岁之间,划分 6 个年龄组,其中 HPV 感染率最高是 ≤ 20 岁年龄组,感染率为 52.39%,以低危型 6 亚型感染人数最多。其次是 ≥ 61 岁组,感染率为 38.46%,以高危型 52 型最普遍。21~30 岁和 31~40 岁年龄组受检人数最多,以高危型 16 亚型最普遍,感染率分别为 33.90% 和 26.60%。经 χ^2 检验显示,不同年龄组之间 HPV 感染率比较差异均具有显著统计学意义 ($\chi^2=150.21, P < 0.01$),见表 3。

表3 不同年龄组HPV感染率情况

年龄(岁)	样本数	阳性例数	阳性占比(%)	感染率(%)	第1型别	第2型别	第3型别	高危型(%)	低危型(%)
≤20	418	219	7.19	52.39	6	52	16	12.89	5.31
21~30	3142	1065	34.94	33.90	16	52	6	46.33	16.01
31~40	2820	750	24.61	26.60	16	52	53	28.51	8.27
41~50	2309	637	20.90	27.59	52	16	58	23.98	6.53
51~60	852	297	9.74	34.86	16	52	53	12.14	3.67
≥61	208	80	2.62	38.46	52	53	16	4.46	1.21

3 讨论

根据国家癌症中心公布的数据估计,2015年我国宫颈癌新发病例为9万多例,死亡病例约为3万例^[2],目前宫颈癌筛查仍处于低水平,尤其是西部一些欠发达地区。2016年美国临床肿瘤学会(ASCO)发布新的全球宫颈癌筛查指南,建议对初筛的女性群体应使用人乳头瘤病毒(HPV) DNA方法进行检测。2018年8月西安市政府关于印发《西安市适龄妇女免费“两癌”筛查工作方案》的通知,对于宫颈癌的筛查指出,需要对受检者进行HPV高危型分型检测。与其他肿瘤相比,宫颈癌致病病原体相对明确,如果早期对HPV进行基因分型检测,能有效预防宫颈癌及相关疾病的发生。

本研究通过对陕西地区9 749例疑似病例进行HPV基因分型检测,发现阳性样本3 048例,总体感染率为31.26%。其中感染的阳性样本中以单一感染类型为主,感染率为19.13%,阳性占比达到61%,这与全国各地区的报道基本一致。有研究发现渝东北地区女性HPV单一感染阳性占比也已达67%^[3]。本研究中陕西地区HPV高危型亚型感染率最高的依次为16型(6.30%)、52型(6.09%)、53型(3.82%)、58型(3.77%),与杜伟平等^[4]对陕西延安地区高危型别感染最高的亚型研究结果一致。HPV流行的型别也因地区、气候、种族、生活方式等原因的影响有所差异,河南地区感染率是28.7%,感染率最高的4种HPV亚型为16型、52型、58型、56型^[5],夏艳等^[6]报道的上海地区的HPV 52型、16型、53型、58型比较流行,感染率达到23.66%,而北京地区总体感染率为23.96%,流行的主要型别为16型、52型、58型、56型^[7],与以上地区相比,本文中陕西地区的总体感染率较高,这可能与样本的来源于疑似病例有关,同时也为本地区HPV感染者的临床治疗会起到一定的参考作用。国外学者SHORMA等^[8]的文章中报道大洋洲主要是16型、45型和52亚型居多,欧美以16型、18型为主,亚洲韩国是16型、18型、58型、52型最普遍^[9]。从各种研究显示HPV16型已经是不同国家、地区最常见的感染型别,同时16型和18型被发现在宫颈癌患者中也是感染率最高的亚型。有学者表明HPV 16型、18型、31型、33型、52型及58型与宫颈癌及癌前病变的发生具有密切相关性^[10];对于持续感染HPV16型、18型2年以上的患者,宫颈病变的风险将显著增加^[11],宋晓玲等^[12]研究表明

HPV16型、18型阳性组发生宫颈上皮内瘤变(CIN) II级以上宫颈病变的风险较其他高危型HPV阳性组显著增高。而王宏景等^[13]的研究显示HPV16型、18型、或者16+18型是导致宫颈腺癌中主要型别。本研究通过划分6个年龄组,通过比较发现≤20岁年龄组和≥61岁年龄组的人群感染率最高。这与刘宁等^[7]的研究结果相一致。其中≤20岁年龄组中感染最多的型别是HPV低危型6型,可能更多的会引起一些良性的病变,此群体的高感染率与女性初次性生活发生及其他一些危险因素相关的行为有关,同时研究发现这一群体的感染率正在逐年不断提高^[14]。≥61岁年龄组的HPV感染率较高,这个群体也是宫颈癌的高发群体。21~30岁和31~40岁这两个年龄组的HPV受检人数最多,防范意识最强,但此阶段的女性正处于性活跃期,定期筛查尤为重要。目前市售的九价疫苗除了可以预防包括高危型HPV16型、18型和低危型HPV6型、11型以外,还涵盖另外的5种高危型,分别是HPV31型、33型、45型、52型、58型。但是不同地区一些差异性的基因分型并未覆盖,如本研究中居于第三位的53型并未包括在九价疫苗的预防范围之内,所以HPV地区性的研究对于当地疫苗的研制具有一定的参考作用。本文通过对陕西地区HPV感染情况及基因分型的研究,发现本地区HPV感染的总体形势不容乐观,对于持续感染高危型HPV的群体可联合液基细胞学检查以及阴道镜下活检等手段,综合判定病因,进行有效治疗。同时女性群体应该重视HPV的筛查,可通过定期检测、接种疫苗、规范性生活等方式,提高自身免疫力,有效的预防宫颈癌。

参考文献

- [1] LI J, HUANG R, SCHMIDT JE, et al. Epidemiological features of Human Papillomavirus (HPV) infection among women living in Mainland China [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(7): 4015-4023.
- [2] CHEN WQ, ZHENG RS, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [3] 孟凡萍, 郝坡. 渝东北地区7401例女性HPV感染与基因分型分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(8): 986-988.
- [4] 杜伟平, 米思蓉, 王丽, 等. 延安地区妇女HPV基因分型及临床相关研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(1): 109-111, 114.
- [5] 赵俊伟, 孙晓旭, 平杰丹, 等. 河南省63043例女性宫颈脱落细胞HPV基因分型分析[J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(9): 58-62.
- [6] 夏艳, 金志军, 倪云翔, 等. 上海市人乳头瘤病毒感染及病毒分型与宫颈病变的探讨[J]. *第二军医大学学报*, 2017, 38(12): 1526-1531.
- [7] 刘宁, 张立丽, 赵艳明, 等. 北京部分地区女性人群HPV感染情况

雌激素联合甲硝唑治疗老年阴道炎的疗效及对患者细胞因子及氧化应激水平的影响

白晓霞¹, 王威²

1. 长庆油田职工医院妇产科, 陕西 西安 710201;

2. 西安市第三医院检验科, 陕西 西安 710018

【摘要】 **目的** 观察雌激素联合甲硝唑治疗老年阴道炎的疗效及对患者细胞因子白介素(IL)-2、IL-6、IL-8 及氧化应激水平的影响。**方法** 选择长庆油田职工医院 2018 年 1 月至 2019 年 1 月收治的 100 例老年阴道炎患者为研究对象,按随机数表法分为观察组和对照组,每组 50 例。对照组给予复方甲硝唑阴道栓治疗,观察组联合雌激素乳膏治疗,均连续治疗 7 d。比较两组患者的临床疗效、临床症状积分、血清 IL-2、IL-6、IL-8、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、内皮素(ET-1)、一氧化氮(NO)的变化及不良反应,并比较随访 3 个月的复发率。**结果** 治疗后,观察组患者的临床疗效治疗总有效率为 94.0%,明显高于对照组的 80.0%,差异有统计学意义($P < 0.05$);观察组和对照组患者的阴道分泌物组[(1.18±0.26)分 vs (1.77±0.30)分]、灼热感[(0.75±0.11)分 vs (1.06±0.18)分]、瘙痒感[(1.03±0.22)分 vs (1.58±0.27)分]评分比较,观察组明显低于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$);观察组和对照组患者的血清 IL-2 [(3.57±0.64) pg/mL vs (5.20±0.77) pg/mL]、IL-6 [(22.41±2.83) pg/mL vs (35.51±4.60) pg/mL]、IL-8 [(17.45±2.21) pg/mL vs (34.01±3.04) pg/mL]、MDA [(3.11±0.58) mmol/L vs (4.04±0.75) mmol/L]、ET-1 [(50.21±7.55) ng/L vs (64.39±9.48) ng/L]比较,观察组明显低于对照组,观察组和对照组患者的 SOD [(92.48±11.94) U/mL vs (79.57±9.26) U/mL]、NO [(105.11±15.69) μmol/L vs (89.57±11.01) μmol/L]比较,观察组明显高于对照组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$);治疗期间两组患者均未出现严重不良反应;观察组患者 3 个月内的复发率为 4.0%,明显低于对照组的 16.0%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 雌激素联合甲硝唑治疗老年阴道炎可有效调节炎症因子、氧化应激状态,促进疾病恢复,临床治疗效果显著,值得推广应用。

【关键词】 雌激素;甲硝唑;老年阴道炎;疗效;炎症因子;氧化应激

【中图分类号】 R711.31 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)24-3203-04

Curative effect of estrogen combined with metronidazole on senile vaginitis and its effect on cytokine and oxidative stress in patients. BAI Xiao-xia¹, WANG Wei². 1. Department of Obstetrics and Gynecology, the Staff Hospital of Changqing Oilfield, Xi'an 710201, Shaanxi, CHINA; 2. Department of Laboratory, Xi'an No.3 Hospital (the Affiliated Hospital of Northwest University), Shaanxi 710018, CHINA

【Abstract】 Objective To study the curative effect of estrogen combined with metronidazole on senile vaginitis and its effect on the levels of cytokines interleukin (IL)-2, IL-6, IL-8 and oxidative stress in patients. **Methods** A total of 100 elderly patients with senile vaginitis were selected as research subjects, who received therapy from January 2018 to January 2019 in the Staff Hospital of Changqing Oilfield. According to the random number table method, they were divided into observation group and control group, with 50 cases in each group. The control group was treated with compound metronidazole vaginal suppository, while the observation group was treated in combination with estrogen cream. Both

通讯作者:王威, E-mail: aimma2008@163.com

与基因型分布特征[J]. 海南医学, 2018, 29(18): 2561-2564.

[8] SHORMA T, WASHINGTON M, FREEMAN J, et al. Human papillomavirus (HPV) type and prevalence in Pacific Islander cervical cancer patients [J]. Gynecol Oncol, 2017, 145 (Suppl 1): 35-36.

[9] AN HJ, CHO NH, LEE SY, et al. Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with Human papillomavirus (HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method [J]. Cancer, 2003, 97(7): 1672-1680.

[10] 黄艳, 王欢欢, 程龙海. 高危 HPV 基因分型 PCR 检测在宫颈癌及癌前病变早期筛查中的诊断价值[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(4): 740-743.

[11] 俞智超. HPV 感染与宫颈病变的相关性研究[J]. 中外女性健康研究, 2018, 25(15): 87, 156.

[12] 宋晓玲, 张春华, 康凌. 高危型 HPV 分型检测对宫颈细胞学阴性妇女宫颈病变的诊断价值[J]. 内蒙古医学杂志, 2018, 50(11): 1366-1368.

[13] 王宏景, 夏林, 耿建祥. 宫颈腺癌组织中人乳头瘤病毒感染型别分布的研究[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(12): 1291-1294.

[14] 姜波玲, 卢媛. 宫颈癌 HPV 预防性疫苗的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2018, 45(5): 527-530.

(收稿日期: 2019-06-21)