

论著·临床研究

北京地区妇科门诊患者沙眼衣原体和人类乳头瘤病毒感染及其基因型相关分析*

洪萍, 王培昌[△], 刘宇, 兰贺

(首都医科大学宣武医院检验科, 北京 100053)

摘要:目的 分析北京地区妇科门诊因生殖道感染就诊的患者沙眼衣原体(CT)和人类乳头瘤病毒(HPV)感染及 HPV 基因型的分布情况。方法 选取 2016 年 12 月至 2017 年 12 月于首都医科大学宣武医院妇科门诊患者的宫颈细胞标本 1 768 例, 分别采用实时荧光聚合酶链反应(PCR)法和 PCR 导流杂交法对 CT、HPV 病原体进行检测。结果 在 1 768 例患者中, CT 阳性率为 11.1%(196/1 768), HPV 阳性率为 29.6%(524/1 768)。HPV 感染单一亚型者 414 例(79.0%), 多重亚型者 110 例(21.0%)。524 例 HPV 阳性样本中, 有 122 例 CT 检测阳性(23.3%), 其中单一亚型者 48 例(39.3%), 多重亚型者 74 例(60.7%), 多重亚型患者阳性率明显高于单一 HPV 感染患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 HPV 合并 CT 感染患者中, 多重亚型感染最常见的 HR-HPV 16 型的阳性率为 13.0%(35/270), 其次为 52 型 11.1%(30/270), 58 型 35.1%(26/270), 33 型 8.1%(22/270)。HPV 合并 CT 感染患者多重亚型的阳性率均高于单一 HPV 感染患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 对 CT 和 HPV 感染及 HPV 基因型的相关分析, 进一步证明 CT 感染对于 HPV 的感染具有促进作用, 预防和积极治疗 CT 感染对 HPV 感染的防治应具有积极意义, 进而降低 HPV 感染诱发宫颈癌的可能性。

关键词:沙眼衣原体; 人类乳头瘤病毒; 基因型; 多重亚型; 宫颈癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.06.003

中图分类号:R737.33

文章编号:1673-4130(2019)06-0649-04

文献标识码:A

Analysis on the relativity of between chlamydia trachomatis and human papillomavirus infection and their genotypes distribution among the outpatients in Beijing*

HONG Ping, WANG Peichang[△], LIU Yu, LAN He

(Department of Clinical Laboratory, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China)

Abstract: Objective To characterize the relationship between chlamydia trachomatis (CT) and human papillomavirus (HPV) infection and their genotypes among outpatients in Beijing. **Methods** From December 2016 to December 2017, a total of 1 768 cervical cell specimens were selected from the department of gynecological outpatient in Xuanwu hospital of Capital Medical University. Real-time fluorescence polymerase chain reaction (PCR) and PCR diversion hybridization were used to detect the pathogens of CT and HPV. **Results** The overall prevalence of the investigated pathogens was 29.6% (524/1 768) for HPV and 11.1% (196/1 768) for chlamydia trachomatis, in which 79.0% (414 cases) was HPV single infections, 21.0% (110 cases) was HPV multiple infections. Among the 524 cases of HPV positive samples, 122 cases were positive (23.3%) in CT detection, including 48 cases of single subtype (39.3%) and 74 cases of multiple subtypes (60.7%). The positive rate of patients with multiple subtypes was significantly higher than that of patients with single HPV infection, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Among patients with HPV complicated with CT infection, the positive rate of HR-HPV type 16 with multiple subtypes was 13.0% (35/270), followed by 11.1% (30/270) of type 52, 35.1% (26/270) of type 58, and 8.1% (22/270) of type 33. The positive rate of multiple subtypes in patients with HPV and CT infection was higher than that in patients with single HPV infection ($P < 0.05$). **Conclusion** The study provides data regarding the epidemiology of chlamydia trachomatis and

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81501841)。

作者简介:洪萍,女,主管技师,主要从事医学检验专业研究。△ 通信作者, E-mail: peichangwang@yahoo.com。

本文引用格式:洪萍,王培昌,刘宇,等.北京地区妇科门诊患者沙眼衣原体和人类乳头瘤病毒感染及其基因型相关分析[J].国际检验医学杂志,2019,40(6):649-652.

HPV infection and a high frequency of co-detection of multiple HPV genotypes among outpatients in Beijing and suggest that chlamydia trachomatis infection may favour HPV infection.

Key words: chlamydia trachomatis; human papillomavirus; genotypes; multiple genotypes; cervical cancer

人类乳头瘤病毒(HPV)感染是导致宫颈癌发生的一个重要因素^[1-2]。而只有持续的 HPV 感染并且存在其他促进感染的协同因素存在时,才有可能引起宫颈癌的发生,大部分 HPV 感染都能被宿主的免疫反应清除^[3]。已有研究表明宫颈癌的发生与其他的性传播疾病及 HPV 有关,这些性传播疾病的感染可能是宫颈癌发生的协同因素^[4-5]。沙眼衣原体(CT)是影响人类生殖健康的重要病原体之一。CT 能够引起前列腺炎和尿道炎等疾病,是引起男性不育的重要原因之一,其抗体存在与否与 HPV 感染状态及宫颈癌的进展都有一定的联系^[3],妇女感染 CT 增加了患宫颈癌的风险^[6]。不同的人种和地区其 HPV 感染的基因型分布是有区别的^[7],目前国内关于 CT 和 HPV 感染及 HPV 基因型相关研究报道的比较少。本研究对 2017 年 12 月至 2018 年 12 月首都医科大学宣武医院妇科门诊患者行 CT 及 HPV 检测结果进行了回顾性分析及比较,旨在研究 CT 和 HPV 感染及 HPV 基因型的相关性,为制定合理的预防、检测及治疗方案提供依据。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 12 月至 2017 年 12 月在首都医科大学宣武医院妇科门诊因生殖道感染就诊患者 1 768 例,平均年龄(30±10)岁,收集患者的相关临床信息。纳入病例标准:(1)在本院妇科门诊因生殖道感染就诊患者;(2)HPV 分型及 CT 检测均在本院进行;(3)既往无子宫切除史、宫颈手术史及 HPV 感染治疗史;(4)无盆腔放射治疗史;排除病例标准:(1)患者病例资料不完整;(2)月经期或严重内外科疾病无法配合检查的患者;(3)标本细胞量过少或标本不合格者。

1.2 基因分型 (1)单一 HPV 阳性组根据 HPV 是否为单一亚型,分为单一亚型和多重亚型;(2)单一 HPV 阳性患者根据 HPV 基因型,分为不同基因亚型;(3)HPV 和 CT 合并感染患者根据是否为单一亚型,分为单一亚型和多重亚型;(4)HPV 和 CT 合并感染患者根据 HPV 基因型,分为不同基因亚型。

1.3 仪器与试剂 CT、HPV 核酸检测试剂盒(广东潮州凯普生物化学有限公司),BIOER lifeExpress 聚合酶链反应(PCR)扩增仪(杭州博日科技有限公司),Hybrimax 医用核酸分子快速杂交仪(广东潮州凯普生物化学有限公司),Lightcycle 480(德国罗氏)。

1.4 方法

1.4.1 标本采集及保存方法 用无菌棉拭子将宫颈口过多的分泌物轻轻擦拭干净,更换宫颈刷,将其置

于宫颈口,轻轻顺时针旋转 5 周,所有标本置已加有专用细胞保存液-液基薄层细胞学(TCT)保存液的取样管内,拧紧瓶盖,立即送检。

1.4.2 DNA 提取 取含有宫颈细胞的细胞保存液 0.6 mL,按照凯普生物化学有限公司的细胞裂解液说明书步骤提取 DNA。

1.4.3 PCR 导流杂交 HPV 分型检测 (1)PCR 扩增:按照说明书配置体系并进行 PCR 扩增。每个 PCR 反应孔中加入 PCR 混合液 23.25 μL[含脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)、氯化镁(MgCl₂)、Tris-HCl 缓冲液],DNA 聚合酶 0.75 μL 及 DNA 样本 1 μL,按说明书配置对应空白对照及阳性对照。按照 95 °C/9 min 预变性,95 °C/20 s 变性,55 °C/30 s 退火及 72 °C/30 s 延伸,40 个循环。(2)杂交及结果判定:取 PCR 扩增产物进行膜杂交,操作按说明书进行,结果出现清晰可见蓝紫色原点为阳性。该试剂盒可检测 21 种 HPV 基因型,其中 15 种高危型(HR)16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68,6 种低危型(LR)6、11、42、43、44,CP8304,并在 1 h 内分析结果。

1.4.4 荧光 PCR 检测 CT (1)荧光 PCR 扩增:按照说明书进行配置体系并进行荧光 PCR 扩增。每个 PCR 反应孔中加入 PCR 混合液 17.5 μL(含 dNTP、MgCl₂、Tris-HCl 缓冲液),DNA 聚合酶 0.5 μL 及 DNA 样本 2 μL,按说明书配置对应空白对照及阳性对照。按照 95 °C/10 min 预变性,95 °C/15 s 变性,60 °C/60 s 退火及延伸,45 个循环,采集荧光,进行 Ct 值计算。(2)结果判定:严格按照说明书进行,根据患者 Ct 值判定阴阳性结果。当临床样本的 Ct 值≤40,判为阳性,否则为阴性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 进行统计分析,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 和 CT 检测结果 在 1 768 例妇科门诊样本中,CT 阳性者 196 例,总阳性率为 11.1%(196/1 768)。HPV 阳性者 524 例,总阳性率为 29.6%(524/1 768),所有 21 种 HPV 基因亚型均有检出,其中 HPV 单一亚型者 414 例(79.0%),多重亚型者 110 例(21.0%)。524 例 HPV 阳性样本中,有 122 例 CT 检测阳性,阳性率 23.3%(122/524)。在 122 例合并感染中,HPV 单一亚型者 48 例(39.3%),多重亚型者 74 例(60.7%)。HPV 合并 CT 感染患者多重亚型 HPV 阳性率明显高于单一亚型 HPV 阳性

率,而单一 HPV 感染患者 HPV 阳性率高于 HPV 合并 CT 感染患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同感染类型 HPV 阳性率分布情况

感染类型	HPV 阳性率 [n(%)]		HPV 亚型[n/n(%)]	
	HPV 阳性率 [n(%)]	HPV 亚型		
		单一亚型	多重亚型	
单一 HPV 感染	402(22.7)*	366/402(91.0)	36/402(9.0)	
HPV 合并 CT 感染	122(6.9)	48/122(39.3)	74/122(60.7)**	
合计	524(29.6)	414/524(79.0)	110/524(21.0)	

注:* $P < 0.05$, $\chi^2 = 175.6$,与 HPV 合并 CT 感染类型比较;
** $P < 0.05$, $\chi^2 = 150.8$,与单一亚型比较

2.2 不同感染类型患者 HPV 的基因型分布情况

122 例 HPV 合并 CT 感染患者和 402 例单一 HPV 感染患者 HPV 基因型分布情况见图 1。122 例 HPV 合并 CT 感染患者共检测出 270 个基因型,而 402 例单一 HPV 感染患者共检测出 474 个基因型,感染前 4 位的 HPV 基因亚型由高到低依次为 HPV-16、52、58、33;各型在 HPV 合并 CT 感染患者中阳性率都高于单一 HPV 感染患者,见图 1、表 2。

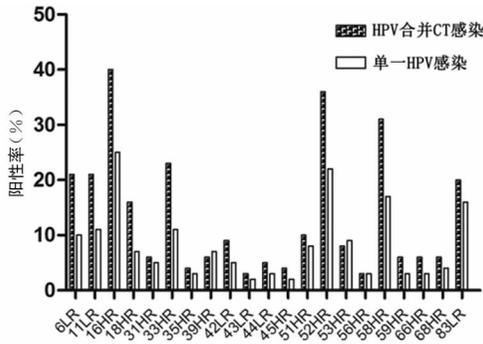


图 1 不同感染类型患者 HPV 基因型分布情况

表 2 不同感染类型患者 HPV 基因型分布情况[n(%)]

HPV 亚型	单一 HPV 感染	HPV 合并 CT 感染	χ^2	P
16	25(5.3)	40(14.8)	19.6	<0.05
52	22(4.6)	36(13.3)	18.1	<0.05
58	17(3.6)	31(11.5)	17.8	<0.05
33	11(2.3)	23(8.5)	15.2	<0.05
合计	75(15.8)	130(48.1)	90.0	<0.05

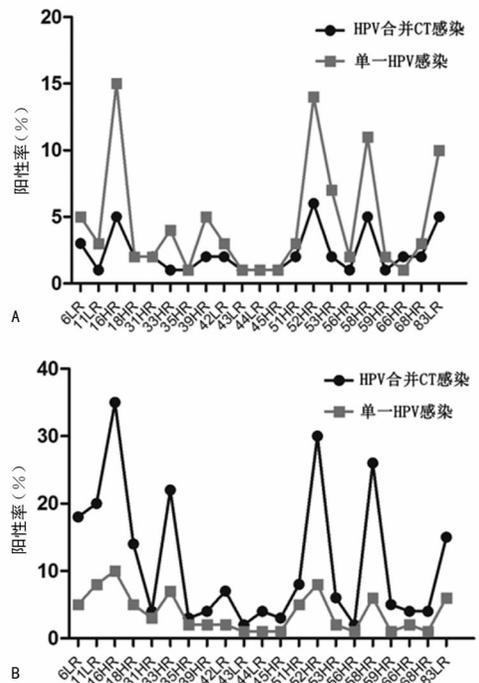
2.3 不同感染类型患者单一亚型和多重亚型感染 HPV 的基因型分布

122 例 HPV 合并 CT 感染患者和 402 例单一 HPV 感染患者单一亚型和多重亚型 HPV 感染基因型分布见图 2。在单一亚型感染中, HPV 合并 CT 感染患者 48 例,单一 HPV 感染患者 96 例,且单一 HPV 感染阳性率除 HR-HPV 66 外,均高于 HPV 合并 CT 感染阳性率,见图 2A。在多重亚型感染中,感染前 4 位的 HPV 基因亚型由高到低依次为 HPV-16、52、58、33,见图 2B; HPV 合并 CT 感染患者多重亚型的阳性率都高于单一 HPV 感染患

者,见表 3。

表 3 不同感染类型患者单一亚型和多重亚型感染 HPV 基因型分布[n(%)]

HPV 亚型	单一 HPV 感染		HPV 合并 CT 感染		χ^2	P
	单一亚型	多重亚型	单一亚型	多重亚型		
16	15(3.2)	10(2.1)	5(1.9)	35(13.0)	35.7	<0.05
52	14(3.0)	8(1.7)	6(2.2)	30(11.1)	31.5	<0.05
58	11(2.3)	6(1.3)	5(1.9)	26(9.6)	29.2	<0.05
33	4(0.8)	7(1.5)	1(0.4)	22(8.1)	20.4	<0.05
合计	44(9.3)	31(6.5)	17(6.3)	113(41.9)	157.3	<0.05



注:A 表示单一亚型;B 表示多重亚型

图 2 HPV 合并 CT 感染和单一 HPV 感染患者基因型分布情况

3 讨论

目前文献报道 HPV 有近 40 种亚型跟生殖道感染相关,根据诱发宫颈癌发生的危险程度的不同,分为 HR-HPV 和 LR-HPV 两大类,且不同 HPV 亚型的感染其致病性和后果也有差异^[8-9]。因而,不同地区和人群 HPV 亚型感染的分布资料,是 HPV 感染和宫颈癌防治策略的基础。本研究通过对 1 768 例妇科门诊患者进行分型筛查,结果显示 HPV 总阳性率为 29.6%(524/1 768),其中 HPV 单一亚型者 414 例(414/524, 79.0%),多重亚型者 110 例(110/524, 21.0%)。

HPV 的感染已被证实为导致宫颈癌的主要致病因素,但并不是所有 HPV 感染最终都会演变为宫颈癌,CT 感染影响宿主自身感染 HPV 的状态也成为导致宫颈癌的一个重要因素^[10]。有研究报道,沙眼衣原体的感染可以导致机体免疫清除能力的减低^[3],从而

增加了宿主感染 HPV 的概率。在本研究中,CT 的总阳性率为 11.1%(196/1 768),而 HPV 合并 CT 感染患者为 122 例(23.3%),且 HPV 合并 CT 患者 HPV 阳性率明显高于单一 HPV 感染患者,差异有统计学意义($P < 0.05$),该结果证实 CT 感染是 HPV 感染的协同因素。

在 HPV 基因型分布的研究中,122 例 HPV 合并 CT 感染患者中,单一亚型为 39.3%(48/122),多重亚型高达 60.7%(74/122),共检测出 270 各基因型。HPV 单一亚型主要分布在单 HPV 感染的患者中,而 HPV 合并 CT 感染患者 HPV 多重亚型的阳性率明显高于单一 HPV 感染患者,差异有统计学意义($P < 0.05$),该研究结果表明 CT 感染有可能会促进 HPV 多重亚型感染的发生。SERACENI 等^[11]指出,单一亚型 HPV 感染一般不会促进机体进一步感染的可能,而多重亚型 HPV 感染可能会导致免疫系统局部损伤。CT 感染可能导致 HPV 多重亚型阳性率升高,对机体免疫系统造成破坏,最终提高宫颈癌发生的危险性。本研究发现,HPV 合并 CT 感染患者的 HR-HPV16、52、58、33 比单一 HPV 感染患者总体阳性率更高,差异有统计学意义($P < 0.05$),多重亚型感染患者与此总体阳性率分布结果一致。已有文献报道 HR-HPV16 在 HPV 合并 CT 感染患者中阳性率最高,CT 感染有可能提高 HPV16 在低度鳞状上皮内病变的蛋白表达,提高 HPV 的活性^[3,12]。因此,CT 感染会增加 HPV 多重感染的风险,从而提高 HPV 合并 CT 感染着宫颈癌变的风险。

4 结 论

从 CT 感染患者中 HPV 尤其多重亚型及 HR-HPV 高阳性率了解到对于检测出 HPV 感染的妇女,有必要进行 CT 的检测,若两者均为阳性,临床应予以重视,并进行及时针对性治疗,从而更好的防治 HPV 感染和宫颈癌的发生。

参考文献

[1] TOMMASINO M. The human papillomavirus family and its role in carcinogenesis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 26(6):13-21.

[2] SERACENI S, CAMPISCIANO G, CONTINI C, et al. HPV genotypes distribution in Chlamydia trachomatis co-infection in a large cohort of women from north-east

Italy[J]. *J Med Microbiol*, 2016, 65(5):406-413.

- [3] SILVA J, CERQUEIRA F, MEDEIROS R. Chlamydia trachomatis infection: implications for HPV status and cervical cancer[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2014, 289(4):715-723.
- [4] ZHANG D, LI T, CHEN I, et al. Epidemiological investigation of the relationship between common lower genital tract infections and high-risk human papillomavirus infections among women in Beijing, China[J]. *Pos One*, 2017, 12(5):e0178033.
- [5] MAGAÑA-CONTRERAS M, CONTRERAS-PAREDES A, CHAVEZ-BLANCO A, et al. Prevalence of sexually transmitted pathogens associated with HPV infection in cervical samples in a Mexican population[J]. *J Med Virol*, 2015, 87(12):2098-2105.
- [6] ZHU H Y, SHEN Z J, LUO H, et al. Chlamydia trachomatis Infection-Associated risk of cervical cancer: a Meta-Analysis[J]. *Medicine*, 2016, 95(13):e3077.
- [7] TAO G, GAO Y L, GAO Z, et al. Human papillomavirus genotype distribution among HPV-positive women in Sichuan province, Southwest China[J]. *Arch Virol*, 2018, 163(1):65-72.
- [8] MUNOZ N, BOSCH F X, DE SANJOSE S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(6):518-527.
- [9] DE VILLIERS E M, FAUQUET C, BROKER T R, et al. Classification of papillomaviruses[J]. *Virology*, 2004, 324(1):17-27.
- [10] KARIM S, SOUHO T, BENLEMLIH M, et al. Cervical cancer induction enhancement potential of chlamydia trachomatis: a systematic review[J]. *Curr Microbiol*, 2018, 75(12):1667-1674.
- [11] SERACENI S, DE SETA F, COLLI C, et al. High prevalence of hpv multiple genotypes in women with persistent chlamydia trachomatis infection[J]. *Infect Agent Cancer*, 2014, 9(1):30-37.
- [12] PANATTO D, AMICIZIA D, BIANCHI S, et al. Chlamydia trachomatis prevalence and chlamydial/HPV co-infection among HPV-unvaccinated young Italian females with normal cytology[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2015, 11(1):270-276.

(收稿日期:2018-08-15 修回日期:2018-11-21)