

辽宁省沈阳地区女性人乳头瘤病毒感染及基因分型情况分析

齐特 黄郁晶 刘超 王博 吴昊 苗野 阮强

中国医科大学附属盛京医院 病毒研究室, 沈阳 110000

通信作者: 阮强, Email: ruanq@sj-hospital.org, 电话: 024-96615-13421

【摘要】 目的 了解辽宁省沈阳地区女性人乳头瘤病毒(HPV)感染及型别分布特征。**方法** 采用基因扩增及导流杂交技术对 55 548 例患者宫颈脱落细胞进行 HPV 分型检测。**结果** 在 55 548 例患者中, HPV 检测阳性 9 566 例, 阳性率为 17.22%, 其中高危型 HPV 感染阳性率为 14.57%, 单一型 HPV 感染阳性率为 13.63%; 共检测出 HPV 型 12 360 株, 其中高危型 10 879 株, 占 88.02%; ≤20 岁女性常见感染 HPV 型为 HPV16、11、6、51、58 和 52 型, 其他年龄女性常见感染 HPV 型为 HPV16、58、52、53、39、51 和 81 型。**结论** 辽宁省沈阳地区女性 HPV 感染以高危、单一感染为主, 不同年龄组感染率及型别分布各不相同。可根据该地区 HPV 流行特征采取更适合的 HPV 疫苗预防措施。

【关键词】 人乳头瘤病毒; 基因分型; 感染

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.04.012

Analysis of human papillomavirus infection characteristics and genotypes in Shenyang area of Liaoning province

Qi Te, Huang Yujing, Liu Chao, Wang Bo, Wu Hao, Miao Ye, Ruan Qiang

Virology Laboratory, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China

Corresponding author: Ruan Qiang, Email: ruanq@sj-hospital.org, 0086-24-96615-13421

【Abstract】 Objective To investigate the distribution of human papillomavirus (HPV) infection characteristics and genotypes in Shenyang area of Liaoning province. **Methods** HPV genes were detected in cervical exfoliated cells from 55,548 patients by amplification and diversion hybridization. **Results** A total of 9,566 patients were positive for HPV infection with a positive rate of 17.22%. Additionally, the positive rate of high risk HPV infection was 14.57% and the positive rate of single genotype HPV infection was 13.63%. Totally, 12,360 HPV viruses were detected. Among them, 10,879 HPV viruses were classified into high risk genotypes (10,879 out of 12,360, 88.02%). The genotypes in women with ages less than 20 were 16/11/6/51/58/52 genotypes; the susceptible HPV genotypes in other women were 16/58/52/53/39/51/81 genotypes. **Conclusions** HPV infections in Shenyang are mainly infections with high risk viruses and single infection. The infection rate and genotype distribution of HPV are different in different age groups. More suitable HPV vaccine prophylaxis can be taken according to the epidemic characteristics of HPV in this area.

【Key words】 Human papillomavirus; Genotype; Infection characteristics

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.04.012

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,在世界范围内,宫颈癌是发病率排名第 3 位的女性恶性肿瘤,其发病率在所有恶性肿瘤中排名第 7 位,在我国,宫颈癌的患病率居妇女恶性肿瘤第 1 位,且宫颈癌的发病正呈现一种年轻化趋势^[1]。人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染与女性宫颈癌发生有着密切的关系,是宫颈癌发生的最主要因素。研究表明,90% 以上的宫颈癌患者伴有 HPV 感

染^[2],同时,有超过 80% 的性活跃女性会在生命的某个时间点感染 HPV^[3]。作为宫颈癌发生的必要条件,阻止 HPV 感染是预防宫颈癌发生的最为有效措施,而进行女性宫颈癌早期筛查和接种疫苗预防是减少和预防 HPV 感染的最为有效手段^[4]。

我国地域宽广,民族众多,各个地区经济和文化不同,HPV 的感染情况也有着明显的地域差异^[5]。本研究对 2016 年 1 月 1 日至 2016 年 12 月 31 日期

间我院妇科门诊 55 548 例患者的宫颈脱落细胞进行了 HPV 基因分型检测和结果分析,得出了沈阳地区 HPV 感染型分布以及年龄分布特征,为本地区宫颈癌的防治以及 HPV 疫苗的研究与推广提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2016 年 1 月 1 日至 2016 年 12 月 31 日期间,在中国医科大学附属盛京医院妇科门诊就诊的 55 548 例患者,年龄 15~87 岁,平均年龄 39.67 岁。其中 ≤20 岁者 438 例,21~30 岁者 1 1794 例,31~40 岁者 18 705 例,41~50 岁者 15 462 例,51~60 岁者 7 322 例,60 岁以上者 1 827 例。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器:用于 HPV 分型检测的仪器分别为凯普 (HybriBio) 医用核酸分子快速杂交仪 HHM-2 型和 BIOER 的 LifeECO 基因扩增仪 TC-96/G/H (b) C 等。

1.2.2 试剂:所用试剂为潮州凯普生物化学有限公司的人乳头瘤病毒分型检测试剂盒 (PCR+膜杂交法)。此试剂盒可以检测 21 种 HPV 型,其中包括高危型 15 种 (16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66 和 68 型),低危型 6 种 (6、11、42、43、44 和 81 型)。

1.3 检测方法

1.3.1 HPV 标本的采集:由妇科医生以窥阴镜或阴道开张器暴露宫颈口,用宫颈刷提取宫颈环状上皮与柱状上皮转化处的宫颈脱落细胞,将其放入装有细胞保存液的样本管中,旋紧管盖,并注明编号和日期,然后送检。未及时送检的标本要将其置于 4℃ 条件下保存,在两个星期内完成检测,也可在 -20℃ 条件下长期保存。

1.3.2 DNA 分离提取:取含有样品细胞的细胞保存液 500 μl,以 18 000 ×g 离心 1 min,弃掉上清液。加入 400 μl 溶液 I,混匀后煮沸 15 min。加入 400

μl 溶液 II 混匀后,室温放置 2 min,在 18 000 ×g 离心 5 min,弃掉上清液。打开试管盖,室温放置 2 min,加入 60 μl 溶液 III,取 1 μl 此样品作为模板进行 PCR 扩增,剩余 DNA 样品存储于 -20℃ 备用。

1.3.3 PCR 扩增:将 PCR 混合液、DNA 聚合酶和 DNA 模板按照要求混匀 (1 人份为 PCR-mix 23.25 μl + Taq 酶 0.75 μl + 模板 1 μl),扩增的反应体系为 25 μl/反应,按照以下扩增程序进行 PCR 扩增:95℃ 9 min 变性;95℃ 20 s,55℃ 30 s,72℃ 30 s,共 40 个循环;72℃ 5 min 延伸;最后 4℃ 保存。

1.3.4 杂交:根据人乳头瘤病毒分型检测试剂盒说明进行杂交检测,在 1 h 内分析结果。

1.3.5 结果判读:在两个质控点均为阳性的前提下,如果有 1 个或者 1 个以上 HPV 分型点为阳性代表该型 HPV 检测阳性,结果为 HPV 单一或者混合感染。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 对结果进行统计分析,利用 χ^2 检验对数据进行比较, $P < 0.05$ 表示差异结果具有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 感染总体情况 在 55 548 例妇科门诊患者中,有 9 566 例患者 HPV 检测结果呈阳性,阳性率为 17.22%。其中,单纯高危型感染者 8 093 例 (8 093/55 548,阳性率为 14.57%),包括单一高危型感染者 6 762 例 (6 762/55 548,阳性率为 12.17%),多重高危型感染者 1 331 例 (1 331/55 548,阳性率为 2.40%)。单纯低危型感染者 868 例,占检测总数的 1.56%,其中包括单一低危型 811 例,多重低危型 57 例。高低危混合型感染者 605 例,占检测总数的 1.09%;同时,在阳性患者中单一型 HPV 感染 7 573 例,二重感染 1 461 例,三重感染 386 例,四重感染 98 例,五重感染 36 例,五重以上感染 12 例,分别占检测总数的 13.63%、2.63%、

表 1 人乳头瘤病毒感染情况

Tab.1 Summary of HPV infection characteristics

组别	单纯高危型	单纯低危型	高低危混合型	合计	占检测者比例 (%)	占感染者比例 (%)
单一感染	6 762	811	0	7 573	13.63	79.17
二重感染	976	46	439	1 461	2.63	15.27
三重感染	262	8	116	386	0.69	4.04
四重感染	65	3	30	98	0.18	1.02
五重感染	23	0	13	36	0.06	0.38
五重以上感染	5	0	7	12	0.02	0.12
合计	8 093	868	605	9 566	17.22	100.00

0.69%、0.18%、0.06%和 0.02%(如表 1 所示)。统计学分析结果提示:单纯高危型 HPV 阳性率高于单纯低危型阳性率及高低危混合型阳性率($P<0.01$)。

2.2 HPV 感染型分布情况 在 9 566 例 HPV 检测结果为阳性的标本中,共检测出 HPV 型 12 360 株(包括单一感染和多重感染,多重感染重复计数),其中高危型 10 879 株,占 HPV 型总数的 88.02%,低危型 1 481 株,占比 11.98%;在所有检出的 HPV 型中,占比排名前六位的分别为 HPV16、58、52、53、39 和 51 型,分别占全部检出 HPV 型的 17.73%、11.20%、10.99%、8.02%、7.13%和 6.50%,这 6 种型总构成比为 61.57%,而且都是高危型(如图 1);在低危型中,最常见的是 81 型(占比 5.12%),其次分别为 HPV6、11、44、42 和 43 型,占比依次为 3.05%、2.60%、0.77%、0.25%和 0.19%。在单一感染情况下,共检出 HPV 型 7 573 株,占比前 6 位的分别为 HPV16、52、58、39、53 和 51 型,都是高危型;在低危型单一感染者中,最常见的还是 81 型,其次分别为 HPV11、6、44、42 和 43 型。

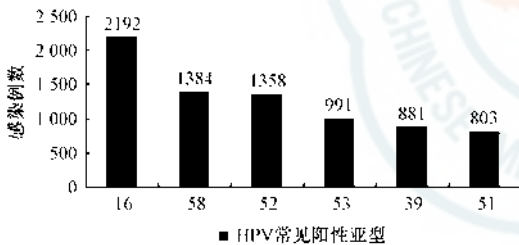


图 1 辽宁省沈阳地区人乳头瘤病毒常见型感染状况

Fig.1 Common type infection status of HPV in Shenyang, Liaoning Province

2.3 HPV 感染者年龄分布情况 如表 2 所示,在 ≤ 20 岁至 60 岁以上共 6 组患者中,HPV 感染率分别为 31.96%、17.89%、15.90%、16.39%、19.71%和 19.92%。不同年龄段患者之间的 HPV 感染率存在差异。其中, ≤ 20 岁、51~60 岁和 60 岁以上年龄段的感染率比 21~50 岁之间的 3 个年龄段患者的感染率高,差异具有统计学意义($P<0.05$);21~30 岁

患者 HPV 感染率与 31~40 岁和 41~50 岁两个年龄段患者比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);31~40 岁患者与 41~50 岁年龄段比较,HPV 感染率之间差异无统计学意义($P>0.05$); ≤ 20 岁年龄段患者与 51~60 岁和 60 岁以上年龄段患者比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);51~60 岁与 60 岁以上年龄段患者感染率差异无统计学意义($P>0.05$);各年龄段患者 HPV 的感染率变化趋势呈“U”状,其中 ≤ 20 岁年龄段感染率最高。

2.4 不同年龄感染者 HPV 型分布情况 在 9 566 例 HPV 阳性患者中,不同年龄的患者感染的主要 HPV 基因型各不相同,各年龄组常见型分布情况如表 2 所示。其中,在 ≤ 20 岁的感染者 6 种 HPV 常见型中,低危型 HPV11 型和 HPV6 型排在第 2 位和第 3 位,分别占该年龄组所有感染型的 11.16% 和 9.92%;而在高危型中, ≤ 20 岁组的 HPV66 型占所有感染型比例(5.37%)高于其他组,位列该组常见高危型的第 6 位;60 岁以上组的 HPV33 型占所有感染型比例(6.52%)也高于其他组,位列该组常见高危型的第 5 位;21~60 岁的 4 个组中女性常见高危 HPV 型比较类似。

3 讨论

宫颈癌发生的首要危险因素是 HPV 的持续感染,HPV 持续感染也是宫颈癌发生的必要条件。有研究表明,及时进行 HPV 的筛查以及在适当年龄完成疫苗接种对宫颈癌的发生具有良好的预防作用,HPV 疫苗接种对性生活前期的女性预防宫颈癌的效果最好^[6]。由于 HPV 的感染情况存在明显的地域差异,我国地域辽阔,不同的生活环境和习惯导致不同地区 HPV 感染情况及 HPV 型分布各不相同^[7-10]。正是由于不同地区 HPV 感染情况不同,主要 HPV 型分布也不相同,所以对某一限定区域的 HPV 分型检测结果进行统计分析有利于了解该区域 HPV 的感染状况和 HPV 型分布情况,对 HPV 疫

表 2 各年龄组女性人乳头瘤病毒感染率及型分布情况

Tab.2 HPV infection rate and type distribution among women of different age groups

年龄组(岁)	患者例数	感染者例数	感染率(%)	常见型	常见高危型		
≤ 20	438	140	31.96	16、11、6、51	58 和 52	16、51、58、52	39 和 66
21~30	11 794	2 110	17.89	16、58、52、39	53 和 51	16、58、52、39	53 和 51
31~40	18 705	2 975	15.90	16、52、58、39	51 和 53	16、52、58、39	51 和 53
41~50	15 462	2 534	16.39	16、58、52、53	39 和 81	16、58、52、53	39 和 51
51~60	7 322	1 443	19.71	16、58、53、52	81 和 39	16、58、53、52	39 和 51
60 以上	1 827	364	19.92	16、58、52、53	81 和 33	16、58、52、53	33 和 39

苗的普及和应用具有指导意义,从而更加有效地预防宫颈癌的发生。

本研究结果显示,在 55 548 例妇科门诊患者中,有 9 566 例是 HPV 阳性患者,检测阳性率为 17.22%,单纯高危型 HPV 感染率(14.57%)高于单纯低危型感染率(1.56%)及高低危混合型感染率(1.09%)($P < 0.01$);与其他地区研究结果^[7-10]略有不同,且低于全国女性的 HPV 感染率(25.0%)^[5]。不同地区 HPV 感染率不尽相同可能与该地区的经济情况、生活习惯、人口流动性及公共卫生水平等情况相关。另外,统计分析所选择的研究对象和患者标本的检测方法也是造成感染率不同的主要因素之一,但门诊就诊患者的数据基本反映出疑似感染者的 HPV 感染状况。

本研究结果显示,在 9 566 例阳性患者中单一 HPV 型感染者占有所有感染者的 79.17%,二重感染、三重感染、四重感染、五重感染和五重以上感染所占比例分别为 15.27%、4.04%、1.02%、0.38%、和 0.125%;说明在本地区 HPV 感染者中,单一型 HPV 感染明显多于多重感染,且以单纯高危型感染为主。有报道显示,陕西省铜川地区、山东省滨州地区和重庆南川地区的感染情况也是单一型 HPV 感染明显多于多重感染,且以单纯高危型感染为主^[8-10]。

与 HPV 的感染率相同,HPV 型分布的地域性差别^[7-10,12]也十分显著,这可能是因为 HPV 型别的选择与宿主免疫状态及不同地理环境和生活条件下的免疫遗传因素有关^[11]。本研究结果显示,辽宁省沈阳地区常见的 HPV 型为 HPV16、58、52、53、39 和 51 型。在单一型感染情况下,常见的 HPV 型为 HPV16、52、58、39、53 和 51 型,最常见的低危型是 81 型。除了 HPV16 型的感染率位列第一以外,HPV52 型和 58 型位列前 3 位。HPV 感染诱发的疾病复杂多样,并且存在感染型及环境地理等多方面的影响因素^[13],不同的型可能导致的疾病也有所不同,因此对本地区 HPV 型分布情况的研究,更有利于疾病的筛查、预防、诊断及治疗,HPV 型谱也为该地区疫苗针对性的研发和接种提供参考依据。

本研究显示,不同年龄段 HPV 的感染率差异有统计学意义($P < 0.05$),大致呈现“U”状排列,这与国内相关文献报道一致^[9-10]。其中 ≤ 20 岁年龄段的感染率最高(31.96%),其次是 60 岁以上年龄段(19.92%)和 51~60 岁年龄段(19.71%),提示 ≤ 20 岁和 50 岁以上的女性是 HPV 的易感人群。年轻女

性随着社会的开放,较早的开始性生活,同时,安全卫生意识欠缺,生殖道免疫系统相对不成熟,宫颈鳞状上皮细胞对 HPV 较敏感,因而易受 HPV 感染^[14]。而更年期年龄段妇女的 HPV 高感染率可能与机体内环境改变,体内性激素下降,阴道自净能力及机体免疫力下降有关。50 岁以上的女性是 HPV 感染的高发人群,在没有医疗干预的情况下更容易发生持续感染,这一结果与宫颈癌高发年龄段相似,是重点筛查的对象;而年轻女性自身防御 HPV 感染的能力不足,安全意识匮乏,有必要在青春期加强性教育的普及和注射疫苗。

随着年龄的变化,各年龄段人群 HPV 的感染率各不相同,而不同年龄段人群感染的 HPV 型更是不同。本研究对辽宁省沈阳地区不同年龄段女性感染的基因型进行统计分析,结果显示各组之间存在差异。 ≤ 20 岁组常见高危型为 HPV16、51、58、52、39 和 66 型,21~30 岁组常见高危型为 HPV16、58、52、39、53 和 51 型,31~40 岁组常见高危型为 HPV16、52、58、39、51 和 53 型,41~50 岁组常见高危型为 HPV16、58、52、53、39 和 51 型,51~60 岁组常见高危型为 HPV16、58、53、52、39 和 51 型,60 岁以上组常见高危型为 HPV16、58、52、53、33 和 39 型。以上数据真实显示出沈阳地区不同年龄女性 HPV 基因型分布的特征,为 HPV 疫苗工程提供了依据。

有资料显示,HPV 具有宿主和组织特异性,可以感染人的皮肤和黏膜,同时不同的基因型可以导致人体不同的疾病,HPV11 型和 HPV6 型对尖锐湿疣有高度的致病性^[15];研究中我们发现,在 ≤ 20 岁的感染者 6 种 HPV 常见型中,低危型 HPV11 型和 HPV6 型排在第 2 位和第 3 位,分别占该年龄组所有感染型的 11.16% 和 9.92%,而其他年龄组 6 种常见型中并没有这两种型,说明年轻的女性群体是尖锐湿疣的高发人群,应当加以重视,定期筛查,并加强安全卫生意识,选择性的接种疫苗。而在高危型中, ≤ 20 岁组的 HPV66 型占有所有感染型比例(5.37%)高于其他组,HPV51 型和 HPV39 型也是该组常见的高危型,但是已经上市的 HPV 疫苗并不包括这几种高危型^[16],所以针对沈阳地区准备或者已经接种疫苗的年轻女性应该对这 3 种高危型加以监测,也为针对性的疫苗研发提供依据。

综上所述,本研究通过对中国医科大学附属盛京医院 55 548 例妇科门诊患者 HPV 核酸检测结果的分析,得到了辽宁省沈阳地区 HPV 特有的流行特

征。研究结果提示,需要采取切实有效的宣传措施,提高广大女性对 HPV 感染的认识程度,提高高发人群进行定期筛查和连续检测的比率,这些相关措施将对早期发现和治疗 HPV 感染,继而降低宫颈癌的发病率具有重要的意义。同时,研究结果也为沈阳地区 HPV 疫苗的研发、应用以及推广提供可靠的科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 齐特:文章撰写、实验操作、病例收集;黄郁晶:实验操作、病例收集;刘超、王博、吴昊、苗野:病例收集;阮强:研究设计、指导、论文修改

参考文献

- [1] 陈慧,周思园,孙振球. 常见妇科三大恶性肿瘤的流行及疾病负担研究现状[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(6): 108-112.
- [2] 郎景和. 迎接子宫颈癌预防的全球挑战与机遇[J]. 中华妇产科杂志, 2002, 37(3): 129-131.
- [3] Aamod DS, Dinesh N, Peter V, et al. Cervical Cancer Prevalence, Incidence and Mortality in Low and Middle Income Countries: A Systematic Review[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2018, 19(2): 319-324. DOI: 10. 22034/APJCP. 2018. 19. 2. 319.
- [4] 侯安存, 杨爱君. 人乳头瘤病毒疫苗预防宫颈癌的研究进展[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(4): 414-417. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-4695. 2017. 04. 034.
- [5] 张靖, 高波, 康赟, 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. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0254-5101. 2014. 12. 005.
- [6] 吉赛赛, 李克莉, 李燕, 等. 预防性人乳头瘤病毒疫苗的研发和使用进展[J]. 中国疫苗和免疫, 2017, 23(2): 222-229.
- [7] 黄俊远, 张战锋, 卢卫国, 等. 广州地区 7340 例人乳头状病毒基因分型及感染情况分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(11): 1576-1580. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2017. 11. 020.
- [8] 李军, 张碧莹, 王一羽, 等. 陕西省铜川地区妇女人群 HPV 感染现状及其常见亚型流行特征[J]. 解放军预防医学杂志, 2017, 35(12): 1511-1514.
- [9] 付荣华. 滨州地区妇女宫颈人乳头瘤病毒感染现状的调查[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(12): 1242-1244. DOI: 10. 11748/bjmy. issn. 1006-1703. 2015. 12. 014.
- [10] 杨夕, 汪文明, 安刚, 等. 重庆南川地区人乳头瘤病毒感染的基因型分布特点[J]. 重庆医学, 2014, 43(6): 707-709. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2014. 06. 026.
- [11] Stanley MA. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus[J]. Clin Microbiol Rev, 2012, 25(2): 215-222. DOI: 10. 1128/CMR. 05028-11.
- [12] 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.
- [13] 李凌佳, 张胜, 刘彤云, 等. 人乳头瘤病毒分子流行病学及临床相关疾病诊疗进展[J]. 皮肤病与性病, 2017, 39(1): 21-23. DOI: 10. 3969/j. issn. 1002-1310. 2017. 01. 012.
- [14] 赵琪, 潘杰, 朱菊平, 等. 上海地区宫颈细胞学正常女性人乳头瘤病毒型别分布及影响因素分析[J]. 中华健康管理学杂志, 2017, 11(6): 504-509. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-0815. 2017. 06. 005.
- [15] 朱蓉, 季洪斌. 荧光 PCR 技术在检测人乳头瘤病毒 6, 11 型感染中的应用[J]. 江苏大学学报(医学版), 2004, 14(3): 241-242.
- [16] 吴宝杰, 杨志建. HPV 及其相关疫苗的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(4): 662-671. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-2084. 2018. 04. 007.

(收稿日期:2018-08-25)

(本文编辑:陈培莉)

中华医学会