

## 凝集素组化在淋巴瘤研究中的应用

第三军医大学附属新桥医院病理科 张建中、朱梅刚审校

凝集素的发现已近百年,但广泛应用于淋巴组织及其肿瘤的细胞学标记是近十年才开展起来的。凝集素可与糖类化合物的糖基结合,同时每一种凝集素具有只对一种特殊的碳水化合物部分的专一特异性结合特性,故凝集素可作为一种探针研究细胞膜上的特定糖基,从而探索细胞的生物学结构的演变过程,对细胞的变异、分裂、分化、显示肿瘤相关抗原物质、鉴别肿瘤细胞与相应正常细胞的膜结构变异,阐明细胞恶变过程中膜结构的改变,以及对肿瘤诊断与预后的估计均具有一定价值。

### 一、非何杰金氏淋巴瘤的凝集素标记

研究表明,高分化恶性淋巴瘤细胞具有与其起源细胞相同的凝集素标记特征。Rose等最先把花生凝集素(PNA)用作淋巴瘤的标记,结果表明PNA标记与SIg和C3受体阳性细胞一致,80%的生发中心细胞性淋巴瘤细胞为PNA阳性。

小细胞淋巴瘤的凝集素标记类型如同淋巴滤泡外壳的小淋巴细胞一样以涎酸化糖蛋白占优势,而大细胞性淋巴瘤显示糖类结构的明显变异,不完全性寡糖基数增多。Bramwell等观察到滤泡型小细胞性淋巴瘤的细胞外基质有糖类含量的变化,但尚保留了某种程度的机能状态;滤泡型大细胞性淋巴瘤则表现有明显的基质紊乱,同时伴有细胞膜表面物质的脱落。正常细胞外基质的丧失和紊乱可能反映了肿瘤性滤泡中控制机制的崩溃。

Ree等报告滤泡性淋巴瘤中细胞表面(SR)PNA阳性细胞占64%,而在滤泡性增生中仅占19%。肿瘤性滤泡中SR细胞均匀地分布于肿瘤区,与淋巴结的极性无关;而反应性滤泡中SR<sup>+</sup>细胞不仅少见而且呈灶性分布,常常与淋巴结的极性有关。此种特征性肿瘤性滤泡的标记类型(其中胞浆内阳性的着色体巨噬细胞消失)为滤泡型淋巴瘤与滤泡性增生的鉴别提供了又一有用重要的指标。Strauchen进一步证实了这一点,而且发现天门冬凝集素(LTA)阳性的滤泡间细胞仅见于淋巴瘤。

Ree等观察到大细胞性淋巴瘤凝集素染色反应不同:95%的肿瘤有不同量的瘤细胞可与蓖麻凝

集素(RCA)、麦胚凝集素(WGA)、粗花生凝集素(C-PNA)和菜豆凝集素(PHA)反应。其中近半数的肿瘤表现为RCA<sup>+</sup>和WGA<sup>+</sup>;约1/3的肿瘤C-PNA<sup>+</sup>;1/5PHA<sup>+</sup>;极个别的肿瘤表现为刀豆素A(ConA)弱阳性。豌豆凝集素(PSA)和扁豆凝集素(CCA)不与瘤细胞结合。

Bramwell等发现中心母细胞性淋巴瘤有不同于淋巴母和免疫母的凝集素标记类型,这对于淋巴瘤的分型和鉴别诊断有意义。

### 二、何杰金氏病的凝集素标记

何杰金氏病(HD)之R-S细胞的起源问题是近年来人们广泛研究但尚无定论的课题。凝集素作为一种新的标记系统对探索R-S细胞的起源亦具有重要意义。Strauchen发现ConA染色R-S细胞为胞浆内强阳性,支持组织细胞的源学说;Bramwell标等也发现R-S细胞的凝集素染色类型与组织细胞近似,然而某些类型的淋巴瘤细胞的凝集素反应也酷似于R-S细胞,因此,R-S细胞起源于转化淋巴细胞仍是可能的。Ree等用PNA标记显示HD中组织细胞与R-S细胞为两种不同类型的阳性细胞,前者表现为胞浆内弥漫性或小球状阳性,后者为细胞表面和胞浆阳性。而不支持组织起源说。该作者还发现R-S细胞与组织细胞增生症X细胞和指突状网织细胞具有共同的标记类型,而推论R-S细胞可能来自指突状网状细胞。

Bramwell等用荧光凝集素对HD之瘤细胞染色显示,ConA、LCA、PHA、RCA、WGA标记物主要局限于核仁。结果提示R-S细胞的巨大核仁含有多种结构的糖类化合物,这可能与瘤细胞不能进行胞质分裂有关。另外,R-S细胞核仁中有相当高水平的糖基化现象值得进一步研究。

Bramwell等还观察到HD之淋巴细胞优势型(LP)和混合细胞型(MC)的凝集素标记类型高度异常,其中多数瘤细胞表现为糖类(半乳糖、Galc NAC和甘露糖)密度明显增加。MC中大多数瘤细胞相对缺乏涎残基;而LP中涎残基含量多少不等,提示不同程度的糖基化。

Hsu等发现R-S细胞具有特征性PNA和Leu M1相同的核周晕型染色,提示与高尔基复合体的糖类化合物反应。上述两种标记在所检测的27例非何杰金氏淋巴瘤中均为阳性。因此,对于HD与形态上相似的反应性和肿瘤性淋巴结病变的鉴别具有一定价值。

### 三、凝集素标记类型与患者预后的关系

组织细胞/巨噬细胞(H/M)是多功能的免疫活性细胞,在肿瘤的行为及其预后的预计中具有重要意义。凝集素组化对表明组织中H/M的存在及其量的分布具有独到之处,它不仅可用于冰冻切片、细胞悬液,而且更适于石蜡切片。对HE可识别的H/M有助于证实,对常规不能辨别的H/M亦能标记。目前研究表明,多种凝集素(包括ConA、PNA、RCA、WGA)可标记切片中的H/M。因此,可利用过去的档案材料,结合随访结果,对各种类型的恶性淋巴瘤之预后作出较准确的判断,这是凝集素组化在淋巴瘤研究中最具有实用价值的一点

H/M的凝集素标记类型不同于淋巴细胞,均为弥漫性胞浆阳性,特别容易识别和判断。How Pard等最先把PNA作为吞噬性组织细胞的标记,该作者对58例肿瘤性和反应性淋巴组织的溶菌酶反应与PNA作一对比,发现PNA识别H/M比溶菌酶更为敏感。

Ree等发现大细胞性淋巴瘤间质反应性H/M均表现为RCA、WGA、ConA阳性,其中大部分病例还表现为C-PNA<sup>+</sup>。此类肿瘤患者生存期长者(2年以上)显示瘤细胞RCA<sup>+</sup>C-PNA<sup>+</sup>和反应性H/M为C-PNA<sup>+</sup>;而间质反应性H/M显示C-PNA<sup>-</sup>RCA<sup>+</sup>者生存期短(2年以下)。此外,凝集素阳性的H/M形态与预后亦密切相关。ConA的间质H/M有两种表型:一种相似于反应滤泡中的着色体巨噬细胞,特征为核大小一致,胞浆丰富,界限清楚;另一种H/M大小形态不一,胞浆稀少且界限不清或呈小球状。前一种类型的H/M常见于

某些临床过程隐匿,对治疗反应好的肿瘤;而后一种H/M的存在则提示预后不良。此观察表明H/M的形态变异可能反映了细胞的功能状态以及肿瘤生物学行为。

大多数小淋巴细胞性淋巴瘤(MLSL)临床过程缓和、间质H/M少或无。其中有少数早期死亡的速进型肿瘤,间质H/M数量明显增多。故一般认为低度恶性的MLSL中有一组以间质H/M增多,侵袭性行为明显的肿瘤。RCA染色有助于发现此亚组。

HD中ConA阳性H/M有两种构型:弥漫型和小球型。前者见于无明显核异型的大多数H/M但亦偶见于R-S细胞;后者见于良性和恶性形态的H/M。具有大量小球型阳性组织细胞(G细胞)的肿瘤多为侵袭播散型,多伴有B型症状(发热、盗汗和体重下降),且常见于预后不良的淋巴细胞减少型HD。此发现提示G细胞可能代表了H/M一种异常类型,其大量出现是一种不良的临床和病理学表现。同时有人发现G细胞见于溶菌酶阴性患者,提示G细胞与H/M的分泌缺陷的可能联系。G细胞可能是高尔基复合体的糖基化过程中出了毛病。这种H/M的表型异常反映了晚期HD的免疫缺陷状态。

淋巴细胞减少型和混合细胞型HD中反应性H/M较多,而在淋巴细胞优势型则不常见,结节硬化型最少。一般认为,大量H/M与B型症状和对治疗反应差密切相关;而表现为局限性病变的无症状患者,如有大量H/M浸润则提示在治疗后2年内复发率高。因此,HD中间质反应性H/M的数量多少对临床表现以及疾病的过程可能是一个重要的决定因素。

综上所述,淋巴瘤的凝集素组化标记是国外近年来开展的新技术,很多问题仍处于探索阶段。它作为免疫学标记的一个补充有深入研究的必要。

(本文参考文献14篇从略)