

人类病毒性肿瘤——传染性软疣动物 实验感染及人皮肤病变的病理组织学 和组织化学研究

洪 濤

(中国医学科学院病毒学系病理形态组, 北京)

传染性软疣 (Molluscum Contagiosum) 为人类皮肤的病毒性赘瘤, 生长于人体的任何皮肤表面, 通常多見于面部和頸部。患者主要为儿童和青年。典型的病灶是在皮肤表面生出如高粱粒或豌豆粒大的突起的瘤结节, 其表面有蜡样的光泽, 中央呈脐型凹陷, 挤压之, 则从凹陷处排出乳酪样物, 内含大量病毒, 成为传染的源泉 (图 1 A, B)。

此病虽然不招致生命危险, 但由于其传染性极大, 每每在幼儿园和浴室等公共场所造成广泛流行。得病后不易自愈, 而且往往因自家感染而遍及全身, 造成搔痒或继发感染, 影响患者的健康。

虽然本病原的形状、大小、滤过性、在人类传播的可能性以及包涵体的形成等方面, 已被大家所公认^[1-14], 但在动物实验方面的资料却有許多不一致之处。而且, 至今尚沒有一种敏感的动物, 这就給实验研究形成了障碍, 使该病的病因学迟迟不得发展。

为了寻求敏感的实验动物, 我們在前人的实验基础上进行了探索, 并对本病毒所致的人类皮肤病变的组织学和组织化学, 作了比較观察。

一、实验方法

(一) 病毒材料

所用的接种材料为传染性软疣病人的瘤组织, 共 10 例。分別由罗马尼亚 Colentina, Bercen 和北京天坛医院提供。病人年龄在 6—21 岁之間。将所取的瘤组织在 4℃ 条件下制成 1:10 的生理盐水或蒸馏水悬液, 經常规的抗菌素处理后, 低速离心 5—10 分钟或在 4℃ 条件下任其自行沉淀, 然后取上清液作为接种材料。一般都在材料制备后立即进行实验接种。

本实验中所用的对照材料为人的包皮组织, 按上述方法制备成接种液。

(二) 动物接种方法

1. 鸡胚絨毛尿囊膜接种

在 7 次实验里, 每次均取 9—10 天的鸡胚 20 个, 其中 16 个用来接种瘤组织上清液, 4 个作对照接种。

用牙钻齿輪在无菌条件下将鸡卵之气室处打开 1.5×1.5 厘米的接种窗, 去掉卵壳后, 用极細的鑷子輕輕將壳膜去掉, 使絨毛尿囊膜得到暴露。然后将不同稀释度的肿瘤上清液滴在暴露的絨毛尿囊膜

上,并用消毒的盖玻片以石蜡封闭之,放 37°C 温箱孵育。

2. 家兔睾丸内接种

将来自 3 例病人的瘤组织制备,分别地进行了 3 次试验。所用动物为 3—4 个月的雄兔,接种量为 0.3 毫升。

3. 乳兔脑内接种

在 3 次实验里,所用的接种材料与睾丸内接种相同,每次用乳兔 10 只。乳兔体重在 250—300 克之間,每只接种 0.05 毫升。

4. 兔表皮内接种

所用接种材料同上。在 2 次实验里,各用兔 12 只(5 只成年兔,7 只幼兔)。将兔之腰部皮肤去毛,清洗和消毒,用极细的结核菌素注射器轻轻刺入表皮,然后将接种液注入,使表皮形成透明水泡。

为了提高宿主对病毒的敏感性,分别在 30 只脑内和表皮内接种的乳兔里应用了肾上腺皮质激素(cortisone),剂量为 5 毫克/公斤。

二、实验结果

鸡胚绒毛尿囊膜接种 于接种后第 5—10 天間出現少量(2—5 个)乳白色、平均直径約 2—4 毫米的圆形贅生物(图 3 A)。将同一批材料所产生的贅生物取下,混合研磨,制成悬液并进行了連續传代。在 7 例中的 3 例,于第 2—3 代即不能見到病变;另外 2 例分別传了 5 代和 6 代。在传代过程中病变有逐渐减弱的趋向。其余 2 例进行了盲目传代,3 次連續盲目传代后因无病变出現而放弃实验。

将有病变的绒毛尿囊膜进行了病理組織学检查。显微镜下发现,贅生物所在处的绒毛尿囊膜外胚层上皮細胞有严重的增生现象;增生的細胞可达到二十几层之多。个别部位的增生細胞呈不规则样生长,向中胚层深入而形成細胞島。

值得特別指出的是,在增生的外胚层上皮細胞的胞浆内有大小不等的、嗜伊紅性包涵体样形成物(图 3 C)。此种形成物的外周往往繞以明亮的暈,頗似人类病变的病毒包涵体。

中胚层組織細胞也有增生现象,但水肿比增生更为明显。有时除水肿以外还发现少量单核細胞(淋巴球)的浸潤。

将此种绒毛尿囊膜制成提純标本,在电鏡下找到了与皮肤病变所見完全相同的病毒小体(图 3 B)。

在对照的绒毛尿囊膜中,偶尔也可見到外胚层增生的情况,但这种增生并不形成贅生物,組織学检查也未見到細胞浸潤及包涵体样形成物。

睾丸内接种 动物于接种后第 3 天,往往出現睾丸肿胀和輕度充血。第 4 天,将接种侧之睾丸行外科摘除,进行連續传代和病理組織学检查。在前 2 代的睾丸組織切片上,发现白膜增厚并常有輕度淋巴球和单核球的浸潤。在細精管周围,除了充血外,还有严重的間質性炎,浸潤的細胞以淋巴球为主。

兔表皮内接种 接种后于 12 小时內局部发炎,輕度肿胀。此后,炎症反应逐渐消退。在接种的 18 只兔子里(14 只幼兔,4 只成年兔),于接种后第 5—6 日,接种部位出現丘疹样凸起(大約为 4×4 毫米)。这种丘疹并不伴随炎症反应,維持 3—4 天后开始退縮,表面結痂,并于 2 周內全部脫落而愈合。

皮肤病变分别于接种后的第 5、6、7 天取下,进行了病理组织学检查,结果发现:上皮细胞呈明显的增生状态。在注射部位,细胞的增生为不规则性,并往往形成细胞岛。在增生的上皮细胞内经常可以找到大小不一的嗜伊红性包涵体样形成物。有时在 1 个上皮细胞内可有 7—8 个包涵体样形成物同时存在(图 4 B)。在真皮层除了偶尔可见 3—5 个单核细胞团之外,别无特殊发现。

在 5 只兔的对照试验里,结果全部阴性。在连续传代中从第 3 代起,既不能得到上皮细胞的增生,又未得到包涵体。经 3 次盲目传代后,放弃实验。

兔脑内接种 部分动物于接种后 24—48 小时有嗜眠和精神不振表现。动物于接种后第 4—7 天时杀死,取其脑进行连续传代和病理组织学检查。各例均盲目传代 3 次。在所有的传代动物里均无明显的临床症状可见。

经病理组织学检查,发现有 70% 的兔子(第 1 代的 30 只中的 21 只),脑膜有轻度充血,脉络丛有出血和炎性反应。此种反应有时呈结节样浸润。浸润也可在第 3 脑室室管膜上发现。

值得指出的是,在丘脑基底部脑实质内,出现严重的细胞变性;神经原细胞的胞浆内往往有囊样结构出现,胞浆被囊样物占据,胞核偏向一边。在某些不见囊样物的胞浆内,有时也可见到与囊样结构内容相似的物质,使细胞变形。在囊样物的内部,有时可找到 2—4 微米大小的嗜伊红性小体,看来似乎是受到严重破坏的细胞染色质残余。囊样结构的内容显现十分清楚的颗粒,很象是原生小体(图 4 A)。

人皮肤病灶的病理组织学和组织化学观察* 将摘取的 2 例传染性软疣病灶,分别放到 Bouin 氏,福尔马林和 Carnoy 氏固定液内固定,按常规石蜡包埋方法包埋并切成薄片。然后分别用 Mann 氏、苏木精-伊红、Feulgen 氏、Brachet 氏以及吖啶黄等染色法进行染色。

我们的观察结果与以前许多作者的观察基本上相符,在皮肤的病灶上可见上皮细胞有着特殊的病理变化,在基底部(感染的早期),细胞较小,其结构尚可清楚地辨认,此时 Feulgen 氏染色(DNA)开始出现阳性反应。随着个体细胞感染的時間延长,越是靠近表面的上皮细胞,病理变化越是明显,Feulgen 氏反应也逐渐加强而 Brachet 氏(RNA)反应则按相反方向逐渐减弱。这表明,病毒感染的早期,细胞内 RNA 的量较多,而在感染的晚期,即相应的病毒成熟期,则 DNA 较多。

吖啶黄荧光染色结果,进一步证明了以上的组织化学染色结果。

在 Mann 氏和苏木精-伊红染色的切片上,见到早期感染的胞浆内基质变化;由开始的小范围,扩展到整个胞浆。此时胞浆体积增大,并出现由许多小束分隔的“小房间”,每个“小房间”又被无数的病毒颗粒所充满。整个胞浆基质最终变成了囊状的病毒包涵体。随着包涵体的扩大,细胞核的变化也日趋明显,核变得固缩并被挤向边缘或甚至完全消失(图 2B)。

三、讨 论

Findlay (1930), Goodpasture 和 Woodruff (1931) 等曾试图将人的传染性软疣传给

* 此实验由张礼璧大夫、郁文芳同志帮助进行。

实验动物均未成功,从而认为此病只能在人类中传播。以后, Ota 和 Huang (1934) 报告, 病毒在兔子睾丸内引起炎性病变。Malplestone 和 Panja (1939) 用过滤或非过滤的制备兔脑内接种, 得到了神经组织的病变。然而, 多年来所有这些结果未曾得到其他研究者的证明, 对这些结果有保留的看法。

在我们的实验里, 虽然获得了某些看来似乎是有希望的结果, 例如在鸡胚绒毛尿囊膜上, 产生了可连续传 5—6 代的贅生物; 在家兔皮内接种, 产生了丘疹样凸起; 组织切片检查, 发现上皮细胞的严重增生和胞浆内包涵体的出现; 脑内接种第 1 代的家兔, 神经原细胞浆内囊样物的形成等等。但是, 与以往的研究者一样, 却不能达到预期的目的, 即得不到适应动物宿主的传染性软疣病毒。

从现有的人类或动物病毒的特性看来, 一般都有不同程度的变异, 或适应各种不同宿主的能力。然而, 无论以往的研究或我们自己的实验结果都说明, 传染性软疣病毒对异种宿主的适应性是极小的。它在人体里, 虽然表现出极高的传染力, 而在动物体内, 甚至用最年幼的动物或借助通常能促进许多病毒适应的肾上腺皮质激素的处理, 都不能产生任何预期结果。这可能因为动物体内有某种抵抗传染性软疣病毒的因素(如干扰素, properdine 之类)阻止病毒的繁殖, 而这种因素又不受动物年龄或肾上腺皮质激素的影响。初接种时, 可能因病毒尚具有较高的毒力而引致组织的各种病理变化或甚至病毒本身亦有所繁殖, 但在以后的传代过程中, 病毒因受到以上所述的或不明的因素的抑制, 毒力逐渐减退而丧失感染力, 使连续传代不能成功。

今后的研究, 一方面应利用各种不同的组织培养方法, 另一方面可采用各种激素或物理因素以提高动物对传染性软疣的敏感性, 使病毒最终得以适应。

四、总 结

作者利用各种方法(包括肾上腺皮质激素处理)试图使人的传染性软疣病毒适应于实验动物均未成功。在鸡胚绒毛尿囊膜上只能获得 6 次连续传代。在接种的鸡胚绒毛尿囊膜上以及家兔皮肤上产生不能长期传代的贅生物, 这些贅生物系由高度增生的上皮细胞所组成, 在增生的细胞之胞浆内往往可见到类似于人传染性软疣的嗜伊红性包涵体。在脑内接种的第 1 代家兔的神经原细胞浆里发现有颗粒性囊样形成物。作者讨论了这些病变的产生与病毒接种的关系以及该病毒不能适应于实验动物的可能原因。

人的传染性软疣病灶的病理组织学和组织化学观察结果, 证明了病毒包涵体在感染的细胞内的形成过程以及与病毒发育相对应的 RNA 和 DNA 的转变过程。

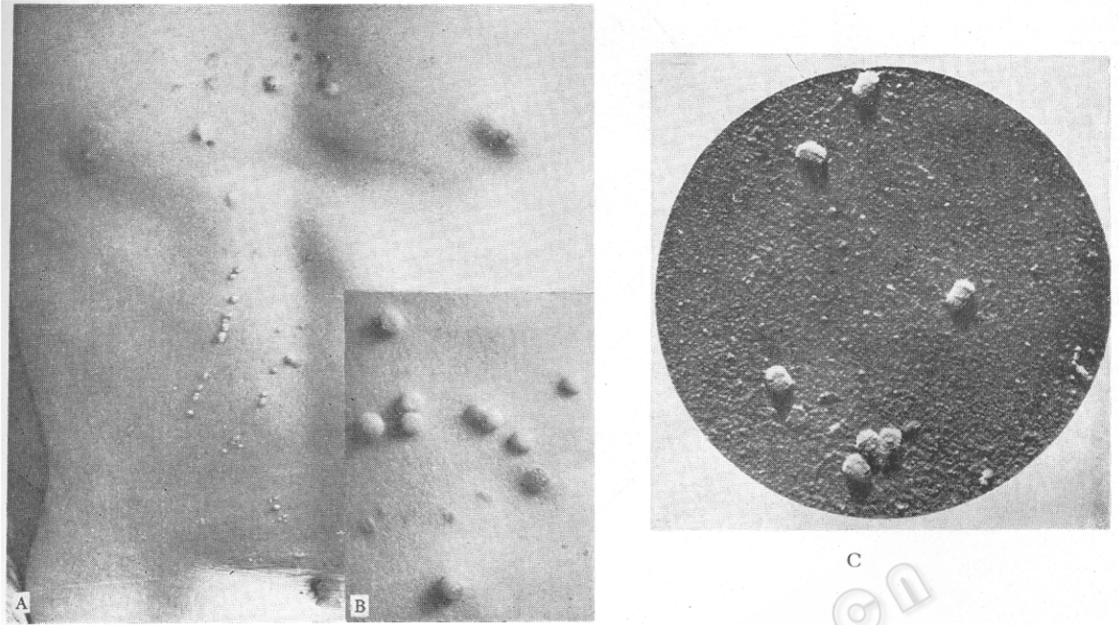


图 1 A. 一位 21 岁患者胸腹部传染性软疣；
B. 一位 9 岁儿童颈背部传染性软疣，注意皮损中央脐样凹陷；
C. 传染性软疣病毒的电镜显微相片，金-铂合金喷镀， $\times 15,000$ 。

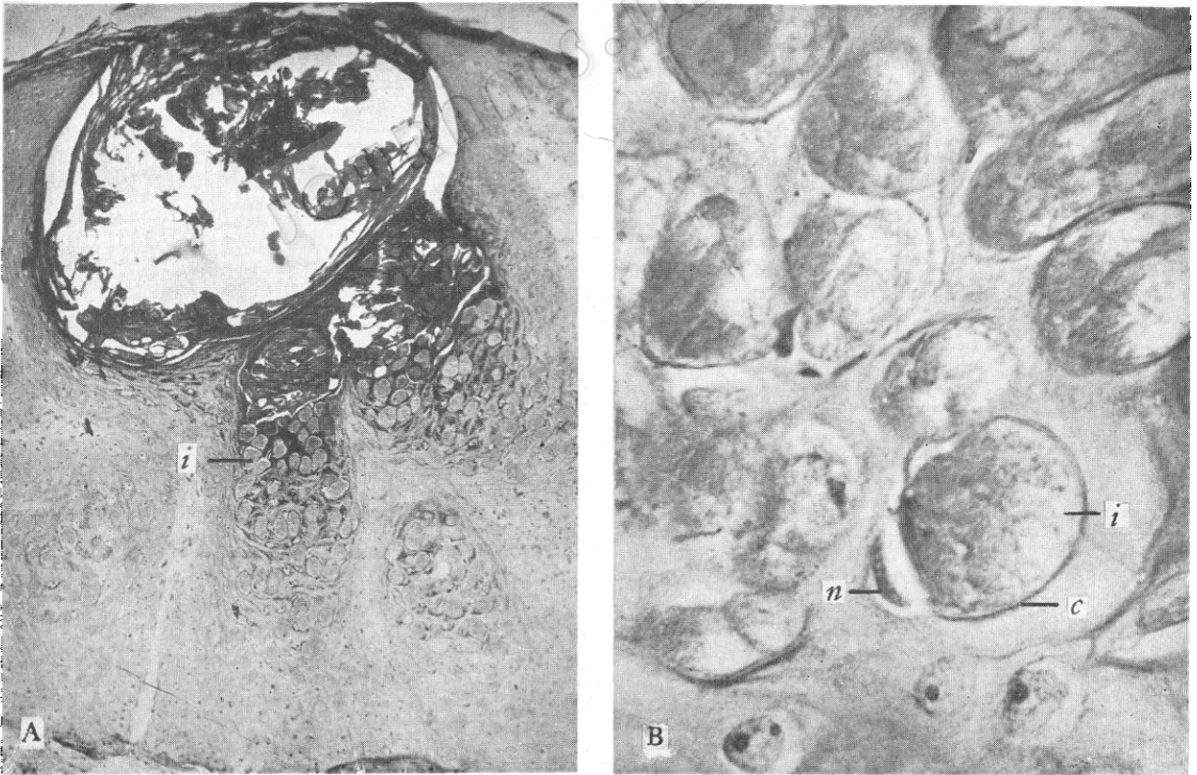
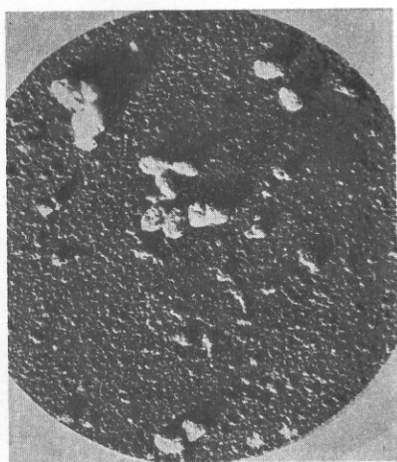


图 2 A. 人传染性软疣的组织切片。Mann 氏染色， $\times 120$ ，
注意包涵体自下而上的发展情况；
B. 同 A， $\times 2000$ ，
注意包涵体内分成小的间隔，细胞核被挤向边缘。
i. 包涵体； *c.* 包涵体包膜； *n.* 退化的细胞核。



A

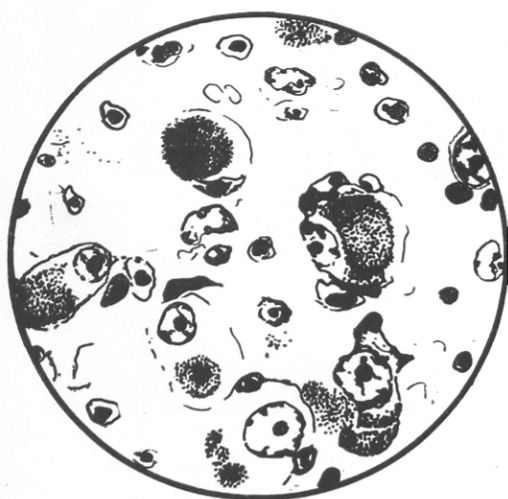


B

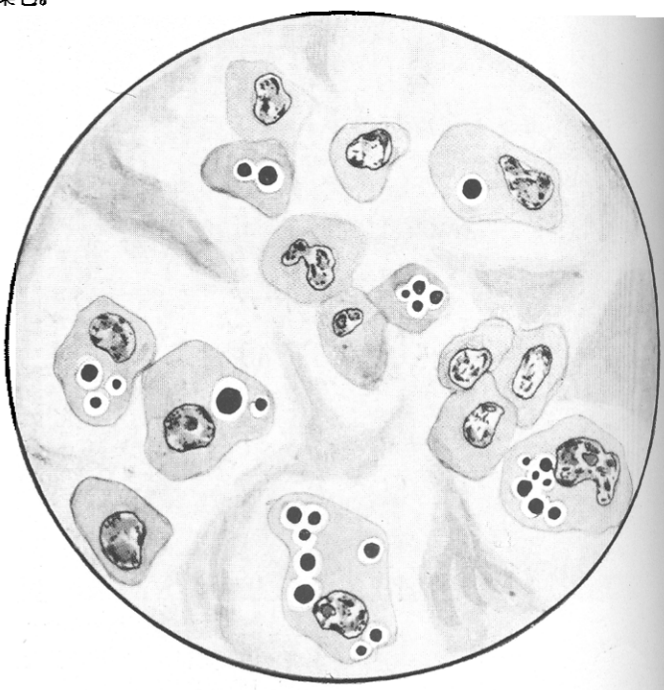


C

图3 A. 經传染性軟疣感染后第7天的絨毛尿囊膜上生成贅瘤(原大);
B. 絨毛尿囊膜經提純制备所得的典型传染性軟疣病毒, 金-鉑噴鍍, $\times 15,000$;
C. 經传染性軟疣感染后第7天的鸡胚絨毛尿囊膜, 在增生的外胚层細胞內有許多嗜伊紅性包涵体样形成物, Mann 氏染色。



A



B

图4 A. 传染性軟疣感染后第7天的家兔腦切片, 神經原細胞內形成囊样物;

B. 传染性軟疣感染后第6天的家兔皮肤切片

参 考 文 献

- [1] Henderson, W.: *Edinb. med. Surg., J.*, 56:213, 1841.
- [2] Juliusberg, M.: *Dtsch. med. Wschr.*, 31:1598, 1905.
- [3] Lipschütz, B.: *Arch. Derm. Syph., Wien*, 107:387, 1911.
- [4] Findlay, G. M.: *Med. Res. Council, A system of Bact.* 7:248, 1930.
- [5] Goodpasture, E. W., Woodruff, O. E.: *Amer. J. Path.*, 7:1, 1931.
- [6] Ota, M., Huang, P. Y.: *Derm. Wschr.*, 99:1077, 1934.
- [7] Mescon, H. et al.: *J. Path. Bact.* 46:425, 1938.
- [8] Van Royen, C. E.: *J. Path. Bact.*, 46:425, 1938.
- [9] Van Royen, C. E.: *J. Path. Bact.*, 49:345, 1939.
- [10] Malplestone, P. A., Panja, D.: *Indian J. med. Res.*, 27:91, 1939.
- [11] Ruske, H., Kausche, G. A.: *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.*, 150:311, 1943.
- [12] Boswell, F. W.: *Brit. J. exp. Path.*, 28:253, 1947.
- [13] Banfield, W. G., et al.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 77:843, 1951.
- [14] Melnick, J. L., et al.: *Ann. New York Acad. Sci.*, 54:869, 1952.

EXPERIMENTAL INFECTION AND HISTOPATHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL STUDIES OF A HUMAN VIRAL TUMOR—MOLLUSCUM CONTAGIOSUM

HUNG TAO

(Department of Virology, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking)

Attempts to adapt the virus of Molluscum Contagiosum to laboratory animals with various methods including cortisone treatment was unsuccessful.

Nevertheless, histopathological studies of the virus—inoculated tissues showed the following interesting phenomena: proliferation and infiltration of the epidermal cells of both inoculated chorio-allantoic membrane and inoculated rabbit skin as well as the formation of inclusion bodies in them. After intracerebral inoculation of rabbits with the virus, cyst-like inclusions in the cytoplasm of neurons were also noted.

The causes of unsuccessful adaptation of the virus to laboratory animals but with appearance of certain histopathological changes in some of them were discussed.

Histopathological and histochemical studies of the lesions of human Molluscum Contagiosum, confirmed the process of gradual formation of inclusion bodies and the dynamical changes of RNA and DNA in the epidermal cells.