

宫颈人类乳头状瘤病毒感染的筛查及其意义

徐成康 梅卓贤

(中山医科大学附属第一医院妇产科; 广州, 510080)

摘要 目的:通过对宫颈人类乳头状瘤病毒感染的筛查及追踪,找出高危因素,确定筛查及追踪对象,进一步提高防癌效果。方法:联合采用 PCR 等方法对 307 例门诊妇女宫颈进行人类乳头状瘤病毒(HPV)感染的检测。对假定的高危因素进行相关分析。对 HPV 中的 6/11 型和 16/18 型两组型别进行检测,对比两组型别感染者在细胞学及病理组织学方面的结果及追踪后的变化。结果:在外阴疣、宫颈糜烂、妊娠及年龄较轻的妇女中,宫颈 HPV 感染率较高;以 HPV16/18 型感染与癌前病变及癌关系密切。结论:提示要着重检测具有外阴疣、宫颈糜烂及妊娠妇女的宫颈 HPV 感染状况并以 16/18 型阳性者作为追踪对象,如能与目前常用的细胞学普查措施配合可更有效地防癌。

关键词 乳头状瘤病毒,人/分离和提纯;宫颈肿瘤/病因学;宫颈肿瘤/诊断

中图分类号 R 737.33

SCREENING OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS INFECTION IN CERVIX AND ITS SIGNIFICANCE

Xu Chengkang Mei Zhuoxian

(Department of Obstetrics and Gynecology of the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

Abstract Objective: Infection of human papilloma virus(HPV) in cervix was screened and followed up to find out high-risk factors, determine high-risk people and improve the efficiency of the prevention of cervix cancer. **Methods:** 307 women in our clinic were examined with PCR and other methods. Some high-risk factors were assumed and analyzed via regression. Two groups of HPV (type 6/11 and type 16/18) were detected separately to determine the differences in cytology, histopathology, and follow-up. **Results:** HPV cervix-infection rate was relatively higher in people with vulvar warts, cervix erosion and pregnancy. There is intimate relationship between HPV (type 16/18) infection and precancer/cancer. **Conclusion:** The detection should be focused on those who have vulvar wart, cervical erosion and pregnancy and the patient with 16/18 HPV positive should be followed up.

Subject headings papilloma virus, human/isolation & purification; cervix neoplasms/etiology; cervix neoplasms/diagnosis

70 年代末, Zur Hausen^[1] 首先提出了人类乳头状瘤病毒(human papilloma virus, HPV)是宫颈癌致病因素的假说,国内外也有学者^[2]进行了有关研究,结果均支持此假说并提出应在人群中进行宫颈 HPV 感染的普查这一设想。然而至今这种普查未能实现,其可能原因是普查时高危人群未确立。以往流行病学研究所列高危因素含不少主观因素(例如:不洁性生活史),难免犯主观上错误。本研究对假定的客观高危因素进行相关分析,对 HPV 两组型别的细胞学及组织学结果进行比较,从而初步确

立高危人群及追踪对象,为普查提供参考。

1 材料与方法

1.1 对象

随机选自 1996 年 3 月~1997 年 3 月我院妇科门诊病人,共 307 例。分两组:一组称高危组即具有外阴疣、宫颈糜烂及妊娠等(或仅有)任何一种情况者共 204 例;另一组称对照组即不具以上 3 种情况,以不孕、月经病来诊及普查的妇女共 103 例。

两组妇女均无念珠菌、滴虫、淋病、支原体及衣原体感染,无使用避孕药及吸烟史。

1.2 检测方法

对所有研究对象均作宫颈细胞学、阴道镜及宫颈拭子 PCR 法检测 HPV DNA。若阴道镜或细胞学有异常,则行病理活检加免疫组化检测 HPV 抗原。对感染者进行追踪。

1.2.1 细胞学、阴道镜及病理检查 细胞学、阴道镜及病理诊断 HPV 感染标准按 Meisels^[3] 描述的特征;免疫组化按 LSAB 法。

1.2.2 PCR 检测分两型检测 两对引物由我校达安公司提供,序列分别为:16/18型 5' TCAGAG GTAACCATAGAGCCAC3'和5' TGGTGCCATGG-ACTTTACTACA3';6/11型 5' TGTACCATTGG-GGGAGGCG3'和5' GTGGGGGAACTGTGCC-TGA3'。标本采集及处理:用生理盐水浸湿的棉拭子从宫颈外及宫颈管内取分泌物及脱落细胞,放入 10 mL 生理盐水中充分悬浮去掉拭子,用常规方法提取 DNA。操作及判断标准:按常规方法进行扩增,最后取反应物 15 μ L 放入含有溴化乙锭的 2% 琼脂糖凝胶中电泳 30 min(电压 5V/cm),将凝胶置紫外线下观察照相,如标本在 438 bp 处出现条带为 HPV 6/11 型阳性,如在 294 bp 处出现条带为 HPV 16/18 型阳性。

1.2.3 数据统计处理 χ^2 检验, Logistic 回归

2 结果

2.1 宫颈内 HPV 感染率与 3 种因素间的关系

本研究全部人群 HPV 感染联合检出率为 41.4%,高危组检出率为 56.4%,对照组为 11.7%。两组年龄相比无差异(高危组年龄在 18~66 岁之间,平均(32.2 \pm 9.05)岁,对照组年龄在 20~65 岁之间,平均(33 \pm 8.7)岁。两组 HPV 感染检出率有显著差异($P < 0.05$)。将 3 种因素进行不同组合可得 6 小组(第 1 组:3 种因素共存;第 2 组:外阴疣+宫颈糜烂;第 3 组:妊娠+宫颈糜烂;第 4 组:外阴疣;第 5 组:宫颈糜烂;第 6 组:妊娠;第 7 组:对照组),各小组宫颈中 HPV 感染检出率见表 1。

本研究组由于单纯妊娠病例数少,出现了似乎妊娠不会增加 HPV 感染率的假象。但相关分析显示 HPV 感染与 3 种因素均有关,相关系数分别是:

外阴疣 0.4483、宫颈糜烂 0.2321、妊娠 0.1047, P 值均 < 0.05 ,有显著差异。

表 1 各组之间 HPV 感染率比较

Table 1 Comparison of HPV infection rate among different groups n (%)

Group	cases	HPVI		
		+	-	percentage
1	28	28	0	(100)
2	66	55	11	(83.3)
3	15	5	10	(33.3)
4	28	13	15	(46.4)
5	62	14	48	(22.6)
6	5	0	5	0
7	103	12	91	(11.7)

2.2 宫颈内 HPV 感染在不同年龄组检出情况

见表 2。

表 2 不同年龄组之间 HPV 感染率比较

Table 2 Comparison of HPV infection rate among different age group n (%)

Age (y)	cases	HPVI		HPV-DNA-type		
		+	-	6/11	16/18	6/11+16/18
< 25	51	36(70.6)	15	25	8	3
25~45	236	83(35.2)	153	45	34	4
> 45	20	8(40)	12	4	4	0

HPV 感染联合检出率在低年龄组较高。而 HPV 型别分布在低年龄组以 6/11 型为主,在高年龄组两型检出率差别不大。以 16/18 型为主。但因病例数太少不能作出有意义的统计学结果。

2.3 两组型别 HPV 在不同细胞学分级中的检出情况

表 3 HPV DNA 型别与细胞学巴氏分级的关系

Table 3 Relation between HPV type and Pap's grade/cytology (n)

Pap's stage	cases	HPV-DNA-type	
		6/11	16/18
I	65	5	1
II	236	69	38
III	8	0	7

本组人群中没有 IV 及 V 级者,从表中可看出

HPV6/11 型感染者以巴氏 II 级改变多见, 未见 III 级改变, HPV6/11 型感染者多见为 II 级改变, 亦有相当部分为 II 级改变。

2.4 两组型别 HPV 在不同组织学病变中检出情况见表 4。

表 4 不同组织学类型的患者宫颈拭子 HPV DNA 检出情况

Table 4 Result of HPV DNA screening in patient with different histology (n)

Cervix Histology Type	cases	HPV-DNA-type		
		6/11	16/18	6/11+16/18
Cervicitis	2	0	0	0
Condyloma	53	27	7	17
Dysplasia	19	1	13	5
Carcinoma	4	0	3	0
Total	78	28	23	22

2.5 追踪观察结果

追踪 131 例感染者 1 年, 比较两组型别者细胞学及组织学变化, 结果提示感染 16/18 型者有向不良方面发展的倾向, 但无统计学上差异, 可能与追踪观察时间短及病例数过少有关。

2.5.1 两型别细胞学变化 见表 5。

表 5 两型别细胞学变化

Table 5 Chang of cytology between two type groups

Pap's grade	case with HPV6/11		case with HPV16/18	
	first exam	last exam	first exam	last exam
I	5	9	1	0
II	69	65	38	37
III	0	0	7	7

2.5.2 组织学变化 59 例病理诊断为湿疣者(其中 6 例同时有中度不典型增生及 3 例轻度不典型增生)均予电灼处理并追踪其组织学改变。见表 6。

表 6 两型别组织学变化

Table 6 Chang of histology between two type groups

Cervix Histology Type	case with HPV6/11		case with HPV16/18	
	first exam	last exam	first exam	last exam
condyloma	29	5	30	2
CIN I	1	2	3	8
CIN II	0	0	13	15
CIN III	0	0	5	8

3 讨论

3.1 宫颈 HPV 感染筛查时高危对象的确立

以往的流行病学调查所得各种人群中 HPV 感染率相关很大, 与不同地区及不同检测方法有关。那些人群属高危人群尚未定论。不少作者^[4]发现外阴疣、宫颈糜烂、妊娠、性生活年龄过早、性乱、吸烟及服用避孕药者宫颈中 HPV 感染率高。本研究选出其中客观因素进行分析, 发现外阴疣、宫颈糜烂及妊娠这 3 种因素作为高危因素是成立的, 可作为将来人群中进行普查时参考, 利用客观因素作为筛查指标可避免主观上的偏差。当被检查者否认有性乱等主观情况时应根据客观因素进行高危人群的确立。

3.2 宫颈中 HPV 分型检测的意义

虽然大多数作者的研究提示 HPV 是宫颈癌发病因素之一, 然而仍有不少作者^[5]得出无关的结论。后来通过对 HPV 型别与宫颈癌关系研究发现, HPV 中的某些型别不具有致癌作用, 这些型别被称为低危型, 而有些型别有致癌作用被称为高危型。本研究通过对宫颈拭子 HPV 分型检测, 发现 6/11 型感染者较少出现癌前病变或癌, 而 16/18 型感染者较多出现癌前病变及癌, 追踪结果也是如此, 见表 4~6。但由于本组病例不多, 因此未得出统计学上的差异。本结果是否正确还有待以后大量的人群中研究来证实。

3.3 人群中宫颈 HPV 感染筛查的意义

宫颈中 HPV 感染包括隐性感染及显性感染。所谓隐性感染指 HPV 感染后尚未引起肉眼及阴道镜可观察到的病变, 它与显性感染的比例为 10 : 1^[6]。无论是隐性还是显性感染将来都有可能发展为宫颈湿疣、癌前病变及癌。通过对宫颈癌细胞的基因进行研究发现 80%~90% 含有 HPV DNA 序列^[4], 对宫颈 HPV 感染者进行前瞻性研究发现宫颈感染 HPV16/18 型者在 1 年内有 1/3 将来会发展成为宫颈上皮肉瘤样病变(CIN), 而 CIN 中约 15% 将来会发展为宫颈癌^[8], 而这些患者多数为隐性感染。宫颈 HPV 感染与外阴 HPV 感染不同, 宫颈中 HPV 以 16/18 型为主, 常不发生湿疣病变, 而是以隐性感染长期存在, 先引起不典型增生, 当有其它协同因子参与时即导致癌变。这提示对隐性感染不容忽视。本研究组隐性感染者约占半数, 其

他作者报道的数字更高,显示隐性感染相当常见。临床上易见的是显性感染,而要提高防癌效果不能遗漏对隐性感染者的追踪,因此对高危人群进行宫颈 HPV 感染的筛查对防癌意义重大。

参 考 文 献

- 1 Zur Hausen H. Human papilloma virus; A possible role insquamous cell carcinoma. *Current Topics Microbiology and Immunology*, 1976, 78; 1~30
- 2 郑鹏生, 宋杰, 李守柔, 等. 应用聚合酶链反应技术测定正常宫颈组织人乳头瘤病毒 DNA 的研究. *中华妇产科杂志*, 1994, 29(6): 343
- 3 Meisels A, Fortin R, Roy M. Condylomatous lesions of the cervix II. cytologic, colposcopic and histopathologic study. *Acta Cytol*, 1977, 21: 379
- 4 Schiffman M H, Bauer H M, Lorincz A T, *et al.*

- Comparison of southern blot hybridization and polymerase chain reaction methods for the detection of human papilloma virus DNA *J Clin Microbiol*, Mar. 1991, 573
- 5 Smotkin D, Berek J, Fu Y, *et al.* Human papilloma virus deoxyribonucleic acid in adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma of the uterine cervix. *Obstet Gynecol*, 1986, 68: 241
 - 6 Fife K H, Rogers R E, Zwickl B W, *et al.* Symptomatic and asymptomatic cervical infections with human papilloma virus during pregnancy. *J Infect Dis*, 1987, 156(6): 904
 - 7 Zur Hausen H. Papilloma viruses in anogenital cancer as a model to understand the role of viruses in human cancers. *Cancer Res*, 1989, 49: 4677~4681
 - 8 郎景和. 癌前病变和交界性肿瘤的几个问题. *中华妇产科杂志*, 1994, 4: 194

(1997-12-04 收稿 1998-06-06 修回)

(上接第 216 页)

22 例临床上疑有 SBP 的患者腹水培养均阴性,其中 8 例患者的腹水白细胞数 $\geq 0.3 \times 10^9/L$ 而诊断为 SBP,其腹水 IL-6 平均值显著高于无 SBP 患者 ($P < 0.001$),提示了在腹水培养阴性的情况下,腹水 IL-6 水平也是诊断 SBP 的一个较为敏感而特异的指标^[8]。根据作者的观察,若以 $\geq 1200 \text{ ng/L}$ 为界,腹水 IL-6 检出 SBP 的灵敏性为 87.5%,特异性为 92.8%。本研究发现,无论有无 SBP 存在,腹水中的 IL-6 水平均显著高于血清的水平,提示腹腔巨噬细胞是腹水 IL-6 的主要来源,SBP 患者腹水 IL-6 水平的显著升高可能与内毒素刺激腹腔巨噬细胞过量分泌 IL-6 有密切关系^[8]。但作者也发现,腹水 IL-6 水平与腹水白细胞数仅有微弱的正相关,因而对于腹水白细胞数 $< 0.3 \times 10^9/L$,但腹水 IL-6 $> 1000 \text{ ng/L}$ 者,结合临床表现,也应高度疑及 SBP。动态观察 HC 患者腹水 IL-6 的水平是否有助于提高诊断 SBP 的阳性率,尚有待进一步研究。

综上所述,应用 ELISA 法定量检测血清和腹水 TNF- α 和 IL-6 具有灵敏性较高、特异性较强、快速简便等优点,可作为诊断 HC 合并感染和预后判断的一项筛选指标。

参 考 文 献

- 1 Byl B, Roucloux I, Crusiaux A, *et al.* Tumor necrosis factor α and interleukin 6 plasma levels in infected cirrhotic patients. *Gastroenterology*, 1993, 104(5): 1492
- 2 全国腹水学术讨论会. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎的诊断标准. *中华消化杂志*, 1989, 9(6): 359
- 3 Wyke R J. Problems of bacterial infection in patients with liver disease. *Gut*, 1987, 28: 623
- 4 Tilg H, Wilmer A, Vogel W, *et al.* Serum levels of cytokin in chronic liver diseases. *Gastroenterology*, 1992, 103(1): 264
- 5 黄自平. 肠源性内毒素血症在肝硬化失代偿中的作用及其处理. *胃肠病学和肝病杂志*, 1997, 6(1): 9
- 6 阎辉, 欧孝凤, 苏令威. 病毒性肝炎并发原发性腹膜炎 92 例临床分析. *中华传染病杂志*, 1989, 7(2): 115
- 7 刘敏川, 宋元铭. 肝炎后肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎的早期诊断探讨. *实用内科杂志*, 1991, 11(6): 311
- 8 Propst T, Propst A, Herold M, *et al.* High levels of interleukin 6 and its secondary mediators in spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology*, 1993, 105(1): 310

(1998-02-06 收稿 1998-04-22 修回)