论著

文章编号:1000-5404(2007)21-2086-03

深圳市人民医院352例尖锐湿疣患者生殖道人乳头状瘤病毒基因亚型的分布及意义

唐 敏[1],戴 勇[2],吕晓萍[2],李体远[2] ([1]重庆医科大学医学检验系实验诊断教研室,重庆 400016;[2]深圳市人民医院临床研究中心,深圳 518020)

提 要:目的 了解深圳地区人乳头状瘤病毒(human papillomavirus,HPV)亚型的分布情况,并评价不同亚型的HPV在宫颈病变中的临床意义。**方法** 用导流反斑点杂交法对深圳市人民医院2003-2004年352例尖锐湿疣标本进行9~20种HPV亚型基因分型,结合临床病理检查结果分析HPV亚型分布情况及与不同宫颈病变的关系。**结果** 深圳地区尖锐湿疣患者中HPV亚型分布较广泛,主要亚型以低危型11和6型为主,多重HPV感染率接近总感染率的37%;在宫颈尖锐湿疣中主要的HPV亚型是高危型,尤其在子宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia,CIN)Ⅱ$^+$以上的宫颈病变中,感染率最高的依次为以16、18、58、52和33型。**结论** 深圳地区尖锐湿疣以HPV11和6感染为主。HPV16、18等高危型HPV亚型可能是深圳地区导致宫颈恶性病变主要原因。

关键词:人乳头状瘤病毒;基因分型

中图法分类号:R181.39;R373;R512.99 **文献标识码**:A

Distribution and clinical significance of human papillomavirus subtypes in Shenzhen People's Hospital

TANG Min[1], DAI Yong[2], LU Xiao-ping[2], LI Ti-yuan[2] ([1]Department of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, [2]Center of Clinical Research, Shenzhen People's Hospital, Shenzhen 518020, China)

Abstract: Objective To investigate the distribution of human papillomavirus (HPV) subtypes in condyloma acuminatum (CA) patients in Shenzhen People's Hospital and assess the association between HPV subtypes and cervix neoplasm. Methods Type specific prevalence and extent of multiple infection were assessed in the genital tract CA samples collected from 352 patients visiting Departments of dermatology or gynecology of Shenzhen People's Hospital during 2003-2004. PCR using MY09/11 as primer and reverse dot blot hybridization for the genotyping of 9-20 HPV subtypes. Results HPV type diversity was broad in the investigated CA patients. The low risk HPV type (HPV subtype 11, 6) was dominant and multiple HPV infections occurred in 37% of HPV-positive samples. High risk HPV type was dominant in CA from cervix, especially in the high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN Ⅱ$^+$), and multiple high risk HPV (HR-HPV) infection was found in 87% of HPV positive samples. Conclusion HPV subtypes 6 and 11 were dominant in the patients visiting Shenzhen People's Hospital. HPV subtypes 16 and 18 may be the main causes of malignant changes of cervix.

Key words: human papilloma virus; genetyping

生殖道人乳头状瘤病毒(human papillomavirus,HPV)感染是一种广泛流行的性传播疾病。国际癌症研究协会根据HPV致病力的大小分为高危型和低危型两种,低危型主要引起生殖道肛周皮肤和阴道下部的外生性湿疣类病变、扁平湿疣类病变和低度子宫颈上皮内瘤样变(cervical intraepithelial neoplasia,CIN)Ⅰ;高危型主要导致CIN Ⅱ、Ⅲ级病变和宫颈癌的发生[1]。因此了解HPV感染亚型的分布情况,了解HPV感染亚型的分布情况,对相关疾病的预防、诊断和治疗都有重大意义。研究表明不同地区的人群不仅HPV感染率和所携带的型别不同,与宫颈病变相关的型别也不尽相同[2,3]。本研究拟通过对2003-2004年间深圳市人民医院皮肤科和妇科就诊的352例尖锐湿疣患者的HPV进行多种基因分型,并结合临床病理检查结果,了解对深圳市HPV基因亚型分布情况,探讨HPV不同亚型感染与不同宫颈病变的关系。

1 材料与方法

1.1 标本选择

73例标本取自2003-2004年深圳市人民医院皮肤科就诊的生殖器或宫颈尖锐湿疣患者。其中男性43例,女性30例,年

作者简介:唐 敏(1975-),女,四川省达州市人,博士研究生,讲师,主要从事疾病的基因诊断方面的研究。电话:(023)68485223,E-mail:tangmin2004061@hotmail.com

通讯作者:戴 勇,E-mail:xiaoyong62@tom.com

收稿日期:2007-02-06;修回日期:2007-03-10

龄(28.9 ± 7.2)岁。279 例标本取自 2003 - 2004 年深圳市人民医院妇科就诊的宫颈尖锐湿疣患者，年龄(33.14 ± 10.4)岁。

1.2　标本采集和处理

采集生殖器或子宫颈尖锐湿疣组织样本，冻存于 -20℃待用。使用 QIAamp DNA Blood Mini 试剂盒和血液/体液方法提取 DNA。

1.3　HPV 检测和基因分型

使用 Coutlee 等[4]的 MY09/11 引物进行 HPV PCR 检测。基因分型采用由香港医学分子诊断中心研制并提供的 DNA 导流快速杂交仪及 DNA 导流快速杂交试剂盒进行基于导流反斑点印记杂交法进行，检测步骤严格按说明书进行。本研究对来自皮肤科的 73 例标本共检测了 9 种 HPV 亚型(包括 3 种低危亚型：6、11 和 53；7 种高危亚型：16、18、31、33、52、58 和 66；1 种危险性未知的亚型：CP8304)。对来自妇科的 279 例标本共检测 20 种 HPV 亚型(包括 5 种低危亚型：6、8、11、44 和 53；14 种高危亚型：16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68；1 种危险性未知的亚型：CP8304)。关于导流反斑点印记杂交见有文献[5]。

1.4　统计学分析

采用 SPSS 11.5 统计软件行 χ^2 检验。

2　结果

2.1　HPV 感染型别分布情况

2003 - 2004 年深圳市人民医院皮肤科和妇科就诊尖锐湿疣患者 HPV 检测情况如表 1。皮肤科患者中，所检测的 9 种类型的 HPV 都有分布，但感染主要以低危型的 HPV 6(55.8%)和 11(48.8%)为主。而在妇科患者中，引起宫颈病变的 HPV 以高危型的为主，主要的型别依次为 16(32.3%)、52(22.9%)、58(22.6%)、18(20.1%)、33(14.3%)等。

表 1　2003 - 2004 年深圳市人民医院皮肤科和妇科尖锐湿疣患者 HPV 分型情况[病例数(%)]

组别	HPV	皮肤科	妇科	合计
低危型	6	36(49.3)	19(6.8)	55(15.6)
	8	-	3(1.1)	3(0.9)
	11	38(52.1)	26(9.3)	64(18.2)
	44	-	2(0.7)	2(0.6)
	53	6(8.2)	18(6.5)	24(6.8)
高危型	16	7(9.6)	90(32.3)	97(27.6)
	18	6(8.2)	56(20.1)	62(17.6)
	31	2(2.7)	25(9.0)	27(7.7)
	33	6(8.2)	40(14.3)	46(13.1)
	35	-	1(0.4)	1(0.3)
	39	-	13(4.7)	13(3.7)
	45	-	8(2.9)	8(2.3)
	51	-	6(2.2)	6(1.7)
	52	-	64(22.9)	64(18.2)
	56	-	8(2.9)	8(2.3)
	58	4(5.5)	63(22.6)	67(19.0)
	59	-	2(0.7)	2(0.6)
	66	-	11(3.9)	11(3.1)
	68	-	16(5.7)	16(4.5)
未知	CP8304	6(8.2)	5(1.8)	11(3.1)
PCR(-)		4(5.5)	19(6.8)	23(6.5)

注：因为存在多重感染所以有重复计数的例数；括号内数字为(感染例数/患者总人数)×100%

2.2　不同宫颈病变中的 HPV 感染

在 279 例妇科就诊的宫颈尖锐湿疣患者中，有 70 例经组织病理检查证实有确实的宫颈病变。其中慢性炎症 14 例，CIN 32 例(CIN Ⅰ5 例，CIN Ⅱ10 例，CIN Ⅲ17 例)；原位癌 16 例；鳞癌 8 例。不同宫颈病变中 HPV 感染情况的关系：轻度宫颈病理改变(慢性炎症 + CIN Ⅰ)患者感染的 HPV 主要型别依次为 52、58、16、18、33，其感染率分别为 42.1%(8/19)、31.6%(6/19)、26.3%(5/19)、26.3%(5/19)。中重度病理改变(CIN Ⅱ + CIN Ⅲ + 原位癌 + 鳞癌)患者感染的 HPV 主要型别依次为 16、18、58、52、33，其感染率分别为 51.0%(26/51)、33.3%(17/51)、31.4%(16/51)、25.5%(13/51)、19.6%(10/51)。

2.3　多重 HPV 感染

详细情况见表 2。从表 2 看，在深圳市人民医院皮肤科的尖锐湿疣患者单纯感染率为 46.6%(34/73)，多重 HPV 感染率为 37.0%(27/73)；而在妇科就诊宫颈尖锐湿疣患者单纯 HPV 感染率仅为 9.2%(35/279)，多重 HPV 感染率则达到了 86.7%(225/279)，且无论单纯感染还是多重感染，每例标本中都检测到了高危型别的 HPV。用 χ^2 检验分析多重 HPV 感染相对于单纯 HPV 感染与宫颈轻度病理改变(慢性炎症 + CIN Ⅰ)和中重度病理改变(CIN Ⅱ + CIN Ⅲ + 原位癌 + 鳞癌)无显著性差异($\chi^2 = 0.133\ 2 < \chi^2_{0.05,1}$，$P > 0.05$)，故本研究不能说明多重 HPV 感染与宫颈病变的严重程度有关。

表 2　HPV 多重感染情况

组别	总计	单纯 HPV 感染			多重 HPV 感染		
		HR-HPV*(-)	HR-HPV(+)	总计	HR-HPV(-)	HR-HPV(+)	总计
皮肤科组	73	0	34	34	27	10	37
妇科组	279	31	4	35	225	0	225
慢性炎症	14	2	1	3	11	0	11
CIN Ⅰ	5	1	0	1	4	0	4
CIN Ⅱ	10	3	0	3	7	0	7
CIN Ⅲ	17	5	0	5	12	0	12
原位癌	16	2	0	2	14	0	14
鳞癌	8	1	0	1	7	0	7

*：HR-HPV 代表高危 HPV

3　讨论

HPV 是一种嗜人体皮肤和黏膜组织细胞的 DNA 病毒，可广泛感染人类皮肤及生殖道、呼吸道上皮组织，是引起尖锐湿疣(condyloma acuminata，CA)的主要病原体，也与人类多种良、恶性肿瘤密切相关，生殖道 HPV 感染与宫颈癌的关系最早由德国病毒学家 Zur-Hausen[6]提出。通过流行病学研究和生物学研究，已经明确 HPV 感染为宫颈癌前病变和浸润性宫颈癌发生的必要条件[7]。而不同地区人群 HPV 感染率不同，所携带的型别不同，与宫颈病变相关的型别也不尽相同。

本研究使用基于导流杂交的快速 HPV DNA 分型方法，在相对较短的时间里对多个 HPV 基因亚型进行

同时检测，分析结果显示分布在深圳地区尖锐湿疣的HPV亚型以低危型的6和11型为主，多重感染率为36.99 %（27/73），与Burd[8]报道的39%相接近。宫颈尖锐湿疣中主要亚型是高危型，依次为16、52、58、18、33等，其中HPV 16和18型的感染率在CIN Ⅱ以上的宫颈病变中比例最高，表明其可能是引起宫颈癌前病变和恶性肿瘤的主要亚型，这与国内外一些研究结果相吻合[9,10]，需要进一步研究证实。多重HPV感染率在宫颈尖锐湿疣患者中达到了86.65 %（225/279），且无论单纯感染还是多重感染，每例标本中都检测到了高危型别的HPV，但χ^2检验显示多重HPV感染与单纯HPV感染相比对宫颈病变的严重程度并没有显著性差异。这与Burd[8]的观点相反，但与Cuschieri等[11]的研究相吻合。

由于不同HPV DNA的基因分型与患者临床预后密切相关，因此结合细胞学检查等方法，采取高效率、高精确度的检测方法，对HPV进行基因分型，对于降低女性生殖道肿瘤的发生率及病死率具有重要意义[12,13]。在本研究中，对HPV基因分型检测范围比较广泛，但是由于一些具体原因，实验没有设置病例对照组，病例中患者相关情况资料搜集有一定缺失，如要研究多重HPV感染对不同宫颈病变的影响因素进行分析，需要结合细胞学检查，对各种HPV基因亚型消失或出现进行大规模的前瞻性研究。

参考文献：

[1] Dell G, Gaston K. Human papillomaviruses and their role in cervical cancer[J]. Cell Mol Life Sci, 2001, 58(12-13):1923-1942.

[2] Munoz N, Bosch F X, de-Sanjose S, *et al*. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518-527.

[3] Einstein M H, Goldberg G L. Human papillomavirus and cervical neoplasia[J]. Cancer Invest, 2002, 20 (7-8): 1080-1085.

[4] Coutlee F, Gravitt P, Richardson H, *et al*. Nonisotopic detection and typing of human papillomavirus DNA in genital samples by the line blot assay. The Canadian Women's HIV study group[J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(6): 1852-1857.

[5] 吕晓萍，李体远，戴 勇，等. 尖锐湿疣HPV导流杂交快速基因分型及临床意义[J]. 岭南皮肤性病科杂志，2004，11(2)：94-96，106.

[6] zur-Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(6): 690-698.

[7] Schiffman M H, Brinton L A. The epidemiology of cervical carcinogenesis[J]. Cancer, 1995, 76(10 Suppl): 1888-1901.

[8] Burd E M. Human papillomavirus and cervical cancer[J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16(1): 1-17.

[9] Schellekens M C, Dijkman A, Aziz M F, *et al*. Prevalence of single and multiple HPV types in cervical carcinomas in Jakarta, Indonesia [J]. Gynecol Oncol, 2004, 93(1): 49-53.

[10] 陈鑫苹，符生苗. 宫颈癌与人乳头状瘤病毒16/18型的关系探讨[J]. 中国优生与遗传杂志，2003，11(1)：98，106.

[11] Cuschieri K S, Cubie H A, Whitley M W, *et al*. Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(1): 68-72.

[12] 吴发福，章镜平，孙苏安，等. 江苏省淮安地区食管癌组织中HPV的检测及其临床意义[J]. 实用临床医药杂志，2002，4:73-75.

[13] 吕晓萍，李体远，戴 勇，等. 尖锐湿疣皮损人乳头瘤病毒基因分型的研究[J]. 第三军医大学学报，2005，27(21)：2154-2156.

（编辑 栾 嘉）

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母，也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母$\bar{x}$，卡方的符号是希腊字母χ^2，自由度的符号是希腊文"ν"，不是拉丁文"V"。样本的相关系数是英文"r"，不能误为希腊文"γ"。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号，都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加"－"或"＋"表示。例如Na^+、Ca^{2+}、P^{3-}等等，不采用Ca^{++}、P^{---}、Al^{+++}、O^{-2}表示。核素的核子素（质量数）应写在元素符号的左上角，例如：^{131}I、^{32}P。表示激发状态的m写在右上角，例如：^{99m}Tc、^{113m}In。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称，即不能写成^{131}碘、铟^{113m}、P^{32}、Te^{99m}。

近几年分子生物学发展很快，牵已涉及到许多学科，大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式，要对符号的来源及其内涵有深刻的了解，使用时不致发生错误，例如：RNA有rRNA（ribosomal RNA）、tRNA（transfer RNA）、mRNA（messenger RNA）3类，r、t、m是表示类型的符号应小写，RNA应大写。

本刊编辑部