

人胎盘 GST- π 抗体的免疫组织化学检测对胆囊癌早期诊断的意义

山西省太原市人民医院病理科 姚 宏

山西医学院附属二院病理科 袁瑞香

摘要 应用人胎盘型谷胱甘肽 S-转移酶 (GST- π) 抗体的 ABC 法免疫组织化学技术, 检测了 100 例胆囊良、恶性病变组织的 GST- π 活性, 结果表明, 22 例正常胆囊粘膜对照组 GST- π 阳性率为 9%, 12 例胆囊炎和 4 例胆囊腺瘤 GST- π 阳性率分别为 16.67% 和 25%, 视为癌前病变的异型增生组, GST- π 阳性率达 100%, 随着异型增生程度加重, GST- π 活性增强。38 例胆囊腺癌 GST- π 阳性率为 87%, 其中高分化和中分化型腺癌组织中 GST- π 阳性率为 95%, 低分化型为 100%, 未分化型腺癌 GST- π 阳性率 75%, 胆囊腺癌、异型增生组 GST- π 阳性率及平均强度都显著高于良性病变和正常对照组 ($P < 0.01$)。因此, GST- π 的免疫组织化学检测可作为胆囊癌及癌前病变的一项新的早期诊断指标。

关键词: 谷胱甘肽转移酶; 胆囊腺癌; 异型增生; 早期诊断; 免疫组织化学

谷胱甘肽 S-转移酶 (EC2、5、1、18, 简称 GST) 主要分布于人和动物的肝细胞浆中, 人体的 GST 可分为碱性、中性及酸性三大类同工酶, 1979 年 Mnnervik 研究组从人胎盘中分离纯化一种酸性 GST (PI4.8), 命名 GST- π ^[1]。据文献报道^[2~4], GST- π 活性在胃癌、大肠癌、宫颈癌及肝癌组织中均有明显的表达, 且在癌变过程中显著增高。我们应用人胎盘 GST- π 抗体的 ABC 法对胆囊腺癌、胆囊粘膜上皮异型增生和胆囊良性病变进行免疫组化研究, 以探讨其在胆囊癌早期诊断的意义。

材料与方法

一、材料来源: 为我院及协作单位收集的手术切除标本, 全部经病理诊断证实。胆囊腺癌 38 例, 胆囊粘膜上皮异型增生 24 例 (其中轻度 8 例、中度 6 例、重度 10 例), 慢性胆囊炎 12 例, 胆囊腺瘤 4 例, 22 例胆囊正常粘膜作对照。

二、方法: 石蜡切片厚 5 μm, 按卵白素-生物素-过氧化物酶复合物法 (简称 ABC 法) 进行免疫组织化学反应。ABC 试盒系 Vector 公司产品, 免抗人 GST- π 抗体由 Dako 公司提供。稀释度为 1:100, DAB 显色, 3,3'-二氨基联苯二胺盐酸盐 (DAB) 为上海试剂一厂产品。

三、GST- π 活性分级标准: 用人胎盘 GST- π 抗体, 按 ABC 法显色 GST- π 反应产物为棕黄色, 分布于胞核及胞浆内, 根据 GST- π 显色程度分为四级:

(1) 阴性 (-): 无棕色颗粒; 即无 GST- π 活性;

(2) 弱阳性 (+): 胞浆或胞核内为淡棕色, 只染于个别腺体或个别癌细胞; (3) 中度阳性 (++) 胞浆或胞核内为棕色, 弥散在细胞浆内, 其分布范围较广泛或多灶性; (4) 强阳性 (+++): GST- π 活性显著增高, 呈深棕色, 分布于胞浆或胞核, 酶活性分布范围广。

结 果

38 例胆囊腺癌、24 例胆囊粘膜上皮异型增生、12 例慢性胆囊炎、4 例胆囊腺瘤和 22 例正常胆囊粘膜组织中 GST- π 免疫组化检测结果见表 1。由表 1 可见, 22 例正常胆囊粘膜仅有 2 例为弱阳性, 阳性物质分布在少数腺上皮细胞的基底部, GST- π 阳性率为 9%, 慢性胆囊炎 12 例, GST- π 中阳性 2 例, 棕色颗粒分布于胞浆和胞膜, GST- π 阳性率为 16.67% (图 1)。4 例胆囊腺瘤, 1 例 GST- π 呈中阳性 (图 2)。38 例胆囊腺癌中, 高分化型和中分化型腺癌 95% GST- π 呈阳性, 在胞浆、胞膜和胞核均可见棕色颗粒, 为中阳性和强阳性 (图 3)。5 例低分化腺癌 GST- π 均为阳性, 由于腺管排列不规则, 细胞浆内阳性物质分布不均, 8 例未分化癌 75% GST- π 呈阳性, 未分化癌排列紊乱, 不形成腺腔, 棕色颗粒存在于胞浆或胞核中, 呈灶状分布。1 例粘液腺癌呈弱阳性 (图 4)。24 例胆囊粘膜异型增生上皮 GST- π 均呈阳性。随着异型增生级别加重, GST- π 活性增强, 轻度异型增生多为弱阳性, 中、重度异型增生均为中阳性和强阳性 (图 5)。

经统计学分析处理, 胆囊腺癌和胆囊粘膜上皮异型增生的GST- π 阳性率显著高于胆囊正常粘膜、慢性胆囊炎及胆囊息肉($P<0.01$), 而GST- π 表达

的阳性等级与非典型增生的轻重程度成正相关。胆囊腺癌各型之间无显著性差异($P>0.05$)。

表 1 胆囊癌及粘膜上皮异型增生组中GST- π 染色结果

组织学类型	例数	阳性率(%)			
		+	++	+++	小计
正常胆囊粘膜	22	9(2)			9(2)
慢性胆囊炎	12		16.67(2)		16.67(2)
胆囊腺瘤	4		25(1)		25(1)
胆囊粘膜异型增生	24	50(12)	12.5(3)	37.5(9)	100(24)
轻度	8	75(6)	25(2)		100(8)
中度	6	33.4(2)	66.6(4)		100(6)
重度	10		20(2)	80(8)	100(10)
胆囊腺癌	38	18(7)	40(15)	29(1)	87(33)
高分化与中分型	21		47.5(10)	47.5(10)	95(20)
低分化型	5	60(3)	20(1)	20(1)	100(5)
未分化癌	8	37.5(3)	37.5(3)		75(6)
粘液腺癌	1	100(1)			100(1)

注:()内数字为例数

讨 论

近年来, GST- π 抗体认为在人类肿瘤的诊断和研究肿瘤的发生、发展、转归和预后有重要意义。1984年Sato等^[4]首先用免疫组化方法证明, 化学致癌诱发的大鼠肝癌癌前病变中, GST- π 明显增高, 而正常肝组织几乎没有。相继的动物实验证明, GST- π 是一种新的敏感性较强肿瘤标志酶。1986年日本学者证实GST- π 在人类大肠癌组织中表达升高^[5]。现已有报道, GST- π 在胃癌、宫颈癌、肺癌等肿瘤组织中均有明显表达, 其中胃癌、结肠癌及宫颈癌的阳性率大于88%, 肺鳞癌阳性率达100%, 本文实验结果也表明: 谷胱甘肽转移酶表达在胆囊腺癌中阳性率达87%, 支持上述结果, 说明谷胱甘肽转移酶在胆囊癌检测中是一项较敏感的指标。

本文实验结果表明在异型增生组, GST- π 转移酶表达阳性率为100%, 其中中重度异型增生均为中度阳性和强阳性, 主要分布在胞浆, 部分在胞核内。而且GST- π 表达的阳性等级与异型增生的轻重程度成正相关。有文献报道在人宫颈非典型增生的细胞核也检测到谷胱甘肽转移酶, 本文实验结果与此一致, 说明GST- π 是一种较敏感的肿瘤标志物, 有助于胆囊癌的早期发现及早期诊断。至于癌前病变细胞中GST- π 表达阳性的原因推测可能是其作为外源性或内源性物质如致癌原和激素的转运蛋白, 或是解除基因毒性物质的毒性, 从而保护细胞的DNA免受损伤。在抗诱变中起重要作用^[6]。

目前不少学者认为胆囊粘膜上皮异型增生与胆囊癌的发生有密切关系。异型增生具有癌变的潜在危险。重型异型增生应视为癌前病变, 从肿瘤分化程

度和GST- π 阳性率之间关系来看, 高分化型和中分化型腺癌以及异型增生病例GST- π 阳性率高; 但分化程度低的未分化癌和粘液腺癌阳性率低。本文报道与国外文献相符。另外本文实验结果表明, 正常胆囊粘膜、慢性胆囊炎、胆囊腺瘤组织中GST- π 阳性率较低, 且平均强度为弱阳性和中阳性。与胆囊腺癌和胆囊粘膜上皮异型增生相比, GST- π 的阳性率有显著差异, 胆囊腺癌和异型增生GST- π 阳性率明显高于胆囊良性病变和炎性病变。由此可见, 应用人胎盘GST- π 抗体所作免疫组织化学检测可作为胆囊癌早期诊断的新的敏感的肿瘤标志。

胆囊癌组织中GST- π 的表现型可分为三型, 浆型、核膜型和分泌型^[4]。高分化腺癌三型可兼有, 未分化癌则为浆型, 粘液腺癌反应较弱, 阳性物质存在于胞浆内或内分泌物中。此外观察到高分化腺癌常有明显的GST- π 分泌和释放现象, 推测胆囊癌患者血清中GST- π 升高, 可能是由癌细胞分泌到细胞外的GST- π 吸收入血所致。所以, 对胆囊癌患者进行血清GST- π 的含量检测, 有助于估计预后。但血清中GST- π 的水平与免疫组织化学检测活性和强度并不一致, 关于这些问题有待于进一步研究。(本文图见封4)

参 考 文 献

- Cuthonborg C, et al. Purification of Glutathione S-transfase from human placenta. Acta Chem Scand, B 1979, 33: 395
- Warholm M, et al. Glutathione S-transfase in human fetal liver. Acta Scand, B 1990, 135: 225
- 宮城行, 他。各種組織型とト胃癌おるGST- π による免疫組織化学検討。第44回日本癌学会総会記事,

1985. 382
 4 Sota Y, et al. Purification and subunit-structural and immunological characterization of liver and the acidic form as a hepatic tumormarker. Biocalm Riopnys Acta, 1986, 869: 247
- 5 渡边康一, 中根一德. 酶素抗体法. 东京: 学際企画出版社, 1986. 106
 6 袁瑞香, 等. 大肠癌 GST- π 免疫组化研究. 山西医药, 1991, 2: 65

Value of Immunhistochemical Investigation of Anti-GST- π Antibody in the Early Diagnosis of the Gallbladder Carcinoma

Yao Hong, et al

Human placental form of glutathione S-transferase (GST- π) was detected in 38 gallbladder carcinoma and 24 atypical hyperplasia by Avindin biotin peroxidase complex (ABC) method using anti-GST- π antibody. Of 22 normal gallbladder mucosa, 91% were negative for GST- π stain, 95% of 21 well and moderately differentiated gallbladder adenocarcinomas, all of poorly differentiated gallbladder adenocarcinomas, 75% of undifferentiated gallbladder carcinomas, 100% of atypical hyperplasia were positive for GST- π stain. These results indicate that GST- π is a new sensitive marker for immunohistochemical detection of gallbladder carcinoma.

Key Words: GST- π ; Gallbladder carcinoma; Early diagnosis; Immunhistochmical

血清唾液酸 (SA) 测定在血液病及肿瘤临床诊断的观察

宝鸡市妇幼保健院 刘郁明 张文双 李书霞 杨琳娜

SA 存在于细胞膜上与细胞的恶变, 癌转移浸润, 失去细胞接触性抑制, 细胞粘附性降低及肿瘤抗原性有密切关系。本文测定血液病及部分妇科常见肿瘤患者血清中 SA 以观察其在临床的应用价值。

一、测定方法与结果

SA 试剂盒(东瓯生物试剂仪器厂生产), 本组资料 45 例正常人血清 SA 为 $480 \pm 54 \mu\text{g/ml}$, 以 95% 可信区间的上限 $>640 \mu\text{g/ml}$ 为阳性。

各组血清 SA 含量的比较

疾病分组	例数	平均值 $\mu\text{g/ml}$ X \pm S	SA 阳性数 $>640 \mu\text{g/ml}$	P 值	
				$P < 0.01$	$P < 0.001$
急淋	8	586.2 \pm 115	4/8		
急粒	7	674.1 \pm 80.7	6/7		
骨髓异常综合症	1	808.8	1/1		
急性红白血病	1	818.2	1/1		
慢粒、慢淋	3	631.6 \pm 205.9	1/3		
原发性血小板减少紫癜	1	500.0	0/1		
再障	7	529.4 \pm 75.8	0/7		
缺铁性贫血	2	577.5 \pm 43.3	0/2		
恶性肿瘤组	20	587.0 \pm 100.9	4/20	$P < 0.001$	
妇科良性肿瘤组	64	496.6 \pm 73.8	7/64	$P < 0.01$	
无脑儿、死胎组	8	688.7 \pm 67.9	6/8		
乙肝	12	456.4 \pm 89.6	0/12		
感染性疾病组	14	658.5 \pm 65.8	13/14		

* 与正常组对比

二、讨论: 正常组与妇科良性肿瘤组(子宫肌瘤、卵巢囊肿等)。两组经统计学分析 $P > 0.05$ 无显著性差异, 与急性白血病组 $P < 0.01$ 差异显著, 且 SA

值随病情的变化而增高对诊断及治疗均有参考价值。本文宫颈癌组 SA 值均 $<640 \mu\text{g/ml}$ 与文献 50% 阳性差异甚大, 恶性肿瘤组(胃肝、肺乳腺癌)与妇科良性组相比 $P < 0.001$ 有极度显著性差异。对良恶性肿瘤的鉴别诊断有参考价值。

癌胚抗原、上皮细胞膜抗原及Ⅳ型胶原与胃癌分化、浸润和转移的关系



图1 管状腺癌,CEA呈膜浆型分布,腔缘质膜、顶端胞浆及腔内分泌物染色较深($\times 400$)；图2 管状腺癌,EMA呈膜型分布,腔缘质膜及腔内分泌物染色较深($\times 400$)；图3 印戒细胞癌,CEA呈浆型分布,弥散分布于整个胞浆内,染色较深($\times 400$)；图4 低分化腺癌,EMA呈浆型分布,少数呈膜型分布,染色深浅不一($\times 400$)；图5 管状腺癌,Col IV位于癌性腺管的基底膜内,部分区域基底膜变薄、中断($\times 400$)

人胎盘 GST- π 抗体的免疫组织化学检测对胆囊癌早期诊断的意义

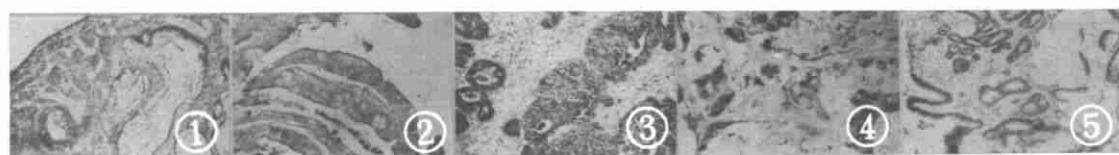


图1 慢性胆囊炎组织中GST- π 中阳性(ABC法 $\times 200$)；图2 胆囊乳头状腺瘤GST- π 中阳性(ABC法 $\times 200$)；图3 胆囊高分化腺癌,GST- π 强阳性(ABC法 $\times 200$)；图4 胆囊粘液腺癌,GST- π 弱阳性(ABC法 $\times 200$)；图5 胆囊粘膜上皮重度异型增生、癌变,GST- π 强阳性(ABC法 $\times 200$)

肺恶性纤维组织细胞瘤

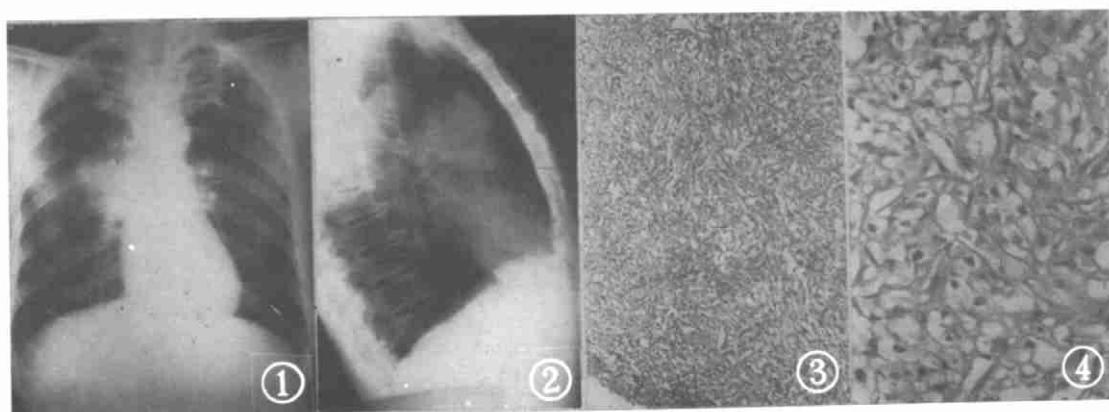


图1 胸片显示右肺门一个约 $8\times 6\text{cm}$ 大小的密度增高阴影,有分叶,边缘不清；图2 侧位片显示肿瘤位于肺门前上方；图3 光镜下显示肿瘤主要有纤维母样细胞,组织细胞、黄色瘤细胞构成,其间夹杂有少量炎细胞。纤维母样细胞核大小不等有异型,呈典型车辐状排列。组织细胞胞浆含有空泡,甚至形成黄色瘤细胞(HE $\times 90$)；图4 纤维母样细胞、组织细胞及黄色瘤细胞三者之间存在过渡现象。瘤细胞大小不等,异型明显,胞浆含有空泡(HE $\times 200$)