

乳腺癌凝集素受体的特异性及意义的探讨

郑 忠 吉重敏

(病理解剖学教研室)

提 要 本文用8种凝集素对100例乳腺癌及56例非癌乳腺进行了亲合组化研究,发现 *Bandeiraea Simplicifolia* (BSL)、花生素(PNA)在乳腺癌阳性率高(75%、73.7%),主要为胞浆内定位,在正常乳腺和乳腺良性病变阳性率低,主要为乳腺小导管和腺泡的腔面定位($P < 0.005$)。作者认为花生素受体(PNA-R)在乳腺癌胞浆内的表达可能与肿瘤的免疫逃避有关。对正常乳腺的对比分析表明,PNA亲合组化对认识乳腺分化过程中糖基代谢的变化和乳腺癌的组织发生学有一定帮助。

关键词 乳腺 乳腺癌 凝集素受体

近年来,乳腺癌凝集素亲合组化的研究进展较快。^[1~5]但在筛选对乳腺癌有特异性的糖基分子探针上,采用多种凝集素进行研究刚刚开始,不少结果不一致,方法也多限于荧光法^[4,6]。国内报道则更少。特别是凝集素受体在人胚胎发育过程中的表达情况,国内外尚未见报道。本文试浅探这些问题。

材 料 与 方 法

本文收集了本教研室近年存档石蜡包埋的

乳腺癌标本100例,按WHO(1982年)组织学分型,包括单纯癌32例,硬癌9例,不典型髓样癌10例,腺癌12例,浸润性导管癌(导管内为主型)13例,髓样癌7例,导管内癌8例,小叶原位癌、鳞癌及癌肉瘤各2例,乳腺派杰氏病、腺鳞癌、大汗腺癌各1例。对照组为乳腺良性病变35例,胚胎中晚期乳腺8例、生后正常乳腺13例。

本文所用8种生物素化凝集素(表1)、ABC试剂均为美国Vector公司产品。

表1 八种生物素化凝集素、糖基特异性及工作浓度

凝集素(Lectins)	简称	特异性糖基	工作浓度
花生素(Peanut agglutinin)	PNA	D-半乳糖 D-半乳糖-N-乙酰氨基半乳糖	1:600
荆豆素(Ulex europaeus agglutininone)	UEA ₁	L-岩藻糖	1:800
大豆素(Soybean agglutinin)	SBA	N-乙酰氨基半乳糖	1:800
<i>Bandeiraea Simplicifolia</i>	BSL	D-半乳糖	1:600
蓖麻素(Ricinus comunis agglutinin)	RCA	N-乙酰氨基半乳糖 D-半乳糖	1:400
扁豆素(Lensculinaris agglutinin)	LCA	D-甘露糖 D-葡萄糖	1:400
刀豆素(Concanavalin ensifomis)	ConA	D-葡萄糖 D-甘露糖	1:800
麦胚素(Wheat germ agglutinin)	WGA	N-乙酰氨基葡萄糖 唾液酸	1:600

将各组织标本做连续切片,进行凝集素亲和组化染色(ABC法),其步骤为:①4 μ 石蜡切片脱蜡、水化;②1%甲醇-过氧化氢液消除内源性过氧化物酶;③0.01M PBS (pH 7.4)洗涤,5'×2次(以下简称洗涤);④0.05%胰蛋白酶消化10';⑤洗涤;⑥生物素化凝集素孵育(工作浓度见表1),4℃冰箱过夜;⑦洗涤;⑧ABC试剂(1:100)孵育1h;⑨洗涤;⑩DAB显色;⑪复染、脱水、透明后封片。本实验阴性对照省略凝集素,以PBS代替,阳性对照用已知阳性片按上述步骤操作。

亲和组化阳性结果判断:DAB显色棕色为阳性;阳性细胞数<5%为阴性,>5%为阳性。

统计学处理采用卡方检验。

结 果

一、8种凝集素在正常乳腺、乳腺良性病变及乳腺癌的阳性率

PNA、BSL在乳腺癌的阳性率高(在各类型均有阳性,其中PNA在2例小叶原位癌全部阳性),在正常乳腺及乳腺良性病变低。LCA均为阴性,其它凝集素在乳腺癌阳性率均

低(表2)。正常乳腺、乳腺良性病变与乳腺癌的阳性率差值:BSL为60.7%,57.9%;而PNA仅为45.6%,36.6%。

表2 各种凝集素在乳腺正常组织良性病变及乳腺癌的阳性率(%)

	正常乳腺	良性病变	乳腺癌	χ^2 值	P值
PNA	38.1	37.1	73.7	19.68	<0.005
BSL	14.3	17.1	75.0	39.16	<0.005
UEA ₁	23.8	42.9	59.0	9.69	>0.01
SBA	23.8	22.9	59.0	19.04	<0.005
RCA	47.6	68.5	38.0	9.77	>0.01
ConA	4.8	42.9	59.6	21.41	<0.005
WGA	61.9	85.7	69	2.82	>0.10
LCA	0	0	0	0	

二、8种凝集素在正常乳腺、乳腺良性病变和乳腺癌的定位

各种凝集素在细胞的阳性定位表现为:①腔膜型:局限于腺腔面或管腔面的细胞膜上,可伴分泌物阳性(图1,见插页);②全膜型:整个细胞膜阳性(图2,见插页);③胞浆型:部分或整个胞浆阳性,为均匀细颗粒状(图3,4,见插页)。除LCA(全部阴性)、ConA($P>0.05$)外,其它6种凝集素在三种乳腺组织的定位均

表3 乳腺正常组织良性病变及乳腺癌凝集素阳性定位的比较

	正常乳腺			良性病变			乳腺癌			χ^2	P
	ML	M	C	ML	M	C	ML	M	C		
PNA	1.00	0	0	0.69	0.15	0.15	8.3	9.7	81.9	51.0	<0.005
BSL	1.00	0	0	0.5	0.33	0.17	6.7	13.3	80.0	33.2	<0.005
UEA	1.00	0	0	0.73	0.08	0.23	6.8	10.3	82.0	42.6	<0.005
SBA	1.00	0	0	0.88	0.13	0	5.1	11.9	83.0	50.5	<0.005
RCA	0.30	0.7	0	92.3	7.7	0	10.5	26.3	63.1	58.7	<0.005
ConA	0	0	1.0	0	0.2	0.8	0	1.7	98.3	7.9	>0.05
WGA	0.33	0.67	0	26.7	33.3	40	1.4	29	69.6	31.6	<0.005

注:(1)凡小样本(<20例)以小数表示,大样本以百分率表示(省略%)

(2)ML表示腔膜型阳性,M表示膜型阳性,C表示胞浆型阳性

有所不同(表3)。其中 PNA、BSL UEA₁ 和 SBA 规律性较明显。正常乳腺为小导管或腺泡腔型膜阳性,大导管为阴性(图1,见插页),乳腺癌则主要表现为胞浆型阳性(图2,3,见插页),少数为腔膜型或全膜型阳性。乳腺良性病变既有腔膜型也有胞浆型,但仍以前者为主。

三、不同发育阶段或功能状态的正常乳腺凝集素反应的对比

8种凝集素在胚胎和生后不同时期的正常乳腺的定位以 PNA 规律性较明显: PNA 在胚胎中期为阴性,胚胎晚期小叶末梢导管出现阳性,较弱(图1,见插页),青春期后阳性范围和强度均增加,至哺乳期达顶峰。以上定位均为腔膜型。大导管,肌上皮细胞及间质结缔组织均阴性。

讨 论

肿瘤相关抗原多为糖蛋白。运用凝集素探针研究糖基的变化有助于了解肿瘤抗原的分子特性,因而日益受到重视。乳腺癌凝集素受体以花生素受体(PNA-R)报道最多。^[1-6] T 抗原(Thomsen-Friedereich Ag)是带有抗原决定簇 β -D-半乳糖-(1 \rightarrow 3)-N-乙酰氨基半乳糖的糖蛋白或糖脂,PNA 可与其抗原决定簇(即 PNA-R)特异地亲合。^[1,5,6]

Springer 等^[6]用生化免疫方法报道乳腺癌细胞膜存在 T 抗原,而正常乳腺无此抗原,因而认为它是人乳腺癌的肿瘤相关抗原。Klein^[1]等用荧光及氚标 PNA 检测常规石蜡切片,发现正常乳腺和乳腺癌均存在 T 抗原,故对上述观点持否定意见。从本文结果看,T 抗原对乳腺癌确有相对特异性:乳腺癌组织中 T 抗原的相对量(阳性率)和绝对量(胞浆型和全膜型的大量表达)均比正常乳腺增多。特别是乳腺癌出现了正常乳腺不存在的胞浆分布,这一点具有质变倾向。

T 抗原在不同乳腺组织的定位差异的机理尚不清楚。Howard^[2]认为:正常乳腺的腔膜型定位处相当于“体外”,是免疫细胞无法接触的特免区(immunological privileged sites),

而乳腺癌的胞浆型定位则利于免疫细胞密切接触;分化差的乳腺癌 T 抗原为阴性,是抗原丧失的结果。对此我们有两点补充:①乳腺癌的全膜型定位使 T 抗原直接暴露,有利于免疫识别和杀灭;②胞浆型定位可能有利于肿瘤的免疫逃避,这种定位可能是癌细胞通过表面抗原调变机制,将膜外的 T 抗原以某种方式隐蔽到胞浆内的结果。本文另一结果表明,PNA 阳性的乳腺癌胞浆型占绝大多数,全膜型极少(表3)。这意味着乳癌患者多不能产生有效的免疫反应,与“乳癌患者免疫机能较低”^[7]相符。

关于 BSL 亲合组化的研究甚少。据文献报道,^[4,8] BSL 在正常乳腺及乳腺良性病变为阴性,而乳腺硬癌、导管内癌及间质肉瘤弱阳性,髓样癌、小叶癌为阴性。本文的结果有所不同:首先,BSL 在正常乳腺及乳腺良性病变均阳性,不过阳性率明显低于乳腺癌,其次,本文所作各种类型乳腺癌(包括髓样癌、小叶原位癌)均有强阳性。因此,我们认为 BSL-R 在正常乳腺和乳腺癌的表达上与 PNA-R 相似,即只对乳腺癌有相对特异性。其特异性和敏感性高于 PNA。

关于乳腺发育过程中 PNA-R 表达的研究,文献限于动物实验及细胞培养材料:小鼠乳腺组织的 PNA 荧光强度随发育成熟而增加,到哺乳期达顶峰,荧光仅定位于乳腺上皮细胞,肌上皮及间质细胞均阴性。细胞培养亦有类似结果^[9]。本文中的人胚胎不同时期及生后不同阶段乳腺组织的结果与文献相似。这表明 PNA-R 的表达与乳腺的分泌功能相关。由于胚胎中期乳腺为输乳管始基分化而成的实性上皮索;胚胎晚期及生后乳腺中的较大导管由这种上皮索形成,两者均无分泌功能,故 PNA 均阴性。此外,正常乳腺组织 PNA-R 的分布可能对探讨腺癌某些类型的组织发生有帮助。本文2例小叶原位癌 PNA 均阳性,与文献相符^[1],而正常乳腺肌上皮细胞 PNA 为阴性^[9],这一事实提示,小叶原位癌来源于肌上皮细胞的观点值得磋商。

参 考 文 献

- [1] Klein PJ, et al. The Presence and significance of the Thomsen-Friedenreich antigen in mammary gland. Its topochemistry in normal, hyperplastic and carcinoma tissue of the breast. *J Cancer Tes Clin Oncol* 1979;93:205.
- [2] Howard DT, et al. Carcinoma-associated cytostructural antigenic alteration: Detection by lectin binding. *Cancer* 1981;47:2872.
- [3] Remmele W, et al. Comparative histological, histochemical, immunohistochemical and biochemical studies on oestrogen receptors, lectin receptors, and Barr bodies in human breast cancer. *Virch Arch(A)* 1986;409:127.
- [4] Louis CJ, Wyllie RG. Lectin-binding affinities of human breast tumors. *Cancer* 1983;52:1244.
- [5] Klein PJ, et al. The significance of lectin receptors for the evaluation of hormone dependent in breast cancer. *J Steroid Biochem* 1983;19(10):839.
- [6] Springer GF, et al. Blood group MN antigens and precursors in normal and malignant human breast glandular tissue. *J Natl Cancer Inst* 1975;54:335.
- [7] 杨庆忆, 等. 500例肿瘤患者的T淋巴细胞和淋转率分析. *湖北医学院学报* 1985; 6(3): 257,
- [8] 张华忠, 等. 凝集素在人体正常组织的定位. *中华医学杂志* 1985;65:144.
- [9] Newman RA et al. Binding of peanut lectin to breast epithelium human carcinomas and a cultured rat mammary stem cell: Use of the lectin as marker of mammary defferentiation. *J Natl Cancer Inst* 1979;63:1339.

The Specificity and Significance of Lectin Receptors in Breast Carcinoma

Zheng Zhong Ji Zhongmin

(Department of Pathology)

Abstract

Eight lectins were used to study 100 cases of breast carcinoma and 56 cases of non-carcinoma breast by lectin affinitive histochemical method. The result showed that Bandeiraea Simoplicifolia (BSL) and Peanut agglutinin (PNA) had higher Positive rates in breast carcinoma (respectively 75%, 73.7%) than that in both normal breast and benign breast lesions ($P < 0.005$), and the positive deposits in malignant lesions mainly located in cytoplasm while in non-malignant lesions they almost all lined along luminal cells ($P < 0.005$). The authors think that the expression of PNA-receptor in cytoplasm might be associated with the mechanism by which the tumour could flee man's immuno-system; the PNA affinitive histochemistry would be useful to undersand the metabolism of N-acetyl-D-galactosamino during the development of normal mammary and the histological origin of some breast carcinoma

Key words: Breast tissues Breast carcinoma Lectin-receptors.

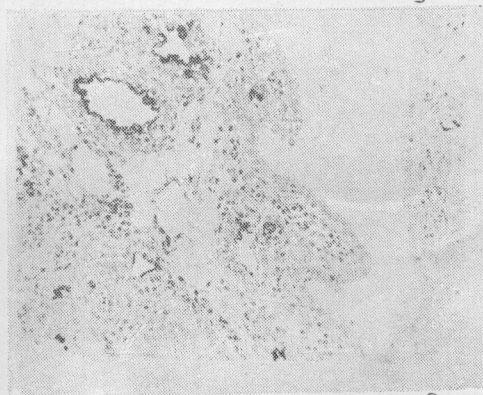


图1 正常乳腺小叶及小导管上皮管腔面胞膜为阳性(膜腔型, ML), 较大导管为阴性(胚胎晚期乳腺, PNH 亲合组化 100×)

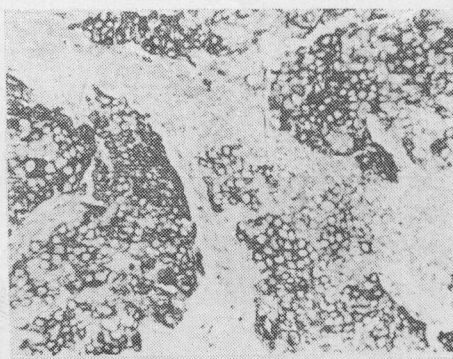


图2 乳腺癌细胞凝集素亲合反应为整个肌膜阳性(全膜型, M; PNA 亲合组化 100×)

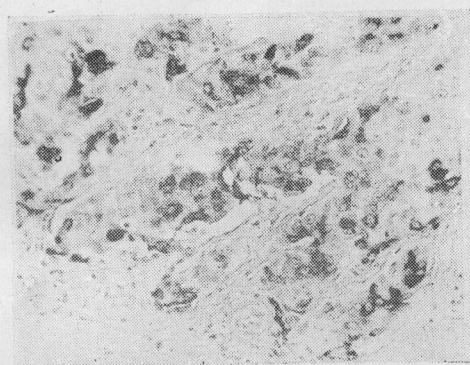


图3 乳腺癌细胞凝集素亲合反应为胞浆内阳性(胞浆型, C; BSL 亲合组化 100×)



图4 乳腺癌细胞的胞浆型阳性呈均匀细颗粒状(PNA 亲合组化 200×)

肾血管平滑肌脂肪瘤的影像学诊断 (正文见第49页)



图1 左肾动脉轻度增粗扩张, 肾动脉及分支受压移位, 串珠状及葡萄状肿瘤染色, 众多血管纤细规则超越肾外



图2

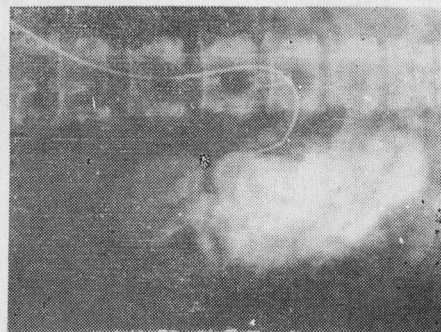
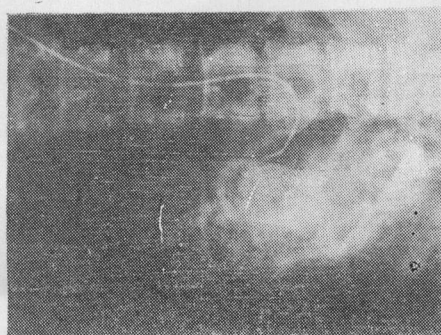


图4

图2~4 洋葱皮样肿瘤染色延续至静脉期