

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.30.018

皮肤性病患者人乳头瘤病毒基因分型检测的临床分析*

孙 慧 尹兴平 蒋屏东 倪菁菁 张瑞丽[△]

(南京医科大学附属无锡市第二人民医院 皮肤性病科 江苏 无锡 214000)

摘要 目的:了解皮肤性病患者不同病变类型中的 HPV 感染型别。**方法:**选择 2014 年 6 月~2015 年 6 月我科门诊就诊者 368 例,分为 4 个组别:尖锐湿疣患者组 242 例,鲍温样丘疹病患者 18 例,男性冠状沟珍珠疹和女性假性湿疣 70 例,未见任何皮疹且醋酸白试验阴性的体检者 38 例。采用 PCR-反向点杂交法检测皮损或外阴局部 HPV-DNA 亚型,并用 SPSS11.0 软件进行统计学分析。**结果:**(1)HPV-DNA 的总检出率为 72.9%,其中单一型别感染率 57.1%,多重感染率 15.8%;(2)268 例 HPV 阳性标本中,高危型感染占 51.9%,低危型和混合型的阳性率分别为 33.2%、14.9%;(3)尖锐湿疣组和鲍温样丘疹病患者组 HPV-DNA 的阳性率分别为 97.9%、88.9%,而男性珍珠疹和女性假性湿疣组以及要求体检人群的阳性率分别为 14.3%和 13.2%;从感染型别分析,尖锐湿疣主要是 6、11、16、18、31、33、35、43 和 66 亚型,鲍温样丘疹病患者主要是 16 亚型,男性珍珠疹和女性假性湿疣以及要求体检人群的感染型别主要是低危型感染,分别是 6、42、43、81 和 6、42、83;(4)在被检测的 18 个高危 HPV 亚型中,最常见类型依次为 HPV16、18、58、56、33、52、68、31、39,未检测出 HPV35、45、51、53、59、66、73 和 82 亚型;在被检测的 5 个低危 HPV-DNA 亚型中依次为 HPV6、11、42 和 43,未检测出 81 亚型。**结论:**HPV 感染以单一型别感染为主,且以高危型为主,应该重视临床 HPV 感染亚型的检测,尤其是高危型 HPV 感染者的随访管理。

关键词:人乳头瘤病毒;基因分型;随访管理

中图分类号:R730.261;R446.6 文献标识码:A 文章编号:1679-6273(2017)30-5879-04

Clinical Analysis of Human Papillomavirus Genotyping in Patients with Skin and Venereal Diseases *

SUN Hui, YIN Xing-ping, JIANG Ping-dong, NI Jing-jing, ZHANG Rui-li[△]

(Department of skin venereal division, Wuxi Second People's Hospital affiliated to Nanjing Medical University,
Wuxi, Jiangsu, 214000, China)

ABSTRACT Objective: To understand the subtypes of HPV infection in different skin diseases. **Methods:** 368 patient were included in the study from June 2014 to June 2015 and divided into four groups: 242 cases with condyloma acuminatagroup, 18 cases with Bowenoid papulosis, 70 cases with male pearl rash and female pseudo-condyloma, 38 cases without any visible lesions and acetowhite test negative. The HPV -DNA subtypes in the clinical samples were examined by reverse dot hybridization combined with PCR. All the data were statistically analyzed using SPSS11.0 software. **Results:** (1) The total positive rate of HPV was 72.9 %, with the single type 57.1 % and multiple types 15.8 %. (2) Of all the 268 cases with HPV infection, the infection rate by the high-risk type of HPV virus was 51.9 % and those of the low-risk and mixed types 33.2 %, 14.9 %, respectively. (3) The infection rates in different groups are as follows, condyloma acuminatagroup 97.9 %, bowenoid papulosis 88.9 %, male pearl rash and female pseudo-condyloma 14.3 %, patients without any visible lesions and acetowhite test negative 13.2 %. According to the analysis of infection HPV subtypes, HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 43 and 66 subtypes, were mainly found in condyloma acuminata group and 16 subtypes in Bowenoid papulosis while male pearl rash and female pseudo-condyloma and others infected mainly by low risk types of 6, 42, 43, 81 and 83. (4) Of the 18 high risk subtypes, the most common types found were HPV16, 18, 58, 56, 33, 52, 68, 31, 39 but HPV35, 45, 51, 53, 59, 66, 73 and 82 subtypes were not detected. Among the 5 low-risk HPV subtypes, HPV6, 11, 42 and 43 were detected but no 81 subtypes. **Conclusions:** The study showed that HPV infection was mainly single HPV subtype, mostly high-risk type, which should be given much consideration in clinical practice.

Key words: Human papilloma virus, Genotyping; Follow-up management

Chinese Library Classification(CLC): R730.261; R446.6 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)30-5879-04

前言

人乳头瘤病毒(human papilloma virus)简称 HPV,是一种球形 DNA 病毒,呈嗜上皮性、严格宿主范围与组织特异性^[1],

* 基金项目:江苏省自然科学基金项目(BK20150121)

作者简介:孙慧(1976-),女,大学本科,副主任医师,研究方向:小儿皮肤病的诊断与治疗,电话:15961820697, E-mail: sunhuibui@163.com

△ 通讯作者:张瑞丽(1978-),女,博士研究生,副主任医师,研究方向:性传播疾病的发病机制研究, E-mail: zhangruili78@163.com

(收稿日期:2017-03-28 接受日期:2017-04-20)

可以通过多种途径感染引起人体皮肤粘膜的鳞状上皮增殖,表现为寻常疣、尖锐湿疣、宫颈病变,甚至引起宫颈癌的发生^[2]。近些年,随着分子生物学技术的逐渐发展与完善,目前已分出100余种HPV亚型,其中40余种与宫颈感染和病变有关。根据HPV的致病性不同进行分类,可分为两类,即高危型和低危型^[3-5]。其中,低危型与恶性病变并无显著的相关性,可引起良性病变的发生,例如生殖器尖锐湿疣、低级别的宫颈上皮非典型增生(简称CINI)^[6],而高危型则是诱发宫颈癌前病变和宫颈癌的风险因素^[3]。现已证实HPV是宫颈癌的主要致病因子,约有99.8%的宫颈癌合并HPV感染^[7]。本研究对2014年6月-12月间到我科就诊患者中可疑有HPV感染进行了HPV基因分型检测并分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2014年6月~2015年6月在我科门诊就诊者368例,其中男性202例,女性166例,年龄18~65岁(平均42.2±16.8岁)。所有就诊者均为第一次进行人乳头瘤病毒基因分型检测。根据临床表现、病史或结合组织病理学特征,分为以下组别:尖锐湿疣患者组,共242例,男130例,女112例;鲍温样丘疹病患者共18例,男10例,女8例;男性冠状沟珍珠疹和女性假性湿疣共70例,男43例,女27例;未见任何皮疹但近一月内有婚外性生活史且醋酸白试验阴性体检者38例,男18例,女20例。本研究方案经医院医学伦理委员会审核通过,所有患者及正常者均签署了知情同意书。

1.2 检测方法

1.2.1 仪器与试剂 HPV基因分型检测试剂盒:原理:PCR-反向点杂交法;生产公司:深圳亚能生物技术有限公司。PCR扩增仪:生产公司:美国ABI公司;型号:ABI7000实时荧光定量分析仪。分子杂交仪:生产公司:FINEPCR;型号:Combi-H12 YN2009基因芯片阅读仪。

1.2.2 标本采集及保存 对有皮损的患者,生理盐水清洁皮损后用手术剪刀剪取适量组织块置于提取缓冲液管中;未见任何皮疹但有婚外性生活史且醋酸白试验阴性体检者,用生理盐水棉拭子擦拭受检部位3次,将棉头在提取缓冲液管中浸洗后旋紧管盖。所有标本立即送至检验科,4℃存放,并在一周内完成检测。

1.2.3 HPV-DNA的提取、PCR扩增和反向斑点杂交 均严格按照说明书进行。

1.2.4 结果判定 以试剂盒说明书为诊断标准的依据,判定本次的研究结果^[8-10],共HPV基因型23种,其中,包括17种高危型(HR-HPV16,18,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,68,73,82型)和6种低危型(LR-HPV6,11,42,43,81,83型)。2种或2种以上基因型同时感染为多重感染。高危型和低危型同时感染者为混合型感染。

1.3 统计学分析

采用SPSS13.0软件进行统计学分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用t检验对所有数据进行统计学分析,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 368例标本中HPV-DNA检出情况

368例标本中,HPV-DNA的总检出率为72.0%,其中单一型别感染率为57.1%,2种及2种以上感染率为15.8%,提示阳性检出标本中以单一型别感染为主(见表1)。

表1 368例标本中HPV-DNA检出情况

Table 1 Examination of HPV-DNA in 368 cases of specimens

Infection of HPV	Cases(N)	Infection rate(%)
Single type	210	57.1
Multiple types	58	15.8
Total	268	72.9

2.2 268例HPV-DNA阳性标本中高危型、低危型及混合感染检测结果

268例HPV-DNA阳性标本中,以高危型感染为主,占51.9%,低危型和混合型的阳性率分别为33.2%,14.9%,均较低,提示标本中高危型感染率较高(见表2)。

表2 268例HPV-DNA阳性标本中高危型、低危型和混合感染情况

Table 2 Infection of HR and/or LR- HPV in 268 specimen with HPV-DNA

HPV types	Cases(N)	Rate(%)
HR	139	51.9
LR	89	33.2
Mixed types	40	14.9
Total	268	100

2.3 不同标本来源组HPV-DNA的检出情况

尖锐湿疣组和鲍温样丘疹病患者组HPV-DNA的阳性率分别为97.9%、88.9%,显著高于男性珍珠疹和女性假性湿疣组以及要求体检人群(二者的阳性率分别为14.3%和13.2%)。从感染型别分析,尖锐湿疣主要是6、11、16、18、31、33、35、43和66亚型,鲍温样丘疹病患者主要是16亚型,男性珍珠疹和女性假性湿疣以及要求体检人群的感染型别主要是低危型感染,分别是6、42、43、81和6、42、83(见表3)。

2.4 HPV亚型的检出情况

被检测的18个高危HPV亚型中,最常见类型依次为HPV16、18、58、56、33、52、68、31、39,未检测出HPV35、45、51、53、59、66、73和82亚型;在被检测的5个低危HPV-DNA亚型中依次为HPV6、11、42和43,未检测出81亚型。(见表4)

3 讨论

HPV属于乳多空病毒科的乳头瘤空泡病毒A属,是双链闭合环状DNA病毒^[11]。自20世纪80年代以来,HPV感染大幅度增加了我国的尖锐湿疣患者,致使尖锐湿疣成为我国性病排行榜的第二位。HPV感染不仅参与尖锐湿疣的演进过程,同时也是诱发宫颈癌的风险因素及必要条件之一。根据基因结构的差异,目前已发现有200多个不同的亚型,决定了其感染部

表 3 不同标本来源的 HPV 感染情况

Table 3 Infection of HPV and its genotypes in different groups

Groups	Cases(N)	HPV Types	Positive rate(%)
CA	237/242	6,11,16,18,31,33,35,43,66	97.9
BP	16/18	16	88.9
MPR+FP	10/70	6,11,42,43	14.3
Normal examination	5/38	6,42,83	13.2

Note: * CA: condyloma acuminata; BP: Bowenoid papulosis; MPR+FP: male pearl rash and female pseudo-condyloma.

表 4 HPV 亚型检出例数的分布情况

Table 4 Distribution of HPV subtypes in 368 cases of specimens

Types	n	Types	n	Types	n
HPV6	42	HPV31	7	HPV56	19
11	43	33	15	58	32
42	28	35	0	59	0
43	15	39	2	66	0
81	0	45	0	68	8
83	2	51	0	73	0
16	83	52	8	82	0
18	50	53	0		

位及可能导致的病变类型也有差异^[12]。临床上,以 HPV 亚型的致病性或致癌危险性的进行分型,将 HPV 分为两大类,即低危型和高危型:其中,常见的 HPV 低危型有 6、11、41、42、43、44 等^[13],主要诱发良性病变,如尖锐湿疣等,引起癌变的风险性较小;高危型有 16、18、31、33、39、45、52、56、58、59、68 等,极易诱发恶性病变的发生。

HPV 感染是一种自限性疾病,多数患者呈一过性的感染,自身的免疫系统可消除 HPV 感染,而仅有一小部分高危型(HR-HPV)除可引起生殖器疣外,病毒的持续感染可发展为宫颈上皮内瘤变,进而发展为浸润癌^[14-16]。因此,通过 HPV 亚型检测,可以了解受检人群感染的 HPV 病毒类型,预测其发生高危疾病如宫颈癌等的风险^[17],指导制定正确合理且有效的治疗方案和决定随访时间,并为研制适合的 HPV 预防和治疗性疫苗提供资料。本研究结果显示:368 例就诊患者中 HPV 总感染率高达 72.9%,其中多种患者均为单一型的感染,高达 57.1%,多重感染发生率低。有研究表明^[18-25] HPV 单一型别感染可使宫颈癌的发病风险增加 19.9 倍,而多重 HPV 感染可使宫颈癌的发病风险增加 31.8 倍,而且多重 HPV 感染病毒载量更高,癌变风险更大,致病力更强,病变发展更快,复发率也更高^[26-28]。因此,应该更加重视多重感染患者的诊治和随访。

从感染的 HPV 类型分析,以高危型为主,占 51.9% (139/268),远高于低危型和混合性感染。对不同来源标本 HPV 亚型的感染分析,尖锐湿疣组和鲍温样丘疹病患者组 HPV-DNA 的阳性率分别为 97.9%、88.9%,显著高于男性珍珠疹和女性假性湿疣组以及要求体检人群(二者的阳性率分别为 14.3%和 13.2%);临床分组的分析结果显示:尖锐湿疣组主要是 6、11、16、18、31、33、35、43 和 66 亚型感染,鲍温样丘疹病患

者主要是 16 亚型,而男性珍珠疹和女性假性湿疣以及要求体检人群的感染型别主要是低危型感染。这表明对于 HPV 感染的人群,应该重视高危型别感染,并应给与积极的治疗和随访,特别是女性感染者以避免宫颈癌等恶性病变的发生^[26]。本研究结果显示部分男性珍珠疹和女性假性湿疣以及要求体检人群中也存在 HPV 感染,而且以低危型为主,建议定期随访。

综上所述,本研究对感染 HPV 的亚型分析结果显示在被检测的 18 个高危 HPV 亚型中,最常见类型依次为 HPV16、18、58、56、33、52、68、31、39,未检测出 HPV35、45、51、53、59、66、73 和 82 亚型,5 个低危 HPV-DNA 亚型中依次为 HPV6、11、42 和 43,这一结果与国内其他学者的研究有差异,可能与研究对象、样本量小以及地区差异有关^[27-30]。由于高危型感染率高,容易导致女性宫颈癌等,所以应该重视 HPV 感染的普查,尤其更应加强高危型 HPV 感染者的随访管理。

参考文献(References)

- [1] Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papilloma virus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518-527
- [2] Woodman CBJ, Collins S, Winter H, et al. Natural history of cervical human papilloma virus infection in young women: a longitudinal cohort study[J]. Lancet, 2001, 357(9271): 1831-1836
- [3] Sandri MT, Riggio D, Salvatici M, et al. Typing of human papilloma virus in women with cervical lesions: prevalence and distribution of different genotypes[J]. J Med Virol, 2009, 81(2): 271-277
- [4] Hong-qi WANG, Yuan-yu GUO, Min WANG, et al. HPV infection status and genotyping analysis of 6868 gynecologic outpatients [J]. Chinese Journal of Health Inspection, 2010, 5: 1204-1206

- [5] Doorbar J. Molecular biology of human papilloma virus infection and cervical cancer[J]. Clin Sci(Lond), 2006, 110(5): 525-541
- [6] Jun-cheng GUO, Fu-xi ZHAO, Rrun-hua LIU. HPV infection and genotyping analysis of adult females in Datong city [J]. Chinese Journal of Public Health, 2009, 25(10): 1159-1160
- [7] Wen-sheng FAN, Ya-li Li, Yizhuo YANG, et al. Clinical research on HPV infection in cervical diseases by gene chip techniques [J]. Chinese Journal of Hospital Infection, 2009, 19(7): 745-747
- [8] Zhao R, Zhang WY, Wu MH, et al. Human papilloma virus infection in Beijing, People's Republic of China: a population-based study[J]. Br J Cancer, 2009, 101(9): 1635-1640
- [9] De-xuan KONG, Quan-xin QU. Expression of vascular endothelial growth factor c and cyclooxygenase-2 in cervical cancer [J]. International Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2009, 36(2): 151-153
- [10] Yan WANG, Zhen-zhen WU, Qing-yun ZHOU. Epidemiological features of HPV infection of female cervical in Gansu province[J]. Chinese Journal of Maternal and Children Health Care, 2010, 25(36): 5371-5373
- [11] Jun LI, Yi-yu WANG, Xiao-fei TIAN. Analysis of human papilloma virus genotyping in Shaanxi province [J]. Journal of Chinese Preventive Medicine, 2014, 48(3): 192-196
- [12] Kim G, Cho H, Lee D, et al. Comparison of FFPE histological versus LBP cytological samples for HPV detection and typing in cervical carcinoma[J]. Exp Mol Pathol, 2017, S0014-4800(16)30218-0
- [13] Iribarren Dí az M, Ocampo Hermida A, González-Carrero Fojó n J, et al. Preliminary results of a screening program for anal cancer and its precursors for HIV-infected men who have sex with men in Vigo-Spain [J]. Rev Esp Enferm Dig, 2017. doi: 10.17235/reed.2017.4274/2016
- [14] Albano PM, Holzinger D, Salvador C, et al. Low prevalence of human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinoma in the northwest region of the Philippines [J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0172240
- [15] Ilahi NE, Anwar S, Noreen M, et al. Detection of human papillomavirus-16 DNA in archived clinical samples of breast and lung cancer patients from North Pakistan [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2016, 142(12): 2497-2502
- [16] Tamalet C, Ravaux I, Dhiver C, et al. Feasibility and Acceptability of Anal Self-Sampling for Human Papillomavirus Screening in HIV-Infected Patients[J]. Intervirology, 2016, 59(2): 118-122
- [17] de Planell-Mas E, Martí nez-Garriga B, Zalacain AJ, et al. Human papillomaviruses genotyping in plantar warts [J]. J Med Virol, 2016, doi: 10.1002/jmv.24713
- [18] Shen-Gunther J, Wang CM, Poage GM, et al. Molecular Pap smear: HPV genotype and DNA methylation of ADCY8, CDH8, and ZNF582 as an integrated biomarker for high-grade cervical cytology [J]. Clin Epigenetics, 2016, 8: 96
- [19] Ilahi NE, Hashmi SN, Anwar S, et al. Retrospective analysis of HPV 16/18-related disease burden using archival clinical samples [J]. Cancer Res Clin Oncol, 2016, 142(11): 2367-2373
- [20] Ingles DJ, Lin HY, Fulp WJ, et al. An analysis of HPV infection incidence and clearance by genotype and age in men: The HPV Infection in Men (HIM) Study [J]. Papillomavirus Res, 2015, 1: 126-135
- [21] Luttmer R, De Strooper LM, Dijkstra MG, et al. FAM19A4 methylation analysis in self-samples compared with cervical scrapes for detecting cervical (pre)cancer in HPV-positive women [J]. Br J Cancer, 2016, 115(5): 579-587
- [22] Zeng Z, Yang H, Li Z, et al. Prevalence and Genotype Distribution of HPV Infection in China: Analysis of 51,345 HPV Genotyping Results from China's Largest CAP Certified Laboratory [J]. J Cancer, 2016, 7(9): 1037-1043
- [23] Zhao Y, Liu B, Han QB, et al. Changes in bone density and cyst volume after marsupialization of mandibular odontogenic keratocysts (keratocystic odontogenic tumors)[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2011, 69(5): 1361-1366
- [24] Pitak-Arnop P, Chaine A, Oprean N, et al. Management of odontogenic keratocysts of the jaws: a ten-year experience with 120 consecutive lesions[J]. J Craniomaxillofac Surg, 2010, 38(5): 358-364
- [25] Lizio G, Sterrantino AF, Ragazzini S, et al. Volume reduction of cystic lesions after surgical decompression: a computerised three-dimensional computed tomographic evaluation [J]. Clin Oral Investig, 2013, 17(7): 1701-1708
- [26] Choi BI, Lee HJ, Han JK, et al. Detection of hypervascular nodular hepatocellular carcinomas: value of triphasic helical CT compared with iodized oil CT[J]. AJR, 2010, 157(2): 219-224
- [27] Khan MA, Combs CS, Brunt EM, et al. Positron emission tomography scanning in the evaluation of hepatocellular carcinoma [J]. Ann Nucl Med, 2009, 14(2): 121-126
- [28] Tabit CE, Chung WB, Hamburg NM, et al. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2010, 11(1): 61-74
- [29] Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction[J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 15(8): 1983-1992
- [30] Izumi S, Muano T, Mori A, et al. Common carotid artery stiffness, cardiovascular function and lipid metabolism after menopause [J]. Life Sci, 2015, 78(15): 1696-1701

(上接第 5873 页)

- [18] Eleftherious D, Brogan PA. Therapeutic advances in the treatment of vasculitis[J]. Pediatric Rheumatology Online Journal, 2016, 14(1): 26
- [19] 夏利平, 陈旭, 姜毅. 丙种球蛋白冲击治疗儿童腹型过敏性紫癜疗效观察[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(10): 988-990
- Xia Li-ping, Chen Xu, Jiang Yi. Clinical effect of gamma globulin pulse therapy for abdominal Henoch-Schonlein purpura in children[J]. Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2016, 18(10): 988-990
- [20] 郭妍南, 王峥. 过敏性紫癜的血液净化治疗[J]. 实用儿科临床杂志, 2012, 27(17): 1308-1310
- Guo Yan-nan, Wang Zheng. Blood Purification Therapy on Henoch-Schonlein Purpura[J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2012, 27(17): 1308-1310