

免疫酶标(ELISA)法检测宫颈癌妇女 阴道分泌物中HSV抗体的研究

陈文凯 程丽 郭淑芳 向近敏

(湖北医学院病毒研究所、武汉)

提 要

应用免疫酶标ELISA法检测宫颈癌阴道分泌物中HSV抗体，其阳性率为85.7%，HSV-2抗体滴度的几何均值为57.98、与非宫颈癌组妇女比较，阳性率及抗体滴度的几何均值均存在显著差异，提示宫颈癌患者生殖道HSV的高感染率。

单纯疱疹病毒(HSV)是妇女生殖道常见的感染病毒之一，无论是HSV-2或HSV-1都能感染宫颈引起炎症，甚至导致宫颈癌的可能发生。国内外多方面的资料以及本实验室过去所进行的宫颈癌高、低发区妇女血清抗HSV-2抗体的调查^[1]，均提示宫颈癌与HSV-2有一定的关联，而关于宫颈癌患者阴道分泌物中HSV抗体的资料尚不多见，为此，我们应用免疫酶标技术对宫颈癌患者阴道分泌物中HSV抗体进行了检测，现将结果报告如下。

材料与方法

一、标本的收集 宫颈癌妇女阴道分泌物及对照妇女阴道分泌物标本均采自湖医二院肿瘤妇科门诊病例，癌组标本35份，均为宫颈癌患者，对照组标本36份，为妇科一般检查者，标本以无菌棉拭子采取，放入装有1ml无菌PBS试管中，然后加橡皮塞置-20℃冰箱保存备用。

二、抗原制备 以Nahmias^[2]介绍的ELISA EHSV抗原制备步骤略加简化，用标准疱疹病毒株(HSV-1⁺株和HSV-2⁺株)感染Hep-2细胞，当细胞病变达75%以上后，倾去培养瓶中的大部分培养液，用橡皮帚将细胞刮于剩余的培养液内，将各培养瓶中的细胞悬液并入离心管内，以1500r/m离心15分钟，去掉上清液，用无菌PBS洗细胞团一次，再离心，倒掉PBS缓冲液保留细胞团，加少许PBS置-40℃冰箱反复冻融5次，再以2500r/m离心15分钟，取上清液作为抗原保存备用，HSV-1和HSV-2及对照细胞抗原均如上法同时处理。

本稿1986年元月27日收到

三、实验方法 按ELISA间接法的一般操作步骤, 取已制备好的HSV-1和HSV-2抗原及未感染病毒的对照细胞抗原液, 分别用pH9.6碳酸缓冲液稀释, 用紫外分光光度计分别测定蛋白量, 使其蛋白浓度为 $100\mu\text{g}/\text{ml}$, 包被聚苯乙烯微量反应板, 置冰箱过夜, 倒空包被液, 用pH7.4 Tween-20 PBS液洗涤三次, 每次5分钟。

加1:10开始倍比稀释的分泌物标本于各孔, 每孔 0.2ml , 37°C 2小时, 倒空洗三次。

加辣根过氧化物酶标记的羊抗人IgG(北京生物所产、工作浓度1:100) 37°C 孵育2小时, 如上法倒空洗三次。

以新鲜配制的底物显色液(O.P.D) 0.2ml 显色, 于测酶分光光度计492nm测各孔的吸收值, 试验用已知阳性、阴性人血清及结合物作对照, 用HSV-1及HSV-2各孔测得的吸收值分别减去细胞抗原对照的吸收值, 余数乘以1000后数值 ≥ 100 为滴度终点^[3]。

结 果

宫颈癌妇女阴道分泌物标本35份, 非癌妇女阴道分泌物标本36份, 共计71份, 两组标本均采自40岁以上成年妇女, 癌组HSV抗体阳性为85.7%, 对照组HSV抗体阳性为19.4%, 由于HSV两型存在共同抗原基因, 实验中使用的抗原系全病毒抗原所测得的抗体, 即有HSV-1抗体亦有HSV-2抗体, 癌组中同时测得有两种抗体滴度的为80%, 根据Rawls^[4]的指数计算公式确定HSV-2抗体阳性为65.7%, 对照组同时有两种抗体滴度的为16.6%, 经指数换算确定HSV-2阳性为14.0%, 两组分泌物中HSV抗体阳性结果如表1。

表1 两组分泌物中HSV抗体阳性结果
Fig 1 Positive results of HSV antibodies two groups' secretions

组别	标本数	HSV-1与HSV-2滴度相当	HSV-1>HSV-2	HSV-2>HSV-1	HSV-1 HSV-2<1:10
癌组	35	17	12	1	5
对照组	36	4	3	0	29

表2 两组抗体水平的几何均值
Fig 2 Geometric titers of HSV antibody levels in two groups

组别	例数	病毒抗原	抗体滴度的倒数									抗体滴度几何均值
			<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	
癌组	35	HSV-1	5	1	3	2	6	7	1	3	7	97.50
		HSV-2	7	1	3	4	5	4	2	3	6	57.98
对照组	36	HSV-1	29		2	1	3	1				2.17
		HSV-2	30		1	2	3					1.92

表1结果提示宫颈癌组HSV抗体阳性高于对照组四倍以上, 宫颈癌组HSV-2抗体阳性较对照组同样高出四倍。

就两组抗体滴度的几何均值而言，宫颈癌组同样显著高于对照组，而各组内HSV-1和HSV-2抗体滴度的几何均数相互之间并无显著性差异，两组HSV抗体水平的几何均数如表2。

讨 论

宫颈癌的病毒病学研究已有多方面的资料指出HSV-2与宫颈癌有关系，我们检测宫颈癌妇女和非癌妇女阴道分泌物中HSV-2抗体水平的比较，其结果与血清流行病学的资料相似，HSV-2抗体在宫颈癌妇女阴道分泌物中阳性率及抗体滴度的几何均数均显著高于非癌妇女组，同样显示出HSV-2在宫颈癌的发病中可能起作用。

同时，我们的实验结果还表明HSV-1的抗体滴度的几何均值及阳性率在癌组和非癌组之间也存在显著差异，因此，HSV-2与宫颈癌的关联仅只是原因之一，而不是唯一的因素。日本学者高桥^[5]报告在日本甚至亚洲HSV-1与宫颈癌的关系可能密切，Nahmias^[2]在疱疹病毒与宫颈癌关系的报告中指出，不仅HSV-2是转化和致癌病毒，HSV-1同样可以感染宫颈，HSV-1或HSV-2原发感染都有可能导致宫颈癌的可能性。新的研究报告指出，HSV-1与HSV-2对宫颈癌具有类似的相关性。

有关宫颈癌的病毒病因，在未得到明确的定论之前还有待深入地研究，据报道，其它病毒如巨细胞病毒和乳头瘤病毒也可能起作用，这是研究宫颈癌病毒病因的一个新动向。

参 考 文 献

- (1) 向近敏等, 1982, 中华肿瘤杂志 4(1): 23—25.
- (2) Nahmias et al., 1984, 第二届全国病毒学讲习班医学病毒学讲义, 湖北医学院病毒研究所编印。
- (3) Seymour Halbert, 1977, *J Infect Dis* 136: 8318—8323.
- (4) Rawls W.E. et al., 1970, *J Immune* 104: 599.
- (5) 高桥, 1976, 日本临床 34: 160.

A STUDY ON HSV ANTIBODY IN VAGINAL SECRETION FROM WOMEN WITH CERVICAL CANCER BY ELISA METHOD

Chen Wen-kai et al

(Virus Research Institute, Hubei Medical college, Wuhan)

The ELISA method was applied to assay HSV antibody in vaginal secretions from women with and without cervical cancer. The prevalence (85.7%) and geometric titers (57.98) of HSV-2 antibody in vaginal secretions from those with cervical cancer were significantly higher.

The results indicated that the cervical cancer might be related to a high incidence of HSV-2 infection.