

尖锐湿疣亚临床感染 HPV 分型与预后的关系

姚明珠¹, 李俊兰², 赖洪涛¹

(梅州市人民医院风湿皮肤科¹、皮肤科², 广东 梅州 514000)

【摘要】 目的 探讨尖锐湿疣(CA)亚临床感染乳头瘤空泡病毒(HPV)分型以及分型与预后的关系。方法 对 2015 年 4 月至 2016 年 12 月期间梅州市人民医院风湿皮肤科收治的 158 例典型 CA (典型组)和 108 例 CA 亚临床感染者(亚临床组)的局部疣体标本进行 HPV 基因型检测,观察亚临床组感染 HPV-DNA 类型以及感染情况,并与经典组进行对比。同时分析亚临床组感染不同类型 HPV 出现顽固性复发情况。**结果** ①亚临床组患者共检出各类型 HPV-DNA 合计 108 个,其中以 HPV 6 型最高,共 55 个(50.9%),其次为 HPV 11 型,共 18 个(16.7%);低危 HPV 型共 86 个(79.6%),高危 HPV 型 22 个(20.4%),各型构成比与典型组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);②典型组单一感染率为 60.8%,明显低于亚临床组的 75.0%,三重以及三重以上感染率为 15.8%,明显高于亚临床组的 3.7%,差异均有统计学意义($P<0.05$);③亚临床组感染复发次数高达 3 次以及 3 次以上的患者共 14 例,占 13.0%,包括 HPV16+18 型 4 例、HPV16+52 型 3 例、HPV16 型 3 例、HPV18 型 2 例、HPV6+11 型 1 例、HPV43 型 1 例。**结论** 亚临床感染主要亚型为 HPV 6 型,并以单一感染为主,多种感染者复发率较高。

【关键词】 尖锐湿疣;亚临床感染;HPV 分型;高危型;混合感染

【中图分类号】 R752.5*3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2017)24—3999—03

Relationship between human papillomavirus classification and prognosis in subclinical infection of patients with condyloma acuminatum. YAO Ming-zhu¹, LI Jun-lan², LAI Hong-tao¹. Department of Rheumatology-Dermatology¹, Department of Dermatology², Meizhou People's Hospital, Meizhou 514000, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between human papillomavirus (HPV) classification and prognosis in subclinical infection of patients with condyloma acuminatum (CA). **Methods** Specimens of local warts from 158 cases of typical CA (typical group) and 108 cases of subclinical CA infection (subclinical group) in Department of Rheumatology-Dermatology, Meizhou People's Hospital from April 2015 to December 2016 were detected for of HPV genotype. The infection type of HPV-DNA and infection status in subclinical group were observed, and compared with those in the typical group. At the same time, the intractable recurrence of subclinical infection with different types of HPV was analyzed. **Results** ① A total of 108 cases of HPV-DNA were detected in subclinical group, mostly HPV 6 (55 cases, 50.9%), followed by HPV 11 (18 cases, 16.7%). There were 86 cases (79.6%) of low-risk HPV and 22 cases (20.4%) of high-risk HPV. There was no significant difference in the constituent ratio of each HPV type between the subclinical group and the typical group ($P>0.05$). ② The rate of single infection in the typical group was 60.8%, which was significantly lower than 75.0% of the subclinical group. The rate of multiple infection (three and above three) was 15.8%, which was significantly higher than 3.7% of the subclinical group ($P<0.05$). ③ A total of 14 cases suffered no less than 3 times of relapse in subclinical group, accounting for 13.0%, including 4 cases of HPV16+18, 3 cases of HPV16+52, 3 cases of HPV16, 2 cases of HPV18, 1 case of HPV6+11, and 1 case of HPV43. **Conclusion** Subclinical infections are dominated by HPV 6 and are mainly single infection. The recurrence rate was high among patients with multiple infections.

【Key words】 Condyloma acuminatum (CA); Subclinical infection; Human papillomavirus (HPV) classification; High risk; Mixed infection

基金项目:广东省梅州市科技计划项目(编号:2016B011)

通讯作者:姚明珠。E-mail:ymzaohu@126.com

[J]. 中国医学前沿杂志: 电子版, 2013, 5(12): 71-78.

[5] 吴玉波, 刘干忠, 王永良. 血清 CEA, CA199, CA724 联合检测对胃癌的诊断价值[J]. 疑难病杂志, 2012, 11(1): 50-51.

[6] 袁立新, 陈忠. 胃癌患者血清 CEA、CA19-9 及 CA72-4 联合的临床意义[J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(12): 2868-2869.

[7] 丁婕, 戴旭, 孟宪运, 等. 实体瘤疗效评价标准的研究进展[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2015, 13(9): 1150-1152.

[8] 陈映霞, 秦叔逵, 王琳, 等. 晚期胃癌一线化疗失败后不同解救化疗方案的疗效比较[J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(7): 613-616.

[9] 丁婕, 戴旭, 孟宪运, 等. 实体瘤疗效评价标准的研究进展[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2015, 12(9): 1150-1152.

[10] 王洋, 王欢, 莫佳美, 等. 血清肿瘤标志物在胃癌诊断中的价值[J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(4): 883-885.

[11] 赵连爽, 云科, 董西华. 胃癌患者血清中 CA72-4、CEA 和 CA19-9 水平及其与病理特征的相关性[J]. 中国医科大学学报, 2014, 43(3): 259-262.

[12] 陈海燕. CA724、CEA、CA242、CA199 肿瘤标志物联合检验在胃癌中的诊断价值[J]. 中国医药导报, 2012, 9(31): 97-98.

[13] 王燕, 苏丽, 苏刚, 等. 部分肿瘤标志物 CA199、CEA、CA242、CA125 和 AFP 在胃癌化疗疗效评估中的价值[J]. 甘肃医药, 2014, 33(7): 488-492.

(收稿日期:2017-06-08)

尖锐湿疣(condyloma acuminatum, CA)是因为乳头瘤空泡病毒(human papillomavirus, HPV) A属感染导致的外阴以及肛门周围等出现疣状增生性损伤,属于性病中发病率最高的疾病^[1]。经检测人乳头瘤空泡病毒结构主要为一种直径为50 nm左右的环状双链无包膜DNA,大概有8 kb^[2]。根据DNA结构上L1区保守序列编码不同可以将HPV分为很多亚型,目前经证实的HPV亚型有将近100多种亚型,其中有将近40多种亚型与人生殖道感染有密切关系^[3]。研究发现,不同的基因型HPV感染后对人体生殖器官受损程度不一,故患者预后往往不同^[4]。本研究选取尖锐湿疣亚临床感染患者外生殖器部位典型疣体皮损进行HPV分型,观察临床上较为常见的尖锐湿疣亚临床感染HPV亚型及其与患者预后相关性,现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2015年4月至2016年12月在梅州市人民医院风湿皮肤科进行初诊诊断为典型CA患者158例(典型组)和CA亚临床感染并且未经治疗的患者108例(亚临床组)。纳入标准:①患者醋酸白试验阳性,符合卫生部制定的典型尖锐湿疣及亚临床感染型的诊断标准;②患者在确诊前未经过任何私自治疗;③排除生殖器以及肛周其他感染性疾病;④排除系统性疾病患者。158例典型CA患者中男性102例,女性56例;年龄18~55岁,平均(29.27±8.82)岁;病程6~62 d,平均(29.18±9.97) d。患者皮损活检取材位置包括包皮(58例)、阴茎冠状沟(51例)、大阴唇(29例)以及肛周(20例)。108例CA亚临床感染患者中男性74例,女性34例;年龄18~51岁,平均(28.54±8.16)岁;病程6~58 d,平均(28.64±10.51) d。患者皮损活检取材位置包括包皮(42例)、阴茎冠状沟(42例)、大阴唇(16例)以及肛周(8例)。

1.2 检测方法

1.2.1 样本溶液制备 取材范围为典型尖锐湿疣疣体或者疣体周围经醋酸白试验阳性区域。在取材过程中应该避免所取的标本与尖锐湿疣亚临床期皮损出现交叉污染情况。取材完毕后用生理盐水将皮损处进行反复冲洗8~10次,以避免出现交叉感染。将所取得的标本置入洗脱管中进行捣碎,加入蒸馏水后进行充分漂洗,取漂洗后的混浊液上离心机以13 000 r/min进行离心10 min,弃上清后加入50 μL裂解液并进行吹打混匀,然后将混合液置入水浴箱以100 °C温度进行孕育10 min,室温下冷却后上离心机以13 000 r/min进行离心10 min,取上清液待用。

1.2.2 HPV基因分型检测 向PCR反应管中分别加入5 μL样品和20 μL缓冲液,以下列条件:50 °C, 15 min; 95 °C, 10 min; 然后以94 °C, 30 s; 42 °C, 90 s; 72 °C, 30 s进行扩增,反复重复40次以后,在72 °C下延伸5 min。然后抽取5 mL加入进离心管中,再加入pH值为7.4的SSC和0.1% SDS 5 mL混合A液5 mL,充

分振荡后置入水浴箱中,100 °C下加热10 min后置入杂交箱以51 °C下进行孵育1 h,然后将膜条转移至pH值为7.4的0.5×SSC和0.1% SDS的B液中,在杂交箱中以51 °C下进行充分混匀。然后冷却加入1:2 000的POD溶液在室温下摇晃30 min,吸取上液后弃掉,再加入混合A液后轻轻震荡5 min,然后弃掉上清,继续重复此步骤一次。在加入0.4 mol柠檬酸钠,轻轻振荡2 min后弃掉。将膜条浸入0.1 mol柠檬酸钠19 mL, TMB 1 mL和3%的过氧化氢10 μL混合显色液,置于避光箱中孵育1 h。用蒸馏水对膜条进行冲洗,观察膜条的蓝色斑点位置。观察蓝色斑点位置,若出现在PC位点则认为有效,否则则认为实验污染。最终可测得21种亚型,包括16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68等13种高危亚型和6、11、41、42、44等5种低危亚型。

1.3 研究方法 患者在治疗后第一个月每周进行复查一次,确定患者无复发现象则改为每两周复查一次,期间若发现新发尖锐湿疣病灶或者行醋酸白试验阳性亚临床感染病灶则需要再次手术。以最后1次手术结束为起始观察6个月,未发现新生尖锐湿疣病灶及醋酸白试验阴性者为临床治愈。将所测的阳性患者HPV基因分型后进行分组,择取同一亚型为一组,了解各组的复发情况。

1.4 观察指标 分析尖锐湿疣亚临床感染HPV-DNA类型以及感染情况,并与典型尖锐湿疣进行比较。观察亚临床感染不同类型HPV出现顽固性复发情况。

1.5 统计学方法 应用SPSS19.0统计软件包进行数据分析,计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 典型组和亚临床组感染HPV-DNA类型及感染情况比较 亚临床组和典型组感染HPV-DNA亚型相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表1;不同组别低危型别和高危型别比较差异也均无统计学意义($P > 0.05$),见表2。感染类型相比,典型组尖锐湿疣单一感染率明显低于亚临床组,三重以及三重以上感染率明显高于亚临床组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),而双重感染两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表3。

表1 典型组和亚临床组感染HPV-DNA类型比较[例(%)]

感染类型	典型组 (n=158)	亚临床组 (n=108)	χ^2 值	P值
HPV 6型	83 (52.5)	55 (50.9)	0.066	0.797
HPV 11型	30 (19.0)	18 (16.7)	0.234	0.629
HPV 16型	19 (12.0)	14 (13.0)	0.052	0.820
HPV 18型	4 (2.5)	3 (2.8)	0.015	0.902
HPV 42型	3 (1.9)	3 (2.8)	0.225	0.635
HPV 43型	3 (1.9)	3 (2.8)	0.225	0.635
HPV 58型	14 (8.9)	10 (9.3)	0.012	0.911
HPV 59型	2 (1.3)	2 (1.9)	0.149	0.700

表2 亚临床组和典型组尖锐湿疣低危及高危 HPV 型别比较[例(%)]

组别	例数	低危型	高危型
亚临床组	108	86 (79.6)	22 (20.4)
典型组	158	111 (70.3)	47 (29.7)
χ^2 值		2.936	2.936
P值		0.087	0.087

表3 亚临床组和典型组尖锐湿疣 HPV 感染类型比较[例(%)]

组别	例数	单一感染	双重感染	三重感染	四重及以上感染
亚临床组	108	81 (75.0)	21 (19.4)	3 (2.8)	1 (0.9)
典型组	158	96 (60.8)	35 (22.2)	20 (12.7)	7 (3.1)
χ^2 值		5.843	0.283	7.928	2.701
P值		0.016	0.595	0.005	0.100

2.2 亚临床感染不同类型 HPV 出现顽固性复发情况比较 所检出的108个 HPV 亚型中,复发次数高达3次以及3次以上的患者共14例,占13.0%,包括 HPV16+18型4例、HPV16+52型3例、HPV16型3例、HPV18型2例、HPV6+11型1例、HPV43型1例。出现顽固性复发的 HPV 类型所占比例差异无统计学意义($\chi^2=3.521, P>0.05$)。

3 讨论

研究发现对人类有致病作用的 HPV 有40余种,不同的亚型导致患者出现症状不一。一般来说,尖锐湿疣引起患者感染多数为亚临床感染状态,多发生于外阴处。而当出现典型临床症状后,疣体可便发生于外阴和肛门任何地方。

在所有感染中,以 HPV 6型和11型最为常见^[5]。根据致癌的风险一般将其分为低危型和高危型。其中低危型主要包括 HPV 6、11、40、42、43、44、55、61、81、83,其中以 HPV 6、11 最为常见,为尖锐湿疣的主要病原。高危型主要包括 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、26、53、68、82、73、53,其中以 HPV16、18 最为常见,其为宫颈癌发病的主要罹患因素^[6]。国内同样有研究发现,低危型是目前国内主要的感染类型^[7]。临床上治疗尖锐湿疣的方法较多,虽然在治疗当时效果明显,但是不少患者仍然会出现不同程度的复发情况,甚至复发三次及三次以上的顽固性复发,原因至今不明。有研究认为 HPV 复发与患者体内的性激素水平具有相关性^[8]。但也有研究认为,复发和患者激素水平并无相关性,可能是由于 HPV 感染真皮层细胞所致^[9]。杨庆永等^[10]则认为,尖锐湿疣复发可能与亚临床感染具有一定的关系。

本研究择取的亚临床感染患者中,HPV 6型所占比例最高,为50.9%,HPV 11型和16型其次,分别占16.7%和13.0%。说明亚临床感染主要为 HPV 6型,与相关研究一致。但本研究还发现 HPV 56型感染有10例,而此类型以往鲜有相关报道。究竟此类型是否与尖锐湿疣亚临床期发生有关,目前并无相关报道,需进一步进行研究。本研究同样发现,在 HPV 亚临床感染患者中,低危型占79.6%,是主要的感染危型。并且其占比例与典型 HPV 感染差异无统计学意义,说明 HPV 感染均以低危型感染为主。本研究对顽固性复发的 HPV 亚型进行统计发现,HPV16和18型是最常见的复发类型,而这两者为高危型,提示高危型是影响患者预后的因素,但如要进一步了解是否具有相关性则需要通过对更大样本的研究。

综上所述,尖锐湿疣亚临床感染主要亚型为 HPV 6型,并以单一感染为主,多种感染者复发率较高,应该引起临床重视。

参考文献

- [1] 赵辩. 中国临床皮肤病学 [M]. 江苏: 凤凰科学技术出版社, 2015: 1777-1779.
- [2] 黄蓉, 凡任芝, 孙余婕, 等. 尖锐湿疣及疑似患者高危型人乳头瘤病毒检测的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(8): 1020-1021.
- [3] 张森森, 黄壮峰, 彭华, 等. 高频电离子联合艾拉光动力治疗男性复发性尖锐湿疣疗效观察[J]. 海南医学, 2013, 24(16): 2451-2452.
- [4] Sand FL, Thomsen SF. Skin diseases of the vulva: Infectious diseases [J]. J Obstet Gynaecol, 2017, 33(7): 840-848.
- [5] Vives Á, Vazquez A, Rajmil O, et al. Urethral condylomas in men: experience in 123 patients without previous treatment [J]. Int J STD AIDS, 2016, 27(1): 39-43.
- [6] 林丽华, 钟娜, 乔凤, 等. 615例门诊就诊者 HPV 基因检测结果分析 [J]. 海南医学, 2015, 26(18): 2723-2724.
- [7] Suzuki K, Koide H, Kira S, et al. Condyloma acuminatum which developed in the neourethra post-urethroplasty for hypospadias; a case report [J]. Kansenshogaku Zasshi, 2014, 88(3): 288-390.
- [8] Wang J, Pang J, Liu X. Modelling diseases with relapse and nonlinear incidence of infection: a multi-group epidemic model [J]. J Biol Dyn, 2014, 8: 99-116.
- [9] 刘继峰, 瞿镔, 王向东, 等. TLR2、4基因多态性与尖锐湿疣患者易感性及复发的相关性研究[J]. 中华男科学杂志, 2015, 21(8): 708-712.
- [10] 杨庆永, 尹方, 廖元兴. 尖锐湿疣复发的免疫机理[J]. 岭南皮肤性病学杂志, 2002, 9(4): 287-289.

(收稿日期:2017-06-13)