

• 临床检验研究论著 •

287 例肛门及肛管尖锐湿疣组织 HPV 感染基因型的研究*

曹 嫵¹, 邵 馨¹, 耿建祥^{2△}, 张金浩², 刘 飞², 吴崑崙², 薛雅红², 王宏景², 赵 雪²

(1. 江苏省常州市中医院病理科, 江苏常州 213000; 2. 南京中医药大学

第三附属医院病理科/江苏省 HPV 协作组, 江苏南京 210001)

摘 要:目的 探讨肛门及肛管尖锐湿疣(CA)组织中人乳头瘤病毒(HPV)感染的基因型别及其临床意义。方法 从 287 例肛门及肛管 CA 石蜡组织标本中提取 23 种 HPV-DNA, 采用基因扩增结合基因芯片技术进行基因型别检测, 并分析临床病理资料。结果 CA 组织标本中检出 HPV 阳性者 209 例, HPV 感染率为 72.82%(209/287)。其中一重 HPV 感染 154 例, 阳性检出率为 53.66%(154/287); 多重 HPV 感染 55 例, 阳性检出率为 19.16%(55/287)。一重 HPV 感染中 HPV 6 型 73 例, 阳性检出率为 25.44%(73/287); HPV 11 型 71 例, 阳性检出率为 24.74%(71/287)。多重 HPV 感染中, HPV 6+11 型 25 例, 占多重感染的 45.46%(25/55); HPV 6+18 型和 HPV 6+11+16 型各 3 例, 各占多重感染的 5.46%(3/55)。结论 HPV 6 型、11 型、6+11 型、6+18 型和 6+11+16 型感染是肛门及肛管 CA 的主要致病类型。基因扩增结合基因芯片技术是一种比较适合临床开展 HPV 分型检测的诊断方法, 其敏感性高、特异性好, 尤其适合 HPV 感染的分子流行病学研究。

关键词:肛门; 肛管; 尖锐湿疣; 人乳头瘤病毒; 基因型; 基因芯片技术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.08.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)08-0969-02

Study of human papillomavirus genotyping of condyloma acuminata tissues of anus and anal canal in 287 cases*

Cao Yan¹, Shao Xin¹, Geng Jianxiang^{2△}, Zhang Jinhao², Liu Fei², Wu Kunlan², Xue Yahong², Wang Hongjing², Zhao Xue²

(1. Department of Pathology, Traditional Chinese Medical Hospital of Changzhou, Changzhou, Jiangsu 213000, China;

2. Department of Pathology/HPV Collaboration of Jiangsu Province,

Third Affiliated Hospital of Nanjing Traditional Chinese Medical University, Nanjing, Jiangsu 210001, China)

Abstract: Objective To study the genotypes of human papillomavirus (HPV) and its clinical characteristics in condyloma acuminata(CA) of anus and anal canal. Methods 23 types of HPV genotype were detected in 287 patients with CA of anus and anal canal by means of polymerase chain reaction(PCR) and gene-chips technique, and the related clinical pathology data of patients were analyzed. Results There were 209 positive cases in 287 patients with CA of anus and anal canal, the ratio of total HPV infection was 72.82%(209/287). The ratio of single types was 53.66%(154/287) and multiple types was 19.16%(55/287). The predominant type of single infection was HPV 6 and the ratio was 25.44%(73/287), followed by HPV 11 (24.74%, 71/287). Otherwise, the predominant type of multiple infection was HPV 6+11, the ratio was 45.46%(25/55) followed by HPV 6+18(5.46%, 3/55) and HPV 6+11+16(5.46%, 3/55). Conclusion HPV 6, 11, 6+11, 6+18, 6+11+16 are the main genotypes in the pathogenesis of CA with anus and anal canal. Gene-chips technique is a high sensitivities and specificities method in detection and typing of HPV.

Key words: anus; anal canal; condyloma acuminata; human papillomavirus; genotype; gene-chips technique

随着人乳头瘤病毒(HPV)基因检测技术敏感性的提高, 不同状态的 HPV 感染呈现出不断上升的趋势^[1-3]。本文对 287 例肛门及肛管尖锐湿疣(CA)组织行 HPV 分型检测, 并分析患者肛门及肛管 CA 患者中 HPV 感染基因谱的分布情况。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从南京市中医院全国肛肠医疗中心和常州市中医院肛肠科收集 1985 年 1 月至 2013 年 8 月手术切除的肛门及肛管 CA 组织标本 287 例, 其中, 男性 148 例, 女性 139 例, 男女之比为 1.07:1; 年龄 12~74 岁。所有标本由 2 名主治医师以上职称的病理诊断医师依据其临床特征、病理形态学变化确诊, 并对相关临床和病理资料进行复习。

1.2 仪器与试剂 HPV 基因分型检测试剂盒由深圳亚能生物技术有限公司提供; 主要仪器: Gene Amp 2400 型聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增仪 (美国 ABI 公司)、FYY-3 型分子杂交仪 (江苏省兴化市分析仪器厂)、Eppendorf 5810R 台式高速大容量冷冻离心机 (德国 Eppendorf

公司)、苏净安泰 BHC-1300 II A2 生物安全柜 (苏州安泰空气技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集及 DNA 提取 287 例肛门及肛管 CA 石蜡组织标本, 先去除其病变周围的石蜡, 随后将其石蜡组织切成厚度为 4 μm 的切片, 切 4 片。将切片放入 1.5 mL 离心管中, 加入裂解液 150 μL, 充分振荡混匀, 100 ℃ 水浴中加热 10 min, 13 000 r/min 离心 10 min, 取中间层 DNA 溶液待用。具体操作按说明书的步骤进行。

1.3.2 结果判定 (1) 检测完成后每张膜条上的 PC 位点一定要呈现出蓝色圆点; (2) 除 PC 位点出现蓝色圆点外, 阴性质控品的其他位点都不应呈现蓝色圆点; (3) 阳性质控品应在相应 HPV 基因型位点上出现蓝色圆点; (4) 每张膜条上相应的 23 种 HPV 型别位置上有杂交显色位点, 通过肉眼可观察 23 种 HPV 型别位点上呈现的蓝色圆点; (5) 除 PC 位点出现蓝色圆点外, 如果其他位点阳性信号出现 1 个为一重感染, 出现

* 基金项目: 南京市卫生局中医专项资助项目 (2009-92)。 作者简介: 曹嫵, 女, 主治医师, 主要从事 HPV 感染相关性疾病的研究工作。

△ 通讯作者, E-mail: dyc720@163.com。

2 个为二重感染,出现 2 个以上为多重感染。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,计数资料用率表示,采用 χ^2 检验或确切概率法,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

287 例 CA 患者中 HPV 阳性者 209 例,阴性者 78 例,HPV 感染率 72.82%(209/287)。

一重 HPV 感染 154 例,占 53.66%(154/287),一重感染中 HPV 6 型为 73 例,阳性检出率为 25.44%(73/287),是最主要的感染型别,其中,男性 45 例,阳性检出率为 15.68%(45/287);女性 28 例,阳性检出率为 9.76%(28/287)。HPV 11 型 71 例,阳性检出率为 24.74%(71/287),其中,男性 35 例,阳性检出率为 12.20%(35/287);女性 36 例,阳性检出率为 12.54%(36/287)。

多重 HPV 感染 55 例,其阳性检出率为 19.16%(55/287)。HPV 6+11 型 25 例,占多重感染的 45.46%(25/55),是多重感染的主要型别,其中,男性 13 例,占多重感染的 23.64%(13/55);女性 12 例,占多重感染的 21.82%(12/55)。HPV 6+18 型和 HPV 6+11+16 型各 3 例,各占多重感染的 5.46%(3/55)。

3 讨 论

HPV 是乳头瘤病毒属成员,属 DNA 病毒,它们是一类嗜上皮性病毒。人体的皮肤复层鳞状上皮和黏膜腺上皮是 HPV 的宿主。HPV 主要通过直接和间接两种方式在人与人之间传播,是造成 CA 的主要原因。CA 发病前多有不洁性接触史,潜伏期 1~8 个月不等,平均 3 个月。引起 CA 的 HPV 有 20 多种型别,女性发病率多于男性。HPV 容易在温暖潮湿的环境中生存和繁殖,故肛门和生殖器是最易感部位^[1-5]。目前,研究肛门及肛管 HPV 感染基因谱的资料不多,更缺乏大跨度、大样本的系统研究。本文对 287 例肛门及肛管 CA 的组织标本进行长达 29 年 HPV 感染基因分型的回顾性研究。

典型的 CA 损害初发时为小而柔软的淡红色丘疹,随着病程的延长逐渐增大,且数量逐渐增多,成为乳头瘤样、菜花样或蕈样赘生物,表面高低不平,质地柔软。如不及时治疗,疣体将逐渐增大,糜烂,继发感染。本文从 CA 组织中检测出了 14 种型别的 HPV,分为高危型和低危型两大类,以低危型为主,高危型为辅。肛门及肛管上皮感染 HPV 后是否出现临床表现主要取决于 HPV 类型、感染的部位及机体的状态,尤其是细胞免疫状态。临床所见肛门及肛管 CA 的病变可呈现单一病灶,也可多病灶同时出现,由于其部位特殊,绝大多数患者均表现为散在多发病灶。从 HPV 感染到 CA,再到巨型 CA 或 CA 癌变是一个循序渐进的过程。目前,病理组织学诊断将 CA 分为微小 CA、典型 CA 和巨大 CA 3 类^[3,5-6]。本文报道的 287 例患者的 CA 组织形态学属典型 CA。

高危型持续性 HPV 感染是诱发宫颈癌、肛门癌的主要原因,尤其要对有高危型别 HPV 感染的男双性恋者进行跟踪检测。如果男双性恋者成为 HPV 携带者,他们可能成为 HPV 传播的重要传染源。有学者建议一旦男性检测出 HPV 阳性,就应该对其实有效的管理,建议其尽早正规的治疗。由于男性在 HPV 感染相关疾病传播中起着非常重要的作用,如果能够切断男性 HPV 传播途径,两性 HPV 感染率会随之降低,HPV 感染相关癌症的发病率也会下降^[7-8]。肛门及肛管 CA 治疗后极易复发,这可能与肛周皮肤多皱褶的特殊解剖结构有关^[7-10]。

本研究发现,CA 组织标本中检出 HPV 阳性者 209 例,总

的 HPV 感染率为 72.82%(209/287)。其中一重 HPV 感染 154 例,阳性检出率为 53.66%(154/287);多重 HPV 感染 55 例,阳性检出率为 19.16%(55/287)。一重 HPV 感染中 HPV 6 型 73 例,阳性检出率为 25.44%(73/287);HPV 11 型 71 例,阳性检出率为 24.74%(71/287)。多重 HPV 感染中,HPV6+11 型 25 例,占多重感染的 45.46%(25/55); HPV 6+18 型和 HPV 6+11+16 型各 3 例,各占多重感染的 5.46%(3/55)。本研究结果提示肛门及肛管 CA 中不但有一重 HPV 感染,而且还有多重 HPV 感染,由于 HPV 感染率的不断攀升,HPV 的多重感染呈现出增加趋势。因女性外阴部 CA 的发病率远高于男性,且女性外阴距肛门很近,又没有阻隔物,因此,HPV 非常容易感染女性的肛门和肛管,从而诱发女性肛门和肛管 CA。

本研究结果发现男性的 HPV 感染率有增加的趋势。这一现象与我国男性同性恋的数量增加有关。临床医师尤其要重视有肛交史的男双性恋者,一旦他们成为 HPV 感染者就更容易导致 HPV 在两性之间的传播^[3,11-12]。从某种意义上来说,男双性恋者是 HPV 传播的“桥梁”,如果能够对男双性恋者进行有效管控和及时治疗,将对 HPV 感染诱发相关疾病的防治工作起到非常的大促进作用^[13]。

参考文献

[1] 杨慧兰. 病毒性皮肤病学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2008:174-195.

[2] 董云灿,耿建祥,张劲松,等. 1722 例已婚女性宫颈细胞中人乳头状瘤病毒基因的分型[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(7): 817-818, 820.

[3] 耿建祥,王旭波. 人乳头瘤病毒检测及其临床应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009:144-230.

[4] 耿建祥,樊志敏,丁义江,等. 805 例肛门直肠常见病变中人乳头瘤病毒 16 型和 18 型感染率的分析[J]. 中华胃肠外科杂志, 2011, 14(12): 958-960.

[5] 李海,邓志勇,张阳,等. 人乳头瘤病毒在阴茎鳞癌组织中的表达及意义[J]. 现代实用医学, 2010, 22(9): 391-393.

[6] 张金浩,耿建祥,吴崑岚,等. 结直肠肿瘤中人乳头瘤病毒感染的基因分析[J]. 医学研究生学报, 2011, 24(2): 154-157.

[7] 张金浩,耿建祥,樊志敏,等. 肛管及肛门区尖锐湿疣组织中乳头瘤病毒基因类型的研究[J]. 医学研究生学报, 2011, 24(11): 1129-1132.

[8] 赵敏,张万宏,董汉生,等. 尖锐湿疣复发危险因素分析[J]. 中国皮肤性病杂志, 2010, 24(4): 337-339.

[9] 张金浩,耿建祥,樊志敏,等. 257 例肛门及肛管尖锐湿疣组织 HPV 感染的基因分析[J]. 临床与实验病理学杂志, 2013, 29(5): 520-523.

[10] Papaconstantinou HT, Lee AJ, Simmang CL, et al. Screening methods for high-grade dysplasia in patients with anal condyloma [J]. J Surg Res, 2005, 127(1): 8-13.

[11] 杨挺,浦洁,谢平,等. 基因芯片对尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒的检测和基因分型[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(1): 97-99.

[12] 赵敏,董汉生,陈雷,等. 尖锐湿疣组织 HPV 基因芯片分型及型别分析[J]. 中国皮肤性病杂志, 2006, 20(8): 490-491.

[13] Giuliano AR, Tortolero-Luna G, Ferrer E, et al. Epidemiology of human papillomavirus infection in men, cancers other than cervical and benign conditions[J]. Vaccine, 2008, 26(1): 17-28.