

· 论 著 ·

男性尖锐湿疣患者 HPV 亚型与复发的相关性研究*

章俊¹, 黄艳春¹, 薛珊², 杨美平¹, 谢娟¹

(江西省人民医院, 1. 皮肤科; 2. 门诊部, 南昌 330006)

摘要: **目的** 探讨男性尖锐湿疣(CA)患者皮损部人乳头瘤病毒(HPV)DNA分型及其与CA复发的相关性。**方法** 采用PCR-反向点杂交法检测128例男性CA患者皮损部的HPV-DNA,同时使用CO₂激光对患者进行治疗并随访6个月,统计患者复发情况,使用SPSS17.0进行统计学分析。**结果** 共检出28种HPV-DNA亚型,主要的HPV亚型为HPV6(52.34%),其后依次为11(37.50%)、52(22.66%)、16(13.28%)、43(10.16%),单一型感染者61例(47.66%),多重感染者67例(52.34%),低危型感染者64例(50.00%),含高危型感染者64例(50.00%),多重感染中高低危混合感染42例(62.69%)。所有患者中有65例复发,其中高危型和高低危混合型感染者的复发率高于低危型感染者,含HPV52型感染者的复发率高于非HPV52型感染者,单一型感染者的复发率低于多重感染者的,以上差异均有统计学意义($P<0.05$);而含HPV16型的感染者的复发率高于非HPV16型感染者的,但差异无统计学意义。**结论** 本地区男性CA患者感染的HPV亚型以HPV6/11型为主,感染HPV52型/感染有高危型HPV亚型或多种亚型混合感染者易复发,临床应给予关注。

关键词: 男性;尖锐湿疣;HPV亚型;复发

中图分类号:R752.53 文献标识码:B 文章编号:1006-2238(2017)09-827-04

DOI:10.3969/j.issn.1006-2238.2017.09.001

Observation of the relapse rates of condyloma acuminatum with different human papillomavirus genotypes in men
ZHANG Jun, HUANG Yanchun, XUE Shan, et al. 1. Department of Dermatology; 2. Department of Outpatient, Jiangxi Province People's Hospital, Nanchang 330006, China.

Abstract: Objective To obtain the data of Human Papillomavirus (HPV) genotypes distribution in lesions of male Condylomata acuminata (CA) patients in Nanchang of china, and its relationship with clinical relapse rate. **Methods** 128 tissue specimens were tested by gene chip microarray. 128 samples of patients with male CA were detected by gene chip microarray to obtain the distribution of 28 HPV genotypes; at the same time, the patients were treated with CO₂ laser and were followed up for 6 months to determine if the recurrence. EXCEL2003 software was used to describe the distribution of HPV-DNA in male CA and SPSS 17.0 software was used to analyze the relationship between the relapse rates and HPV-DNA. **Results** 28 HPV genotypes were detected in 128 tissue specimens from 128 CA patients; main genotypes were HPV6(52.34%)/11(37.50%)/52(22.66%)/16(13.28%)/43(10.16%). 67 of 128 HPV DNA positive patients were infected by multiple HPV genotypes, most of which were dual infection (35/67); 64 patients were infected by high risk HPV-DNA, most of which were infected by both high risk and low risk subtypes (42/64). 65 patients were recurrence and the rate of recurrence was 50.78%. The relapse rate of the group with infected patients by high risk HPV genotypes, by HPV52 or by multiple HPV genotypes was higher than the relapse rate of the group with infected patients by low risk HPV genotypes, by non-HPV52 or by single HPV genotypes (all $P<0.05$). Especially, the relapse rate of patients by mixed infection with both high risk and low risk HPV genotypes was more obvious than the relapse rate of patients in low risk group ($P<0.001$). The relapse rate of infected patients by HPV16 was higher than the relapse rate of infected patients by non-HPV16, but no statistical significance ($P>0.05$). **Conclusion** HPV6/11 are the major positive HPV genotypes in male CA. Multiple infection are the major pattern of HPV infection in male CA. The clinical relapse rate of the male CA is significantly higher in infected patients by high risk HPV genotypes, by HPV52 or by multiple HPV genotypes, who should be more concerned in clinical.

Key words: Men; Condylomata acuminata; HPV genotype; Recurrence

CA是由HPV引起的常见的性传播疾病^[1]。目前发现的HPV亚型约有200多种,其中有近40种能引起生殖器部位的病变,根据其致癌风险的大小分为高/中危型和低危型^[2]。已有一些学者的研究发现,CA患者感染HPV亚型的不同或感染状态的差异与CA治疗后的复发密切相关^[3,4]。但目前的

文献中关于男性CA患者HPV感染与复发的相关性研究较少,本研究通过对江西区域128例男性CA患者HPV亚型的检测和复发情况的分析,初步探讨本区域男性CA患者HPV亚型和复发的相关性,现将结果报道如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选择2014年1月至2016年6月

* 基金项目:江西省卫生计生委科技计划,编号20155079

在我院皮肤性病科门诊首诊的男性 CA 患者。纳入标准:所有患者均定居于江西;并依据《皮肤性病学》的诊断标准^[1],具有 CA 的临床表现,醋酸白试验阳性并知情同意。排除标准:(1)疣体在肛管内和尿道口等不易使用激光治疗的部位;(2)伴有内科系统疾病,如糖尿病/甲状腺疾病/肾病等会引起免疫力低下的疾病;(3)伴有其他性传播疾病,如 HIV 感染/梅毒/淋病/生殖器疱疹等;(4)正在服用各种保健品等各种可能会影响免疫力的药物。CA 复发是指肉眼可见疣体初次清除后 6 个月内在原部位复现者。根据随访时患者的临床状态,所有患者分为复发组和未复发组。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 暴露疣体,常规消毒,用无菌棉拭子在疣体上刮取上皮组织,即刻置入有生理盐水的灭菌试管中并标记,-20℃保存备检。

1.2.2 治疗方法 所有患者均采用 CO₂ 激光治疗,治疗后随访 6 个月,前 3 个月每 2 周随访 1 次,后 3 个月每月随访 1 次,全程中如果患者发现有新皮疹,及时就诊,复发患者换用其他治疗方案。

1.2.3 仪器与试剂 仪器使用美国 Perkin Eleeer 公司生产的 Gene Amp 5700 型全自动 FQ-PCR 仪。试剂采用中山医科大学达安基因诊断中心提供的 HPV 基因分型检测试剂盒 (PCR-反向点杂交法),共检测 28 种 HPV-DNA。

1.2.4 实验方法 采用 PCR-反向点杂交法检测 HPV 亚型,能检测 28 种 HPV 亚型,包括高危型(含中危型)20 种(16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73,82,53,66,CP8304),低危型 8 种(6,11,40,42,43,44,,54,61,81,83)。本实验的基本原理是采用 PCR 体外扩增和 DNA 反向点杂交相结合的 DNA 芯片技术。利用 HPV 的基因特点设计特异引物,扩增出包括 28 种 HPV 基因型的目标片段。再将扩增产物与固定在膜条上的分型探针进行杂交,依据杂交信号的有无来判断是否有这些 HPV 基因型的存在。

1.2.5 DNA 抽提和 PCR 扩增 用 HPV 基因分型检测试剂盒提取待测样本中的病毒基因 DNA,操作步骤和过程按说明书进行。基因芯片检测 28 种 HPV DNA 亚型采用生物素标记探针对 HPV DNA 所有亚型的通用引物经 PCR 对本抽提的 DNA 扩增。PCR 反应条件为 93℃ 3min-93℃ 40s-55℃ 40s-72℃ 40s 扩增 40 个循环,最后 72℃ 延伸

7min。每批同时扩增 HPV16 阳性对照和阴性对照各 1 份。具体杂交过程和洗膜按操作说明进行。

1.2.6 结果判断 用达安图像分析软件进行数据分析,结合专业数码凝胶成像与分析系统,通过积分光密度差值检测判断样本种分布的 28 种 HPV 基因型别。每张芯片上设有 PCR 反应控制点和杂交显色质控点各 1 个,并有 Globin 阴性质控点。

1.3 统计学方法 采用 EXCEL 2003 进行统计描述,使用 SPSS 17.0 进行卡方检验。检验标准: $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 基本情况 共收集符合条件的男性 CA 患者 140 例,其中有 2 例未检出 HPV-DNA,HPV 检出率 98.57%,随访过程中有 10 例失访,最终纳入调查的病例共 128 例,年龄 18-80 岁,平均(34.59±14.17)岁,病程 0.1-24 个月,其中有 65 例出现 CA 复发,复发率 50.78%,复发时间为治疗后 2-21 周。

2.2 HPV 检出情况 128 例患者共检出 28 种 HPV 亚型,检出率最高的是 HPV6 型 67 例(52.34%),其次是 HPV11 型 48 例(37.50%),再者是 HPV52 型 29 例(22.66%),HPV16 型 17 例(13.28%),HPV43 型 13 例(10.16%),最少的是 HPV31/40/54/61/73/81/82/83 型,各 1 例。单一型感染 61 例,占 47.66%,其中 HPV6 型 27 例,HPV11 型 22 例,HPV52 型 6 例,HPV16 型 5 例。多重感染 67 例,占 52.34%,其中以高低危混合感染为主,为 42 例,占 62.69%;多重感染中二重感染者 35 例,三重感染者 18 例,四重感染者 7 例,五重感染者 4 例,六重/七重/八重感染者各 1 例。

2.3 HPV 型别与复发的相关性 感染 HPV16 型者的复发率与感染非 HPV16 型者的复发率相比,差异无统计学意义;感染 HPV52 型的复发率高于感染非 HPV52 型者的复发率,差异有统计学意义;单纯低危型 HPV 感染者的复发率低于高危型 HPV 感染者的复发率,差异有统计学意义,且前者与高低危混合型 HPV 感染者的相比差异更显著,而单纯高危型 HPV 感染者和高低危混合型 HPV 感染者间的复发率差异无统计学意义;一重 HPV 感染者的复发率低于多重(二重/三重/四重及以上) HPV 感染者的复发率,差异有统计学意义,而多重(二重/三重/四重及以上) HPV 感染者间的复发率两两比较差异无统计学意义。见表 1。在所有感染低危型 HPV 的患者中,HPV11 型感染者 31 例,复

发 12 例(38.71%),非 HPV11 型感染者 33 例,复发 10 例(30.30%),两者复发率的差异无统计学意义($\chi^2=0.501, P=0.479$);HPV6 型感染者 42 例,复发 13 例(30.95),非 HPV6 型感染者 22 例,复发 9 例(40.91%),两者复发率的差异无统计学意义($\chi^2=0.634, P=0.426$)。

表 1 男性 CA 患者 HPV 亚型与复发的相关性[n(%)]

组别	复发(N=65)	未复发(N=63)	χ^2	P
HPV16			0.507	0.476
阳性	10(58.82)	7(41.18)		
阴性	55(49.55)	56(50.45)		
HPV52			4.961	0.026
阳性	20(68.97)	9(31.03)		
阴性	45(45.45)	54(54.55)		
亚型分组			14.664	0.001
高危型	13(59.09)	9(40.91)		
高低危混合型	30(71.43)	12(28.57)		
低危型★	22(34.38)	42(65.62)		
感染重数			12.776	0.005
一重感染	21(34.43)	40(65.57)		
二重感染▲	22(62.86)	13(37.14)		
三重感染▲	12(66.67)	6(33.33)		
四重及以上感染▲	10(71.43)	4(28.57)		

注:★与前一组比较 $P<0.001$;▲与第一组比较 $P<0.05$ 。

3 讨论

CA 是由 HPV 引起的最常见的性传播疾病之一^[1],其发病率在部分地区已上升为性传播疾病的第二位^[5]。HPV 的致病性与其基因形态相关,生殖器部位低危型 HPV 感染主要引起 CA,而高危型 HPV 除了引起 CA 外,还与生殖器部位皮肤黏膜的恶性肿瘤(尤其是女性宫颈癌)密切相关^[6]。男性生殖器 HPV 感染导致本身 CA 或肿瘤的发生,同时男性作为性传播疾病的一个桥梁,还会导致性伴生殖器 HPV 的感染,引起女方 CA 或宫颈癌^[7]。但目前针对男性 CA 患者感染 HPV 基因型的研究相对较少。本研究通过对江西籍男性 CA 患者感染 HPV 基因型的调查分析,了解本地区男性 CA 患者感染的 HPV 亚型的特点及其与治疗复发的相关性,为针对性治疗提供依据。

本研究通过 PCR-反向点杂交法检测 128 例男性 CA 患者皮损部的 HPV-DNA,发现 HPV6 型是感染率最高的亚型,其次是 HPV11 型,这与国内外其他的研究基本相同^[1,8]。既往的研究多认为在 CA 患者 HPV16 或 18 型的感染率是仅次于 6 和

11 型的,是高危型中感染率最高的^[1,9],而我们的研究发现 HPV52 型取代了 HPV16 或 18 型排在第三位,既往有个别报道发现了这一现象^[10]。本调查发现多种 HPV 亚型的复合感染是本地区男性 CA 患者 HPV 感染的主要模式,这与既往认为的 CA 多为单一型 HPV 感染的认知不同,但与近期^[8,11]的观念一致;当然,多重感染中以高低危混合感染和二重感染最多见,这与我们检索到的文献报道的观念相同^[8,9,12,13]。另外,本研究中尚发现有七重或八重 HPV 亚型的混合感染,这在既往的研究中未见报道,显示了本区域男性 CA 患者 HPV 感染的复杂性,同时也再次验证了 HPV 感染模式存在区域性差异的现象。

有研究认为 CA 患者感染的 HPV 基因型与 CA 的复发有一定的相关性,如王雄等^[14]发现含 HPV16 型患者更易复发,赵敏等^[14]甚至认为 HPV16 型感染是 CA 复发的独立危险因素,而李嘉彦等^[15]则发现含 HPV52 型感染的患者更易复发,当然,大多数研究均显示含高危型 HPV 感染的 CA 患者更易复发^[3,11,12,15,16]。含高危型 HPV 感染的 CA 更易复发的因素被认为与高危型 HPV 能入侵正常细胞且与宿主基因整合,其表达的 E6/E7 蛋白可控制细胞周期的增值,使细胞逃避凋亡,从而形成持续感染,导致反复发作或恶变。本研究显示:感染 HPV16 型的男性 CA 患者的复发率高于非 HPV16 型感染者,但差异无统计学意义;而感染 HPV52 型的男性 CA 患者的复发率高于非 HPV52 型感染者,差异有统计学意义;多重 HPV 亚型的男性 CA 患者的复发率高于单一型感染者,差异有统计学意义,这与马晓慧、何丹华等的研究相似^[11,17];二重及以上 HPV 亚型感染的男性 CA 患者之间(如二重与三重等)的复发率差异无统计学意义,这在既往的研究中未见这类研究的报道;含高危型感染的患者的复发率高于单纯低危型感染者的,差异有统计学意义;高低危混合型 HPV 感染的男性 CA 患者的复发率更显著的高于单纯低危型 HPV 感染的男性 CA 患者的复发率,这在既往的研究报道中也已被证实^[11,12,15],这一现象被考虑可能与这类混合感染更易潜伏有关^[10],同时也提示这类混合感染可能更易引起生殖器癌,此类感染的患者临床上更应该引起医师的关注。

综上所述,本地区男性 CA 患者感染的 HPV 亚型状态复杂。多重亚型感染者、含高危型感染

者、HPV52 型感染者的复发率更高,对这类患者临床上可采用多种方案进行综合治疗以减少 CA 复发和 HPV 感染的持续时间。

参考文献

[1]张学军. 皮肤性病学[M]. 第 8 版. 北京:人民卫生出版社. 2013. 231-232.

[2]MunozN, Bosch FX, SanjoseS, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer [J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518-527.

[3]李建, 李涛. 复发性尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒感染模式和细胞免疫功能的分析[J]. 中国性科学, 2016, 25(2): 71-73.

[4]赵敏, 张万宏, 董汉生, 等. 尖锐湿疣复发危险因素分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2010, 24(4): 337-339.

[5]胡发明, 陈胜辉, 罗明, 等. 大蒜素对尖锐湿疣患者细胞免疫功能及疗效的影响探讨[J]. 江西医药, 2012, 47(6): 491-493.

[6]吴斌, 于晓红. HPV 与宫颈腺癌研究进展[J]. 江西医药, 2015, 50(2): 180-182.

[7] 郎景和. 妇科肿瘤临床诊治的挑战与对策 [J]. 中国癌症防治杂志, 2012, 4(1): 1-4.

[8]Freire MP, Pires D, Forjaz R, et al. Genital prevalence of HPV types and co-infection in men[J]. Int Braz J Urol, 40(1): 67-71.

[9]陈泽宇, 王娟, 王丽娜, 等. 尖锐湿疣患者组织 HPV 基因型分布及分析[J]. 农垦医学, 2016, 38(1): 23-25.

[10]梁思, 李若虹, 王建峰, 等. 尖锐湿疣皮损中高危型和低危型人乳头瘤病毒感染情况研究[J]. 中国性科学, 2016, 25(5): 92-94.

[11] 马晓慧. 尖锐湿疣患者 HPV 感染类型和细胞免疫功能的分析 [J]. 中国继续医学教育, 2015, 7(26): 78-80.

[12]李文海, 贾军, 蔡林, 等. 男性尿道口尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒分型与复发关系的临床研究 [J]. 中国艾滋病性病, 2012, 22(10): 813-816.

[13]陈天雷, 张弦, 徐文娟, 等. 尖锐湿疣患者皮损人乳头瘤病毒的基因分型及预后观察[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2010, 9(6): 364-365.

[14]王雄, 王珏, 孔霞, 等. HPV 亚型与尖锐湿疣复发率复发时间关系的分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2008, 22(11): 675-676.

[15]李嘉彦, 罗育武, 杨日东, 等. 复发性尖锐湿疣患者 HPV 感染模式和细胞免疫功能的分析 [J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2014, 21(3): 197-200.

[16]林建华, 梁月英. 尖锐湿疣患者外周血 T 细胞亚群及 NK 细胞水平及其与尖锐湿疣临床复发的关系 [J]. 实验与检验医学, 2016, 34(1): 31-33.

[17]何丹华, 李其林, 黄永华, 等. 尖锐湿疣患者 HPV 基因型检测与预后复发相关性研究 [J]. 国际医药卫生导报, 2011, 17(22): 2715-2718.

(收稿日期 2017-07-13)

《江西医药》支持课题论文发表的实施办法

各级科技计划课题是经过严格评审、严格认证产生的,具有较高学术价值,代表医学研究先进水平。为使此类课题成果尽快公布,尽快推广,提高我省医学研究的影响力,促进医学发展,《江西医药》对各级计划课题论文给予优先审稿、优先发表的支持办法。

具体实施办法为:

- 一、课题论文在投稿时均需注明课题名称和编号,以方便编辑部查询,核对。
- 二、编辑部收到此类论文后,于 2 个工作日内完成初审,并发送专家外审。
- 三、要求审稿专家于 10 天完成外审,并发回编辑部。
- 四、专家外审发回,编辑部在 5 个工作日内完成三审,并对审查合格稿件发出正式录用通知。
- 五、一般尽可能放在当月或下月期刊发表。
- 六、重要课题论文以论著发表。

投稿方式:登陆江西省医学会网站(www.jxma.org),点击“作者中心”,进入投稿页面,按提示操作,上传稿件即可。

编辑部