维普资讯 http://www.cqvip.com

空泡细胞在诊断宫颈人乳头瘤病毒感染中的意义

孟祥金* 孙 瑜 张有新
李新志 刘知慧 陈敏诲
（湖北医学院病毒研究所，武汉）
李 昆 韩日才 司静一
（中国医学科学院基础所，北京）
曾维坤 胡伦颖
（湖北医学院附属二院妇产科，武汉）

提 要

本文对空泡细胞（Koilocyte）的形态进行了光镜和电镜观察，并应用分子杂交技术和PAP染色的方法对宫颈疾患中人乳头瘤病毒（HPV）DNA和抗原进行了检测，分析HPV DNA及抗原检测结果与空泡细胞出现的关系发现，空泡细胞阳性的病例中HPV DNA及抗原的检出率较低，并且部分空泡细胞阳性的病例中也可测出疱疹病毒Ⅱ型（HSV_2）抗原，结果提示：空泡细胞并不是HPV感染所特有的，空泡细胞作为诊断宫颈HPV感染的特征性指标值得怀疑。

关键词：空泡细胞，人乳头瘤病毒，疱疹病毒Ⅱ型，分子杂交，PAP染色

人乳头瘤病毒乃乳多泡病毒科（Papoviridae）的重要成员，属DNA肿瘤病毒，已知它能引起皮肤和粘膜的多种疣和良性肿瘤，近年来发现，HPV感染引起的宫颈湿疣有发展成宫颈癌的可能，因此已引起了人们的普遍重视。但由于一些临床及病理工作者对宫颈HPV感染的诊断标准认识不足，致使本病的误诊率较高[1]。目前宫颈HPV感染的诊断主要依靠细胞学、组织病理学和阴道镜指标，其中细胞学上出现的空泡细胞被认为是HPV感染的特征，是诊断HPV感染的标志[2]。为探讨空泡细胞在诊断宫颈HPV感染中的价值，我们检测了一系列临床宫颈疾患中HPV DNA和抗原，并将检测结果与空泡细胞出现的关系进行了分析和讨论。

材料与方法

一．标本选择 阴道镜活检标本取自巴氏涂片Ⅱ级以上的病人，活检组织分为两份：一份

本文于1987年11月19日收到
*现址：山东医学科学院、基础医学研究所，济南

维普资讯 http://www.cqvip.com

—70℃保存，提取 DNA 进行 HPV 分子杂交；另一份 10% 福尔马林固定，常规组织学切片，进行 H-E 染色及 PAP 染色。

二、空泡细胞的诊断 石腊切片常规 H-E 染色后，按 Meisels 的标准诊断空泡细胞[3,4] 并同时进行病理诊断。

三、电镜观察 选择部分病例 3.8% 戊二醛固定，系列丙酮脱水，Epon-812 包埋，LKB-3 超薄切片机切片，铅和铀双染后 JEOL-2000 EX 电镜观察。

四、HPV 分子杂交 HPV 16,18,11 DNA 系中国医学科学院李昆、司静一教授提供。每个病毒 DNA 分别在体外通过缺口翻译用 α—^{32}P—dCTP 进行标记[5]，探针的比活为 10^7～10^8cpm/μg DNA。提取宫颈疾患组织 DNA[6]，按每点 2.5μg 的量将样本 DNA 点在预处理过的硝酸纤维膜上（北京化工学校附属工厂），同时分别用 0.4ng 的病毒 DNA 和鲑精子 DNA 作阳性和阴性对照，杂交温度为 68℃[7]。

五、HPV 抗原 PAP 染色 HPV PAP kit 购自丹麦 DAKO 公司，染色过程按药盒说明书进行，同时设阳性和阴性对照。

六、HSV_2 抗原 PAP 染色 基本参照 Sternberger[8] 的方法：组织切片常规脱腊后，3% H_2O_2＋甲醇阻断内源性过氧化物酶，3%BSA＋1%正常羊血清吸附 20分钟后，依次加入一抗（兔抗HSV_2 333 株，系用 HSV_2 333 株免疫家兔所得，双扩效价 1：32）、二抗（羊抗兔 IgG）及 PAP 复合物（丹麦 DAKO 公司产品），DAB 显色适中时，水冲洗终止反应，甘油封片，光镜检查。同时用 HSV_2 333 株感染的 Hep-2 细胞及正常 Hep-2 细胞分别做阳性和阴性对照。

结　果

一、空泡细胞的形态：

光镜下空泡细胞主要见于宫颈上皮的中、表层。大小似正常的中、表层细胞或稍大，核浓染致密，染色质颗粒增粗，偶见双核或多核，核周有许多空泡，形成围绕核的一个“晕”（图 1）。电镜下，空泡细胞的核内可见核小体及染色体周围颗粒，胞浆线粒体肿胀融合、糖元缺失溶解，形成光镜下的核周空泡（图 2），在所检标本的空泡细胞内未发现病毒颗粒。

二、宫颈疾患中空泡细胞的出现频率，见表 1。

表1　宫颈疾患中空泡细胞的检出率

Table 1. Occurrence of koilocyte in cervical lesions

Diagnosis	Cases	Positive No. of koilocyte(%)
Chronic cervicitis	22	0(0)
Cervical dysplasia	18	13(72)
Cervical carcinoma	61	10(16)

从表 1 中可见空泡细胞主要见于宫颈不典型增生中，癌组织中空泡细胞阳性的病例多为早期浸润癌或分化好的鳞癌。

维普资讯 http://www.cqvip.com

三、HPV DNA 杂交与空泡细胞的关系(表 2)：

结果表明，HPV DNA 主要存在于癌变组织中，而空泡细胞则多见于宫颈不典型增生病例；空泡细胞中 HPV DNA 的检出率较低(图 3)。

表2 宫颈疾患中HPV杂交与空泡细胞的关系

Table 2. Correlation of koilocyte with HPV hybridization in cervical lesions

Diagnosis	Tested No.	Pos. No. of koilocyte	Pos. No. of HPV DNA	Pos. No. of both HPV DNA and koilocyte
Chronic cervicitis	13	0	4	0
Cervical dysplasia	12	9	2	1
Cervical carcinoma	40	9	17	4

四、HPV 和 HSV_2 抗原检测与空泡细胞的关系：

HPV 抗原 PAP 染色阳性反应主要见于宫颈不典型增生上皮中、表层的空泡细胞核内(图 4)，同一切片中并非所有的空泡细胞均为抗原阳性。HSV_2 抗原阳性反应见于细胞浆，细胞膜或核膜，棕色颗粒多聚集在胞质向基底面的一侧(图 5)。11例空泡细胞阳性的宫颈不典型增生中仅有 4 例同时也测到了 HPV 抗原，并在有不典型增生的 12 例空泡细胞中也有 6 例测到了 HSV_2 抗原(表 3)。

表3 宫颈疾患中HPV和HSV—2 抗原检测与空泡细胞的关系

Table 3. Correlation of koilocyte with the detection of HPV and HSV—2 antigens in cervical lesions

Sample sources	HPV		HSV—2	
	cases	Ag/KC*	cases	Ag/KC
Cervicitis	19	0	17	0
Cervical dysplasia	16	4/11	16	6/12
Cervical carcinoma	48	1/8	42	6/10

*Ag=antigen; KC=koilocyte

讨 论

空泡细胞又称“气球样细胞”(balloon cells)。“晕轮细胞”(halo cells)[3]、“凹空细胞”(empty cells)[9]等，早在 1933年 Papanicolaou 曾对妇女阴道涂片中的细胞有过类似描述，其后 Ayre 及 koss 等[9]均注意到此种细胞，但对这种细胞的局部解剖来源和本质却不清楚。直到 1966 年在 Papanicolaou 的图片集中才第一次阐明了空泡细胞与宫颈湿疣有关，以后 Naib 等也查出脱落的空泡细胞即宫颈湿疣的表层细胞[10]，并且 Dunn[11]和 Casas-Cordero[12] 分别用电镜在宫颈湿疣的空泡细胞中观察到了 HPV 颗粒，

维普资讯 http://www.cqvip.com

因而认为空泡细胞是HPV感染的细胞病理效应，在HPV感染的诊断以及研究其致癌作用方面起重要作用。

本实验中，我们发现空泡细胞主要存在于宫颈不典型增生上皮的中、表层，其特征是"核周晕"的出现，这与Casas-Cordero和Dunn的结果一致。Dunn等曾描写道："空泡细胞有一不含胞浆细胞器的核周透明带"（Perinuclear zone free from cytoplasmic organells），但我们发现，光镜下空泡细胞的核周透明区，电镜下乃糖元缺失、溶解及线粒体肿胀融合所致，而非完全不存在细胞器。但我们在空泡细胞内未发现HPV颗粒，这可能与检测例数较少有关。

一般认为，DNA肿瘤病毒感染细胞后可产生两种结果：（1）病毒在细胞中繁殖，产生细胞病变，细胞死亡，新形成的病毒颗粒释放。（2）病毒基因组整合于宿主细胞基因组中，致细胞发生恶性转化。因此，在病毒繁殖的细胞中可查出HPV抗原，而在整合的细胞中应存在HPV DNA。本实验的结果表明，在空泡细胞阳性的病例中HPV DNA的检出率极低（表2），相反癌组织中却有较高百分率的HPV DNA，这似乎符合以上两种结果。但是，HPV抗原在空泡细胞阳性的病例中的检出率也不高，并且在同一阳性切片上也并非所有的空泡细胞均为抗原阳性，原因可能是：（1）检测的抗原是HPV的衣壳蛋白，很可能在病理改变（空泡细胞）出现时该蛋白还未合成；因病毒在复制周期中合成的"早期蛋白"可阻止细胞的正常生物合成，所以细胞病变可发生在感染性病毒生

图2　空泡细胞的电镜形态，可见核周透明区，其内散在糖元颗粒，染色质浓缩，边集于核膜（EM，X5，2000）

Fig 2　Koilocyte under Electronic Microscope. There are some glycogen granules in the perinuclear clearing, the nuclei reveal a slight degree of chromatin condensation, the margination of chromatin can bee seen (EM, X5, 2000)

维普资讯 http://www.cqvip.com

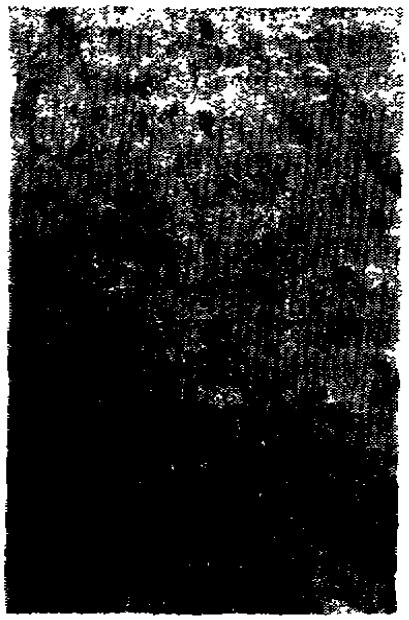

图 1　带有空泡细胞的宫颈不典型增生病例．空泡细胞主要位于宫颈上皮的中表层，核致密，可见双核，核周有一晕（HE，X200）

Fig 1　Cervical dysplasia with koilocyte. koilocytes are present in the superficial and intermediate layers of the cervical epithelium, nuclei are condensed, and have a "halo" surrounded the nuclei, occasionally can see a koilocyte with binucleate (HE, X200)

图 3　HPV 16 DNA 探针与宫颈疾患 DNA 杂交放射自显影图。阳性对照（大箭头）：HPV16 DNA，0.4ng；阴性对照（小箭头）：0.4ng 鲑精子 DNA

Fig 3　Autoradiography of hybridisation of DNA from cervical lesions with (^{32}p)—labelled HPV 16 DNA probe. Positive control (large arrows): 0.4ng HPV16 DNA, negative control (small arrow): 0.4ng salmon sperm DNA.

成之前，(2) 也可能是病毒在繁殖过程中抗原的周期性表达所致。尽管有以上原因使空泡细胞中 HPV 抗原检出率不高，但空泡细胞作为 HPV 感染的特有标志仍需进一步商榷。因为本实验中，我们在空泡细胞阳性的病例中也检测到了 HSV_2 抗原（表3），并且还有资料表明[13]，其他生物或理化因素如阴道滴虫感染也可发生类似空泡细胞的变化，所以空泡细胞作为诊断 HPV 感染的特征性指标值得怀疑；对于宫颈 HPV 感染的诊断除细胞学上的空泡细胞外，还应结合组织病理学、阴道镜等指标来综合分析。

维普资讯 http://www.cqvip.com

图4 宫颈不典型增生中 HPV 抗原免疫过氧化物酶定位．抗原阳性细胞位于宫颈上皮的表层，HPV 抗原位于大小、形态不一的变性的空泡细胞核内，部分核不着色（未负染，PAP，X200）．

Fig 4 Immunoperoxidase location of HPV antigens in a cervical dysplasia, Antigens-positive cells are present in the upper strata of cervical epithelium, virus antigens are localized in degenerative nuclei of varying sizes and shapes, and some nuclei do not stain (no counterstain, PAP, X200)

图5 宫颈不典型增生中 HSV_2 抗原 PAP 染色．阳性反应位于胞浆．胞膜和核膜，棕色颗粒常聚集在胞质向基底面的一侧（苏木精负染，PAP，X200）

Fig 5 PAP staining of HSV_2 antigens in a cervical dysplasia, positive reaction are present in cytoplasma, cell membrane and nuclei membrane, brown granules aggregate in the region that are near bacis side. (counterstain with Hematoxylin, PAP, X200)

参 考 文 献

〔1〕 Bernstein, S.G.et al.,1985.*Am.J.Obstet.Gynecol.*151(5). 577.
〔2〕 孟祥金，1988，国外医学妇产科分册，1：17
〔3〕 Meisels,A.et al.,1976,*Acta.Cytol.*20：505.
〔4〕 Meisels,A.et al. 1977,*Acta.Cytol.*21：379.
〔5〕 Rigby,P.W.J.et al.1977.*J.Mol.Biol.*113：237.
〔6〕 Giesmann,L.et al.1982,*Int.J.Cancer.*29：143.
〔7〕 Crum,C.P.et al.1984.*N.Engl.J.Med.*310：880.
〔8〕 Sternberger,L.A.et al.1970.*J.Histochem Cytochem.*18(5)：315.
〔9〕 Koss,A.G.et al.1956.*Ann.N.Y.Acad.Sci.*63：1245.
〔10〕 Naib.Z.N.et al.1961.*Obstet.Gynecol.*18：735.
〔11〕 Dunn,A.E.G.et al 1963.*J.Ultrastruct.Res.*22：282.
〔12〕 Casas Cordero,M.et al.1981.*Acta.Cytol.*25(4)：383
〔13〕 Zur Hausen,H.et al.1982.*Lancet.*I：1370.

维普资讯 http://www.cqvip.com

Significance of Koilocyte in the Diagnosis of Human Papillomavirus Infection of Cervix

Meng Xiang-jin Sun Yu Zhang You-xin Lee Xin-zhi
Liu Zhi-hui Chen Min-hui
(*Virus Research Institute, Hubei Medical College, Wuhan*)
Lee kun Han Ree-cai Ser Jing-yi
(*Institute of basic Medical Science, Chinese Academy of Medical Science, Beijing*)
Zeng Wei-kun Hu Lun-ying
(*NO. 2 affiliated Hospital of Hubei Medical College, Wuhan*)

The morphology of koilocyte was observed by light and electronic microscopes, a series of clinical cervical lesions were studied in the presence of human papilloma virus (HPV) DNA and antigens by molecular hybridization and PAP staining method. Having analysed the correlation of the detection of HPV DNA and antigens with the occurence of koilocyte, we found that the detection of HPV DNA and antigens was relative lower in the positive cases of koilocyte, and some lesions with koilocyte can also be used to detect herpes simplex virus-2 (HSV-2) antigens. The results showed that koilocytes were not caused only by HPV infection, thus koilocyte as a characteristic index in the diagnosis of the HPV infection of cervix is worth of suspecting.

Key Words: Koilocyte, Human papillomavirus, Herpes simplex virus-2, PAP staining, Molecular hybridization