

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.12.018

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2022.12.018>

妇女高危 HPV 亚型分布与宫颈病变的相关性

何春雷, 陈洁, 金凯黎, 李冉

(昆山市第二人民医院妇产科, 江苏 昆山 215300)

[摘要] 目的: 探究妇女高危人乳头瘤病毒(high-risk human papilloma virus, HR-HPV)亚型分布与宫颈病变的相关性。方法: 选取2018年1月至2021年12月在昆山市第二人民医院就诊的295例宫颈病变患者为研究对象, 采用聚合酶链式反应-反向点杂交技术检测HPV分型, 根据临床病理结果(阴道镜活检)将295例分为低级别组、高级别组、宫颈癌(cervical cancer, CC)组, 统计各组HR-HPV感染情况。结果: 在295例患者中, HR-HPV阳性有174例, 感染率为58.98%(174/295), 其中单一感染占比为70.11%(122/174), 多重感染占比为29.89%(52/174)。低级别组、高级别组、CC组HR-HPV感染率分别为41.67%、68.00%、88.00%, 各组间比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。不同宫颈病变组中, 41~60岁年龄段患者HR-HPV感染率显著高于其他年龄段($P < 0.05$)。低级别组HR-HPV感染位于前3位的亚型分别是58、16、52型; 高级别组HR-HPV感染亚型主要为16、58、52、33型; CC组以16、18、33型为主; CC组HR-HPV-16、HR-HPV-18感染率显著高于高级别组和低级别组($P < 0.05$)。结论: 妇女宫颈病变级别与HR-HPV亚型及感染率有关, 41~60岁是妇女HR-HPV感染高发阶段, 应予以高度重视, 及时进行HR-HPV亚型筛查。

[关键词] 高危人乳头瘤病毒; 宫颈上皮内瘤变; 宫颈癌; 多重感染

Correlation between the distribution of high-risk HPV subtypes and cervical lesions in women

HE Chunlei, CHEN Jie, JIN Kaili, LI Ran

(Department of Obstetrics and Gynecology, Kunshan Second People's Hospital, Kunshan Jiangsu 215300, China)

Abstract **Objective:** To investigate the correlation between high-risk human papilloma virus (HR-HPV) subtype distribution and cervical lesions in women. **Methods:** A total of 295 patients with cervical lesions treated in Kunshan Second People's Hospital from January 2018 to December 2021 were selected as research objects. HPV typing was detected by polymerase chain reaction-reverse dot hybridization. According to the clinical pathological results (colposcopy biopsy), 295 patients were divided into a low-level group, a high-level group, and a cervical cancer (CC) group, and HR-HPV infection in each group was counted. **Results:** Among the 295 patients, 174 cases were HR-HPV positive, and the infection rate was 58.98% (174/295). The single infection accounted for 70.11% (122/174), and the multiple infection accounted for 29.89% (52/174). The infection rates of HR-HPV in

收稿日期 (Date of reception): 2022-03-11

通信作者 (Corresponding author): 何春雷, Email: hechunlei1983@126.com

the low-level group, the high-level group, and the CC group were 41.67%, 68.00%, and 88.00%, respectively, and the difference was statistically significant (all $P < 0.05$). The HR-HPV infection rate in patients aged 41–60 years old in different cervical lesions was significantly higher than that in other age groups ($P < 0.05$). The top three subtypes of HR-HPV infection in the low-level group were 58, 16, and 52, respectively. HR-HPV infection subtypes in the high-level group were mainly 16, 58, 52, and 33. The mainly subtypes in the CC group were mainly type 16, 18, 33. The infection rates of HR-HPV-16 and HR-HPV-18 in the CC group were significantly higher than those in the high-level group and the low-level group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The level of cervical lesions in women is related to HR-HPV subtypes and infection rate. Woman aged 41–60 years are the high incidence stage of HR-HPV infection, who should be highly valued and HR-HPV subtypes should be screened in time.

Keywords high-risk human papilloma virus; cervical intraepithelial neoplasia; cervical cancer; multiple infections

宫颈癌是女性常见的生殖系统恶性肿瘤, 发病率及病死率均居恶性肿瘤前列, 严重危害女性生命健康^[1]。高危型人乳头瘤病毒(high-risk human papilloma virus, HR-HPV)持续感染是引发妇女宫颈癌变的主要原因^[2]。HPV是一种常见的DNA病毒, 目前已发现的亚型有100多种, 根据其致癌危险性大小分为低危型和高危型两大类^[3]。研究^[4]发现: 从HPV感染到癌前病变再到发展为宫颈癌, 这一过程长达数十年。因此, 针对HPV感染进行宫颈癌早期筛查具有重要意义, 可以有效降低宫颈癌发生及发展。但是HR-HPV亚型有很多种, 而且存在明显的地域差异性^[5]。基于此, 本研究分析不同宫颈病变级别患者HR-HPV感染及亚型分布情况, 以探讨HR-HPV与宫颈病变的相关性, 为宫颈癌的诊疗提供参考。

1 对象与方法

1.1 对象

选择2018年1月至2021年12月行宫颈活检及HPV亚型检测的295例宫颈病变患者为研究对象, 年龄21~78(42.87±6.13)岁。根据临床病理检查结果对患者进行分组, 包括低级别组(低级别鳞状上皮内病变)120例、高级别组(高级别鳞状上皮内病变)150例、宫颈癌(cervical cancer, CC)组25例。本研究已通过昆山市第二人民医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 宫颈活检

于阴道镜下取材送检, 具体操作如下: 取膀胱截石位, 充分暴露宫颈, 用棉签反复擦拭宫颈分泌物后查看宫颈外形, 对可疑部位进行醋白试验及碘试验, 用活检钳取几块2~4 mm大小的组

织; 如果宫颈外观无明显变化则选择移行带第3、6、9、12区域进行取材, 将标本用10%甲醛溶液固定后送病理科检验。

根据HE染色结果分为: 1)正常/宫颈炎; 2)低级别鳞状上皮内病变; 3)高级别鳞状上皮内病变; 4)CC。

1.2.2 HPV亚型检测

1)样本采集。在患者非月经期且3 d内无性生活及阴道药物治疗时采样, 首先用窥阴器撑开宫颈, 将宫颈刷伸入宫颈内以顺时针方向连续旋转数周, 然后置于装有3 mL细胞保存液的试管中, 折断刷柄, 拧好管盖, 贴好标签, 保存于4 °C冰箱待检。

2)检测方法。检测试剂盒: HR-HPV分型核酸检测试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司)。检测仪器: 荧光定量PCR仪(赛默飞世尔科技公司, 型号QuantStudio™ 5)。步骤: ①提取宫颈细胞DNA。吸取1 mL宫颈细胞保存液于试管中, 离心后倒掉上清, 再加入1 mL生理盐水反复吹打后, 离心弃上清, 将50 μL核酸提取试剂加入试管内, 用振荡器震荡混匀, 然后置入100 °C干浴锅内加热10 min, 再离心5 min, 吸取上清保存于新的试管中。取2 μL DNA提取液, 采用分光光度计测量其浓度。②PCR扩增。将宫颈细胞DNA模板、HPV阳性对照品、HPV阴性对照品依次加入PCR反应管中, 稍微离心后将PCR管置入PCR仪内进行扩增, 设置条件: 50 °C 3 min→95 °C预变性15 min→(94 °C 40 s→55 °C 40 s→72 °C 40 s)×40循环→72 °C延伸7 min。③PCR产物杂交。将PCR扩增产物置于PCR仪上98 °C变性8 min, 完成后立即置于冰盒内(时间至少2 min), 将提前配置好的杂交试剂放在杂交仪对应的位置, 同时将杂交膜条进行编号并置于槽内, 取40 μL PCR扩增产物加入到杂交液(提前预热至45 °C)中, 杂交反应时间为1 h。反应完成后,

由仪器自动进行结合、洗膜、显色, 最后取出杂交条膜, 用吸水纸吸干上面的水分, 进行扫描保存。

3) 结果判断标准: ① HPV 阴性, 杂交膜条上质控点与内参点显色, 其余点不显色; ② HPV 阳性, 质控点与内参点显色, 其余点 (≥ 1) 也显色, 具体型别则参照 HPV 亚型分布图进行判定。常见的 HPV 高危亚型有 18 种: HPV-16/18/31/33/35/39/45/51/52/53/56/58/59/66/68/73/82/83。单一感染: 仅 1 种 HPV 亚型显示为阳性。多重感染: 有 ≥ 2 种 HPV 亚型显示为阳性。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 24.0 统计学软件进行数据分析。计量资料符合正态分布且方差齐, 用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 计数资料用例 (%) 表示, 采用 χ^2 /Fisher 确切概率法进行检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HR-HPV 总体感染情况

在 295 例患者中, HR-HPV 阳性有 174 例,

HR-HPV 感染率为 58.98% (174/295), 其中单一感染 122 例, 多重感染 52 例, 占比分别为 70.11%、29.89%。

2.2 不同宫颈级别组 HR-HPV 感染情况

不同宫颈级别组 HR-HPV 感染率比较, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), CC 组感染率 $>$ 高级别组 $>$ 低级别组 (表 1)。

2.3 不同宫颈病变组 HR-HPV 感染年龄分布情况

不同宫颈病变组中, 41~60 岁年龄段 HR-HPV 感染率明显高于 21~40 岁、 ≥ 60 岁年龄段 (均 $P < 0.001$, 表 2)。

2.4 不同宫颈病变组 HR-HPV 亚型分布情况

低级别组最常见的 HR-HPV 亚型为 58、16 型, 其次为 52 型, 高级别组以 16、33、52、58 型为主, CC 组主要亚型为 16、18、33 型。各组间 HR-HPV-16、HR-HPV-18 感染率比较: CC 组显著高于低级别组和高级别组 (均 $P < 0.05$); 其他 HR-HPV 亚型比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$, 表 3)。

表 1 不同宫颈级别组 HR-HPV 感染率比较

Table 1 Comparison of HR-HPV infection rates among different cervical grades

组别	n	HR-HPV 阳性/例	HR-HPV 阴性/例	感染率/%
低级别组	120	50	70	41.67*
高级别组	150	102	48	68.00**
CC 组	25	22	3	88.00
χ^2		—	—	28.615
P		—	—	<0.001

与 CC 组相比, * $P < 0.05$; 与高级别组相比, ** $P < 0.05$ 。

Compared with the CC group, * $P < 0.05$; compared with the high-level group, ** $P < 0.05$.

表 2 不同宫颈病变组 HR-HPV 感染年龄分布情况

Table 2 Age distribution of HR-HPV infection in different cervical lesions

组别	n	21~40 岁/[例(%)]	41~60 岁/[例(%)]	≥ 61 岁/[例(%)]
低级别组	120	16 (13.33)	29 (24.17)	5 (4.17)
高级别组	150	35 (23.33)	56 (37.33)	11 (7.33)
CC 组	25	1 (4.00)	15 (60.00)	6 (24.00)
χ^2		20.114	38.565	19.425
P		<0.001	<0.001	<0.001

表3 不同宫颈病变组HR-HPV常见亚型分布情况

Table 3 Distribution of common subtypes of HR-HPV in different cervical lesions

组别	n	HPV-16/ [例(%)]	HPV-18/ [例(%)]	HPV-31/ [例(%)]	HPV-33/ [例(%)]	HPV-52/ [例(%)]	HPV-58/ [例(%)]
低级别组	120	7 (14.00)	3 (6.00)	2 (4.00)	4 (8.00)	6 (12.00)	11 (22.00)
高级别组	150	32 (31.37)	4 (3.92)	1 (0.98)	13 (12.75)	15 (14.71)	16 (15.69)
CC组	25	12 (54.55)	7 (31.82)	1 (4.55)	2 (9.09)	0 (0.00)	0 (0.00)
χ^2		12.628	19.432	—	0.863	4.614	2.932
P		0.002	<0.001	0.225*	0.649	0.100	0.231

*Fisher确切概率法。

*Fisher exact probability method.

3 讨论

HPV是生殖道常见的病原体,大多数HPV感染可通过免疫系统自我清除,不会导致患者不适,也不易被察觉,但HPV持续感染可造成尖锐湿疣,甚至诱发各种癌症^[6]。目前研究^[7]已证实:HR-HPV感染是宫颈发生癌前病变的必要条件,如果不干预就可能发展为CC。

本研究发现:在295例宫颈病变患者中,HR-HPV阳性174例,感染率为58.98%,其中大多数为单一感染,这与近年国内流行病学调查^[8]结果相符。与单重感染相比,HPV多重感染所致的宫颈病变程度更为严重,预后更差。多重感染的宫颈癌患者治疗失败率是单重感染者的5倍及以上^[9]。幸运的是,大多数宫颈癌患者均为HR-HPV单一感染,这给治疗带来了希望,多认为其与患者在宫颈病变期的抗病毒治疗有关。因此,宫颈病变患者开展HR-HPV检测非常有必要。本研究结果显示:不同宫颈级别组HR-HPV感染率存在显著差异,随着病变级别的增加,HR-HPV感染率逐渐升高,说明宫颈癌的发生发展与HR-HPV持续感染有关。据报道^[10],全球无宫颈病变的女性HPV感染率为11%~12%,但大多为一过性,可以自行消退,如果长期持续感染,HPV就会产生致癌性,而且难以被消除,这也是CC患者HPV感染率较高的原因。既往研究^[11-12]发现:年龄是HPV感染的独立危险因素,21~30岁为女性HPV感染高峰期,因为该年龄女性处于性活跃期,而且性伴侣不稳定;50~60岁为女性HPV感染第2个高峰,此阶段妇女卵巢功能减退,性激素水平较之前明显下降,阴道微环境发生改变,不仅增加了HPV的易感性,同时还削弱了HPV清除能力。本研究也

发现41~60岁为妇女HPV感染高峰期,应该给予重视。HPV疫苗是预防HPV感染最有效的方式,可以从根源上阻断HPV的传播^[13]。对于既有的HPV感染,疫苗接种并无有效作用,但对未感染过的HPV亚型仍具有防护作用,因此建议HPV疫苗越早接种越好。

从既往研究^[14-15]中可以发现,很多无宫颈病变的女性也会感染HR-HPV,因此单纯分析HR-HPV感染率对宫颈病变筛查的价值有限,还需结合具体亚型进一步分析。本研究统计低级别组、高级别组及CC组HR-HPV亚型后发现:58、16、52型是低级别鳞状上皮内病变患者感染最多的亚型,16、33、52、58型是高级别鳞状上皮内病变患者感染最多的亚型,CC患者HR-HPV感染最多的为16、18、33型。3组HPV-16、HPV-18感染率比较差异显著,其他HPV亚型感染率比较无差异,说明HR-HPV-16、HR-HPV-18感染极易引发宫颈癌。推测其原因为:HPV-16过表达会使视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma, Rb)及肿瘤蛋白53(tumor associated protein 53, p53)失活而阻碍细胞凋亡,促使细胞增殖,而细胞增殖是癌细胞逃避程序性死亡的重要机制之一^[16]。此外,HPV-16还可与线粒体DNA发生结合,从而促进癌细胞分化,增加癌变风险^[17]。HPV-18的致癌机制与HPV-16相同,但导致的宫颈癌类型不同,其中HPV-18感染主要形成宫颈腺癌,HPV-16主要为宫颈鳞癌^[18]。还有研究^[19]显示:HPV-53、HPV-58也是CC较为常见的亚型之一,本研究未在CC患者中检测出,可能与病例数较少、调查对象的所处区域有关。

综上所述,不同宫颈病变患者HR-HPV亚型分布存在明显差异,HPV-16、HPV-18、HPV-33是CC的易感亚型,应加强对41~60岁妇女的HPV亚型

检查。本研究为单中心小样本量研究, 统计结果难免存在一定偏颇, 仍需通过多中心、大样本量来研究HR-HPV亚型分布与宫颈病变的相关性, 以为临床提供更好的指导。

参考文献

- 唐争翠, 李荣, 唐争艳. 池州地区HPV感染的基因型分布特点和宫颈病变情况分析[J]. 川北医学院学报, 2019, 34(4): 407-410.
TANG Zhengcui, LI Rong, TANG Zhengyan. Characteristics of genotype distribution and cervical lesions of HPV infection in Chizhou city[J]. Journal of North Sichuan Medical College, 2019, 34(4): 407-410.
- Valentino K, Poronsky CB. Human papillomavirus infection and vaccination[J/OL]. J Pediatr Nurs, 2016, 31(2): e155-e166 (2022-10-15) [2015-11-14]. <http://doi.org/10.1016/j.pedn.2015.10.005>.
- Martel CD, Plummer M, Vignat J, et al. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type[J]. Int J Cancer, 2017, 141(4): 664-670.
- 江星元, 刘应南, 陶霞. HPV E6/E7在宫颈病变恶性进展或宫颈癌复发中的预测作用[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(1): 97-99.
JIANG Xingyuan, LIU Yingnan, TAO Xia. Predictive role of HPV E6/E7 in malignant progression of cervical lesions or recurrence of cervical cancer[J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology, 2020, 21(1): 97-99.
- 宫迎迎, 周焯, 韩辉, 等. 济宁地区自然就诊妇女宫颈HPV感染型别调查及HR-HPV持续性感染危险因素分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(21): 1698-1702.
GONG Yingying, ZHOU Ye, HAN Hui, et al. Investigation on cervical HPV infection type and risk factors of persistent infection of HR-HPV in women of Jining area[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2020, 27(21): 1698-1702.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-24.
- 李乐赛, 李梅花, 张弦, 等. HPV16 E6对宫颈癌E-cadherin表达水平和基因甲基化的影响[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2016, 13(4): 1-4.
LI Lesai, LI Meihua, ZHANG Xuan, et al. The effect of the human papillomavirus type 16 E6 on the expression and methylation of E-cadherin in cervical cancer[J]. Journal of Hunan Normal University. Medical Science, 2016, 13(4): 1-4.
- Zeng Z, Yang H, Li Z, et al. Prevalence and genotype distribution of HPV infection in China: analysis of 51, 345 HPV genotyping results from China's largest CAP certified laboratory[J]. J Cancer, 2016, 7(9): 1037-1043.
- 李洋, 李永丽, 王芦萍. HPV感染型别及多重感染对宫颈病变的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(22): 3461-3464.
LI Yang, LI Yongli, WANG Luping. Types of HPV infection and influence of multiple infections on cervical lesions[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2019, 29(22): 3461-3464.
- Pizzol D, Putoto G, Chhaganlal KD. Human papillomavirus (HPV) infection: a Mozambique overview[J]. Virusdisease, 2016, 27(2): 116-122.
- 罗昊, 刘艳丽, 刁国庆, 等. 30岁及以上女性高危型人乳头瘤病毒阳性, 宫颈细胞学阴性310例临床分析[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(6): 621-622.
LUO Hao, LIU Yanli, DIAO Guoqing, et al. Clinical analysis of 310 cases of high-risk HPV positive and cervical cytology negative in women aged 30 and above[J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology, 2020, 21(6): 621-622.
- 匡婷, 李乐赛, 陈亦乐. HPV感染对宫颈癌转移前微环境的影响[J]. 医学研究生学报, 2021, 34(4): 434-438.
KUANG Ting, LI Lesai, CHEN Yile. The influence of HPV on the pre-metastatic niche of cervical cancer[J]. Journal of Medical Postgraduates, 2021, 34(4): 434-438.
- 何志晖, 寇增强, 徐爱强. HPV感染及其免疫预防[J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52(1): 106-113.
HE Zhihui, KOU Zengqiang, XU Aiqiang. Human papillomavirus infection and vaccination[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2018, 52(1): 106-113.
- Bhatla N, Aoki D, Sharma DN, et al. Cancer of the cervix uteri[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2018, 143(2): 22-36.
- 孔蕊, 姚群, 吴晓博, 等. 高危型人乳头状瘤病毒感染类型及载量与子宫颈瘤前病变严重程度及病变范围的相关性[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2020, 14(5): 376-379.
KONG Rui, YAO Qun, WU Xiaobo, et al. Correlation of human papillomavirus subtype and load with severity and extent of cervical intraepithelial neoplasia[J]. Chinese Journal of Clinicians. Electronic Edition, 2020, 14(5): 376-379.
- 孙丽艳, 杨宾烈, 张爱, 等. HPV16 E6基因变异通过调控BDNF/TrkB表达促进宫颈癌细胞增殖的研究[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(4): 246-250.
SUN Liyan, YANG Binlie, ZHANG Ai, et al. HPV16 E6 gene mutation promotes the proliferation of cervical cancer cells by regulating the expression of BDNF/TrkB[J]. Journal of Hainan Medical University, 2021, 27(4): 246-250.
- Sabol I, Milutin Gašperov N, Matovina M, et al. Cervical HPV type-specific pre-vaccination prevalence and age distribution in Croatia[J]. PLoS One, 2017, 12(7): 80480-80486.

18. 邓六六, 吴莉英, 潘中亚, 等. 22234例子宫颈高危型HPV感染及亚型分布研究[J]. 实用妇产科杂志, 2020, 36(2): 128-131.
DENG Liuliu, WU Liying, PAN Zhongya, et al. High-risk HPV cervical infection rate and subtype distribution in 22234 women[J]. Journal of Practical Obstetrics and Gynecology, 2020, 36(2): 128-131.
19. 刘群香, 王莉, 李江丽. 持续感染状态的HPV-16及HPV-58亚型在宫颈病变中的分布及危险因素[J]. 河北医学, 2020, 26(4): 541-545.
LIU Qunxiang, WANG Li, LI Jiangli. The distribution and risk factors of HPV-16 and HPV-58 subtypes in cervical lesions with persistent infection[J]. Hebei Medicine, 2020, 26(4): 541-545.

本文引用: 何春雷, 陈洁, 金凯黎, 李冉. 妇女高危HPV亚型分布与宫颈病变的相关性[J]. 临床与病理杂志, 2022, 42(12): 2977-2982. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.12.018

Cite this article as: HE Chunlei, CHEN Jie, JIN Kaili, LI Ran. Correlation between the distribution of high-risk HPV subtypes and cervical lesions in women[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2022, 42(12): 2977-2982. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.12.018