

• 论 著 •

昆明地区患尖锐湿疣的性工作者人乳头瘤病毒基因分型研究

张桂前, 苏敏[△], 朱红艳, 孙 鹭, 高玉红

(云南省第一人民医院检验科, 云南昆明 650032)

摘 要:目的 分析患尖锐湿疣的性工作者人乳头瘤病毒(HPV)的基因分型。方法 该地区确诊为尖锐湿疣的性工作者 78 例, 采用核酸分子快速杂交基因芯片技术对尖锐湿疣患者进行 HPV 分型检测。结果 78 例患者中 HPV-DNA 阳性率 88.5% (69/78), 其中男性阳性率为 97.8% (45/46), 女性阳性率为 75.0% (24/32), 男性与女性的 HPV-DNA 阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2=9.633, P<0.05$)。69 例 HPV-DNA 阳性标本总共检出 10 个 HPV 亚型, 分别为 6、11、18、16、53、58、31、52、39、33 亚型, 检出率最高的亚型为 6 型, 其次为 11 亚型。69 例 HPV-DNA 阳性标本中, 单一亚型感染 43 例, 占 62.3%; 2 个亚型感染(二重感染)26 例, 占 37.7%。45 例男性 HPV-DNA 阳性标本中二重感染 12 例, 占 26.7%; 24 例女性 HPV-DNA 阳性标本中二重感染 14 例, 占 58.3%, 不同性别的 HPV-DNA 阳性标本二重感染所占比例比较差异有统计学意义($\chi^2=6.693, P<0.05$)。结论 该地区患尖锐湿疣的性工作者人乳头瘤病毒基因分型以低危型 6 型、11 型为主。

关键词:尖锐湿疣; 人乳头瘤病毒; 基因型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)02-0211-02

Analysis on human papillomavirus genotype in sex workers with condyloma acuminatum in Kunming

Zhang Guiqian, Su Min[△], Zhu Hongyan, Sun Yi, Gao Yuhong

(Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Yunnan, Kunming, Yunnan 650032, China)

Abstract: **Objective** To analyze the result of human papillomavirus(HPV) genotype in sex workers with condyloma acuminatum(CA). **Methods** HPV genotype were detected in 78 sex workers with CA by rapid nucleic acid molecule microarray hybridization. **Results** The positive rate of HPV-DNA was 88.5% (69/78), and the positive rate of HPV-DNA in males [97.8% (45/46)] was significant different($\chi^2=9.633, P<0.05$) compared with that in females [75.0% (24/32)]. A total of 10 subtypes (6, 11, 18, 16, 53, 58, 31, 52, 39, 33 type) were detected in 69 positive samples, the high positive rate was subtype 6, followed by subtype 11. There were 43 (62.3%) patients with single infection and 26 (37.7%) patients with two kinds of subtypes infection in 69 patients. 26.7% (12/44) of male patients and 58.3% (14/24) of female patients were infected by two kinds of subtypes, the infection rates of two kinds of subtypes in different gender had significant difference($P<0.05$). **Conclusion** The major of HPV gene-type in Kunming were low-risk types 6 and 11.

Key words: condyloma acuminatum; human papillomavirus; genotype

尖锐湿疣是由人乳头瘤病毒(HPV)感染引起的一种较为常见的性传播疾病, 呈全球流行趋势^[1]。其发病率逐年增加, 已成为仅次于淋病的第二大性传播疾病。尖锐湿疣常以亚临床形式存在, 传染性强, 复发率高, 临床治疗较为棘手。人乳头瘤病毒与尖锐湿疣的发生、发展、癌变有密切的关系, 高危人群需定期筛查 HPV 分型。为了解本地区患尖锐湿疣的性工作者人乳头瘤病毒的感染情况, 本研究采用了基因芯片技术对 78 例确诊为尖锐湿疣的性工作者疣体组织及分泌物进行 HPV 分型检测。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本地区从事性工作者 78 例, 按照卫生部疾病控制司制定的尖锐湿疣诊断标准确诊为尖锐湿疣。其中男 46 例, 女 32 例; 年龄 18~53 岁, 平均 24 岁。

1.2 仪器与试剂 HPV 核酸扩增分型检测试剂盒, 由潮州凯普生物化学有限公司提供。SLAN8.0 实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪, 由上海宏石生物仪器公司提供。HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪, 由广东凯普生物仪器有限公司提供。

1.3 标本采集 从生殖器及肛周部位的尖锐湿疣皮损表面刮取疣体组织及分泌物, 置于加有 HPV 专用细胞保存液的取尿管中, 4℃冰箱中保存, 两周内完成检测。

1.4 检测方法

1.4.1 基因分型原理 本研究采用了基因扩增技术及导流杂交原理, 对包括 6、11、16、18、31、33、35、39、42、43、44、45、51、52、53、56、58、59、66、68 和 CP8304 等 21 种 HPV 基因型进行分型检测。HPV-DNA 阳性率=HPV-DNA 阳性例数/检测总例数, 各基因亚型的检出率=各基因亚型的检出例数/检测总例数。

1.4.2 DNA 的分离提取 采用凯普公司提供的试剂盒, 严格按照说明书上的操作步骤提取 DNA, 最后取 1 μL 提取好的 DNA 模板进行 PCR 扩增。剩余 DNA 标本存储于 -20℃ 备用。

1.4.3 DNA 扩增 采用 SLAN8.0 实时荧光定量 PCR 仪进行 DNA 扩增, 将 PCRMix(23.25 μL)、Taq 酶(0.75 μL)、DNA 模板(1 μL)混匀, 扩增反应体系为 25 μL。扩增程序为: 95℃ 预变性 9 min, 按照 95℃ 20 s, 55℃ 30 s, 72℃ 30 s, 循环 40 次, 然后 72℃ 延伸 5 min, 最后 95℃ 变性 5 min。变性后的扩增产物 -20℃ 保存备用。

1.4.4 导流杂交 采用凯普公司的杂交试剂盒和 HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪进行杂交分型。检测结果阳性点为清晰可见的蓝紫色圆点, 每个杂交膜上的生物素结合点及内控点必须显色, 否则试验视为无效。试验结束后, 在 1 h 内分析结果。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。计数资料采用 n 或率表示,组间比较采用 χ^2 比较, $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV-DNA 阳性率比较 78 例患者中, HPV-DNA 阳性率为 88.5%(69/78)。其中男性阳性率为 97.8%(45/46), 女性阳性率为 75.0%(24/32), 男性与女性的 HPV-DNA 阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2=9.633, P<0.05$)。

2.2 HPV-DNA 阳性标本的基因分型及感染情况 69 例 HPV-DNA 阳性标本中共检出 10 个 HPV 亚型, 检出率最高的亚型为 6 型, 检出率为 71.0%, 其次为 11 亚型, 检出率为 40.6%。69 例 HPV-DNA 阳性标本中, 单一亚型感染 43 例, 占 62.3%; 2 个亚型感染(二重感染)26 例, 占 37.7%。检出的 10 个亚型中, 只有 6、11、18 亚型既存在单一感染, 也存在二重感染; 其余亚型均为二重感染, 无单一感染; 78 例标本中未检出 3 种及以上亚型感染。见表 1。

表 1 HPV-DNA 阳性标本的基因分型及多重感染情况($n=69$)

HPV 基因型	单一感染(n)	二重感染(n)	检出率[n (%)]
6 型	23	18	41(71.0)
11 型	18	10	28(40.6)
18 型	2	7	9(13.0)
16 型	0	7	7(1.0)
53 型	0	3	3(4.4)
58 型	0	2	2(2.9)
31 型	0	2	2(2.9)
52 型	0	1	1(1.4)
39 型	0	1	1(1.4)
33 型	0	1	1(1.4)

2.3 不同性别的 HPV-DNA 阳性标本感染情况比较 45 例男性 HPV-DNA 阳性标本中以单一亚型感染为主, 共 33 例, 占 73.3%; 二重感染 12 例, 占 26.7%。24 例女性 HPV-DNA 阳性标本中以二重感染为主, 共 14 例, 占 58.3%; 单一感染 10 例, 占 41.7%。不同性别的 HPV-DNA 阳性标本二重感染所占比例比较差异有统计学意义($\chi^2=6.693, P<0.05$)。

3 讨 论

HPV 是一种小分子双链 DNA 病毒, 是目前已知的唯一能引起人类上皮组织增生性病变, 即各种上皮疣的病毒。目前, 已发现 HPV 有 100 余种亚型可引起泌尿生殖系统的感染, 其中 35 种 HPV 亚型与尖锐湿疣相关。尖锐湿疣常以亚临床形式存在, 传染性强、复发率高。由于 HPV 主要存在于细胞内, 并与感染细胞共生, 病毒抗原与免疫细胞接触很少, 故极少发生抗原释放和抗原呈递, 使机体不能产生有效的免疫应答, 因而病毒不易被机体的免疫系统清除, 使尖锐湿疣易于复发或病毒始终处于潜伏状态, 临床治疗较困难^[2]。目前研究认为, 不同 HPV 亚型引起的尖锐湿疣, 其复发率和复发时间不同^[3]。

本研究采用了基因扩增技术及导流杂交原理, 通过反向点杂交检测扩增产物与包被有型特异性的探针膜杂交, 采用碱性磷酸酶系统定性检测, 从而对 21 种 HPV 基因型进行分型检测。

本研究中共检测了 78 例已被临床确诊为尖锐湿疣患者的疣体组织及分泌物标本, 其中 HPV-DNA 检测阳性 69 例, 阴

性 9 例, 阴性标本可能存在检测范围以外的其他亚型感染, 或受标本采集质量的影响呈阴性。78 例患者中男性 HPV-DNA 阳性率为 97.8%; 女性阳性率为 75%。本研究中男性的 HPV-DNA 阳性率与杨挺等^[4]及谭娟等^[5]报道结果一致。女性阳性率与李东明等^[6]报道的结果相近, 高于李丹等^[1]的报道, 这可能与不同地区 HPV 感染情况存在差异及所选择的感染人群不同等因素有关。本研究检出的 10 个 HPV 亚型中, 检出率居前四位的亚型依次为 6、11、18、16 亚型, 提示 6、11 亚型是尖锐湿疣感染的主要亚群, 与国内外相关研究报道一致^[7-8]。说明引起尖锐湿疣的 HPV 亚型相对稳定, 6、11 亚型仍是主要感染亚型。而尖锐湿疣感染 HPV 的高危亚型以 18、16 常见, 这与普通人群感染情况类似。

本研究中, 69 例 HPV-DNA 阳性标本中, 男性 45 例以单一感染为主; 女性 24 例以二重感染为主, 女性二重感染的比例明显高于男性, 这与胡小平等^[9]的报道一致。分析其原因可能因尖锐湿疣的感染主要通过性接触传播, 而女性性工作者性伴侣更为混杂, 且女性患者大多伴有其他生殖系统疾病, 如阴道炎、宫颈炎、盆腔炎等, 使机体的黏膜屏障受到破坏, 机体抵抗力下降, 故女性 HPV 多重及多次感染的概率增加。虽然本研究中男性以低危型感染和单一感染为主, 但仍有一定比例的高危型感染, 且由于男性在两性 HPV 传播上负有主要责任, 可同时将 HPV 传染给男性和女性, 加上男同性恋中安全套的使用率非常低, 故男性尖锐湿疣的危害大, 传染性强, 应积极对男性患者进行干预治疗和追踪检测。本研究中 78 例患者未检出三重及以上感染, 可能与收集的标本数量有限有关。

性工作者大多文化程度低, 未婚者居多, 且人群流动性强, 是性病传播的主要传染源, 因而是性病防治的高危人群。对高危人群及其性伴侣进行严格、定期的检查, 提倡安全性行为, 是防治疾病扩散和疾病复发的主要途径。尖锐湿疣患者发生癌变的风险较高, 故定期对这类患者进行 HPV 的基因分型检测是非常有必要的。

参考文献

[1] 李丹, 张霞, 曾碧冰. 203 例女性外阴尖锐湿疣患者宫颈 HPV 基因型检测及分析[J]. 中国性科学, 2012, 21(3): 26-29.

[2] 周平玉. 尖锐湿疣的治疗进展[J]. 中国男科学杂志, 2002, 16(3): 171-173.

[3] 李娟, 宋守荣, 魏羽佳, 等. 尖锐湿疣 66 例 HPV 检测及基因分型分析[J]. 中国皮肤性病科学杂志, 2010, 24(2): 142-144.

[4] 杨挺, 浦洁, 张滨, 等. 100 例男性尖锐湿疣皮损人乳头瘤病毒基因亚型的分布及意义[J]. 中国男科学杂志, 2010, 24(6): 40-43.

[5] 谭娟, 徐顺明, 蔡海斌, 等. 男性尖锐湿疣皮损 HPV 基因芯片型别分析[J]. 中国皮肤性病科学杂志, 2012, 26(3): 196-199.

[6] 李东明, 陈科, 唐斌, 等. 外阴尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒分型研究[J]. 临床和试验医学杂志, 2013, 12(2): 117-119.

[7] Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen[J]. Int J Cancer, 2004, 111(2): 278-283.

[8] 阮建波, 陈冬萍, 朱瑞清, 等. 302 例尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒基因型检测及分析[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2011, 18(1): 37-39.

[9] 胡小平, 王勇强, 叶蓉, 等. 1619 例尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒基因型检测及分析[J]. 中国中西医结合皮肤性病科学杂志, 2012, 11(6): 345-347.