

# 导流杂交法检测宫颈病变中人乳头瘤病毒的基因型及其感染的临床意义<sup>▲</sup>

贺婵娟 姚德生 卢艳

(广西医科大学附属肿瘤医院妇瘤科,南宁市 530021;E-mail:chanjuan310@163.com)

**【摘要】** **目的** 应用导流杂交基因芯片技术(HybriMax)检测宫颈病变人乳头瘤病毒(HPV)基因型及其感染情况,并探讨其临床意义。**方法** 296例行导流杂交法 HPV 分型检测的宫颈病变患者分为正常组(58例)、慢性炎症组(32例)、宫颈上皮内瘤变组(66例,该组再分为3个亚组,CIN I级组21例、CIN II级组19例、CIN III级组26例)、宫颈癌组140例,对每个组 HPV 的阳性率进行比较。**结果** 296例受检者中191例患者 HPV DNA 检测为阳性,阳性率为64.53%;正常组 HPV 阳性率为18.97%(11/58)、慢性炎症组为25.00%(8/32),CIN I级组为28.57%(6/21)、CIN II级组为73.68%(14/19)、CIN III级组为88.46%(23/26)、宫颈癌组为92.14%(129/140),其中正常组与慢性炎症组及 CIN I级组差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),正常组 HPV 阳性率较 CIN II级组、CIN III级组及宫颈癌组低( $P < 0.05$ ),随病变级别增加 HPV 阳性率逐渐上升( $P < 0.05$ )。宫颈病变患者感染率较高的6种 HPV 病毒为16、18、58、52、53、33型,其阳性率分别为35.47%(105/296)、10.47%(31/296)、6.42%(19/296)、5.41%(16/296)、3.04%(9/296)、2.70%(8/296)。**结论** 宫颈病变与 HPV 的感染密切相关,高危型 HPV 感染是宫颈病变的重要因素之一,导流杂交基因芯片技术检测 HPV,对于筛查、治疗及随访 CIN 及宫颈癌患者有重要意义。

**【关键词】** 宫颈病变;人乳头瘤病毒;导流杂交基因芯片技术;基因分型

**【中图分类号】** R 771.74 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 0253-4304(2012)05-0531-03

## Clinical Significance of the Detection of Human Papilloma Virus Genotype and Infection in Cervical Lesions With Flow-through Hybridization

HE Chan-juan, YAO De-sheng, LU Yan

(Department of Gynecologic Oncology, Affiliated Tumor Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 53021, China)

**【Abstract】** **Objective** To detect human papilloma virus(HPV) genotype and infection in cervical lesions with flow-through hybridization(HybriMax), and to explore its clinical significance. **Methods** Two hundred and ninety-six patients with cervical cancer who were detected with HybriMax were divided into normal histological manifestation group (58 cases), chronic cervicitis group(32 cases), cervical intraepithelial neoplasia group[21 cases of cervical intraepithelial neoplasia(CIN)I, 19 cases of CIN II, 26 cases of CIN III] and cervical cancer group(140 cases). The positive rates of HPV infection were compared among five groups. **Results** There were 191 cases infected with HPV among 296 cases, the positive rate of HPV was 64.53%; The positive rate was 18.97%(11/58) in normal histological manifestation group, 25%(8/32) in chronic cervicitis group, 28.57%(6/21) in CIN I group, 73.68%(14/19) in CIN II group, 88.46%(23/26) in CIN III group, 92.14%(129/140) in cervical cancer group, there was no statistical significance among normal histological manifestation group, chronic cervicitis group and CIN I group ( $P > 0.05$ ), the positive rate of HPV was lower in normal histological manifestation group than in CIN II group, CIN III group, cervical cancer group ( $P < 0.05$ ). The positive rate of HPV increased with the severity of cervical lesion ( $P < 0.05$ ). The six most common genotypes in cervical lesion patients with high infection rate were: type 16, 18, 58, 52, 53, 33, with the positive rate of 35.47%(105/296), 10.47%(31/296), 6.42%(19/296), 5.41%(16/296), 3.04%(9/296), 2.70%(8/296), respectively. **Conclusion** Cervical lesion is closely related with HPV infection, and high-oncogenic risk HPV infection is an important factor of cervical cancer. HybriMax has important significance for the screening, treatment, and follow-up of CIN and cervical cancer.

**【Key words】** Cervical lesion; Human papilloma virus; Flow-through hybridization; Genotype

▲基金项目:广西自然科学基金(2011GXNSFA018184)

通信作者:姚德生, E-mail:yaodeson@163.com

宫颈癌是女性生殖系统发病率最高的恶性肿瘤,它由宫颈癌前病变,即宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)逐步发展形成,其过程经历了 CIN I、CIN II、CIN III、早期浸润癌和浸润癌的阶段,从 CIN 发展成为宫颈癌可能需要10~15年。2004年,国际癌症研究署发布了一致性声明:人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染是 CIN 及宫颈癌发生的必要因素。可以认为,没有 HPV 持续性感染的妇女几乎没有患宫颈癌的危险,实验室研究及流行病学证据均证实这一点<sup>[1]</sup>。本文应用凯普医用核酸分子快速杂交基因分型试剂盒(HybriMax 法)检测 HPV 在正常患者、慢性宫颈炎、CIN 及宫颈癌患者中的感染情况,并明确 HPV 在 CIN 及宫颈癌发生发展中的作用,现报告如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 2010年8月至2011年5月在广西医科大学附属肿瘤医院接受 HPV 检测的 296 例患者,均为有性生活史 1 年以上的女性患者,无子宫切除手术或宫颈手术史,无急性生殖道炎症,3 个月内未使用过激素治疗,HPV 检测时无妊娠,24 h 内无性生活史。正常组年龄 20~58 岁,慢性炎症组年龄 21~70 岁,宫颈癌组年龄 23~72 岁,三组均以 23~46 岁之间者最多。以病理学诊断为标准,以各项诊断中级别最高者作为组织病理学最后诊断。296 例患者中正常 58 例、慢性宫颈炎 32 例、CIN 66 例(其中 CIN I 级 21 例、CIN II 级 19 例、CIN III 级 26 例)、宫颈癌 140 例。

1.2 HPV DNA 取样方法 采用窥阴器或阴道张开器暴露宫颈,用干棉签擦净宫颈口分泌物,将宫颈刷置于宫颈口,用宫颈刷顺时针旋转 5 圈,慢慢取出宫颈刷,将其放入标有病人编号的取样管中,取样管内加有专用细胞保存液,拧紧瓶盖保存待检,标本在 1 周内进行检测。

1.3 HPV 基因分型检测方法 利用凯普医用核酸分子快速杂交基因分型试剂盒(凯普生物科技有限公司生产,国药准字 S20060011)进行 HPV 基因分型。凯普是利用导流杂交的原理,在已固定好核酸探针的低密度基因芯片膜上,可一次性快速检测占中国人群 HPV 感染 95% 的 21 种 HPV 亚型的试剂盒。此 21 种亚型包括 13 种高危亚型:16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68;5 种低危亚型:6、11、42、43、44。3 种中国人群常见亚型:53、66 和 CP8304 型。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分

析,计数资料率的比较用  $\chi^2$  检验,然后通过 Bonferroni 检验水准调整法进行两两比较,用  $R \times 2$  线性趋势  $\chi^2$  检验比较 HPV 感染阳性率与不同宫颈病变程序是否存在线性变化趋势,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同类型宫颈组织 HPV 感染阳性率 296 例受检者中 191 例患者 HPV DNA 检测为阳性,阳性率为 64.53%。正常组、慢性炎症组、CIN I、CIN II、CIN III 组、宫颈癌组 HPV 阳性率比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 140.151, P = 0.000$ ),两两比较后发现:正常对照组与慢性炎症组及 CIN I 级组差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),正常对照组分别与 CIN II 级组、CIN III 级组及宫颈癌组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );随宫颈病变级别增加 HPV 阳性率逐渐上升( $\chi^2 = 133.414, P = 0.000$ )。见表 1。

表 1 不同宫颈病变 HPV 感染阳性率比较(n,%)

组别	n	HPV 阳性
正常对照组	58	11(18.97)
慢性炎症组	32	8(25.00)
CIN I 级	21	6(28.57)
CIN II 级	19	14(73.68)
CIN III 级	26	23(88.46)
宫颈癌组	140	129(92.14)
合计	296	191(64.53)

2.2 HPV 基因分型检测结果 本次共检测到 19 种 HPV 亚型,未检测到低危型中的 6 型和 11 型,检测到的主要亚型有:16 型 105 例(35.47%),18 型 31 例(10.47%),58 型 19 例(6.42%),52 型 16 例(5.41%),53 型 9 例(3.04%),33 型 8 例(2.70%)。

## 3 讨论

3.1 HPV 与 CIN 及宫颈癌的关系 宫颈癌是常见的妇科肿瘤之一,持续的 HPV 感染是宫颈上皮内瘤变和宫颈癌的主要致病原因<sup>[2-3]</sup>。本文结果显示,CIN III 组及宫颈癌组的 HPV 感染率分别为 88.46% 和 92.14%,均明显高于正常组(18.97%)和慢性炎症组(25.00%),这也证实了 HPV 感染与宫颈癌的关系密切。女性感染 HPV 后发展成宫颈癌的自然时间较长,有足够的时间进行筛查、早期诊断和治疗。90% 的 HPV 感染者 3 年内会自然痊愈,不会发展成 CIN II、CIN III,5% 发生生殖道疣,5% 的持续感染者 3 年后会发展为 CIN II 或 CIN III,其中 20% 的 CIN III 患者 5 年内会进展成宫颈浸润癌,40% 的 CIN III 患

者会在30年内发展为宫颈癌<sup>[4]</sup>。随着宫颈病变级别的增加,HPV阳性率逐渐升高,至宫颈癌组为92.14%,这也说明了持续性的HPV感染最终可能会导致宫颈癌的发生。

**3.2 HPV分型检测的临床意义** HPV有120余种亚型,其中30多种与宫颈癌前病变有关,20多种与肿瘤有关。HPV感染的检测,已成为预防、诊断、治疗宫颈病变的重要依据。因此选择一种准确、快捷的HPV检测方法显得很重要。HPV检测方法甚多,凯普检测系统是目前较为先进的检测技术。它将基因扩增(PCR)技术、导流杂交技术及基因芯片技术结合在一起,利用了PCR技术的高灵敏性、导流杂交技术的高特异性、基因芯片的高通量性。HybriMax法检测的病毒基因型别的覆盖率高,可一次性检测21个HPV基因型,提高了检测率,且操作简单。良好的阴性预测值对于及早发现并治疗宫颈癌前病变及宫颈癌有极其重要的临床意义。临床检测的方法多为第二代杂交捕获法,其缺点是只能检测13种HR-HPV (high-oncogenic risk HPV,高危型HPV),不能具体分型,HR-HPV和LR-HPV (low-oncogenic risk HPV,低危型HPV)不能同时检测,不能判断多重感染<sup>[5]</sup>。有研究表明,HybriMax法检测技术平台对HPV检测的灵敏度和特异度均 $\geq 95\%$ ,阴性预测值和阳性预测值分别为94.80%和98.27%<sup>[6]</sup>。本文对296例患者运用凯普导流杂交检测系统进行HPV检测,共检测出19种HPV基因型,感染率较高的有:16型(35.47%)、18型(10.47%)、58型(6.42%)、52型(5.41%)、53型(3.04%)、33型(2.70%)。Lo等<sup>[7]</sup>报告中国宫颈癌患者HPV 16、18型最常见,HPV 58、52型位居第三、第四。本文也证实了这一点。HybriMax法检测方法尚存在一些不足之处,如仅能检测21种HPV,且和检测标本的病毒载量有关,部分病人由于HPV感染量少故检测结果为阴性。本文结果显示宫颈癌HPV感染率仅为92.14%而不是100%,因此阴性结果并不能完全排除HPV感染的可能,需要结合临床资料进行综合分析和判断。

HPV分型检测的意义在于:HPV的检测是客观指标,敏感性高,对于筛查、治疗及随访CIN及宫颈癌患者有重要意义。不同亚型的HPV致癌能力不同,通过分型检测,对患者进行个性化评估,预测宫颈病变发生的风险,如HPV 16亚型主要诱发鳞癌,HPV 18亚型主要诱发腺癌;对常规宫颈细胞学检查诊断意义未明的不典型鳞状细胞或不典型腺细胞,以及低度宫颈鳞状上皮内瘤变者,可以利用HPV检测

筛选出高危病例,警惕宫颈细胞癌变倾向,及时发现和预防、治疗早期宫颈癌。HPV基因分型检测可排除可疑或低度病变,提高诊断的可信度,降低漏诊风险,预测病变进程及复发的风险,有效指导术后追踪及随访。治疗前后感染亚型是否相同可作为手术成功与否的一个重要标志<sup>[8]</sup>。Reeves等<sup>[9]</sup>研究表明HPV DNA检测阴性的宫颈癌,其累计无瘤生存率为100%,HPV DNA阳性者仅56%。

综上所述,宫颈癌是女性生殖系统常见恶性肿瘤之一,由于HPV与宫颈癌间关系的明确,使宫颈癌成为目前肿瘤中唯一病因明确、可以早期预防和治疗、可以彻底根除的癌症。可以利用HPV检测的结果有针对性地进行活组织病理检查,指导临床诊断,对HPV感染者进行严密随访和监控,来预防和改善宫颈癌及癌前病变患者的结局,为防治宫颈癌、降低其病死率提供有效手段。

## 参 考 文 献

- [1] 连利娟,郎景和,郭丽娜,等.林巧稚妇科肿瘤学[M].第4版.北京:人民卫生出版社,2006:279.
- [2] Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer[J]. J Clin Pathol, 2002, 55(4): 244-265.
- [3] Kjaer SK, Brule AJ, Bock JE, et al. Human papillomavirus--the most significant risk determinant of cervical intraepithelial neoplasia[J]. Int J Cancer, 1996, 65(5): 601-606.
- [4] McCreddie MR, Sharples KJ, Paul C, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study[J]. Lancet Oncol, 2008, 9(5): 425-434.
- [5] Masumoto N, Fujii T, Ishikawa M, et al. Dominant human papillomavirus 16 infection in cervical neoplasia in young Japanese women; study of 881 outpatients[J]. Gynecol Oncol, 2004, 94(2): 509-514.
- [6] 赵健,杨英捷,廖秦平.导流杂交基因芯片技术在人乳头状瘤病毒感染分型检测中的临床应用[J].中华检验医学杂志, 2006, 29(12): 148-151.
- [7] Lo KW, Wong YF, Chan MK, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a multicenter study in China[J]. Int J Cancer, 2002, 100(3): 327-331.
- [8] 赵健,廖秦平.人乳头瘤病毒核酸检测技术问题探讨[J].中国实用妇科与产科杂志, 2010, 26(5): 344-346.
- [9] Reeves WC, Gary HJ Jr, Johnson PR, et al. Risk factors for genital papillomavirus infection in populations at high and low risk for cervical cancer[J]. J Infect Dis, 1994, 170(4): 753-758.

(收稿日期:2012-03-10 修回日期:2012-04-21)