

人乳头瘤病毒感染的宫颈癌组织的病理形态学观察 The Pathomorphology Study on Cervical Carcinoma Infected by Human Papillomavirus

黄薇 李力 古明华 林玉纯*
Huang Wei Li Li Gu Minghua Lin Yuchun
韦政清** 陈若泽** 李洁* 刘宝印*
Wei Zhengqing Chen Ruoze Li Jie Liu Baoyin

(广西医科大学附属肿瘤医院妇瘤科 南宁市滨湖路6号 530021)

(Department of Gynecology Oncology, Affiliated Tumour Hospital,
Guangxi Medical University, 6 Binhu Road, Nanning, Guangxi, 530021)

摘要 应用核酸杂交技术结合组织病理学的光镜和电镜观察、检测80例子宫颈癌、42例正常宫颈组织、33例宫颈非典型增生组织和10例宫颈尖锐湿疣组织中的HPVs基因组相关序列。结果表明：(1)42例正常宫颈组织DNA无一例检出HPV，而在宫颈癌组织、宫颈非典型增生组织和宫颈尖锐湿疣组织中，HPV检出率分别达43.75%、45.45%和80%；(2)宫颈癌组织中阳性35例，阳性率为43.75%；HPV型别分布主要为HPV16型(18例，51.43%)和HPV R型(8例，22.86%)；(3)18例HPV16型和3例HPV11/6型均为鳞癌，8例HPV R型中有6例也为鳞癌，HPV16型的18例中有12例为低分化癌，HPV R型的8例中有5例也为低分化癌；(4)不同型别HPV感染的宫颈癌组织，其病理形态学特征有所不同。研究表明，广西地区相当部分宫颈癌的发生与HPV感染有关，其感染的宫颈癌组织具有一定的病理形态学特征。

关键词 乳头瘤病毒感染 子宫颈肿瘤 核酸杂交技术 病理学

Abstract Eighty biopst specimens of carcinoma of the uterine cervix, fourty-two the normal cervix, thrity-three the atypical hyperplasia and ten the condyloma acuminatum were assayed for HPV DNA related sequences using the southern blot hybridization technique combining observation of light microscopy and electron microscopy, The results showed that: (1) No HPV DNA had been found in the normal uterine cervix; HPV DNA were found to be 43.75%, 45.45% and 80% respectively in the cervical carcinoma, the atypical hyperplasia and the condyloma acuminatum; (2) The HPV DNA types were mostly HPV 16 (18 cases, 45.43%) and HPV R (8 cases, 22.86%); (3) All 18 cases of HPV 16 and 3 cases of HPV 11/6 were found to be squamous cell carcinomas. Six of the eight cases with HPV R were also squamous cell carcinoma; (4) The Pathomorphologic features of the cervical cancerous tissues with different HPV types were different. The results also showed that the development of quite a few cervical carcinoma in Guangxi might be related to HPV infection.

Key words papillomavirus infection, cervix neoplasms, nucleic acid hybridization technique, pathomorphology

目前的研究认为，人生殖器官的许多病变可能与
人乳头瘤病毒(HPV)感染相关，尤其与宫颈癌的发

生发展密切相关^[1]。我们应用核酸杂交技术了解宫颈
各种疾患中HPV感染状况；并观察HPV感染后宫颈
癌组织的病理形态特征，以了解它们之间关系。

1 材料和方法

1.1 病例

1.1.1 宫颈癌组织。收集广西医科大学附属肿瘤医院
妇瘤科1988年11月至1992年6月住院患者宫颈癌组

1994-07-14收稿。

* 中国医学科学院肿瘤医院病毒室，北京市东单3条9号，1040730
Department of Virology Cancer Institute, Chinese Academy of Medical
Sciences, 9 Dongdan Santiao, Beijing, 100730

** 广西医科大学病理教研室 Department of Pathology, Guangxi
Medical University, 6 Binhu Road, Nanning, Gaungxi, 530021

织活检标本80例,每例取样2份,1份作病理切片检查,另1份作 HPV 检测。

1.1.2 正常宫颈组织。收集同期住院非宫颈疾病患者全子宫切除术的宫颈组织42例,均经病理组织学确诊。

1.1.3 宫颈非典型增生组织。取自同期门诊患者宫颈Ⅲ°糜烂活检标本33例。

1.1.4 宫颈尖锐湿疣组织。取自同期门诊患者宫颈湿疣标本10例。

1.2 组织 HPV DNA 测定

1.2.1 组织 DNA 的提取、定量、酶切、酶切片段的分离, Southern blot 法吸印于基因筛,具体方法见文献[2]。

1.2.2 HPV 基因组分子探针的制备。整个程序包括 DNA 的纯化,HPV 重组体的酶切、HPV 基因的制备电泳分离, NACS 柱层析纯化及 α -³²PdTTP 缺口翻译标记等详细步骤见文献[2]。

1.2.3 杂交方法均采用先弱条件,后强条件的杂交程序,在-80℃曝光。

1.2.4 HPV 型别的判定。均根据 HPV 基因组各自的酶切图谱。

1.3 组织病理切片和透射电镜检查

病理组织切片制作按病理科常规进行。透射电镜片制作是用戊二醛、锇酸固定标本, Epon812包埋, 37℃、60℃聚合,半薄切片,伊红、亚甲基蓝染色,光镜观察定位;超薄切片、乙酸铀及柠檬酸染色、电镜观察。

1.4 数据处理

检出率的比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 宫颈癌组织中 HPV 检出率与对照组的比较见表1。

从表1可见42例正常宫颈组织DNA中无一例

表1 80例宫颈癌组织 DNA 中 HPV 检出率及型别分布
Table 1 The positive rate and the type distribution of HPV in 80 cases of the cervical cancer

型别 Type	阳性数(例) Positive number (case)	检出率 Positive rate (%)	构成比 Constitution rate (%)
16	18	22.50	51.43
R	8	10.00	22.86
11/6	3	3.75	8.75
χ_1	2	2.50	5.72
31	2	2.50	5.72
33	2	2.50	5.72

检出 HPV,而宫颈癌组织和宫颈非典型增生组织中, HPV 检出率分别达43.75%和45.45%。

2.2 宫颈癌组织 DNA 中 HPV16型基因组相关序列的检出率及 HPV 型别分布情况见表2。从表2可见80例宫颈癌组织中 DNA 的 HPV 阳性数为35例,阳性率为43.75%; HPV 型别分布主要为 HPV16型(18例,占51.43%)和 R 型(8例,占22.86%)

表2 宫颈癌组织与对照组 HPV 检出率比较

Table 2 The positive rates of HPV in the cervical cancer and controls

分 组 Group	例数 No. cases	HPV 阳性 Positive	
		例数 No. cases	%
宫颈癌 Cervical carcinoma	80	35	43.75
正常宫颈 Normal cervix	42	0	
宫颈非典型增生 Atypica hyperplastic cervix	33	15	45.45
生殖道尖锐湿疣 Cervical pointed condyloma	10	8	80.00

2.3 HPV 不同型别与宫颈癌不同组织学类型及病理分级的关系见表3、表4。

2.4 HPV 各型别感染的宫颈癌组织光镜和电镜下病理形态特征:

2.4.1 HPV16型。光镜下癌细胞较小或大小不等,分化差,核染色质凝集成团(似煤块),胞浆少,缺少挖空细胞(图1);电镜下胞核多见为多核或双核,核异染色质聚集成块状较多见,核周及核内基质团较少见,核内常见染色质之间颗粒和染色质周围颗粒,胞浆中可见破碎的线粒体(图2)。

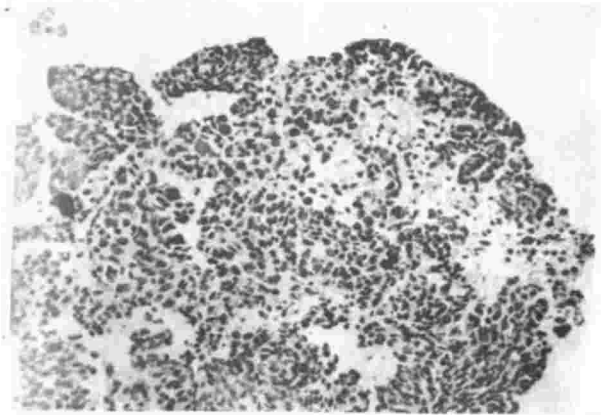


图1 HPV 16型感染的宫颈癌图像 HE 染色 (×40)

Fig. 1 The feature of cervical carcinoma infected by HPV

16 (HE×40)

表3 HPV 型别与宫颈癌组织学分类的关系

Table 3 Relationship between the HPV type and the pathologic type of cervical carcinoma

病理类型 Pathologic type	HPV 型 别 HPV types														合计 (例) Total (case)
	16		R		31		33		11/6		X ₁		阴性 Negative		
	例数 No. cases	%	例数 No. cases	%	例数 No. cases	%	例数 No. cases	%	例数 No. cases	%	例数 No. cases	%	例数 No. cases	%	
鳞 癌 Squamous carcinoma	18	25.5	6	8.5	2	2.8	2	2.8	3	4.2	2	2.8	38	53.5	71
腺 癌 Adenocarcinoma			2	33.3									4	66.7	6
透明细胞癌 Clear cell carcinoma													1		1
腺鳞癌 Adeno-squamous carcinoma													2		2

表4 HPV 型别与宫颈癌病理分级的关系

Table 4 Relationship between the HPV type and pathologic differentiation

HPV 型别 type	例数 No. cases	病理分级 Pathologic differentiation					
		高分化 Well		低分化 Poor		未分化 Unknown	
		例数 No. cases	%	例数 No. cases	%	例数 No. cases	%
16	18	5	27.8	12	66.7	1	
R	8	3	37.5	5	62.5		
31	2	2	100				
33	2			2	100		
11/6	3	3	100				
X ₁	2	1	50	1	50		
阴性 Negative	45	23	51.1	21	46.7	1	

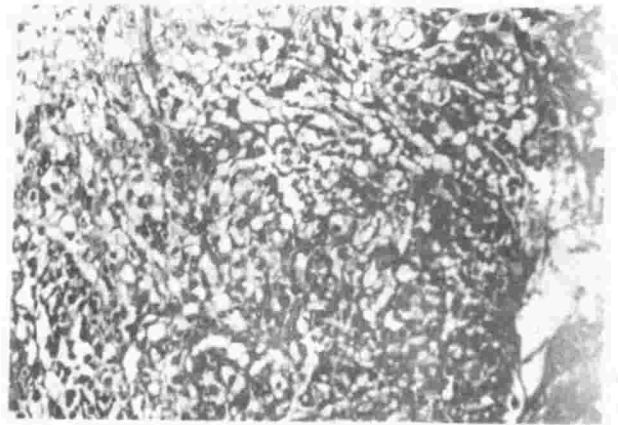


图3 HPV 11/6型感染的宫颈癌图像 HE 染色 (×40)
Fig. 3 The feature of cervical carcinoma infected by HPV 11/6 HE (×40)

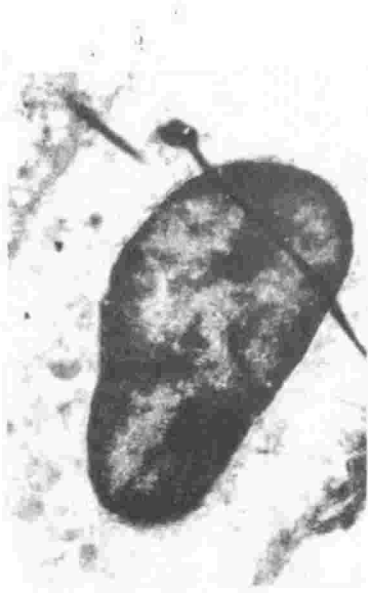


图2 核固缩 (×12 000)
Fig. 2 Contracting nucleole of cervical carcinoma (×12 000)



图4 挖空细胞 (×12 000)
Fig. 4 Koilocell of cervical carcinoma (×12 000)

2.4.2 HPV11/6型。光镜下癌细胞具有典型的乳头瘤病毒感染的特征，挖空细胞较多见（图2）；电镜下核比较小，核周空泡明显，胞质有大量的透明区，核周基质团块较小（图4）。



图5 HPV R型感染的宫颈癌图像 HE染色(×40)
Fig. 5 The feature of cervical carcinoma infected by HPV R HE (×40)

2.4.3 HPV R型。光镜下多为低分化癌，细胞异型性较明显，胞浆模糊，间质炎性细胞浸润少（图4）；电镜下胞核多为多核或双核，多为常染色质，伴有局部均匀基质组成的高密度团块，可见核内空泡，未发现病毒颗粒（图5）。

2.4.4 HPV阴性。光镜下角化缺如，癌细胞较少或退化，炎性细胞及间质细胞相对较多（图7）；电镜下组织结构不完整，核内有较多的基质团，核周及核内有明显的空泡区。细胞器少见。

2.5 病理形态学检查及核酸杂交技术，二种方法判断 HPV 感染和型别，基结果符合情况比较见表5、表6。

表5 病理形态与核酸杂交技术判断 HPV 感染的比较
Table 5 Detecting HPV DNA by the pathology and Southern blot

		核酸杂交技术 判断 HPV 感染 Southern blot		合计 (例) Total (case)
		+	-	
病理形态学判断 HPV 感染 Pathology HPV type	+	28	5	33
	-	7	40	47
合计(例) Total (case)		35	45	80

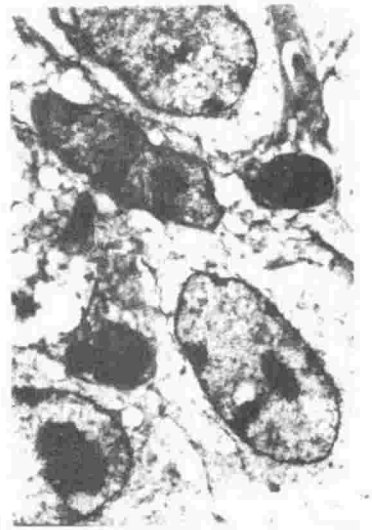


图6 常染色质(×4800)
Fig. 6 Euchromain (×4800)

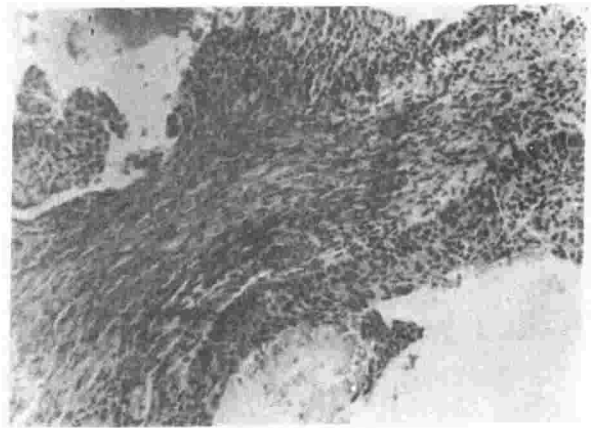


图7 HPV 阴性的宫颈癌图像 HE染色(×40)

Fig. 7 The feature of cervical carcinoma with no HPV infection HE (×40)

表6 病理形态与核酸杂交技术判断 HPV 型别的比较
Table 6 Detecting HPV type by the pathology and Southern blot

		核酸杂交诊断 HPV 型别 Southern blot HPV type							
		+							
		16	X ₁	R	11/6	31	33	-	
病理形态学诊断 HPV 型别 Dathology HPV type	+	16	14	0	0	0	0	0	3
	X ₁	0	1	0	0	0	0	0	1
	R	3	1	5	0	0	0	0	1
	11/6	0	0	0	3	0	0	0	0
	31	0	0	0	0	0	0	0	0
	33	0	0	0	0	0	1	0	0
-		1	0	3	0	2	1	37	

$\chi^2 = 15.58; P < 0.001$

3 讨论

3.1 HPV 感染与宫颈癌的关系

宫颈癌的病因至今尚未阐明。目前认为, 宫颈癌的发生是多因素作用所致^[3]。近年来的研究已证实, HPV 感染在宫颈癌的发生发展过程中起着极为重要的作用^[4,5]。我们应用 Southern blot 核酸分子杂交对宫颈癌组织中 DNA 进行 HPV 检测分析, 发现 43.75% 的宫颈癌组织和 45.45% 的宫颈非典型增生组织中 HPV 阳性, 同时也发现 80% 宫颈湿疣中 HPV 阳性, 而正常宫颈组织中则无一例阳性, 这与目前国内研究的结果相一致。^[6]1982年 Zur Hausen^[7]提出 HPV 感染与启动子协同作用致癌的假设, 提出 HPV 感染宫颈引起湿疣在启动子的协同作用可进一步演变成间变、原位癌最终导致浸润癌。本组研究 HPV 阳性从湿疣→间变→癌症均出现 HPV 阳性, 足以说明广西地区相当部分宫颈癌的发生与 HPV 感染有关。

至于在本研究组中, 宫颈癌组织和宫颈非典型增生组织中 HPV 检出率阳性分别为 43.3% 和 45.4%, 与国内其它报告^[8]相比不尽相同, 其可能与实验方法不同有关^[9,10]; 与地理位置、HPV 传染的传播程度不同有关^[11]。

迄今为止, HPV 已鉴定出至少 60 余个型别, 但与宫颈癌发病有关的主要是 HPV16 相关型别。从本组的型别分布来看, 主要是 16 型 (51.41%) 和 R 型 (22.86%), 目前许多学者研究的结果揭示^[12], HPV16 和 18 属“高度危险”的型别, 含有这两种型别的宫颈上皮内瘤相当部分转变为宫颈癌; 而 6 型和 11 型则属“低度危险”的型别, 其发生癌变的机会相对较小。本组病例中有 22.86% 的 R 型即未定型的 HPV, 这更值得进一步深入研究。

3.2 HPV 感染与宫颈癌形态学的关系

近年来人们的研究已注意到 HPV 感染不仅与宫颈癌有关而且与其组织型别有关^[13]。从本组资料来看, HPV 阳性者全部为鳞癌, 无一例腺癌, 显示明显的差异, 与 Tase 等^[14]的研究结果相一致。本组有腺癌 6 例, 其中 2 例检测为 HPV R 型, 已有研究报道, 腺癌中 HPV18 型的检出率达 40% 以上^[14,15]。本组的腺癌 HPV 阳性是否为 HPV18 型有待进一步确定。

本研究提示, 不同型别的 HPV 感染的宫颈癌组织其病理形态特征有所不同, 机制尚未清楚, 可能与不同型别 HPV 具有不同的生物学特性有关。

观察 HPV 16 型和 R 型感染的宫颈癌组织的病理学形态, 发现癌细胞分化差, 异型性明显, 缺乏挖

空细胞, 核染色质凝集成团。电镜观察也揭示癌细胞分化差的超微结构。其在光镜下的核染色质凝集成团, 电镜下主要是核内有大量的异染色质; 而 R 型胞浆模糊在电镜下则可见核有大量的常染色质。同时, 在癌细胞核内常可见染色质之间颗粒, 染色质周围颗粒和致密基质团块。

我们还观察到 HPV11/6 型阳性的宫颈癌组织细胞, 其癌细胞具有典型的乳头瘤病毒感染特征, 挖空细胞多见。在电镜下显示核比较小, 核周空泡明显, 胞质有大量的透明区, 在病变的发展过程中随病变的发展, 病毒颗粒的大量组装, 核周的胞质逐步出现透明区而基质团块逐渐减少, 体积缩小, 病变晚期核内充满大量 HPV, 核周形成很大透明区, 其中仅剩少量的基质团块。因此胞质透明区可能是由于基质团块的耗尽形成, 这种细胞与光镜下所见的挖空细胞相当。

在所观察的宫颈癌细胞中仅在少数可见胞浆中观察到病毒颗粒, 这是否与病毒在线粒体中繁殖, 在标本进行制作中线粒体破坏, 病毒颗粒 DNA 释放到胞浆有关, 尚需观察更多的病例来证实。而大多数则未发现 HPV 病毒颗粒, 这可能是由于致癌病毒基因整合入宿主细胞 DNA, 引起细胞癌变后, 完整病毒不能复制, 这一结果与国内外一些作者的设想相一致^[16]。

对于未检出 HPV 的晚期宫颈癌, 有学者^[8]设想由于大量的癌细胞变性、坏死, 癌细胞不能整合 HPV DNA, 甚至丧失它, 从我们观察到的结果来看, HPV 阴性的宫颈癌, 其形态学特征为角化缺如, 癌细胞较少或退化, 间质细胞相对较多, 这一特征符合上述改变。

参考文献

- 1 Lorincz AT, Temple GF, Kurman RJ et al. Oncogenic association of specific human papillomavirus types with cervical neoplasia. *J Natl cancer Inst* 1987, 79: 671~676.
- 2 Lin y c et al. Cloning of Chinese HPV 16 DNA and new HPV 16 (cHPVX₁) sequence obtained from Patients with cervical cancer in China. 1st international Beijing. 1988, P₁.
- 3 廖彩森等. 宫颈癌流行因素调查分析——306 对配对调查, *中华肿瘤杂志* 修稿特刊. 1984.
- 4 Syrjanen K et al. Natural history of cervical human papillomavirus (HPV) infection based on prospective follow-up. *Br J obstet gynecol* 1985, 92: 1086.
- 5 Sihneidez A et al. Papillomavirus infection of the lower genital tract: Detection of virus DNA in gynecological swabs. *Int J cancer* 1985, 35: 443.
- 6 World Health Organization. *Gytological screening in the Guangxi Sciences*, Vol. 1 No. 4, November 1994

- control of cervical cancer: Technical guidelines Geneva. World Health Organization, 1988.
- 7 Zur Hansen H. Papillomaviruses in anogenital cancer as a model to understand the role of viruses in human cancer. *Cancer Res*, 1989, 44: 4677.
 - 8 吴爱如, 孙建衡, 章文华等. 山西襄垣宫颈癌高发妇女生殖道乳头瘤病毒感染与宫颈癌的关系. *中华肿瘤杂志*, 1992, 14: 239.
 - 9 张志胜等. 应用生物素标记人乳头瘤病毒 DNA 探针进行原位杂交的研究. *中华妇产科杂志*, 1992, 27: 298.
 - 10 Reeves WC et al. Epidemiology of genital papillomaviruses and cervical. *Rew infect dis*. 1989, 11: 426.
 - 11 周有尚. 宫颈癌. 北京: 人民卫生出版社, 1980.
 - 12 陈丽荣. 人乳头瘤病毒与宫颈癌关系研究近况. *国外医学 妇产科分册*, 1990, 17: 262
 - 13 Sharonp et al. Human papillomaviruses and cervical cancer: Analysis of histopathologic features associated with different viral types. *Hum pathology*. 1988, 19: 697.
 - 14 Tase T et al. Human papillomavirus types and location in adenocarcinomas and adenosquamous carcinoma of the uterine cervix: A study by in situ DNA hybridization. *Cancer Res*, 1988, 48: 993.
 - 15 Okagak J et al. Histogenesis of cervical adenocarcinoma with reference to HPV 18 as a carcinogen. *Obstet gynecol*. 1989, 34: 639.
 - 16 李 昆等. 人宫颈癌与人乳头瘤病毒关系的超微结构与病毒基因分子检测的对比研究. *电子显微学报*. 1988, 7: 105.

(责任编辑: 蒋汉明)

(上接第41页 Continue from page 41)

果表明 CuSO₄ 筛选法和微量 Hct 法无法反映献血员的 Hb 浓度及贮存铁的多少。SF 是目前认为反映体内贮存铁最敏感、最精确的指标之一。定期检测献血员的 SF 可作为监护献血员铁状况和防治铁缺乏症的一种有效方法。

Skikne^[7]认为, 献血员每年献血1~2 L, 每日必须额外补充1.2~2.4 mg 铁剂来维持体内铁的平衡, 否则将发生程度不同的铁缺乏症。口服铁剂对献血员的防治作用已为许多学者所证实。Gordeuk^[2]以99名女献血员进行口服铁剂试验, 结果铁剂组铁缺乏症患病率为21%, 而对照组为81%。我们曾对251名男、女献血员进行口服葡萄糖酸亚铁试验, 结果服铁剂组的 Hb 及 SF 显著高于对照组, 铁缺乏症患病率显著低于对照组, 常规量铁剂组铁缺乏症患病率为10.9%~32.4%, 而对照组铁缺乏症患病率为58.1%~83.8%^[8], 这些结果说明献血员补充铁剂能提高体内贮存铁水平及血红蛋白水平, 降低铁缺乏症患病率。我们认为, 对于每年献血3~4次以上的职业献血员, 在排除特发性血色病、地中海贫血的情况下, 定期补

充适当的铁剂是适宜的。

参考文献

- 1 Milman-N et al. Iron stores in female blood donors evaluated by serum ferritin. *Blut* 1985, 51 (5): 337.
- 2 Gordeuk V R et al. Prevention of iron deficiency with Carbonyl iron in female blood donors. *Transfusion*, 1990, 30: 239.
- 3 杨道理等. 献血员血清铁蛋白含量的初步观察. *中华血液学杂志*, 1987, 8: 97.
- 4 高景龙等. 献血者血清铁蛋白浓度测定的意义. *中国输血杂志*, 1989, 2: 10.
- 5 Jaime JC et al. Iron stores in remunerated blood donors as evaluated by plasma ferritin levels. *Transfusion*, 1988, 28: 62.
- 6 Gordeuk VK et al. Carbonyl iron for short-term supplementation in female blood donors. *Transfusion*, 1987, 27 (1): 80.
- 7 Skikne B et al. Iron and blood donation. *Clinic in Haematology*, 1984, 13: 271.
- 8 卢玉英等. 葡萄糖酸亚铁对献血员铁营养状况的研究. *中华内科杂志*, 1993, 32 (6): 412.

(责任编辑: 蒋汉明 梁积全)