DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.03.007

explants and its concertrations are affected by the crush of the optic nerve[J]. Amino Acids, 1998, 15(3): 195—209.

[2] Militante J D, Lombandini J B. Effect of taurine in Chelerythrine inhibition if calcium uptake and ATPase activity in the rat retina[J]. Biochem Pharmacol, 1998, 55(5): 557—565.

[3] Baylor D. How photons start vision[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(2): 560—565.

[4] Matthews H R, Cornwall M C, Fain G L. Persistent activation of transducin by bleached rhodopsin in salamander rods [J]. J Gen Physiol, 1996, 108(6): 557—563.

[5] Fain G L, Matthews H R, Cornwall M C. Dark adaptation in vertebrate photoreceptors[J]. TINS, 1996, 19(11): 502—507.

[6] Calvert P D, Ho T W, Lefebvre Y W, *et al*. Onset of feedback reactions underlying vertebrate rod photoreceptor light adaptation[J]. J Gen Physiol, 1998, 111(1): 39—51.

[7] Militante J D, Lombardini J B. Pharmacological characterization of the effects of taurine on calcium uptake in the rat retina[J]. Amino Acids, 1998, 15(1—2): 99—108.

(编辑 薛国文)

文章编号:1000-5404(2000)03-0219-01

经验与短篇

聚合酶链反应及斑点杂交技术对外耳道尖锐湿疣的病因学研究

A study on viral etiology of condyloma acuminata in external auditory canal with GP-PCR and dot blotting hybridization

牟忠林[1], 刘兆华[2], 郭华阳[1], 姬长友[2], 周来新 (第三军医大学:[1]医学检验系临床生物化学教研室, 重庆 400038;[2]第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所耳鼻咽喉科, 重庆 400042)

尖锐湿疣(Condyloma acuminata, CA)由人乳头瘤病毒(Human Papillomavirus, HPV)感染引起, 尽管近年来的发病率明显升高, 但是发生于外耳道者罕见。研究外耳道CA的病因, 对于减少传播、控制复发具有重要意义。

1 临床资料

男性患者, 40岁, 因右耳痛痒1月伴少量出血1 d入院。1月前在街头地摊上掏耳后常感耳内痒, 自己掏挖, 轻微疼痛, 近来挖耳后少许出血。查:右外耳道前壁见一新生物, 乳头状突起, 质软, 周围少许干血痂。否认冶游史, 无外生殖器CA。活检:鳞状上皮乳头状瘤。于1994年9月29日在局麻加强化下行"右外耳道新生物切除加植皮术", 切除瘤组织, 并凿除外耳道前上壁部分骨质后植皮。鼓膜完整, 标志清楚。病理报告为"尖锐湿疣", 1周后出院。随访4年无复发, 外耳道无狭窄。

DNA的制备:将石蜡切片放入0.5 ml的Eppendorff管中, 二甲苯脱蜡, 95%乙醇冲洗, 真空抽干, 然后加入100 μl消化缓冲液(50 mmol/L Tris 1 mmol/L EDTA, 0.5%吐温20, 蛋白酶K 200 μg/ml, pH 8.5), 55°C孵育3 h, 此消化液即作为PCR所需样品DNA。

按地高辛标记试剂盒说明标记寡聚核苷酸探针, 参照文献[1]行PCR, 参照文献[2]行斑点杂交。

2 结果

鳞状上皮呈乳头状或疣状增生, 表皮脚增宽延长, 角质层增生并角化不全, 棘层和基底层明显增生肥厚, 在表皮中层或表层见有群集或灶性的凹空细胞, 真皮层毛细血管扩张及中等量慢性炎细胞浸润。取病例组织DNA用通用引物作PCR扩增, 电泳, 出现约450 bp条带者为阳性, 然后将扩增产物分别用地高辛配基标记的HPV6、HPV11、HPV16和HPV18型特异性寡聚核苷酸探针进行斑点杂交分型, 结果为HPV6。

3 讨论

本病应与外耳道乳头状瘤鉴别。常见的外耳道乳头状瘤无感染时, 不流血性液体, 检查外耳道干燥, 肿物色棕黄而坚实, 表面干燥而无湿润感, 多发生于外耳道外段软骨部。确诊主要依赖病理组织学检查和免疫组化技术, 分型则依据PCR、转印杂交或斑点杂交结果。我们使用的地高辛配基标记核酸探针技术克服了同位素半衰期短, 需放射性防护等缺点, 保持了较高的特异性和敏感性, 操作简便, 并且标记的探针可以反复使用。本研究斑点杂交结果与PCR扩增产物的电泳分析相同, 均为HPV6型, 与文献[3]报道的HPV6/11型是尖锐湿疣的主要病原体一致。

关键词 外耳道尖锐湿疣;聚合酶链反应;斑点杂交
中图法分类号 R764.1 文献标识码 B

参考文献

[1] 郭华阳, 李文维, 谭 骏, 等. 聚合酶链反应及转印杂交对尖锐湿疣复发的病因学研究[J]. 中华皮肤科杂志, 1995, 28(3): 155—157.

[2] 蔡文琴, 王伯汀云主编. 实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术[M]. 成都:四川科学技术出版社, 1994. 479—582.

[3] 沈克慧, 王望梅, 际 球, 等. 尖锐湿疣新鲜组织HPV的聚合酶链反应与斑点杂交比较的研究[J]. 中华皮肤科杂志, 1995, 28(3): 173—174.

(编辑 汪勤俭)

作者简介:牟忠林(1967.1), 男, 湖北省松滋市人, 博士研究生, 主治医师, 讲师, 主要从事内淋巴积水方面的研究。电话:(023)68757630

收稿日期:1998-10-30, 修回日期:1999-07-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net