

## · 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<sup>\*</sup>王 建,李文静<sup>△</sup>,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)22-3085-03Analysis on high risk human papillomavirus genotypes among male outpatients in Suzhou area<sup>\*</sup>WANG Jian, LI Wenjing<sup>△</sup>, 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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2-5]</sup>。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<sup>[6-7]</sup>。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细棉拭子插入阴茎内 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<sup>[8]</sup>。多重 PCR 反

<sup>\*</sup> 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  $\chi^2$  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	n	阳性病例(n)	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 型别	n	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, 对应的型别分别为 HPV-52、HPV-16 和 HPV-18。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, 主要感染型别为 HPV-56。见表 4。

表 4 HR-HPV 相关疾病分析情况

疾病	比例(%)	型别
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异性伴侣精液 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<sup>[9]</sup>。Campion 等<sup>[10]</sup>对性伴侣患有阴茎湿疣的女性进行研究, 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<sup>[11]</sup>, 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<sup>[7,12]</sup>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%)<sup>[13]</sup>, 但明显低于镇江(43.67%)、福州(44.9%)、广东(43.7%)等地<sup>[14-16]</sup>, 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<sup>[17]</sup>, 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<sup>[13]</sup>, 其次是 HPV-18 及 HPV-59; 而且 HR-HPV 基因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<sup>[18]</sup>, 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<sup>[5]</sup>。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 condyloma 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] 郦黎明, 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)