

CEA、CK_{8,18}、AFP 和 AAT 在肝细胞癌中表达及意义

胡瑞德 林汉良

(病理学教研室)

提 要 用免疫组化方法观察癌胚抗原(CEA)、低分子量细胞角蛋白(CK_{8,18})、甲胎蛋白(AFP)和 α_1 -抗胰蛋白酶(AAT)在75例肝细胞癌(HCC)中的表达。其中,CEA 57/75例阳性(76%);CK_{8,18} 54/75例阳性(72%);AFP 51/75例阳性(68%);AAT 58/75例阳性(77.3%)。AFP和AAT在中等分化(Ⅱ级HCC)中阳性率最高;CK_{8,18}在低分化(Ⅲ级)HCC中的表达比其他3种相对较高。CEA抗血清能显示HCC的毛细胆管分化,它是HCC的特征性标记,在病理鉴别诊断上有很大意义。CK_{8,18}、AFP和AAT可见于非肝细胞来源的肿瘤,病理上的应用价值有限。AAT在HCC和癌周肝组织的阳性率分别为77.3%和66.7%,远比AFP 68%和26.7%高,两者有显著差异($P < 0.01$)。因此,血清AAT的检测对HCC的诊断和预后估计可能比AFP更有意义。

关键词 癌胚抗原;低分子量细胞角蛋白;甲胎蛋白; α_1 -抗胰蛋白酶;肝细胞癌;免疫组化

中图分类号 R535.7; R446.62; R446.8

用免疫组化方法研究甲胎蛋白(AFP)在肝细胞癌(HCC)及癌周肝组织中的表达,国内外已有不少报道^[1~3],对 α_1 -抗胰蛋白酶(AAT)^[3,4]、癌胚抗原(CEA)^[5,6]和低分子量细胞角蛋白(CK_{8,18})^[5~7]国内报道甚少。本文对上述4种蛋白在75例HCC和癌周肝组织中的表达进行观察和比较,以探讨它们在病理诊断和临床应用上的价值。

材 料 和 方 法

材 料 采用本教研室1980年以来在临床和病理上诊断明确的HCC活检或肝癌切除标本75例,其中男性65例,女性10例。年龄10~72岁。全部标本均经10%甲醛固定,石蜡包埋。75例HE切片按分化程度以WHO标准分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ3级^[8]。

免疫组化 4~5 μ m石蜡连续切片以PAP法检测CEA、AFP和AAT,第一抗体均为抗血清,浓度分别为1/300,1/300和1/600,所用的抗血清和PAP均为DAKO产品。以ABC法检测CK_{8,18},用UCD/PR 10.11^[9],为针

对CK_{8,18},即分子量为44.64u和51.59u(45和52 kDal)的单克隆抗体,浓度用1/400。ABC药盒来自美国Vector公司。DAB显色后用Mayer苏木素浅染作对比染色,每次染色均同时作阳性和阴性对照。

统计学处理 AFP和AAT均分布于HCC和癌周肝细胞的胞浆,且都出现在血液中,两者性质相似,对AFP和AAT在HCC和癌周肝组织中阳性率以及AFP和AAT在各级HCC的阳性率进行卡方检验。

结 果

WHO分级 75例HCC按WHO分级,Ⅰ级8例;Ⅱ级57例;Ⅲ级10例。

4种抗原的分布特点 CEA、CK_{8,18}、AFP和AAT在75例HCC和癌周肝组织中的阳性率见表1。

AFP和AAT在HCC和癌周肝组织中呈单个细胞(图1)、或为小簇和片状分布(图2),表现为胞浆弥漫性细颗粒状。75例中未发现有AAT缺乏症特有的大小不一AAT阳

表1 75例4种抗原的阳性率

	CEA	CK _{8,18}	AFP	AAT
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
肝癌组织	57(76)	54(72)	51(68)	58(77.3)
癌周肝组织	71(91)	73(97.3)	20(26.7)	50(66.7)

注: AFP与AAT比较: $\chi^2 = 18.94, P < 0.01$

性的球形小体。AAT在HCC和癌周肝组织中的阳性率均较AFP高,经统计学处理,两组比较卡方值等于18.94, $P < 0.01$,差异有显著意义。同时AAT阳性细胞的反应强度也较AFP大,在癌周肝组织尤为明显。

CEA显色反应见于毛细胆管,呈树枝状或环状(图3),前者为毛细胆管的纵切面,后者为横切面。苏木素-伊红切片下HCC的腺癌样结构在CEA染色下清晰地表明是环状扩张的毛细胆管。胆管上皮胞浆及腔内缘亦呈阳性反应。

CK_{8,18}阳性反应呈弥漫胞浆细颗粒状,近细胞周缘阳性反应较强(图4)。胆管上皮亦阳性。

4种抗原在各级HCC中的阳性率 CEA、CK_{8,18}、AFP和AAT在75例不同组织学分级HCC中的阳性率见表2

表2 75例各级HCC中的阳性率

分级	n	CEA	CK _{8,18}	AFP	AAT
		n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
I	8	7(87.5)	6(75)	3(37.5)	5(62.5)
II	57	50(87.7)	44(77.2)	47(84.2)	52(91.2)
III	10	0(0)	4(40)	1(10)	1(10)

AFP在I级与II级阳性率比较 $\chi^2 = 9.16, P < 0.01$

AFP在I级与III级阳性率比较 $\chi^2 = 21.27, P < 0.005$

AAT在I级与II级阳性率比较 $\chi^2 = 5.25, P < 0.05$

AAT在I级与III级阳性率比较 $\chi^2 = 35.79, P < 0.005$

AFP和AAT在II级HCC阳性率明显高

于I、II级,在III级HCC中CK_{8,18}的表达比其他3种蛋白相对较高。

讨 论

AFP和AAT是2种合成于正常胎肝和卵黄囊的可溶性癌胚蛋白,它们出现于HCC表明胎儿基因的重新表达。对AFP研究得早,且较为充分,血清学检测被广泛地应用于临床作为HCC诊断,术后监测和预后估计的标记。本组HCC免疫组化研究AFP的阳性率为68%较一般文献报道的70%~90%稍低^[12],与近年张绍勃报道80例的66.25%相近。AFP在中等分化HCC表达率高^[3,5],本组II级达84.2%,与文献报道的结果一致,推测中等分化的HCC是由相当于合成AFP阶段的胎肝细胞恶性转化后形成的,此时AFP基因表达,合成AFP。成熟肝细胞几乎不合成AFP,癌周肝细胞内出现AFP,可能与癌浸润导致癌周肝细胞变性吸收了癌细胞分泌的AFP有关,但更可能由它们自身合成。戴益民等^[5]用AFP和HBsAg对HCC作同步标记染色证明两者有明显的相关性,除HCC外,AFP还见于慢性活动性肝炎和肝硬化等,推测HBV病毒感染致使肝细胞损伤和返祖性增生,激发AFP合成基因的重新表达。

对AAT和HCC关系的报道不多,且例数较少,一般阳性率在50%左右^[4]。近年张绍勃报道80例达55%,本组阳性率较高为77.3%,很可能与上述报道中包含有尸解材料有关。AAT可因固定不及时而丢失,以致阳性率变低,而本组全部为活检或外科切除的标本。与AFP相似,AAT在中等分化HCC阳性率高,亦出现在癌周肝组织。值得注意的是与AFP相比,AAT在HCC和癌周肝组织的阳性率高,分别为77.3%和66.7%。而AFP为68%和26.7%,两者有显著差异($P < 0.01$)。同时AAT的染色强度较大。一般认为组织中阳性细胞的数量与染色强度大致与血清水平成比例^[1],组织中AFP和AAT的增加是血清水平升高的基础。段积华等报道40/50例HCC

血清 AAT 升高, 占74%, 在17例 AFP阴性的 HCC 中, 13例 AAT 升高, 说明血清 AAT 检测可能比 AFP 更有意义, 作者用免疫组化的研究结果与段氏血清学研究的结果一致, 支持上述说法。

除 HCC 和卵黄囊瘤外, AFP 和 AAT 还表达于胃肠道、胆囊、胰、肺和乳腺等癌, 因此无特异性, 在肿瘤免疫组化诊断上的应用受到限制。

CEA 广泛存在于各种不同上皮及其肿瘤中, CEA 抗血清可显示正常肝细胞间和 HCC 中的毛细胆管。研究表明 CEA 属于同一类糖蛋白大家族, 其中有一些称为 CEA 相关抗原, 包括非特异性交叉反应抗原、血型抗原和胆糖蛋白等, 它们与 CEA 有若干相同的抗原决定簇。CEA 抗血清能显示毛细胆管是与胆糖蛋白起交叉反应的结果^[5]。CEA 的单克隆抗体或经吸收后的抗血清无这种反应。显示的毛细胆管呈树枝状或环状, 与 CEA 在非肝细胞性肿瘤中呈弥漫性胞浆细颗粒状的分布明显不同。CEA 抗血清显示 HCC 的毛细胆管分化是特征性的, 对小块肝活检组织的 HCC 与腺癌、鳞癌等肿瘤的鉴别诊断以及淋巴结转移癌肝细胞起源的诊断中有很大意义。本组 III 级 HCC 全部阴性, 可能表明在低分化 HCC 中尚未出现毛细胆管分化。

按 CK 的组成上皮分为复层、单纯和复杂上皮 3 种。正常肝细胞属单纯上皮, 表达低分子量 CK 中的 8, 18, 恶性转化后的细胞仍保留表达这对 CK。本组 I、II 级 HCC 中 CK 阳性率约 75%, 在 III 级 4/10 例阳性, 而 AFP 和 AAT 仅 1/10 例阳性, 说明在这种相当于胚胎早期肝细胞转化后形成的肿瘤中, CK 的表达出现得比 AFP 和 AAT 早。低分子量 CK 亦表达于其他单纯上皮衍生的癌以及向上皮分化的间叶肿瘤, 近年还发现表达于平滑肌肉瘤、恶性

纤维组织细胞瘤等, 因此病理上对 HCC 的诊断无甚价值。

(本文图 1~4 见插图 2)

参 考 文 献

1. Koliro M, et al. Distribution of albumin and or α -fetoprotein-positive cases in hepatocellular carcinoma. *Lab Invest* 1981; 44(3):221
2. 何德华, 等. 人体肝癌和癌周宿主肝甲种胎儿蛋白免疫酶标定位及其形态学观察. *中华医学检验杂志* 1981; 4(1):12
3. 张绍渤, 黄受方. 原发性肝细胞癌和肝细胞非典型增生的蛋白表达、核形态定量及 DNA 含量分析. *中华病理杂志* 1992; 21(2):117
4. Reintoft I, et al. [Demonstration of α -antitrypsin in hepatoma. *Arch Pathol Lab Med* 1979; 103(10):495
5. 胡瑞德, 等. 癌胚抗原、甲胎蛋白、 α -1 抗胰蛋白酶. 见: 刘彦仿. *免疫组织化学*. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 250~267
6. Christensen WN, et al. Immunoperoxidase staining as a diagnostic aid for hepatocellular carcinoma. *Modern Pathol* 1989; 2(1):8
7. Eyken PV, et al. Cytokeratin expression in hepatocellular carcinoma: An immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1988; 19(5):562
8. Anon. *Tumors of the liver*. Geneva: World Health Organization, 1978: 20~22
9. Chan R, et al. [Characterization of two monoclonal antibodies in an immunohistochemical study of keratin 8 and 18 expression. *Am J Clin Pathol* 1988; 89(4):472
10. 段积华, 等. 血清 α_1 抗胰蛋白酶对原发性肝癌诊断价值的探讨. *重庆医学* 1986; 15(2):5

(1993-02-26 收稿 1993-05-25 修回)

EXPRESSION OF CEA, CK_{8,18}, AFP AND AAT IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA AND IT'S SIGNIFICANCE

Hu Ruide Lin Hanliang

(Department of Pathology)

Expression of CEA, CK_{8, 18}, AFP and AAT in 75 cases of hepatocellular carcinoma (HCC) were studied with immunohistochemical methods. 57 of 75 cases (76%) were positive for CEA; 54 cases (72%) for CK_{8,18}; 51 cases (68%) for AFP, 58 cases (77.3%) for AAT. The positive rate of AFP and AAT in moderately differentiated (II grade) HCC was the highest in comparison with well or poorly differentiated HCC. The positive rate of CK_{8,18} in poorly differentiated HCC was relatively higher than in others. CEA antiserum can exhibit differentiation of bile canaliculi of HCC. The staining pattern of bile canaliculi of CEA antiserum is a characteristic marker for HCC. It is of significance in differential diagnosis pathologically. CK_{8,18}, AFP and AAT may occur in the tumors of non-hepatocellular origin. The value of application is limited. AAT in HCC and pericancerous hepatic tissue was respectively 77.3% and 66.7%; much higher than AFP, 68% and 26.7%. The difference was statistically significant. It is suggested that the examination of AAT in serum may be of more significance than AFP in diagnosis and evaluation of prognosis for HCC.

Key words carcinoembryonic antigen; low molecular weight cytokeratin; α -fetoprotein; α -antitrypsin; hepatocellular carcinoma; immunohistochemistry

· 书 讯 ·

《现代心脏内科学》即将出版

由中山医科大学陈国伟教授和美国乔治·华盛顿大学医学院郑宗铎教授主编的《现代心脏内科学》将于1994年2月出版。该书由全国50余位专家、教授共同编撰, 作者们从临床实际出发, 根据编者的诊疗经验, 并结合国内外最新资料, 除系统、全面地介绍心脏内科传统的诊疗技术外, 着重介绍近年来新知识、新理论、新技术和新进展。在编写形式上打破一般教科书或参考书的编撰模式, 突出重点, 着重论述心脏内科疾病的诊疗方法和具体措施, 旨在实用。对不同学术观点本着百花齐放, 百家争鸣的方针, 皆予以扼要介绍, 以利本学科的发展和满足不同层次读者的需要。全书共26篇, 200余万字, 16开, 8彩页, 特精装, 估价68元。

订购办法: 1. 请到当地新华书店科技柜订购, 订数汇总报湖南省新华书店。2. 个人订户可直接与湖南科技出版社读者服务部联系(平邮免收邮费, 挂号按10%计)。该社地址为湖南长沙展览馆路3号, 邮编: 410005, 电话: (0731) 441720。

CEA、CK8、18、AFP 和 AAT 在肝细胞癌中的表达及其意义 (正文见第262页)

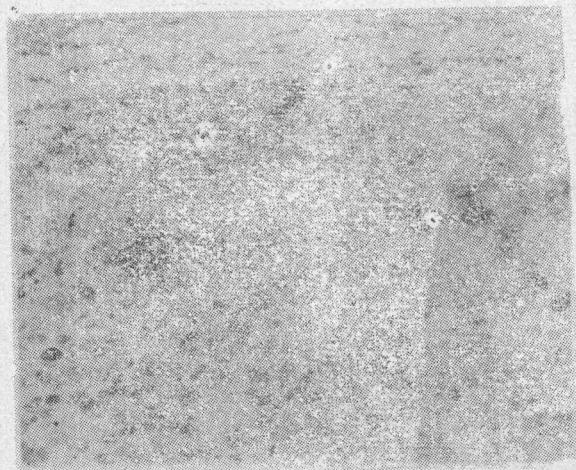


图1 AFP 在 HCC 中的表达
图中显示单个散在分布的强阳性细胞。PAP法 40×10

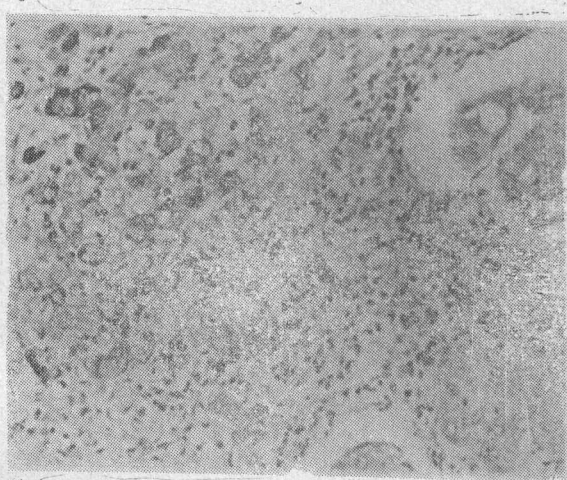


图2 AAT 在癌周肝组织和 HCC 中表达
在癌周肝组织阳性细胞呈小簇状分布, 染色强度大于
右侧 HCC。PAP法 40×10

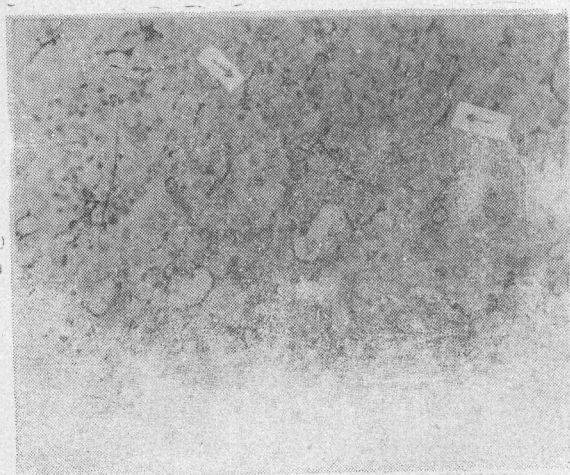


图3 CEA 抗血清显示 HCC 中的毛细胆管
图中毛细胆管呈细树枝状(↑)或环状。PAP法 40×10



图4 CK8,18在 HCC 中表达
图中显示阳性反应在近细胞周缘处较强。ABC法 40×10