

2013年昆明市2899例妇科宫颈糜烂患者人乳头瘤病毒检测分析

赵东岩, 邓德耀, 刘春林, 高宗鹰, 李端萍
(云南省第二人民医院检验科, 云南昆明 650021)

[摘要] **目的** 研究昆明地区2013年度宫颈糜烂患者中高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)和低危型人乳头瘤病毒(LR-HPV)的感染情况,为本地区宫颈癌的预防提供依据。**方法** 利用荧光定量PCR技术对2899例宫颈糜烂患者和375例正常对照组的宫颈分泌物样本进行HPV-DNA检测,所得数据用SPSS软件进行分析。**结果** 2899例宫颈糜烂患者样本,检出HR-HPV感染988例,感染率34.08%;LR-HPV 214例,感染率7.38%,双重感染56例,占感染总人数的4.89%;正常对照组375例样本中,检出HR-HPV感染41例,感染率10.93%;LR-HPV 11例,感染率2.93%;2组间HR-HPV与LR-HPV的感染率差异有统计学意义($\chi^2=82.54, P<0.005$; $\chi^2=10.26, P<0.005$)。25岁以前年龄组和55岁以后年龄组高危HPV感染率明显增高,25岁以前年龄组与其它年龄组HR-HPV感染率比较差异有统计学意义($\chi^2=43.89, P<0.005$)。宫颈糜烂轻、中、重度各组间HPV感染率有非常明显的差异,随着糜烂程度的加深,HPV感染率增高显著,并以HR-HPV感染为主。**结论** 本地区宫颈糜烂患者中HPV感染率较高,与宫颈糜烂程度密切相关,以高危型HPV为主,有明显的年龄分布特征。

[关键词] 宫颈糜烂;人乳头瘤病毒;宫颈癌;荧光定量PCR

[中图分类号] R711.74 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2014)11-0122-04

Analysis of 2899 Cases of Cervical Erosion Gynecological Clinic Patients with HPV Infection in Kunming in 2013

ZHAO Dong-yan, DENG De-yao, LIU Chun-lin, GAO Zong-ying, LI Duan-ping
(Dept. of Clinical Laboratory, The Second People's Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650021, China)

[Abstract] **Objective** To study the patients with cervical erosion type of high-risk human papilloma virus (HR HPV) and low-risk type of human papilloma virus (LR-HPV) infections in our hospital in 2013, and to provide the basis for the prevention of cervical cancer in this region. **Methods** The cervical secretions samples of 2899 cases with HPV infection and 375 cases in normal control group were detected by the fluorescence quantitative PCR. The data were analyzed by SPSS software. **Results** In 2899 patients with cervical erosion, 988 cases of samples were detected with high-risk HPV, with the infection rate of 34.08%; and 214 cases of samples with low-risk HPV, with the infection rate of 7.38%. 56 cases of samples had both high-risk and low-risk HPV infections, accounting for 4.89% of the total number of HPV infection. In 375 cases of normal control group samples, 41 cases of samples were detected with high-risk HPV, with the infection rate of 10.93%; and 11 cases of samples with low-risk HPV, with the infection rate of 2.93%. There were significant differences between two groups ($\chi^2=82.54, P<0.005$; $\chi^2=10.26, P<0.005$). There was obvious higher infection of high-risk HPV in under 25-age group and over 55-age group. There were significant differences among the age groups ($\chi^2=43.89, P<0.005$). There were significant differences of HPV infection between the mild group, the moderate group and the severe group of cervical erosion. With the deepening of erosion degree, HPV infection rate increased significantly, mainly with HR-HPV infection. **Conclusion** HPV infection rate was high in patients with cervical erosion in this region, mainly with high risk type HPV. It has obvious characteristics of age distribution.

[Key words] Cervical erosion; Human papilloma virus; Cervical cancer; Fluorescence quantitative PCR

[作者简介] 赵东岩(1971~),女,甘肃山丹县人,医学学士,主管检验师,主要从事感染性标志物的分子诊断工作。

宫颈糜烂是慢性宫颈炎最常见的一种病理表现形式, 是妇科的常见疾病、多发病。大多数宫颈糜烂是由于各种性传播疾病 (sexually transmitted disease, STD) 病原体如沙眼衣原体 (chlamydia trachomatis, CT)、解脲支原体 (ureaplasma urealyticum, UU)、人乳头瘤病毒 (HPV) 等感染所致, 特别是高危型人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HR-HPV), 它的持续感染是导致宫颈癌的明确病因^[1]。云南省是边远省份, 女性患者对宫颈癌的发病原因及 HPV 持续感染的危害性的了解, 较发达地区滞后, 因此极有必要对本地区的宫颈糜烂患者进行 HPV 筛查, 研究它们之间相互作用的关系, 从而对预防和治疗宫颈糜烂, 减少 HPV 的感染率, 减少宫颈癌的发生有积极的意义。为此笔者应用荧光定量 PCR 方法, 对 2013 年来云南省第二人民医院妇科门诊就诊的 2 899 例宫颈糜烂患者进行了 HR-HPV 以及低危型 HPV (LR-HPV) 的检测, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2013 年 1 月至 12 月来云南省第二人民医院妇科门诊就诊, 进行宫颈检查后宫颈糜烂患者 2 899 例作为观察组, 年龄 18 ~ 72 岁, 平均 (41.7 ± 2.1) 岁, 其中宫颈糜烂情况按《妇产科学》标准分类分为 I、II、III 三度^[2]; 另外选取体检中心, 经妇科检查无宫颈糜烂而自愿进行 HPV 检查的体检人员 375 例作为对照组, 年龄 20 ~ 68 岁, 平均 (38.1 ± 1.5) 岁。

1.2 检测方法

1.2.1 标本采集 妇科医生用无菌生理盐水棉拭子洗去宫颈外分泌物, 再用无菌棉拭子伸入宫颈内 1 ~ 2 cm 处, 停 10 s 后转动无菌棉拭子以采集宫颈分泌物, 之后将无菌棉拭子放入带盖的无菌试管, 密闭并立即送检。

1.2.2 仪器 德国罗氏 LightCycler 实时荧光定量 PCR 分析仪, Microfuge 22R Centrifuge 高速冷冻离心机 (美国 BECKMAN COULTER), K10 干式恒温器 (杭州奥盛仪器有限公司)。

1.2.3 试剂 HR-HPV、LR-HPV 荧光定量 PCR 试剂盒由中山大学达安基因股份有限公司提供。

1.2.4 核酸提取及检测方法 加 1 ~ 2 mL 无菌生理盐水于样品管中, 充分振荡洗脱, 吸取样品混悬液 1 mL 置于 1.5 mL 离心管中, 1 200 r/min 离心 5 min, 弃上清液。沉淀加 1 mL 无菌生理盐水, 混

匀, 1 2 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 沉淀中加入 50 μ L DNA 提取液充分混匀, 100 $^{\circ}$ C 恒温处理 (10 ± 1) min, 1 200 r/min 离心 5 min, 取上清液 2 μ L 进行 PCR 反应。HPV DNA 定量检测采用实时荧光定量 PCR 技术, 反应体系及扩增条件见试剂盒内说明书。

1.3 统计学处理

利用 SPSS 软件进行统计学分析, 采用 χ^2 检验分析进行组间比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 检测结果

2 899 例宫颈糜烂患者中共检出 HR-HPV 988 例, 感染率 34.08%, LR-HPV 感染 214 例, 感染率 7.38%; 其中双重感染 56 例, 双重感染率占感染总人数的 4.89%; 375 例对照组检出 HR-HPV 41 例, 感染率 10.93%, LR-HPV 感染 11 例, 感染率 2.93%; 其中双重感染 0 例。其中宫颈糜烂组和正常对照组 HR-HPV 的感染率有统计学意义 ($P < 0.005$), LR-HPV 感染率也有非常明显差异 ($P < 0.005$)。

2.2 不同程度宫颈糜烂患者 HR-HPV 与 LR-HPV 检测结果见表

随着宫颈糜烂程度的加深, LP-HPV 与 HR-HPV 的感染率都有明显增加, 经统计学处理, 各组间 LR-HPV 的感染率有非常明显差异 ($\chi^2 = 47.54$, $P < 0.05$), 各组间 HR-HPV 的感染率有非常明显差异 ($\chi^2 = 67.26$, $P < 0.05$), LP-HPV 感染率与 HR-HPV 感染率之间也有非常明显差异 ($\chi^2 = 628.61$, $P < 0.05$), 宫颈糜烂患者 HPV 感染且以 HR-HPV 感染为主, 见表 1。

2.3 HR-HPV 感染的年龄分布

HR-HPV 感染率以 25 岁以下 (含 25 岁) 和 > 55 岁年龄组为明显增高, 特别是前者 (25 岁以下年龄组与其他) 各年龄段的感染率相比有统计学意义 ($\chi^2 = 37.19$, $P < 0.05$), 见表 2。

表 1 宫颈糜烂患者 HR-HPV 与 LR-HPV 感染率分布 (%)

Tab. 1 HR-HPV and LR-HPV infections rate distribution in patients with cervical erosion (%)

分 组	样 本	LR-HPV (%)	HR-HPV (%)
I° 糜烂	1 032	38 (3.68)	289 (28.00)
II° 糜烂	1 099	81 (7.37)	347 (31.57)
III° 糜烂	768	95 (12.37)*	352 (45.83)*
Total	2 899	214 (7.16)	988 (34.08)

与 I°、II° 糜烂比较, * $P < 0.05$ 。

表 2 各年龄组 HR-HPV 阳性率分布 (%)

Tab. 2 HPV positive rate distribution among all age groups (%)

年 龄	样本	阳性 (n)
≤25	361	158(43.77)*
25~35	843	315(37.37)
35~45	991	286(28.86)
45~55	480	143(29.79)
≥55	224	86(38.39)
总计	2 899	988(34.08)

与其它年龄组比较, * $P < 0.05$.

3 讨论

自 1995 年, WHO 发布有关 HR-HPV 是宫颈癌必要的致病因子后, HPV 感染受到广泛关注. 但在一些如云南等边远落后省份和地区, 知识更新缓慢, 医生意识陈旧, 对 HR-HPV 在宫颈癌筛查中的作用认识不够, 当发现患者有“宫颈糜烂”时, 一方面忽视宫颈早期癌变时. 宫颈的外观与宫颈糜烂无显著差异; 另一方面认为“宫颈糜烂”属于慢性炎症. 忽略其与宫颈癌前病变的相似性, 不进一步进行宫颈细胞学筛查和 HR-HPV 检查, 从而延误患者的诊治. 由统计数据来看: 仅 2013 年妇科门诊 2 899 例宫颈糜烂患者中, HPV 感染率就高达 39.53%, 并且以 HR-HPV (34.08%) 为主, LR-HPV 感染率仅为 7.38%, 但无论是 HR-HPV 还是 LR-HPV 的感染, 宫颈糜烂组与正常对照组比较差异有统计学意义. 云南省第一人民医院孙鹭曾对妇科门诊患者进行 HPV 感染率的统计报道^[9], 2010 年 5 月至 2011 年 6 月期间, 本地区 2 221 例妇科门诊普通患者中 HPV 感染率为 18.24%, 尽管存在方法学的差异, 但也由此反映一个事实: 本地区宫颈糜烂患者的 HPV 感染率远较普通妇科患者高, 应引起临床医生的注意. 另据吉林大学邵为荣等用 PCR 和免疫组化 SP 法对北京、江苏、山东、西安 4 个地区宫颈糜烂患者进行病原体检测分析, 结果与笔者较一致, 以 HR-HPV 感染为主, HPV-HR 的感染率达 34.7%^[4], 这充分说明, 宫颈糜烂与 HPV 密切相关.

HPV 是一类序列相近的小型双链环状 DNA 病毒, 研究表明宫颈 HPV 感染常发生在宫颈上皮移行区, 此区域易发生鳞柱异位致宫颈糜烂, HPV 常通过微小糜烂面感染宫颈储备细胞或化生上皮^[5]. 大量的流行病学资料以及研究证据已经明确了 HR-HPV 与宫颈癌的病因关系: 性行为造成皮肤或黏膜的轻微损伤, 基底细胞暴露, 病毒进入机

体, 以单拷贝或多拷贝的形式与宿主细胞整合, 基因整合是肿瘤发生的前提, 因为整合可能会导致癌基因的过分表达或者抑癌基因的功能缺失, 而这些都可能导致细胞永生化和癌变^[6]. 特别是高危型 HPV 的感染很容易成持续性, 因其感染后病毒清除率较低, 导致高级别的宫颈上皮内瘤变的危险性增高^[7]. 宫颈癌的发生除了取决于 HPV 的持续感染外, 还取决于被感染者的机体免疫反应状况. 研究显示^[8], 免疫功能受损或免疫缺陷的女性要比正常女性更容易出现 HPV 持续感染, 这为宫颈癌的发生创造了有利的条件.

检测结果显示: LR-HPV 的感染率, 无论是糜烂组还是对照组, 都远低于 HR-HPV, 前者感染率为 7.38%, 后者感染率为 2.93%. 但 LR-HPV 的感染有显著地年龄特点, 在性行为活跃的人群中常见. 在笔者的数据统计中, 糜烂组中 142 例 LR-HPV 感染者年龄在 30 岁以前, 占 LR-HPV 总感染者的 66.36%, 正常对照组中有 6 例感染者在 30 岁以前, 占 LR-HPV 总感染者的 54.54%, 这符合其性途径传播的特点. LR-HPV 感染一般不诱发癌变, 但如果合并 HR-HPV 感染, 除了导致病情迁延反复, 治疗周期长, 增加患者就医费用外, 更易诱发宫颈恶性病变, 国内杨岚^[9]等报道宫颈癌的 HPV 多重感染率显著高于正常或炎症对照组, 表明 HPV 多重感染与宫颈恶变有一定相关性. 笔者共检出 56 例同时合并 HR-HPV 感染, 是双重感染, 所以在适龄人中, LR-HPV 与 HR-HPV 的联合筛查仍然是非常必要的.

不同程度宫颈糜烂状况的患者 HPV 感染情况 (表 1). 宫颈糜烂组 HPV 的感染率远高于正常对照组, 并且随着糜烂程度的加重, LR-HPV 与 HR-HPV 的感染率都逐渐增加, 有糜烂程度越重, HPV 感染率越高的趋势, 各组间 HPV 感染率经统计学处理, 有非常显著差异 (表 1). 这与国内李瑞珍等报道相一致^[10]. 由此可见, 宫颈糜烂的发生及其发展与病原体的感染有密不可分的关系, 但临床对宫颈糜烂患者, 由于受经济条件、医保范围等因素影响, 通常先进行超薄液基细胞学技术 (TCT) 筛查, 对 TCT 异常者再行 HPV 检查. 而北京宣武医院曲修平等报道^[11]: 在 TCT 检查正常的宫颈糜烂患者中, 仍约有 30% HPV 高危阳性率, 提示 HPV 感染更早于细胞学改变, HPV 检测比宫颈细胞学检测对宫颈癌前病变更为敏感. 因此, 对宫颈糜烂患者应提倡 HPV 检查并积极治疗、定期随访, 可以起到积极预防和控制宫颈感染, 并控制宫颈上皮内瘤样病变和宫颈癌的发生、发展的作用.

据我们的统计结果看, HR-HPV 感染率有明显的年龄分布特点:25 岁以下(含 25 岁)和 >55 岁年龄段的 HR-HPV 感染率均明显高于其他年龄组(见表 2), 这与柳双燕等报道相一致^[2], 对于 25 岁以下(含 25 岁)年龄组的高感染率, 分析原因可能与年轻女性性生活活跃、年轻女性的免疫系统未致敏, 相对易受 HPV 感染等因素有关。另外, 年轻女性宫颈糜烂使得生殖道上皮变薄, 正常黏液分泌物减少, 性交时易破损, 提供了 HPV 入侵的场所, HPV 感染的机会大大增加。近年来, 我国每年宫颈癌新发病例约 13.15 万, 其发病率逐步上升且有年轻化趋势^[3], 因此笔者建议应改变观念, 应将年轻女性也纳入宫颈癌筛查的重点。另外一个高感染率的年龄组是 55 岁以后人群, HR-HPV 感染率高达 38.39%, 这可能与该人群的生理因素造成体内激素水平改变, 免疫功能也随之下落, 对病毒的新发或既往感染清除能力下降有关。并且这部分患者大多已过育龄期, 却出现了比较典型的如阴道出血、疼痛等临床阳性体征, 所以 HPV 的检出也远高于其他年龄组群体。

总之, 筛查是现阶段控制和预防宫颈癌的主要手段, 针对不同程度的宫颈糜烂患者, 选择治疗方法时, 必须考虑加强 HPV 特别是 HR-HPV 的检测, HR-HPV 的检测有助于宫颈癌前病变的筛查, 早期给予抗病毒治疗, 对宫颈糜烂的积极及有效治疗、减少女性生殖道 HPV 感染及宫颈癌防治具有重要意义。

[参考文献]

- [1] ZUR HAUSEN H. Cervical carcinoma and human papillomavirus on the road to preventing a major human cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93(4):252-253.
- [2] 乐杰. 妇产科学[M]. 第6版, 北京:人民卫生出版社, 2005:265.
- [3] 孙鹭, 刘琳, 高于红, 等. 云南省妇科门诊女性 HPV 检测结果分析 [J]. *昆明医科大学学报*, 2012, 33(8):73-74.
- [4] 邵为荣, 张雪涛, 李凡, 等. 应用 PCR 和免疫组化 SP 法对宫颈糜烂相关病毒感染的调查 [J]. *中国实验诊断学*, 2007, 11(8):1 034-1 037.
- [5] KOSHIOL J E, LAIRENT S A, PIRNENTA J M. Rate and predictors of new genital warts claims and genital warts-related healthcare utilization among privately insured patients in the United States [J]. *Sex Transm Dis*, 2004, 31(6):748.
- [6] WIENER J S, WALTHER P J, NORMAN T, et al. A high association of oncogenic human papillomavirus with carcinoma of the female urethra: Polymerase chain reaction-based analysis of multiple histological types [J]. *J Urol*, 1994, 45(1):49-53.
- [7] GOK M, COUPE V M H, BERKHOF J. HPV 16 and increased risk of recurrence after treatment for CIN [J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 104(2):273-275.
- [8] GONALVES M A, SOARES E G, FERANDES A P M, et al. Langerhans cell count and HLA class II profile in cervical intraepithelial neoplasia in the presence or absence of HIV infection [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2004, 114(2):221-227.
- [9] 杨岚, 郭彩琴, 陈道桢, 等. 人乳头瘤病毒基因分型在宫颈病变筛查中的应用 [J]. *临床检验杂志*, 2010, 28(4):287-288.
- [10] 李瑞珍, 石菊芳, 周庆芝, 等. 基因芯片技术检测高危型 HPV 在子宫颈癌筛查中的评价 [J]. *中华医学杂志*, 2006, 86(5):307.
- [11] 曲修平, 夏蓓, 杨宁, 等. 260 例 TCT 正常的宫颈糜烂患者 HPV 感染状况分析 [J]. *实用妇产科杂志*, 2007, 23(10):619.
- [12] 柳双燕, 张礼婕, 程德敏, 等. 生殖道 HR-HPV 感染率及宫颈糜烂患病率的年龄分布特点 [J]. *中国现代医药杂志*, 2011, 13(3):20.
- [13] 万磊, 万建平, 张燕玲, 等. 子宫颈癌年轻化趋势的临床分析 [J]. *中国肿瘤临床*, 2004, 31(10):547.

(2014-09-07 收稿)