

# 湖北地区女性人乳头瘤病毒基因分型检测的临床意义

徐万洲, 吴青, 李艳, 顾剑

(武汉大学人民医院检验科, 湖北 武汉 430060)

**摘要:**目的 调查湖北地区女性高危型人乳头瘤病毒(HPV)的感染情况, 评估 HPV 基因分型检测在临床检测中的意义, 为湖北地区宫颈癌预防筛查提供依据。**方法** 回顾性分析武汉大学人民医院门诊和体检中检测 HPV 病毒分型的结果, 分别统计其感染率, 各年龄段的感染率、感染基因型及各基因型的检出率, 以及感染模式等。**结果** 进行 HPV 基因分型检测的总人数为 9 085 例, 感染率为 21.23% (1 929/9 085), 共检出 27 种基因型, 高危型和低危型检出率分别为 16.93% (1 538/9 085) 和 5.15% (468/9 085), HPV 感染以单一型感染为主, 占比高达 80.97%。阳性率最高的三种基因型分别是 HPV 16 型(3.85%), HPV 52 型(3.37%) 和 HPV 58 型(2.59%), 按年龄分为 <30 岁, 30 ~ <40 岁, 40 ~ <50 岁, 50 ~ <60 岁, ≥60 岁共 5 组, 各年龄段的感染率分别为 27.40%、22.95%、18.44%、20.54%、14.98%, 组间差异有统计学意义( $\chi^2 = 66.05, P < 0.05$ ); 各年龄组中高危型占比分别为 79.04% (415/525)、81.49% (559/686)、75.70% (539/712)、75.30% (250/332)、73.71% (68/92), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 9.60, P < 0.05$ )。**结论** 湖北地区 HPV 感染率为 21.23%, 不同年龄段 HPV 感染率差异有统计学意义, 随年龄增长感染率有下降趋势, 且高危型病毒感染率随年龄增大而降低, 且以单一型感染为主, HPV 基因分型检测对发现宫颈癌前病变和宫颈癌的预防有重要意义。

**关键词:** 人乳头瘤病毒; 基因分型; 流行病学; 宫颈癌

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2017.06.015

## Clinical significance of human papillomavirus genotyping in female lived in hubei province

XU Wanzhou, WU Qing, LI Yan, GU Jian

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

**Abstract: Objective** To investigate the infection of human papillomavirus (HPV) in female in Hubei Province and evaluate the significance of HPV genotyping on clinical detection and provide epidemiological evidence for the prevention and screening of cervical cancer. **Method** HPV testing results were retrospectively analyzed. All testing were performed by the Tellgenplex HPV DNA Test. Overall prevalence, age-specific prevalence, genotype distributions and infection pattern were analyzed. **Result** A total of 9 085 samples were tested and the overall HPV prevalence was 21.23% (1 929/9 085). Twenty seven genotypes were detected with 16.93% (1 538/9 085) positive for high risk HPV (HR-HPV) and 5.15% (468/9 085) positive for low risk HPV (LR-HPV). 80.97% of HPV positive cases were positive for single HPV type. The three most common HPV types detected were HPV 16 (3.85%), HPV 52 (3.37%) and HPV 58 (2.59%). All of the cases were divided into five age groups: <30 years, 30- <40 years, 40- <50 years, 50- <60 years and ≥60 years old, and the HPV positive rate of each group were 27.40%, 22.95%, 18.44%, 20.54% and 14.98% respectively. The differences among the five groups had statistical significance ( $\chi^2 = 66.05, P < 0.05$ ). The high risk HPV infected patients account 79.04% (415/525), 81.49% (559/686), 75.70% (539/712), 75.30% (250/332) and 73.71% (68/92) respectively in the positive patients of different age groups, and their differences also had statistical significance ( $\chi^2 = 9.60, P < 0.05$ ). **Conclusion** The HPV positive rate in female of Hubei province was 21.23%. The age-specific prevalence and genotype distribution of HPV were different in different age groups. The positive rate and high-risk proportion decreased with age.

**Key words:** Human papillomavirus; Genotyping; Prevalence; Cervical cancer

宫颈癌是女性最常见的肿瘤之一,严重影响女性身心健康,其病因研究一直备受国内外学者重视,研究发现高危型人乳头瘤病毒(HPV)感染与宫颈癌的

发生密切相关,99.8%的宫颈癌病人有 HPV 感染, HPV 感染是宫颈癌发生的主要因素,宫颈癌病人 HPV 感染率高达 90% 以上。尤其是 HPV 16 型和 HPV 18 型被认为是宫颈癌致病的高危型病毒<sup>[14]</sup>。

据学者报道,高频环形电切术(利普刀)在治疗宫颈上皮内瘤样病变(CIN)后 HPV 持续感染方面

的效果较好,不仅能切除高级 CIN,还能清除高危型 HPV 持续感染,对预防宫颈癌有重要的意义<sup>[5-6]</sup>。因此了解 HPV 感染率及基因型的分布等对预防宫颈癌的发生有重要作用,本研究主要针对湖北地区 9 085 例女性病人的宫颈上皮细胞内的 HPV 病毒感染情况及基因型等流行病学信息进行分析,为湖北地区宫颈癌预防筛查和疫苗研制奠定流行病学基础。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2014 年 9 月—2016 年 8 月期间武汉大学人民医院门诊就诊的人乳头瘤筛查的女性病人 9 085 例,年龄 19~78 岁,采集人员以扩阴器暴露宫颈口,用棉拭子擦去宫颈口的分泌物,然后采用专用宫颈刷深入宫颈口处,紧贴宫颈口顺时针轻柔转动 4~5 圈,慢慢抽出宫颈刷,将其放入装有细胞保存液的专用保存管中,在管口处沿折痕将宫颈刷折断,将刷头保留在保存管中,盖紧管盖并立即送检。

**1.2 仪器与试剂** 多功能流式点阵仪 Luminex200 (美国 Luminex 公司)、HPV 核酸分型检测试剂盒 (上海透景生命科技有限公司)、Eppendorf5427R 高速冷冻离心机,ABI Veriti 梯度 PCR 仪。

## 1.3 检测方法

**1.3.1 核酸提取** HPV 病毒核酸提取采用煮沸裂解法,首先取 400  $\mu\text{L}$  待测样本,13 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min,小心吸弃上清液,保留沉淀物;然后向沉淀物中加入 200  $\mu\text{L}$  脱落细胞核酸释放试剂,振荡混匀,将混匀后的离心管放置 100  $^{\circ}\text{C}$  干浴锅 15 min,13 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 6 min,上清液即为所提取核酸模板。

**1.3.2 PCR 扩增** 每个 PCR 反应体系总体积为 20.8  $\mu\text{L}$ ,其中 PCR 预混液 10.0  $\mu\text{L}$ 、引物混合液 5.0  $\mu\text{L}$ 、聚合酶 0.8  $\mu\text{L}$ 、模板 5.0  $\mu\text{L}$ ,扩增条件如:95  $^{\circ}\text{C}$  5 min,1 个循环;95  $^{\circ}\text{C}$  30 s,58  $^{\circ}\text{C}$  30 s,5 个循环;95  $^{\circ}\text{C}$  30 s,55  $^{\circ}\text{C}$  30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  30 s,35 个循环,72  $^{\circ}\text{C}$  3 min,1 个循环。

**1.3.3 杂交及检测** 每加样孔加入微球杂交液 22  $\mu\text{L}$ ,取 PCR 产物 3  $\mu\text{L}$  于微孔杂交板中,抽吸混匀,剪取相应大小的封口膜,覆盖微孔杂交板封口,PCR 仪上 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 5 min,48  $^{\circ}\text{C}$  杂交 30 min,程序结束后,撕下封口膜,每孔加入 SA-PE 溶液 75  $\mu\text{L}$ ,抽吸混匀,于 PCR 仪上继续 48  $^{\circ}\text{C}$  孵育 15 min。

**1.3.4 结果判读** 最后将微孔杂交板快速移至预热 48  $^{\circ}\text{C}$  的 Luminex200 上进行检测。针信号的中位数作为计算的背景信号,如任何 HPV 亚型探针的

信号 > 150,且  $\geq 2.5$  倍背景信号值,即判断为该探针对应 HPV 型别“阳性”。如不符合前述条件的,即判断为“阴性”。阳性内对照 Globin 的信号 > 150,且  $\geq 2.5$  倍背景信号值,即表明实验成功,否则实验失败,重新检测。该方法可以检测 27 种型别,包括 17 种高危型 (HPV 16、HPV 18、HPV 26、HPV 31、HPV 33、HPV 35、HPV 39、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 66、HPV 68、HPV 82) 和 10 种低危型 (HPV 6、HPV 11、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 55、HPV 61、HPV 81、HPV 83)。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析,组间率的比较采用 Pearson  $\chi^2$  检验,趋势检验采用 Linear-by-Linear Association  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为趋势有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HPV 感染率及基因型检出情况** 9 085 例有效样本中,共有 1 929 例中检出 HPV 病毒感染 (包括单一型和混合型感染)。其感染率为 21.23% (1 929/9 085),一共检出 27 种基因型,其中高危型 17 种,低危型 10 种,高危型感染率为 16.93% (1 538/9 085),低危型感染率为 5.15% (468/9 085),其中以 16 型、52 型和 58 型等 3 种高危型的感染率最高,各种基因型检测结果按阳性率从高到低按高危型和低危型分别进行排序,如表 1 所示。

表 1 9 085 例标本 HPV 病毒基因型及各型检出率

危险性	基因型	阳性 例数	阳性 率/%	危险性	基因型	阳性 例数	阳性 率/%
高危型	HPV 16	350	3.85	高危型	HPV 45	23	0.25
高危型	HPV 52	306	3.37	高危型	HPV 82	23	0.25
高危型	HPV 58	235	2.59	高危型	HPV 26	3	0.03
高危型	HPV 53	129	1.42	低危型	HPV 61	85	0.94
高危型	HPV 18	127	1.40	低危型	HPV 81	84	0.92
高危型	HPV 56	115	1.27	低危型	HPV 43	73	0.80
高危型	HPV 51	110	1.21	低危型	HPV 6	60	0.66
高危型	HPV 39	96	1.06	低危型	HPV 55	58	0.64
高危型	HPV 33	82	0.90	低危型	HPV 44	45	0.50
高危型	HPV 66	77	0.85	低危型	HPV 11	39	0.43
高危型	HPV 59	57	0.63	低危型	HPV 42	38	0.42
高危型	HPV 31	34	0.37	低危型	HPV 40	17	0.19
高危型	HPV 35	32	0.35	低危型	HPV 83	17	0.19
高危型	HPV 68	32	0.35				

注:共 2 347 例被感染 (部分病人为 2 种、3 种、4 种以及 5 种型别混合感染,故例数大于 1 929 例)。

**2.2 年龄与感染率及基因型分布** 对检测结果为阳性的1 929例病人以年龄进行分组,以10岁为一组,分别为<30岁,30~<40岁,40~<50岁,50~<60岁,≥60岁5组(因20岁以下和70岁以上的人数较少,分别并入<30岁组和≥60岁组),分别统计各组的感染率,组间感染率差异有统计学意义( $\chi^2 = 66.05, P < 0.05$ ),且随年龄增长感染率有下降趋势( $\chi^2 = 50.137, P < 0.05$ ),各组阳性率见表2。

**表2 各年龄组 HPV 感染率比较**

年龄段/岁	总例数	阳性例数	感染率/%
<30	1 478	405	27.40
30 ~ <40	2 519	578	22.95
40 ~ <50	3 264	601	18.44
50 ~ <60	1 290	265	20.54
≥60	534	80	14.98
合计	9 085	1 929	21.23

<30岁,30~<40岁,40~<50岁,50~<60岁,≥60岁各年龄组中高危型占比分别为79.04%(415/525)、81.49%(559/686)、75.70%(539/712)、75.30%(250/332)、73.71%(68/92),差异有统计学意义( $\chi^2 = 9.60, P < 0.05$ ),但随年龄的增加,高危型感染的比例无降低趋势( $\chi^2 = 0.762, P = 0.383$ )。对各种基因型的总检出例数以及在各年龄段的检出例数分别进行了统计,高危型和低危型分别按照各种基因型阳性率由高到低排序,具体见表3,各年龄组别中最常见的3种基因型依次均为16型、52型和58型等3种高危型。此外,本研究结果还显示,HPV单一型别感染,2种、3种、4种以及5种型别混合感染的例数分别为1 562例、294例、59例、13例和1例,以单一型别感染为主,占比达80.97%,混合感染占19.03%。

**表3 各年龄组别中各型别 HPV 病毒阳性例数及阳性率**

危险性	基因型	<30岁(n=1 478)		30~<40岁(n=2 519)		40~<50岁(n=3 264)		50~<60岁(n=1 290)		≥60岁(n=534)	
		例数	阳性率/%	例数	阳性率/%	例数	阳性率/%	例数	阳性率/%	例数	阳性率/%
高危型	HPV 16	82	5.55	95	3.77	109	3.34	48	3.72	16	3.00
高危型	HPV 52	60	4.06	89	3.53	102	3.13	46	3.57	9	1.69
高危型	HPV 58	47	3.18	81	3.22	70	2.14	27	2.09	10	1.87
高危型	HPV 53	25	1.69	42	1.67	40	1.23	17	1.32	5	0.94
高危型	HPV 18	30	2.03	41	1.63	35	1.07	18	1.40	3	0.56
高危型	HPV 56	32	2.17	34	1.35	26	0.80	20	1.55	3	0.56
高危型	HPV 51	29	1.96	30	1.19	35	1.07	11	0.85	5	0.94
高危型	HPV 39	22	1.49	27	1.07	32	0.98	14	1.09	1	0.19
高危型	HPV 33	11	0.74	28	1.11	28	0.86	11	0.85	4	0.75
高危型	HPV 66	27	1.83	24	0.95	16	0.49	6	0.47	4	0.75
高危型	HPV 59	12	0.81	22	0.87	11	0.34	8	0.62	4	0.75
高危型	HPV 31	12	0.81	7	0.28	8	0.25	7	0.54	0	0.00
高危型	HPV 35	6	0.41	11	0.44	8	0.25	5	0.39	2	0.37
高危型	HPV 68	5	0.34	12	0.48	8	0.25	5	0.39	2	0.37
高危型	HPV 45	9	0.61	7	0.28	3	0.09	4	0.31	0	0.00
高危型	HPV 82	5	0.34	9	0.36	7	0.21	2	0.16	0	0.00
高危型	HPV 26	1	0.07	0	0.00	1	0.03	1	0.08	0	0.00
低危型	HPV 61	21	1.42	26	1.03	23	0.70	11	0.85	4	0.75
低危型	HPV 81	8	0.54	22	0.87	31	0.95	17	1.32	6	1.12
低危型	HPV 43	17	1.15	15	0.60	23	0.70	15	1.16	3	0.56
低危型	HPV 6	25	1.69	12	0.48	18	0.55	5	0.39	0	0.00
低危型	HPV 55	8	0.54	14	0.56	21	0.64	12	0.93	3	0.56
低危型	HPV 44	5	0.34	15	0.60	15	0.46	5	0.39	5	0.94
低危型	HPV 11	17	1.15	7	0.28	8	0.25	5	0.39	2	0.37
低危型	HPV 42	3	0.20	7	0.28	23	0.70	5	0.39	0	0.00
低危型	HPV 40	5	0.34	5	0.20	4	0.12	3	0.23	0	0.00
低危型	HPV 83	1	0.07	4	0.16	7	0.21	4	0.31	1	0.19
合计		525		686		712		332		92	

### 3 讨论

本研究主要通过大样本数据,针对湖北地区 HPV 感染率及各基因型分布等流行病学信息进行调查和分析,发现湖北地区 HPV 的总体感染率为 21.23%,其感染率低于江苏、浙江和广东地区,高于甘肃地区<sup>[7-10]</sup>。而在湖北省其他地区的感染率也高低不等,低于宜昌、黄冈、襄阳以及荆门等地区,其感染率在 31.16% ~ 34.40% 之间,而高于荆州(12.1%)及武汉(17.46%)等地区<sup>[11-16]</sup>, HPV 感染存在明显的地区特征,与各地区的经济水平及人群生活方式相关,如初婚年龄、性伴侣数量、婚外性行为等<sup>[17]</sup>。

本研究发现 <30 岁年龄组的女性感染率最高,达到了 27.4%, ≥60 岁的女性人群感染率最低,仅为 14.98%,且组间差异有统计学意义,且随年龄增长,HPV 感染率呈下降趋势,说明宫颈癌发病年轻化的趋势不容忽视,究其原因,现代女性性生活开始早而且正处于性生活频繁的年龄,又处于宫颈鳞柱状上皮转化期,给 HPV 病毒更多吸附于细胞表面,进而进入细胞内的机会,这与年轻女性容易受 HPV 病毒的感染有极大的关系<sup>[18]</sup>。

本研究不仅发现不同年龄组之间的感染率有所差异,而且还发现不同年龄组间所感染的型别有差异,与高龄组相比,低龄组所感染的病毒亚型中,高危型的比例较高,与宫颈癌直接相关的 HPV16 型和 HPV18 型的感染率分别高达 3.85% 和 1.40%,这也进一步印证了近年来宫颈癌发病年轻化的趋势<sup>[19]</sup>。

HPV 感染宫颈上皮细胞是宫颈上皮细胞内瘤变和宫颈癌的重要病因,目前宫颈癌的三级预防中,消除 HPV 病毒的感染是重要的一级预防措施,其方式包括 HPV 疫苗的注射和利普刀治疗 HPV 感染两种重要手段。而疫苗注射简单,且疗效已经得到验证,HPV 预防性疫苗的作用机制主要通过体液免疫预防 HPV 感染,一般以 HPV 主要衣壳蛋白 L1 和 L2 作为靶抗原,诱导机体产生高滴度的中和抗体和有效的局部免疫反应,以阻止 HPV 的长期感染和重复感染<sup>[20-21]</sup>。自 2006 年默克公司的 Gardasil 在美国应用临床到现在,大数据分析显示 HPV 疫苗在宫颈癌的预防中起到了重要作用,随着 2016 年 7 月葛兰素史克“希瑞适(HPV16 型和 HPV18 型)”获得中国 FDA 上市的许可,中国宫颈癌的预防将会出现较大的转机,本研究发现,湖北地区 HPV16 型和 HPV18 型的感染例数分别为 350 例和 127 例,占高危型感染总人数的 31.01% (477/1 538),疫苗的接种将有可能极大的降低宫颈癌的发病率。

### 参考文献

- [1] 蒋雪梅,李华,赖耀艳. 宫颈癌的研究新进展[J]. 现代医药卫生,2015,31(21):3251-3253.
- [2] 黄灵坚,苏敏,周小萍,等. HPV 及亚型在不同子宫颈腺癌中的表达情况分析[J]. 安徽医药,2014,19(9):1744-1745.
- [3] 袁林,徐又先,陈静,等. 高危型 HPV 感染者负性生活事件暴露与宫颈癌发生相关性分析[J]. 中华肿瘤防治杂志,2013,20(19):1465-1468.
- [4] 常小垒,郭科军,张颐. HPV 亚型与子宫颈癌前病变及癌变的关系探讨[J]. 中国医科大学学报,2014,43(8):722-723,727.
- [5] 李江宁,刁海丹. 环形电切术治疗宫颈上皮内瘤样病变后人乳头瘤病毒持续感染的临床分析[J]. 医学综述,2015,21(18):3454-3456.
- [6] 张宏伟,张蕾. 高频电波刀环型电切除术治疗 306 例宫颈上皮内瘤变的临床价值[J]. 上海医学,2007,30(11):831-833.
- [7] 崔燕红,宛传丹,赵一琳,等. 常熟地区女性 HPV 感染及亚型分布调查研究[J]. 安徽医药,2014,18(1):81-83.
- [8] 邹媛,郭兴中,陈婕,等. 浙江地区妇女生殖道人乳头瘤病毒感染亚型的检测及流行病学分析[J]. 中华流行病学杂志,2010,31(3):353-354.
- [9] 杨越波,刘冬,曾海涛. 广州地区女性 HPV 感染及分型影响因素分析[J]. 中国公共卫生,2012,28(3):365-367.
- [10] 杜宏,索兰草,刘红贤,等. 甘肃地区女性宫颈 HPV 感染的现状研究[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版),2015,36(1):40-45.
- [11] 刘敏,胡勇,向希映. 宜昌地区女性 HPV 感染状况分析[J]. 现代预防医学,2014,41(16):2938-2939.
- [12] 闻敏芳,王伟. 黄冈地区女性人乳头瘤病毒各亚型感染调查[J]. 医学信息,2010,5(12):3480-3481.
- [13] 黄光梅,陈秀娟,张雪丽. 襄阳市 1125 例女性宫颈人类乳头状瘤病毒感染状况分析[J]. 公共卫生与预防医学,2015,26(6):121-122.
- [14] 朱春芳,陈大贵. 荆门地区成年女性人乳头瘤病毒感染状况及基因分布[J]. 检验医学与临床,2013,10(9):1069-1070.
- [15] 张崇媛,王文容,居文惠. 荆州市女性宫颈 HPV 感染危险因素分析[J]. 中国性科学,2016,25(7):42-44.
- [16] 肖晗,孙红,向飞艳. 武汉地区女性宫颈人乳头状瘤病毒感染与亚型分布研究[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(14):3293-3295.
- [17] 胡艳杰. HPV 亚型在女性宫颈病变中的分布特征及易感因素分析[J]. 河北医药,2015(21):3319-3321.
- [18] 单滢. 人乳头瘤病毒感染细胞机制研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志,2013,29(8):519-522.
- [19] 高天杨,王秋艳,齐爽. 宫颈癌患者年轻化与人乳头瘤病毒感染增加的关系[J]. 黑龙江医学,2008,32(3):170-172.
- [20] HARPER DM, FRANCO EL. Wheeler Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial[J]. Lancet,2004,364(9447):1757-1765.
- [21] 严虹月,曹佩霞. 人乳头瘤病毒感染与宫颈癌的关系及其疫苗的研究进展[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版),2012,8(4):434-436.