

• 论 著 •

解脲支原体与人乳头瘤病毒感染相关性研究

李国玉¹,池细弟²,高世华³

(福建医科大学附属南平市第一医院检验科,福建南平 353400)

摘要:**目的** 探讨解脲支原体(UU)感染与人乳头瘤病毒(HPV)感染相关性。**方法** 回顾性分析 348 例来本院妇产科就诊患者,采集宫颈分泌物标本,使用荧光定量 PCRABI7300 检测仪,对该标同时检测人乳头瘤病毒 DNA 常见高危型(16、18、31、33、45、52、56、58)及解脲支原体 DNA,设置两组数据,第一组以 UU DNA 阳性为实验组,UU DNA 阴性为对照组,对两组数据进行常见高危型 HPV DNA 检出阳性率进行分析。第二组数据以 UU DNA 拷贝数大于 10⁴ 为阳性对照,以 UU DNA 拷贝数小于 10⁴ 为阴性对照,两组数据进行常见高危型 HPV DNA 检出阳性率进行分析。**结果** 第一组数据 UU DNA 检出率达到 67.5% (235/348),UU 阳性 HPV DNA 检出率为 14.89% (35/235),UU 阴性 HPV DNA 检出率 7.07% (8/113),两组数据比较, $\chi^2=4.302\ 3,P<0.05$,差异有统计学意义。第二组数据 UUDNA 拷贝数大于 10⁴ HPV 检出率为 17.75% (30/169),UU DNA 拷贝数小于 10⁴ HPV 检出率为 7.57% (5/66),两组数据比较 $\chi^2=3.877\ 3,P<0.05$,差异有统计学意义。**结论** 解脲支原体的感染与人乳头瘤病毒的感染具有相关性,UU 感染会增加 HPV 感染机会,且随着 UU 含量的增加而增加。

关键词:解脲支原体; 人乳头瘤病毒; DNA; 宫颈癌
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.037 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)07-0950-03

Correlation between ureaplasma urealyticum and human papilloma virus infection

Li Guoyu¹,Chi Xidi²,Gao Shihua³

(Department of Clinical Laboratory,Affiliated Nanping First Hospital,Fujian Medical University,Nanping,Fujian353400,China)

Abstract: Objective To investigate the correlation of Ureaplasma urealyticum (UU) infection and human papillomavirus (HPV) infection. **Methods** 348 outpatients in the obstetrics and gynecology clinic of our hospital were performed the retrospective analysis. The cervical secretion samples were collected and simultaneously detected the common high risk types of HPV DNA (16, 18, 31, 33, 45, 52, 56, 58) and UU DNA by using fluorescence quantitative PCRAB7300 detecting instrument. The two groups of data were set. In the first group, UU DNA positive was taken as the experimental group and UU DNA negative as the control group, the data in the two groups were performed the detection positive rate analysis of common high-risk HPV DNA. In the second group of data, UU DNA copy number greater than 104 was taken as the positive control and UU DNA copy number less than 104 as the negative control, two groups of data were performed the detection positive rate analysis of common in high-risk HPV DNA. **Results** In the first group of data, the UU DNA detection rate reached 67.5 (235/348), the HPV DNA detection rate with UU positive was 14.89% (35/235), while which with UU negative was 7.07% (8/113), the difference between the two groups of data had statistically significant ($\chi^2=4.302\ 3,P<0.05$). In the second group of data, the HPV detection rate with UUDNA copy number greater than 104 was 17.75% (30/169), while which with UU DNA copy number less than 104 was 7.57% (5/66), the difference between the two groups of data was statistically significant ($\chi^2=3.877\ 3,P<0.05$). **Conclusion** UU infection has a correlation with HPV infection, UU infection will increase the probability of HPV infection, moreover with UU content increase, the HPV infection is increased.

Key words: ureaplasma urealyticum; HPV; DNA; cervical cancer

解脲支原体是性传播的重要病原体,主要引起泌尿生殖系统的感染,如非淋球菌尿道炎、阴道炎、宫颈炎、自然流产和不孕不育等,随着人们对它的日益重视,支原体的检查渐成了常规检查项目,近年来支原体感染成逐年上升趋势。子宫颈癌是女性常见恶性肿瘤,在全球范围内每年约有 50 万新发病例,中国占 1/4,特别是农村偏远地区,发病率尤高^[1],而高危型人乳头瘤病毒感染是宫颈癌及癌前病变的主要因素^[2]。本文就 UU 感染对 HPV 感染相关性进行研究探讨,为防治宫颈癌的发生提供诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机抽取 348 例来本院妇产科就诊女性患者,年龄 17~58 岁,临床表现大多为阴道炎,宫颈炎,少数患者

无明显症状。
1.2 标本采集 女性患者以阴道窥器扩张阴道后用无菌棉球将宫颈分泌物擦干净后,将无菌棉拭子伸入宫颈 1~2 cm,逆时针方向转 3 圈并停留 10 秒,取宫颈壁上分泌物置于 1 mL 灭菌注射用水中充分震荡,将液体移至 1.5 mL EP 管中-20℃ 冷藏备用。
1.3 仪器与试剂 UU DNA 及 HPV 常见高危型 DNA 由中山大学达安基因股份有限公司提供,操作按照试剂盒说明书进行,仪器为 ABI7300 荧光定量 PCR 检测仪。
1.3.1 结果判断 UUDNA 阴性结果判定:如果增长曲线不呈 S 型曲线或 CT 值为空白,则实验结果判为小于 5.0×10² 基因拷贝数;UUDNA 阳性结果判定:如果增长曲线呈 S 型曲

作者简介:李国玉,男,主管技师,主要从事微生物检验研究。

线,且 CT 值小于 27,则若实验结果样品的 $Qty \leq 1.0 \times 10^8$,则样品的 DNA 水平 = $Qty/20$ 基因拷贝数;则若实验结果样品的 $Qty \geq 1.0 \times 10^8$,则判读样品的 DNA 水平 $> 5.0 \times 10^6$;实验灰度区;如果 $27 < CT$ 值小于 30,则为实验灰度区,需要重复实验一次,若重复实验结果如果增长曲线呈 S 型曲线且 CT 值 < 30 ,判读为阳性,该样品的 DNA 水平 = $Qty/20$ 基因拷贝数;否则判为样品 DNA 水平小于 5.0×10^2 基因拷贝数。HPVDNA 如果增长曲线呈 S 型曲线,CT 值小于 27 为阳性,如果 CT 值为 $27 \sim < 30$,则为实验灰度区,需要重复实验一次,若重复实验结果 CT 值小于 30 为阳性,否则为阴性。

1.4 方法 设置两组数据,第一组数据以 UU 阳性为实验组, UU 阴性为对照组,对两组数据进行 HPV DNA 检出阳性率进行分析。第二组数据以 UU DNA 拷贝数大于 10^4 为阳性对照,以 UU DNA 拷贝数小于 10^4 为阴性对照,两组数据进行 HPV DNA 检出阳性率进行分析。

1.5 统计学处理 采用计数资料的比较行卡方检验, $\chi^2_{0.05} = 3.84$, $\chi^2_{0.01} = 6.63$,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义进行处理。

2 结 果

2.1 UU 检出率达到 67.5%(235/348),UU 阳性 HPV 检出率为 14.89%(35/235),UU 阴性 HPV 检出率 7.07%(8/113),两组数据比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 4.3023$, $P < 0.05$),提示,HPV 感染与 UU 感染具有相关性,见表 1。

表 1 不同组别 HPV DNA 检出结果比较(n)

组别	结果		合计
	HPVDNA(+)	HPVDNA(-)	
实验组(UU 阳性)	35	200	235
对照组(UU 阴性)	8	105	113
合计	43	305	348

2.2 第二组数据 UU DNA 拷贝数大于 10^4 HPV 检出率为 17.75%(30/169),UU DNA 拷贝数小于 10^4 HPV 检出率为 7.57%(5/66),两组数据比较 $\chi^2 = 3.8773 > 3.84$, $P < 0.05$,差异有统计学意义,提示 UU DNA 拷贝数大于 10^4 ,其 HPV 感染机会也在增加,见表 2。

表 2 对比两组数据 JPV DNA 检出结果(n)

组别	结果		合计
	HPVDNA(+)	HPVDNA(-)	
实验组(UU DNA $> 10^4$)	30	139	169
对照组(UU DNA $< 10^4$)	5	61	66
合计	35	200	235

3 讨 论

支原体是一类缺乏细胞壁、形态上呈高度多形性、能通过除滤菌器、在无生命培养基中能生长繁殖的最小原核细胞型微生物。UU 能紧紧黏附于易感宿主细胞膜表面受体上,这种黏附细胞的特性成为支原体的致病性条件。当机体免疫力低下或黏膜受损时支原体感染人体,一般黏附于泌尿生殖道上皮细胞表面的受体上,导致细胞损伤而使炎症上行,引起非淋菌性尿道炎、尿路结石、前列腺炎、肾盂肾炎、女性盆腔炎、阴道宫颈感染等多种疾病,并与女性不孕、习惯性流产及胎儿宫内发育迟缓等有关^[3-4]。

宫颈癌是全球妇女最常见的恶性肿瘤之一,发病率在女性恶性肿瘤中居第 2 位,仅次于乳腺癌^[5],且发病率逐年上升,预防和控制宫颈癌的关键是早期诊断和治疗癌前病变。现在已经证明,高危型人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染是宫颈癌及癌前病变发病的主要危险因素,分子生物学研究结果显示,90%以上的宫颈癌伴有 HPV 感染^[2]。HPV 是一种无包膜的双链闭环小分子 DNA 病毒,属于多孔病毒科乳头瘤病毒属,其感染具有种属特异性,主要感染人的皮肤或黏膜上皮细胞,引发感染部位的良、恶性病变,女性宫颈是 HPV 的易感部位,同时也是其他妇科常见病原体的寄居部位。迄今已确定基因组全序列的 HPV 基因型有 85 种,目前已知 HPV6、11、42、43、44 等属于低危型,一般不诱发癌变,主要引起肛门皮肤及男性外生殖器、女性大小阴唇、尿道口、阴道下段外生性疣类病变和低度宫颈上皮内瘤变,而 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 属于高危型,高危型 HPV 感染是宫颈癌和癌前病变宫颈上皮内瘤的主要致病因子^[6]。由于本实验室 HPV DNA 检测只包含常见高危型(16、18、31、33、45、52、56、58)8 个型,已经在上述高危型的型别范围内,但其他型别不在结果范围内,因此本实验结果只能对这 8 个型 HPV DNA 检测有效。

本文就 UU 与 HPV 感染相关性进行研究,抽取来本院就诊的 348 例患者中, UU DNA 的检出率达到 67.5%(235/348),这与一些研究报道 UU 在性成熟女性生殖道中的分离率非常高^[7]是很吻合的。而 UU DNA 阳性 HPV DNA 检出率为 14.89%(35/235), UU DNA 阴性 HPV DNA 检出率 7.07%(8/113),两组数据比较, $\chi^2 = 4.3023 > 3.84$, $P < 0.05$,差异有统计学意义,说明 UU 感染的患者更容易引起 HPV 的感染机会,同时 UU DNA 拷贝数大于 10^4 HPV DNA 检出率为 17.75%(30/169), UU DNA 拷贝数小于 10^4 HPV DNA 检出率为 7.57%(5/66),两组数据比较 $\chi^2 = 3.8773 > 3.84$, $P < 0.05$,差异有统计学意义,提示这 8 个型 HPV 感染的增加可能会随着 UU 在女性生殖道的数量的增加而增加。迄今已有报道 UU 可在性成熟女性生殖道中处于正常携带状态^[8], UU 代谢产生的尿素酶、IgA 蛋白酶、磷脂酶 A 和 C 及多带抗原蛋白可引起细胞膜的损伤和组织的破坏,其中尿素酶可分解尿素产生氨,可引起 PH 值得改变,不仅有利于一些细菌的定植,对细胞也有毒害作用, IgA 蛋白酶能破坏泌尿生殖道黏膜,损害免疫系统^[9],能在细胞分化过程中导致染色体的丢失和移位,因此可能促进了细胞染色体变异和病毒的持续感染^[10]。UU 感染患者尤其是 UU DNA 拷贝数大于 10^4 对 HPV 感染有促进作用,应视为 HPV 感染的高危人群,应进行 HPV 高危型的筛查。UU 感染可能对癌前病变及宫颈癌的发生有协同作用,因此预防解脲支原体感染对预防由 HPV 感染诱发的宫颈癌可能具有积极意义。

参考文献

[1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(1): 69-90.

[2] 李素红. HPV 与宫颈癌的研究进展[J]. 肿瘤研究与临床, 2005, 17(6): 430-432.

[3] Taylor-Robinson D, Lamont RF. Mycoplasmas in pregnancy[J]. BJOG, 2011, 118 (2): 164-174.

[4] Bayraktar MR, Ozerol IH, Gucluer N, et al. Prevalence and antibiotic susceptibility of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in pregnant women[J]. International J(下转第 953 页)

2 结 果

2.1 检测结果 甲亢患者整体组(A组)、甲亢患者肝损害组(B组)、甲亢患者肝未损害组(C组)LAP和FT₃、FT₄、TSH与对照组(D组)对比差异均有统计学意义($P<0.01$);甲亢患者肝损害组(B组)与甲亢患者肝未损害组(C组)对比差异无统计学意义,见表1。

表 1 各组间血清 LAP 和 FT₃、FT₄、TSH 含量比较(̄x±SD)

组别	FT ₃	FT ₄	TSH	LAP
D组	4.96±0.74 [△]	12.66±2.25 [△]	1.68±1.04 [△]	52.19±7.95 [△]
A组	23.30±10.49	54.92±25.90	0.05±0.04	73.87±19.08
B组	22.16±10.39*	49.92±15.08*	0.04±0.03*	74.42±23.15*
C组	24.21±10.58	58.92±31.59	0.05±0.04	73.42±15.26

△: $P<0.01$, 分别与 A、B、C 组比较; *: $P>0.05$ 。与 C 组比较。

2.2 相关性分析 对于初次就诊为甲亢患者,血清LAP与FT₃、FT₄呈正相关(r 分别为0.610,0.622, P 均 <0.05),血清LAP与TSH呈负相关(r 为-0.738, $P<0.05$)。

3 讨 论

甲亢是由各种原因导致甲状腺激素分泌过多引起机体神经、循环、消化及心血管系统等多系统的一系列高代谢综合征。

笔者发现文献中分析讨论甲亢对肝功能损害的问题中以AST、ALT、GGT、ALP为多,但对LAP的报道比较少见。而且甲亢肝功能异常大多无明显指征表现^[5],故临床不能以无肝功能异常临床表现症状而忽略早期的检查,但血LAP为临床早期预防、识别、和诊断甲亢肝损害提供参考依据。同时也为正确使用保肝降酶药物找到理论依据。究其原因,笔者认为有以下影响因素:(1)甲亢时血液中过多的甲状腺素对肝脏产生直接毒性作用,导致肝循环障碍,自身免疫反应造成肝细胞损伤,继而线粒体中LAP释放入血液引起血LAP增高。(2)甲亢时机体代谢增高,内脏和组织耗氧量明显增加,使肝脏相对缺氧。动脉血流量增加,流速加快,肝动脉末梢与门脉枝的压力调节机制被破坏肝内正常压力不易维持,周围血窦充血扩张,继而出血压迫肝细胞造成肝萎缩^[6],引起血清LAP释放过多。本组资料显示甲亢肝损害患者组LAP明显高于健康对照组,两者比较差异有统计学意义($P<0.01$),甲亢肝损害患者组LAP阳性率为65.9%,与田行芳等^[7]甲亢性肝损害未治疗组基本一致。

本组资料显示,甲亢肝未损害组LAP明显高于健康对照组,原因主要有:(1)由于甲状腺素的合成和分泌受下丘脑-腺垂体-甲状腺轴调节,血液中FT₃、FT₄水平升高,两者均为酪氨酸含碘衍生物,还可通过脱氨基、羧基等方式^[8]代谢致使血LAP升高。(2)甲亢时受TRH-TSH-甲状腺轴影响亮氨酸脑啡肽(L-EK)含量上升,微粒体亮氨酸氨肽酶(mAAP)被认为可以水解脑啡肽中酪氨酸(Tyr)1-甘氨酸(Gly)2的连接从而使LAP升高。初诊甲亢患者治疗前,血清LAP与FT₃、FT₄呈高度正相关(r 分别为0.610,0.622, P 均 <0.05),血清LAP与TSH呈高度负相关(r 为-0.738, $P<0.05$)。这进一步证实了甲状腺激素对LAP的影响。

在本试验中,甲亢肝损害组、甲亢肝未损害组与对照组对比有差异,但其2组资料比较差异无统计学意义,说明同样可以通过检测LAP来反映甲亢患者病情和疗效方面的变化。FT₃、FT₄、TSH可以反映甲亢患者病情变化和疗效等方面的特征,二者之间存在相关性,说明LAP与甲亢关系密切可以作为甲亢患者的一个独立诊断指标。当然由于甲状腺功能紊乱与糖、蛋白和脂肪等代谢有密切关系外,自身免疫反应^[8]在病理机制中也起到重要作用,所以联合项目检测更具诊断意义,笔者也将待做进一步的研究。

参考文献

[1] 纪晓霞,陈林. 亮氨酸氨基肽酶的基础研究及临床应用[J]. 海峡药 学,2011,12(2):175-177.

[2] 袁朝伟,李键. Graves 甲亢并肝功能损害肝炎标志物的测定[J]. 四川医学,2012,33(11):1962-1963.

[3] 李凤英,陈家伦,陈名道,等. 亮氨酸脑啡肽与 TRH-TSH-甲状腺 轴互相影响的研究[J]. 放射免疫杂志,2001,14(1):7-10.

[4] 白耀. 甲状腺病学:基础与临床[M]. 北京:科学技术文献出版社, 2003:389-390.

[5] 刘丽萍. 甲亢性肝损害的临床诊治[J]. 中国实用医药,2010,34 (1):105-106.

[6] 宋佩君,翁彭剑,高国生. 血清亮氨酸氨基肽酶检测在肝病中的临 床价值[J]. 现代实用医学,2010,22(11):1300-1301.

[7] 田行芳,施秉银. Graves 病患者甲亢性肝损害及其相关因素分析 [J]. 西安交通大学学报:医学版,2010,31(2):206-207.

[8] 周新,府伟灵. 临床生物化学与检验[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010:344-345.

(收稿日期:2014-11-18)

(上接第 951 页)

Infevtious Diseases,2010,14(1):90-95.

[5] Pao CC,Seng CI,Lin CY,et al. Different expression of telomerase activity in human cervical intraepithelial neo-plasia lesions[J]. J Clin Oncol,1997,5(15):1932-1936.

[6] Torres LA,Pojo HG,Torres RA,et al. Cervical cancer: Current view of its epidemiology and risk factors[J]. Gynecol Obstet Mex, 2004,72(4):466-474.

[7] Cadillo-Ramirez L,Gil C,Zago I,et al. Assoication of mycoplasma-himinis and ureaplasma urealyticum with some indicators cf nonspecific vaginitis[J]. Rev Latinoam Microbiol,2000,42(1): 2.

[8] 于红,任慕兰,王蓓. 女性生殖道支原体感染的研究进展[J]. 中国 妇幼健康研究,2007,18(6):531-533.

[9] Domingues D,Tavira LT,Duarte A,et al. Ureaplasma urealytic- um biovar determination in women attending a family planning clinic in Guine-Bissau, using polymerase chain reaction of the mul- tiple-banded antigen gene[J]. J Clin Lab Anal,2002,16(1):71-75.

[10] Gonzalez-Santiago O,Aguirre-Flores D,Balderas-Renteria I et al. Awareness that HPV is a risk factor for cervical cancer in North- east Mexico[J]. Salub Publica de Mexico,2011,53(5):367.

(收稿日期:2014-11-18)