

芜湖地区人乳头瘤病毒的亚型分布及其与年龄分层的相关性研究

汪元元,张帆

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 病理科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:了解芜湖地区不同年龄段女性宫颈组织中 21 种人乳头瘤病毒(HPV)感染情况,探讨有针对性的防治策略。方法:对 2015 年 1~12 月在皖南医学院弋矶山医院就诊的 11 779 例女性的宫颈分泌物标本应用多聚酶链反应(PCR)体外扩增和 DNA 膜杂交法进行 HPV 基因分型检测,并对所得数据运用统计学分析。结果:11 779 例受检者中,阳性 2284 例,感染率为 19.39%;其中单一感染最多,为 1802 例(15.30%),双重感染 364 例(3.09%),多重感染 118 例(1.00%);46~50 岁年龄段的检出阳性率最高(29.69%),且与各年龄组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。其他各年龄段感染 HPV 阳性率随着年龄增长基本呈缓慢上升趋势;研究发现本地区患者中,主要感染 HPV 高危亚型为 16、52 及 58,低危亚型为 11。结论:本地区 HPV 感染亚型和年龄段分布具有一定的地域特点。本研究结果可为本地区宫颈病变的早发现、早诊断、早治疗及早预防和 HPV 疫苗的使用等提供重要的参考。

【关键词】人乳头瘤病毒;基因分型;年龄分层

【中图分类号】R 737.33 **【文献标识码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2017.03.019

Distribution of and age-related human papillomavirus subtypes in women in Wuhu area

WANG Yuanyuan, ZHANG Fan

Department of Clinical Pathology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To investigate the cervical prevalence of 21 types of human papillomavirus (HPV) in women at different ages in Wuhu area for planning effective preventive strategies. **Methods:** Cervical secretions were obtained from 11 779 women undergone diagnosis in our hospital between January and December of 2015 and detected with polymerase chain reaction (PCR) for HPV genotyping via in vitro amplification and DNA hybridization. The results were analyzed with statistics. **Results:** In 11 779 cases, positive findings were seen in 2284 (19.39%). Infection with single HPV subtype was found in 1802 cases (15.30%), double subtypes in 364 (3.09%) and multiple infections in 118 (1.00%). Women aged from 41 to 45 years had the highest positive findings (29.69%), and the infection was statistically correlated with age groups ($P < 0.05$). Infection rate in remaining age groups was increased with years of age. Higher risk HPV subtypes in women in Wuhu area included 16, 52 and 58, and low-risk subtype was associated with 11. **Conclusion:** HPV infection in women in Wuhu area has age-related distribution trends. Our findings may supply the evidence for early screening, diagnosis and treatment of HPV infection as well as use of HPV vaccine for prevention purpose in women in the local area.

【Key words】human papillomavirus; genotype; age stratification

人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)是世界范围内最常见的性传播感染病毒,与许多恶性肿瘤相关,是与癌症发生有关的第二大传染性病原体,仅次于幽门螺杆菌^[1]。当前发现的 HPV 亚型已有上百种,我院临床上主要检测与宫颈癌相关的高危型 13 种,低危型 5 种以及中国人好发的高危亚型 3 种。有研究表明 HPV 不同亚型感染具有年龄和区域差异性^[2],因此本研究基于本地区女性 HPV

感染的现状以及年龄进行回顾性分层研究,为宫颈癌的防治及 HPV 疫苗在本地区的使用提供流行病学参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1~12 月到本院妇科就诊并进行 HPV 分型筛查的女性 12 068 例,除去年龄未知的女性 289 例,有效资料为 11 779 例,年龄

收稿日期:2016-11-08

作者简介:汪元元(1990-),女,2015 级硕士研究生,(电话)18255386960,(电子信箱)18255386960@163.com;

张帆,男,主任医师,硕士生导师,(电子信箱)zhangfan401401@aliyun.com,通信作者。

18 ~ 80 岁 ,平均(49 ±3. 15)岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 均由妇科医生以阴道窥器充分暴露宫颈 ,再用无菌生理盐水棉签拭去宫颈口分泌物后 ,用专用的宫颈刷置于宫颈口轻轻顺时针旋转 5 圈 ,慢慢取出后将标本置于有细胞保存液并有编号的取样管中并送检。

1.2.2 试剂及仪器 HPV 分型检测试剂盒购自潮州凯普生物化学有限公司 ,可检测 21 种 HPV 亚型 ,包括 16 种高危型 :16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、53、CP8304 5 种低危型 :6、11、42、43、44 ;检测仪器为 Roche 生物技术公司的 LightCy-cler480 系统。

1.2.3 操作步骤 DNA 分离提取 取含 0.5 mL 宫颈细胞的保存液 ,离心后弃上清液并用细胞裂解液提取 DNA。PCR 扩增 :取 1 μL DNA 样本作为模板进行 PCR 扩增。杂交洗膜显色严格按照试剂盒说明书进行膜条杂交、洗涤、显色 ,最后观察结果。

1.2.4 结果及判读标准 检测结果阳性点为清晰可见的蓝紫色圆点。根据膜条 HPV 分型分布图 ,判断阳性点为何种 HPV 病毒类型。Biotin 对照点反应酶与显色底物反应 ,在检测中应为阳性。内对照 (IC) 为质控模板 DNA 探针 ,若扩增反应体系中没有抑制因素 ,IC 点出现。以上两对照点为阳性 ,其他点为阴性 ,则判定本次检测结果为阳性 ;如果有一个或一个以上 HPV 分型点为阳性 ,代表该次检测结果为阳性 (见图 1 ~ 4)。

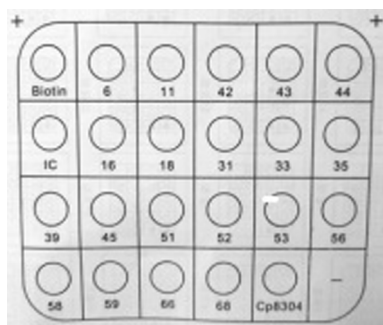


图 1 膜条 HPV 分型分布图

1.2.5 年龄分层依据 本研究为了更好地统计不同年龄段女性 HPV 感染的异质性 ,将年龄区间为 18 ~ 80 岁的 11 779 例受检女性 ,按组距为 5 (岁) ,分为 10 个年龄段。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件包进行数据分析 ,其中计数资料采用例数或百分比 (%) 表示。不同年龄段人群 HPV 感染率的组间比较采用 χ^2 检验 ,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

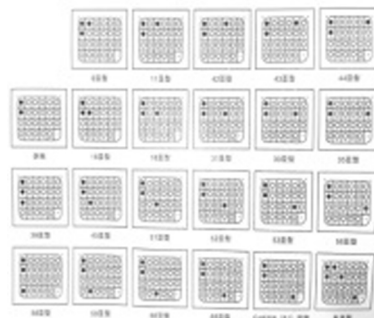


图 2 HPV2 阳性对照图 1 种亚型

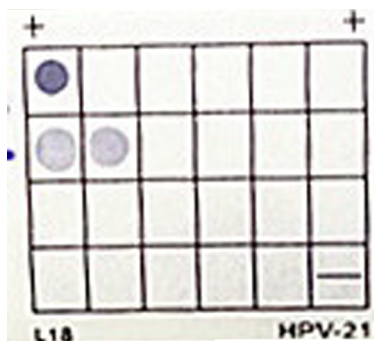


图 3 单一感染(16 型)

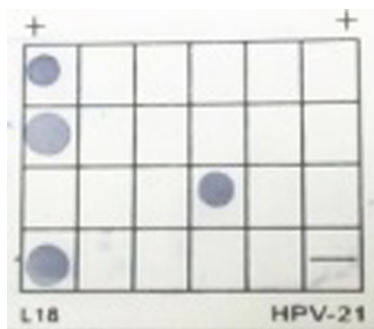


图 4 双重感染(52、58 型)

2 结果

2.1 各年龄组人群 HPV 感染年龄分布情况

11 779 例受检女性中有 2284 例感染者 ,总阳性率为 19.39%。41 ~ 45 岁年龄段的感染者最多 ,为 504 例 (24.55%) ;但 46 ~ 50 岁年龄段的检出阳性率最高 (29.69%)。其他各组随着年龄的增加 ,感染率有逐渐增长趋势 ,且各年龄段感染率比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 18.68 P = 0.03$)。见表 1。

2.2 各年龄组人群 HPV 单一及多重感染情况

各年龄组均以单一感染为主 ,多重感染较少。在所有感染者中 ,单一感染占 78.90% ,其中 ≥ 60 岁组比率最高 (86.96%) ;双重感染占 15.94% ,21 ~ 25 岁组构成比较其他组高 (22.68%) ;多重感染占 5.16% ,且以 56 ~ 60 岁组最多 (10.00%)。多重感染中以三重为主 ,三重以上感染则少见。见表 2。

表1 HPV 感染年龄分布情况

年龄/岁	阳性	阴性	总例数	阳性率/%
≤20	5	35	40	12.50
21~25	97	629	726	13.36
26~30	267	1257	1524	17.52
31~35	270	1365	1635	16.51
36~40	365	1730	2095	17.42
41~45	504	1549	2053	24.55
46~50	476	1127	1603	29.69
51~55	191	1266	1457	13.11
56~60	40	215	255	15.69
≥61	69	322	391	17.65
合计	2284	9495	11779	19.39

表2 各年龄组 HPV 单一及多重感染构成情况

年龄/岁	单一感染 /n(%)	双重感染 /n(%)	多重感染 /n(%)	感染总 例数
≤20	4(80.00)	1(20.00)	0(0.00)	5
21~25	71(73.20)	22(22.68)	4(4.12)	97
26~30	214(80.15)	41(15.36)	12(4.49)	267
31~35	213(78.89)	45(16.67)	12(4.44)	270
36~40	298(81.64)	51(13.97)	16(4.39)	365
41~45	402(79.76)	76(15.08)	26(5.16)	504
46~50	361(75.84)	87(18.28)	28(5.88)	476
51~55	146(76.44)	32(16.75)	13(6.81)	191
56~60	33(82.50)	3(7.50)	4(10.00)	40
≥61	60(86.96)	6(8.70)	3(4.34)	69
合计	1802(78.90)	364(15.94)	118(5.16)	2284

表3 HPV 各基因亚型检测结果

年龄/岁	HPV 高危型																HPV 低危型					
	16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58	59	68	53	66	Cp8304	6	11	42	43	44	
≤20	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21~25	21	8	6	6	3	5	2	3	20	6	16	2	4	12	5	5	0	2	1	1	1	1
26~30	53	15	19	23	9	15	5	18	48	5	42	3	18	21	11	17	3	10	0	1	0	0
31~35	50	13	17	23	8	23	6	26	62	7	39	5	10	23	8	16	5	4	0	2	0	0
36~40	74	21	21	34	4	33	3	38	72	16	57	6	13	24	9	19	3	3	0	1	6	6
41~45	111	33	33	35	6	29	8	45	115	22	53	14	24	60	15	31	3	5	0	1	2	2
46~50	120	26	29	44	13	42	10	47	82	14	76	16	11	31	17	35	6	8	1	2	2	2
51~55	40	13	12	10	4	16	2	14	39	10	27	7	11	17	4	18	1	3	1	1	1	1
56~60	8	2	2	1	2	1	1	2	2	2	8	2	3	8	1	5	0	0	0	0	0	1
≥61	14	4	4	2	1	3	1	5	23	3	9	1	2	6	3	1	1	0	0	0	0	0
合计	492	135	143	179	50	168	38	198	464	86	328	56	96	202	73	147	22	35	3	9	13	13

在本研究中本地区 HPV 感染总阳性率为 19.39% 较国内其他地区均不同,这可能是由于我国气候环境、生活习惯以及生活水平的差异等造成的地区差异性。HPV 感染可发生于各年龄段,与年龄具有相关性^[6]。本研究中 HPV 感染主要发生在

2.3 HPV 各基因亚型结果分析 在 2284 例感染者中,主要感染 HPV 高危亚型依次为 16、52 及 58,低危亚型为 11。由于检测标本存在单重和多重感染,故 2284 例实际检出亚型频数为 2937。因此 16、52、58 亚型的检出率分别为 16.75%、15.80%、11.17%;亚型 11 的检出率为 1.19%。受检人群中以感染高危型为主,频数为 2855,低危型少见,频数为 82。见表 3。

3 讨论

HPV 感染致病性广泛,是宫颈病变的重要因素。有研究显示 HPV 检测与细胞学检测相比,能更早期地发现持续性 HPV 感染的相关病变^[3]。在 2015 年美国阴道镜和宫颈病理学会(ASCCP)临时指南推荐将 HPV 基因分型用于原发性宫颈癌的筛查,并建议女性筛查年龄 ≥25 岁^[4]。HPV 疫苗(16 型和 18 型)2016 年获得中国食品药品监督管理总局(CFDA)的上市许可,并在 9~25 岁女性中接种,这成为国内第一个获批用于预防宫颈癌的 HPV 疫苗。研究表明,HPV 疫苗不仅对宫颈病变有预防和保护作用,还可能会改变宫颈癌前病变及宫颈癌发生的自然史^[5]。国内外研究显示,HPV 感染存在地区、种族以及亚型的差异,本研究针对此进行探讨,使 HPV 疫苗研制及使用更精准,能覆盖更多人群,以减少宫颈疾病的发生率。

26~55 岁,其中 46~50 岁年龄段的检出阳性率最高(29.69%),与其他大部分学者研究结果的“U”字型分布不同。原因可能为存在选择偏倚,加之本研究中青年女性总频数较少,以及检测仪器、试剂灵敏度、研究组距的选定等不同对研究结果有一定影响,

使得≤20岁组以及21~25岁组感染率均较低。由于50岁以后本身抵抗力和激素水平的变化,虽然阳性率有所下降但仍偏高。

本研究中,单一感染为优势感染(1802例),阳性率达15.30%,占总感染数的78.90%,双重感染364例,占15.94%,多重感染118例,占5.16%。其中≥61岁组单一感染构成比最高,达86.96%;21~25岁组双重感染构成比其他组高,为22.68%;多重感染构成比则以56~60岁组(10.00%)最多。单一感染中高危型与低危型感染比例为39.95:1(1758:44);双重感染中纯高危与纯低危感染的比例为104.67:1(341:3);多重感染中纯高危与高危-低危混合及纯低危感染比例为108:9:1。表明双重和多重感染中以纯高危型感染为主,高危型和低危型混合及纯低危型感染少见。李涅等^[7]认为,多重HPV感染使宫颈癌患病风险增加31.8倍,单一感染使其患病风险增加19.9倍。因此,针对多重感染的防治显得尤为重要,特别是多重感染较高的年龄组。

在HPV亚型分布的研究中,21种亚型均出现,其中高危型频数由高到低为16(16.75%)、52(15.80%)、58(11.17%)、53(6.88%)、51(6.74%)、33(6.09%)等,低危型中以11型频数最高,6型次之。这与魏琦等^[8]关于安徽省HPV主要感染亚型研究一致,但与李旭艳^[9]研究的惠州地区常见的HPV亚型主要为52、58、16和11(低危)以及聂双双等^[10]报道的成都地区常见的HPV亚型以16、18、58和6(低危)为主不同。表明HPV感染亚型具有明显地域特点。研究发现,虽然HPV16型是最多见的亚型,但在中年组中52型却高于16型。所以,对于中年组HPV感染要加强52型的筛查。而西方国家较常见的18型则排在第十位,频数为135(5.90%),属于较少见型别。因此,研究针对HPV16+52+58型的三价疫苗,对减少本地区女性

HPV感染率有重要价值,而不能盲目照搬西方国家的研究。

综上所述,本研究结果可为本地区宫颈病变预防、监测和HPV疫苗的使用等提供重要的参考。掌握HPV不同亚型与各年龄段的感染关系及特点,了解HPV感染的区域差异性,对每个年龄段给予适用的防治方法,对女性的健康尤为重要。

【参考文献】

- [1] HILDA JIMÉNEZ-WENCES, OSCAR PERALTA-ZARAGOZA, GLORIA FERNÁNDEZ-TILAPA. Human papilloma virus, DNA methylation and microRNA expression in cervical cancer(Review)[J]. *Oncology Reports* 2014, 31:2467-2476.
- [2] 王冬亮, 党群, 刘玉玲, 等. 郑州地区女性人乳头状瘤病毒感染现状及年龄分布情[J]. *中国卫生检验杂志* 2015, 25(8):1253-1255.
- [3] 杨赞平, 杨双双, 张莉萍. 重庆地区妇女高危型HPV感染现状及年龄的分层分布[J]. *重庆医学* 2013, 42(3):249-254.
- [4] HUH WK, AULT KA, CHELMOW D, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: interim clinical guidance[J]. *Gynecol Oncol* 2015, 136:178-182.
- [5] 赵莲莲, 同军. 人乳头瘤病毒疫苗在宫颈癌前病变、宫颈癌预防中的研究进展[J]. *中华灾害救援医学* 2015, 3(4):227-230.
- [6] TABRIZI SN, BROTHERTON JM, STEVENS MP, et al. HPV genotype prevalence in Australian women undergoing routine cervical screening by cytology status prior to implementation of an HPV vaccination program[J]. *J Clin Virol* 2014, 60(3):250-256.
- [7] 李涅, 张菊新. 不同年龄女性生殖道人乳头瘤状病毒分布情况分析[J]. *中华实用诊断与治疗杂志* 2012, 26(9):909-911.
- [8] 魏琦, 汪春亮, 袁征, 等. 安徽地区2106例就诊女性18种HPV亚型检测结果分析[J]. *中国妇幼保健* 2016, 31(5):1017-1018.
- [9] 李旭艳. 惠州地区人乳头瘤病毒(HPV)的亚型分布特点及其与年龄的相关性分析[J]. *中国医学创新* 2015, 12(21):102-104.
- [10] 聂双双, 丁显平, 陈祖翼, 等. 成都地区人乳头瘤病毒感染亚型、年龄分布、多重感染及相关趋势研究[J]. *国际检验医学杂志* 2013, 34(22):3026-3028.