

· 论 著 ·

苏州地区门诊男性患者高危型人乳头瘤病毒基因型分析*

王 建, 李文静[△], 徐红星, 吴冬生, 陈昭华

(南京医科大学附属苏州市立医院本部检验科, 江苏苏州 215168)

摘 要:目的 了解苏州地区门诊男性患者高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)的感染状况、基因型分布, 以及与疾病的相关性。方法 运用多重聚合酶链式反应和流式荧光杂交技术对 1 432 例门诊男性患者进行 HR-HPV 分型检测。结果 HR-HPV 总感染率为 25.63%, 单一感染、双重感染和多重感染分别占 72.20%、21.25% 和 0.65%, 不同年龄段人群 HR-HPV 感染率比较, 差异无统计学意义($\chi^2=1.912, P=0.861$)。位于前 5 位的 HR-HPV 亚型分别为 HPV-16、HPV-52、HPV-58、HPV-18 及 HPV-59, HPV-16、HPV-52、HPV-58 感染最常见于 <20 岁、>60 岁及 <20 岁人群, 与 HR-HPV 相关的前 3 位疾病为病毒疣、尿道炎及龟头炎。结论 HPV-16 是本地区男性患者最常见的 HR-HPV 感染型别, 其次是 HPV-52、HPV-58, HR-HPV 感染具有一定年龄特异性, 与男性病毒疣、尿道炎及龟头炎等疾病有关。

关键词:男性; 人乳头瘤病毒; 高危型; 基因型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.22.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)22-3085-03

Analysis on high risk human papillomavirus genotypes among male outpatients in Suzhou area*

WANG Jian, LI Wenjing[△], XU Hongxing, WU Dongsheng, CHEN Zhaohua

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Suzhou Municipal Hospital, Nanjing Medical University, Suzhou, Jiangsu 215168, China)

Abstract:Objective To understand the infection status, genotype distribution of high risk human papillomavirus(HR-HPV) infection and its relation with diseases among male outpatients in Suzhou area. **Methods** The HR-HPV DNA genotyping detection in 1 432 male outpatients was performed by using multiple polymerase chain reaction and flow cytometry fluorescence hybridization technique. **Results** The total infection rate of HR-HPV was 25.6%(367/1 432), single infection, double infection and multiple infection accounted for 72.20%, 21.25% and 0.65% respectively. The HR-HPV infection rate had no statistical difference among different age groups($\chi^2=1.912, P=0.861$). The top five places of HR-HPV subtypes were HPV-16, HPV-52, HPV-58, HPV-18 and HPV-59. HPV-16, HPV-52, HPV-58 infections were most common among the age groups of <20 years old, >60 years old and <20 years old, and the top 3 diseases related to HR-HPV were verruca, urethritis and balanitis. **Conclusion** HPV-16 is the most common HR-HPV infection type in male outpatients, followed by HPV-52 and -58. The HR-HPV infection has a certain age specificity and is related to male verruca, urethritis and balanitis.

Key words: male; human papillomavirus; high risk type; genotype

人乳头瘤病毒(HPV)是乳多空病毒科的一组 DNA 病毒。经分子生物学技术证实,目前已鉴定出 140 多种 HPV 基因型^[1]。低危亚型 HPV(LR-HPV)主要感染手、足皮肤、口腔黏膜和泌尿生殖道上皮细胞等,引起相应部位病变,如疣等;高危亚型 HPV(HR-HPV)致癌性较强,除宫颈病变外,HR-HPV 感染还被报道与口咽和口腔舌鳞状细胞癌、外阴癌、头颈癌、阴茎癌及肛门癌等有关^[2-5]。HR-HPV 感染与女性宫颈癌的密切关系已得到证实,国内外相关报道较为多见。近年来,男性泌尿生殖器 HR-HPV 感染情况也逐渐引起人们重视^[6-7]。为了解苏州地区门诊男性患者 HR-HPV 感染流行状况,本文采用多重聚合酶链式反应(PCR)和流式荧光杂交技术对 HR-HPV 进行检测分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2015 年 12 月本院皮肤性病科、泌尿科生殖门诊患者及健康体检者 1 432 例作为研究对象,年龄 18~84 岁,平均(34.0±10.5)岁。将研究对象按年龄分为<20 岁组、20~30 岁组、>30~40 岁组、>40~50 岁

组、>50~60 岁组和>60 岁组。所有标本采集均经医师征得患者同意并承诺保护患者隐私。

1.2 仪器与试剂 仪器主要有 Pre-NAT 全自动核酸提取系统购自美国 Perkin Elmer 公司, Verriti 96 孔梯度 PCR 仪购自美国 ABI 公司, Luminex 200 流式荧光点阵仪、HPV 核酸扩增试剂、流式荧光杂交法 HPV 分型试剂盒购自上海透景生命科技有限公司, HPV 核酸提取试剂盒购自上海浩源生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集与处理 皮肤脱落细胞采用无菌棉拭子,反复擦拭病变部位获得;泌尿生殖系标本采用无菌棉拭子插入阴茎内 1~2 cm,轻轻旋转 2 圈并停留 1~2 min 以获得足够多的分泌物。标本采集后立即密闭送检,检测前将棉拭子浸泡在适量生理盐水中 10 min,充分洗脱细胞后丢弃拭子,标本可在当天检测,或保存于-20℃冰箱中于 1 周内检测。

1.3.2 核酸提取与扩增 采用 Pre-NAT 全自动核酸提取系统以磁珠法提取原理进行 HPV-DNA 提取^[8]。多重 PCR 反

* 基金项目:苏州市科技计划指导性项目(SYSD2016112)。

作者简介:王建,男,主管技师,主要从事临床检验工作。△ 通信作者,E-mail:lwjsky1314@126.com。

应条件:95℃预变性 5 min,按 95℃ 30 s、58℃ 30 s、72℃ 30 s 扩增 5 个循环,再按 95℃ 30 s、55℃ 30 s、72℃ 30 s 扩增 35 个循环,最后 72℃ 延伸 3 min。

1.3.3 HPV DNA 杂交与流式荧光杂交分型 将 3 μL 扩增产物与 22 μL 微球杂交液混匀,按 95℃变性 5 min、48℃杂交 30 min、48℃孵育 15 min 进行杂交,加入链霉亲和素-藻红蛋白 75 μL,48℃孵育 15 min。杂交产物通过 Luminex 200 多功能流式荧光点阵仪进行高危亚型分型,HR-HPV 亚型为:16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学处理,计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HR-HPV 感染年龄分布情况 1 432 例研究对象中,HR-HPV 阳性 367 例,总体感染率为 25.63%,其中以单一亚型感染占 72.20%,双重亚型感染占 21.25%,多重亚型感染占 0.65%(三重感染 18 例,四重感染 6 例)。各年龄段均检测到 HR-HPV,<20 岁组、20~30 岁组及>50~60 岁组感染率均高于总体感染率,其中<20 岁组感染率最高,其次是>50~60 岁组,各组间感染率比较差异无统计学意义($\chi^2=1.912, P=0.861$)。见表 1。

表 1 HR-HPV 感染年龄分布情况			
年龄组	<i>n</i>	阳性病例(<i>n</i>)	阳性率(%)
<20 岁	36	11	30.56
20~30 岁	616	162	26.3
>30~40 岁	484	124	25.62
>40~50 岁	186	41	22.04
>50~60 岁	67	18	26.87
>60 岁	43	11	25.58

2.2 HR-HPV 亚型分布及感染年龄情况 13 种 HR-HPV DNA 基因型均被检出,前 5 位依次为 HPV-16、HPV-52、HPV-58、HPV-18 及 HPV-59(单一阳性、多重阳性均计入)。HPV-16 感染年龄分布:<20 岁组感染率最高,其次是>50~60 岁组,20~30 岁组感染率最低。HPV-52、HPV-58 感染的主要年龄段组分别是>60 岁组和<20 岁组,HPV-18、HPV-59 感染分布无明显年龄特征。见表 2、3。

表 2 男性患者 13 种 HR-HPV 亚型累积分布情况			
序号	HR-HPV 亚型	<i>n</i>	百分比(%)
1	HPV-16	59	22.26
2	HPV-52	41	15.47
3	HPV-58	27	10.19
4	HPV-18	21	7.92
5	HPV-59	21	7.92
6	HPV-39	18	6.79
7	HPV-51	16	6.04
8	HPV-56	15	5.66
9	HPV-33	14	5.28
10	HPV-66	11	4.15
11	HPV-45	9	3.40
12	HPV-35	8	3.02
13	HPV-31	5	1.89

表 3 常见 HR-HPV 感染年龄分布情况(%)					
年龄组	HPV-16	HPV-52	HPV-58	HPV-59	HPV-18
<20 岁	8.33	2.78	5.56	0.00	0.00
20~30 岁	2.76	2.60	4.38	1.95	1.62
>30~40 岁	4.55	2.27	1.65	1.24	1.03
>40~50 岁	5.38	3.76	0.00	1.08	2.15
>50~60 岁	7.46	4.48	1.49	1.49	1.49
>60 岁	4.65	6.98	2.33	0.00	2.33

2.3 HR-HPV 相关疾病分析情况 与 HR-HPV 相关的主要病种为病毒疣、尿道炎及龟头炎,对应的亚型分别为 HPV-52、HPV-16 和 HPV-16。其他病种未发现比例占据明显优势的 HR-HPV 亚型,即各型均有可能出现。调查显示,8.8%男性在体检时被发现为 HR-HPV 感染者,主要感染亚型为 HPV-56。见表 4。

表 4 HR-HPV 相关疾病分析情况		
疾病	比例(%)	亚型
病毒疣	26.3	HPV-52
尿道炎	17.5	HPV-16
龟头炎	12.5	HPV-16
前列腺炎	10.0	HPV-51、HPV-52
HPV 感染	5.0	N/A
湿疹	5.0	N/A
皮炎	3.8	N/A
包皮过长	3.8	HPV-56
尖锐湿疣	3.8	N/A
荨麻疹	2.5	N/A
掌跖脓疱病	1.0	HPV-16
体检	8.8	HPV-56

注:N/A 表示由于病例数有限,未检测到占据明显优势的 HR-HPV 亚型。

3 讨 论

HPV 是最常见的性传播性病毒之一,不仅给男性患者带来巨大的疾病负担,还可通过性接触传播给伴侣。一项关于比较女性宫颈和男性伴侣精液 HPV 感染状态的研究显示,在男性伴侣 HPV 阳性的人群中,75%女性宫颈检出 HPV DNA,反之,仅 39%男性伴侣精液检出 HPV DNA^[9]。Campion 等^[10]对性伴侣患有阴茎疣的女性进行研究,发现 76%女性存在生殖道 HPV 感染,其中 27.7%通过杂交技术检出宫颈 HPV DNA,36%存在异常宫颈细胞涂片。因此,男性 HR-HPV 感染的早期诊断和有效治疗,也成为预防女性宫颈癌发生的重要手段。

男性 HR-HPV 感染率与标本的取材及检测方法密切相关,本研究中约有 10%的男性标本由于取材不当导致检测失败。由于研究的区域、人群不同,各地区的卫生状况和生活习惯参差不齐,以及宿主的免疫状态差异等^[11],各地报道的男性 HR-HPV 感染率差别较大。本研究采用较为成熟的多重 PCR 和流式荧光杂交技术^[7-12] 检测发现,苏州地区门诊男性患者 HR-HPV 总体感染率为 25.63%,与北京(22.8%)、深圳

(22.3%)感染率相近,高于杭州(13.8%)^[13],但明显低于镇江(43.67%)、福州(44.9%)、广东(43.7%)等地^[14-16],其原因可能与样本采集和检测方法不同有关。本研究结果显示,各年龄组间 HR-HPV 感染率比较差异无统计学意义($P>0.05$),其中<20 岁组的 HR-HPV 感染率最高,其次是>50~60 岁组。这与澳门地区相似^[17],年龄特异性感染率曲线呈 U-型,即感染最高峰分别位于 20~25 岁和>50~55 岁。同时,本研究发现:苏州地区门诊男性患者以单一感染模式为主,主要基因型别为 HPV-16、HPV-52 和 HPV-58,与镇江等地检测结果相同^[13],其次是 HPV-18 及 HPV-59;而且 HR-HPV 基因亚型分布也具有一定年龄特异性,其中 HPV-16 在<20 岁组中感染率最高,其次是>50~60 岁组,20~30 岁组感染率最低,HPV-52 感染好发于>60 岁组,<20 岁组是 HPV-58 感染的主要年龄段。

由于 HR-HPV 的致病性与其型别密切相关,调查本地区男性常见疾病与 HR-HPV 型别相关性具有重要参考意义。本研究显示,HR-HPV 主要与本地区男性患者生殖器疣有关,除见于低危亚型 HPV-6、HPV-11 等外^[18],还与 HPV-52 型密切相关,尿道、龟头和前列腺是常见受累部位,与 HPV-16、HPV-51、HPV-52 等亚型有关,包皮过长常伴随 HPV-56 感染。本研究还发现,约 8.8%男性为亚临床或阴性感染者,与 HPV-56 型有关。本研究中鲜有 HR-HPV 致恶性病变的诊断,但已有研究指出 HR-HPV 感染与男性多种恶性肿瘤的发生有关^[9]。因此,应加强对男性 HPV 感染的检查和监测,高危人群更应做到定期复查。

综上所述,苏州地区男性最常见的高危型别为 HPV-16、HPV-52 和 HPV-58,主要与男性病毒疣、尿道炎及龟头炎等疾病有关。鉴于苏州地区感染发病年龄较早,应鼓励在青少年期给予性健康教育和预防性 HPV 疫苗接种。HR-HPV 感染的男性患者不仅危害自身健康,还可能引起女性宫颈病变,患者及其性伴侣应同时进行 HPV 筛查和治疗。

参考文献

- [1] Zhang SK, Guo LW, Chen Q, et al. The association between human papillomavirus 16 and esophageal cancer in Chinese population; a meta-analysis [J]. BMC Cancer, 2015, 15(1): 1-8.
- [2] Blumberg J, Monjane L, Prasad M, et al. Investigation of the presence of HPV related oropharyngeal and oral tongue squamous cell carcinoma in Mozambique[J]. Cancer Epidemiol, 2015, 39(6): 1000-1005.
- [3] Hill-Daniel J, Roett MA. Genital cancers in women; vulvar cancer[J]. FP Essent, 2015, 438(11): 31-43.
- [4] Gillison ML, Restighini C. Anticipation of the impact of human papillomavirus on clinical decision making for the head and neck cancer patient[J]. Hematol Oncol Clin

- North Am, 2015, 29(6): 1045-1060.
- [5] Giuliano AR, Anic G, Nyitray AG. Epidemiology and pathology of HPV disease in males [J]. Gynecol Oncol, 2010, 117(2 Suppl): S15-S19.
- [6] 张静,郭建巍,陈昌国,等.北京市 3 221 例门诊患者 HPV13 个高危型别分型的实验研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2017, 9(1): 46-49.
- [7] 吴锐浩,周星星,周武.温州地区门诊男性就诊者人乳头瘤病毒基因型别分析[J]. 中华男科学杂志, 2016, 22(11): 1053-1055.
- [8] 李文静,徐红星,陈昭华,等.基于 Pre-NAT 全自动核酸检测系统的 HBV-DNA 超敏检测试剂方法学性能验证[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(7): 532-534.
- [9] Kyo S, Inoue M, Koyama M, et al. Detection of high-risk human papillomavirus in the cervix and semen of sex partners[J]. J Infect Dis, 1994, 170(3): 682-685.
- [10] Campion MJ, Singer A, Clarkson PK, et al. Increased risk of cervical neoplasia in consorts of men with penile condylomata acuminata[J]. Lancet, 1985, 1(8435): 943-946.
- [11] Hildesheim A, Wang SS. Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. Virus Res, 2002, 89(2): 229-240.
- [12] 陈昭华,赵星,徐红星.流式荧光杂交法检测人乳头瘤病毒的临床应用[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(6): 658-686.
- [13] 唐旭,许爱娥,董小平,等.杭州地区性病门诊男性就诊者 HPV 感染的流行病学调查[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2011, 20(1): 4-7.
- [14] 酆黎明,陈芹,张铭,等.镇江地区男性患者人乳头瘤病毒基因型分析[J]. 中华男科学杂志, 2015, 21(12): 1102-1105.
- [15] 庄文豪,许少涵,王贞生,等.福州地区性病门诊男性就诊者人乳头瘤病毒感染分析[J]. 海峡预防医学杂志, 2010, 16(5): 85-86.
- [16] 薛耀华,江汉宁,郑和平,等.广东地区性病门诊男性患者人乳头瘤病毒感染及其基因分型研究[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(7): 526-528.
- [17] Yip YC, Ngai KL, Vong HT, et al. Prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus infection in Macao[J]. J Med Virol, 2010, 82(10): 1724-1729.
- [18] Lacey CJ, Lowndes CM, Shah KV. Chapter 4: burden and management of non-cancerous HPV-related conditions; HPV-6/11 disease[J]. Vaccine, 2006, 24(Suppl 3): S35-S41.

(收稿日期:2017-03-25 修回日期:2017-07-14)

(上接第 3084 页)

- [15] 李绍锦,李上森,杨娇娇,等.检测降钙素原及超敏 C-反应蛋白在新生儿感染的临床意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(10): 2104-2105.
- [16] 冯改梅.降钙素原、超敏 C 反应蛋白及白细胞联合检测在

新生儿败血症早期诊断中的应用价值[J]. 中国中西医结合儿科学, 2016, 8(6): 602-604.

(收稿日期:2017-03-31 修回日期:2017-07-20)