

文章编号:1004 - 616X(2001)01 - 0026 - 03

论著 ·

一例外阴疣状癌中 HPV 亚型的免疫组织化学研究

李从铸¹,陈海滨²,李伟秋³,黄萍¹,李湛¹

(1. 汕头大学医学院附属肿瘤医院妇瘤科,广东 汕头 515031;2. 汕头大学医学院组织学教研室,广东 汕头 515031;3. 汕头大学医学院中心实验室,广东 汕头 515031)

摘要:目的:探讨 HPV16 E6、E7 与外阴疣状癌发病的关系。方法:用过氧化酶标记的链霉卵白素染色法对外阴疣状癌术后病理切片进行免疫组化染色分析。结果:部分表皮细胞质呈空泡状、核固缩,即挖空细胞;在癌组织表皮基底层大部分细胞 E6、E7 均呈强阳性;癌巢细胞 HPV E6 仅有散在的阳性细胞,HPV E7 染色为弱阳性,也可见散在强阳性细胞;癌旁组织的表皮 HPV E6、E7 为强阳性,部分区域为中等强度阳性反应。结论:HPV E6 及 HPV E7 蛋白可能与外阴疣状癌的发生相关。

关键词:外阴疣状癌;人乳头状瘤病毒(HPV);免疫组织化学

中图分类号:R737.35;R730.231

文献标识码:A

HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPES 16 AND 18 INVOLVEMENT IN A VERRUCCOUS CARCINOMA OF THE VULVA

LI Cong - zhu¹, CHEN Hai - bing², LI Wei - qiu³, HUANG Ping¹, YANG Zhan¹

(1. Department of Gynecological Oncology, Shantou University Medical College Tumor Hospital, Shantou 515031, China; 2. Department of Histology, Shantou University Medical College Shantou 515031; 3. Center Laboratory, Shantou University Medical College, Shantou 515031, China)

Abstract: Purpose: To study the possible pathogenetic role of HPV16 E6, E7 protein expression in verrucous carcinoma of the vulva. **Methods:** Immunohistochemistry SABC method was used to examine HPV16/18E6 and HPV16E7 protein expression in the surgical specimens. **Results:** The most typical is koilocytosis, with perinuclear hole formation with a thick cytoplasmic border in the upper epithelial; Immunohistochemical detection of E6 and E7 showed strong positive products in the basal lamina of epidermis of cancer tissues; There are on-

收稿日期:2000 - 05 - 19;修订日期:2000 - 07 - 05

作者简介:李从铸(1963 -),男,安徽人,主治医师,硕士,研究方向:妇科肿瘤。

向,DNA 断裂修复能力检测能间接反映被检者机体细胞的修复状况,临床医生可以依据检测指标对不同年龄、不同修复能力的患者选用不同的治疗方案或调整剂量大小;同时,修复能力的低下预示被检者有较高的肿瘤发生风险,可作为肿瘤遗传咨询门诊的指标之一,因此,修复能力的检测有望成为一项较为实用的个体化治疗生物学指标,值得更深入的研究。

参考文献:

1 Margaret RS, Scott ML, Hong J, et al. Mutagen sensitivity as a

predictor of tumor recurrence in patients with cancer of the upper aerodigestive tract J. *J Natl Cancer Inst*, 1998,90(3):243~245.2 Hsu TC, Johnston DA, Cherry LM, et al. Sensitivity to genotoxic effects of bleomycin in human: Possible relationship to environmental carcinogenesis J. *Int J Cancer*, 1989,43:403~409.3 Wei Q, Spitz MR, Gu J, et al. DNA repair correlates with mutagen sensitivity in lymphoblastoid cell lines J. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1996,5:199~204.4 Spitz MR, Mcpherson RS, Jiang H, et al Correlates of mutagen sensitivity in patients with upper aerodigestive tract cancer J. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1997,6:687~692.

ly scattered positive cells for HPV E6 and weak positive or scattered strong positive cells for HPV E7 in cancer nests; HPV E6 and E7 in the adjacent tissue showed strong positive expression whereas some region showed medium positive reaction. **Conclusion:** It is suggested that HPV16 E6 and E7 may be involved in the carcinogenesis of verrucous carcinoma.

Key words: vulva verrucous; human papillomavirus (HPV); immunohistochemistry

外阴疣状癌是外阴鳞状细胞癌的一种少见特殊亚型,恶性度低,较少转移,临床罕见。1966 年 Kraus 等¹ 首次报道该病,近年来对该病的临床病理及生物学特点虽有初步认识,但病因至今不明确。国外研究认为外阴疣状癌的发病与人乳头状瘤病毒(Human papilloma virus, HPV) 感染密切相关²⁻⁴。但国内未见相关文献报道。本文就我科收治的一例外阴疣状癌进行 HPV16/18E6 和 HPV16E7 免疫组织化学分析,旨在了解 HPV 与外阴疣状癌发病的关系。

1 材料与方**法**

1.1 材料 外阴疣状癌经术前肿瘤局部活检及术后标本病理检验确诊。组织经 10% 福尔马林固定,石蜡包埋,连续 4 μm 切片后,分别进行 HE 染色和免疫组化染色,鼠抗 HPV16/18 E6 蛋白单克隆抗体、鼠抗 HPV16E7 蛋白单克隆抗体为 Santa Cruz 公司产品,SP 免疫组化染色试剂盒为美国 Zymed 公司产品。

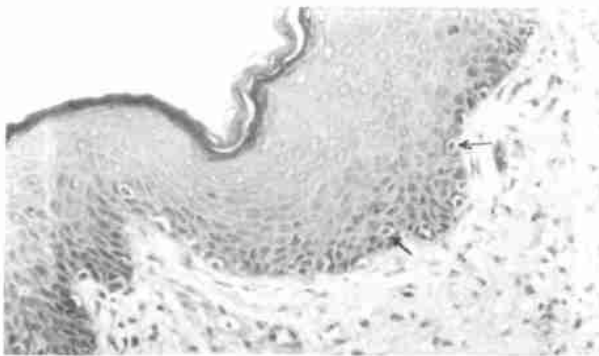


图 1,2. 部分表皮细胞胞质呈空泡状,核固缩,即“挖空细胞”。HE ×50
Figure 1,2. Some epidermal cells showing koilocytic changes. H & E ×50

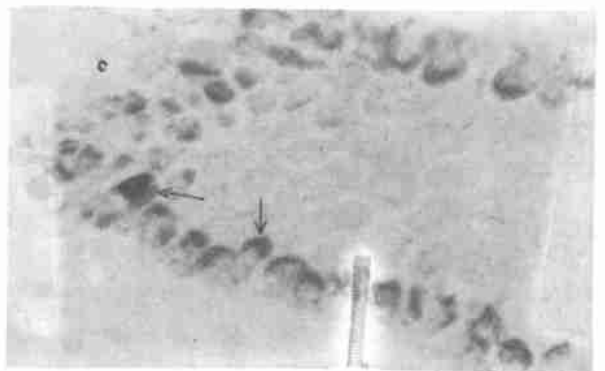
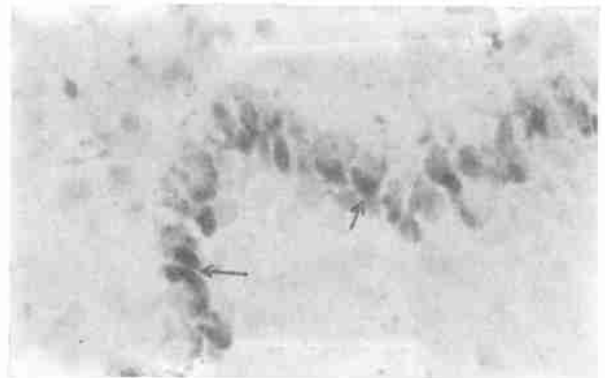
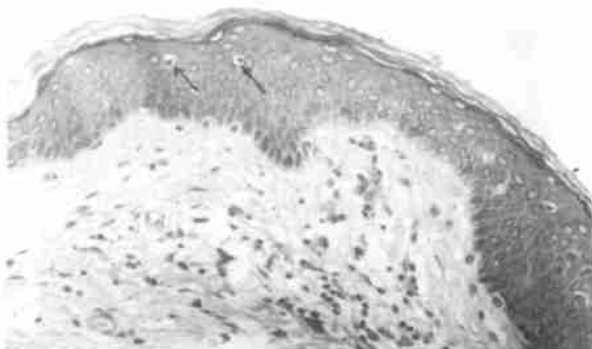


图 3,4. 表皮基底层大部分细胞 E6、E7 呈强阳性。SABC ×200
Figure 3,4. Most epithelial cells of basal layer showing strong positive of E6 and E7. SABC ×200

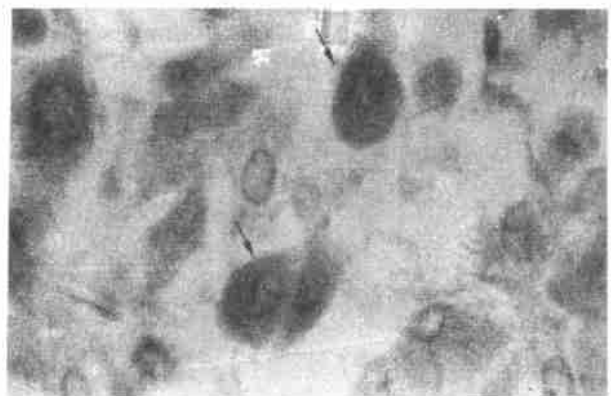


图 5. 癌巢细胞 HPV E6 仅有散在的阳性细胞。SABC ×200
Figure 5. Positive cells of HPV E6 scattered in the cancer nests. SABC ×200



图 6. HPV E7 染色为弱阳性,少量散在分布的强阳性细胞. SABC × 200

Figure 6. Weak positive and scattered strong positive cells for HPV E7. SABC × 200

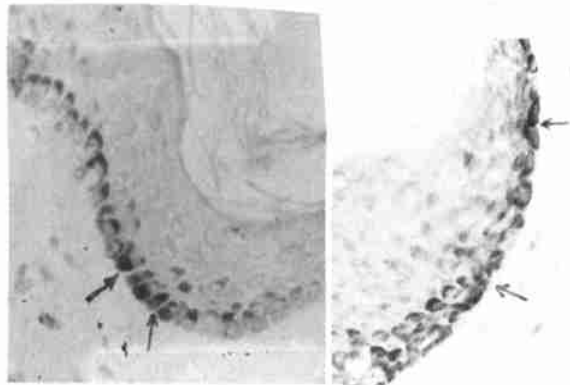


图 7, 8. 癌旁组织上皮角处 HPV E6、E7 为强阳性,部分为中等强度阳性反应. SABC × 100

Figure 7, 8. Strong positive expression for HPV E6 and E7 in the adjacent cancer tissue and medium positive expression in some region SABC × 100

1.2 方法 免疫组化染色采用过氧化物标记的链霉卵白素染色法。主要步骤如下：常规脱蜡至水；3%过氧化氢孵育 5 min,消除内源性过氧化物酶活性,PBS 浸洗 5 min；5%正常山羊血清室温 30 min；加抗 HPV16/18 E6 单克隆抗体(1:200)或抗 HPV16 E7 单克隆抗体(1:200)4 过夜；滴加生物素化羊抗鼠 IgG(1:100)37℃,30 min；滴加 SP 复合物 37℃,30 min；0.05% DAB 显色；苏木素复染,脱水透明,封片。~ 步骤后均经 PBS 振洗 3 次,每次 5 min。阳性对照:用 HPV16 阳性的宫颈癌切片重复染色,阴性对照,用 PBS 代替一抗。

2 结果

2.1 组织病理学观察 术后标本(大体):左侧大阴唇上方近阴蒂部 3.5 cm × 3.0 cm × 2.0 cm 结节状肿

物,质硬,表面色素减退,肿瘤与周围组织界限清楚;光镜下(HE × 50):呈外生性乳头状瘤样生长,表面角化过度,底部呈粗大的上皮脚突向间质,瘤细胞分化好,术后病理诊断为外阴疣状癌,皮肤切缘未见癌浸润。切片中可见到部分表皮细胞质呈空泡状,核固缩(图 1, 2)。

2.2 免疫组化染色 经 HPV16/18 E6 和 HPV16 E7 免疫组化染色后,阳性信号呈深棕色,颗粒状,位于细胞质呈全胞质弥散分布。在癌组织,表皮基层层大部分细胞 E6、E7 均呈强阳性,少量细胞反应较弱(图 3, 4)。癌巢细胞 HPV E6 仅有散在的阳性细胞(图 5), HPV E7 染色为弱阳性,也可见散在分布的强阳性细胞(图 6)。癌旁组织的表皮特别是上皮脚处 HPV E6、E7 为强阳性,部分区域为中等强度阳性反应(图 7, 8)。

3 讨论

疣状癌是鳞状上皮癌的一种特殊类型,以口腔、鼻咽部及男性生殖器部位多发,而女性外阴疣状癌十分少见。国外文献⁵报道该病 12% 有梅毒史,50% 有尖锐湿疣史。近年来国外研究认为人乳头状瘤病毒(HPV-6、11)是其重要的致病因素³。由于该病属罕见病例,国内尚无该方面研究报道,但 HPV 与宫颈癌发病关系的研究报道较多,二者之间的关系也较为明确。一般认为“低危”病毒 HPV6、11 与性传播疾病之一尖锐湿疣发生相关,而“高危”病毒 HPV16、18 等与女性生殖道最常见的恶性肿瘤宫颈癌发生有着密切的关系⁶。在我国 HPV16 被认为是宫颈癌发生发展过程中的重要危险因子⁷。本文通过对一例外阴疣状癌标本行 HPV16/18 E6 及 HPV16 E7 免疫组化染色研究发现,经 HPV16/18 E6 和 HPV16 E7 染色后,癌组织表皮基层层、癌旁组织的表皮特别是上皮脚处 E6、E7 均呈强阳性,癌巢中仅有散在的阳性细胞,可见 HPV16 病毒感染由浅入深改变,说明 HPV16 E6、E7 感染与外阴疣状癌的发生相关。体外研究证实 HPV16 E6、E7 癌蛋白可分别与肿瘤抑制基因产物 P53 和 Rb 蛋白结合^{8,9},癌基因蛋白与 P53 蛋白复合物的形成可使 P53 调节细胞增殖的正常功能失活,在体外这种结合可导致 P53 蛋白水解。由此可见,特异 HPV16 的感染在外阴疣状癌的发生中可能起着重要的作用。

文章编号:1004 - 616X(2001)01 - 0029 - 03

·论著·

血清LDH同工酶检测在癌症诊断上的应用

王顺祥¹, 魏经建¹, 王奕鹏²

(1. 河南省肿瘤研究所, 河南 郑州 450003; 2. 郑州市金水区医院, 河南 郑州 450003)

摘要:目的:探索血清乳酸脱氢酶同工酶在恶性肿瘤诊断上的价值。方法:血清乳酸脱氢酶总活力按崔福生介绍的方法。乳酸脱氢酶采用作者改进的琼脂糖凝胶电泳法。结果:癌症患者血清乳酸脱氢酶总活力明显增高,升高幅度为3.91%~153.86%。同工酶谱则表现为LDH₁、LDH₂减低和LDH₄、LDH₅增高趋势,并表现为LDH₃明显增高(15.88%~54.51%)和高阳性率(71.43%~93.75%)的特征。结论:血清乳酸脱氢酶总活力及其同工酶的检测,对恶性肿瘤的临床诊断有较高的价值。

关键词:血清;乳酸脱氢酶;癌症;诊断。

中图分类号:R730.43

文献标识码:A

APPLICATION OF THE SERUM LACTIC DEHYDROGENASE(LDH) AND ITS ISOENZYMES IN CARCINOMA DIAGNOSIS

WANG Shun - xiang¹, WEI Jing - jian¹, WANG Yi - peng²

(1. Laboratory of Biochemistry, Henan Tumor Institute, Zhengzhou 450003, China; 2. Gold Water Quarter Hospital, Zhengzhou 450004, China)

Abstract: Purpose: To explore the diagnosis value of serum lactic dehydrogenase and its isoenzymes in carcinoma. **Methods:** Examination of LDH was done by CUI Fu - sheng's method and LDH isoenzymes by agar - jelly - electrophoretogramic method. **Results:** Significant elevation of total LDH activity was seen in all kinds of carcinomas. The degrees of elevation was 3.91%~153.86%. Characteristic of the change in activity of LDH isoenzyme pattern was the significant elevation of LDH₃ and higher positive rate (71.43%~93.75%). LDH₄

收稿日期:2000 - 04 - 26;修订日期:2000 - 06 - 15

作者简介:王顺祥(1933 -)男,汉族,云南省人,研究员,从事肿瘤发病机理、早期诊断、中药治疗的研究。

参考文献:

- Kraus FT, Perez MC. Verrucous carcinoma, clinical and pathologic study of 105 cases involving oral cavity, larynx and genitalia J. *Cancer*, 1996, 19:26~18
- Kondi PA, Deligeorgi PH, Liapis A, et al. Human papilloma virus in verrucous carcinoma of the vulva: an immunopathological study of three cases J. *Eur J Gynaecol Oncol*, 1998, 19(3):319~320.
- Crowther ME, Shepherd JH, Fisher C. Verrucous carcinoma of the vulva containing human papillomavirus - 11 J. *Br J Obstet Gynecol*, 1999, 95:414~415.
- Rando RF, Sedlacek TV, Hunt J, et al. Verrucous carcinoma of the vulva associated with an unusual type 6 human papillomavirus J. *Obstet Gynecol*, 1986, 67(3):70~75.
- Japaze H, Dinh TV, Woodruff D. Verrucous carcinoma of the vulva: Study of 24 cases J. *Obstet Gynecol*, 1982, 60:462~463.
- Howley PM. Role of the human papillomavirus in human cancer J. *Cancer Res*, 1991, 51:5 019~5 020.
- Si - JY, Lee - K, Zhang - W, et al. A research for the relationship between human papillomavirus and human uterine cervical carcinoma. I. The identification of viral genome and subgenomic sequences in biopsies of Chinese patients J. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1991, 117:454~455.
- Wemess BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus type 16 and 18 E6 protein with p53 J. *Science*, 1990, 248:76~78.
- Dyson N, Howley PM, Munger K, et al. The human papillomavirus - 16 E7 oncoprotein is able to bind the retinoblastoma gene product J. *Science*, 1989, 243:934~936.