

山西省襄垣县妇女人乳头状瘤病毒感染与宫颈癌关系的研究

赵方辉 李楠 马俊飞 张洵 吴令英 戎寿德 Lorincz A^{R73} Belinson J^A 乔友林

【摘要】 目的 了解我国宫颈癌高发区妇女生殖道人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染状况,研究高危型 HPV 感染与宫颈癌的关系。方法 应用第二代杂交捕获试验对山西省襄垣县 1 997 名 35~45 岁已婚妇女自己采集的阴道细胞和医生采集的宫颈细胞,检测 13 种高危型 HPV 脱氧核糖核酸(DNA)。采用多因素的非条件 logistic 回归模型分析 HPV 感染与宫颈癌及宫颈上皮内瘤变(CIN)的关系。用卡帕(kappa)系数衡量两种标本 HPV 检测的符合度。结果 该人群的高危型 HPV DNA 总检出率为 20.8%。HPV DNA 检出率随病变程度加重呈趋势性增高($\chi^2 = 444.04, P = 0.000$)。两年龄组(35~39 岁和 40~45 岁)妇女的宫颈 HPV DNA 检出率几乎一样(20.9%:20.6%, $\chi^2 = 0.03, P = 0.86$)。非条件 logistic 回归分析显示,HPV 感染与宫颈上皮内高度病变及癌症(\geq CIN II)和低度病变(CIN I)的发生高度相关($OR = 254.2$ 和 $OR = 26.4$),归因危险百分比(ARP)分别为 98.1% 和 83.6%。自我取样 HPV 检测的灵敏度低于医生取样 HPV 检测(84%:98%, $\chi^2 = 5.92, P = 0.015$),特异度差异无显著性(86%:85%, $\chi^2 = 0.00, P = 0.997$),但两种标本 HPV 检测的符合度较好(kappa = 0.74)。结论 女性生殖道高危型 HPV 感染是当地宫颈癌及 CIN 流行的主要危险因素,提示宫颈癌的防治重点应放在防止 HPV 感染、对 HPV 感染的筛查和密切监测已感染高危型 HPV 的对象。自我取样 HPV 检测是一种较实用的宫颈癌初筛手段。

【关键词】 宫颈肿瘤;人乳头状瘤病毒;盲法

Study of the association between human papillomavirus infection and cervical cancer in Xiangyuan county, Shanxi province ZHAO Fanghui¹, LI Nan¹, MA Junfei¹, et al. ¹Department of Epidemiology, Cancer Institute/Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China

【Abstract】 Objective To investigate human papillomavirus (HPV) prevalence in the high incidence areas of cervical cancer in Shanxi and to study the association between HPV infection and cervical cancer. **Methods** Cells exfoliated from cervix (collected by clinician) and from vagina (collected by subject herself) of 1997 women aged 35-45 from Xiangyuan county, Shanxi province were analyzed blindly by Hybrid Capture Assay (HC-II), which could detect 13 HPV types of high-risk. Unconditional logistic regression model was used to analyze the relation between HPV and cervical cancer/cervical intraepithelial neoplasia (CIN). Kappa coefficient was used to compare the agreement of the two tests. **Results** HPV DNA detection rate in the population was 20.8% while HPV infection rates increased with the seriousness of cervical lesions ($\chi^2 = 444.04, P = 0.000$). Rates of the two groups (35-39 and 40-45) had no significant difference (20.9%:20.6%, $\chi^2 = 0.03, P = 0.86$). Unconditional logistic regression analysis showed, when comparing with the normal subjects, the risk odds ratio of HPV infection with cervical cancer/high grade CIN and low grade CIN were 254.2 and 26.4 respectively, with attributable risk proportions (ARP) 98.1% and 83.6% respectively. The sensitivity of self-collected vaginal swabs assayed for HPV DNA was lower than that of clinician-collected cervical samples assayed for HPV DNA (84%:98%, $\chi^2 = 5.92, P = 0.015$). No significant difference in specificity was seen between them (86%:85%, $\chi^2 = 0.00, P = 0.997$) and there was fair agreement between the two tests (kappa = 0.74). **Conclusion** High-risk HPV infection in female genital tract was the major risk factor of cervical cancer and CIN in the areas. Prevention and control of cervical cancer should be focused on avoiding HPV infection, screening women for HPV infection and monitoring population infected by high-risk HPV. Self-collected vaginal swabs assayed for

作者单位:100021 北京,中国医学科学院肿瘤医院研究所肿瘤医院流行病学室(赵方辉、戎寿德、乔友林),妇瘤科(李楠、吴令英),病理科(张洵);山西省襄垣县妇幼保健院(马俊飞);Digene Corporation, Maryland, USA (Lorincz A); Cleveland Clinic Foundation, Ohio, USA (Belinson J)

赵方辉,女,1974 年 3 月生。于中国协和医科大学肿瘤医院研究所硕士研究生毕业,曾获 2000 年全国肿瘤学术大会优秀青年论文奖,主要从事肿瘤流行病学研究。

HPV DNA seemed a more practical method in primary screening for cervical cancer.

【Key words】 Cervical neoplasm; Human papillomavirus; Blinded

人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染已被流行病学和生物学证明是引起宫颈癌及其癌前病变的必要因素^[1,2]。在世界范围内几乎所有宫颈癌组织中均可检测到 HPV 脱氧核糖核酸(DNA)^[2]。各国流行病学资料显示细胞学筛查曾使宫颈浸润癌发病率和死亡率下降,但目前宫颈癌的发病和死亡却处于稳定水平且有增长的趋势^[3],尤其是宫颈癌的年轻患者开始增加,据报道这与过早感染高危型 HPV 有关。随着 HPV 检测技术的发展,HPV 与宫颈癌病因关系的研究不断深入,同时它在宫颈癌防治中的作用也引起学者们的注意。本文介绍了目前世界上最新的 HPV 检测技术——第二代杂交捕获试验(hybrid capture II, HC-II)及其首次应用于我国宫颈癌高发区妇女筛查的结果,旨在对高发区妇女宫颈高危型 HPV 感染状况有较为全面的了解,为宫颈癌高发现场采取更有力的防治措施及深入研究 HPV 感染与宫颈癌的发病关系提供线索和依据。

材料与方 法

1999 年中国医学科学院肿瘤医院所肿瘤医院与美国克里夫兰医学中心合作,对宫颈癌高发区山西省襄垣县 4 个乡 1 997 名已婚妇女宫颈癌患病情况和 HPV 感染状况进行了普查。

1. 研究对象:年龄在 35~45 岁之间、无子宫切除术和宫颈手术史、目前未怀孕、无骨盆放射治疗史,没有参加过普查的已婚妇女。

2. 标本采集:按照取材来源,每一妇女均有两份标本,一份是自我采集阴道细胞标本,即受试对象将阴道拭子(dacron 棉签)放入阴道至少 6 cm,停留 20 s,然后用手指搓动棉签使其转动,慢慢取出棉签并将其放入标有随机号的试管。另一份是医生采集宫颈细胞涂液基涂片后的剩余标本,装在标有对象识别号的小瓶里。试管和小瓶内均有细胞保存液。试验人员既不知道识别号与随机号的对应关系,也不知道受试对象的病理结果,以确保本次研究的各项检测是在完全独立(盲法)的情况下进行。

3. 检测方法:两份标本均由美国 Digene 公司进行 HPV DNA 检测。所采用的是目前世界上最新的 HPV 检测技术——HC-II。其原理是利用对抗体

捕获信号的放大和化学发光信号的检测。基本实验步骤如下:(1)碱性溶液破坏病毒使 DNA 双链被释放并分解为核苷酸单链;(2)DNA 单链与 RNA 探针结合为 RNA-DNA 杂交复合物;(3)第一抗体(特异性抗体)将 RNA-DNA 杂交复合物固定在微孔壁上;(4)结合有碱性磷酸酶的多个第二抗体与 RNA-DNA 杂交复合物结合,使信号放大;(5)碱性磷酸酶使酶底物发光,判读光的强弱可确定碱性磷酸酶的含量,从而确定 RNA-DNA 的含量。HC-II 采用 96 孔平板法,可一次性检测 13 种高危型 HPV(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 和 68)。

4. 结果判定:诊断阳性指标定为标本中检出的 HPV DNA ≥ 1.0 pg/ml。两份标本的检测结果中一项阳性即认作感染阳性。所有妇女均进行阴道镜下宫颈口四象限活检及颈管刮术。

5. 统计检验方法:按照病理结果获得的各人群 HPV 检出率差异的比较,以及按照年龄分组 HPV 检出率的比较均采用 χ^2 检验。HPV 感染与宫颈癌及宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasm, CIN)的关系研究采用 logistic 回归分析方法,控制年龄、吸烟、怀孕及性行为等因素,并计算危险度比值比(OR)和归因危险百分比(ARP)。以病理诊断为金标准,计算自我取样和医生取样两种 HPV DNA 检测的灵敏度和特异度。用卡帕(kappa)系数衡量两种方法的符合度。

结 果

1. 病理结果见表 1。经统计学检验,HPV 检出率随病变程度加重呈趋势性增高。

表1 各组宫颈病变 HPV 感染状况

病理诊断	检测例数	HPV 阳性例数	HPV 感染率(%)
正常	1 784	253	14.2
CIN I	127	78	61.4
CIN II	43	41	95.3
CIN III	31	31	100.0
宫颈癌	12	12	100.0
合 计	1 997	415	20.8

注:与第一组相比 HPV 感染率呈趋势性增加($\chi^2 = 444.04, P = 0.000$)

2. 按照年龄将妇女分为 35~39 岁和 40~45 岁两组,两年龄组宫颈高度病变及癌症(\geq CIN II)的患病率(41/10 万:45/10 万)差异无显著性($\chi^2 =$

0.19, $P=0.66$), 宫颈 HPV DNA 的检出率几乎一样(20.9%:20.6%, $\chi^2=0.03, P=0.86$)。

3. 控制年龄、吸烟、婚孕及性行为等因素, logistic 回归分析显示, 与正常对象相比, HPV 感染对宫颈癌和宫颈上皮内高度病变(\geq CIN II)和低度病变(CIN I)的 OR 分别为 254.2 和 26.4, ARP 分别为 98.1% 和 83.6%, 见表 2。

表2 HPV 感染与宫颈病变危险性分析

病理诊断	HPV 阳性例数	HPV 阴性例数	OR(95% CI)	ARP (%)
正常	253	1 531	1.0	
CIN I	78	49	26.4(6.2~112.2)*	98.1
\geq CIN II	84	2	254.2(62.1~999.0)*	83.6

* 非条件 logistic 回归分析, 与第一组比较差异有显著性

4. 以病理学诊断宫颈上皮内高度病变(\geq CIN II)为病例, 自我取样 HPV 检测的灵敏度和特异度为 84% 和 86%, 医生取样 HPV 检测的灵敏度和特异度为 98% 和 85%, 前者灵敏度低于后者($\chi^2=5.92, P=0.015$), 特异度两者差异无显著性($\chi^2=0.00, P=0.997$), 但总体上两种方法的符合度较好($\kappa=0.74$)。

讨 论

1. HPV 感染的流行情况: 本次研究是采用 HC-II (13 种高危型 HPV RNA 混合探针包括 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 和 68 型), 检测妇女宫颈和阴道细胞中 HPV DNA。该人群的高危型 HPV 总感染率为 20.8%, 所有宫颈癌和 CIN III 对象及 95.3% 的 CIN II 对象 HPV 感染阳性, CIN I 和正常对象的 HPV 感染率分别为 61.4% 和 14.2%。与以往的 HPV 调查相比^[4], 本研究中 HPV 检出率明显增加, 原因在于 HC-II 的灵敏度高、特异性好, 检测的 HPV 种类增多。但研究没有区分具体的 HPV 型别, 主要是因为本阶段研究的目的是希望了解高发区妇女宫颈高危型 HPV 感染的总体情况, 探讨 HPV DNA 检测作为宫颈癌的初筛手段, 浓缩高风险人群。HPV 型别的区分有利于疫苗的研究, 在今后的研究中我们拟对检测的 HPV 进行分型, 寻找感染高发区妇女主要的 HPV 型别。

2. HPV 感染与宫颈癌危险性的关系: 自 Hausen^[5] 提出 HPV 可能与宫颈癌发病有关的假设后, 国内外学者就两者的关系进行了大量的研究^[2,6], 所有结果均显示 HPV 感染与宫颈癌有明显

的相关性。本研究中与正常对象相比, OR 值随病变程度加重显著增加。HPV 对宫颈癌的 ARP 达 98%, 是迄今为止所研究人类肿瘤致病因素中的最高归因分数, 说明 HPV 感染是当地宫颈癌高发的主要危险因素。本次所得 OR 值比以往研究明显增大, 与新近国外研究^[7]报道的 OR 值接近(CIN III 的 OR 值为 327), 表明随着 HPV 检测技术水平的提高, HPV 与宫颈癌病因关系的证据愈加充分。

3. 两种 HPV DNA 检测法的比较: 自我取样 HPV 检测与医生取样 HPV 检测相比, 灵敏度较低, 分析原因可能在于取样器(dacrob 棉签), 一方面是长度不能达到宫颈, 另一方面是棉签本身不如毛刷取的细胞多, 如能改进上述问题, 效果可能会更好, 但总体上两种方法的符合度较好。

4. HPV DNA 检测在宫颈癌防治中的作用: 在过去的几十年中, 细胞学普查取得了很大的成就, 但存在的最大弊病是假阴性率较高(15%~40%), 造成假阴性患者不能得到及时诊治, 而且这种方法主观性较强, 很难标化。HC-II 则避免了这些问题, 它可灵敏地检出高度宫颈病变和癌症, 尽管假阳性率较细胞学高, 但方法简便、重复性好、客观性强, 目前的 96 孔平板法可一次检测 90 人, 大大提高了工作效率, 适于作大人群的初筛手段。在卫生资源差、医护人员短缺的地区, 以 HPV 检测为宫颈癌的初筛手段更具有实际意义^[8-10], 自我取材 HPV 检测法简单易行, 在取样和检测时均不需要医生的参与, 避免了病人看医生难及不愿使用阴道窥器等问题, 对于筛出的高风险人群作进一步诊断, 使有限的资源得到有针对性的合理应用。当然用 HPV 检测筛查宫颈癌时还要注意 HPV 的流行是因人而异, 年轻妇女的感染通常为一次性, 只有高危型 HPV 持续感染, 其患宫颈癌的危险性才会增加。有研究^[11]发现高危型 HPV 感染阳性、宫颈涂片正常的妇女在随访 34 个月后, 其宫颈细胞发生异常的风险度高于 HPV 阴性对象(28.2:1.0), 而且细胞学发生改变的对象 90% 以上是高危型 HPV 的持续感染者。因此, 对此次研究中高危型 HPV 阳性而宫颈正常的对象要每年定期随访。目前对 HPV 检测的成本效益分析及其在临床和人群中的应用还在探索中, 它能否成为更合理的筛查手段以及能否最终降低宫颈浸润癌发病率和死亡率, 尚需开展更多的研究工作。

参 考 文 献

1 Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, et al. Epidemiologic

evidence showing that Human Papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst*, 1993, 85: 958-964.

2 Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*, 1999, 189:12-19.

3 Anttila A, Pukkala E, Soderman B, et al. Effect of organized screening on cervical cancer incidence and mortality in Finland, 1963-1995: Recent increase in cervical cancer incidence. *Int J Cancer*, 1999, 83:59-65.

4 李洁, 刘宝印, Hausen ZH, 等. 中国妇女宫颈组织中乳头瘤病毒感染及其地理分布的调查. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1996, 10:50-55.

5 Hausen ZH. Papillomaviruses in human cancer. *Cancer*, 1987, 59: 1692-1696.

6 Peng H, Liu S, Mann V, et al. Human papillomavirus types 16 and 33, Herpes simplex virus type 2 and other risk factors for cervical cancer in Sichuan province, China. *Int J Cancer*, 1991, 47:711-716.

7 Marielle AEN, Jan MMW, Theo JMH, et al. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet*, 1999, 354: 20-25.

8 Schiffman MH, Herrero R, Hildesheim A, et al. HPV DNA testing in cervical cancer screening. *JAMA*, 2000, 283:87-93.

9 Belinson J, Qiao YL, Pretorius R, et al. Prevalence of cervical cancer and feasibility of screening in rural China: a pilot study for the Shanxi province cervical cancer screening study. *Int J of Gynecol Cancer*, 1999, 9:411-417.

10 Wright TC, Denny L, Kuhn L, et al. HPV DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer. *JAMA*, 2000, 283:81-86.

11 Hopman EH, Rozendaal L, Voorhorst FJ, et al. High risk human papillomavirus in women with normal cervical cytology prior to the development of abnormal cytology and colposcopy. *BJOG*, 2000, 107:600-604.

(收稿日期:2001-01-20)

(本文编辑:杨莲芬)

· 短篇报道 ·

673 例小儿烧伤住院患者的流行病学特征分析

李国京 鹿其军 王峻岭 张春华 侯松治 R64 B

我院 1991 年 1 月至 2000 年 10 月共收治 0~12 岁小儿烧伤患者 673 例, 我们对该组病例的致伤原因及病情特征等进行了回顾性分析, 旨在提高小儿烧伤的救治水平, 减少小儿烧伤的发生。

1. 资料与方法: 将致伤原因分为热力热液烫伤、火焰烧伤、化学烧伤、电烧伤及其他 5 种, 烧伤程度判定参照 1970 年全国烧伤会议通过的 *小儿烧伤严重程度分类标准*^[1], 对其构成比、致伤原因、性别比、年龄分布、季节分布、烧伤程度等进行统计学分析。

2. 结果: 本组小儿烧伤 673 例, 占同期收治烧伤入院病人 (1 947 例) 34.57%, 死亡 4 例, 占 0.59%。其中男 453 例, 女 220 例, 男女之比为 2.06:1。(1) 年龄与致伤原因: 本组年龄最小者 4 d 龄, 最大 12 岁, 发病人数最多的年龄组为 1~3 岁, 共 261 例, 占 38.78%。烧伤原因中以热力、热液烫伤最多 (407 例), 占 60.48%, 其次为火焰烧伤 (225 例)、电烧伤 (20 例)、化学烧伤 (9 例), 分别为 33.43%、2.97%、1.34%。而 1~3 岁小儿热力、热液烫伤最多 (231 例), 占 34.32%, 7~12 岁者火焰烧伤 (126 例) 及电烧伤 (13 例) 最多, 分别为 18.72%、1.93%。(2) 烧伤面积分布: 小于 15% 体表面积的轻、中度烧伤患者最多, 占 63%。因部分轻、中度烧伤

患儿未住院治疗, 实际该组患者远多于统计例数。烧伤面积越大, 所占比例越小。(3) 季节分布: 以 1~3 月份烧伤人数最多 (208 例), 占 30.91%, 这与春节期间小儿燃放烟花爆竹有关; 7~9 月份烧伤人数最少 (143 例), 与成人的高发季节不同。

3. 讨论: 小儿烧伤发生率较高, 其烧伤原因及伤后病情特征均有其流行病学意义, 由于小儿发育未成熟, 尤其是 1~3 岁小儿, 极易发生烧伤和烫伤。而男孩好动的生活习性导致其烧伤发生率高于女孩。春冬季用热水和用火较多及春节期间燃放鞭炮, 导致小儿烧伤高发, 这与文献^[2]报道相似。本组 6 例新生儿烧伤均为农村仍用热沙土给新生儿保温所致, 应引起家长重视。小学生户外活动增多, 好奇心强, 缺乏基本用电知识及自控能力, 又因电器缺乏有效的防护措施, 故电烧伤发生率相对较高, 而且截肢或致畸率较高。

参 考 文 献

1 黎鳌, 主编. 烧伤治疗学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1995. 433-435.

2 Dedovic Z, Brychta P, Koupirova I, et al. Epidemiology of childhood burns at the burn centre in Brno. *Czech Republic Burns*, 1996, 22: 125-128.

(收稿日期:2001-02-20)

(本文编辑:尹廉)