·论 著·

# 温岭市宫颈炎患者HPV E6/E7 DNA基因分型检测及分子流行病学调查

张婷 李蒙佳 陈瑛 郭洁洁

**[摘要]** **目的** 调查温岭市女性宫颈炎患者人乳头瘤病毒(HPV)的感染情况及其基因型的分子流行病学特点。**方法** 选取宫颈炎患者的宫颈脱落细胞2 293份,采用多重PCR毛细管电泳技术对HPV E6/E7 DNA进行分型,包括18种高危型别和7种低危型别,分析25种基因型的流行病学特点。**结果** 2 293份样本中共检出HPV感染793份,总感染率为34.58%,感染率以<20岁组最高;单一型别感染率为66.46%,多重型别感染率为33.54%;高危型HPV占总基因型的81.77%,前5位高危型HPV是HPV52、HPV58、HPV16、HPV53、HPV51;低危型HPV占18.23%,其中以HPV81感染率最高,其次是HPV42;多重型别感染中以二重感染为主,共检出167例,三重感染共检出64例,四重感染共检出23例,五重感染共检出10例,七重感染共检出2例。**结论** 温岭市女性宫颈炎患者以高危型HPV52型感染为主,其次是HPV58、HPV16、HPV53、HPV51,多重感染的患者以二重感染为主,为疾病的防控、HPV疫苗的研发及宫颈癌的防治提供了理论依据。

**[关键词]** 人乳头瘤病毒; 宫颈炎; 基因型; 感染率

**HPV E6 / E7 genotyping and molecular epidemiology in patients with cervicitis in Wenling** ZHANG Ting, LI Mengjia, CHEN Ying, et al. Department of Clinical Laboratory, The First People's Hospital of Wenling, The Affliated Wenling Hospital of Wenzhou Medical University, Wenling 317500, China.

**[Abstract]** **Objective** To investigate the infection of 25 human papillomavirus genotypes and the molecular epidemiological characteristics in women with cervicitis. **Methods** A total of 2293 cases of cervical exfoliated cells from patients with cervicitis were selected, and HPV E6 / E7 DNA was typed by multiplex PCR capillary electrophoresis, including 18 high-risk and 7 low-risk types, and then the molecular epidemiologic characteristics were studied. **Results** The total infection rate of HPV was 34.58%. Among different stages of the year, theinfection rate was the highest in younger than 20 years old group. The infection rate of single type and multiple types were 66.46% and 33.54%. The high-risk HPV accounted for 81.77% of the total genotypes, the most commonly detected genotypes were HPV 52, HPV 58, HPV 16, HPV 53, HPV 51, the low-risk HPV accounted for 18.23%, the most common genotypes were HPV 81 and HPV 42. There were 167 cases had superinfections, 64 cases had triple infections, 23 cases had quadruple infections, 10 cases had five-storeyed infections and 2 cases had seven storeyed infections. **Conclusion** The high-risk HPV 52 is the main HPV genotype of cervicitis, followed by HPV 58, HPV 16, HPV 53, HPV 51. Superinfection is the main type of multiple infection. It provides a theoretical basis for the development of the HPV vaccine and the prevention and treatment of cervix cancer.

**[Key words]** human papilloma virus; cervicitis; genotype; infection rate

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2022.004.005

基金项目:浙江省自然科技项目(LQ19H090001);台州市社会发展科技计划项目(20ywb135);温岭市社会发展科技项目(2021S00148)

作者单位:317500 浙江温岭,温州医科大学附属温岭医院、温岭市第一人民医院检验科

通讯作者:郭洁洁,Email:gjj_19880608@126.com

人乳头瘤病毒(human papilloma virus,HPV)是一类球形双链DNA病毒,感染后能引起人体皮肤黏膜的鳞状上皮增殖,主要通过性传播和密切接触的方式感染人类。目前已经报道的HPV型别有200余种,根据侵犯的组织部位和临床表现分为低危型

和高危型两大类[1,2]。HPV E6/E7基因是主要的致癌基因，检测这两个基因具有灵敏、高效、实用、不易漏检等特点。流行病学调查显示，HPV感染具有地域性、种族性和多样性的特点，此外，性生活、免疫功能缺陷或遗传变异等都会影响HPV的流行[3,4]。由于不同地区HPV感染的基因不尽相同，掌握本地区HPV型别的感染情况和流行规律有利于女性宫颈癌预防和早期筛查。本次研究对就诊本院的2 293例宫颈炎患者HPV E6/E7进行检测，分析探讨本地区HPV感染的分子流行病学特点，为临床诊治提供理论依据。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2020年1月至2021年8月于温岭市第一人民医院门诊就诊的宫颈炎患者2 293例，收集其宫颈脱落细胞，年龄15～71岁，中位年龄41.77岁。患者纳入标准为：①符合宫颈炎诊断标准；②宫颈细胞学检查无癌前病变。排除标准为：①患有心、肝、肾或血液系统疾病；②精神疾病、结核病等；③妊娠期、哺乳期妇女。

1.2 方法 将宫颈炎患者宫颈脱落细胞保存液样本于涡旋混合仪上充分涡旋10 s，取1 ml保存液样本于1.5 ml离心管中，12 000 g离心5 min，去掉上清液，吸取200 μl核酸提取试剂加入到样品管中，然后将样品管放入100 ℃恒温金属浴中保温15 min，小心取出，以12 000 g离心10 min，吸取9 μl上清液进行聚合酶链反应扩增。扩增条件为：42 ℃ 5 min、94 ℃ 8 min；94 ℃ 30 s、60 ℃ 30 s、72 ℃ 1 min，共35个循环；最后72 ℃ 1 min。

采用GenomeLab GeXP遗传分析系统分析PCR扩增产物，包括18种高危型别HPV16、HPV18、HPV26、HPV31、HPV33、HPV35、HPV39、HPV45、HPV51、HPV52、HPV53、HPV56、HPV58、HPV59、HPV66、HPV68、HPV73、HPV82和7种低危型别HPV6、HPV11、HPV42、HPV43、HPV44、HPV81、HPV83。每个样本孔加入28.7 μl SLS上样缓冲液、0.3 μl DNA Size Standard-400、1 μl PCR产物和1滴矿物油，将220 μl分离缓冲液加入到96孔分离液板的孔中，选择PCR毛细管电泳法分离样本，使用“Default GeXP Analysis Parameters”方法分析样本。

1.3 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件。计数资料采用例（%）形式表示，组间比较采用$\chi^2$检验。设$P<0.05$为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 HPV检测结果 2 293份宫颈炎患者宫颈脱落细胞中共检出HPV感染793份，总感染率为34.58%。年龄<20岁组HPV感染率最高，为82.76%；年龄在21～30岁组HPV感染率为34.27%；年龄在31～40岁组HPV感染率为30.21%；年龄在41～50岁组HPV感染率为35.19%；年龄在51～60岁组HPV感染率为35.97%；年龄>60岁组HPV感染率为58.33%。其中年龄<20岁组HPV感染率明显高于其他年龄组，差异有统计学意义（$\chi^2=51.55$，$P<0.05$）。

2.2 HPV基因分型检测结果见表1

表1 793例宫颈炎患者HPV基因分型检出率

| 基因分型 | | $n$ | 检出率/% |
|---|---|---|---|
| 低危型 | HPV6 | 36 | 4.53 |
| | HPV11 | 15 | 1.89 |
| | HPV42 | 43 | 5.42 |
| | HPV43 | 30 | 3.78 |
| | HPV44 | 42 | 5.30 |
| | HPV81 | 55 | 6.94 |
| | HPV83 | 7 | 0.88 |
| 高危型 | HPV16 | 107 | 13.49 |
| | HPV18 | 40 | 5.04 |
| | HPV26 | 18 | 2.27 |
| | HPV31 | 39 | 4.92 |
| | HPV33 | 32 | 4.04 |
| | HPV35 | 22 | 2.77 |
| | HPV39 | 47 | 5.93 |
| | HPV45 | 11 | 1.39 |
| | HPV51 | 72 | 9.08 |
| | HPV52 | 243 | 30.64 |
| | HPV53 | 86 | 10.84 |
| | HPV56 | 38 | 4.79 |
| | HPV58 | 109 | 13.75 |
| | HPV59 | 40 | 5.04 |
| | HPV66 | 44 | 5.55 |
| | HPV68 | 61 | 7.69 |
| | HPV73 | 4 | 0.50 |
| | HPV82 | 10 | 1.26 |

由表1可见，793例HPV感染的患者中，高危型占总基因型的81.77%，检出率前五位的是HPV52、HPV58、HPV16、HPV53和HPV51。低危型

HPV 感染占18.23%，以HPV81 检出率最高，其次是HPV42。

2.3 HPV感染类型分布和感染率见表2

表2 HPV感染类型分布和感染率

| 感染类型 | $n$ | 感染率/% |
|---|---|---|
| 单一 | 527 | 66.46 |
| 二重 | 167 | 21.06 |
| 三重 | 64 | 8.07 |
| 四重 | 23 | 2.90 |
| 五重 | 10 | 1.26 |
| 七重 | 2 | 0.25 |

由表2可见，793 例HPV感染患者中，单一型别感染 527 例，占 66.46%；多重感染 266 例，占 33.54%，其中以二重感染为主，二重感染又以HPV52+HPV58和HPV52+HPV16较为多见。

## 3 讨论

世界卫生组织和国际癌症研究学会根据HPV致癌危险性的高低将其分为低危型和高危型两大类，低危型HPV主要引起低度宫颈上皮内瘤变和皮肤及外生殖道的外生性疣类病变；高危型HPV除可引起生殖器疣外，更重要的是可引起宫颈癌、高度宫颈上皮内瘤变及外生殖器癌[5]。人类是HPV的唯一宿主，可通过直接或间接接触污染品或性传播方式感染，大量的流行病学调查和实验室数据都表明，持续的高危型HPV感染是诱发宫颈癌和癌前病变的最主要因素[6,7]。

本次研究中，温岭地区2 293 例门诊宫颈炎患者筛查出HPV感染率为34.58%，与湖州市女性宫颈炎患者HPV感染率（33.91%）和哈尔滨市HPV感染率（36.45%）相近[8,9]，但高于随机抽取的女性人群HPV感染率（深圳为21.15%[5]、郑州为25.9%[10]、山西为14.8%[11]、襄阳为28.8%[12]、台湾南部为19.3%[13]）及受教育程度较高的女性医务工作者HPV感染率（8.95%）[14]，明显低于北京地区女性宫颈组织学异常患者HPV感染率（72.51%）[15]。由此可以看出选择不同人群调查研究其HPV感染率波动较大，而且不同地区、文化程度、年龄和性伴侣的数量等都是影响HPV感染率的潜在因素[16]，所以明确一个地区HPV流行的感染率，对本地区女性生殖道疾病和宫颈癌的预防具有重要意义。HPV感染会呈现两个高峰期，第一个高峰期出现在年龄＜20 岁或＜25 岁，随年龄的增长呈下降趋势，这可能与性生活活跃有关，第二个高峰期出现在年龄＞60 岁，这可能与HPV持续感染有关[17,18]。本次研究中观察到两个高峰年龄段，感染率较高，同文献报道一致，但未发现感染率下降的趋势，可能与研究对象的筛选有关，本次研究对象主要来自门诊宫颈炎患者，其HPV感染率可能高于随机抽取女性人群。

流行病学调查显示，HPV感染具有地域性特征，不同地区所流行的主要型别不尽相同，其中HPV16是世界范围内最为常见的型别，其他优势型别欧洲为HPV31和HPV52、南美洲为HPV58、亚洲地区为HPV58和HPV52[19]。何健方等[8]研究发现湖州地区位于前4位的HPV亚型依次为HPV16、HPV58、HPV18、HPV56；义乌地区主要为HPV16、HPV58、HPV18、HPV33[20]。一项来自广西的研究显示其地区的主要型别为HPV52、HPV16、HPV58、HPV51、HPV53[19]。值得注意的是，虽然本次研究所在地区与湖州、义乌属同一个省份，但HPV感染的型别却不尽相同，尤其是本市的优势型别中没有HPV18，说明HPV18并不是引起本市宫颈癌的主要原因，考虑可能与本地区流动人口较多、性生活频繁、初次性生活年龄较小或样本量有关，虽然国内九价疫苗已上市，但未覆盖HPV53和HPV51，今后的疫苗研发需重视这两种型别的覆盖，保护更多的人群。

由于HPV的不同亚型其编码的外壳蛋白的基因变异很大，不同的亚型之间基本无交叉免疫保护作用，很容易造成HPV的多重感染和多次感染。本次研究中HPV单一感染率较高，为66.46%，多重感染率占33.54%，多重感染以二重感染和三重感染为主，最低为七重感染，且仅检出2 例。近年来我国HPV多重感染率在逐年增加[12]，因为HPV多重型别感染病毒载量高于单一型别感染，其致病风险相当于单一感染风险的1.6倍。病毒载量越高，则需要自身清除的时间越长，HPV持续感染的概率增加，致病能力显著提高，宫颈病变的风险也会随之提高。本研究中二重感染以 HPV52＋HPV58 和HPV52+HPV16较为多见，明确本地区多重感染基因型对早期筛查和诊治有重要作用，为后续跟踪随访提供理论依据。

HPV是目前人类所有癌症病变中较为明确的致病因子，宫颈癌也是少有的已经明确病因的肿瘤之一[21]。如果患者检测出HPV高危型持续感染，尤其伴有HPV16或HPV18亚型，需要定期对患者进行

阴道镜检查和宫颈活检。由于育龄妇女是HPV感染的易感人群,HPV感染非常常见,故应对育龄期妇女进行常规的HPV DNA检测,并通过细胞学检查、阴道镜检查和宫颈活检等技术尽早阻止癌前病变的发生,提高广大妇女的生活质量。宫颈癌的发生发展是一个从量变到质变的过程,早发现、早诊断和早治疗可降低发病率和死亡率,HPV基因分型检测是预防宫颈癌的有效途径,将在宫颈疾病的筛查和防治中发挥重要的作用。一个地区HPV基因流行谱的建立,可为疫苗的选择提供理论依据。本次研究还未涉及男性的HPV感染的流行病学调查,将是未来研究的方向。

**参考文献**

1 Tang Y, Lan Z, Yang S, et al. Epidemiology and genotype distribution of human papillomavirus (HPV) in Southwest China: Across-sectional five years study in non-vaccinated women[J]. Virol J, 2017, 14(1): 84.
2 Christensen ND. HPV disease transmission protection and control[J]. Microb Cell, 2016, 3(9): 476-490.
3 Kudela E. Preterm delivery caused by altered microbial environment and HPV infection[J]. Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica, 2019, 98(8): 1080.
4 Liu Y, Quan Y, Xu C, et al. HPV infection screening using surface plasmon resonance in women from Kunming (southwest China)[J]. Bosn J Basic Med Sci, 2019, 20(1): 125-130.
5 任晓慧,耿建祥,李海,等.某市2019 例女性宫颈细胞中HPV基因型别的研究[J].国际检验医学杂志,2012,33(13):1542-1544.
6 Spinillo A, Gardella B, Roccio M, et al. Multiple human papillomavirus infection with or without type 16 and risk of cervical intraepithelial neoplasia among women with cervical cytological abnormalities[J]. Cancer Causes & Control, 2014, 25(12): 1669-1676.
7 Yang EJ, Pan Q, Jang H, et al. Comparison of the clinical significances of two kinds of high-risk type hpv detection technology in the diagnosis of cervical lesions[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2015, 45(4): 653-655.
8 何建方,钱福初,王翔,等.人乳头状瘤病毒23 种基因型的分子流行病学调查[J].中华医院感染学杂志,2011,21(3):428-431.
9 Sun B, He J, Chen X, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infection in Harbin, Northeast China [J]. Arch Virol, 2014, 159(5): 1027-1032.
10 闫琛,杨广英.郑州市女性HPV感染状况及基因型的分布情况调查[J].中外医学研究,2012,10(5):64-66.
11 Dai M, Ban YP, Li N, et al. Human papillomavirus infection in Shanxi province, people's republic of China: Apopulation-based study[J]. Br J Cancer, 2006, 95(1): 96-101.
12 廖紫琼,胡南,王玮,等.宫颈人乳头状瘤病毒多重感染的基因型分析[J].中华医院感染学杂志,2016,26(3): 659-661.
13 Hao Lin, Yen-Ying Ma, Jau-Sung Moh, et al. High prevalence of genital human papillomavirus type 52 and 58 infection in women attending gynecologic practitioners in south Taiwan[J]. Gynecol Oncel, 2006, 101(1): 40-45.
14 李发涛,李焱,汤雪薇,等.对人乳头瘤病毒认知度较高人群人乳头瘤病毒感染状况及基因型分析[J].中国妇幼保健,2015,30(3):363-365.
15 刘志忠,乔超,方芳,等.北京地区宫颈病变妇女37 种HPV亚型流行特征[J].中国卫生检验杂志,2014,24(14): 2057-2060.
16 Suresh A, Suresh P, Biswas R, et al. Prevalence of high-risk HPV and its genotypes-implications in the choice of prophylactic HPV vaccine[J]. J Med Virol, 2021, 93(8): 5188-5192.
17 Chan KS, Chang AR, Cheung LK, et al. Determinants of cervical human papillomavirus infection: Differences between high and low-oncogenic rish types [J]. J Infect Dis, 2002, 185(1): 28-35.
18 雷金菊.佛山市1638 例女性HPV基因分型状况分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(3): 370-371.
19 周莹,谭春艳,梁亮,等.广西地区HPV感染及其基因型分析[J].医学研究生学报,2017,30(12): 1250-1255.
20 喻芳明,孙雁群,楼雁萍.女性感染人乳头瘤病毒基因类型分析[J].中华医院感染学杂志,2011,21(11):2182-2184.
21 Pompeyo V, Milanés-Guisado Yusnelkis, et al. High-risk human papilloma virus testing improves diagnostic performance to predict moderate to high-grade anal intraepithelial neoplasia in human immunodeficiency virus-infected men who have sex with men in low-to-absent cytological abnormalities[J]. Clin Infect Dis, 2019, 69(12): 2185-2192.

(收稿日期 2021-12-08)
(本文编辑 葛芳君)