

## 西安地区男性尿道感染人乳头瘤病毒基因亚型分析\*

韩伟<sup>a</sup>, 刘文康<sup>b</sup>, 翟卫斌<sup>c</sup>, 武卓<sup>a</sup>, 张恩科<sup>a</sup>

(陕西省人民医院 a. 设备科; b. 检验科; c. 信息科, 西安 710068)

**摘要:**目的 探讨西安地区男性尿道感染人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)基因亚型特点。方法 采用PCR-反向斑点杂交法(reverse dot hybridization assay, RDB)检测2015~2016年陕西省人民医院皮肤科478例男性尿道分泌物中18个HPV基因型,低危型HPV包括HPV6, 11, 43和高危型HPV包括HPV16, 18, 31, 33, 35等亚型。结果 478例受检者中HPV感染率为44.98%(215/478),单一HPV亚型、两种HPV亚型、三种HPV亚型、四种HPV亚型和五种HPV亚型的感染率分别为32.85%(157/478), 8.79%(42/478), 2.09%(10/478), 0.42%(2/478)和0.84%(4/478);低危型HPV亚型和高危型HPV亚型累计检出率分别为40.17%和22.38%,其中检出率前五位HPV亚型为HPV6(24.69%), HPV11(12.13%), HPV16(5.65%), HPV43(3.35%)和HPV52(2.30%),其他亚型检出率介于0%~2.09%;在同年龄段受检者中HPVs感染模式均以单一感染为主;21岁以上的受检者中主要HPV亚型(HPV6, 11, 16, 43, 52和66)检出率差异均有统计学显著性意义( $\chi^2=12.879\sim 109.7$ ,  $P=0.000\sim 0.025$ )。结论 西安地区男性尿道感染的HPV亚型以HPV6, 11, 16, 43和52为主,为研究男性感染HPV的流行病学提供数据和资料。

**关键词:**人乳头瘤病毒;男性;基因分型;PCR-反向斑点杂交法;感染模式

中图分类号:R373;Q786 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)03-052-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.03.014

### Detection of Human Papillomavirus Subtypes in Male Urethra in Xi'an Area

HAN Wei<sup>a</sup>, LIU Wen-kang<sup>b</sup>, ZHAI Wei-bin<sup>c</sup>, WU Zhuo<sup>a</sup>, ZHANG En-ke<sup>a</sup> (a. Department of Equipment; b. Department of Clinical Laboratory; c. Department of Information Processing, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

**Abstract:** Objective To investigate the infection of HPV subtypes in male urethra in Xi'an area. **Methods** The eighteen subtypes of HPV DNA were detected in 478 cases of male patients by PCR-reverse dot hybridization assay (RDB) including low risk subtypes (HPV6, 11, 43) and high risk subtypes (HPV16, 18, 31, 33) during 2015~2016. **Results** The total infection rate of HPV subtypes in 478 subjects was 44.97% (215/478). The percents of subjects infected by one subtype, two ones, three ones, four ones and five ones were 32.85% (157/478), 8.79% (42/478), 2.09% (10/478), 0.42% (2/478) and 0.84% (4/478), respectively. The detection rates of low risk subtypes and high risk ones were 40.17% and 22.38% in which the most common subtypes were HPV6 (24.69%), HPV11 (12.13%), HPV16 (5.65%), HPV43 (3.35%) and HPV52 (2.30%) and those of others were from 0% to 2.09%. The infection pattern of HPV subtypes gave priority to one subtype infection in all age groups. There was statistically different between HPVs (6, 11, 16, 43, 52, 66) in twenty years or older subjects ( $\chi^2=12.879\sim 109.7$ ,  $P=0.000\sim 0.025$ ). **Conclusion** The majority of HPV subtypes detected in male urethra were HPV6, HPV11, HPV16, HPV43 and HPV52 in Xi'an area which provided epidemiological data for HPV infection in males.

**Keywords:** human papillomavirus; male; genotyping; PCR-based reverse dot hybridization assay; infection pattern

人乳头瘤病毒(HPV)尤其是高危型HPV如HPV16和HPV18与女性恶性肿瘤宫颈癌的发生有因果关系<sup>[1]</sup>,因此研究HPV与宫颈病变的关系是国内外主要研究方向,然而由于HPV的性传播途径使得男性在女性感染HPV过程中充当HPV载体媒介作用,因此男性生殖器HPV感染的检测和研究不容忽视<sup>[2]</sup>,另外对男性采取预防措施宣传及干预治疗要比女性更简便易行,因此了解男性人群中HPV基因分型及感染模式特点研究非常必

要,这有助于针对性地阻断HPV尤其是高危型HPV男性传播链,不但在宫颈癌的防治上起到辅助作用,而且有助于男性预防高危型HPV导致的口咽癌、肛门癌、阴茎癌<sup>[3]</sup>。

该研究利用PCR-反向斑点杂交法检测2015~2016年皮肤科门诊478例男性尿道分泌物中18个HPV基因型,了解本地区男性HPV感染状况和感染特点。

#### 1 材料与方法

\* 基金项目:陕西省自然科学基金面上项目(NO. 2014JM2-3035)。

作者简介:韩伟(1984—),男,硕士,主管检验技师,主要研究方向为临床工程信息和转化医学, Tel: 15929958180, E-mail: headfresss@163.com。

1.1 研究对象 478例受检者均来自2015年11月~2016年7月在皮肤科就诊的男性患者,年龄0~87岁,平均年龄 $33 \pm 9.7$ 岁,标本取材于受检者的尿道口上皮细胞。0~20岁的受检者有15例,21~30岁的有226例,31~40岁的有164例,41~50岁的有48例,51岁以上的受检者有25例。

1.2 试剂和仪器 HPV基因亚型检测试剂购自中山大学达安基因股份有限公司,基因扩增仪型号为美国ABI-7300,全自动核酸分子杂交仪为DA-8000型。

### 1.3 方法

1.3.1 采样:所有病例均使用一次性男性专用拭子,将受检者尿道口充分暴露并用一次性拭子沿尿道口顺时针旋转拭子4~5圈以获得足够量的上皮细胞,将拭子放入洗脱管中并立即送检。

#### 1.3.2 PCR-反向斑点杂交

1.3.2.1 DNA提取:将拭子漂洗后,吸取洗脱液至1.5 ml的离心管中,于10 000 r/min离心5 min后弃去上清,加入50  $\mu$ l DNA提取液并混匀,于100℃处理10 min,最后于1 000 r/min离心5 min,吸取上清液备用。

1.3.2.2 PCR扩增:取上清液5  $\mu$ l加入PCR反应管中后6 000 r/min瞬时离心,在PCR仪中进行扩增,反应参数为93℃ 3 min预变性,然后93℃ 40 s,55℃ 40 s,72℃ 40 s扩增,共40个循环,最后72℃延伸7 min。

1.3.2.3 反向点杂交:PCR扩增产物于98℃变性8 min后冰浴至少2 min,将HPV分型杂交膜条放入5 ml的离心管中并加入45℃预热的4 ml杂交液I后备用;将PCR扩增产物放入对应的离心管

中杂交50 min;弃去杂交液I并取出膜条,用45℃预热的20 ml杂交液II进行漂洗两次,漂洗条件为置于45℃水浴摇床100 r/min 10 min,充分弃去杂交液II后加入20 ml结合液,放置于25℃摇床上并避光反应10 min;弃去结合液并用25℃杂交液I 20 ml置于摇床上漂洗3 min并重复2次;弃去杂交液I后加入20 ml溶液II并置于摇床上3 min后弃去溶液II,然后加入显色液20 ml避光反应5~10 min,弃去显色液,用20 ml溶液II置于摇床上3 min漂洗杂交膜,弃去溶液II后加入20 ml蒸馏水并轻摇3 min,取出并吸干膜条表面水分,立即在扫描仪上扫描膜条。

1.3.2.4 结果分析:使用达安图像分析软件分析杂交膜上的实验数据并判断结果。阳性质控品的显色反应控制点应呈阳性,Globin位点应呈阳性;阴性质控品的显色反应呈阴性,Globin位点应呈阴性,其他位点应为阴性。

1.4 统计学分析 本实验中统计学分析用window版软件SPSS18.0进行。计数资料由 $\chi^2$ 和Fisher's exact检验方法进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 HPV亚型检测结果 478例受检者中HPV感染率为44.98%(215/478),低危型HPV亚型和高危型HPV亚型累计检出率分别为40.17%和22.38%;阳性率最高前五位的HPV亚型依次为HPV6(24.69%), HPV11(12.13%), HPV16(5.65%), HPV43(3.35%)和 HPV52(2.30%),其他亚型阳性率介于0%~2.09%,见图1。

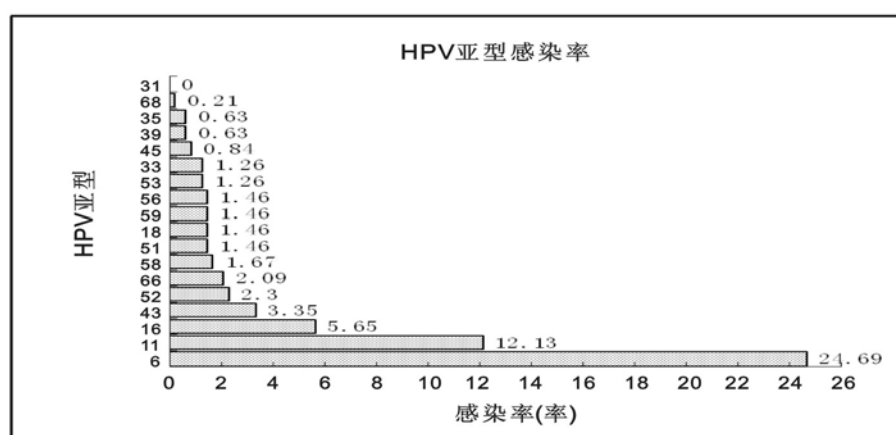


图1 HPV各亚型在受检者中的感染率示意图

2.2 受检者中HPV基因亚型感染模式 见表1。受检者中HPV感染模式有单一感染(一项)和混合感染(二至五项),其中一项HPV亚型、二项HPV亚型、三项HPV亚型、四项HPV亚型和五

项HPV亚型的感染率分别为32.85%(157/478), 8.79%(42/478), 2.09%(10/478), 0.42%(2/478)和0.84%(4/478);在所有感染模式中,在不同年龄段受检者中HPV亚型感染率差异均无

统计学显著性意义( $\chi^2 = 24.463, P = 0.08$ ),但是在同年龄段的受检者中 HPV<sub>s</sub> 感染模式均以单一

感染为主。未受到 HPV 亚型感染的占 55.02% (263/478)。

表 1 在不同年龄段受检者中 HPV 亚型感染模式

年龄组 (岁)	n	HPV <sub>s</sub> 阳性模式[n(%)]					总计	阴性
		一项	二项	三项	四项	五项		
0~20	15	6(66.7)	2(22.2)	1(11.1)	0(0.0)	0(0.0)	9(60.0)	6(40.0)
21~30	226	68(70.8)	21(21.9)	4(4.2)	1(1.0)	2(2.1)	96(42.5)	130(57.5)
31~40	164	51(73.9)	14(20.3)	4(5.8)	0(0.0)	0(0.0)	69(42.1)	95(57.9)
41~50	48	23(85.2)	3(11.1)	1(3.7)	0(0.0)	0(0.0)	27(56.3)	21(43.7)
≥51	25	9(64.3)	2(14.3)	0(0.0)	1(7.1)	2(14.3)	14(56.0)	11(44.0)
总计	478	157(73.0)	42(19.5)	10(4.6)	2(0.9)	4(2.0)	215(44.98)	263(55.02)

2.3 在不同年龄段受检者中主要 HPV 基因型的分布 见表 2。主要 HPV 亚型如 HPV6, 11, 16, 43 和 52 在受检者各年龄段中的阳性率差异均无统计学显著性意义( $\chi^2 = 1.824 \sim 8.227, P = 0.084 \sim 0.768$ ),而 HPV66 的检出率在各年龄段之间差异有统计学显著性意义( $\chi^2 = 21.178, P = 0.000$ ),即 HPV66 在 51 岁以上的受检者中阳性率最高

(12%),而在 21~30 岁受检者中感染率最低(0.44%);在 0~20 岁的受检者中各个 HPV 亚型检出率之间差异无统计学显著性意义( $\chi^2 = 9.217, P = 0.101$ ),但在 21 岁以上的受检者中各个主要 HPV 亚型检出率之间差异均有统计学显著性意义( $\chi^2 = 12.879 \sim 109.7, P = 0.000 \sim 0.025$ )。

表 2 在各个年龄段受检者中主要 HPV 亚型的检出情况

年龄组 (岁)	HPV6		HPV11		HPV16		HPV43		HPV52		HPV66*	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
0~20	5	10	2	13	0	15	2	13	1	14	1	14
21~30*	50	176	28	198	12	214	8	218	4	222	1	225
31~40*	39	125	18	146	12	152	2	162	6	158	2	162
41~50*	17	31	5	43	1	47	3	45	0	48	3	45
≥51*	7	18	5	20	2	23	1	24	0	25	3	22
总计	118	360	58	420	27	451	16	462	11	467	10	468

注: \* 为  $P < 0.05$ 。

3 讨论 与以往文献比较,怀化、丽水、镇江、佛山等地男性 HPV 感染率介于 37%~85%,本研究中西安地区男性尿道 HPV 感染率(44.97%)处于相对较低水平,另外男性感染 HPV 亚型主要为 HPV6, 11 和 16,与西安地区男性的 HPV 感染特点相似<sup>[4~10]</sup>。该研究中低危型 HPV 和高危型 HPV 累计检出率分别为 40.17%和 22.38%,累计为 62.55%则高于男性 HPV 感染率(44.97%),出现此现象的原因是受检者中不仅有单一 HPV 亚型感染,而且有多重 HPV 亚型感染,包括两种至五种 HPV 亚型混合感染,所以 HPV 亚型累计检出率高于受检者 HPV 感染率。

与以往的研究比较发现<sup>[4~10]</sup>,本研究中男性 HPV 亚型感染均存在两种以上亚型的多重感染,甚至有八种 HPV 亚型的混合感染<sup>[8]</sup>,总体上单一 HPV 亚型感染率高于多重感染率,多重感染也多

为低危型和高危型混合感染。本研究发现 HPV6 和 HPV16 感染者多集中在 21 岁以上的受检者,这提示大于 21 岁男性易受到 HPV 感染,可能与此年龄段的受检者处于性活跃期有关,而研究中男性未有 HPV 亚型感染的仅占 55.03%,提示需要加强 HPV 防护意识宣传。

在以往女性感染 HPV 亚型的研究中,检出的主要 HPV 亚型有低危型 HPV6, HPV11 和高危型 HPV16<sup>[11~14]</sup>,而本研究中男性尿道感染 HPV 的亚型主要也为 HPV6, 11 和 16,这提示男性尿道感染的 HPV 亚型与女性宫颈脱落细胞感染的 HPV 亚型具有较高的相似度,也说明男性在女性感染 HPV 过程中充当 HPV 载体媒介作用,然而研究男性尿道感染 HPV 亚型还尚显不足,需要多地域、大样本的 HPV 基因分型研究后方能得出结论。

高危型 HPV16 感染可以引发宫颈癌、肛门癌及外生殖器癌,由于高危型 HPV 感染与宫颈癌发病有因果关系,而研究发现女性感染 HPV 与男性在 HPV 传播中起重要作用,因此阻断男性在 HPV 传播是有效降低女性宫颈癌发病率的关键<sup>[2]</sup>。由于男性尿道感染的 HPV 亚型谱与女性宫颈脱落细胞感染的 HPV 亚型谱具有较高的相似度,可以采取男性接种宫颈癌疫苗,有效监控性活跃期的男性 HPV 感染,及时治疗 HPV 阳性的男性,并采取安全的性行为,这样就可以降低男性和女性的 HPV 感染率,高危 HPV 相关恶性肿瘤如宫颈癌、肛门癌和阴茎癌等的发病率才会随之下,同时也要加强女性宫颈癌的筛查,使得高危 HPV 所致恶性肿瘤才能有效预防和早期发现,提高人民生活质量。

#### 参考文献:

- [1] Tsikouras P, Zervoudis S, Manav B, et al. Cervical cancer: screening, diagnosis and staging[J]. J Buon, 2016, 21(2): 320-325.
- [2] Giuliano AR, Anic G, Nyitray AG. Epidemiology and pathology of HPV disease in males[J]. Gynecologic Oncology, 2010, 117(2 Suppl): S15-19.
- [3] Stratton KL, Culkin DJ. A contemporary review of HPV and penile cancer[J]. Oncology (Williston Park), 2016, 30(3): 245-249.
- [4] 姚学群, 廖晓敏, 唐勇, 等. 某地区男性尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒基因型别的分析[J]. 中国医药指南, 2015, 13(13): 17-18.  
Yao XQ, Liao XM, Tang Y, et al. Analysis of HPV genotypes in the male condyloma acuminatum (CA) skin lesions in A district[J]. Guide of China Medicine, 2015, 13(13): 17-18.
- [5] 宁海明, 吴绍芳. 丽水地区男性尖锐湿疣患者皮损 HPV 基因型别分析[J]. 中华男科学杂志, 2015, 21(11): 1001-1004.  
Ning HM, Wu SF. Genotypes of human papilloma virus in male condyloma acuminata patients in Lishui area[J]. National Journal of Andrology, 2015, 21(11): 1001-1004.
- [6] 莫和国, 黄健云, 黎泳仪, 等. 男性尿道人乳头状瘤病毒感染调查与基因亚型分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2015(13): 2957-2958, 2978.  
Mo HG, Huang JY, Li YY, et al. Investigation of human papilloma virus infections in male urethral and gene subtype analysis[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2015(13): 2957-2958, 2978.
- [7] 邓健康, 郭晓兰. 川东北地区性病门诊男性患者 HPV 感染情况分析[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(5): 143-146.  
Deng JK, Guo XL. Analysis of human papillomavirus infection in male patients in northeast of Sichuan[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(5): 143-146.
- [8] 鄢黎明, 陈芹, 张铭, 等. 镇江地区男性患者人乳头瘤病毒基因型分析[J]. 中华男科学杂志, 2015, 21(12): 1102-1105.  
Li LM, Chen Q, Zhang M, et al. Human papillomavirus genotypes in male patients attending the STD clinic in Zhenjiang area[J]. National Journal of Andrology, 2015, 21(12): 1102-1105.
- [9] 黄泽棋, 谢伟贤, 陈启然, 等. 223 例男性尖锐湿疣组织 HPV 基因分型检测及分析[J]. 广东医学, 2014, 35(7): 1087-1089.  
Huang ZQ, Xie WX, Chen QR, et al. Detection and analysis of HPV genotyping in 223 cases of male genital warts tissues[J]. Guangdong Medical Journal, 2014, 35(7): 1087-1089.
- [10] 夏思钧, 龚培尧, 耿建祥, 等. 男性尿道口细胞 HPV 感染基因型分布的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(17): 2231-2233.  
Xia SJ, Gong PR, Geng JX, et al. A study of HPV infective genotypes distribution in urethral mouth cells of male cases[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2013, 34(17): 2231-2233.
- [11] 李岳西, 王华, 苏宝凤, 等. 西安地区女性生殖道感染 HPV 基因型调查分析[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(3): 124-126.  
Li YX, Wang H, Su BF, et al. Investigation and survey on human papillomavirus subtypes infection in the lower genital tract of women in Xi'an city[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(3): 124-126.
- [12] 赵建平. 泰州黄桥地区 HPV 亚型分布及其与宫颈病变的关系[J]. 临床输血与检验, 2016, 18(1): 30-32.  
Zhao JP. HPV subtypes distribution and its relationship with cervical lesions in Taizhou Huang Qiao area[J]. Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine, 2016, 18(1): 30-32.
- [13] 袁艳, 王焰, 马莉, 等. 贵州地区 8 102 例就诊妇女 21 种 HPV 亚型检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2014(9): 1159-1161, 1164.  
Yuan Y, Wang Y, Ma L, et al. Distribution investigation of 21 types of HPV in 8 102 female patients in Guizhou[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2014(9): 1159-1161, 1164.
- [14] 武坚锐, 李小丽, 祁春茹, 等. 1 460 例宫颈脱落细胞 HPV 亚型检测结果分析[J]. 临床医药实践, 2014, 23(4): 284-286, 306.  
Wu JR, Li XL, Qi CR, et al. Analysis of HPV subtypes in 1 460 cases of cervical exfoliated cells[J]. Proceeding of Clinical Medicine, 2014, 23(4): 284-286, 306.

收稿日期: 2016-11-28

修回日期: 2017-03-05