

# 喉乳头状瘤组织中 HPV-DNA 的复制定位及其临床病理特点\*

郑 忠<sup>1\*\*</sup> 林汉良<sup>1</sup> 吴惠茜<sup>1</sup> 陈镛镛<sup>2</sup> 侯富林<sup>3</sup> 梁正奎<sup>3</sup> 梁惠珍<sup>1</sup> 熊 敏<sup>1</sup>

(1. 中山医科大学病理学教研室, 广州, 510089 2. 孙逸仙纪念医院病理科 3. 广东省人民医院病理科)

**提 要** 对广东地区幼年型喉乳头状瘤和成人型喉乳头状瘤石蜡组织进行了人类乳头状瘤病毒(HPV) DNA 的原位杂交试验。所检41例标本14例 HPV-DNA 杂交阳性,其中幼年型喉乳头状瘤杂交阳性率为61.9%(13/21),20例成人型喉乳头状瘤仅1例阳性。对照组10例组织均阴性。认为成人型喉乳头状瘤 HPV 感染率低与我国成人洁净的性生活方式有关,而幼年型喉乳头状瘤感染率较高可能是通过孕期、产期母亲外阴尖锐湿疣的垂直传播所致。对 HPV-DNA 的复制定位及其与临床病理的关系进行了分析讨论,认为 HPV-DNA 杂交阳性的喉乳头状瘤本质上主要为喉部的尖锐湿疣,可根据病史、多发性及成群的核异型空泡细胞和密集乳头等组织学改变,结合 HPV 感染的实验证据诊断该病。

**关键词** 喉; 乳头状瘤; 人类乳头状瘤病毒; 核酸原位杂交

**中图分类号** R735.202

从喉乳头状瘤组织中检出 HPV-DNA 已为国外较多文献报道<sup>[1~4]</sup>。由于该病毒感染存在较明显的地区差异,因而开展国内这方面的研究有着重要意义。本研究在探讨广东地区幼年型喉乳头状瘤的 HPV 感染状况的基础上,同时对成人型喉乳头状瘤进行了 HPV-DNA 原位杂交实验,旨在了解广东地区喉乳头状瘤组织中 HPV-DNA 复制定位状况; HPV 感染率与国外一些地区感染的差别及幼年型与成人型喉乳头状瘤感染率的差别和成因; 喉乳头状瘤的病理形态改变与 HPV-DNA 复制的关联性及其诊断价值等问题。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

41例实验标本中,20例成人型喉乳头状

瘤来源于中山医科大学病理学教研室近2年活检石蜡包埋组织;21例幼年型喉乳头状瘤分别来自中山医科大学病理学教研室、广东省人民医院病理科等单位近5~10年的存档蜡块组织;对照组10例为中山医科大学病理教研室尸检及活检标本,包括6例正常喉粘膜(声襞),4例声带息肉。

主要试剂广谱 HPV-DNA 探针试剂盒(In situ hybridization detection system KO602)为 Dako 公司产品;蛋白酶 Bp 购于江苏无锡酶制品厂。

### 1.2 主要实验程序

①4 $\mu$  石蜡切片常规梯度脱蜡、水化;②100 $\mu$ g/ml 蛋白酶 Bp37 $^{\circ}$ C 消化20min;③变性和杂交:生物素标记的广谱 HPV-DNA 探针(wide spectrum HPV-DNA probe)覆盖于组织片,置95~100 $^{\circ}$ C 密闭水浴箱5min,再换置37 $^{\circ}$ C 湿盒1h;④将组织片浸入48 $^{\circ}$ C 洗脱液

\* 由学校青年科研基金资助课题

\*\* 第一作者,37岁,男,讲师

30min;⑤显色,链菌素碱性磷酸酶(streptavidin alkaline phosphatase)室温孵育30min, TBS 洗涤后滴加5-溴-4-氯-3-吡啶磷酸盐/四唑氮蓝(BCIP/NBT)室温避光孵育15min 以显示杂交的 HPV-DNA;⑥核固红复染 10min,常规脱水透明封片备观察。对照组及由试剂盒提供的 HPV 阳性对照和阴性对照(包括 DNA 生物素探针、PBR322 生物素探针)均按上述程序同步进行。

1.3 统计学处理

采用  $t$  检验和  $\chi^2$  检验和直接概率法。

2 结果

2.1 喉乳头状瘤组织中 HPV-DNA 的复制状况及定位分布

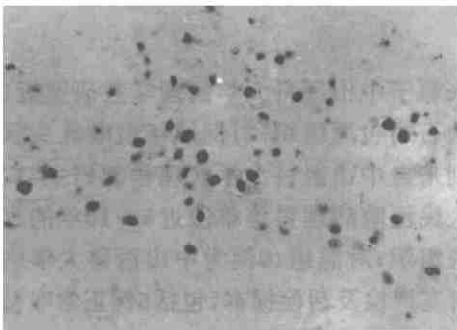


图1 喉乳头状瘤的 HPV-DNA 杂交阳性定位特征

HPV-DNA 杂交阳性定位于喉乳头状瘤的空泡细胞的核内,呈深蓝色,核圆形稍肥大,其它阴性细胞核则被核固红复染成淡红色。100倍

所检41例 HPV-DNA 杂交阳性,其阳性率为34.1%,其中20例成人型喉乳头状瘤仅1例阳性(50%),而21例幼年型喉乳头状瘤中有13例阳性,阳性检出率为61.9%。对照组10例,HPV-DNA 杂交均阴性。幼年型喉乳头状瘤与对照组之间的差别(直接概率法,  $P=0.001$ )、与成人型喉乳头状瘤之间的差别( $\chi^2=17.75, P<0.01$ )均有高度显著性。HPV-

DNA 杂交阳性在组织片呈深蓝色,定位于空泡细胞的核内(图1);阳性的空泡细胞几乎全部分布在增生的上皮组织的浅棘层至表层内(图2)。不同病例阳性范围不尽相同:可散在或灶性分布,亦可整个浅棘层至表层呈片带状分布,但较多标本为上述几种分布的混杂。在阳性组织片中亦可见有些乳头的上皮内完全阴性。

2.2 喉乳头状瘤 HPV-DNA 杂交阳性与临床病理特点的对比



图2 喉乳头状瘤 HPV-DNA 杂交阳性的分布特点

HPV-DNA 杂交阳性主要分布于喉乳头状瘤增生上皮的浅棘至表层,呈散在和(或)片带状分布。40倍

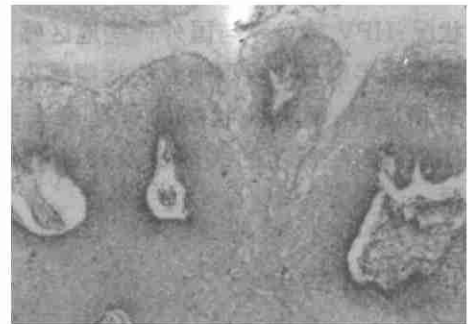


图3 HPV-DNA 杂交阳性喉头状瘤组织学特点

经 HE 染色,见所有 HPV-DNA 杂交阳性的喉乳头状瘤均有:1)密集乳头;2)核轻度肥大深染、胞浆空亮、成群成片分布的空泡细胞。40倍

将所检41例喉乳头状瘤分为 HPV-DNA 阳性组和 HPV-DNA 阴性组,分析其活检时年龄及肉眼下特点,HPV-DNA 阳性组有以下特征:①平均年龄小,为3.6岁;②肉眼为多发性;③镜下,HE 染色均可见空泡细胞,该类细胞胞浆透亮,核圆形或椭圆形,深染较肥大。对照 HPV-DNA 杂交结果,这些空泡

细胞核均为阳性(图1)。此外,HPV-DNA 阳性组织均有较密集的乳头(图3)。但上述肉眼下特点也可在少数 HPV-DNA 阴性标本中见到(表1),其中1例同时具备上述3个 HE 特点。

表1 喉乳头状瘤 HPV-DNA 杂交结果的临床病理对比

	例数	年龄(岁)	多发性	空泡细胞	异型核	密集乳头
HPV-DNA(+)	14	3.6	100%(14/14)	100%(14/14)	100%(14/14)	100%(14/14)
HPV-DNA(-)	27	35.7	18.5%(5/27)	37%(10/27)	40.7%(11/27)	22.2%(6/27)
<i>P</i>		<0.05 ( <i>t</i> =2.348)	<0.01 ( $\chi^2=15.06$ )	<0.01 ( $\chi^2=15.06$ )	<0.01 ( $\chi^2=13.61$ )	<0.01 ( $\chi^2=22.32$ )

### 3 讨论

#### 3.1 广东地区喉乳头状瘤人群的 HPV 感染状况及可能原因

根据本实验的结果,广东地区喉乳头状瘤的总体感染率仅34.1%,其中20例成人型喉乳头状瘤仅1例 HPV-DNA 杂交阳性,与对照组声带接近,而幼年型喉乳头状瘤则较高,HPV-DNA 杂交阳性率达61.9%。据国外文献报道,无论成人型或幼年型喉乳头状瘤均高于我们的资料<sup>[1~5]</sup>。由于该病的 HPV 感染与性传播性疾病尖锐湿疣有关<sup>[4,8]</sup>,那么国人洁净的性生活方式可能是成人型喉乳头状瘤 HPV 感染率低的主要原因;而幼年型喉乳头状瘤年龄偏小(活检时的平均年龄为3.6岁),很可能其母亲在孕期产期患有外阴尖锐湿疣,使 HPV 能以垂直传播的方式感染儿童,这也许是幼年型喉乳头状瘤 HPV 感染率高的成因。

#### 3.2 喉乳头状瘤组织中 HPV-DNA 杂交阳性与临床病理的关系及其意义的估价

本实验结果表明,HPV-DNA 阳性的喉乳头状瘤(简称 HPV 感染型喉乳头状瘤)其

大体及 HE 形态改变在很大程度上能反映 HPV-DNA 的复制状况。综合近年国外有关研究资料<sup>[2,6~8]</sup>,我们认为其本质主要为喉尖锐湿疣。当病变呈多发性,镜下乳头密集,浅棘层至表层有成群或片带状核异型的空泡细胞时,结合病史诊断为 HPV 感染型喉乳头状瘤是较可靠的。鉴于 HPV-DNA 阴性的病例也可有上述某些(偶见全部形态改变),故有条件的单位最好结合 HPV 感染的实验证据进行诊断。关于 HE 所见空泡细胞的核深染肥大的形态改变,我们认为是 HPV 在宿主核内大量复制引起的,因为这类空泡细胞的核均为 HPV-DNA 杂交阳性。

#### 参 考 文 献

- 1 Rimell F, Maisel R, Dayton V, et al. In situ hybridization and laryngeal papillomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1992, 101(2pt1):119
- 2 Dickens P, Srivastave G, Loke SL, et al. Human papillomavirus 6, 11 and 16 in laryngeal papillomas. *J Pathol*, 1991, 165:243
- 3 Reuquney, Lewis FA, Griffith et al. Laryngeal papillomatosis: Correlation between severity of disease and presence of HPV 6 and 11 detected

by in situ DNA hybridization. J Clin Pathol, 1989,42:694

4. Corbitt G, Zarod AP, Arrand JR, et al. Human papillomavirus (HPV) genotypes associated with laryngeal papilloma. J Clin Pathol, 1988,41:184

5. Quick CA. Relationship between condyloma and laryngeal papilloma clinical and molecular virological evidence. Ann Otol Laryngol, 1980, 89: 467

6. Duggan MA, Lim M, Gill MJ, et al. HPV-DNA typing of adult-onset respiratory papillomas. Laryngoscope, 1990,100:639

7. Crissman JD, Kessis T, Shan KV, et al. Squamous papillary neoplasia of the adult upper aerodigestive tract. Hum Pathol, 1988,19:1387

8. Rosal J. Ackerman's Surgical Pathology. 7th ed Washington: Mosby Company, 1989. 1000

(1992-11-29收稿 1993-05-25修回)

## DUBLICATION, LOCATION AND SIGNIFICANCE OF HUMAN PAPOLLOMAVIRUS DNA IN LARYNGEAL PAPILOMA TISSUES

Zheng Zhong<sup>1</sup>    Lin Hanliang<sup>1</sup>    Wu Huixi<sup>1</sup>    Chen Moye<sup>1</sup>    Hou Fulin<sup>3</sup>  
 Liang Zhengkui<sup>1</sup>    Liang Huizhen<sup>3</sup>    Xiong Min<sup>1</sup>

(1. Department of Pathology, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences. Guangzhou, 510089  
 2. Sun Yat-Sen Memorial Hospital  
 3. Department of Pathology, Sun Yat-Sen Memorial Hospital)

A technique of in situ hybridization with biotin-streptavidin polyalkaline phosphatase complex was applied to routinely fixed and processed biopsy specimens of adult and juvenile laryngeal papillomas from 41 patients to detect human papillomavirus (HPV). Fourteen of forty-one specimens were positive for HPV-DNA, in which 61.9% (13/21) juvenile papillomas had strong signals of HPV-DNA hybridization, but only one of twenty adult laryngeal papillomas was positive. Ten specimens of normal vocal cord epithelium were negative for HPV-DNA. The authors think that the lower HPV-DNA duplication of the adult laryngeal papillomas in Cantonese may be largely due to the conservative mode of sexual intercourse in Chinese; while the juvenile papillomas in which the HPV-DNA positive rate was higher may be caused by the patients' mother, who had suffered from valvar condyloma during the process of pregnancy and parturition. On the base of the duplication and the location of HPV-DNA in laryngeal papillomas as well as the patient's history and the histologic changes, the authors suggest that the laryngeal papilloma especially juvenile laryngeal papilloma derived by HPV is a laryngeal condyloma acuminatum in most of the cases and a diagnoses can be made by the data discussed above.

**Key words**    laryngx; papilloma; papillomavirus; DNA hybridization in situ