

· 短篇论著 ·

## 皮肤性病门诊患者 HPV 基因型分布特征研究\*

李春花, 王有为, 罗才会, 李雪茹, 田咏梅<sup>△</sup>

电子科技大学附属医院/四川省人民医院临床医学检验中心, 四川成都 610072

**摘要:**目的 分析皮肤性病门诊就诊者人乳头瘤病毒(HPV)感染情况及亚型分布特征,比较四价和九价 HPV 疫苗对 HPV 感染覆盖率的差异,为 HPV 感染防治提供临床依据。方法 采用导流杂交基因芯片技术对纳入研究者进行 HPV 21 个常见型别检测并进行统计分析。结果 3 303 例入选患者中,男 2 101 例(63.61%),女 1 202 例(36.39%),检出 HPV 阳性 1 802 例(54.56%)。1 802 例 HPV 阳性检出者仅高危型、仅低危型和高危型混合低危型感染分别占 20.42%、47.39%和 32.19%,且单基因亚型感染占 58.44%(1 053/1 802);检出率居前 5 位亚型分别为:HPV6、11、16、52 和 58 型。不同年龄组的 HPV 检出率差异有统计学意义( $\chi^2=12.937, P=0.024$ );其中, $>59$  岁就诊者检出率最高 63.57%(82/129)。四价和九价疫苗有效覆盖例数分别为 936 例(51.94%)和 1 165 例(64.65%),差异有统计学意义( $\chi^2=59.851, P<0.001$ )。结论 本地区 HPV 感染以单基因亚型为主,低危型以 6、11 型多见,高危型以 16、52 和 58 型多见;九价 HPV 疫苗可能比四价疫苗对 HPV 感染人群免疫预防保护效果更好。分析 HPV 感染基因型分布对 HPV 疫苗的开发应用和防治效果的评估以及预测不典型鳞状细胞、高危型 HPV 阳性而细胞学检查阴性的患者罹患 HPV 相关恶性病变的风险具有参考价值。

**关键词:**人乳头瘤病毒; 尖锐湿疣; 基因型; 人乳头瘤病毒疫苗

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2023.02.023

**中图法分类号:**R752.53

**文章编号:**1673-4130(2023)02-0244-04

**文献标志码:**A

人乳头瘤病毒(HPV)是尖锐湿疣的病原体,尖锐湿疣是以生殖器部位皮肤黏膜的良性增生性损伤为主的一种性传播疾病,其复发率及传染性强,居国内性传播疾病的第二位<sup>[1]</sup>。高危型 HPV 感染与阴茎癌<sup>[2-3]</sup>、宫颈癌<sup>[4-6]</sup>、口咽鳞状细胞癌<sup>[7-8]</sup>等发病密切相关。因此 HPV 的检测,特别是 HPV-DNA 分型检测对疾病的预防、早期发现与治疗有重要意义<sup>[9-11]</sup>。据文献报道,HPV 亚型的分布因地区不同而有所区别,感染与致病力因亚型的不同而有所差异<sup>[12-15]</sup>。为了解成都地区 HPV 的流行特征,比较四价与九价 HPV 疫苗对其覆盖率的差异,本研究对 2018 年 1 月至 2019 年 6 月于本院皮肤性病门诊就诊患者的 HPV 感染情况进行分析,并进一步研究了 HPV21 型基因分型特征,为 HPV 相关疾病的防治提供临床依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2018 年 1 月至 2019 年 6 月于本院皮肤性病门诊进行 HPV 检测且未接种过 HPV 疫苗,近 3 个月内未接受系统或局部免疫治疗,未局部使用抗病毒药物治疗的 16~80 岁初诊患者 3 303 例,平均年龄 33.7 岁。所有患者均自愿进行 HPV 基因型别检测,并签署知情同意书。

**1.2 仪器与试剂** HPV 分型检测试剂盒(广东凯普生物科技有限公司)、实时荧光定量 PCR 扩增仪(广

州达安基因科技有限公司)、核酸分子快速杂交仪(广东凯普生物科技有限公司)、恒温金属浴(杭州博日公司)、高速低温离心机(德国 Eppendorf 公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 标本的采集与保存** 先用消毒棉签拭去皮损表面分泌物,以专用脱落细胞采集器采样,采取皮损组织液及脱落细胞,将其放入装有细胞保存液的标本管中,在管口处将多余的刷柄折断,将刷头留在标本管中,旋紧管盖,于 4℃ 保存,并在 3 d 内检测。

**1.3.2 病毒 DNA 的提取** 将采有标本的细胞保存液管振荡混匀,取 0.8 mL 到 EP 管中,12 000 r/min 离心 5 min,去上清液,加入 400  $\mu$ L 溶液 I,混匀,100℃ 裂解 15 min,加入 400  $\mu$ L 溶液 II,混匀,放置 5 min,12 000 r/min 离心 5 min,去上清液,12 000 r/min 离心 1 min,再次去上清液,加入 60  $\mu$ L 溶液 III 充分溶解提取 DNA。

**1.3.3 导流杂交技术检测 HPV-DNA** 将提取的 DNA 用荧光定量 PCR 仪进行扩增,将 PCR 扩增产物 25  $\mu$ L 在 95℃ 变性 5 min 后立即冰浴 2 min,再与导流杂交仪含 DNA 单链探针膜条上 0.5 mL 的预热至 45℃ 的杂交缓冲液混合孵育 15 min,然后进行导流杂交。杂交后再用 0.8 mL 杂交缓冲液清洗 3 次,在 25℃ 条件下,用封阻液封阻孵育 5 min 后,加入 0.5

\* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(21605132)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: tymayer@163.com。

mL 酶标液孵育 3.5 min,用冲洗缓冲液 A 清洗杂交膜,去除未结合的酶标液。显色过程加入 0.5 mL NBT/BCIP 底物在 36 °C 保持 3~5 min,显色后 1 h 内分析结果,包括 15 种高危型(16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68 型),6 种低危型(6、11、42、43、44、CP8304 型)。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS26.0 统计软件进行统计学分析。定性资料采用例数或百分率表示,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 HPV 感染模式的性别构成** 在 3 303 例检测标本中,男 2 101 例、女 1 202 例,共检出 HPV 阳性 1 802 例,检出率为 54.56%。HPV 检出率在男性和女性就诊者中分别为 53.26%(1 119/2 101)和 56.82%(683/1 202),两者比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 3.912, P = 0.048$ )。单一基因型感染中男性感

染低危型较女性感染比例高,差异有统计学意义( $\chi^2 = 31.138, P < 0.001$ );多重基因型感染中,男女性均以低危型合并高危型感染为主,且女性多重基因型合并感染高于男性,两者比例差异有统计学意义( $\chi^2 = 23.753, P < 0.001$ ),见表 1。

**2.2 HPV 感染模式分析** 在 1 802 例 HPV 阳性检出者中,HPV 21 种常见基因型的每个基因型都有检出,不同基因型检出比例见图 1。感染模式及构成情况见表 2。单一基因型感染主要以 6、11、16、52、58 型为主;多重感染模式中二重感染以 6/11、6/16、6/52、6/58 型为主,3 重感染以 11/16/52、6/39/52、6/51/CP8304 型为主,4~7 重感染中各型别均为散在随机分布,分别为 67、34、15、6 例;其中,四重感染中除了有 5 例基因型别是高危型+高危型组合外,其余 4~7 重感染均为低危型+高危型组合。

表 1 HPV 感染模式在不同性别患者中构成[n(%)]

分组	n	单一型别感染			多重合并感染				总感染
		总感染	低危型	高危型	总感染	低危型+低危型	低危型+高危型	高危型+高危型	
男	2 101	699(33.27)	567(26.99)	132(6.28)	420(19.99)	42(2.00)	336(15.99)	42(2.00)	1 119(53.26)
女	1 202	354(29.45)	221(18.39)	133(11.06)	329(27.37)	24(2.00)	244(20.30)	61(5.07)	683(56.82)
合计	3 303	1 053(31.88)	788(23.86)	265(8.02)	749(22.68)	66(2.18)	580(17.56)	103(3.12)	1 802(54.56)
$\chi^2$		5.135	31.138	23.695	23.753	0.996	9.798	23.943	3.912
P		0.023	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	<0.001	0.048

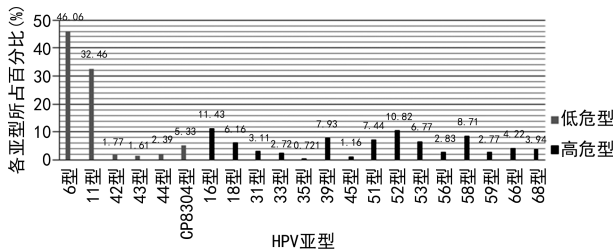


图 1 HPV 阳性检出者基因型别分布情况

续表 2 HPV 阳性检出者感染模式和基因型别分布基本情况(n=1 802)

变量	感染模式	n	构成比(%)
	6/11 型	32	24.08
	6/16 型	25	
	6/52 型	21	
	6/58 型	20	
	其他型	336	
	三重感染		
	11/16/52 型	5	10.71
	6/39/52 型	5	
	6/51/CP8304 型	5	
	其他型	178	
	四重感染	67	3.72
	≥五重感染	55	3.05

表 2 HPV 阳性检出者感染模式和基因型别分布基本情况(n=1 802)

变量	感染模式	n	构成比(%)
基因型别组合形式	仅高危型感染	368	20.42
	仅低危型感染	854	47.39
	高危型+低危型感染	580	32.19
单一感染基因型别数	6 型	472	
	11 型	289	
	16 型	55	58.44
	52 型	37	
	58 型	30	
	其他型	170	
多重感染基因型别数	二重感染		

**2.3 HPV 感染模式的年龄组构成** 将 3 303 例患者分为 6 个年龄组,分别为 <20 岁,20~29 岁,>29~39 岁,>39~49 岁,>49~59 岁,>59 岁,各年龄组 HPV 检出率比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 12.937, P = 0.024$ )。除 <20 岁和 >59 岁组以多重基因型感

染为主,其余各组以单基因低危型感染为主;各年龄组多重基因型感染检出率比较,差异有统计学意义( $\chi^2 =$

41.006,  $P < 0.001$ ),其中  $>59$  岁年龄组的多重基因型感染检出率明显高于其他年龄组。见图 2 和表 3。

表 3 HPV 感染模式在不同年龄组患者中构成[n(%)]

年龄组	n	单基因高危型感染	单基因低危型感染	多重基因型感染	合计
<20	192	10(5.21)	40(20.83)	68(35.42)	118(61.46)
20~29	1 437	111(7.72)	338(23.52)	320(22.27)	769(53.51)
>29~39	865	72(8.32)	197(22.77)	185(21.39)	454(52.49)
>39~49	478	50(10.46)	125(26.15)	82(17.15)	257(53.77)
>49~59	202	14(6.93)	61(30.20)	47(23.27)	122(60.4)
>59	129	8(6.20)	27(20.93)	47(36.43)	82(63.57)
$\chi^2$		7.095	8.077	41.006	12.937
P		0.214	0.152	<0.001	0.024

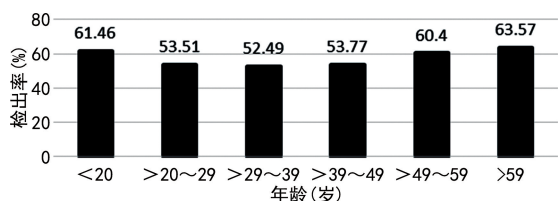


图 2 HPV 感染不同年龄组检出率的变化趋势

2.4 四价及九价 HPV 疫苗覆盖率假设 假设本研究对象在感染 HPV 前预先接种 HPV 疫苗,则本研究纳入的 1 802 例 HPV 感染者中能被四价疫苗(HPV6/11/16/18 型)和九价疫苗(HPV6/11/16/18/31/33/45/52/58 型)完全覆盖例数分别为 936 例(51.94%)和 1 165 例(64.65%),两种疫苗的有效覆盖率经  $\chi^2$  检验差异有统计学意义( $\chi^2 = 59.851, P < 0.001$ )。

### 3 讨论

HPV 是一种结构为双链闭合环状小分子 DNA 病毒,无包膜,属于多孔病毒科乳头瘤病毒属。其感染有种属特异性特点,主要针对人的皮肤或黏膜上皮细胞,可导致尖锐湿疣以及宫颈病变,其中高危型 HPV 感染是宫颈癌发生的主要因素<sup>[5,9-11,16-18]</sup>。本研究 3 303 例皮肤性病门诊患者的 HPV 感染检出率为 54.56%,明显高于国外报道的 6.60%~45.20%<sup>[12,19-20]</sup>,原因可能是皮肤性病门诊的多数患者为有症状而来就诊,或因性伴感染而来体检。本研究中单一的低危型感染检出率较高的是 6 型和 11 型,高危型感染检出率前 5 名的有 16、52、58、39、51 型,与国内外文献报道的尖锐湿疣患者的 HPV 亚型分布相似<sup>[12,21-23]</sup>。本研究显示多重合并感染形式有低-低危型、低-高危型和高-高危型三种,以二重低-高危型组合形式感染检出最多。

据本研究显示,HPV 感染与患者性别因素关系非常密切,女性感染检出率明显高于男性,这与相关研究在 2007 年和 2019 年的研究报道一致<sup>[24-25]</sup>。在

感染型别上,男性感染型别主要为 6、11 型等低危型,而女性感染型别主要为 16、52、58 型等高危型。男女 HPV 多重感染结果显示,女性多重感染检出比例明显高于男性,而且女性比男性更容易感染多重高危型 HPV,这一结果与张琰等<sup>[21]</sup>、Li 等<sup>[23]</sup>对尖锐湿疣患者的流行病学调查的结果相似。

据国外报道,HPV 感染检出率随年龄分布呈“中间低两头高”的 U 型分布,感染检出率最低为 40~49 岁,两个感染高峰分别为 18~29 岁和 70~79 岁<sup>[6]</sup>;本研究显示感染检出率最低为 30~39 岁,第 1 个感染高峰为 <20 岁,都比国外感染高峰提前了 10 岁左右,与国外研究稍有差异。<20 岁和 >59 岁年龄组的感染检出率高于其他年龄组,可见本地区 HPV 的感染偏向年轻化和老龄化;<20 岁患者性生活活跃以及性伴不固定,但生殖系统免疫相对不够成熟,易受 HPV 感染,而 >59 岁患者不安全性行为以及绝经期后女性免疫力下降、各项激素水平分泌较低、自身清除 HPV 能力降低等原因易受 HPV 感染<sup>[5,26]</sup>,可见应加强对 HPV 感染的宣传教育、管理和干预。

大量研究表明,HPV 感染是导致宫颈癌发生的主要因素,90% 以上的宫颈癌患者有 HPV 感染<sup>[4-6,27]</sup>。HPV 预防性疫苗主要以具有天然空间结构的合成 L1 晚期蛋白病毒样颗粒(VLP)作为主要靶抗原<sup>[28]</sup>。本研究显示九价 HPV 疫苗对研究人群的有效覆盖率更高,这与成媛媛等<sup>[29]</sup>的研究结果一致,提示九价 HPV 疫苗可能对本地区 HPV 感染高危人群免疫预防保护效果更好。因此,除适龄女性应接种 HPV 疫苗外,给男性也接种该疫苗将减少其 HPV 感染,降低其罹患 HPV 相关恶性病变的风险。

本地区 HPV 感染以单基因亚型为主,低危型以 6、11 型多见,高危型以 16、52、58 型多见;九价 HPV 疫苗可能比四价疫苗对 HPV 感染人群免疫预防保护效果更好。分析 HPV 感染基因型分布对 HPV 疫苗的开发应用和防治效果的评估以及预测不典型鳞状

细胞、高危型 HPV 阳性而细胞学检查阴性的患者罹患 HPV 相关恶性病变的风险具有参考价值。

## 参考文献

- [1] 陈静瑜,林新瑜,蔺敏. 尖锐湿疣组织中乳头瘤病毒基因型的检测[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2013, 12(3):140-143.
- [2] TAKAMOTO D, KAWAHARA T, KASUGA J, et al. The analysis of human papillomavirus DNA in penile cancer tissue by hybridization[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5):8102-8106.
- [3] ARAUJO L A, DE PAULA A, DE PAULA H, et al. Human papillomavirus(HPV) genotype ditribution in penile carcinoma; Association with clinic pathological factors [J]. *PLoS One*, 2018, 13(6):e0199557.
- [4] ZHANG J, ZHANG Y. Prevalence of human papillomavirus and its prognostic value in vulvar cancer; A systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2018, 13(9):e0204162.
- [5] 周莹,谭春燕,梁亮,等. 广西地区 HPV 感染及其基因型分析[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(12):1250-1255.
- [6] KIM M A, HAN G H, KIM G H, et al. Current status of human papillomavirus infection and introduction of vaccination to the national immunization program in korea; an overview[J]. *J Korean Med Sci*, 2018, 33(52):e331.
- [7] LU D J, LUU M, MITA A, et al. Human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer among patients aged 70 and older; Dramatically increased prevalence and clinical implications[J]. *Eur J Cancer*, 2018(103):195-204.
- [8] SCHACHE A G, POWELL N G, CUSCHIER K S, et al. HPV-related oro-pharyngeal cancer in the United Kingdom: an evolution in under-standing of disease etiology [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(22):6598-6606.
- [9] 何志晖,寇增强,徐爱强. HPV 感染及其免疫预防[J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52(1):106-112.
- [10] 罗仲秋,冷平,刘祥琴,等. 成都地区妇女 HPV 感染的流行病学特征及与宫颈病变的关系[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2018, 37(1):49-53.
- [11] 魏丽惠. HPV 感染现状及在宫颈癌和癌前病变筛查中的意义[J]. 实用妇产科杂志, 2017, 33(2):81-83.
- [12] MOBINI K M, KEYVANI H. The prevalence of HPV genotypes in iranian population: an update [J]. *Iran J Pathol*, 2019, 14(3):197-205.
- [13] 乌恩奇,赵焕虎,刘微,等. 中国不同地区宫颈癌中 HPV 型别分布数据横向比较分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(23):1845-1851.
- [14] 杨育英,朱少美,刘集鸿,等. 惠州地区女性体检人群中 HPV 感染情况调查[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(1):146-150.
- [15] WANG R, GUO X L, WISMAN G B, et al. Nationwide prevalence of human papillomavirus infection and viral genotype distribution in 37 cities in China[J]. *BMC Infect Dis*, 2015, 15(1):257.
- [16] 何鑫,陶绘丞,刘晨,等. 医院机会性筛查人群 HR-HPV 感染的流行病学特征及与宫颈癌前病变的关系[J]. 首都医科大学学报, 2015, 36(2):219-225.
- [17] SZENTIRMAY Z, VELECZKI Z, KÁSLER M. Human papillomavirus associated cervix uteri morbidity in hungary: epidemiology and correlation with the HPV types and the simultaneous cytological diagnosis [J]. *Orv Hetil*, 2017, 158(31):1213-1221.
- [18] GADELHA S R, SOARES-BARRETO D, COSTA G B, et al. Clinical, laboratory and epidemiological aspects of HPV infection in a low-income population from South Bahia, Brazil[J]. *Epidemiol Infect*, 2017, 145(16):3398-3404.
- [19] ADENIS A, DUFIT V, DOUINE M, et al. High prevalence of HPV infection in the remote villages of French Guiana; an epidemiological study [J]. *Epidemiol Infect*, 2017, 145(6):1276-1284.
- [20] HAN J J, BELTRAN T H, SONG J W, et al. Prevalence of genital human papillomavirus infection and human papillomavirus vaccination rates among US adult men national health and nutrition examination survey (NHANES) 2013-2014 [J]. *JAMA Oncol*, 2017, 3(6):810-816.
- [21] 张琰,马琳,韩蕊,等. 陕西地区 7 904 例人乳头状瘤病毒感染及亚型分布特征分析[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(21):4420-4423.
- [22] XIANG F, GUAN Q, LIU X, et al. Distribution characteristics of different human papillomavirus genotypes in women in Wuhan, China [J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(8):e22581.
- [23] LI W J, XU H X, CHEN Z H, et al. Characteristics of carcinogenic human papillomavirus infection in Suzhou: Epidemiology, vaccine evaluation, and associated diseases [J]. *J Med Virol*, 2017, 89(5):895-901.
- [24] 杨戈,林昭春,杨建文. 3 489 例尖锐湿疣流行病学分析 [J]. 中国艾滋病性病, 2007, 13(2):143-145.
- [25] 杨戈,崔凡,雍刚,等. 多重感染尖锐湿疣皮损 HPV 基因型别回顾性分析[J]. 中国艾滋病性病, 2019, 25(7):718-721.
- [26] 田晨辰,王孝信,马哲. 高危型 HPV 在吉林地区各年龄段感染情况调查[J]. 北华大学学报, 2018, 19(3):386-388.
- [27] 王宏景,夏林,耿建祥. 宫颈腺癌组织中乳头瘤病毒感染型别分布的研究[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(12):1291-1294.
- [28] NORIS E. Self-assembling plant-derived vaccines against papillomaviruses[J]. *Methods Mol Biol*, 2018(1776):85-95.
- [29] 成媛媛,石梅,钱伊弘,等. 上海地区男男性行为者肛门部位尖锐湿疣 HPV 型别特征及口腔部位 HPV 感染情况研究[J]. 中国男科学杂志, 2017, 31(2):22-28.