

靖江地区宫颈病变患者高危型人乳头瘤病毒感染及其基因型分析

杨松¹ 何银¹ 薛丽萍¹ 羊柳² 季宇霞³

(1 江苏省靖江市第二人民医院检验科 江苏 靖江 214500 2 江苏省靖江市人民医院检验 江苏 靖江 214500 ;

3 江苏省靖江中医院检验科 江苏 靖江 214500)

摘要 目的:研究靖江地区各组宫颈病变中高危型人乳头瘤病毒 (HPV) 感染率及其基因型分布。**方法:**采用实时荧光 PCR 检测方法检测 334 例宫颈脱落细胞标本中高危型 HPV 及其基因型。**结果:**高危型 HPV 在宫颈炎组、湿疣组、低度鳞状上皮细胞内病变 (LSIL) 组、高度鳞状上皮细胞内病变 (HSIL) 组中的感染率分别为 24.2%、58.2%、49.3%、69.5% ; HPV 16、18、33、58 型在宫颈病变中是最常见的 HPV 型别, 其中, HPV16 型在宫颈炎组、湿疣组、LSIL 组、HSIL 组中所占比例逐渐增高, 分别为 17.9%、18.9%、30.8%、41.9%。**结论:**高危型 HPV 感染率随着宫颈病变程度的加重而升高, HPV16 型是高危型 HPV 感染中的主要亚型, HPV18、33、52、58 也较常见, 其余型别很少。

关键词:人乳头瘤病毒 高危型 宫颈癌 实时荧光 PCR

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273 (2011) 12-2342-03

Infection Rate Human Papilloma Virus and Genotype Distribution of Patients with Cervical Lesions in Jingjiang Area

YANG Song¹, HE Yin¹, XUE Li-ping¹, YANG Liu², JI Yu-xia³

(1 Department of Clinical Laborator of the second people hospital Jiangsu jingjiang 214500;

2 Department of Clinical Laborator of the people hospital Jiangsu jingjiang 214500;

3Department of Clinical Laborator of traditional Chinese medical hospital Jiangsu jingjiang 214500)

ABSTRACT Objective: To study the infection rate of human papilloma virus and genotype distribution of patients with cervical lesions in Jingjiang area. **Methods:** Detect the high-risk HPV types and genotype in 334 cervical specimens of routine Pap with Real-Time PCR. **Results:** The infection rate of high-risk HPV types in cervicitis group, condyloma group, LSIL group, HSIL group was 24.2%, 58.2%, 49.3%, 69.5%, respectively. The most common genotype in cervical lesions is HPV 16, 18, 33, 58; in which, the infection rate of HPV16 in cervicitis group, condyloma group, LSIL group, HSIL group was 17.9%, 18.9%, 30.8%, 41.9%, respectively. **Conclusion:** The infection rate of high-risk HPV increases with the severity of cervical lesions. HPV16 is the main genotype of the high-risk HPV infection. The other HPV types are more common.

Key words: Human papilloma virus; High-risk HPV types; Cervical cancer; Real-Time PCR

Chinese Library Classification (CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)12-2342-03

前言

根据 WHO 统计 (2005 年), 全世界每年有超过 50 万妇女宫颈癌新发病例, 90% 来自发展中国家, 我国每年约有 2 万妇女死于宫颈癌^[1-4]。世界范围研究表明, 人乳头瘤病毒 (HPV) 感染是宫颈癌的主要致病因素。迄今已发现 120 多型 HPV 病毒, 其中 HPV16、18、31、33、35、39、45 等型持续感染可引起宫颈上皮内瘤变 (cervical intraepithelial neoplasm, CIN) 与宫颈癌^[5,6], 因此被称为高危型 HPV (High Risk Human Papillomavirus, HR-HPV)。估计约 3% 感染 HPV 的妇女最终会发展为宫颈癌。Karin 报道, 几乎 100% 的鳞癌和超过 70% 的腺癌与 HR-HPV 有关^[7]。在世界不同地区, 导致女性宫颈癌的 HPV 型别会有一定差异, 比如欧洲与亚洲, 亚洲与中国导致妇女宫颈癌最常见的 8 种 HPV 基因型就稍有不同^[8,9], 或者说导致宫颈癌的 HPV 型

别因地理区域的不同在重要性上存在着某些差异^[11-13], 中国南方与北方常见 HPV 型别也有所不同。因此针对某一地区研究该地区人群导致宫颈癌的常见 HPV 基因型, 对于临床 HPV 检测具有一定的指导价值。本文采用荧光定量 PCR 的方法^[14,15]通过研究靖江女性 HPV 高危型、低危型在宫颈病变中的感染率, 以及 HPV 高危型在各级宫颈病变 HPV 感染中的分布比例, 以了解靖江地区不同宫颈病变中 HPV 感染率和感染型别。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 临床资料 选择 2009 年 3 月 ~ 2010 年 5 月在我院妇产科治疗的女性患者, 共 322 例宫颈脱落细胞标本。细胞学分类按 TBS 系统分为意义不明的不典型鳞状细胞 (ASCUS) 组 206 例、低度鳞状上皮细胞内病变 (low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) 组 94 例和高度鳞状上皮细胞内病变 (high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) 组 22 例

作者简介 杨松 (1981-), 男, 大专, 检验师, 主要研究方向: 分子生物学, 电话: 13905260062, E-mail: yangsong058@yahoo.com.cn

(收稿日期: 2010-11-19 接受日期: 2010-12-13)

(HSIL 中包括原位癌 2 例)。根据实时 PCR 标本采集要求采集标本。标本及时送检,实验室按常规预处理样本后 -20℃ 保存待检。标本采集均经研究对象本人同意。

1.1.2 试剂和仪器 所用试剂包括:高危 HPV 多亚型荧光 PCR 检测试剂盒,可检测 10 种高危型 (HPV16、18、31、33、35、45、52、53、56 和 58),HPV16/18 荧光 PCR 试剂盒,均由上海复星公司提供。所用仪器为 荧光定量 PCR 仪(ABI7500,美国 ABI 公司)。

1.2 检测方法

1.2.1 样本采集 将专用宫颈刷置于宫颈口,轻轻搓动宫颈刷使其顺时针旋转几圈,以取到足够的宫颈脱落细胞,且在取样前,若宫颈口分泌物较多,先用棉签擦去宫颈分泌物再取样,以便取到宫颈脱落细胞,而不只是分泌物,取样后的宫颈刷放入有细胞保存液的 2ml 取样管中,充分洗涤。

1.2.2 高危 HPV 多亚型荧光 PCR 检测 过程包括:(I) 标本 DNA 提取;(2) PCR 扩增与荧光检测,每个提取好的模板分两管检测,I 管检测 16、35、52、53、58,II 管检测 18、31、33、45、56。扩增程序为 50℃ 反应 2 min,经 94℃ 变性 2min 进入循环,循环温度及时间为 93℃ 15s,50℃ 90s,共 40 个循环,50℃ 时检测荧光。(3) 结果分析判断。

1.2.3 HPV16/18 荧光 PCR 检测 检测 16、18 两种高危型,操作步骤按试剂盒说明书进行。过程包括:(I) 标本 DNA 提取;(2) PCR 扩增与荧光检测,扩增程序为 50℃ 反应 1min,经 94℃ 变性 2min,进入循环,循环温度及时间为 93℃ 20s,50℃ 90s,共 40 个循环,50℃ 时检测荧光。(3) 结果分析判断。

2 结果

2.1 高危 HPV 多亚型在各组宫颈病变中的感染率

经检测,在 322 例宫颈病变中,高危 HPV 多亚型总感染率为 64.6%。高危型 HPV 在 ASCUS 组、LSIL 组、HSIL 组中的感染率分别为 56.8%、74.5%、95.5%(见表 1)。

表 1 高危 HPV 多亚型在各组宫颈病变中的感染率
Table 1 The infection rate of high-risk HPV types in different groups of the cervical lesions

组别 Group	例数 Number	高危型 HPV (%) High-risk HPV types
ASCUS 组 ASCUS Group	206	117 (56.8)
LSIL 组 LSIL Group	94	70 (74.5)
HSIL 组 HSIL Group	22	21 (95.5)
合计 Total	322	208 (64.6)

2.2 HPV 各基因型在宫颈病变 HPV 感染中的分布比例

各组宫颈病变 HPV 感染中的常见高危 HPV 型别为 16、18、31、33、52、58 型等,HPV39、51、56、59 等其他基因型非常少见(表 2)。宫颈炎组中 HPV 16、18、31、33、52、58、68 较常见,湿疣组中 HPV 16、18、33、52、58 感染率较高,LSIL 组中 HPV16、58、18 型在高危型中的感染率较高,其比例分别为 30.8%、25.6%、7.7%,HSIL 组占比例较高的 HPV 型别为 16、33、52,其比例分别为 41.9%、14%、7%。另外,HPV16 型在宫颈炎组、湿疣组、LSIL 组、HSIL 组中所占比例逐渐增高,分别为 17.9%、18.9%、30.8%、41.9%。

表 2 208 例高危 HPV 多亚型阳性标本各级宫颈病变 HPV 感染中高危型别分布比例
Table 2 The genotype distribution of high-risk HPV types in 208 specimens in different groups of the cervical lesions

HPV 型别 Types of HPV	宫颈炎组 Inflammation	湿疣组 Condyloma	LSIL 组 LSIL	HSIL 组 HSIL
	例数 (%) Number	例数 (%) Number	例数 (%) Number	例数 (%) Number
16	7(17.9)	7(18.9)	12(30.8)	18(41.9)
18	5(12.8)	4(10.8)	3(7.7)	2(4.7)
16、18	4(10.3)	3(8.1)	2(5.1)	2(4.7)
总计 Total	141(67.8%)	1(2.7)	2(5.1)	1(2.3)

注 此表各组存在不同高危型合并感染的标本,因此,存在同一标本被重复计算。

Notes: There are different high-risk HPV types infection samples in different groups,so,one sample may count repeated.

3 讨论

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一,临床证明 95.0%~99.7%宫颈癌和高危型 HPV 感染有关^[16,17]。而且不同亚型 HPV 对子宫颈癌致癌性有不同影响,因此,HPV 分型检测研究一直受到国内外学者的高度重视^[18],因为这对于准确诊断 HPV 感染及其分型对宫颈癌筛查、判定预后,指导临床对高危型及多重型 HPV 感染患者长期随访,早期确诊,采取针对治疗措施,降低与 HPV 相关肿瘤的发生率有重要意义。

本文旨在研究靖江地区不同宫颈病变中 HPV 感染率和感染型别分布。HSIL 组高危亚型 HPV 的检出率均较 LSIL 组要高,分别 49.3%、69.5%,表明随着宫颈病变程度的加重 HPV 高危型感染率升高。对表 2 高危型 HPV 在每组宫颈病变中分布的纵向比较,分析研究表明 HPV 高危型中 16、18、33、52、58 型在四种宫颈病变中是最常见的 HPV 型别 通过对高危型 HPV 在各组宫颈病变中分布比例的横向比较表明 HPV16 在宫颈炎组、湿疣组、LSIL 组、HSIL 组中所占比例逐渐增高,分别为

17.9%、18.9%、30.8%、41.9%，说明在 HPV16 在宫颈病变高危型 HPV 感染中占绝对优势，这与国内研究相吻合^[19,20]，其次为 HPV 33、58、18、52 型，而其他型别如 HPV 51、56、59 则较少见。这一结果对临床工作有指导意义，即普查时重点检测高危型 HPV16、18、33、52、58，而且在宫颈炎中，如发现 HPV16、18、33、52、58 感染，则必须追踪观察治疗，以防止进展成为浸润性宫颈癌。

根据本文研究也可发现虽然女性 HPV 感染率很高，但只有极少数会发生宫颈癌，原因何在值得进一步研究，但持续性高危型 HPV 感染预示着宫颈病变存在，是发展成宫颈高度病变和宫颈癌的潜在因素，因此值得患者和医生的关注。

参考文献(References)

- [1] 乔友林,章文华,李凌,等. 子宫颈癌基因筛查方法的横断面比较研究[J]. 中国医学科学院学报,2002,24(10): 50
Qiao Youlin,Zhang Wenhua,Li Lin,et al. The comparative studies of Screening cervical carcinoma[J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 2002,24(10):50
- [2] Tunstall-Pedoe H. Preventing Chronic Diseases. A Vital Investment [D]. WHO Global Report. Geneva: World Health Organization, 2005,200
- [3] 许廷贵,王敬云,张惠珍. HPV 的分子生物学特征及其致病机理[J]. 国外医学病毒学分册, 2004, 2(11): 1-5
Xu tinggui,Wang jinyun,Zhang huizhen. The Molecular Biology characteristic and pathogenic mechanism of HPV [J]. Section of Virology Foreign Medical Science, 2004, 2(11): 1-5
- [4] Schiffman MH, Brinton LA. The epidemiology of cervical carcinogenesis [J]. Cancer, 1995, 76 (10Supp 1): 1888-1901
- [5] Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer [J]. ClinMicro Rev, 2003, 16 (1): 1-17
- [6] McLachlin CM. Human papillomavirus in cervical neoplasia. Role, risk factors, and implications. [J]. Clin Lab Med,2000, 20: 257-270
- [7] 杨光华.病理学[M].5 版.北京:人民卫生出版,2002: 31-37
Yang guanghua. Pathology. [M].Edition 5,Beijing: The people's medical publishing house, 2002: 31-37
- [8] Walboomers JMM, JacobsMV , ManoMM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide[J]. J Pathol, 1999, 18(9):12
- [9] Bao Y-P, Li N, Smith JS, et al. HPV type distribution in women from Asia: a meta-analysis [J]. International Journal of Gynecological Cancer, 2008, 18: 71-79
- [10] Bosch FX, Manos MM, Munoz N, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective [J].

International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group[J]. J Natl Cancer Inst, 1995, 87 (11): 796-802

- [11] 赵方辉,李楠,马俊飞,等.山西襄垣妇女 HPV 感染与子宫颈癌的研究 [J]. 中华流行病学杂志,2001,22(5) 375-378
Zhao Fanghui,Li Nan,Ma Junfei,et al. The Research Of the HPV infection and cervical cancer in Shanxi Xianghuan. [J].Chinese Journal of Epidemiology ,2001,22(5):375-378
- [12] 巴瑞琪,丁晓华. 宫颈病变人乳头瘤病毒感染及型别分布的研究 [J].华中科技大学学报(医学版),2006, 35(6):838
Ba Ruiqi,Ding Xiaohua. The Research of HPV infection and genotype distribution [J].Journal of Huazhong University of Science and Technology(MEDICINAE) 2006, 35(6):838
- [13] 石菊芳,吴瑞芳,刘植华,等.深圳妇女人乳头瘤病毒的型别分布 [J].中国医学科学院学报,2006,(12) 832
Shi Jufang,Wu Ruifang,Liu Zhihua,et al. The genotype distribution of HPV In ShenZhen [J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae,2006,(12): 832
- [14] 钟奇志. 第二代捕获杂交法(HC-Ⅱ)检测 HPV-DNA 在宫颈癌筛查中应用[J].中国妇幼保健,2008,23 (7) 974-975
Zhong Qizhi. Clinical Practice of HPV DNA detection with hybrid capture -Ⅱ (HC-Ⅱ) in cervical carcinoma Screening. [J]. Maternal and Child Health Care of China,2008,23 (7) :974-975
- [15] Nagao S, Yoshinouchi M, Miyagi Y, et al. Rapid and sensitive detection of physical status of human papillomavirus type 16 DNA by quantitative real-time PCR.[J]. Clin Micmbiol, 2002, 40 (3): 863-867
- [16] 乌兰娜,吴瑞芳,周艳秋,等. 人乳头瘤病毒基因亚型与宫颈病变的关系[J]. 中华妇产科临床杂志,2005,6(5):346-350
Wu Lanna,Wu RuiFang,Zhou Yanqiu, et al. Relationship between human papillomavirus types and cervical diseases[J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology, 2005,6(5):346-350
- [17] Wright J D, Herzog T J. Human papillomavirus: emerging trends in detection and management [J]. Curr Women Health Rep, 2002, (2): 259-265
- [18] Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rieft [J]. Natl Cancer Inst. 2000,92(6):464-474
- [19] G Denise Zielinski, Lawrence Rozendaal, Fqa J Voorhorst. et al. HPV testing can reduce the number of follow-up visits in women treated for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 [J].Gynecologic Oncology,2003,91(1):67-73
- [20] Pagliusi SR, Teresa Aguado M. Efficacy and other milestones for human papillomavirus vaccine introduction [J].Vaccine,2004,23: 569-578

(上接第 2375 页)

- [55] von Mehren M, Reichardt P, Casali PG,et al. A phase I study of nilotinib alone and in combination with imatinib (IM) in patients (pts) with imatinibresistant gastrointestinal stromal tumors (GIST) - Study update [J]. J Clin Oncol, 2007, 25 (18S): 10023
- [56] Wiebe L, Kasza KE, Maki RG, et al. Activity of sorafenib (SOR) in patients (pts) with imatinib (IM)and sunitinib (SU)-resistant (RES) gastrointestinal stromal tumors (GIST): A phase II trial of the University of Chicago Phase II Consortium [J]. J Clin Oncol, 2008, 26

(18S): 10502

- [57] Bauer S, Yu LK, Demetri GD, et al. Heat shock protein 90 inhibition in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor [J].Cancer Res, 2006, 66(18S): 9153-9161
- [58] Wagner AJ, Morgan JA, Chugh R, et al. Inhibition of heat shock protein 90 (Hsp90) with the novel agent IPI-504 in metastatic GIST following failure of tyrosine kinase inhibitors (TKIs) or other sarcomas: Clinical results from phase I trial [J]. J Clin Oncol, 2008, 26 (18S): 10503