

11-15

1998(2)

第7卷第1期
1998年3月中国病毒学
VIROLOGICA SINICAVol.7 No.1
Mar, 1998人精浆、厌氧菌培养液在 HSV-2
诱导宫颈癌中的作用*孙瑜 刘朝奇[△] 鲁德银

(湖北医学院病毒研究所, 武汉430071)

曾毅 ✓

(中国预防医学科学院病毒所, 北京100052)

R737.330.3

提 要

- 本实验应用 HSV-2 诱导小鼠宫颈癌的动物模型, 发现人精浆或厌氧菌培养液只引起宫颈上皮轻度增生, 二者混合 (SB) 不仅可致宫颈癌 (11.5%), 而且使 HSV-2 诱癌率从 23.1% 提高到 50%, 同时发现 SB 具有抑制机体细胞免疫功能的作用, 抑制 ConA 刺激的淋巴细胞转化及 NK 细胞的活性。上述结果提示 SB 具有促癌作用, 因而也讨论了 SB 促癌的可能机制。

关键词: 人精液 厌氧杆菌培养液 细胞免疫 宫颈癌

HSV-2

大量流行病学研究表明宫颈癌与早婚、早育、多个性配偶、社会经济状况及性传播因子感染等因素有关^[1]。人精液和阴道厌氧菌是存在于已婚妇女宫颈周围并对宫颈上皮产生经常性刺激的因子。为了探讨上述因素与宫颈癌发生的关系, 进行了以下实验。

材 料 和 方 法

- 一、动物: 昆明种杂交雌性小白鼠、体重 20~23 克, 购回后观察 1 周无异常后用于实验。
 - 二、病毒: 单纯疱疹病毒 II 型 (HSV-2) 333 株, 其处理方法见文献^[1]。
 - 三、人精浆和厌氧菌培养液: 收集门诊化验室精液, 其制备过程如下: 18000r/m 离心 1 小时, 取上清备用。同时, 取宫颈癌病人宫颈部棉拭子作厌氧菌培养, 分离阳性菌株, 纯化培养, 蔡氏滤器除菌, 滤液供实验使用。
 - 四、动物分组及处理: 随机分为六组。
- A 组 (Hep-2 细胞+PBS): 用小块明胶海绵吸收未接种的 Hep-2 细胞悬液 0.1ml, 置小鼠阴

本文于 1990 年 8 月 17 日收到, 1991 年 6 月 4 日修回

* 国家自然科学基金资助项目

△ 宜昌医专微生物室

道直抵宫颈,每周2次共8周,8周后用PBS代替悬液上处理8周。以下各组均同A组处理的时间和方式。

B组: PBS+厌氧菌培养液(B)组。

C组: PBS+人精浆(S)组。

D组: PBS+人精浆和厌氧菌培养液(SB)组,两者按1:1(V/V)混合后用于实验。

E组: HSV-2+PBS组。

F组: HSV-2+SB组。

五、病理学检查: 实验6个月后,眼球采血,折颈处死小鼠,取完整生殖道,10%福尔马林固定,石蜡包埋,间断连续切片,HE染色光镜检查。

六、外周血酸性 α -萘酚酯酶(ANAE)测定: 其方法见文献^[3]。

七、自然杀伤细胞(NK细胞)活性测定: 处死小鼠同时,部分小鼠无菌取脾,制备脾细胞,艾氏腹水癌作为靶细胞,方法见^[4,5]。

八、脾淋巴细胞转化实验: 方法见文献^[6]。

结 果

光镜检查发现A组(Hep-2细胞+PBS)、B组(PBS+B)、C组(PBS+S)未发现癌,只有上皮细胞的轻度增生或不典型增生。D组10/26为不典型增生同时有3例原位癌(图1)、E、F两组癌发病率较高有原位癌、早期浸润癌及腺癌(图2、3、4)。E组肿瘤细胞分化高,F组细胞呈低分化的鳞状细胞癌或腺样癌。有小细胞癌巢向间质浸润(图4)。各组癌发生率经 χ^2 检验,E组(23.1%)、F组(50%)与A组(0%)相比呈高度显著性差异($P<0.005$)。F组和E组相比有显著性差异($P<0.05$)。

细胞免疫功能测定发现人精浆和SB均可降低小鼠酸性非特异性酯酶(ANAE)活性染色阳性率。而厌氧菌培养液未发现明显降低(表II)、NK细胞活性用光镜观察的粘瘤指数和胎盼兰比色法测OD值结果是一致的,SB降低NK细胞活性。³H-TdR法测定的淋巴细胞转化率CPm值和SI是平行的,SB可抑制淋巴细胞的转化作用(表3)。

讨 论

本实验发现人精浆和厌氧菌培养液单独作用于小鼠,不能引起宫颈癌,当二者合用时,有少量宫颈癌发生,而SB与HSV-2一起作用于小鼠,可使HSV-2癌发生率从23.1%提高到50%。这些结果表明人精浆和厌氧菌培养液具有明显促癌作用。Tokuda⁽⁹⁾等人也发现部分人精浆提高甲基胆蒽诱导小鼠皮肤乳头瘤的发生率。与本实验结果一致。

另外本实验发现人精浆作用于小鼠宫颈局部可引起机体免疫功能的降低,表现为: 1. 淋巴细胞ANAE阳性百分率下降; 2. NK细胞活性受抑; 3. 淋巴细胞转化率降低。Valley⁽¹⁰⁾等人曾发现人精浆可分离两种蛋白峰,其中有些蛋白可在体外抑制NK细胞活性; Marcus⁽¹¹⁾等人也发现人精浆体外抑制NK细胞活性和淋巴细胞的转化作用。

这种免疫抑制可能有利于肿瘤的发生和发展。

本实验从实验角度直接证实人宫颈某些环境因素(HSV-2、人精浆和厌氧菌培养液)与宫颈癌发生发展关系密切。这些结果提示对于临床上病毒、细菌性宫颈炎应早期防治及采取有效的避孕措施防止精液对宫颈经常性的刺激,这些措施对宫颈癌的预防和性传播因子阻断有重要的社会意义。

表1 人精浆、厌氧杆菌培养液和 HSV-2 感染小鼠宫颈局部组织学诊断

Table 1. Histological diagnosis in mice exposed with seminal plasma, culture fluids of anaerobic bacteria and HSV-2

分组 Group	小鼠数 No. of mice	不典型增生 dysplasia	原位癌 cervical carcinoma in situ	早期浸润癌 early invasive carcinoma	癌发生率(%) rate of tumor* (%)
A (Hep-2+PBS)	28	0	0	0	0
B (PBS+B)	23	6	0	0	0
C (PBS+C)	19	4	0	0	0
D (PBS+BS)	26	10	3	0	12
E (HSV-2+PBS)	39	12	7	2	23
F (HSV-2+BS)	38	7	17	2	50

* χ^2 检验 E、F与A、F与D及F组E组均有显著性差异

* E, F vis A, $P < 0.005$; F vis E, $P < 0.05$; (χ^2 test)

表2 小鼠外周血淋巴细胞 ANAE 阳性率

Table 2. ANAE positive percentage of mice peripheral blood lymphocyte.

组别 Group	检测例数 Number	阳性百分率 Positive percentage (%)	P 值 P value*
A	20	66.5±10.9	
B	17	53.8±10.8	<0.05
C	19	36.5±12.7	<0.001
D	19	41.2±11.9	<0.001

* B、C、D与A组相比之t检验

* B, C, D vis A; (T test)

表3 小鼠脾细胞NK细胞活性及淋巴细胞转化率比较

Table 3. Comparative activation of NK cell with transforming rate of lymphocyte of mice spleen

组别 Group	例数 case	NK 细胞活性		淋巴细胞转化率	
		钻瘤率(%) activation of NK cell invasion rate(%)	OD值 OD value	SI S.I.	cpm cpm
A	6	12.7±0.74	0.153±0.005	23.03±1.88	9712.7±547.3
D	12	9.2±0.35	0.080±0.004	7.99±0.55	3717.7±200.4

注: D、A两组相比t检验均有显著性差异

Note: D, vis A, there is significant differentiation. (T test)

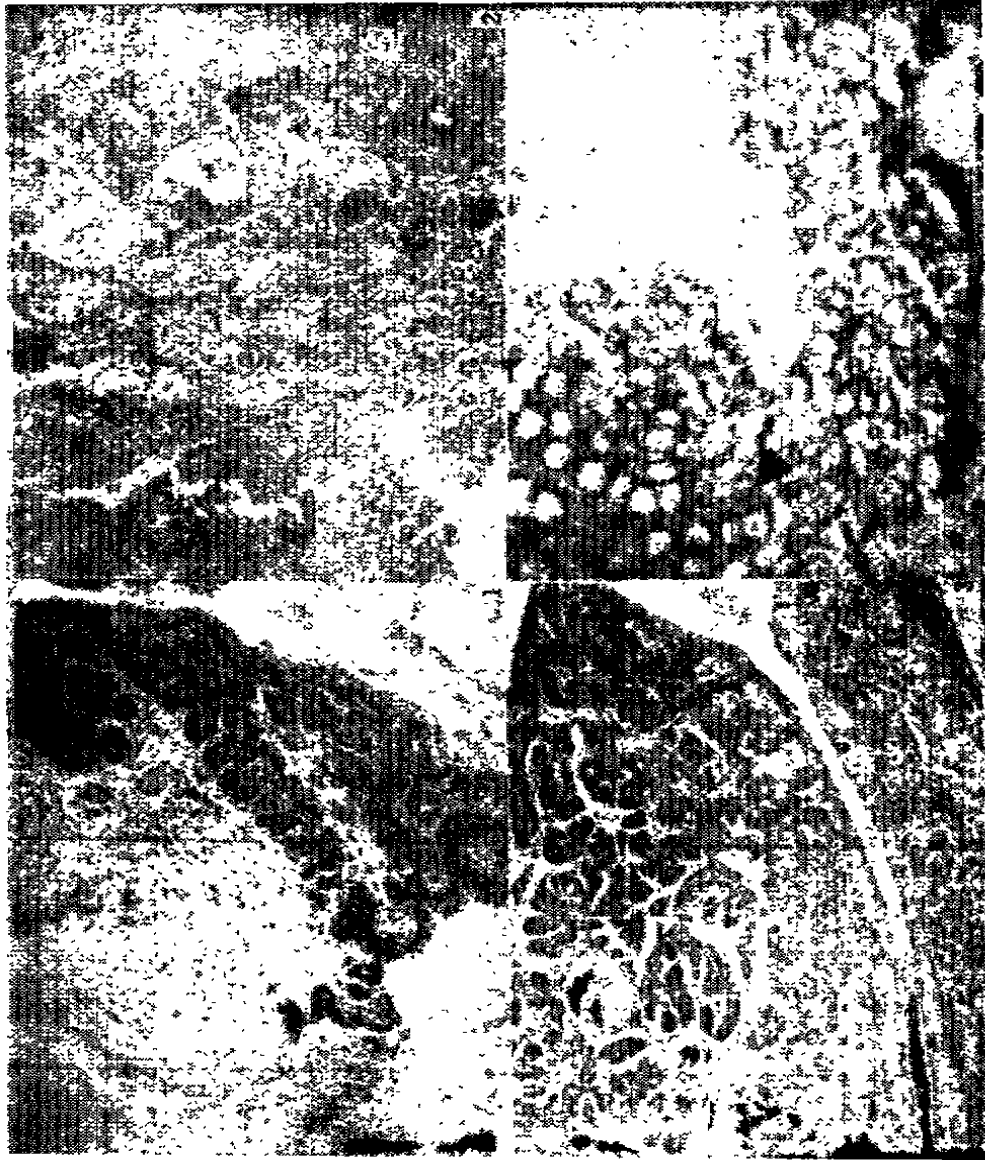


图1 SB组: 宫颈鳞状细胞原位癌×100

Fig 1. Group SB: Cervical squamous carcinoma in situ(×100)

图2 HSV-2+SB组: 宫颈鳞腺癌×100

Fig 2. Group HSV-2+SB: Cervical adeno-squamous carcinoma(×100)

图3 HSV-2组: 宫颈高分化鳞状细胞早期浸润癌×100

Fig 3. Group HSV-2: Cervical high-differentiation early invasive squamous carcinoma(×100)

图4 HSV-2+SB组: 宫颈鳞状细胞早期浸润癌×200

Fig 4. Group HSV-2+SB: Cervical early invasive squamous carcinoma (×200)

参 考 文 献

- [1] Reid, BC et al., 1985, *Clin Obstet Gynecol*(London) 12: 1.
 [2] Wentz, WD et al., 1981, *Cancer*, 48: 1783.
 [3] 姜世勃, 1983, 上海免疫学杂志, 3(4): 254.
 [4] 李钢等, 1985, 免疫学杂志, 1(1): 37.
 [5] 王立等, 1988, 山东医科大学报26(1): 21.
 [6] 陶义训等, 1986, 临床免疫检验, 上册, 第86页。上海科技出版社。
 [7] 孙 喻等, 1990, 中华肿瘤杂志, 12(6): 401.
 [8] Zen Y. et al., 1985, *Cancer letter*, 28: 311.
 [9] Tokuda H. et al., 1987, *Int. J. Cancer*, 40: 554.
 [10] Vallely P, et al., 1988, *Immunol*, 63: 451.
 [11] Marcus ZH, et al., 1978, *Immunol. Immunopathol.* 9: 318.

Effect of Human Semen and Anaerobic Bacteria Culture Fluid on Induction of Cervical Carcinoma in mice

Sun Yu Liu Zhao-qi Lu De-yin

(Virus Research Institute, Hubei Medical College, Wuhan, 430071)

Zhen Yi

(Institute of Virology, Chinese Academy of Prevention Medical Science, Beijing)

Co-carcinogenesis of seminal plasma(S), culture fluid of anaerobic bacteria (B) and Herpes Simplex Virus type 2(HSV-2) induced cervical carcinoma in mice were studied. The results showed that there were slight displasia in single seminal Plasma(S) group or culture fluid of anaerobic bacteria group, cervical carcinoma could be induced by SB with an induction rate of 11.5%, 23.1% of the carcinoma rate in HSV-2 group and 50.0% of the rate in HSV-2+SB group. The experimental results indicated that SB was both carcinogenic and tumor promoting. The possible mechanism of the action of SB was discussed.

Key words, Seminal plasma Anaerobic Bacteria Cellular Im-
mune Cervical Carcinoma