

· 论 著 ·

卡介菌多糖核酸联合光动力治疗尖锐湿疣临床效果及基因型检测

蒋 冠¹, 杨春生², 王 纯², 吴 瑾², 邢 飞³, 葛海燕⁴

[摘要] 目的 观察卡介菌多糖核酸联合 5-氨基酮戊酸光动力 (ALA-PDT) 治疗尖锐湿疣临床效果及基因型检测。方法 采用单盲对照试验将 76 例尖锐湿疣患者随机分成试验组 (41 例) 和对照组 (35 例), 试验组采用卡介菌多糖核酸联合 ALA-PDT 治疗, 对照组采用 ALA-PDT 治疗。全部患者每次治疗前均先用 CO₂ 激光祛除肉眼可见疣体。首次治疗时取部分疣体行人乳头瘤病毒 (HPV) 基因型检测。ALA-PDT 治疗每周 1 次, 共 4 次, 卡介菌多糖核酸隔日 1 次肌注, 持续 8 周。治疗结束后随访 6 个月, 观察复发率。结果 试验组和对照组治愈率分别为 95.1%、74.3% ($P<0.05$), 复发率分别为 2.4%、20.0% ($P<0.05$)。基因型检测结果: 共检出 71 例 15 种, 前三位依次为: HPV-6、HPV-16 和 HPV-11, 未发现 HPV-39、43、44、51、53 和 CP8304 型, 其中高危型 47 例、低危型 26 例、“高+低危型”混合交叉感染 2 例。单重感染 60 例, 多重感染 11 例。结论 卡介菌多糖核酸联合 ALA-PDT 治疗尖锐湿疣临床效果明显, 复发率低。基因型检测结果说明高危型感染率明显偏高, 多重感染较少。

[关键词] 尖锐湿疣; 卡介菌多糖核酸; 光动力治疗

[中图分类号] R752.53 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2016.02.021

Efficacy of BCG-PSN combined with ALA-PDT in treatment of condyloma acuminatum and test of the genotyping of HPV

JIANG Guan¹, YANG Chun-sheng², WANG Chun², WU Jin², XING Fei³, GE Hai-yan⁴. 1. Department of Dermatology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221002, China; 2. Department of Dermatology, 3. Department of Laboratory, 4. Department of Infection Management, the Second People's Hospital of Huai'an, Huai'an, Jiangsu 223002, China

[Abstract] **Objective** To observe the efficacy of BCG-PSN combined with ALA-PDT in treatment of condyloma acuminatum and test the genotyping of HPV. **Methods** All patients with condyloma acuminatum were randomly divided into test group ($n=41$) and control group ($n=35$). The test group was treated with BCG-PSN combined with ALA-PDT, while the control group was treated with ALA-PDT only. The visible warts were burn up by CO₂ laser before each treatment in all patients. Prior to the first session, HPV genotype of wart tissue was tested. The ALA-PDT was treated once a week and last for 4 weeks and the BCG-PSN was injected every two days and last for 8 weeks. Follow-up was scheduled on month 6 after the last treatment for the observation of recurrence rate. **Results** The cure rate of two groups was 95.1% and 74.3% ($P<0.05$) and the recurrence rate was 2.4% and 20.0% ($P<0.05$). All 71 cases had 15 kinds of HPV genotype, except HPV-39, 43, 44, 51, 53 and CP8304. The top three were HPV-6, HPV-16 and HPV-11 respectively. The high-risk, the low-risk and the high/lower-risk HPV genotypes were 47 cases, 26 cases and 2 cases respectively. The single and multiple infection were 60 cases and 11 cases respectively. **Conclusion** The efficacy of the test group is superior to the control group. High-risk HPV genotypes predominate in all patients and multiple infections is few.

[Key words] condyloma acuminatum; Bacillus Calmette-Guerin-polysaccharide nucleic acid (BCG-PSN); photodynamic therapy

尖锐湿疣 (condyloma acuminatum, CA) 是由人乳头瘤病毒 (HPV) 感染引起的性传播疾病, 典型临床特点是传染性强、复发率高, 随着社会发展

近年来其发病率逐步上升^[1]。为增强疗效、降低复发率, 我科采用卡介菌多糖核酸联合 5-氨基酮戊酸光动力 (5-aminolevulinic acid-photodynamic therapy, ALA-PDT) 治疗尖锐湿疣, 临床效果显著。同时通过基因型检测分析本地区 HPV 感染的流行状况, 为制定筛查、监控方案及研发疫苗提供临床资料。

1 对象与方法

1.1 对象 2013 年 1 月-2014 年 12 月本院皮肤性病科就诊的尖锐湿疣患者, 具有典型临床症状、

作者单位: 1. 221002 江苏徐州, 徐州医学院附属医院皮肤性病科; 2. 223002 江苏淮安, 淮安市第二人民医院, 皮肤性病科; 3. 检验科; 4. 感染科

通讯作者: 葛海燕, E-mail: 8yung@sina.com

引用格式: 蒋 冠, 杨春生, 王 纯, 等. 卡介菌多糖核酸联合光动力治疗尖锐湿疣临床效果及基因型检测 [J]. 东南国防医药, 2016, 18(2): 177-179.

醋酸白试验阳性,全部征得患者本人同意并签署知情同意书,同时经我院医学伦理委员会批准。共完成治疗和随访 76 例,其中男 52 例,女 24 例;年龄 19~52(36.3±8.22)岁,病程 1~19(5.47±4.80)个月。皮损数量 3~26(6.83±3.73)个;皮损直径 0.1~1.9(0.37±0.26)cm。试验组完成 41 例,对照组完成 35 例,各组性别、年龄、病程、皮损数量及面积等差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。入选标准^[2-3]:年龄 18 周岁以上;近 1 个月内未曾接受物理或药物治疗;男性疣体分布于尿道口、阴茎头、冠状沟、阴茎体、腹股沟、会阴和肛周,女性疣体分布于阴道口、尿道口、大小阴唇、腹股沟、会阴和肛周;疣体肉眼清晰可见,直径<3 cm;愿意接受试验并能够坚持完成治疗者。排除标准:男性疣体分布于肛管内,女性疣体分布于阴道内、宫颈口、肛管内者;单个疣体或群集疣体直径≥3 cm;局部伴发感染者;伴有肝肾功能异常、高血压、糖尿病、血液系统疾病、自身免疫性疾病和精神疾病史;对本研究药物过敏、光敏感、哺乳期或妊娠期女性及瘢痕体质者。

1.2 材料 5-氨基酮戊酸(ALA,上海复旦张江生物医药股份有限公司生产,118 mg/支);LED-IB 光动力治疗仪[武汉亚格光电技术有限公司生产,红光波长(633±10)nm,功率密度 20~100 mW/cm²];CO₂激光治疗仪(上海得邦得力激光技术有限公司生产,输入功率 600 VA);QIAampDNA 提取试剂盒(Qiagen 公司);凯普医用核酸分子快速杂交基因分型试剂盒(HybriMax 公司);PE 9600 PCR 仪(美国 PE 公司)。

1.3 方法

1.3.1 治疗方法 全部患者每次治疗开始前均先用 CO₂激光祛除肉眼可见疣体,试验组给予卡介菌多糖核酸(浙江万马药业有限公司,隔日 1 次,肌肉注射,每次 1 mL,共 8 周)联合 ALA-PDT(每周 1 次,共 4 次)治疗,对照组给予 ALA-PDT(方法同前)治疗,记录数据并统计分析。ALA-PDT 治疗操作流程:将 ALA 配置成 20%药液,根据疣体范围调整用量,参照平均每个方形棉片面积范围使用 1 支 ALA,滴于专用敷药超薄方形棉片,充分浸湿,敷药时完全覆盖原疣

体部位,外用聚乙烯薄膜封包,胶布固定,3 h 后使用光动力治疗仪红光照射,能量密度 80~100 J/cm²。全部患者均随访 6 个月,观察复发情况和记录不良反应。复发患者继续给予原方案治疗。

1.3.2 DNA 提取及 PCR 检测 全部患者首次治疗时切取部分疣体,放入装有洗脱液的保存管中,加盖密封,冷冻保存,用 QIAampDNA 试剂盒提取 DNA,PE 9600 PCR 仪进行 PCR 扩增,将扩增产物解链后用凯普 HPV 基因分型试剂盒检测 21 种 HPV 亚型(高危型:HPV-16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68;低危型:HPV-6、11、42、43、44、CP8304),均参照说明书操作。通过肉眼观察芯片上 HPV 亚型分布相应着色点位判断结果,阳性呈蓝紫色斑点,多个斑点阳性即为多重感染,每张芯片设有 PCR 反应质控点和杂交显色质控点各一个。

1.3.3 疗效评价 疗效判定标准^[4]:临床治愈为疣体完全消失,局部皮肤黏膜恢复正常,6 个月内未出现复发;显效为原发和复发病体总面积减少 50%以上;有效为原发和复发病体总面积减少 30%~50%;无效为原发和复发病体总面积减少 30%以下;复发为 6 个月内原发部位治愈后或异位出现新发病体。治愈率=(治愈患者数/患者总数)×100%;复发率=(复发患者数/患者总数)×100%。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学分析。计数资料以百分率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗结果 治疗 8 周后试验组和对照组治愈率分别为 95.1%和 74.3%,两组差异具有统计学意义($P<0.05$)。至随访结束,试验组和对照组复发率分别为 2.4%和 20.0%,两组差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 基因型检测结果 71 份标本检出 HPV DNA 基因型,检出率为 93.4%。21 种基因型中检出 15 型,未发现 HPV 39、43、44、51、53 和 CP8304 型。高危型 47 例,低危型 26 例,其中“高+低危型”混合交叉感染 2 例。单重感染 60 例,多重感染 11 例,见表 2。

表 1 两组临床疗效比较

组别	n	治疗时间 (周)	疗效(n)					治愈率 (%)	复发率 (%)
			治愈	显效	有效	无效	复发		
试验组	41	8	39	2	0	0	1	95.1*	2.4*
对照组	35	8	26	9	0	0	7	74.3	20.0

注:与对照组比较,* $P<0.05$

表 2 HPV 基因型检测结果[*n*=71,*n*(%)]

HPV 基因类型	单重感染	多重感染
高危型	39(54.9)	8(11.3)
低危型	21(29.6)	5(7.0)
高+低危型	-	2(2.8)

2.3 不良反应 全部患者均完成随访 6 个月,共有 8 例患者治愈后复发,给予原治疗方案继续治疗。未发生卡介菌多糖核酸注射后局部红肿等过敏反应。红光照射过程中有 3 例患者存在不同程度灼痛感,予以适当调低能量,未影响继续治疗。

3 讨论

目前尖锐湿疣临床治疗方法较多,常用激光、冷冻等物理方法,具有一定疗效,但很容易感染并留下瘢痕,同时复发率一直居高不下。光动力治疗是近年兴起的临床治疗新技术,其操作简便,无明显创伤,同时疗效显著,被广泛应用于治疗各种疣、痤疮、皮肤肿瘤等疾病^[5]。ALA 是体内血红蛋白合成前体,进入人体后能被 HPV 感染细胞吸收,转化为原卟啉 IX,在红光照射下生成单线态氧和自由基,继而致 HPV 感染细胞凋亡坏死,而正常组织极少吸收 ALA,故不被损伤。ALA-PDT 治疗能够通过选择性地杀伤增生活跃的 HPV 感染细胞而有效治疗患者临床、亚临床和潜伏感染病灶,具有较好疗效^[6-7]。目前研究认为尖锐湿疣患者伴不同程度的免疫功能低下,治疗上联合应用增强免疫功能药物,可加速病毒清除,抑制病毒复制,进而降低复发率。卡介菌多糖核酸是一种非特异性细胞免疫增强剂,含核酸、多糖等 10 余种免疫活性物质,一方面通过调节机体细胞免疫和体液免疫,刺激网状内皮系统,激活单核-巨噬细胞,提高自然杀伤细胞功能来增强机体抗病毒能力,另一方面通过稳定肥大细胞,封闭 IgE 功能,减少脱颗粒细胞释放活性物质,拮抗乙酰胆碱所致支气管痉挛,达到抗过敏及平喘作用,临床上广泛应用于各种疣、荨麻疹、斑秃等多种皮肤病和其他疾病的治疗^[8-11]。

国内学者用 ALA-PDT 单独治疗或联合液氮冷冻治疗尖锐湿疣的 7 项研究结果中,6 项治愈率范围为 70.00%~93.70%,复发率范围为 10.17%~13.33%,1 项治愈率为 100%,复发率为 3.03%^[12]。王希晶等^[3]研究 ALA-PDT 联合 CO₂ 激光治疗尖锐湿疣,治愈率为 77.4%,复发率为 22.6%。为进一步提高疗效、降低复发率,减轻患者痛苦,本研究采用卡介菌多糖核酸联合 ALA-PDT 治疗尖锐湿疣,结果治愈率达到 95.1%,

复发率仅为 2.4%,与前述治疗方案相比,疗效明显提高,复发率较低。与单独使用 ALA-PDT 治疗组对比,治愈率较高,复发率亦明显降低,说明卡介菌多糖核酸在清除病毒、提高疗效方面起到一定作用。本研究 76 例患者中,71 例检出 HPV DNA 基因型,其中高危型感染者过半(47/71),因高危型 HPV 诱发患者或其性伴发生恶性肿瘤机率较高,所以应加强高危型患者监控。低危型 26 例,占 36.6%。另有 2 例多重感染,仅占 2.8%,考虑样本例数较少有关。治疗过程中 3 例患者红光照射(能量密度 80 J/cm²)后出现不同程度灼痛感,考虑能量偏高所致。全部患者均未出现严重的不良反应。目前最大的缺点是 ALA 价格较高,患者经济负担较重,部分未完成疗程的患者因此放弃了 ALA-PDT 治疗,希望以后价格能够降低。综上所述,卡介菌多糖核酸联合 ALA-PDT 治疗尖锐湿疣疗效显著,复发率低,不良反应轻微,值得临床应用推广。

【参考文献】

[1] 赵 辨.中国临床皮肤病学[M].南京:江苏科学技术出版社, 2010: 1816-1821.

[2] 张文萍,施伟民,梅兴宇.5-氨基酮戊酸光动力疗法联合 CO₂ 激光治疗复发性尖锐湿疣疗效观察[J].临床皮肤科杂志, 2009, 38(10): 678-679.

[3] 王希晶,谢汉平,匡玉宝,等.5-氨基酮戊酸光动力疗法联合 CO₂ 激光治疗尖锐湿疣疗效观察及对分形素的影响[J].临床皮肤科杂志, 2013, 42(2): 72-73.

[4] 孙卫国,江 明,刘晓宁,等.云芝胞内糖肽胶囊联合光动力治疗男性尿道尖锐湿疣临床观察及基因型检测[J].中华全科医师杂志, 2014, 13(1): 69-71.

[5] Kessel D. More adventures in photodynamic therapy[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(7): 15188-15193.

[6] 张 玲,马慧军,梅亚辰,等.液氮冷冻联合 5-氨基酮戊酸光动力疗法治疗肛周尖锐湿疣的疗效观察[J].临床皮肤科杂志, 2013, 42(1): 50-52.

[7] 张云凤,缪 飞,王宏伟,等.氨基酮戊酸光动力治疗尖锐湿疣局部免疫反应的研究[J].中华皮肤科杂志, 2013, 46(5): 309-312.

[8] Sun J, Hou J, Li D, et al. Enhancement of HIV-1 DNA vaccine immunogenicity by BCG-PSN, a novel adjuvant[J]. Vaccine, 2013, 31(3): 472-479.

[9] 周建光,杨 梅,曹海涛,等.淋巴细胞亚群的检测在临床的应用[J].东南国防医药, 2015, 17(3): 298-300.

[10] 岳养军,李韵笙,魏世华,等.卡介菌多糖核酸注射液预防放射性肺损伤临床研究[J].中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(24): 8345-8347.

[11] 杨春生,周希武,周武军,等.卡介菌多糖核酸联合自制维 A 酸液治疗扁平疣疗效观察[J].中华全科医师杂志, 2014, 13(9): 784-785.

[12] 吴文雅,苏志刚,施 辛.液氮冷冻联合氨基酮戊酸光动力疗法治疗尖锐湿疣的系统分析[J].中华皮肤科杂志, 2014, 47(5): 361-362.

(收稿日期:2015-08-26;修回日期:2015-10-28)
(本文编辑:齐 名; 英文编辑:王建东)