

合肥地区 2 558 例体检女性 HPV 感染及亚型分布情况

吴丹丹, 彭丽朵, 乔金平, 徐元宏

摘要 目的 分析合肥地区常规体检女性的人乳头瘤病毒 (HPV) 感染及亚型分布情况。方法 在 Luminex 200 平台上, 用透景 27 型 HPV 分型试剂盒对 2 558 例常规体检女性的宫颈脱落细胞进行 HPV 基因型检测, 按照年龄段分类统计数据, 计算感染的阳性率, 同时统计其亚型分布特点。结果 HPV 阳性者 397 例, 阳性率 15.52%。样本被分为 4 个年龄段组: 21~30 岁组、31~40 岁组、41~50 岁组、>50 岁组, 阳性率分别为 13.85%、14.01%、16.39% 和 17.16%; 高危型 HPV 例数与低危型 HPV 例数的阳性率分别为 13.02% 和 6.61%。 χ^2 检验的结果显示, 各年龄段之间, 总阳性率 ($\chi^2=3.624, P=0.305$)、高危型例数的阳性率 ($\chi^2=1.975, P=0.578$) 和低危型例数的阳性率 ($\chi^2=4.507, P=0.212$) 差异无统计学意义。各年龄段单一感染率均高于多重感染率。高危型中 HPV 检出率较高的型别是 52 (9.76%)、16 (9.16%)、58 (6.77%)、53 (5.98%), 低危型中 HPV 检出率较高的型别是 61 (6.77%)、81 (5.78%)、55 (5.38%)。结论 合肥地区女性 HPV 感染的年龄段和型别分布均有不同于其他地区的基因型分布情况, 建议本地区人群接种含 52、16、58、53 型的九价 HPV 疫苗。

关键词 人乳头瘤病毒; HPV 基因亚型; HPV 疫苗; 宫颈癌
中图分类号 R 446.5; R 711.74

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)12-1903-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.12.018

人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 是一种双链 DNA 病毒, 已鉴定的型别超过 200 种。HPV 依据其引发疾病的恶性程度, 分为高危型和低危型, 低危型主要引起皮肤疣等良性病变, 以 6、11 型最为多见^[1]; 而高危型的持续感染在宫颈癌、宫颈上皮内瘤变、宫颈小细胞神经内分泌癌等肿瘤的发展中起到了关键的作用^[2-3]。

HPV 在世界范围内的感染具有普遍性, 不同国

家及地区的亚型分布各不相同^[3-5]。高危型在西方国家主要以 16、18 型最为常见, 亚洲国家则以 16、18、52 和 58 型常见。目前接种 HPV 疫苗是一种有效降低患宫颈癌风险的方式, 国外已上市的疫苗有二价、四价和九价 3 种, 国产的疫苗尚未上市, 目前已鉴定的高危型有 10 余种型别^[6]。该研究通过对合肥地区常规体检女性的宫颈脱落细胞进行 HPV 基因分型检测, 分析普通体检人群 HPV 特别是高危型的感染情况和基因型分布特点, 以为合肥地区人群在 HPV 疫苗的选择上提供指导, 同时也为针对我国人群感染特点的国产 HPV 疫苗的开发提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 研究对象 选取 2016 年 1 月 1 日~2017 年 12 月 31 日在安徽医科大学第一附属医院体检中心常规体检的 2 558 位女性, 年龄 22~84 (42.55 ± 9.99) 岁。

1.1.2 标本采集与保存 以无菌拭子采集宫颈分泌物, 将拭子头部放入脱落细胞保存液中, 2 h 内送检。采集的标本若不能及时前处理, 应置于 -20 °C 保存。

1.1.3 试剂与仪器 HPV27 型核酸分型检测试剂盒 (流式荧光法, 包括核酸扩增组份、杂交组份、脱落细胞保存液、核酸提取试剂)、基因扩增仪购自上海透景公司; 金属浴、冷冻离心机购自德国 Eppendorf 公司; Luminex200 多功能流式点阵仪购自美国 Luminex 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 核酸提取 将采集好的标本涡旋混匀, 取 200 μ l 标本至 1.5 ml 离心管, 12 000 r/min 离心 1 min, 弃上清液, 向沉淀物中加入 200 μ l 核酸提取试剂, 涡旋混匀, 100 °C 煮沸 15 min, 15 000 r/min 离心 5 min, 即可得到热裂解法提取的核酸, 所得核酸将用于下一步实验或于 -20 °C 中保存待用。

1.2.2 多重 PCR 依据说明书进行多重 PCR。PCR 反应体系含引物混合液 5 μ l、PCR 预混液 10

2018-07-26 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81171606)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院检验科, 合肥 230022

作者简介: 吴丹丹, 女, 硕士研究生;

徐元宏, 男, 博士生导师, 责任作者, E-mail: xyhong1964@163.com;

乔金平, 男, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: jpqiao@126.com

μl、Taq 酶 0.8 μl 和 DNA 模板 5 μl。反应条件为 95 °C、5 min; 95 °C、30 s、58 °C、30 s、72 °C、30 s、5 个循环; 95 °C、30 s、55 °C、30 s、72 °C、30 s、35 个循环; 72 °C、3 min、4 °C 维持,即可得到扩增的 PCR 产物。

1.2.3 杂交和上机检测 依据说明书进行微球与 PCR 产物的杂交。反应体系为微球杂交液 22 μl, PCR 产物 3 μl。反应条件为 95 °C、5 min、48 °C、30 min。此步反应完成后,加入 75 μl 链霉亲和素-藻红蛋白(SA-PE),48 °C、15 min,即可得到杂交产物。再使用 Luminex 200(需 48 °C 预热)进行杂交产物的检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 24.0 软件进行分析,资料以频数及频率表示,采用 χ² 检验,以 α = 0.05 为检验水准, P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 感染率 检测 2 558 例常规体检标本,主要人群分布为 22 ~ 84 岁女性。其中阳性样本 397 例,阳性率为 15.52% (397/2 558),样本被分为 4 个年龄段,结果见表 1。经 χ² 检验,各年龄段之间,总阳性率(χ² = 3.624, P = 0.305),高危型阳性率(χ² = 1.975, P = 0.578),低危型阳性率(χ² = 4.507, P = 0.212),差异无统计学意义。不同年龄段单重感染和多重感染分布情况见表 2,各年龄段的感染率随同时感染型别的个数增加而减少,以单一感染最高(12.28%),五重感染最低(0.04%)。

表 1 HPV 感染与年龄分布

Table with 6 columns: 年龄段, 总人数, 阳性人数, 阴性人数, 高危型例数, 低危型例数. Rows include age groups 21-30, 31-40, 41-50, >50, and a total row.

1 部分体检者为多重感染,故高危型例数与低危型例数之和大于阳性人数

表 2 HPV 单一感染与多重感染在不同年龄段分布情况 [n(%)]

Table with 6 columns: 年龄段, 单一感染, 二重感染, 三重感染, 四重感染, 五重感染. Rows include age groups 21-30, 31-40, 41-50, >50, and a total row.

1 该阳性率为此感染人数与该年龄段检测总人数比值

观察各感染组年龄分布,单重、二重、四重感染的感染高峰年龄均为 >50 岁组,而三重和五重的感染高峰年龄为 21 ~ 30 岁组。

2.2 HPV 27 种亚型感染率 2 558 例标本中共检测出 26 种型别(除 26 型外)。低危型别的检出率为 6.61% (169/2 558),高危型别为 13.02% (333/2 558)。高危型和低危型所占总阳性型别例数的比例分别为 66.33% (333/502) 和 33.67% (169/502)。由表 3 可知,高危型中 52 (9.76%)、16 (9.16%)、58 (6.77%) 和 53 (5.98%) 为优势亚型;低危型中,61 (6.77%)、81 (5.78%)、55 (5.38%) 和 43 (4.98%) 为优势亚型。

表 3 合肥地区女性 HPV 各亚型阳性分布比例

Table with 4 columns: 项目, HPV 基因型, 阳性例数(n)1, 阳性百分比(%) . Rows are categorized into 低危型 (10) and 高危型 (17) with various HPV types and their respective counts and percentages.

1 部分体检者为多重感染,故 HPV 型别例数 (502) 之和大于阳性人数 (393)

表 4 为不同年龄优势亚型的分布情况,21 ~ 30 岁组中,16、43 和 52 等亚型常见,31 ~ 40 岁组以 16、52、61 和 58 亚型常见,41 ~ 50 岁组以 16、52、53 和 58 亚型常见,大于 50 岁组以 52、61 和 53 亚型常见。据表中数据可推断,30 岁以下女性主要感染亚型为 16;30 ~ 50 岁女性 16 和 52 均为最常见亚型;而 50 岁以上女性,则以 52 为主要感染亚型。

表4 不同年龄组 HPV 感染的优势亚型分布

年龄组 (岁)	总人数	第1位	n(%)	第2位	n(%)	第3位	n(%)
21~30	361	HPV16	7 (1.94)	HPV43/52/56/58/66	5 (1.39)	HPV44/55/82	4 (1.11)
31~40	714	HPV16/52	14 (1.96)	HPV61	10 (1.40)	HPV58	9 (1.26)
41~50	976	HPV16/52	19 (1.95)	HPV53	15 (1.54)	HPV58	13 (1.33)
>50	507	HPV52	11 (2.17)	HPV61	10 (1.97)	HPV53	9 (1.78)

3 讨论

宫颈癌是女性好发的第二位恶性肿瘤,研究^[3]表明高危型可直接引起浸润性宫颈癌。HPV 基因型分布受种族和地区的影响较大,进行不同地区的 HPV 年龄和亚型分布研究对 HPV 的流行病学及疫苗接种有重要意义。现有的合肥地区的 HPV 感染分布资料主要以门诊及住院就诊患者为主,且样本量较低,反映普通人群中的分布情况有所欠缺。而多数 HPV 感染是亚临床和隐匿性的,本研究对象为常规体检人群,主要探讨合肥地区的 HPV 亚型分布和年龄分布。结果显示合肥地区 HPV 基因亚型中阳性比例最高的高危型分别是 52 (9.76%)、16 (9.16%)、58 (6.77%) 和 53 型 (5.98%), 比例最高的低危型分别是 61 (6.77%)、81 (5.78%)、55 (5.38%) 和 43 (4.98%) 型。感染的总阳性率随年龄段依次递增,且以一种或两种型别感染最为常见。

与其他地区相比,合肥地区的感染既有相似点也有不同点。其一,高危型感染率较高的基因型别与国内大部分地区相同,主要以 16、52 和 58 型最为多见^[7]。低危型别中,合肥地区以 61 型 (6.77%) 阳性率最高,这个和成都地区相似^[8],而其他地区的研究由于使用的分型试剂盒不包括 61 型,所以其他地区缺乏此型别的数据。本研究数据显示,合肥地区 16 型 (1.94%) 的感染偏向 20~30 岁女性,>50 岁女性则主要以 52 型 (2.17%) 感染为主;而 30~50 岁女性人群中 16 型和 52 型阳性率相同 (1.95%, 33/1 690),而现有研究^[9]表明 52 型亦可引起宫内病变,如子宫内膜癌和子宫肌瘤等;因此本地区 30 岁以上女性在患有相关疾病时应注意检查是否有 52 型的感染;反之亦然,对确定有 52 型感染的女性,也应注意是否患有相关疾病。其二,HPV 的年龄分布,其他地区感染阳性率大多有两个年龄高峰 [(南京, 30~39 岁、50~59 岁)、(苏州, <20 岁、>50 岁)、(珠海, <21 岁、>50 岁)]^[10-12],而本研究 HPV 常规体检人群缺乏 22 岁及以下人群的

数据,所以可能缺乏第一个年龄高峰的数据。而在 22 岁以上人群中,合肥地区女性 HPV 感染阳性率随着年龄增长而增高,>50 岁为感染高峰年龄,这一点和其他地区是相似的。50 岁以上女性可能因其处于绝经后雌激素水平紊乱和免疫力下降的阶段,更容易被 HPV 病毒感染^[10],从而呈现较高的感染率,因此,本地区 50 岁以上女性更需要重视 HPV 感染和宫颈癌的筛查。

由于缺少抗 HPV 病毒的有效药物,HPV 更多依靠接种疫苗来预防感染。国际上现有的 HPV 疫苗主要有 3 种类型:二价 (16、18)、四价 (6、11、16、18) 和九价 (6、11、16、18、31、3、45、52、58)^[6]。国内已引进的二价及四价疫苗并未覆盖亚洲地区高发的高危型 52 和 58 两型,而合肥地区更是以 52 型为高感染率型别,大多数年龄段的女性都被发现有此型别的感染。因此覆盖了 52、58 型的九价疫苗可能更适合本地区未感染 HPV 病毒的女性人群;虽然有报道^[13]称二价疫苗在避免 16、18 型感染的同时,还可为 31、45 型提供有限的交叉保护。

综上所述,本研究通过统计分析合肥地区体检女性人群的 HPV 感染及基因型别分布特点,对研究 HPV 感染的流行病学和宫颈癌的预防等提供一定的理论依据,尤其对本地区女性人群 HPV 疫苗接种有一定的指导意义。

参考文献

- [1] Mammas I N, Spandidos D A, Sourvinos G. Genomic diversity of human papillomaviruses (HPV) and clinical implications: an overview in adulthood and childhood [J]. Infect Genet Evol, 2014, 21: 220-6.
- [2] Castle P E, Pierz A, Stoler M H. A systematic review and meta-analysis on the attribution of human papillomavirus (HPV) in neuroendocrine cancers of the cervix [J]. Gynecol Oncol, 2018, 148 (2): 422-9.
- [3] Xu X X, Zhou J S, Yuan S H, et al. Distribution of HPV genotype in invasive cervical carcinoma and cervical intraepithelial neoplasia in Zhejiang Province, Southeast China: establishing the baseline for surveillance [J]. Int J Environ Res Public Health,

- 2015, 12(9): 10794 – 805.
- [4] Anderson L, O'Rourke M, Jamison J, et al. Prevalence of human papillomavirus in women attending cervical screening in the UK and Ireland: new data from northern Ireland and a systematic review and meta-analysis [J]. *J Med Virol*, 2013, 85(2): 295 – 308.
- [5] Chan P K, Ho W C, Chan MC, et al. Meta-analysis on prevalence and attribution of human papillomavirus types 52 and 58 in cervical neoplasia worldwide [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107573.
- [6] Couto E, Saeterdal I, Juvet L K, et al. HPV catch-up vaccination of young women: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Public Health*, 2014, 14: 867.
- [7] Wang R, Guo X L, Wisman G B, et al. Nationwide prevalence of human papillomavirus infection and viral genotype distribution in 37 cities in China [J]. *BMC Infect Dis*, 2015, 15: 257.
- [8] 杨 炼, 陆小军, 叶远馨, 等. 四川大学华西医院8 944例健康体检女性 HPV 感染情况分析 [J]. *中国循证医学杂志*, 2017, 17(6): 634 – 9.
- [9] 范成娇, 李 静, 鲁爱枝. HPV52/58 感染与女性宫内病变发生风险的相关性研究 [J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(6): 841 – 3.
- [10] 陈 娟, 麻全慧, 施建丰, 等. 南京地区2 387例有性生活女性的宫颈脱落细胞高危 HPV 检测分析 [J]. *山东医药*, 2014, 54(23): 70 – 2.
- [11] 张振林, 黄 琳, 黄建宏, 等. 珠海地区女性 HPV 感染状况及基因亚型分布 [J]. *热带医学杂志*, 2016, 16(8): 1004 – 7, 1015.
- [12] 陆静芬, 卫志奇, 陈 旭, 等. 东太湖地区多重 HPV 感染情况分析 [J]. *中国妇幼保健*, 2017, 32(4): 663 – 5.
- [13] Wheeler C M, Skinner S R, Del Rosario-Raymundo M R, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of the human papillomavirus 16/18 AS04-adjuvanted vaccine in women older than 25 years: 7-year follow-up of the phase 3, double-blind, randomised controlled VIVIANE study [J]. *Lancet Infect Dis*, 2016, 16(10): 1154 – 68.

The distribution of HPV infection and subtype distribution in 2 558 females in Hefei area

Wu Dandan, Peng Liduo, Qiao Jinping, et al

(Dept of Laboratory, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To analyse of human papillomavirus (HPV) infection and distribution of subtypes in women in routine physical examination in Hefei district. **Methods** The HPV genotypes of 2 558 cases of cervix uteri exfoliated cells were detected on Luminex 200 platform with Tellgen 27 HPV genotyping assay kit. The results were grouped according to the classification of age. Then the positive rates and distribution of subtypes of infection were calculated. **Results** 397 cases were HPV positive and the positive rate was 15.52%. The samples were divided into 4 age groups, 21 ~ 30, 31 ~ 40, 41 ~ 50 and > 50 years old group. The positive rates were 13.85%, 14.01%, 16.39% and 17.16% respectively. The tests showed that, for the positive rates in all age groups, there was no significant difference in total cases ($\chi^2 = 3.624$, $P = 0.305$), in the high-risk cases ($\chi^2 = 1.975$, $P = 0.578$) or in the low-risk cases ($\chi^2 = 4.507$, $P = 0.212$). Single infection rates were higher than the multiple infection rates in all age groups. The positive detectable rates of high-risk HPV and low-risk HPV were 13.02% and 6.61% respectively. High-risk HPV positive detectable rates were higher in HPV52 (9.76%), HPV16 (9.16%), HPV58 (6.77%) and HPV53 (5.98%). While low-risk HPV positive detectable rates were higher in HPV61 (6.77%), HPV81 (5.78%), HPV55 (5.38%). **Conclusion** The prevalence and type distribution of HPV in Hefei women are different from other regions. It is suggested that nine-valent HPV vaccine which contains HPV 52, 16, 58 and 53 types should be vaccinated in this region.

Key words human papillomavirus; HPV genotypes; HPV vaccine; cervical cancer