

广谱人乳头瘤病毒 DNA 探针对尖锐湿疣和假性湿疣的原位杂交检测^①

林汉良^② 吴惠茜

(中山医科大学病理教研室;广州,510089)

提 要 对用肉眼形态、组织学特征和人乳头瘤病毒核壳抗原(HPV-Ag)来检测诊断为尖锐湿疣和假性湿疣的两组病例,用广谱人乳头瘤病毒 DNA 探针,作核酸原位杂交检测,结果:尖锐湿疣组 HPV-DNA 检出率为 30/33 (90.9%),而假性湿疣组检出率仅为 1/38(2.6%)($P < 0.0001$),提示假性湿疣并非为 HPV 感染引起,或 HPV 感染的可能性很小。作者还对应用广谱人乳头瘤病毒 DNA 原位杂交作为对疑为 HPV 感染病变作病理学初筛检测的意义作了讨论。

关键词 尖锐湿疣; 假性湿疣; 核酸原位杂交

中图分类号 R361

外阴及其邻近部位的赘生物包括尖锐湿疣和假性湿疣(又称湿疣样病变),这一事实近年来已逐渐引起临床和病理工作者的注意和研究^[1~4]。尖锐湿疣由人乳头瘤病毒感染引起,主要通过性接触传染,而假性湿疣则否,后者可能是由其他原因引起的慢性炎症的表现。正确地识别这两类病变具有重要的临床意义。作者曾就尖锐湿疣和假性湿疣的病理形态特征作过探讨^[3],为了对这一问题作进一步深入研究,作者用广谱人乳头瘤病毒 DNA 探针,对上述两类病变作原位杂交检测,今将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

选自本教研室 1989 年 10 月~1992 年 10 月收集的外阴赘生物病理活检标本共 71 例,其中男性 14 例,女性 57 例,年龄 15~60 岁,平均 30.8 岁。根据这些赘生物或皮损的肉眼和组织学形态及人乳头瘤病毒核壳抗原(HPV-Ag)免疫组化(ABC 法或 LSAB 法)检测结果分为两组:尖锐湿疣 33 例和假性湿疣(湿疣样病变)38 例。

1.2 分 组

根据赘生物的眼观形态、组织学观察和免疫组化检测结果,本文研究的病例可分为两组:①尖锐湿疣组 33 例,其中女性 23 例,男性 10 例。本组病例的特征是:赘生物分布于外阴部或其邻近部位,呈单发或不对称多发的菜花状或鸡冠状,少数(3 例)经治疗后的病例局部扁平隆起。镜下见诊断性空泡细胞^[3]。HPV-Ag 免疫组化检测阳性 19 例,阴性 14 例,阳性率为 57.6%。病理诊断为尖锐湿疣;②假性湿疣组 38 例。女性 34 例,赘生物均大致对称分布于两侧小阴唇,肉眼呈颗粒状,乳头状或指状。男性 4 例,2 例为分布于冠状沟的珍珠疹,2 例为阴茎尖锐湿疣治疗后 3 个月复诊病例,局部无明显赘生物,此 4 例也归入本组。镜下本组病例的上皮层均不见诊断性空泡细胞,大部分病例可见核细小均匀的空泡样细胞,免疫组化检测 HPV-Ag 均为阴性。病理均不诊断为尖锐湿疣,而称为局部鳞状上皮乳头状增生或珍珠疹,或局部皮肤轻度慢性炎等。关于尖锐湿疣和假性湿疣的眼观形态和组织学特征,诊断性空泡细胞的形态特征以及上述两组病例的 HPV-DNA 检测的研究已在另文叙述^[3]。

1.3 方 法

人乳头瘤病毒 DNA(HPV-DNA)检测用

① 本文是本校青年科学基金资助课题

② 第一作者,49 岁,男,副教授

核酸原位杂交方法^[5],试剂盒为 DAKO 公司产品(DAKO-K620)-生物素标记的广谱人乳头瘤病毒 DNA 探针试剂盒,该探针可检测 6, 11, 16, 18, 30, 31, 33, 35, 45, 51, 和 52 型共 11 个例亚型的 HPV-DNA。原位杂交方法:①石蜡切片 4~6 μ m,脱蜡水化;②0.01%蛋白酶(苏州酶制品厂)消化,37℃ 10~15 min;③将探针溶液滴加于切片上,95~100℃加热变性 5 min;④切片置 37℃湿盒内杂交 60 min;⑤切片置预热 48℃的洗脱液中 30 min;⑥切片滴加碱性磷酸酶标记的链菌素,室温 20 min;⑦BCIP/MBT(5-溴-4-氯-3-吲哚酚磷酸盐和四唑氮蓝混合液)显色;⑧核固红复染;⑨树胶封片;⑩光镜观察。

1.4 实验对照组

设正常人皮肤为阴性对照组,试剂盒提供的 HPV 阳性片为阳性对照。

1.5 观察与统计

凡鳞状上皮细胞核内出现 HPV-DNA 杂交信号者均为阳性的病例。结果用卡方检验。

2 结果

2.1 阳性反应表现

HPV-DNA 阳性反应表现为细胞核内出现蓝色颗粒,将细胞核的轮廓清晰的显示出来。阴性反应的细胞核呈红色。杂交信号甚强的细胞,细胞核呈浓染的蓝色。阳性细胞多分布在鳞状上皮中上部,诊断性空泡的细胞核几乎均呈阳性。阳性细胞多的病例,阳性反应还见于非空泡细胞,由鳞状上皮的表层延伸至棘层深部(附图),而基底细胞未见阳性反应。在一些 HPV-DNA 阳性病例,阳性颗粒还出现于表层细胞浆内,甚至出现在细胞核已消失的角质层内,这种情况是 HPV-Ag 免疫组化检测中难于见到的。

2.2 统计检测

本组尖锐湿疣 33 例中,有 30 例 HPV-DNA 阳性,3 例阴性。阳性率为 90.9%;假性湿疣组 38 例,仅 1 例呈 HPV-DNA 阳性,37 例阴性,阳性率为 2.6%。差别有高度的显著性意义($\chi^2=55.95, P<0.001$)。

3 讨论

近 10 年来,国内尖锐湿疣的发病率迅速增加,正确地识别尖锐湿疣成为临床和病理工作者的一个新课题。典型尖锐湿疣的诊断并不困难,但对于假性湿疣的认识,即它是否为尖锐湿疣的一种类型,或是否为人乳头瘤病毒感染引起的病变,目前尚有不同意见^[6]。本研究采用的广谱乳头瘤病毒 DNA 探针,能检测 11 种亚型的 HPV-DNA,包括了目前所认识的能感染下生殖道的人乳头瘤病毒的绝大部分亚型。研究表明,具备尖锐湿疣的肉眼和组织学特征的外阴及其邻近部位的赘生物,HPV-DNA 原位杂交 90.9% 呈阳性反应,表明这组病变为乳头瘤病毒感染所致。而假性湿疣不具备尖锐湿疣的肉眼和组织学形态特征,HPV-DNA 均为阴性,HPV-DNA 原位杂交阳性率仅为 2.6%,表明这类病变不是由人乳头瘤病毒感染引起的,或者由人乳头瘤病毒感染引起的可能性非常小。符玉良等用 PCR 方法检测上述两类病变,其结果与本文结果大致相同^[4]。假性湿疣中个别病例 HPV-DNA 阳性,可能是其他原因引起的乳头瘤样病变合并 HPV 感染的表现,而乳头瘤样病变即假性湿疣是下生殖道慢性非特异性炎等原因所致的鳞状上皮增生^[2]。本文作者认为,广谱人乳头瘤病毒 DNA 探针原位杂交检测方法可作为对该病毒感染病变的一种病理学初筛检测方法,对阳性病例再有选择地用某些型别的 HPV-DNA 探针作进一步检测。因为人乳头瘤病毒类型繁多,且 DNA 探针或引物试剂昂贵,盲目地首先选用某种或某几种亚型 DNA 探针或引物进行检测难免造成不必要的人力和试剂的浪费,而且对阴性结果不容易作出评价。

(本文图见插页 1)

参 考 文 献

- 1 远藤显子. 女阴假性湿疣. 皮肤科の临床,1987,29, 385
- 2 陈乐真,沈璐华,李红芬,等. 女阴尖锐湿疣与假性湿疣的临床和病理鉴别诊断. 中华病理学杂志,1992,

- 21(4): 229
- 3 林汉良,叶玉玲,吴惠茜,等. 尖锐湿疣的人乳头瘤病毒核壳抗原检测和形态观察. 中华妇产科杂志, 1991,26(4): 231
- 4 符玉良,林汉良. 妊娠期下生殖道人乳头瘤病毒感染. 中国优生优育,1992,3: 133
- 5 吴惠茜,邵建永,林汉良. 介绍一种不加盖玻片的原位杂交改良法. 中山医科大学学报,1993,14(2): 156
- 6 Nuovo GJ,O'Connell M, Blanco JS, et al. Correlation of histology and human papillomavirus DNA detection in condyloma acuminatum and condylomalike vulvar lesions. Am J Surg Pathol, 1989,13: 700

(1993-04-08 收稿 1993-12-02 修回)

DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS DNA IN CONDYLOMA ACUMINATUM AND FALSE CONDYLOMA BY IN SITU HYBRIDIZATION USING WIDE SPECTRUM HUMAN PAPILLOMAVIRUS DNA PROBE

Lin Hanliang Wu Huixi

(Department of Pathology, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

Using a wide spectrum human papillomavirus DNA probe with in situ hybridization, the authors present the result of the detection of human papillomavirus DNA (HPV-DNA) in condyloma acuminatum and false condyloma which were diagnosed by gross and microscopic features of vegetations and immunohistochemical study with antiserum of human papillomavirus capsid antigen (HPV-Ag). Detection rates of HPV-DNA in condyloma acuminatum and false condyloma were 90.9% and 2.6% respectively. Such obvious difference in the detection rate suggested that false condyloma seems unlikely to be caused by human papillomavirus infection, or in other words, the possibility of HPV infection is very low. The significance of using a wide spectrum human papillomavirus DNA probe by in situ hybridization as a pathological screening detection for lesions of suspected human papillomavirus infection is discussed.

Key words condyloma acuminatum; false condyloma; in situ hybridization