

膀胱癌细胞角蛋白和癌胚抗原 的免疫组化观察

戴为东 刘子君 胡瑞德 吴惠茜

(病理解剖学教研室)

细胞角蛋白(Cytokeratin)和癌胚抗原(Car-cinoembryonic Antigen, CEA)是上皮性肿瘤的标记物。应用生化和免疫技术已证实它们不仅分布广泛,而且细胞角蛋白的种类和结构十分复杂,亚型多达19种^[1-7]。不同上皮性肿瘤,其细胞角蛋白的亚型和含量都不相同,因此选用抗不同亚型细胞角蛋白抗体可协助肿瘤的诊断,尤以对低(未)分化上皮性肿瘤的鉴别诊断。本文对膀胱癌细胞角蛋白和癌胚抗原进行观察,并对组织切片中二者的存在与膀胱癌病理分类分级上的联系报道如下。

材料及方法

膀胱癌新鲜活检材料来自本校第一附属医院等8所医院。其中1/2组织用于常规病理诊断,另1/2则进行ABC免疫酶标技术三步法进行制片^[8,9]。主要步骤是,(1)石蜡包埋的组织脱蜡;(2)H₂O₂甲醇液封闭内源性过氧化酶;(3)10%正常马血清封闭非特异性抗原;(4)滴加鼠抗人第18亚型细胞角蛋白单克隆抗体(1:400);(5)滴加生物素(Biotin)标记的马抗鼠IgG(1:200);(6)滴加ABC复合物(1:1);(7)3'-3'二氨基联苯胺(DAB)镜下显色;(8)水洗,苏木素复染;常规脱水,透明,封片。癌胚抗原的检查与上相似,仅为第4、第5步加入免抗人癌胚抗原的IgG(1:300)和羊抗兔IgG(1:200)。

结果

检查的病例多为膀胱移行细胞癌,少数为腺癌。28例和26例分别进行细胞角蛋白和癌胚

抗原检查,其结果见表1。

表1 不同分组的膀胱癌细胞角蛋白和癌胚抗原的分布

分 组	细胞角蛋白		总计	癌胚抗原		总计
	阳性	阴性		阳性	阴性	
I级组	4	1	5	2	3	5
II级组	7		7	4	2	6
III-IV级组	11	3	14	10	3	13
腺癌组	2		2	2		2
总 计	24	4	28	18	8	26

细胞角蛋白的改变 细胞角蛋白阳性反应病例着弥漫阳性者,癌细胞阳性率占70%左右;灶状阳性者癌细胞阳性率占30~50%;腺癌阳性者癌细胞约占50%。阳性表现为浅棕黄色至深棕色粗颗粒状,弥漫分布于胞浆内;部分阳性程度较高者呈条块状结构。癌细胞分化较低、组织学分级较高的移行细胞癌常有沿核膜外周分布及石核旁一极聚集的倾向。一般,组织学分级高而细胞分化低的病例,癌细胞阳性率较组织学分级低而细胞分化高者明显;且在同一层细胞中,近基底层的癌细胞阳性率常较表层者高,阳性程度亦如此。腺癌的表现与上相仿。

癌胚抗原的改变 癌胚抗原阳性的癌细胞表现同上相似,呈浅棕黄色至深棕色粗颗粒状物,弥漫分布于胞浆内。也有部分病例呈灶状阳性反应。在组织学分级高,细胞分化低的移行细胞癌,阳性癌细胞多属胞体较大、胞浆丰

富有轻度空泡样变性的细胞。腺癌癌细胞阳性亦相同(病理照片图见封3)。

讨 论

近年来,许多文献报道了对不同亚型细胞角蛋白和癌胚抗原的研究^[1,10~13]。本文选用针对第18亚型细胞角蛋白(分子量45000道尔顿,等电点pH5.7)^[7]的单克隆抗体,用ABC免疫过氧化酶的方法,发现大多数膀胱癌细胞中含有细胞角蛋白,且组织学分级较高的移行细胞癌染色相对较深。上皮的基底细胞,基底旁细胞具有活跃的分裂和增殖能力,是相对较幼稚的细胞。Osborn^[7]等人发现,作为细胞鳞状分化产物的角蛋白,在鳞状分化成熟过程中出现分子量的改变,由基底层低分子量变为表层的高分子量。这种改变与胚胎发育过程中表皮角蛋白的变化相一致。Schlegel等^[10,14,15]认为,不同亚型的细胞角蛋白在组织分布的差异似与细胞的分化程度有关。细胞分化低,角蛋白基因表达失常,可导致细胞内角蛋白种类的含量、结构及功能上的变异,造成细胞功能障碍,影响细胞的连接、信息流通、代谢、分化和运动等等,这可能对表现为不受机体控制的、无限繁殖的癌细胞的本质特性有影响。膀胱移行细胞癌随着组织学分级提高,癌细胞分化降低,低分子量的细胞角蛋白出现和不断增多,说明正常胚胎发育过程中表达、而健康成人细胞内不表达的部分基因,此时在膀胱癌细胞内重新表达,反映出癌细胞具有幼稚细胞的性质,癌胚抗原是胚胎上皮细胞的标记物,在膀胱癌中,它的出现和增多的趋势,同样支持上述观点。

以往研究细胞角蛋白多用免疫荧光法^[6,11,12],检查冰冻切片或酒精固定、石蜡包埋的组织切片^[14]。Ramaekers^[13]认为,弗尔马林固定对细胞角蛋白多肽的抗原性有较大的破坏作用,石蜡包埋也可造成部分抗原性的丧失。本文选用ABC法(敏感性较PAP法高4~10倍)及抗细胞角蛋白的单克隆抗体(以往多为抗血清),使对抗原的敏感性得到提高。结

果表明,应用高敏感性方法和特异性高的抗体,仍可较好地显示出弗尔马林固定、石蜡包埋的组织切片中癌细胞的抗原性。同时,该技术操作简便、迅速,故用以判断肿瘤组织学起源、细胞分化程度及病理分级都有一定的实际意义。

(该工作一直得到本校泌尿外科梅骅教授的支持和协助,特此致谢)

参 考 文 献

- [1] Gown AM, et al. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. *Am J Pathol* 1984; 114:309.
- [2] Altmannberger M, et al. Antibodies to different intermediate filament proteins cell type-specific markers on paraffinembed human tissues. *Lab Invest* 1981; 45:427.
- [3] Gold D, et al. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system; *J Exp Med* 1965; 122:467.
- [4] Nery R, et al. Isolation and partial characterization of macromolecular urinary aggregates containing carcinoembryonic antigen-like activity. *Br J Cancer* 1974; 29:413.
- [5] Milstone LM, et al. Different polypeptides from the intermediate filaments in Bovine hoof and esophageal epithelium and in aortic endothelium; *J Cell Biol* 1981; 88:312.
- [6] Moll R, et al. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells; *Cell* 1982; 31:11.
- [7] Osborn M, et al. Tumor diagnosis by intermediate filament typing: A novel tool for surgical pathology; *Lab Invest* 1982; 48:372.
- [8] ABC 技术学习班编. 淋巴瘤免疫组织化学. 1983; 北京, p10~11.
- [9] 胡瑞德,等. ABC 和 PAP 法的实际应用和比较. *中华病理学杂志* 1985; 14:149.
- [10] Schlegel R, et al. Immunohistochemical localization of keratin in normal human tissues.

- Lab Invest 1980; 42:91.
- [11] Altmannsberger M, et al. The distribution of keratin type intermediate filament in human breast cancer. An immuno-histochemical study. *Vichows Arch Cell Pathol* 1981; 37:277.
- [12] Altmannsberger M, et al. Antibodies to intermediate filaments as diagnostic tools human gastrometestinal carcinomas express prekeratin. *Lab Invest* 1982; 46:520.
- [13] Ramaekers F, et al. Monoclonal antibody to keratin filaments, specific for glandular epithelia and their tumors use in surgical pathology. *Lab Invest* 1983; 49:353.
- [14] Gabbiani G, et al. Immunochemical identification of intermediate-sized filament in human neoplastic cells, A diagnostic did for the surgical pathologist. *Am J Pathol* 1981; 104: 206.
- [15] 张月娥,等。免疫病理研究方法的进展与应用。 *中华病理学杂志* 1983; 12:1。

Immunoperoxidase Localization of Cytokeratin and Carcino-embryonic Antigen in Bladder Carcinoma

Dai Weitong Liu Zijun Hu Ruide Wu huixi

(Department of Pathology)

Abstract

Cytokeratin and Carcinoembryonic Antigen (CEA) of 28 and 26 cases of bladder carcinomas respectively were studied by using Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) method.

The result showed that the low molecular weight cytokeratin and CEA which were being expressed during the embryo development, were also expressed in transitional cell carcinomas and accompanied with the increase of pathological grading and decrease with cancer cell differentiation. It is suggested that the differences of both cytokeratin and CEA in the different pathological grading of bladder carcinoma might be an index related with the differentiation of cancer cell. The results also showed that by using higher sensitive method and specific antibody, the antigen of cancer cell may be demonstrated well in formalin-fixed fresh or older paraffin-embedded tissues.

膀胱癌细胞角蛋白和癌胚抗原的免疫组化观察（正文见45页）

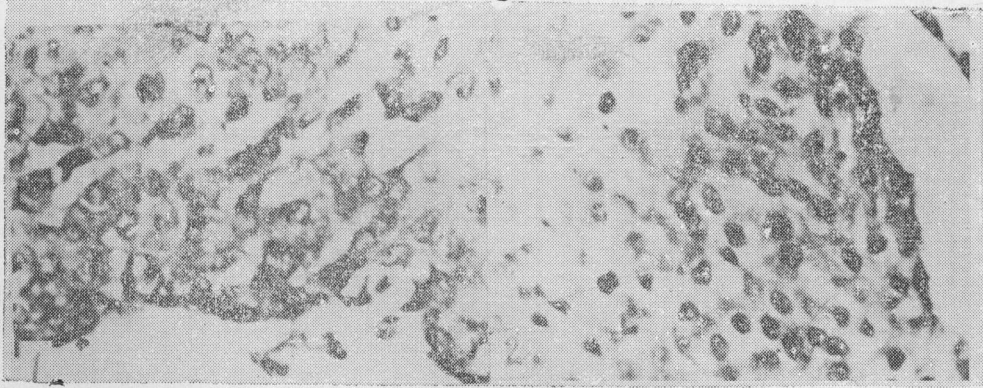


图 1

图 2

图 1 膀胱Ⅱ级移行细胞癌 CEA阳性 ×400

图 2 膀胱Ⅱ级移行细胞癌细胞角蛋白阳性 ×400

鼻咽癌咽旁间隙侵犯与放射治疗设计（正文见81页）

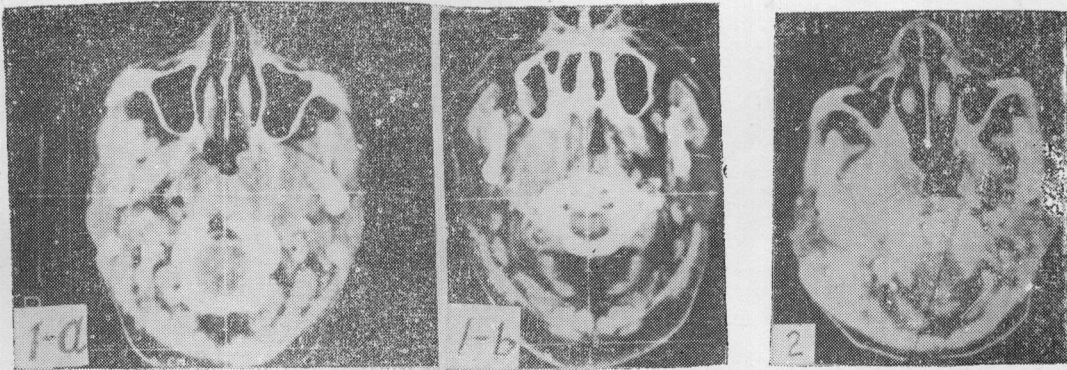


图1-a

图1-b

图 2

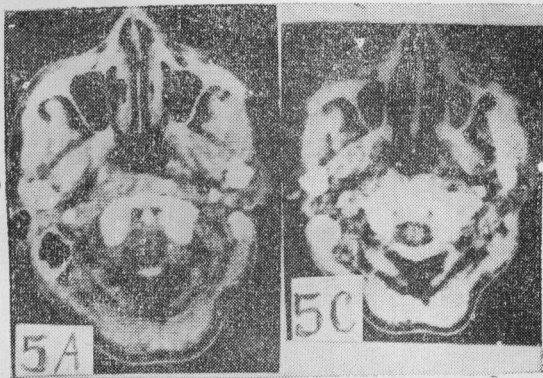


图 5A

图 5C

图1-a 鼻咽癌原发灶已侵犯茎前、后区

1-b 肿瘤蔓延累及咽旁间隙并侵犯颞下窝翼腭窝和鼻腔

图 2 CT示右枕后软组织肿瘤源自咽旁间隙扩散

图 5A 治疗前靶可用T—S线与脊髓隔开

图 5C 治疗结束时肿瘤明显缩小