



上海地区 HPV 分型及高危型 HPV 负荷量与 宫颈病变的关系

舒慧敏^{①⑧†}, 陈华^{①†}, 卫海滨^{②⑦†}, 卿志荣^③, 姚海宏^①, 王智丰^①, 熊苗^④, 王丽^⑤, 杨宾烈^{⑥*}

① 上海市浦东新区公利医院, 上海 200135;

② 中国科学院上海生命科学研究院营养科学研究所, 上海 200031;

③ 上海孟德尔基因研究有限公司, 上海 201613;

④ 上海交通大学附属第六人民医院, 上海 200233;

⑤ 上海市第一人民医院, 上海 200080;

⑥ 上海市浦东新区人民医院, 上海 201200;

⑦ 上海市农业生物基因中心, 上海 201106;

⑧ 同济大学附属第一妇婴保健院, 上海 200126

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: yblfck@sina.com

2013-01-24 收稿, 2013-03-30 接受

上海市浦东新区科委项目(2007Y-02)、上海市浦东新区重点学科建设项目(Pwzxk2010-10)、中国博士后科学基金面上项目(20100470746)和赛诺菲·安万特-中国科学院上海生命科学研究院优秀青年人才奖励基金资助

摘要 目前发现已鉴定出的 100 多种 HPV 亚型在不同国家与地区的流行病学分布不同, 而 HPV 负荷量的高低与宫颈病变的严重程度存在相关性. 为了探讨上海地区 HPV 亚型的分布特征及高危型 HPV 负荷量与宫颈病变的关系, 收集了就诊于上海市浦东新区公利医院宫颈疾病门诊患者 515 例, 采用导流杂交基因芯片技术(HybriMax)对 HPV 进行基因诊断和分型; 并使用实时荧光定量 PCR 方法检测 HPV 负荷量, 统计分析负荷量与宫颈病变程度的相关性. 结果表明, 上海地区共检测出 18 种 HPV 亚型, 检出率大于 5% 的 HPV 亚型(HPV-16, 58, 33, 52, 31, 18)均属于高危型; 4 种高危型 HPV(16, 58, 33, 52)与宫颈病变严重程度呈显著相关; Spearman 等级相关分析显示, HPV 负荷量与宫颈病变级别呈正相关($r=0.318$, $P=0.000$); 两种高危亚型 HPV-16 和 HPV-33 的负荷量为这种正相关性的主导因素. 本研究确定了上海地区 HPV 流行的主要亚型及 HPV 负荷量与宫颈病变程度的关系, 这为开发预防中国人群(特别是上海地区)常见 HPV 亚型的多价疫苗提供了有效证据, 为高 HPV 负荷量作为高级别宫颈上皮内瘤样病变及宫颈癌筛查的有意义指标提供了佐证.

关键词

人乳头状瘤病毒
(HPV)
病毒负荷量
宫颈上皮内瘤样
病变(CIN)
宫颈癌

宫颈癌是危害妇女健康的主要恶性肿瘤之一, 全球每年约有 53 万的新发病例和 27 万的死亡病例, 其中 85% 发生在发展中国家, 尤其是近年来年轻妇女宫颈癌发病率有升高趋势, 据估计到 2020 年其发病率将增至每年 66 万^[1,2]. 宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)是宫颈癌的癌

前病变, 而人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染现已被认为是 CIN 和宫颈癌发生发展的关键因素^[3,4]. 依据 HPV 亚型与宫颈癌发生的危险性分为低危型 HPV 和高危型 HPV. WHO 于 1996 年将 HPV-16, 18, 31 和 33 认定为致癌的高危亚型, 现在已经发现至少有 13 种 HPV 亚型可以导致宫颈癌, 其中

引用格式: 舒慧敏, 陈华, 卫海滨, 等. 上海地区 HPV 分型及高危型 HPV 负荷量与宫颈病变的关系. 科学通报, 2013, 58: 2803–2809

Shu H M, Chen H, Wei H B, et al. Human papillomavirus genotyping and correlation of high-risk human papillomavirus viral load and cervical lesions in Shanghai (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2013, 58: 2803–2809, doi: 10.1360/972012-474

HPV16为最常见的高危亚型,它和HPV18的感染占所有宫颈癌患者的71%^[1,5].目前已鉴定出的100多种HPV亚型,其分布地域性存在明显差异,如HPV45型常见于非洲,HPV52和HPV58则在亚洲妇女中检出率较高^[6,7].在我国也存在地区性差异,而上海地区人口众多,增长迅速,其HPV感染的特异性尚未研究;另一方面,近年来HPV-DNA负荷量被作为高级别宫颈病变检测的标志物,它与CIN及宫颈癌的关系引起了大量研究人员关注,但仍未达成一致意见^[8-10].本文通过测定和分析不同级别宫颈病变中HPV亚型和HPV-DNA负荷量,探讨上海地区CIN及宫颈癌患者感染的主要HPV亚型,以及与HPV负荷量的关系,为宫颈癌的防治提供理论依据.

1 材料与方法

(i) 病例资料. 选取2007年1月至2008年12月上海市浦东新区公利医院宫颈疾病门诊患者252例,及2011年1月至2011年12月病例263例.入选者年龄19~64岁,平均40.15岁,在上海居住2年以上,无宫颈手术史,无肿瘤病史及全身免疫性疾病病史.所有病例均经我院病理科确诊,同时在治疗前进行HPV检测.其中慢性宫颈炎患者134例(HPV阳性91例,阴性43例);CIN I患者133例(HPV阳性98例,阴性35例);CIN II患者132例(HPV阳性117例,阴性15例);CIN III患者50例(HPV阳性43例,阴性7例);宫颈癌患者66例(HPV阳性62例,阴性4例).

(ii) 试剂及仪器. 基因组DNA提取试剂盒与HPV基因分型检测试剂盒购于凯普生物科技公司,后者可检测21种HPV亚型,包括13种高危亚型(HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59和68型),5种低危亚型(HPV-6, 11, 42, 43和44型)以及3种中国人群常见亚型(HPV-53, 66和CP8304型). HPV实时荧光定量PCR试剂盒和HHM-01A型凯普HybriMax杂交仪来自凯普生物科技公司. 荧光定量PCR仪LightCycler 2.0购自Roche公司.

(iii) 研究方法. (1) 标本采集. 采用凯普生物科技公司提供的宫颈脱落细胞取样器,将专用宫颈刷紧贴宫颈口黏膜,顺时针或逆时针旋转5周,取出后放入标有病人编号的取样管中(预先加入凯普专用细胞保存液),拧紧瓶盖,放入4℃冰箱保存,24 h内进行检测,剩余DNA样品存储于-20℃备用,样本避免反复冻融.

(2) 标本DNA提取. 取保存有宫颈细胞的细胞保存液0.5 mL,以14000 r/min离心5 min,弃上清液后,利用基因组抽提试剂盒提取DNA,具体操作步骤依据凯普生物公司的试剂盒.

(3) 标本DNA扩增. 将PCR-Mix, *Taq* DNA聚合酶和DNA模板按比例配成25 μL扩增反应体系. PCR反应条件为20℃ 10 min, 95℃预变性9 min; 95℃ 20 s→55℃ 30 s→72℃ 30 s共40个循环,72℃延伸5 min,扩增结束后4℃保存. 扩增的设定条件依据凯普HPV基因分型检测试剂盒.

(4) 导流杂交. 取20 μL的PCR产物,于95℃加热5 min变性,然后立即冰水浴2 min. 在已变性DNA样品溶液中加入0.5 mL预热至45℃的杂交液,混匀后加在导流HybriMax杂交仪的薄膜上,合上盖板温育10 min后开泵进行导流杂交,清洗除去未结合的DNA,整个杂交过程保持在45℃进行.

(5) 酶标显色. 导流杂交仪温度调节至25℃,用0.5 mL封阻液封闭5 min. 排出封阻液后关泵,加入0.5 mL酶标液,温育3.5 min,泵出所有溶液. 用冲洗缓冲液彻底冲洗膜,除去未结合的酶标液,后加入0.5 mL NBT/BCIP溶液,于36℃保持至显色完成.

(6) 结果分析. 在显色后1 h内肉眼观察检测结果. 阳性点呈现清晰可见的紫蓝色圆点,根据膜条HPV分型分布图,判断HPV亚型.

(7) HPV-DNA负荷量定量检测. 取500 μL临床样本,13000 ×g离心15 min,弃上清液后加入200 μL PBS缓冲液悬浮沉淀,然后加入等体积裂解液煮沸10 min,将处理好的样本取2 μL作为PCR扩增模板. 按照凯普HPV实时荧光定量PCR试剂盒说明书检测每份标本的HPV-DNA负荷量. 根据 C_t 值计算样本的起始拷贝数(对照标准品).

(8) 统计分析. 应用 χ^2 检验和Kruskal-Wallis H检验方法对五组宫颈病变患者的HPV感染率及HPV-DNA负荷量进行统计分析. 使用Spearman等级相关分析,检验HPV负荷量与宫颈病变严重程度的相关性. 统计分析结果中 $P < 0.05$ 说明差异具有统计学意义. 所有统计由SPSS 13.0统计分析软件完成.

2 结果

2.1 HPV感染的基因型构成和分布

HPV分型检测结果显示,515例患者标本中共检

出 399 例 HPV 阳性感染者, 包括 295 例单一感染和 104 例多重感染者, 总感染率为 77.48% (399/515)。阳性感染者的 HPV 亚型构成表明, 共检出 541 株 HPV 亚型, 分别属于 18 种不同的 HPV 亚型, 包括 13 种高危型 HPV(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 和 68), 2 种低危型 HPV(6 型和 11 型), 以及 3 种中国人常见 HPV 亚型(53, 66 和 CP8304 型), 见表 1。同时表 1 显示患者感染的 HPV 亚型集中分布于高危型 HPV, 主要以 HPV-16, 58, 33 为主, 检出率分别为 39.74%, 17.19%, 11.65%。其他检出率大于 5% 的 HPV 亚型依次为 HPV-52, 31, 18。这 6 种 HPV 亚型均属于高危型, 检出率总和高达 90%(图 1), 提示高危型 HPV 感染在宫颈疾病发生发展中具有重要作用。

2.2 高危型 HPV 与宫颈病变级别的相关性

对表 1 中 399 例 HPV 阳性感染者的 HPV 亚型与宫颈病变级别的相关性进行统计分析。首先, 应用单向方差分析 Kruskal-Wallis H 方法, 比较不同级别宫颈病变患者中 HPV 亚型检出率的中位数差异, χ^2 值为 44.055, $P=0.000$, 提示总体有差异, 即 HPV 亚型的总体分布与宫颈病变程度相关。其次, 卡方统计分

析 HPV 亚型在五组宫颈病变中的分布频数, 其中 4 种高危型 HPV(16, 58, 33, 52)的检验 P 值小于 0.001, 差异有统计学意义。统计分析结果表明高危型 HPV 在宫颈疾病病变中具有重要作用, 并提示在上海地区 4 种高危型 HPV(16, 58, 33, 52)与宫颈病变严重程度呈显著相关。

2.3 HPV-DNA 负荷量与不同程度宫颈病变的相关性

实时荧光定量 PCR 方法检测出 399 例 HPV 阳性感染者的 HPV-DNA 负荷量, 以 10 的倍数为分隔区间由低至高分为 6 组, 分组后的 HPV 负荷量在不同程度宫颈病变中的分布见表 2。应用 Kruskal-Wallis H 检验宫颈病变不同级别分类中 HPV 负荷量分布的差异。检验结果显示 χ^2 值为 41.914, $P=0.000$, 可认为 HPV 负荷量在 5 组宫颈病变患者中的总体分布有差异。慢性宫颈炎至宫颈癌的 5 组宫颈病变的平均秩次 (Mean Rank) 分别为 149.78, 177.08, 212.47, 217.97, 265.06。各组秩的均值存在显著差异, 表明 HPV 负荷量在不同级别分类中的总体分布有显著差异。平均秩次依据宫颈病变程度的增加呈上升趋势, 宫颈癌

表 1 不同级别宫颈病变中感染的 HPV 亚型分布^{a)}

HPV 亚型	慢性宫颈炎 (<i>n</i> =134)	CIN I (<i>n</i> =133)	CIN II (<i>n</i> =132)	CIN III (<i>n</i> =50)	宫颈癌 (<i>n</i> =66)	CIN 及宫颈癌 (<i>n</i> =381)	合计 (<i>n</i> =515)
6	4	1	2	0	1	4	8
11	2	3	0	2	1	6	8
16	17	37	75	31	55	198	215
18	8	10	3	3	4	20	28
31	6	11	8	4	2	25	31
33	13	21	22	4	3	50	63
35	0	1	0	0	0	1	1
39	0	2	0	0	1	3	3
45	2	2	0	0	1	3	5
51	2	2	2	0	1	5	7
52	22	15	13	4	4	36	58
53	0	2	1	1	0	4	4
56	1	1	3	0	0	4	5
58	22	28	24	15	4	71	93
59	0	0	1	0	0	1	1
66	2	0	0	0	1	1	3
68	2	1	3	0	0	4	6
CP8304	0	1	1	0	0	2	2
合计	103	138	158	64	78	438	541

a) *n* 代表患者例数, 最后一行的数值表示检测到的 HPV 株数

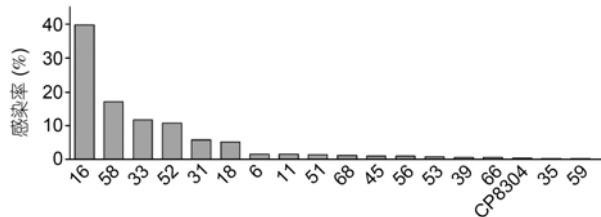


图1 515例宫颈脱落细胞样品中不同HPV亚型的感染率

组的 HPV 负荷量显著高于其他 4 组患者, 提示 HPV 负荷量的增高可能增加宫颈病变的危险度.

为了检验 HPV 负荷量是否与宫颈病变严重程度呈现正相关, 使用 Spearman 等级相关分析. 相关系数为 $r=0.318$, 表明两者之间呈正相关; $P=0.000$ 说明两者的正相关具有统计学意义. 随着宫颈病变级别升高, 高病毒负荷量检出率增加; 同时 HPV-DNA 负荷量值越高, 患宫颈病变高级别的可能性越大. 提示 HPV 负荷量可以作为宫颈病变危险程度的辅助监测指标.

2.4 高危型 HPV-DNA 负荷量与宫颈病变严重程度的关系

统计检验 HPV 负荷量总体分布与宫颈病变级别的相关系数偏低, 因此有必要对上海地区与宫颈病变严重程度呈显著相关的 4 种高危型 HPV(16, 58, 33, 52), 分别进行 HPV 负荷量与宫颈病变级别关系的统计分析. Kruskal-Wallis H 检验的结果显示, 具有统计学意义的高危亚型为 HPV-16 和 HPV-33(P 值分别为 0.000 和 0.012), 另外两种高危亚型 HPV-58 和 HPV-52 的 P 值为 0.207 和 0.183, 则不具备统计学意义. 另一方面, 4 种高危型 HPV-DNA 负荷量在 5 组宫颈病变不同级别范围内的中位数如表 3 所示. 我们发现

HPV-16 和 HPV-33 的病毒负荷量中位数具有相似的变化特征, 即随着宫颈病变程度的增加, HPV 负荷量的中位数相应升高, 与统计分析所得结果一致. 但是, HPV-58 和 HPV-52 的病毒负荷量中位数则没有随宫颈病变程度的增加而呈现增高的趋势. 说明上海地区 HPV 负荷量与宫颈病变严重程度呈现正相关性的主导因素为两种高危亚型 HPV-16 和 HPV-33.

3 讨论

研究现已证实高危型 HPV 持续感染是 CIN 及宫颈癌发生发展的主要致病因素, HPV 感染亚型在世界范围内的分布存在明显的地区差异^[11,12]. 全球范围内, HPV-16, 18, 33, 45 和 31 是宫颈癌最常见的亚型, 亚洲女性中 HPV-16 和 HPV-18 对浸润性宫颈癌的影响为 69.7%^[13], 中国香港地区宫颈癌常见的前 5 位分别是 HPV-16, 18, 52, 58 和 33^[14]. 而本研究中上海地区的 HPV 分型结果表明, 宫颈病变中前 6 位依次为 HPV-16, 58, 33, 52, 31, 18, 检出率总和高达 90%(图 1). 上海地区高危型 HPV 亚型的分布具有地区性特征, 与 Bao 等人^[13]对中国人群的 Meta 分析结果类似. 研究报道的 HPV-18 亚型在本研究中所占比例较低, 仅排在第 6 位, 可能的原因是 HPV-18 常见于宫颈癌患者中, 而我们的样本中宫颈癌患者数目较少^[15]. 另外, 本研究发现上海地区 4 种高危型 HPV(16, 58, 33, 52)与宫颈病变严重程度呈显著相关. 而现在问世的 2 种 HPV 预防性疫苗仅涵盖 HPV-16 和 18 型, 对其他高危型 HPV 的感染是否有交叉预防作用仍不明确, 这对现有疫苗在中国以及上海地区人群中的保护效果提出了挑战^[16]. 上海地区 HPV-58 和 52 有别于全球常见感染亚型, 但在中国香港及多个地区感染率都较高, 尤其南部地区比其他地区更

表2 不同程度宫颈病变患者的 HPV-DNA 负荷量分布

HPV 负荷量 (IU/mL)	慢性宫颈炎 例(%)	CIN I 例(%)	CIN II 例(%)	CIN III 例(%)	宫颈癌 例(%)	合计 例
0~10 ²	4(4.71)	1(1.06)	0(0.00)	3(6.82)	0(0.00)	8
10 ² ~10 ³	6(7.06)	6(6.38)	3(2.61)	4(9.09)	0(0.00)	19
10 ³ ~10 ⁴	27(31.74)	14(14.89)	19(16.52)	6(13.64)	4(6.56)	70
10 ⁴ ~10 ⁵	24(28.24)	46(48.94)	42(37.52)	12(27.27)	17(27.87)	141
10 ⁵ ~10 ⁶	22(25.88)	21(22.34)	33(28.70)	8(18.18)	24(39.34)	108
>10 ⁶	2(2.35)	6(6.38)	18(15.65)	11(25.00)	16(26.23)	53
合计	85	94	115	44	61	399

表3 上海地区4种高危型HPV负荷量在不同程度宫颈病变中的中位数分布

负荷量中位数	HPV-16 (IU/mL)	HPV-58 (IU/mL)	HPV-33 (IU/mL)	HPV-52 (IU/mL)
慢性宫颈炎	9.12×10^3	9.62×10^4	2.02×10^4	2.31×10^4
CIN I	6.32×10^4	1.69×10^4	1.87×10^5	3.71×10^4
CIN II	1.28×10^5	1.81×10^6	3.20×10^5	8.75×10^4
CIN III	4.60×10^6	4.67×10^6	2.34×10^6	2.65×10^4
宫颈癌	7.05×10^6	7.14×10^4	4.80×10^6	4.72×10^4

高^[5,17]。因此,上海地区高危型HPV亚型的分布特征的特殊性不可忽视,将为我国研发新一代HPV预防疫苗的涵盖范围提供依据。

近年来关于HPV负荷量的研究表明,随着病毒负荷量的增高,病毒复制数量相应地增多,使病毒得以持续存在,可能促进宫颈病变的发生发展^[18]。另一方面,宫颈病变程度越严重,感染HPV的亚型越多,病毒负荷量就越高^[8,19]。我们应用统计分析HPV-DNA负荷量在不同程度宫颈病变中的分布,结果表明HPV负荷量在不同级别宫颈疾病分类中的总体分布有显著差异,平均秩次随宫颈病变程度的增加呈上升趋势,说明HPV负荷量的增高可能增加宫颈病变的危险度,与已有研究报道结果一致。而Sun等人^[20]证实了HPV-DNA低负荷量与CIN II以下病变并没有明显的相关性。本研究结果同样显示,CIN及宫颈癌者的HPV负荷量较炎症者明显增高,且随着HPV负荷量的增加,宫颈癌及其前期病变的发生危险性增加(表2)。通过Spearman等级相关分析,检验证实HPV负荷量与宫颈病变严重程度呈现正相关。本研究中上海地区的宫颈疾病患者HPV负荷量统计分析结果,进一步为HPV负荷量与宫颈病变严重程度呈正相关提供佐证,同时表明HPV负荷量在宫颈病变发生发展中发挥重要作用。

据报道,持续感染高危型HPV是引起并维持CIN的必要条件,如持续感染高危型HPV的妇女发生CIN的风险增加250倍^[21]。Zhao等人^[22]的研究也展示出高危型HPV负荷量与宫颈病变程度的显著相

关性,高HPV负荷量与CIN II+病变相关。但Lorincz等人^[23]的研究指出,高危型HPV感染显著增加了发生CIN III及宫颈癌的风险,而高的病毒负荷量却不能在此基础上进一步预测CIN III及宫颈癌的风险。两项研究的结论产生冲突的原因,可能为高危型HPV持续感染或病毒清除会导致宫颈病变的进展或消退。多数研究显示,HPV-16病毒负荷量增加与CIN III或者宫颈癌的发生进展相关,但是其他高危型HPV没有这种现象^[24]。我们比较上海地区与宫颈病变严重程度呈显著相关的高危型HPV-DNA负荷量(HPV-16, 58, 33, 52)在5组宫颈病变不同级别患者的中位数(表3),与统计分析结果共同提示,两种高危亚型HPV-16和HPV-33的负荷量是上海地区HPV负荷量与宫颈病变严重程度呈现正相关性的主导因素。目前HPV负荷量与宫颈病变程度的相关性尚存争议,但本研究提示高危型HPV负荷量,尤其是HPV-16和HPV-33,可以作为上海地区宫颈病变危险程度的辅助监测指标。

由此可见,发生高级别宫颈病变的危险性随着高危型HPV感染和病毒负荷量的增大亦增加,进一步证实了高危HPV持续感染是诱发CIN进而发展为宫颈癌的重要因素。高负荷量HPV-DNA更提示了CIN甚至宫颈癌发生的可能,应作为宫颈癌筛查的有意义指标而引起重视。但对于高HPV负荷量是否可以作为预测宫颈病变程度风险的指标,还有待于对病毒负荷量在宫颈病变发病机制中的作用进行进一步的研究。

致谢 感谢上海卓衡生物技术有限公司为统计分析方法的选择提供了建议。

参考文献

- 1 Arbyn M, de Sanjose S, Saraiya M, et al. EUROGIN 2011 roadmap on prevention and treatment of HPV-related disease. *Int J Cancer*, 2012, 131: 1969-1982

- 2 Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global cancer statistics. *Ca Cancer J Clin*, 2011, 61: 69–90
- 3 Psyrri A, DiMaio D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer. *Nat Clin Pract Oncol*, 2008, 5: 24–31
- 4 Nygard J F, Sauer T, Skjeldestad F E, et al. CIN 2/3 and cervical cancer after an ASCUS pap smear. A 7-year, prospective study of the Norwegian population-based, coordinated screening program. *Acta Cytol*, 2003, 47: 991–1000
- 5 Lo K W, Wong Y F, Chan M K, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A multicenter study in China. *Int J Cancer*, 2002, 100: 327–331
- 6 Bhatla N, Dar L, Rajkumar Patro A, et al. Human papillomavirus-type distribution in women with and without cervical neoplasia in North India. *Int J Gynecol Pathol*, 2008, 27: 426–430
- 7 Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, et al. Human papillomavirus type distribution in 30848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, 2011, 128: 927–935
- 8 Abba M C, Mouron S A, Gomez M A, et al. Association of human papillomavirus viral load with HPV16 and high-grade intraepithelial lesion. *Int J Gynecol Cancer*, 2003, 13: 154–158
- 9 Gravitt P E, Kovacic M B, Herrero R, et al. High load for most high risk human papillomavirus genotypes is associated with prevalent cervical cancer precursors but only HPV16 load predicts the development of incident disease. *Int J Cancer*, 2007, 121: 2787–2793
- 10 Woodman C B, Collins S, Winter H, et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: A longitudinal cohort study. *Lancet*, 2001, 357: 1831–1836
- 11 Munoz N, Bosch F X, Castellsague X, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer*, 2004, 111: 278–285
- 12 Bosch F X, Burchell A N, Schiffman M, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine*, 2008, 26: K1–K16
- 13 Bao Y P, Li N, Smith J S, et al. Human papillomavirus type-distribution in the cervix of Chinese women: A meta-analysis. *Int J STD AIDS*, 2008, 19: 106–111
- 14 Chan P K, Ho W C, Yu M Y, et al. Distribution of human papillomavirus types in cervical cancers in Hong Kong: Current situation and changes over the last decades. *Int J Cancer*, 2009, 125: 1671–1677
- 15 Chen W, Zhang X, Molijn A, et al. Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: The importance of HPV 16 and 18. *Cancer Causes Control*, 2009, 20: 1705–1713
- 16 代敏, 李霓. 人乳头瘤病毒及其疫苗研究进展. *科学通报*, 2009, 19: 2927–2939
- 17 李燕云, 李作峰, 何以丰, 等. 人乳头瘤病毒 58 型的系统地理学分析. *中国科学: 生命科学*, 2009, 39: 654–661
- 18 Ylitalo N, Sorensen P, Josefsson A M, et al. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma *in situ*: A nested case-control study. *Lancet*, 2000, 355: 2194–2198
- 19 Sherman M E, Wang S S, Wheeler C M, et al. Determinants of human papillomavirus load among women with histological cervical intraepithelial neoplasia 3: Dominant impact of surrounding low-grade lesions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2003, 12: 1038–1044
- 20 Sun C A, Lai H C, Chang C C, et al. The significance of human papillomavirus viral load in prediction of histologic severity and size of squamous intraepithelial lesions of uterine cervix. *Gynecol Oncol*, 2001, 83: 95–99
- 21 Hernandez-Hernandez D M, Ornelas-Bernal L, Guido-Jimenez M, et al. Association between high-risk human papillomavirus DNA load and precursor lesions of cervical cancer in Mexican women. *Gynecol Oncol*, 2003, 90: 310–317
- 22 赵方辉, 胡尚英, 王少明, 等. 高危型人乳头瘤病毒载量与子宫颈病变的关系. *中华预防医学杂志*, 2009, 43: 565–570
- 23 Lorincz A T, Castle P E, Sherman M E, et al. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer. *Lancet*, 2002, 360: 228–229
- 24 Bekkers R L, Massuger L F, Bulten J, et al. Epidemiological and clinical aspects of human papillomavirus detection in the prevention of cervical cancer. *Rev Med Virol*, 2004, 14: 95–105

Human papillomavirus genotyping and correlation of high-risk human papillomavirus viral load and cervical lesions in Shanghai

SHU HuiMin^{1,8}, CHEN Hua¹, WEI HaiBin^{2,7}, QING ZhiRong³, YAO HaiHong¹, WANG ZhiFeng¹, XIONG Miao⁴, WANG Li⁵ & YANG BinLie⁶

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai Pudong New Area Gongli Hospital, Shanghai 200135, China;

²Key Laboratory of Nutrition and Metabolism, Institute for Nutritional Sciences, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;

³Shanghai Mendel DNA Center Co. Ltd, Shanghai 201613, China;

⁴Sixth People's Hospital affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China;

⁵First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China;

⁶Department of Obstetrics and Gynecology, People's Hospital of the Pudong New Area, Shanghai 201200, China;

⁷Shanghai Agrobiological Gene Center, Shanghai 201106, China;

⁸Shanghai First Maternity and Infant Hospital, Tongji University, Shanghai 200126, China

The epidemiological distribution of human papillomavirus (HPV) subtypes varies among different countries and also in different areas within the same country. HPV viral load is correlated with the grade of cervical intraepithelial lesion. Therefore, HPV subtype and HPV viral load testing have drawn increasing research attention. We investigated 515 cervical disease specimens collected from patients at the Shanghai Pudong New Area Gongli Hospital. We used guide hybrid gene chip technology (HybriMax) to conduct HPV genotyping and measured HPV viral load by RT-PCR. We then analyzed the correlations between HPV genotypes and grade of cervical disease, as well as HPV viral load and cervical disease. We detected 18 HPV subtypes in Shanghai. Six high-risk subtypes (HPV 16, 58, 33, 52, 31, 18) had a detection rate of over 5%, of which four subtypes (HPV 16, 58, 33, 52) were significantly correlated with the severity of cervical lesions. Spearman rank correlation analysis showed that HPV viral load and cervical lesion grade were positively correlated ($r=0.318$, $P=0.000$); this correlation was primarily as a result of HPV-16 and HPV-33. This study presents the prevalent HPV subtypes in Shanghai and analyzes HPV viral load and the relationship to cervical lesions. These results provide evidence for the clinical significance of HPV viral load in rapid screening for cervical lesions, and serves to inform for the development of a polyvalent vaccine for China.

human apillomavirus (HPV), viral load, cervical intraepithelial neoplasia (CIN), cervical cancer

doi: 10.1360/972012-474