

• 论 著 •

691例女性外阴尖锐湿疣组织HPV感染基因分型的研究*

龙秀荣¹, 姜锦贵², 耿建祥^{3△}, 喻朝霞³, 夏林³, 王宏景³, 梅静³, 李东斌³, 赵雪³

(1. 江苏省南京市六合区人民医院病理科, 南京 211500; 2. 江苏省金湖县人民医院病理科, 江苏金湖 211600; 3. 南京中医药大学第三附属医院病理科/江苏省 HPV 协作组, 南京 210001)

摘要:目的 探讨 691 例江苏省南京市及镇江市女性外阴尖锐湿疣(CA)组织中人乳头瘤病毒(HPV)感染基因型分布状态和分型的临床意义。方法 采用基因扩增结合基因芯片技术对江苏省南京市 665 例及镇江市 26 例女性外阴尖锐湿疣组织标本进行 23 种 HPV 分型检测, 并对患者的相关资料进行分析。结果 691 例女性外阴尖锐湿疣患者检出 HPV 感染者 597 例, 总 HPV 感染率为 86.40% (597/691), 其中一型感染率为 51.38% (355/691), 以 11、6 和 16 型最为常见, 分别占一型感染 51.55% (183/355)、41.97% (149/355) 和 3.38% (12/355)。多型感染率为 35.02% (242/691), 以 6+11 型、11+18 型、6+16 型和 11+16 型为主, 其分别占多型感染 9.92% (24/242)、9.09% (22/242)、4.96% (12/242) 和 4.13% (10/242)。结论 南京市及镇江市女性外阴 CA 组织中 HPV 感染, 以低危型感染为主, 高危型感染为辅, 行外阴 CAHPV 分型检测, 对我国女性外阴 CA 和宫颈病变的防治具有十分重要的意义。

关键词:外阴; 尖锐湿疣; 人乳头瘤病毒; 基因分型; 女性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.17.006

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)17-2350-03

The study of HPV infection genotyping in vulva condyloma acuminate tissues of 691 women*

LONG Xiurong¹, JIANG Jingui², GENG Jianxiang^{3△}, YU Zhaoxia³, XIA Lin³,
WANG Hongjing³, MEI Jing³, LI Dongbin³, ZHAO Xue³

(1. Department of Pathology, Liuhe District People's Hospital, Nanjing, Jiangsu 211500, China; 2. Department of Pathology, Jinhu County People's Hospital, Jinhu, Jiangsu 211600, China; 3. Department of Pathology, the Third Affiliated Hospital of Nanjing Traditional Chinese Medical University / HPV Collaboration of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210001, China)

Abstract: Objective To explore the clinical distribution states of human papillomavirus genotypes in tissues of 691 women with vulva condyloma acuminates in Nanjing city and Zhenjiang city in Jiangsu Province and genotyping clinical significance. **Methods** Polymerase chain reaction(PCR)and gene-chips technology were utilized for the detection of 23 kinds of HPV genotypes in tissue specimens from 619 women of vulva condyloma acuminates in Nanjing city and Zhenjiang city in Jiangsu Province. And related materials of all subjects were analyzed. **Results** In 691 women of vulva condyloma acuminates, 597 women of HPV infection, total infection rate of HPV was 86.40% (597/691), including single genotype infection rate of HPV was 51.38% (355/691), 11、6 and 16 genotypes are the most common in single genotypes, they are successively 51.55% (183/355)、41.97% (149/355) and 3.38% (12/355). multiple genotypes infection rate of HPV was 35.02% (242/691), 6+11、11+18、6+16 and 11+16 genotypes are the most common in multiple genotypes, they are successively 9.92% (24/242)、9.09% (22/242)、4.96% (12/242) and 4.13% (10/242). **Conclusion** The low-risk HPV types are the main factors to cause the female vulva CA, a few high-risk HPV types may cause warts as well in tissues of women with vulva condyloma acuminates in Nanjing city and Zhenjiang city in Jiangsu Province. The vulva examine of HPV types should be held to the vulva CA patients. This precaution will has extremely important meaning to the prevention and treatment of the female vulva CA and cervical lesion in our nation.

Key words: vulva; condyloma acuminata; human papillomavirus; genotyping; women

人乳头瘤病毒(HPV)感染是导致良性肿瘤如尖锐湿疣及某些外阴癌的前驱病变——外阴上皮内瘤变(VIN)和外阴癌的发生。生殖器尖锐湿疣是一类主要通过性传播的良性肿瘤, 可累及外阴、阴道、宫颈、尿道、肛门和肛周皮肤^[1-4]。根据不同的研究人群, HPV 感染率差异性很大。临幊上明显的外阴病变比宫颈病变 HPV 感染少见。HPV6 型和 HPV11 型是引起典型生殖道尖锐湿疣的最常见的 HPV 类型。由于高危型 HPV 感染是宫颈癌发生发展的必要因素。尖锐湿疣组织中又往往有或伴有高危型 HPV 感染, 除引起女性外阴尖锐湿疣癌

变和癌变外, 也可以通过性传播的方式, 导致宫颈的 HPV 感染, 诱发宫颈上皮的瘤变和癌变。因此, 弄清楚我国各地女性外阴尖锐湿疣组织中 HPV 感染的型别及其比例, 对我国女性外阴肿瘤、宫颈癌的防治及 HPV 疫苗的研发都具有重要的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 1985 年 11 月至 2016 年 9 月南京市六合区人民医院、南京中医药大学第三附属医院、南京市梅山医院、镇江市第一人民医院病理科的病理组织学诊断似诊为女性外阴尖锐湿疣(女性外阴乳头瘤样增生伴挖空细胞)的石蜡组

* 基金项目:江苏省南京市卫生局中医专项支助项目(2009-92)。

作者简介:龙秀荣,女,副主任医师,主要从事妇科 HPV 感染疾病的研究。△ 通信作者,E-mail:dyc720@163.com。

组织标本 691 例,患者年龄为 16~74 岁,平均(30.83±8.5)岁。20 岁以下 21 例、20~<30 岁 373 例、30~<40 岁 160 例、40~<50 岁 93 例、50~<60 岁 28 例、60~<70 岁 15 例、70 岁及以上 1 例。由 2 位年资较高的主治以上医师按照世界卫生组织(WHO)2003 年组织学妇科肿瘤的分类标准进行复片,并复习其临床病理资料。

1.2 仪器与试剂 Gene Amp PCR system 2720 型基因扩增仪产于新加坡;YN-H16 型恒温分子杂交仪由亚能生物技术(深圳)有限公司生产;eppendorf 5810 R 型高速冷冻离心机由德国生产;BHC-1300 II A2 型生物安全柜由江苏省苏州市安泰空气技术有限公司生产;−20 ℃ 冰箱由青岛海尔有限公司生产等。HPV 基因分型检测试剂盒,由亚能生物技术(深圳)有限公司提供。每次实验显色液都需现配现用,根据所需要的浓度加适量的蒸馏水调配。

1.3 方法

1.3.1 标本的采集 先去除每例石蜡组织周边多余的石蜡,将其石蜡组织切成 4 μm 厚的切片,切 3~5 片石蜡组织即可。用专用的镊子轻轻夹取,放入小离心管中,切第 2 例石蜡组织前,用次氯酸钠溶液擦刀片及镊子各 3 次。

1.3.2 DNA 的提取 将切下的石蜡组织片放入 1.5 mL 离心管中,加入裂解液 150 μL,充分振荡混匀,两者均在金属浴中加热 100 ℃ 10 min,立即 13 000 r/min 离心 10 min 后,取中间层 DNA 溶液待用。PCR 扩增、杂交、孵育和显色按说明书进行规范操作。每份标本显色后根据杂交信号的有无,来判断结果。

1.4 统计学处理 外阴尖锐湿疣组织 HPV 感染率及各 HPV 型别的比例采用 HPV 分型统计软件(由南京倍宁医疗器械有限公司提供)进行分析,对分析出来的相关数据,应用统计软件包 SPSS13.0 对相关数据进行统计学处理,百分率的比较采用 χ^2 检验或确切概率法。

2 结 果

691 例女性外阴尖锐湿疣组织中 HPV 阳性者 597 例,总感染率为 86.40%(597/691),其中一型感染者 355 例,感染率为 51.38%(355/691);多型感染者 242 例,感染率为 35.02%(242/691);二型感染 154 例,感染率为 22.29%,(154/691);三型感染 55 例,感染率为 7.96%(55/691);四型感染 19 例,感染率为 2.75%(19/691);五型感染 5 例,感染率为 0.72%(5/691);六型感染 6 例,感染率为 0.87%(6/691)。女性外阴尖锐湿疣组织阳性感染者检出不同型别 HPV 出现频率数合计 990 次且对多重感染者,各型别的阳性率重复计算,

其中高危型 HPV 出现频率数合计 315 次,低危型 HPV 出现频率数合计 675 次。女性外阴尖锐湿疣组织中高、低危型 HPV 感染出现频率及百分率,见表 1。

表 1 女性外阴 CA 组织中 HPV 感染出现频率数及百分率比较

HPV 型别	该型出现 频率数(n)	非该型出现 频率数(n)	百分率(%)
HPV 6	282	708	28.49
HPV 11	338	652	34.14
HPV 16	85	905	8.59
HPV 18	50	940	5.05
HPV 31	10	980	1.01

续表 1 女性外阴 CA 组织中 HPV 感染出现频率数及百分率比较

HPV 型别	该型出现 频率数(n)	非该型出现 频率数(n)	百分率(%)
HPV 33	17	973	1.72
HPV 35	3	987	0.30
HPV 39	2	988	0.20
HPV 42	16	974	1.62
HPV 43	27	963	2.73
HPV 45	3	987	0.30
HPV 51	19	971	1.92
HPV 52	33	957	3.33
HPV 53	10	980	1.01
HPV 56	10	980	1.01
HPV 58	19	971	1.92
HPV 59	26	964	2.63
HPV 66	12	978	1.21
HPV 68	5	985	0.51
HPV 73	9	981	0.91
HPV 81	10	980	1.01
HPV 82	2	988	0.20
HPV 83	2	988	0.20
总计	990	—	100.01

注:—表示无数据。

3 讨 论

外阴 HPV 感染可诱发外阴的尖锐湿疣,而部分外阴尖锐湿疣可转变为 VIN 或转变为外阴鳞状细胞癌。外阴、阴道及宫颈的尖锐湿疣可伴发浸润性鳞癌。外阴高危型 HPV 感染是导致外阴上皮瘤变和癌变的主要因素,也可以通过性传播的方式感染阴道和宫颈引起阴道和宫颈上皮的瘤变和癌变^[1,5-7]。因此,弄清楚外阴尖锐湿疣组织中 HPV 感染型别的状况及比例,尤其是高危型 HPV 感染状况,对临床妇产科医师判断疾病的发展趋势具有重要的指导意义。

本文 691 例女性外阴尖锐湿疣组织中 HPV 阳性者 597 例,总感染率为 86.40%(597/691),其中一型感染者 355 例,感染率为 51.38%(355/691);多型感染者 242 例,感染率为 35.02%(242/691),一型感染与多型感染之比为 1.00:0.68。女性外阴尖锐湿疣组织阳性感染者检出不同型别 HPV 频率数合计 990 次,其中低危型 HPV 感染频率数合计 675 次,高危型 HPV 感染频率数合计 315 次,低高危型 HPV 感染频率数之比为 1.00:0.47。提示女性外阴尖锐湿疣是以一型 HPV 感染为主,多型感染为辅,但多型感染明显增加,超过了半数以上;而 HPV 感染型别中以低危型 HPV 感染为主,高危型 HPV 感染为辅,高危型 HPV 出现频率不超过低危型 HPV 感染频率的一半。表明女性外阴尖锐湿疣是一类一型多于多型 HPV 感染,以低危型 HPV 感染为主或伴有高危型 HPV 感染的性传播性疾病,且 HPV 感染有多型和高危型化的趋势。

国内黄进波等^[8]报告的尖锐湿疣组织中低危型 HPV 感染频率前 3 位的是 6 型、11 型和 43 型,其频率分别为 51.15%,

36.67%和6.93%;高危型HPV感染频率前7位的是16、33、18、31、73、58和59型,其频率分别为14.79%,6.47%、6.00%、4.93%、4.77%、4.62%和3.85%。本文低危型HPV感染频率前3位的是11型、6型和43型,其频率分别为34.14%,28.49%和2.73%;高危型HPV感染频率前7位的是16、18、52、59、51、58、33和66型,其频率分别为8.59%,5.05%、3.33%、2.63%、1.92%、1.92%、1.72%和1.21%。两者低危型HPV感染频率比较,虽然都是6型、11型和43型位居前3位,但其排位和出现比均不同,前者以6型最多,本文以11型排位第一;而高危型HPV感染频率比较,除16型排位相同外,其他各型别排位和出现比均不同。这可能与两者使用的检测方法、标本取材的部位,取材的时间和地域有着一定关系。

从女性外阴尖锐湿疣发病年龄来看,20岁以下的患者21例(3.04%)、20~<30岁的患者373例(53.98%)、30~<40岁的患者160例(23.16%)、40~<50岁的患者93例(13.46%)、50~<60岁的患者28例(4.05%)、60岁及以上的患者16例(2.32%);20~<40岁的患者533例(77.14%)。本研究结果提示女性外阴尖锐湿疣发病年龄高峰在20~<30岁,20~<50岁是女性外阴尖锐湿疣发病的主要人群,该年龄段的女性处于性活跃期,尤其是20~30岁。由于性活动频率的增加,从而导致HPV感染的增加,增加了诱发女性外阴尖锐湿疣的概率,说明女性外阴尖锐湿疣是以年轻女性为主的一类性传播性疾病^[9-11]。

从女性外阴尖锐湿疣HPV感染型别的平均年龄来看,一型HPV感染平均年龄(31.25 ± 5.4)岁,二型HPV感染平均年龄(29.64 ± 4.3)岁,三型HPV感染平均年龄(31.22 ± 4.1)岁,四型HPV感染平均年龄(29.05 ± 3.9)岁,五型HPV感染平均年龄(25.20 ± 3.4)岁,六型HPV感染平均年龄(27.67 ± 3.1)岁。除七型、八型和十型HPV感染者均为1例未统计外,二型以上的HPV感染平均年龄都比一型HPV感染平均年龄低,说明年轻女性性活动频繁,极易导致HPV感染的增加,也使得多型HPV感染同步增加。由于年轻女性的性开放,一个女性具有多个性伙伴,也容易导致多型HPV感染的增加,可见女性的性活动频率和性伙伴多少是导致多型HPV感染增加的主要因素^[12-14]。

总之,30%~50%的女性外阴尖锐湿疣合并宫颈HPV感染^[5,7]。外阴尖锐湿疣的女性往往会通过性传播的方式,将外阴感染的HPV输送至阴道和宫颈,引起阴道和宫颈的HPV感染相关疾病。因此,检测外阴尖锐湿疣组织中HPV感染型别和比例,有利于妇产科医师对HPV感染相关疾病发生发展的预判,追踪高风险患者具有重要的提示作用。由于高危型HPV感染是导致外阴、阴道和宫颈癌及癌前病变的主要因^[1,9-11]。对似诊断为外阴尖锐湿疣的患者,除检测低危型HPV外,更应该检测高危型HPV,因为高危型HPV具有强烈的致癌性,尤其是16和18型HPV,应引起临床医师的高度关注^[15-18]。

参考文献

- [1] 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,2009:381-427.
- [2] 蔡为民,阙延静,耿建祥,等.子宫颈尖锐湿疣组织中HPV感染基因型别分布[J].临床与实验病理学杂志,2015,31(4):395-399.
- [3] 张金浩,耿建祥,樊志敏,等.肛管及肛门区尖锐湿疣组织中人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.
- [4] 张金浩,耿建祥,樊志敏,等.257例肛门及肛管尖锐湿疣组织中HPV感染的基因分析[J].临床与实验病理学杂志,2013,29(5):520-523.
- [5] Kurman RJ.女性生殖道病理学[M].6版.北京:北京科学技术出版社,2014:5-8.
- [6] 单慧敏,施启丰,耿建祥,等.外阴、阴道和宫颈尖锐湿疣组织中HPV感染的对比研究[J].国际检验医学杂志,2016,37(16):1536-1539.
- [7] 董云灿,耿建祥,张劲松,等.1722例已婚女性宫颈细胞中人乳头瘤病毒基因的分型[J].国际检验医学杂志,2012,33(7):817-818,820.
- [8] 黄进波,裴俊明,林少群,等.尖锐湿疣组织HPV感染基因芯片分型检测研究[J].中国热带医学,2008,8(7):1096-1098.
- [9] 徐建妹,张金浩,耿建祥,等.女性肛门尖锐湿疣组织中HPV感染的回顾性研究[J].中国妇幼保健,2015,30(31):5329-5331.
- [10] 梅静,徐海燕,耿建祥,等.宫颈上皮内瘤变组织中人乳头瘤病毒感染基因型的分析[J].中国妇幼保健,2015,30(15):2333-2336.
- [11] 龙秀荣,王志蕙,耿建祥,等.健康妇女及宫颈上皮癌瘤患者HPV感染基因型分布特征研究[J].国际检验医学杂志,2012,33(24):2958-2959.
- [12] 魏瑾,耿建祥,朴正爱,等.已婚女性宫颈细胞中人乳头状瘤病毒感染的基因分型研究[J].中华医院感染学杂志,2012,22(23):5202-5205.
- [13] Li H, Wang XB, Geng JX, et al. Clinical study of styping detection of human papillomavirus (HPV) infection with microarray from paraffinembedded specimens of cervical cancer and precursor lesions[J]. J Nanosci Nanotechnol, 2015,15(9):6423-6428.
- [14] 朱小珏,耿建祥.308例宫颈癌组织中HPV感染基因型分布的对比研究[J].国际检验医学杂志,2014,35(23):3180-3182.
- [15] 唐永发,耿建祥,张金浩,等.196例肛门及肛管尖锐湿疣病变中HPV感染的研究[J].国际检验医学杂志,2012,33(11):1303-1304.
- [16] 徐妍婷,蔡为民,耿建祥,等.健康妇女及宫颈癌瘤患者HPV感染基因型分布的研究[J].国际检验医学杂志,2014,35(22):3022-3024.
- [17] 张金浩,蔡为民,耿建祥,等.女性肛门及肛管尖锐湿疣组织HPV感染基因型谱的分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(1):30-32.
- [18] 米霞,郑和义.人乳头瘤病毒感染的预防和治疗进展[J].国际皮肤性病学杂志,2012,38(1):20-23.