

·地区流行病学调查·论著·

杭州市余杭区门诊患者人乳头瘤病毒感染情况

褚雪莲 梁秀峰 周宝华 徐立冬

杭州市余杭区妇幼保健院检验科 311100

通信作者:褚雪莲,Email:1308747367@qq.com

【摘要】 目的 了解杭州市余杭区妇科门诊患者人乳头瘤病毒(HPV)的感染特征。方法 采用 PCR-反向点杂交法对 2015 年 1 月至 2018 年 5 月在杭州市余杭区妇幼保健院妇科门诊就诊患者的宫颈脱落细胞进行 23 种 HPV 基因分型检测,并分析不同年份和年龄组患者 HPV 感染情况。结果 杭州余杭区女性 HPV 总检出率为 28.59%(6 070/21 234),居高危型前 3 位的依次是 HPV-52(21.61%,1 330/6 154)、HPV-16(15.20%,935/6 154)和 HPV-58(8.56%,527/6 154),居低危型前 3 位的依次是 HPV-81(32.03%,507/1 583)、HPV-43(18.89%,299/1 583)和 HPV-6(18.26%,289/1 583)。低危型的 HPV-43、6、11,高危型的 HPV-52、53、33、59 和 39 型别检出率在不同年份间差异有统计学意义($\chi^2=9.45、10.24、27.28、34.90、12.20、3.23、13.52$ 和 $10.00,P$ 均 <0.05);多数高危型(或低危型)HPV 亚型在不同年龄组间检出率差异有统计学意义(P 均 <0.05),且单一型与混合型在不同年龄组间的检出率也存在差异($\chi^2=800.38$ 和 $451.04,P$ 均 <0.05)。结论 杭州市余杭区妇科门诊患者 HPV 检出率较高,且 HPV 高危型感染形势严峻, ≤ 20 岁和 >60 岁为感染的高危人群。

【关键词】 乳头状瘤病毒感染;基因分型;高危型;低危型

DOI:10.3760/cma.j.cn331340-20190826-00150

Prevalence of human papillomavirus infection in gynecological outpatients in Yuhang District of Hangzhou

Chu Xuelian, Liang Xiufeng, Zhou Baohua, Xu Lidong

Department of Laboratory Medicine, Maternal and Child Health Hospital of Yuhang District, Hangzhou 311100, China

Corresponding author: Chu Xiulian, Email: 1308747367@qq.com

【Abstract】 Objective To understand the characteristics of human papillomavirus (HPV) infection in gynecological outpatients in Yuhang District of Hangzhou. **Methods** From January 2015 to May 2018, a total of 23 HPV genotypes of cervical exfoliated cells from gynecological outpatients in Maternal and Child Health Hospital of Yuhang District were detected by PCR-reverse dot blot, and the HPV infections in different years and age groups were analyzed. **Results** The total infection rate of HPV in women in Yuhang District of Hangzhou was 28.59% (6 070/21 234). The top three high-risk genotypes were HPV-52 (21.61%, 1 330/6 154), HPV-16 (15.20%, 935/6 154) and HPV-58 (8.56%, 527/6 154), and the top three low-risk types were HPV-81 (32.03%, 507/1 583), HPV-43 (18.89%, 299/1 583) and HPV-6 (18.26%, 289/1 583). There were significant differences in positive rates of some low-risk (HPV-43, 6 and 11) and high-risk (HPV-52, 53, 33, 59 and 39) HPV subtypes among different years ($\chi^2 = 9.45, 10.24, 27.28, 34.90, 12.20, 3.23, 13.52$ and $10.00, P$ all <0.05). The positive detection rates of most high-risk (or low-risk) HPV subtypes were significantly different in different age groups (P all <0.05), as well as single type and mixed type infection ($\chi^2 = 800.38$ and $451.04, P$ both <0.05). **Conclusions** The infection rate of HPV in gynecological outpatients in Yuhang District of Hangzhou is high, and the high-risk type of HPV infection is severe. The women at the age of ≤ 20 and >60 have the high risk of HPV infection.

【Key words】 Papillomavirus infections; Genotyping; High risk type; Low risk type

DOI: 10.3760/cam.j.cn331340-20190826-00150

人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌和宫颈癌前病变的主要致病因素,也是性传播疾病的一个主要

病原^[1-4]。持续高危型 HPV 感染是导致宫颈癌的关键因素,因此控制 HPV 感染是宫颈癌防治的重要措施^[5-6]。

虽然 HPV 疫苗已经应用于临床,但早期 HPV 基因型检测对于预防宫颈癌的发生仍至关重要^[2-4]。本研究初步分析杭州市余杭区妇科门诊患者 HPV 感染情况及基因型分布特征,为宫颈癌的筛查和防治提供参考依据。

对象与方法

一、研究对象

收集 2015 年 1 月至 2018 年 5 月就诊于杭州市余杭区妇幼保健院妇科门诊并被建议进行 HPV 基因分型检测的患者 21 234 例(包括体检 5 856 例、妇科炎症 14 479 例,肿瘤 569 例,性交疼痛 167 例和其他人群 163 例),患者年龄(49.2 ± 10.6)岁,范围 15~89 岁。依据参考文献^[7]将患者年龄分为 6 个年龄组即 ≤ 20 、 $>20 \sim 30$ 、 $>30 \sim 40$ 、 $>40 \sim 50$ 、 $>50 \sim 60$ 和 >60 岁组。

二、试剂与仪器

亚能生物技术(深圳)有限公司生产的 HPV 基因分型(23 型)检测试剂盒(PCR-反向点杂交法),包括宫颈脱落细胞采集器(宫颈刷)、DNA 提取试剂、PCR 扩增试剂和杂交试剂。基因扩增采用普通 MG96+型 PCR 仪(杭州朗基科学仪器有限公司),杂交仪器为亚能生物技术(深圳)有限公司生产的 Combi-H12 型杂交仪。

三、研究方法

1. 样本采集

利用宫颈刷采集宫颈口上皮脱落细胞样本,然后将宫颈刷头部放入细胞保存液管中,置 4℃ 冰箱保存待检,3 d 内完成检测。所有样本采集均获得患者知情同意。

2. DNA 核酸提取

吸取 0.5 mL 含有脱落细胞的保存液转移到标有对应编号的 1.5 mL 离心管中,13 000 转/min 离心 10 min(离心半径 13.5 cm);吸弃上清,保留管底的细胞块沉淀,加入 100 μ L 裂解液悬浮沉淀,沸水浴加热 10 min;13 000 转/min 离心 10 min(离心半径 13.5 cm),上清即为样本 DNA 溶液,4℃ 保存待用。

3. PCR 扩增和杂交显色

吸取 5 μ L 样本 DNA 加入相应编号的 HPV 核酸扩增的 PCR 反应液体体系中,并做好阴性和阳性对照,放入 PCR 仪器中进行 PCR 扩增,操作严格根据试剂盒说明书进行。杂交显色严格按照操作说明书进行实验。参照阴性和阳性对照品,依据斑点显现的有无判读结果,并根据蓝色斑点显现的位置判定 HPV 基因型。

四、统计学分析

采用 SPSS18.0 软件进行统计分析。计数资料采用例数和率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、HPV 总体检出情况

21 234 例患者中 6 707 例 HPV 阳性,阳性率为 28.59%,高危型占比 79.54%(6 154/7 737),低危型 20.46%(1 583/7 737)。居高危型前三位的依次是 HPV-52 (21.61%,1 330 例)、HPV-16 (15.20%, 935 例)和 HPV-58(8.56%,527 例),居低危型前三位的依次是 HPV-81 (32.03%,507 例)、HPV-43 (18.89%,299 例)和 HPV-6(18.26%,289 例);高危型(或低危型)中部分 HPV 亚型在不同年份间的检出率差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。结果见表 1。

二、不同年龄组间 HPV 检出情况

大部分高危型(或低危型) HPV 亚型在不同年龄组间检出率差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。高危型 HPV-52 在 ≤ 20 岁组(9.91%)和 $>50 \sim 60$ 岁组(8.22%)中检出率较高,HPV-16 和 58 在 ≤ 20 岁组中检出率较高(7.33%和 4.74%);低危型 HPV-81 和 6 在 ≤ 20 岁组中检出率较高(6.90%和 7.76%),详见表 2。总体上,高危型 HPV 检出率在 ≤ 20 岁组(61.21%,142/232)、 $>50 \sim 60$ 岁组(33.43%, 671/2 007)和 >60 岁组(36.97%,261/706)中较高,低危型 HPV 检出率在 ≤ 20 岁组(28.88%,67/232)、 $>20 \sim 30$ 岁组(8.61%,452/5 252)和 >60 岁组(8.07%, 57/706)中较高。

表 1 杭州市余杭区门诊女性 HPV 亚型感染的不同年度分布情况

HPV 亚型	阳性数(例)	不同年份 HPV 亚型检出情况[例(%)]				χ^2 值	P 值
		2015 年 (n=5 011)	2016 年 (n=5 800)	2017 年 (n=7 800)	2018 年 (n=2 623)		
低危型	1 583	409(8.16)	442(7.62)	530(6.79)	202(7.70)	9.10	<0.05
HPV-81	507	115(2.30)	164(2.83)	174(2.23)	54(2.06)	6.78	>0.05
HPV-43	299	66(1.32)	63(1.09)	122(1.56)	48(1.83)	9.45	<0.05
HPV-6	289	80(1.60)	87(1.50)	81(1.04)	41(1.56)	10.24	<0.05
HPV-42	261	61(1.22)	70(1.21)	95(1.22)	35(1.33)	0.33	>0.05
HPV-11	227	87(1.74)	58(1.00)	58(0.74)	24(0.92)	27.28	<0.01
高危型	6 154	1 529(30.51)	1 628(28.07)	2 135(27.37)	862(32.86)	36.73	<0.01
HPV-52	1 330	376(7.50)	317(5.47)	434(5.56)	203(7.74)	34.90	<0.01
HPV-16	935	245(4.89)	266(4.59)	315(4.04)	109(4.16)	6.10	>0.05
HPV-58	527	140(2.80)	132(2.28)	176(2.26)	79(3.01)	7.66	>0.05
HPV-53	509	111(2.22)	116(2.00)	198(2.54)	84(3.20)	12.20	<0.01
HPV-51	449	104(2.08)	126(2.17)	157(2.01)	62(2.36)	1.36	>0.05
HPV-68	388	80(1.60)	104(1.79)	158(2.03)	46(1.75)	3.24	>0.05
HPV-56	302	80(1.60)	71(1.22)	107(1.37)	44(1.68)	4.15	>0.05
HPV-18	298	68(1.36)	91(1.57)	97(1.24)	42(1.60)	3.49	>0.05
HPV-33	279	56(1.12)	77(1.33)	104(1.33)	42(1.60)	3.23	<0.05
HPV-59	274	66(1.32)	100(1.72)	83(1.06)	25(0.95)	13.52	<0.01
HPV-66	237	57(1.14)	72(1.24)	79(1.01)	29(1.11)	1.63	>0.05
HPV-31	196	44(0.88)	48(0.83)	77(0.99)	27(1.03)	1.40	>0.05
HPV-39	137	28(0.56)	29(0.50)	51(0.65)	29(1.11)	10.00	<0.05
HPV-35	115	27(0.54)	30(0.52)	41(0.53)	17(0.65)	0.74	>0.05
HPV-45	90	26(0.52)	22(0.38)	27(0.35)	15(0.57)	3.92	>0.05
HPV-73	39	7(0.14)	13(0.22)	16(0.21)	3(0.11)	1.70	>0.05
HPV-73	39	7(0.14)	13(0.22)	16(0.21)	3(0.11)	1.70	>0.05
HPV-82	11	2(0.04)	5(0.09)	4(0.05)	0(0)	2.21	>0.05

三、混合感染情况

单一型感染和混合型感染的构成比分别为 77.31%(4 693/6 707)和 22.69%(1 377/6 707),单一型 HPV 亚型感染(或混合型感染)在不同年龄组间比较差异有统计学意义($P<0.05$),结果见表 3。HPV 亚型单一型感染中,高危型以 HPV-52、16 和 58 型为主,低危型以 HPV-87、43 和 6 型为主;HPV 亚型混合型感染中,以 2 种不同亚型感染为主(81.48%,1 122/1 377),且以 HPV-52 合并 HPV-16(215 例),HPV-52 合并 HPV-58(62 例),HPV-52 合并其他亚型(51 例)及 HPV-16 合并其他亚型(25 例)居多。3 种及以上亚型占比分别为 16.05%(221/1 377)和 2.50%(34/1 377)。

讨 论

宫颈癌是女性最常见的生殖道恶性肿瘤,全世界每年有近 53 万新诊断的宫颈癌病例,其中来自中国的病例超过 13 万例^[6, 8]。由于对宫颈癌预防意识的增强和筛查的普及,发达国家宫颈癌发病率和死亡率呈显著下降趋势,相比之下,中国出现了上升的趋势,其根本原因是筛查的忽视^[9]。

本研究中,余杭区 2015—2018 年 HPV 总检出率为 28.59%,与浙江早期(28.72%)的水平接近,低于青岛(32.2%)和河南(44.5%),高于云南(12.9%)和福建(22.5%)^[10-13]。2015—2018 年,高危型 HPV-

表 2 杭州市余杭区门诊女性 HPV 亚型感染的不同年龄分布情况

HPV 亚型	阳性数 (例)	不同年龄组 HPV 亚型检出率[例(%)]						χ^2 值	P 值
		≤20 岁 (n=232)	>20~30 岁 (n=5 252)	>30~40 岁 (n=6 858)	>40~50 岁 (n=6 179)	>50~60 岁 (n=2 007)	>60 岁 (n=706)		
低危型									
HPV-81	507	16(6.90)	105(2.00)	137(2.00)	175(2.83)	54(2.69)	20(2.83)	34.74	<0.01
HPV-6	289	18(7.76)	112(2.13)	74(1.08)	55(0.89)	23(1.15)	7(0.99)	109.69	<0.01
HPV-42	261	9(3.88)	64(1.22)	70(1.02)	65(1.05)	38(1.89)	15(2.12)	24.77	<0.01
HPV-43	299	6(2.59)	85(1.62)	87(1.27)	85(1.38)	27(1.35)	9(1.27)	5.17	>0.05
HPV-11	227	18(7.76)	86(1.64)	52(0.76)	48(0.78)	17(0.85)	6(0.85)	126.72	<0.01
高危型									
HPV-52	1 330	23(9.91)	348(6.63)	393(5.73)	350(5.66)	165(8.22)	51(7.22)	27.75	<0.01
HPV-16	935	17(7.33)	260(4.95)	285(4.16)	234(3.79)	98(4.88)	41(5.81)	19.43	<0.01
HPV-58	527	11(4.74)	147(2.80)	132(1.92)	159(2.58)	52(2.59)	26(3.68)	20.39	<0.01
HPV-53	509	5(2.16)	113(2.15)	146(2.13)	151(2.44)	65(3.24)	29(4.11)	18.48	<0.01
HPV-51	449	9(3.88)	130(2.48)	146(2.13)	116(1.88)	36(1.79)	12(1.70)	9.67	>0.05
HPV-68	388	6(2.59)	113(2.15)	101(1.47)	111(1.80)	42(2.09)	15(2.12)	10.44	>0.05
HPV-56	302	8(3.45)	74(1.41)	92(1.34)	75(1.21)	35(1.74)	18(2.55)	15.24	<0.01
HPV-18	298	12(5.17)	76(1.45)	89(1.30)	75(1.21)	33(1.64)	13(1.84)	19.70	<0.01
HPV-33	279	9(3.88)	89(1.69)	70(1.02)	64(1.04)	34(1.69)	13(1.84)	29.63	<0.01
HPV-59	274	15(6.47)	70(1.33)	85(1.24)	78(1.26)	21(1.05)	5(0.71)	51.85	<0.01
HPV-66	237	13(5.60)	64(1.22)	64(0.93)	62(1.00)	25(1.25)	9(1.27)	27.14	<0.01
HPV-31	196	6(2.59)	39(0.74)	64(0.93)	58(0.94)	18(0.90)	11(1.56)	10.71	>0.05
HPV-39	137	2(0.86)	46(0.88)	48(0.70)	30(0.49)	7(0.35)	4(0.57)	10.26	>0.05
HPV-35	115	0(0)	29(0.55)	41(0.60)	23(0.37)	18(0.90)	4(0.57)	8.84	>0.05
HPV-45	90	2(0.86)	27(0.51)	23(0.34)	17(0.28)	16(0.78)	5(0.71)	14.73	<0.01
HPV-73	39	1(0.43)	16(0.30)	10(0.15)	7(0.11)	4(0.20)	1(0.14)	7.54	>0.05
HPV-83	38	3(1.29)	9(0.17)	9(0.13)	11(0.18)	2(0.10)	4(0.57)	14.71	<0.01
HPV-82	11	0(0)	2(0.04)	3(0.04)	6(0.10)	0(0)	0(0)	3.17	>0.05

表 3 杭州市余杭区门诊不同年龄女性 HPV 感染状态

年龄组 (岁)	检测数 (例)	阳性情况 [例(%)]	感染类型[例(%)]	
			单一感染	混合感染
≤20	232	142(61.21)	91(39.22)	51(21.98)
>20~30	5 252	1 632(31.07)	1 260(23.99)	372(7.08)
>30~40	6 858	1 737(25.33)	1 322(19.28)	415(6.05)
>40~50	6 179	1 651(26.72)	1 304(21.10)	347(5.62)
>50~60	2 007	646(32.19)	502(25.01)	144(7.17)
>60	706	262(37.11)	214(30.31)	48(6.80)
χ^2 值		1 281.03	800.38	451.04
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

52、16 和 58 型均有较高的检出率。高危型(或低危型)HPV 亚型的检出率在不同年份间存在一定的差异,其中高危型以 2018 年最高,低危型以 2015 年最高,均高于浙江地区 2011—2015 年的感染水平^[10-11],这些差异可能与筛查样本的数量、筛查的方法、地区差异及患者的健康状态有关^[9,12]。

本文年龄分布显示,HPV 在 ≤20 岁组中有一个起始峰值,在中年组中呈下降趋势,在 >60 岁组中显著增加,特别是高危型 HPV-52、16、58 和 53 型,这种双峰模式与我国早期的一些研究相符^[10,12]。不同年龄组间,HPV 亚型混合型感染中也存在双峰模式,且以两种不同亚型感染为主,特别是 HPV-52 合并

HPV-16, 其次为 HPV-52 (或 HPV-16) 合并其他亚型, 显著低于浙江 (22.48%)、上海 (36.6%) 和北京 (27.7%)^[10-11]。这种双峰模式可能是由于年轻女性对 HPV 产生免疫力高低和性行为的差异引起, 而绝经期妇女的高检出率可能是由于更年期生理、激素的紊乱和免疫失调引起的病毒持续存在或潜伏的 HPV 重新激活导致^[11-14]。大量的流行病学研究显示 HPV 类型中 HPV-16、58 和 52 为我国最常见的 HPV 亚型, 且混合感染明显促进了宫颈癌的发生发展^[10-11, 15-16], 因此 HPV 检测对围绝经期妇女宫颈癌筛查具有重要的临床价值。

当前, HPV 多价疫苗的临床应用有助于未感染者的有效预防, 但对于已感染相同的亚型却无保护效应, 因此对 HPV 感染的筛查显得尤为重要。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Twisk DE, van der Sande M, van Eeden A, et al. Detection of incident anal high-risk human papillomavirus DNA in men who have sex with men: Incidence or reactivation? [J]. *J Infect Dis*, 2018, 218(7): 1018-1026. DOI: 10.1093/infdis/jiy276.
- [2] Cohen PA, Jhingran A, Oaknin A, et al. Cervical cancer [J]. *Lancet*, 2019, 393 (10167): 169-182. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32470-X.
- [3] Arbyn M, de Sanjose S, Weiderpass E. HPV-based cervical cancer screening, including self-sampling, versus screening with cytology in Argentina [J]. *Lancet Glob Health*, 2019, 7(6): e688-e689. DOI: 10.1016/S2214-109X(19)30067-1.
- [4] Lew JB, Simms KT, Smith MA, et al. Primary HPV testing versus cytology-based cervical screening in women in Australia vaccinated for HPV and unvaccinated: effectiveness and economic assessment for the National Cervical Screening Program [J]. *Lancet Public Health*, 2017, 2 (2): e96-e107. DOI: 10.1016/S2468-2667(17)30007-5.
- [5] 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): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [6] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [7] Liu XX, Fan XL, Yu YP, et al. Human papillomavirus prevalence and type-distribution among women in Zhejiang Province, Southeast China: a cross-sectional study [J]. *BMC Infect Dis*, 2014, 14: 708. DOI: 10.1186/s12879-014-0708-8.
- [8] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(1): 5-29. DOI: 10.3322/caac.21254.
- [9] Li K, Li Q, Song L, et al. The distribution and prevalence of human papillomavirus in women in mainland China [J]. *Cancer*, 2019, 125(7): 1030-1037. DOI: 10.1002/encr.32003.
- [10] Qian L, Zhang Y, Cui D, et al. Analysis of epidemiological trends in human papillomavirus infection among gynaecological outpatients in Hangzhou, China, 2011-2015 [J]. *BMC Infect Dis*, 2017, 17(1): 393. DOI: 10.1186/s12879-017-2498-2.
- [11] Chen X, Xu H, Xu W, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in 961,029 screening tests in southeastern China (Zhejiang Province) between 2011 and 2015 [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 14813. DOI: 10.1038/s41598-017-13299-y.
- [12] Wang Y, Meng Y, Li W, et al. Prevalence and characteristics of hrHPV infection among 414,540 women: A multicenter study in central and eastern China [J]. *J Cancer*, 2019, 10(8): 1902-1908. DOI: 10.7150/jca.30157.
- [13] 刘琪, 杜超, 邓文平, 等. 重庆市涪陵地区人乳头瘤病毒流行病学特征 [J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2020, 47(2): 142-145. DOI: 10.3760/ema.j.cn331340-20190414-00067. Liu Q, Du C, Deng WP, et al. Epidemiological characteristics of human papillomavirus in Fuling of Chaongqing [J]. *Inter J Epidemiol Infect Dis*, 2020, 47 (2): 142-145. DOI: 10.3760/ema.j.cn331340-20190414-00067.
- [14] Zhao X, Zhao S, Hu S, et al. Role of human papillomavirus DNA load in predicting the long-term risk of cervical cancer: A 15-year prospective cohort study in China [J]. *J Infect Dis*, 2019, 219(2): 215-222. DOI: 10.1093/infdis/jiy507.
- [15] Ma X, Wang Q, Ong JJ, et al. Prevalence of human papillomavirus by geographical regions, sexual orientation and HIV status in China: a systematic review and meta-analysis [J]. *Sex Transm Infect*, 2018, 94(6): 434-442. DOI: 10.1136/sextrans-2017-053412.
- [16] Zhang C, Huang C, Zheng X, et al. Prevalence of human papillomavirus among Wenzhou women diagnosed with cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer [J]. *Infect Agent Cancer*, 2018, 13: 37. DOI: 10.1186/s13027-018-0211-8.

(收稿日期: 2019-08-26)