

• 临床探讨 •

北京地区 HPV 各亚型分布情况及与相关疾病关联性分析

时 宇,董 瑾,张 静,张冬青,王海滨
(解放军总医院第一附属医院检验科,北京 100048)

摘要:目的 了解北京地区人乳头瘤病毒(HPV)各亚型的分布特点,从而为流行病学及 HPV 基础研究提供有价值的参考资料。方法 收集 2014 年 1~12 月解放军总医院第一附属医院门诊就诊的 2 884 例患者标本,采用聚合酶链反应进行 HPV 基因分型测定。结果 2 884 例受检者中,男性 HPV 阳性检出率为 48.60%,女性为 24.73%;男性以 HPV6、11 型和 HPV18、58 型为主,女性以 HPV6、11 型和 HPV58、52、16 型为主;男、女单一低危亚型感染率分别为 28.81%和 11.55%,单一高危亚型感染率分别为 17.29%和 47.42%,低危合并高危亚型感染率分别为 36.95%和 12.61%,以上差异均有统计学意义($P<0.05$);高危亚型多重感染率分别为 26.1%和 23.8%,HPV 合并其他病原菌感染率分别为 15.93%和 14.39%,以上差异均无统计学意义($P>0.05$);门诊男性和女性患者 HPV 感染的高峰年龄均分布在 20~29 岁。结论 HPV 亚型分布存在性别、年龄和地区间的差异,了解其规律,有助于开展与 HPV 所致疾病相关的研究性工作。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因亚型; 聚合酶链反应; 感染率
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.12.036 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)12-1684-03

人乳头瘤病毒(HPV)是属于乳多空病毒科乳头瘤空泡病毒 A 属的双链闭合环状 DNA 病毒,目前已分离出 200 多种,型别的差异可引起不同临床表现,除多年已明确的寻常疣、趾疣、扁平疣、生殖器疣和宫颈癌与其密切相关外,近年来越来越多的证据表明,某些亚型还可导致不孕不育及流产。由于 HPV 对人体皮肤及黏膜的高亲嗜性及对环境的较高耐受性,使它在传播范围上较一般性病原体更为广泛。HPV 感染在不同国家地区间存在差异,就我国而言,各地区 HPV 感染情况也不尽相同。本研究收集了 2014 年 1~12 月解放军总医院第一附属医院门诊的 2 884 例患者 HPV 及泌尿生殖 4 项的检测数据,并进行了相关流行病学分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2 884 例研究对象均是本院 2014 年 1~12 月门诊就诊的患者,其中男 607 例,年龄 17~67 岁,平均(39.0±12.0)岁;女 2 277 例,年龄 1~68 岁,平均(33.0±9.3)岁。

1.2 仪器与试剂 高危型 HPV 分型核酸测定试剂盒/HPV6、11 型核酸测定试剂盒,解脲脲原体(UU)核酸测定试剂盒,沙眼衣原体核酸测定试剂盒,淋球菌核酸测定试剂盒均为上海之江生物科技股份有限公司产品。仪器为 SLAN-96P 荧光定量聚合酶链反应检测系统。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 男性取专用棉拭子插入尿道 3~4 cm 处,转动并停留 10~30 s 取分泌物,或在龟头、冠状沟或包皮远端皮肤黏膜上刮拭数次取材;女性取无菌棉拭子,用无菌生理盐水棉球洗去宫颈外分泌物,插入宫颈管内约 1~2 cm 处,停 5 s 后旋转拭子采集宫颈分泌物并置入无菌管密闭送检,或用专用宫颈刷插入宫颈口,毛刷面在宫颈外口鳞-柱上皮移行区沿同一方向旋转 4~5 周刷取宫颈脱落细胞,将毛刷放入保存液中拧紧瓶盖送检。如为尿道取材,用棉球洗净尿道口,将拭子插入尿道约 2 cm 捻动取出分泌物(应略带黏膜),置入无菌管送检;取分泌物前 24~48 h 避免性交;阴道灌洗或局部用药后不能取样;取样应在非月经期内进行。

1.3.2 标本检测 采用特异性引物及荧光探针,应用 PCR 结合 Taqman 技术对相应核酸片段进行分型定性检测。共检测 15 种 HPV 基因亚型,包括 13 种高危型:HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 型,两种低危型:HPV6、11 型。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异

有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 总检出率 2 884 例患者中共检出 HPV 阳性 858 例(29.75%),其中男 295 例(48.60%),女 563 例(24.73%)。男性 HPV 阳性检出率明显高于女性,差异有统计学意义($\chi^2=130.70, P<0.05$)。

2.2 HPV 基因型分布 在 HPV 阳性构成中,男性以 HPV6、11、HPV18 型及 HPV58 型为主,分别为 71.86%、15.25%和 15.25%;女性以 HPV6、11 型, HPV58 型、HPV52 型及 HPV16 型为主,分别为 27.53%、19.72%、16.87%和 16.34%,见表 1 和图 1。

表 1 2 884 例患者 HPV 基因亚型分布情况对比

HPV 基因亚型种类	男[n(%)]	女[n(%)]	χ^2	P
HPV16	33(11.19)	92(16.34)	4.13	<0.05
HPV18	45(15.25)	46(8.17)	10.25	<0.05
HPV31	15(5.08)	20(3.55)	1.16	>0.05
HPV33	4(1.36)	18(3.20)	2.63	>0.05
HPV35	15(5.08)	22(3.91)	0.65	>0.05
HPV39	36(12.20)	63(11.19)	0.20	>0.05
HPV45	6(2.03)	11(1.95)	0.01	>0.05
HPV51	38(12.88)	67(11.90)	0.17	>0.05
HPV52	31(10.51)	95(16.87)	6.26	<0.05
HPV56	13(4.41)	46(8.17)	4.28	<0.05
HPV58	45(15.25)	111(19.72)	2.59	>0.05
HPV59	36(12.20)	56(9.95)	1.03	>0.05
HPV68	11(3.73)	26(4.62)	0.37	>0.05
HPV6、11	212(71.86)	155(27.53)	155.43	<0.05

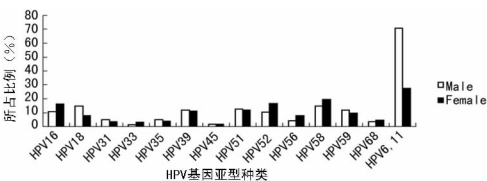


图 1 2 884 例患者 HPV 基因型分布情况对比

2.3 HPV 多重感染分布 男性及女性患者单一型及多重型 HPV 感染结果对比见图 2。在 HPV 阳性患者中,男、女单一低危亚型感染分别为 85 例(28.81%)和 65 例(11.55%),差异

有统计学意义($\chi^2=40.01, P<0.05$);单一高危亚型感染分别为 51 例(17.29%)和 267 例(47.42%),差异有统计学意义($\chi^2=75.37, P<0.05$);低危合并高危亚型感染分别为 109 例(36.95%)和 71 例(12.61%),差异有统计学意义($\chi^2=69.17, P<0.05$);高危亚型多重感染分别为 77 例(26.1%)和 137 例(23.8%),差异无统计学意义($\chi^2=0.55, P>0.05$);HPV 合并其他病原菌感染结果分别 47 例(15.93%)和 81 例(14.39%),差异无统计学意义($\chi^2=0.36, P>0.05$)。

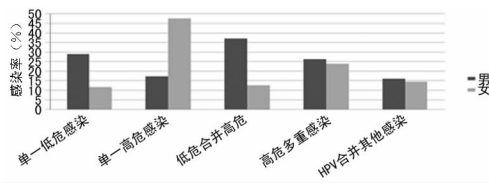


图 2 男性及女性患者单一型及多重型 HPV 感染结果对比

2.4 HPV 感染年龄分布及 HPV 感染率与年龄的关系 见图 3、4。门诊男性患者 HPV 感染的高峰年龄为 20~29 岁,感染 118 例(40.00%),女性高峰年龄也为 20~29 岁,感染 178 例(31.62%);男、女患者小于 20 岁组感染结果分别为 4 例(1.36%)和 16 例(2.84%);大于 29~39 岁组感染结果分别为 91 例(30.85%)和 143 例(25.40%);大于 39~49 岁组感染结果分别为 56 例(18.98%)和 133 例(23.62%);大于 49~60 岁组感染结果分别为 20 例(6.78%)和 72 例(12.79%);大于 60 岁组感染结果分别为 4 例(1.36%)和 17 例(3.02%)。其他年龄组 HPV 感染率和高峰年龄段感染率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

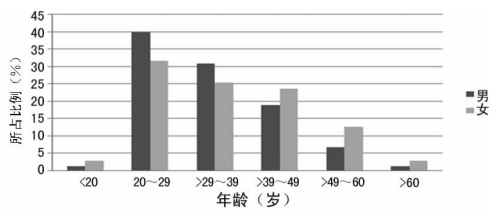


图 3 男性及女性 HPV 感染者年龄段分布情况对比

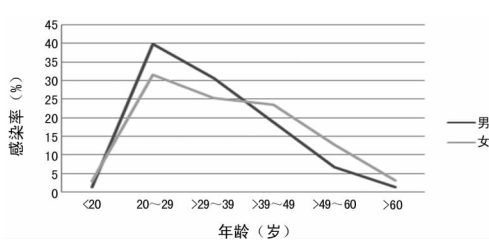


图 4 男性及女性 HPV 感染率与年龄的关系

3 讨论

本研究中男性患者 HPV 阳性率(48.60%)显著高于女性(24.73%),李嘉彦等^[1]报道广州地区性病门诊,男性 HPV 阳性率为 47.33%,与本研究结果基本一致。同时列举了一些区域的相关报道,由于阳性率显著高于其他区域,故认为广州地区男性 HPV 携带率水平较高。本研究在扩大了研究对象总数的同时,选取的科室包括门诊妇产科、门诊皮肤科和门诊泌尿外科等,不再局限于性病科门诊的患者,通过扩大研究对象范围,降低了因性病就诊而造成阳性率偏高的影响因素,所得结果与以往报道接近。推测影响 HPV 阳性率因素很多,有一定的不确定性,比如地区间就诊患者的具体情况差异及样本量大小不同等,故仅凭数据比较地区间差异有局限性,但从各地报道可以看出,HPV 在我国人群中的感染确实也具有普遍性。本研究中,1 年内男性患者就诊人数远远低于女性

(1:3.75),说明女性患者的就诊意识明显高于男性,其中相当一部分进行了常规筛查,而男性绝大多数是因明显临床症状才来就诊,这也是造成 HPV 阳性率高低差异的因素之一。以往的流行病学研究单从数据角度分析得出男性阳性率远远高于女性是片面的,有待制定更系统的分析方法去分析性别间的差异。不过从性别角度入手进行分析可以发现,在 HPV 所导致的越来越多妇科疾病,如宫颈癌、不孕不育及流产的发生率方面,男性所起作用不容忽视。

在亚型分布方面,不论男性还是女性,所占比率最多的均是低危 HPV6、11 亚型,既往文献分析,造成这一现象的原因是选取的研究对象非普通体检或妇科门诊女性而属于高危性病人,所以尖锐湿疣等较为常见^[1]。本研究拓宽了门诊科室中的就诊患者类型,二者结果依然一致,说明就诊群体类型不是其单一影响因素,可能还与病毒自身的生物学特性密切相关,造成该亚型流行的普遍性,这一点有待进一步的基础研究证实。

程艳香等^[2]报道,各种宫颈病变中高危 HPV 亚型的分布频率依次为 16、52、58、33、18 型;陈红舟等^[3]报道浙江舟山地区 HPV 亚型感染率由高到低依次为 HPV52、16、58、18、33 型;在 2010 年 WHO 的 HPV 亚型中国报道中,宫颈癌样本各种亚型患病率由高到低依次为 HPV16、18、58、33、52 型等;本研究中,男性高危亚型主要为 HPV18、58 型,女性主要为 16、52、58 型,综合统计结果和以往报道可以看出,HPV16、18、52、58 型在中国各地人群中分布都很广泛,而它们是诱发生殖系统癌症的重要因素之一。近年来,有关 HPV 与特发性不孕不育及早期流产相关性的报道越来越多,一些体外试验证明,HPV 在促进囊胚细胞凋亡和阻碍滋养层细胞子宫内壁上起重要作用^[4]。1996 年 Cabrera 等^[5]设计出用携带有 HPV16 和 18 亚型的病毒基因组精子载体转染小鼠滋养层细胞的试验方法,随后数位研究者通过这一方法进行了更为深入的研究,Calinisan 等^[6]发现 HPV-DNA-16 片段感染小鼠囊胚会加速 DNA 片段的裂解和细胞凋亡。Henneberg 等^[7]进一步确定了 HPV16 和 18 型导致胚泡受损发生的确切阶段是在细胞分裂初期。You 等^[8]发现细胞感染 HPV31 和 16 亚型后其中的 E6、E7 癌基因片段会在感染第 1 周同时导致滋养层细胞数下降及滋养层细胞和子宫内膜细胞之间黏附力下降。Boulengouar 等^[9]发现表达有 HPV16 型病毒基因组片段的滋养层细胞会下调 E-钙黏蛋白表达。随后 Hong 等^[10]证实了胚胎感染 HPV16 型后会同时导致滋养层细胞浸润能力及着床率下降。结合本文统计结果可以发现,除女性自身 HPV16 型携带率较高外,男性携带率较高的 HPV18 型通过精液感染女性,在诱发特发性不孕不育及流产中所起作用不容忽视。

在 HPV 阳性患者中,单一低危亚型感染率男性(28.81%)高于女性(11.55%),单一高危亚型感染率女性(47.42%)高于男性(17.29%),低危合并高危亚型感染率男性(36.95%)高于女性(12.61%)。本研究将单一亚型感染分成了低危型和高危型,单一低危亚型感染率男性更高,反映了男性前来就诊人群的特点,相当一部分是针对尖锐湿疣等性病,而单一高危亚型感染率女性更高,反映了女性在高危 HPV 所诱发的生殖系统肿瘤方面存在更大风险。低危合并高危亚型感染率男性更高,说明在感染性病的同时,一部分男性会由于高危 HPV 协同诱发作用,加大在未来患上生殖系统肿瘤的风险,如尖锐湿疣长期反复发作导致鳞状上皮细胞增生,高危 HPV 的存在加大了疣状癌发生概率,同时高危 HPV 混合感染也增加了尖锐湿疣的复发概率,这种协同作用值得深入的研究^[11]。高危亚型多重感染率男性(26.1%)和女性(23.8%)基

本一致, Lee 等^[12]报道在由单一高危到混合高危 HPV 感染中, 这一变化会使患宫颈癌的风险从 19.9 倍上升至 31.8 倍, 而本研究结果中性别间无差异, 说明一部分男性患者同样也会因多重感染使患相关肿瘤的概率增大, 尤其是无症状携带者。HPV 合并其他病原菌感染率男性(15.93%)和女性(14.39%)基本一致, 其中以合并 UU 的感染率最高。以往研究表明, HPV 亚型感染可能会随 UU 在女性生殖道数量的增加而增加, UU 代谢产生的尿素酶可分解尿素产生氨导致 pH 值改变, 从而有利于一些细菌定植, 并对细胞产生毒害作用^[13]。IgA 蛋白酶能破坏泌尿生殖道黏膜, 损害免疫系统, 能在细胞分化过程中导致染色体的丢失和移位, 因此可能促进细胞染色体变异并有利于病毒持续感染。UU DNA 拷贝数大于 10^4 对 HPV 感染有促进作用, 所以, 上述病原菌与 HPV 的协同作用值得深入研究。

年龄方面统计数据显示, 门诊男性和女性 HPV 感染的高峰年龄段均在 20~29 岁, 感染率和其他年龄组对比存在明显差异, 感染率曲线为钟形, 反映出由于性活跃等因素使该年龄段成为防治的高危群体, 其中 HPV 所导致的不孕不育和流产概率加大的情况尤其值得关注。另外, 近年来中年群体 HPV 感染率无论男性还是女性都呈递增趋势, 在阳性人群中所占比例越来越大, 反映出社会结构的变化, 如离婚率增高, 成为其重要影响因素。中年群体的年龄因素, 使 HPV 所导致的相关系统肿瘤方面的情况更应引起注意并严加防范。

参考文献

[1] 李嘉彦, 罗育武, 毕超, 等. 性病门诊患者 1786 例 HPV 基因亚型分析[J]. 中国皮肤性病杂志, 2014, 28(6): 595-597.

[2] 程艳香, 江敬红, 史玉霞, 等. HPV 亚型在各型宫颈病变中的分布差异[J]. 中国妇幼保健, 2010, 24(25): 3405-3408.

[3] 陈红舟, 查瑶, 周吉航, 等. 浙江省舟山医院 997 例就诊的女性宫颈炎症患者人乳头瘤病毒感染状况及其基因型分布[J]. 疾病监测, 2014, 10(9): 709-712.

[4] Hong LJ, Oshiro BT, Chan PJ, et al. HPV-16 exposed

mouse embryos; a potential model for pregnancy wastage [J]. Arch Gynecol Obstet, 2013, 287(6): 1093-1097.

[5] Cabrera M, Chan PJ, Kalugdan TH, et al. Transfection of the inner cell mass and lack of a unique DNA sequence affecting the uptake of exogenous DNA by sperm as shown by dideoxy sequencing analogues [J]. J Assist Reprod Genet, 1997, 14(2): 120-124.

[6] Calinisan JH, Chan SR, King A, et al. Human papilloma-virus and blastocyst apoptosis [J]. J Assist Reprod Genet 2002, 19(3): 132-136.

[7] Henneberg AA, Patton WC, Jacobson JD, et al. Human papilloma virus DNA exposure and embryo survival is stage-specific [J]. J Assist Reprod Genet, 2006, 23(6): 255-259.

[8] You H, Liu Y, Agrawal N, et al. Multiple human papillo-mavirus types replicate in 3A trophoblasts [J]. Placenta, 2008, 29(1): 30-38.

[9] Boulenouar S, Weyn C, Van Noppen M, et al. Effects of HPV-16 E5, E6 and E7 proteins on survival, adhesion, migration and invasion of trophoblastic cells [J]. Carcinogenesis, 2010, 31(3): 473-480.

[10] Hong LJ, Oshiro BT, Chan PJ, et al. HPV-16 exposed mouse embryos; a potential model for pregnancy wastage [J]. Arch Gynecol Obstet, 2013, 287(6): 1093-1097.

[11] 张东兴, 刘诗, 刘雄, 等. 影响尖锐湿疣复发的危险因素分析及干预对策 [J]. 中国性科学, 2013, 22(4): 41-44.

[12] Lee SA, Kang D, Seo SS, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA chip [J]. Cancer Lett, 2003, 198(2): 187-192.

[13] 李国玉, 池细弟, 高世华, 等. 解脲支原体与人乳头瘤病毒感染相关性研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(7): 950-953.

(收稿日期: 2016-01-07 修回日期: 2016-03-12)

• 临床探讨 •

高龄老年心房颤动合并冠心病患者抗栓策略选择

罗羽慧, 崔 坤, 梅 霞
(重庆市人民医院中山院区心内科 400013)

摘要:目的 比较大于 75 岁的高龄老年心房颤动合并冠心病患者不同抗栓方案的疗效及安全性。方法 选择重庆市人民医院中山院区完成 2 年随访的住院和门诊心房颤动合并冠心病患者共 192 例, 根据服用抗栓药物种类将患者分为 3 组, 即华法令组、华法令+单联抗血小板(阿司匹林或氯吡格雷)组、单联抗血小板组, 观察 3 组患者心血管血栓事件及出血事件。结果 单联抗血小板组新发脑梗死及其他部位动脉栓塞发生率高于其他两组, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。3 组患者短暂性脑出血事件及急性心肌梗死的发生率差异无统计学意义($P>0.05$)。华法令+单联抗血小板组患者皮肤淤斑发生率明显高于其他两组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。华法令+单联抗血小板组患者上消化道出血发生率也明显高于其他两组, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 对于心房颤动合并冠心病的高龄患者, 华法令具有良好的预防血栓风险作用, 而华法令+单联抗血小板对于高龄患者虽有出血风险, 但其抗栓作用同样在本观察中得到肯定。

关键词:老年; 心房颤动; 冠心病; 抗栓; 疗效; 安全性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.12.037 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)12-1686-03

心房颤动是目前临床上最常见的一类与年龄密切相关的心律失常, 特别是年龄大于 75 岁的高龄老年患者, 其发病率高

达 10%^[1]。老年心房颤动合并冠心病患者的发病率也在逐年增加, 给抗栓方案的选择带来了新的挑战。中国冠心病二级预