

DOI:10.13350/j.cjpb.220514

• 临床研究 •

尖锐湿疣皮损中人乳头瘤病毒感染状况及与 外周血 Treg/Th17 平衡的相关性*

陆文洪¹, 王真权¹, 杨志波², 汪海珍², 罗雯鹏¹, 张予晋^{2**}

(1. 湖南中医药大学第二附属医院肛肠科, 湖南长沙 410005; 2. 湖南中医药大学第二附属医院皮肤科)

【摘要】 **目的** 探讨尖锐湿疣皮损中人乳头瘤病毒感染状况及与外周血 Treg/Th17 细胞平衡的相关性。 **方法** 纳入 2018 年 1 月-2021 年 12 月至本院皮肤科、肛肠科就诊的尖锐湿疣患者 317 例, 为感染组。其中, 尖锐湿疣初发患者 211 例, 为初发组; 尖锐湿疣复发患者 106 例, 为复发组。纳入同期至本院体检的健康志愿者 119 例, 为对照组。仅感染低危型 HPV 的患者有 146 例, 为低危组; 仅感染高危型 HPV 的患者有 72 例, 为高危组; 低危型和高危型 HPV 均感染的患者有 99 例, 为混合组。实时荧光定量 PCR 仪进行人乳头瘤病毒基因分型的检测。流式细胞术计数外周血中 Treg 和 Th17 数目。 **结果** 低危型中 HPV-6 和 HPV-11 的感染率较高, 分别为 74.13% 和 23.66%; 高危型中 HPV-16 和 HPV-18 的感染率较高, 分别为 14.83% 和 17.67%。在 HPV 感染模式中, 单一感染模式的尖锐湿疣患者最多, 占有 HPV 阳性患者的 55.52% (176/317), 并且这一模式中低危型 HPV 患者多于高危型 HPV 患者。其次, 在多重感染模式中, 以二重感染为主, 占有 HPV 阳性患者的 22.76% (88/317)。Th17 细胞水平、Treg 细胞水平、Treg/Th17 细胞平衡水平在低危组、高危组、混合组中差异显著, 其中 Treg 细胞水平和 Treg/Th17 细胞平衡水平在低危组中最低、在高危组中最高; Th17 细胞水平在低危组中最高、在高危组中最低。感染组中 Th17 细胞水平低于对照组, 但是 Treg 细胞水平和 Treg/Th17 细胞平衡水平高于对照组。复发组中 Th17 细胞水平低于初发组, 但是 Treg 细胞水平和 Treg/Th17 细胞平衡水平高于初发组。此外, 感染模式与 Treg/Th17 细胞平衡具有相关性; 复发情况与 Treg/Th17 细胞平衡具有相关性。 **结论** 尖锐湿疣患者感染亚型主要为 HPV-6、HPV-11、HPV-16 和 HPV-18, 感染模式以单一亚型感染和低危型感染为主。尖锐湿疣的复发情况以及 HPV 感染情况与 Treg/Th17 细胞平衡均具有相关性。

【关键词】 尖锐湿疣皮损; 人乳头瘤病毒; Treg; Th17

【中图分类号】 R373

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)05-0563-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2022 May;17(5):563-567.]

Human papillomavirus infection in skin lesions of condyloma acuminatum and its correlation with peripheral blood Treg/Th17 cell balance

LU Wen-hong¹, WANG Zhen-quan¹, YANG Zhi-bo², WANG Hai-zhen², LUO Wen-peng¹, ZHANG Yu-jin² (1. Department of Anorectal Medicine, the Second Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China; 2. Department of Dermatology, the Second Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine)***

【Abstract】 **Objective** To investigate the relationship between human papillomavirus infection and peripheral blood Treg/Th17 cell balance in skin lesions of condyloma acuminatum. **Methods** 317 patients with condyloma acuminatum treated in dermatology and anorectal Department of our hospital from January 2018 to December 2021 were included as the infection group. Among them, 211 cases of condyloma acuminatum patients, for the initial group; 106 cases of recurrent condyloma were recurrence group. 119 healthy volunteers who came to our hospital for physical examination during the same period were included as the control group. 146 patients infected only with low-risk HPV were in the low-risk group. There were 72 patients infected only with high-risk HPV, which was in the high-risk group. Ninety-nine patients with both low-risk and high-risk HPV infection were in the mixed group. Genotyping of human papillomavirus was detected by real-time quantitative PCR. The number of Treg and Th1 in peripheral blood was counted by flow cytometry. **Results** The infection rates of HPV-6 and HPV-11 were 74.13% and 23.66%, respectively. Hpv-16 and HPV-18 had higher infection rates of 14.83% and 17.67%, respectively. In the HPV infection pattern, single infection pattern of patients with condyloma acuminatum, accounting for 55.52% of all HPV-positive patients (176/317), and this pattern of low-risk HPV

* **【基金项目】** 2021 年度湖南省自然科学基金项目 (No. 2021JJ40414)。

** **【通讯作者】** 张予晋, E-mail: 346281180@qq.com

【作者简介】 陆文洪 (1989-), 男, 硕士研究生, 主治医师。研究方向: 中西医防治肛肠疾病。E-mail: luwenhong1989@163.com

patients more than high-risk HPV patients. Second, in the pattern of multiple infections, double infections dominated, accounting for 22.76% (88/317) of all HPV-positive patients. Th17 cell level, Treg cell level and Treg/Th17 cell balance level were significantly different in the low-risk group, high-risk group and mixed group. Treg cell level and Treg/Th17 cell balance level were the lowest in the low-risk group and the highest in the high-risk group. Th17 cell level was the highest in the low-risk group and the lowest in the high-risk group. The level of Th17 cells in the infected group was lower than that in the control group, but the level of Treg cells and the balance of Treg/Th17 cells were higher than that in the control group. The level of Th17 cells in the recurrence group was lower than that in the primary group, but the level of Treg cells and the balance of Treg/Th17 cells were higher than that in the primary group. In addition, infection pattern was correlated with Treg/Th17 cell balance ($\chi^2 = 81.50, P < 0.0001$); recurrence was correlated with Treg/Th17 cell balance ($\chi^2 = 855.071, 50, P < 0.0001$). **Conclusion** The infection subtypes of patients with condyloma acuminatum are MAINLY HPV-6, HPV-11, HPV-16 and HPV-18, and the infection mode is mainly single subtype infection and low risk infection. The recurrence of condyloma acuminatum and HPV infection were correlated with the balance of Treg/Th17 cells.

【Key words】 condyloma acuminata; human papillomavirus; Treg; Th17

尖锐湿疣(condyloma acuminatum, CA)是一种由人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染肛周和泌尿生殖器官引起的性传播疾病^[1]。近10年来,我国性传播疾病中CA发病率呈线性上升趋势^[2],性活跃人群HPV的感染率逐年升高^[3]。HPV病毒属于DNA病毒,人体皮肤黏膜鳞状上皮是重要宿主^[4]。HPV感染有临床感染(典型CA)、亚临床人乳头瘤病毒感染(SPI)和潜伏人乳头瘤病毒感染(LPI)3种表现^[5]。研究表明,CA的发生和多次复发与患者局部细胞免疫、发育、分化和细胞生长障碍有关^[6]。Th17细胞和调节性T细胞(Treg细胞)被定义为来自Th1和Th2细胞的两个不同的CD4⁺T细胞亚群^[7]。Th17是产生CD4⁺ROR γ t+IL23R+CCR6+CD161+IL17的T细胞的子集^[8]。Th17细胞主要通过分泌IL-17等促炎性细胞因子来发挥促炎作用,被认为是各种自身免疫性疾病发病机制和介导宿主防御机制的关键参与者^[9]。Treg细胞在细胞核中表达FOXP3,是功能性免疫抑制T细胞亚群,在调节自反应性T细胞的活性中起主要作用^[10]。Treg和Th17细胞在功能上互相拮抗,在正常情况下二者是处于动态平衡状态的,一旦二者平衡被打破,可导致机体的免疫逃逸的发生,引发多种炎症反应性疾病。据报道,Treg和Th17细胞之间的平衡控制免疫反应,是调节与感染相关疾病中Th1/Th2转变相关的辅助T细胞功能的关键因素^[11]。然而,关于CA患者中Treg和Th17细胞之间平衡的信息鲜有报道。基于此,本研究对尖锐湿疣皮损中HPV感染状况及与外周血Treg/Th17细胞平衡的相关性进行了探讨。

资料与方法

1 病例资料及分组

纳入2018年1月-2021年12月至本院皮肤科、肛肠科就诊的尖锐湿疣患者317例,年龄18~56岁,平

均年龄(26.65±11.43)岁,为感染组。其中,男118例,病变在冠状沟13例,系带12例,阴茎部29例,肛周59例,尿道口5例;女199例,病变在子宫颈20例,阴道壁7例,大、小阴唇57例,阴道口50例,会阴联合部20例,肛周45例。在局麻下剪取疣体,置于液氮中保存。尖锐湿疣初发患者211例,为初发组;尖锐湿疣复发患者106例,为复发组。同时,纳入2020年1月-2021年12月至本院体检的健康志愿者119例,其中男59例,女60例,年龄18~53岁,平均年龄(26.43±11.28),为对照组。仅感染低危型HPV的患者146例,为低危组;仅感染高危型HPV的患者72例,为高危组;低危型和高危型HPV均感染的患者99例,为混合组。

2 方法

2.1 人乳头瘤病毒基因型的检测 使用人乳头瘤病毒核酸提取试剂盒(博奥生物有限公司,货号:340011)进行皮损中病毒核酸的提取。采用HPV基因分型检测试剂盒(博奥生物有限公司,货号:340020)和实时荧光定量PCR仪(美国伯乐公司,型号:CFX96)进行人乳头瘤病毒基因型的检测。包括:HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、73、82、6、11、42、43、44、53、81。PCR反应条件:95℃预变性600s;95℃变性20s,59℃退火32s;59℃延伸600s。读取荧光定量PCR的Ct值,其中Ct值<40定义为HPV阳性。

2.2 外周血Treg/Th17细胞水平的测定 按照文献中描述的方法采用流式细胞术计数外周血中CD4⁺/CD25⁺/FOXP3⁺细胞^[10]。外周血单个核细胞(PBMC)与抗CD4-FITC(美国Abcam公司,货号:ab59474)和抗CD25-PC5单抗(美国Beckman公司,货号:A79386)在4℃孵育30min。PBS洗涤后,PBMC用固定/渗透缓冲液在4℃下固定和渗透30min,用渗透缓冲液洗涤两次,用抗人FOXP3-PE单抗

(美国 Abcam 公司, 货号: ab218773) 染色。在 4 °C 孵育 30 min 后, 在 Coulter Epics IV 细胞仪 (美国 Beckman 公司, 型号: Epics IV) 中对细胞进行清洗, 随后使用 Expo32 软件分析。细胞在活淋巴细胞上进行门的划分, 遵循标准的正向和侧向散射参数。在此门细胞中, 评估 Th17 细胞为 CD4⁺ 细胞, Treg 亚群为 CD4⁺/CD25⁺/FOXP3⁺ 亚群。结果以三阳性细胞占 CD4⁺ 细胞自身荧光的比例表示。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析。结果以均数±标准差表示, 采用 *t* 检验或单因素方差分析 (ANOVA) 评估不同组各参数之间的相关性。采用卡方检验评估两个构成比的相关性。

结 果

1 尖锐湿疣患者 HPV 亚型分布和感染模式分布

317 例尖锐湿疣患者均检测为 HPV 阳性, 其中低危型中 HPV-6 和 HPV-11 的感染率较高, 分别为 74.13% 和 23.66%; 高危型中 HPV-16 和 HPV-18 的感染率较高, 分别为 14.83% 和 17.67% (表 1)。在 HPV 感染模式中, 单一感染模式的尖锐湿疣患者最多, 占 55.52% (176/317), 并且这一模式中低危型 HPV 患者多于高危型 HPV 患者; 其次, 在多重感染模式中, 以二重感染为主, 占 27.76% (88/317) (表 2)。

表 1 HPV 阳性尖锐湿疣患者亚型分布

Table 1 Subtype distribution of HPV positive condyloma acuminatum patients

感染类型 Infection type	感染型别 Infection genotype	感染人次 Infected patients	感染率 Infection rate (%)	
低危型	HPV-6	235	74.13	
	HPV-11	75	23.66	
	HPV-42	20	6.31	
	HPV-43	5	1.58	
	HPV-44	6	1.89	
	HPV-53	2	0.63	
	HPV-81	6	1.89	
	高危型	HPV-16	47	14.83
		HPV-18	56	17.67
		HPV-31	11	3.47
		HPV-33	9	2.84
HPV-35		8	2.52	
HPV-39		5	1.58	
HPV-45		2	0.63	
HPV-51		7	2.21	
HPV-52		14	4.42	
HPV-56		7	2.21	
HPV-58		9	2.84	
HPV-59	6	1.89		
HPV-66	3	0.95		
HPV-68	7	2.21		
HPV-73	1	0.32		
HPV-82	2	0.63		
合计 Total		543	100	

表 2 HPV 感染模式分布 [n (%)]

Table 2 HPV infection pattern distribution [n (%)]

HPV 感染模式 HPV infection patterns	HPV 感染重数 HPV infections HPV infections								合计 Total
	单一感染 Single infection	二重感染 Double infection	三重感染 Triple infection	四重感染 Quadruple infection	五重感染 Pentuple infection	六重感染 Hextuple infection	七重感染 Septuple infection	八重感染 Cctuple infection	
单纯低危型	126(39.75)	16(5.05)	4(1.26)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.002)	0(0.00)	0(0.00)	146(46.06)
单纯高危型	50(15.77)	15(4.73)	6(1.89)	1(0.32)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	72(22.71)
混合型	0	57(17.98)	26(8.20)	8(2.52)	4(1.26)	2(0.63)	1(0.32)	1(0.32)	99(31.23)
合计	176(55.52)	88(27.76)	36(11.36)	9(2.84)	4(1.26)	4(1.26)	2(0.63)	1(0.32)	317(100)

2 外周血 Th17、Treg 及 Treg/Th17 水平

Th17、Treg 及 Treg/Th17 水平在低危组、高危组、混合组中差异显著, 其中 Treg 细胞水平和 Treg/Th17 细胞平衡水平在低危组中最低, 在混合组中最高; Th17 细胞水平在低危组中最高; 在混合组中最低 (表 3)。感染组中 Th17 细胞水平低于对照组, 但是 Treg 细胞水平和 Treg/Th17 细胞平衡水平高于对照组 (表 4)。复发组中 Th17 细胞水平低于初发组, 但是 Treg 细胞水平和 Treg/Th17 细胞平衡水平高于初发组 (表 5)。

3 感染模式 (单纯低危型和单纯高危型) 和复发情况 (初发和复发) 与 Treg/Th17 细胞平衡的相关性

按照 317 例尖锐湿疣患者 Treg/Th17 的平均水平分为高 Treg/Th17 (高于平均水平) 和低 Treg/

Th17 (低于平均水平), 探讨感染模式 (单纯低危型和单纯高危型) 和复发情况 (初发和复发) 与 Treg/Th17 细胞平衡的相关性。感染模式与 Treg/Th17 细胞平衡具有相关性 ($\chi^2 = 81.50, P < 0.0001$); 复发情况与 Treg/Th17 细胞平衡具有相关性 ($\chi^2 = 855.071.50, P < 0.0001$) (表 6)。

表 3 低危组、高危组、混合组 Th17、Treg、Treg/Th17 水平比较

Table 3 Comparison of Th17, Treg, Treg/Th17 levels in high-risk group and mixed group

组别 Group	例数 No. of cases	Th17 (%)	Treg (%)	Treg/Th17
低危组	146	1.14±0.18	4.17±0.35	3.66±0.74
高危组	72	0.71±0.02	6.22±0.59	8.76±1.58
混合组	99	1.06±0.15	4.57±0.23	4.31±0.44
F 值		207.9	684.7	755.9
P 值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

表 4 感染组和对照组 Th17、Treg、Treg/Th17 水平比较
Table 4 Comparison of Th17, Treg, Treg/Th17 levels between infection group and control group

组别 Group	例数 No. of cases	Th17 (%)	Treg (%)	Treg/Th17
感染组	317	1.02±0.19	4.82±0.58	4.72±0.68
对照组	119	1.44±0.33	2.49±0.49	1.73±0.22
t 值		16.52	38.91	47.02
P 值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

表 5 初发组和复发组 Th17、Treg、Treg/Th17 指标比较
Table 5 Comparison of Th17, Treg, Treg/Th17 indexes between primary and recurrent groups

组别 Group	例数 No. of cases	Th17 (%)	Treg (%)	Treg/Th17
初发组	211	1.20±0.14	3.98±0.37	3.32±0.49
复发组	106	0.66±0.03	6.49±0.77	9.83±1.42
t 值		39.23	39.23	59.94
P 值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

表 6 感染模式和复发情况与 Treg/Th17 细胞平衡的相关性
Table 6 Correlation of infection pattern and recurrence with Treg/Th17 balance

因素 Factor	组别 Group	例数 No. of cases	高 Treg/Th17 例数 High Treg/Th17 cases	χ^2	P
感染模式	低危组	146	43	81.50	<0.0001
	高危组	72	68		
复发情况	初发组	211	74	55.07	<0.0001
	复发组	106	84		

讨 论

CA 是由 HPV 引起的男性和女性常见的性传播疾病^[12]。尽管 CA 可以通过性接触发生在生殖器和肛周部位,但也可以通过口腔-生殖器或口腔-乳头接触在生殖器外发现^[13]。在本研究中,低危型 HPV-6 和 HPV-11 的感染率较高,高危型 HPV-16 和 HPV-18 的感染率较高。在 HPV 感染模式中,单一感染模式的尖锐湿疣患者最多,并且这一模式中低危型 HPV 患者多于高危型 HPV 患者。其次,在多重感染模式中,以二重感染为主。孔祥菊^[14]调查了山东新泰地区 6410 例人乳头瘤病毒感染状况及基因亚型分析,发现人群小低危型中 HPV-6 的感染率最高,高危型中 HPV-6 的感染率最高,与本研究结果一致。此外,本研究通过检测外周血中 Th17 和 Treg 细胞水平,发现 HPV 感染情况与 Treg/Th17 细胞平衡均具有相关性。

本研究结果显示,Treg 细胞水平和 Treg/Th17 细胞平衡水平在低危组中最低、在高危组中最高;Th17 细胞水平在低危组中最高、在高危组中最低。Treg 通过分泌细胞介质抑制 T 细胞及抗原传递功能,并降低炎症细胞因子及抗体水平来发挥免疫效应^[15]。在肿瘤免疫中,Treg 细胞通过抑制抗肿瘤免疫参与肿瘤的发生发展^[16]。高危型 HPV 和低危型 HPV 引起

的疾病并不一致,高危型 HPV 持续感染可引起恶性肿瘤,如宫颈癌、外阴癌、肛门癌等。因此,高危型 HPV 可能通过提高 Treg 细胞水平促进癌症的发生发展。

感染组中 Th17 细胞水平低于对照组,但是 Treg 细胞水平和 Treg/Th17 细胞平衡水平高于对照组。CA 与 HPV 感染和机体免疫状态密切相关^[17]。在世界范围内,约 80% 的 50 岁以下的人感染了 HPV,但并非所有感染 HPV 的人都会发展为尖锐湿疣^[18]。T 细胞免疫抑制患者乳头状瘤发病率增加的证据表明,T 细胞反应在控制 HPV 感染中起着至关重要的作用^[19]。因此,宿主免疫细胞 Th17 的低活性可能有助于疾病的发展。

复发组中 Th17 细胞水平低于初发组,但是 Treg 细胞水平和 Treg/Th17 细胞平衡水平高于初发组。T 细胞是至关重要的效应细胞、辅助细胞和调节细胞,负责针对病毒的特定持久免疫的发展^[20]。在乳头状瘤自发消退期间 T 细胞浸润到皮肤和黏膜病变的组织学证据也表明,T 细胞在 HPV 相关上皮感染中的重要性^[21]。CD8⁺ T 细胞是对抗 HPV 感染的保护性免疫的关键介质,而 CD4⁺ T 细胞在控制 HPV 相关病变方面起着关键作用^[22]。因此,CD4⁺ T 细胞的亚群 Th17 细胞具有促炎作用,在解决皮肤和生殖器疣问题方面功能突出,外周血中 Th17 水平的削弱可能导致了尖锐湿疣复发。

综上所述,尖锐湿疣患者感染亚型主要为 HPV-6、HPV-11、HPV-16 和 HPV-18,感染模式以单一亚型感染和低危型感染为主。尖锐湿疣的复发情况以及 HPV 感染情况与 Treg/Th17 细胞平衡均具有相关性。

【参考文献】

- [1] Mastutik G, Rahniayu A, Arista A, et al. p16INK4A Expression in condyloma acuminata lesions associated with high-risk human papillomavirus infection[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2021, 22(10):3219-3225.
- [2] Xu H, Shen Q, Fan B, et al. Effectiveness of a combination therapy of traditional Chinese medicine and CO2 laser treatment for condyloma acuminatum[J]. J Med Virol, 2020, 92(12):3889-3894.
- [3] Guo X, Wu X, Guo A, et al. Reliability and validity of the Chinese CECA10 questionnaire for Chinese patients with condyloma acuminata[J]. Medicine, 2018, 97(9):e9917.
- [4] Cheng N, Kirkpatrick G, Fromer DL. Female urethral condyloma acuminata mimicking urethral caruncle[J]. Can J Urol, 2020, 27(4):10336-10338.
- [5] Giancristoforo S, Diociaiuti A, Tchidjou HK, et al. Successful topical treatment of anal giant condylomata acuminata in an infant[J]. Dermatol Ther, 2020, 33(4):e13624.
- [6] Clanner-Engelshofen B M, Marsela E, Engelsberger N, et al.

