

· 临床研究 ·

应用聚合酶链反应技术检测 腮腺腺淋巴瘤中 EB 病毒整合

王大仁 邓春富 谭学新 王玉新

摘要 目的: 研究腮腺腺淋巴瘤(Warthin's 瘤)和 EB 病毒感染之间的关系。方法: 应用聚合酶链反应技术检测 75 例 Warthin's 瘤, 20 例正常腮腺组织的 EB 病毒 DNA 整合情况。结果: 62 例单发 Warthin's 瘤中 19 例检出 EB 病毒 DNA 整合, 13 例双侧或单侧多发 Warthin's 瘤中 9 例检出 EB 病毒 DNA 整合。20 例正常腮腺组织中 3 例 EB 病毒 DNA 整合阳性。结论: EB 病毒感染与双侧或单侧多发 Warthin's 瘤有关。

关键词 EB 病毒 Warthin's 瘤 聚合酶链反应

EB 病毒(EBV)是与人类肿瘤关系密切的病毒之一, 儿童伯基特淋巴瘤、霍奇金病、鼻咽癌等肿瘤均与该病毒的感染有关。它一经感染即可潜伏于体内, 并可高频率地在口腔唾液中检出, 有关该病毒与腮腺肿瘤之间的关系报道甚少。笔者应用高敏感的聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术对腮腺腺淋巴瘤中 EB 病毒整合进行研究, 现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 标本来源

中国医科大学附属第一临床学院口腔外科 1988 年至 1998 年收治的 Warthin's 瘤患者 75 例, 其中单发 62 例, 双侧或单侧多发 13 例, 年龄 46~72 岁。正常腺体 20 例, 均经病理诊断证实。

1.2 药品来源

EB 病毒 PCR 检测试剂盒购自华美生物工程公司。

1.3 标本处理

石蜡包埋组织, 切取 10 μm 厚切片 5 张, 放入 1.5 ml Eppendorf 管内, 加入二甲苯脱蜡 3 次, 无水乙醇洗涤沉淀 3 次, 真空干燥, 加 5 μl 样品裂解液悬浮, 55 $^{\circ}\text{C}$ 保温 30 分(每 10 分轻轻振荡消化管), 100 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸 10 分, 14000 r/min 离心 5 分, 取上清 2 μl 做 PCR 反应模板。

1.4 PCR 扩增

取出 PCR 反应混合物, 充分融化后混匀, 离心数秒, 取 25 μl 加入 PCR 反应管中, 滴加两滴液体石蜡, 加入 2 μl 已处理标本, 离心数秒即可在 PCR 仪上循环。阳性对照直接取 2 μl 进行 PCR 扩增。

1.5 结果判断

将 50 \times TAE 电泳缓冲液 20 ml 加双蒸水稀释至 1000

ml(1 \times TAE)待用。取 50 ml 1 \times TAE 缓冲液于三角瓶中, 加入 1 支琼脂糖加热使之溶解至清亮状。凉至 50 $^{\circ}\text{C}$ 左右倒入电泳平板, 电泳槽中倒入 1 \times TAE 缓冲液, 取 PCR 终产物 10~15 μl 点样, 80~100 V 电泳 10~20 分后置于 302 nm 紫外透射仪上观测。样品出现和阳性对照在同一水平位置上的红橙色荧光带即为阳性, 否则为阴性。

1.6 统计方法

采用 χ^2 检验进行数据统计学分析。

2 结果

应用 PCR 检测 62 例单发 Warthin's 瘤, 19 例 EB 病毒 DNA 整合阳性, 阳性率 30.65%, 与正常腮腺组相比, $P > 0.05$; 13 例双发或单侧多发 Warthin's 瘤, 9 例 EBV DNA 整合阳性, 阳性率为 69.23%。20 例正常腮腺, 3 例 EBV DNA 整合阳性, 阳性率为 15%, 与正常腮腺组相比, $P < 0.01$ (表 1)。

3 讨论

EB 病毒在全世界侵袭范围广, 约 90% 以上成年人均受到过该病毒的感染, 其属于 γ -疱疹病毒, 病毒基因组为双链线性 DNA, 相对分子量为 $101 \times 10^6 \pm 3 \times 10^6$ 。完整的病毒颗粒是由类核、壳微粒、衣膜和包膜 4 个部分组成¹。自从 1963 年 Epstein 和 Barr 首次发现 EBV 感染与儿童伯基特淋巴瘤有关以来, 人们又相继发现在霍奇金病²、鼻咽

作者单位: 110001 中国医科大学附属第一临床学院口腔外科

癌³、喉癌⁴、乳腺癌⁵、胃癌⁶等上皮性肿瘤中有该病毒整合。最近应用PCR及原位杂交技术在口腔鳞癌及唾液腺肿瘤组织中也证实有EB病毒存在⁷。

有关Warthin's瘤的病因仍不十分清楚,有研究报道与吸烟有关⁸。其双侧发生及单侧多发的特点,仍未被研究解释清楚。笔者应用高度敏感的PCR技术对75例腮腺Warthin's瘤和20例正常腮腺组织中EB病毒整合情况进行了研究。实验结果显示69.23%的双侧或单侧多发Warthin's瘤组织中有EBV整合,30.65%的单发Warthin's瘤中有EBV整合,而正常腮腺组织中EBV整合阳性率仅为15%。故笔者认为EBV感染与双侧发生或单侧多发的Warthin's瘤有较强的联系。

4 参考文献

1 Jone MD, Griffin EB. Clustered repeat sequences in the

genome of Epstein-Barr virus *Nucleic Acids Res*, 1983, 11(3): 3919~ 3927

2 Fielde BN, Knipe DM. *Virology*. 2nd ed, New York: Raven, 1990: 1197~ 1268

3 Desgranges C, Wolf HD, Shannugaratnam G, et al Nasopharyngeal Carcinoma: Presence of Epstein-Virus genome in epithelial cells of tumors from high and medium-risk areas *Int J Cancer*, 1975, 16(1): 7~ 14

4 刘克拉,宋永生 EB病毒基因在喉鳞状细胞癌中的表达 *癌症*, 1998, 17(1): 10~ 12

5 张丽萍,许良中 应用聚合酶链反应技术检测乳腺肿瘤中EB病毒整合 *中国癌症杂志*, 1997, 7(2): 79~ 81

6 Shibata D, Weiss LM. Epstein-Barr virus-associated gastric adenocarcinoma *Am J Pathol*, 1992, 140(3): 769~ 782

7 陈伟良,董立文,邓庆丽 人乳头瘤病毒16型和EB病毒感染与口腔鳞癌关系 *口腔颌面外科杂志*, 1998, 8(1): 22~ 25

8 愈兴岩,柳晓冰,李自力 吸烟与沃辛瘤的发病 *中华口腔医学杂志*, 1995, 30(4): 195

(1998-01-28 收稿)

Detection of Epstein-Barr Viral Genome in Tumor Cells of Warthin's Tumor of Parotid Gland

Wang Daren, Deng Chunfu, Tan Xuexin, et al

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital of Chinese Medical University

Abstract

Objective: To evaluate the relations between Warthin's tumors of salivary gland and Epstein-Barr virus (EBV). **Methods:** 75 cases of salivary gland Warthin's tumor and 20 cases of normal salivary gland tissue were examined for to detect EBV genome by using the polymerase chain reaction (PCR) of DNA, 62 cases of single Warthin's tumor and 13 cases of multiple/bilateral Warthin's tumor's. **Results:** EBV DNA was detected in 13 cases of single Warthin's tumors, 9 cases of multiple/bilateral Warthin's tumor and 3 cases of normal salivary gland. **Conclusion:** There was a close relationship between EBV and multiple/bilateral Warthin's tumors

Key words: Epstein-Barr virus Warthin's tumor polymerase chain reaction

中华口腔医学会医院管理专业委员会名单

主任委员: 沈春

副主任委员: 张志君 周曾同 潘可风 马轩祥

常务委员: 王兴 高文信 王强 雷成家 过家骥 李容林 吉济华

委员: 赵国栋 王文蕾 应宝俊 钱声三 杨连举 张颁农 王渤 邓锋

秘书: 王渤(兼) 杨巍巍