维普资讯 http://www.cqvip.com

大豆凝集素受体在大肠癌中的表达及其与大肠癌浸润关系的研究

病理学教研室 王顺和 苗德林

提 要 采用ABC法研究大豆凝集素在38例大肠粘液腺癌、28例大肠管状腺癌及10例大肠切端粘膜中的表达。结果前者染色阳性率及强度明显高于管状腺癌、且神经氨酸酶消化后大部分病例染色增强，尤以肠壁深肌层中的癌细胞更明显。切端粘膜虽阳性率较高、但染色较弱，神经氨酸酶消化后染色不变。表明大肠粘液腺癌有较多的N—乙酰半乳糖胺及唾液酸残基。提示这两种糖基的表达与大肠粘液腺癌浸润有关。

关键词 结直肠癌；凝集素受体；癌浸润
中图分类号 R735.3

正常大肠粘膜上皮癌变后，其表面糖蛋白随之发生变化[1]，因而大肠癌凝集素受体表达不同于正常大肠粘膜。而浸润力较强的大肠粘液腺癌和浸润力较低的大肠管状腺癌之间的凝集素受体表达是否也存在差别，目前尚未发现文献报道。因此，在以往实验的基础上，选择大豆凝集素(Soybean agglutinin)采用ABC法并结合神经氨酸酶消化作进一步研究，以探讨大肠粘液腺癌和管状腺癌之间是否存在凝集素受体的差别，并探索其与大肠癌生物学行为间的关系。

材料与方法

1. 材料

(1)组织来源 选择1984—1991年附一院外科手术切除大肠癌根治标本66例，其中粘液腺癌38例(包括7例印戒细胞癌)，管状腺癌28例。有记载的62例中，男女各31例。平均年龄59岁(26—71岁)。

取大肠癌根治标本上切端粘膜10例，作为对照组。

以上组织均经10%中性福尔马林固定、常规脱水、石蜡包埋。

(2)试剂 生物素化的大豆凝集素(b—SBA)，ABC药盒均系美国Vector公司产品。神经氨酸酶系卫生部兰州生物制品研究所产品(系来源于霍乱弧菌)。

2. 方法

各种标本常规5μm连续切片共3张。1张常规H.E.染色供一般形态观察。其余两张采用ABC法作凝集素亲和组化染色(b—SBA1∶500，ABC试剂1∶100)，其中1张在b—SBA孵育前，用神经氨酸酶消化(20μ/ml，37℃，30min)。

染色结果判断：免疫反应阳性部位显示棕黄色细颗粒。无棕黄色为阴性(－)。浅棕黄色为弱阳性(＋)，深棕黄色为强阳性(＋＋＋)，两者之间为中等阳性(＋＋)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

结　果

1. 大肠癌SBA染色结果

大肠癌分类参照全国大肠癌病理协作组制定的大肠癌组织学类型及诊断标准[2]。

(1)大肠粘液腺癌　38例，包括7例印戒细胞癌。此型癌肿以癌组织内或癌细胞内出现大量粘液为特征。SBA染色阳性率为97.4%，用神经氨酸酶消化后其中20例染色强度增加，占52.6%。阳性反应一般表现为＋＋→＋＋＋。阳性物质分布于癌细胞膜、胞浆及癌性粘液中(图1,2)。并且观察到浸润至肠壁深肌层中的癌细胞其SBA染色较粘膜下层中的癌细胞更强，且用神经氨酸酶消化后染色强度增加亦更明显。

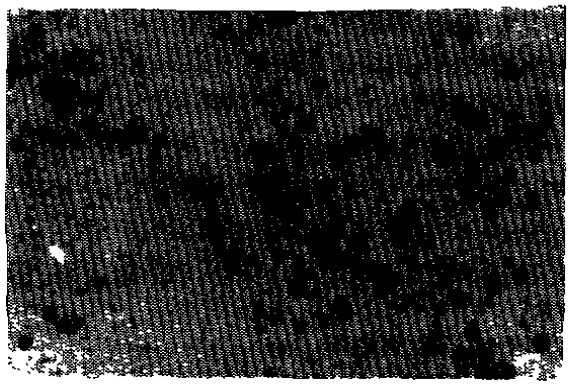


图1　大肠印戒细胞癌SBA免疫染色。阳性物质主要分布于癌细胞胞浆中。神经氨酸酶消化前，ABC法　X200

(2)大肠管状腺癌　28例。此型癌肿癌细胞呈腺管状排列。其SBA染色大多为阴性(图3)。阳性率仅14.3%。神经氨酸酶消化后染色增加不明显。阳性反应一般表现为＋→＋＋。阳性物质主要分布于腺腔纸，少数分布于胞浆。

对部分病例作了半乳糖特异性的花生凝集素(PNA)染色。结果在大肠管状腺癌中的表达较强，且阳性率较高(83.3%)。而大肠粘液腺癌的阳性率及染色强度均较低，明显低于粘液腺癌的SBA染色。

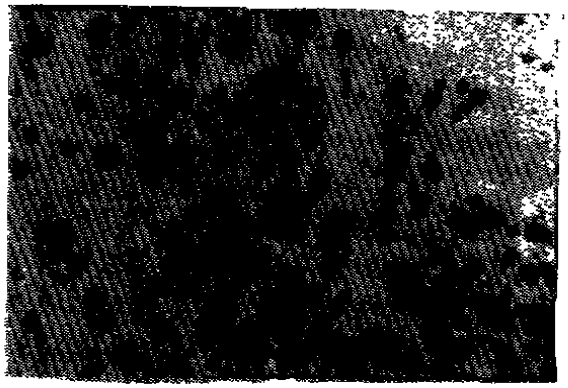


图2　同图1。神经氨酸酶消化后，SBA免疫染色明显增强。ABC法　X200

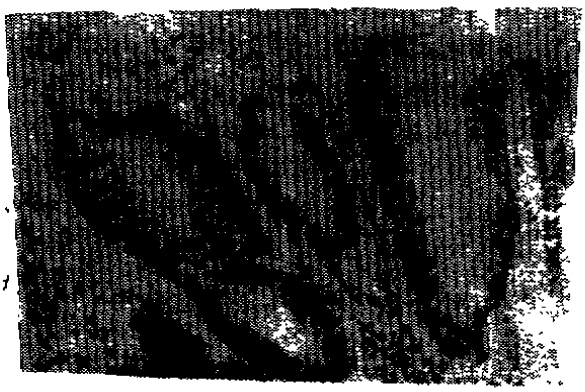


图3　大肠癌状腺癌。SBA免疫染色为阴性。神经氨酸酶消化前。ABC法，X200

2. 对照组SBA染色结果

对照组粘膜H.E.染色均未发现异常变化。SBA阳性率为90.0%。用神经氨酸酶消化后染色不变。染色强度表现为＋＋。分布于杯状细胞的粘液颗粒中。腺体上部的杯状细胞较下部的杯状细胞染色更明显。粘膜的表面上皮呈弱阳性(图4)。对照组花生凝集素染色为阴性。

大肠癌及对照组SBA染色结果及神经氨酸酶消化对SBA染色的影响总结于表1，表2。

维普资讯 http://www.cqvip.com

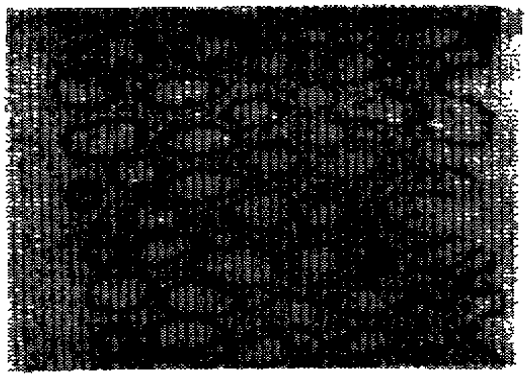


图 4　大肠切端粘膜 SBA 免疫染色，阳性物质分布于杯状细胞粘液中。神经氨酸酶消化前 ABC 法 X200

表 1　对照组粘膜、大肠癌 SBA 染色结果

	类　型	例数	阳性数	阴性率(%)
A	对照组	10	9	90.0
B	大肠粘液腺癌	38	37	97.4
C	大肠管状腺癌	28	4	14.3

经 x^2 检验　B 与 C 之间 $P<0.005$

讨　论

1、SBA 在大肠癌中的染色特性

消化后对 SBA 染色结果影响不明显。对照组 SBA 染色虽然阳性率亦较高，但神经氨酸酶消化对 SBA 染色无影响。经统计学检验，大肠粘液腺癌和管状腺癌 SBA 染色阳性率及神经氨酸酶消化后染色增加例数的百分率均有显著性差异($P<0.005$)。与 SBA 结合的糖基是糖链末端的 N—乙酰半乳糖胺(GalNAc)。用神经氨酸酶消化的目的是去掉末端的唾液酸，以暴露次末端的糖基。由此表明大肠粘液腺癌糖蛋白糖链末端有较多的 GalNAc，且大部分被唾液酸所遮盖。而大肠管状腺癌糖链末端暴露的 GalNAc 较少，也很少被唾液酸所遮盖。对照组粘膜糖蛋白糖末端是 GalNAc，但未被唾液酸遮盖。

Boland 等[1] 和 Caldero 等[3]应用凝集素研究大肠癌糖蛋白的改变，结果大肠癌 SBA 受体表达较正常大肠粘膜少。而我们的实验结果则表明 SBA 在大肠粘液腺癌中的染色阳性率较高，而在管状腺癌中的阳性率较低。我们分析产生这种差别的原因是以上两作者的实验未将大肠癌各组织学类型分开来研究。由于大肠粘液腺癌在大肠癌中占的比例相当少，即使它们染色全部阳性，而 SBA 在大肠癌中的表达亦很低，所以，我们的实验结果较他们的结果更切合实际。

表 2　唾液酸消化对大肠癌 SBA 染色的影响

类　型	例数	−	+	++	+++	消化后染色增强例数	增加率(%)
大肠粘液腺癌	38	* 2/1	6/2	24/15	6/20	20	52.6
大肠管状腺癌	28	24/22	2/2	2/4	0/0	4	14.3

*：消化前例数/消化后例数

经 x^2 检验　$P<0.005$。

根据本实验的观察结果，大肠粘液腺癌的 SBA 染色表现出很高的阳性率，染色反应亦较强。阳性物质主要分布于癌细胞的胞浆、胞膜及癌性粘液中。用神经氨酸酶消化后约 52.6%的病染色增强。且观察到浸润至肠壁深肌层中的癌细胞 SBA 染色较粘膜下层中的更明显。大肠管状腺癌 SBA 染色阳性率仅为 14.3%，且染色反应较弱，用神经氨酸酶

2. N—乙酰半乳糖胺和唾液酸的表达与大肠粘液腺癌浸润的关系。

虽然凝集素应用于肿瘤的研究已 10 多年，但着重于肿瘤的分化与诊断，而用于探索瘤细胞的生物学行为尚少。本文仅将有关文献报道结合实际结果作初步介绍，以便今后作进一步研究。

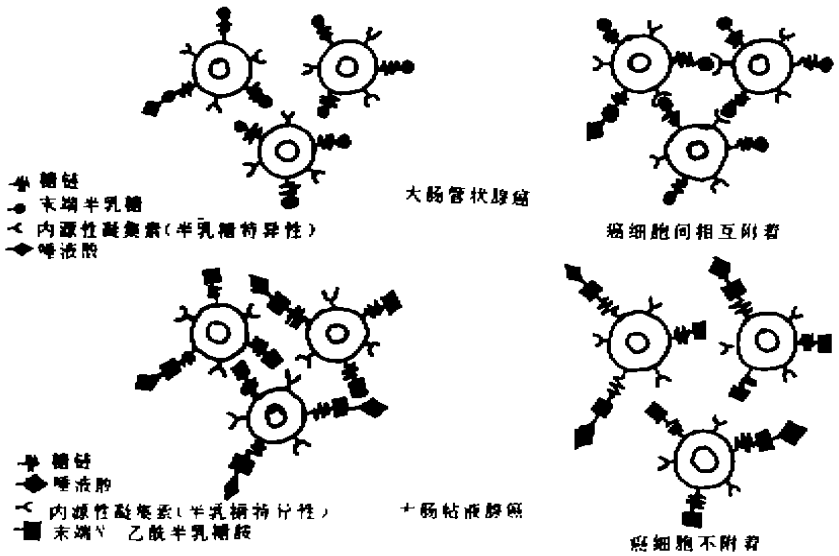
维普资讯 http://www.cqvip.com

(1)N—乙酰半乳糖胺的表达与大肠粘液腺癌浸润的关系

SBA 是与 N—乙酰半乳糖胺结合的凝集素。在人体乳腺癌凝集素受体研究中，Leathen 等[4-5]用一组凝集素检测了癌细胞糖基表达与转移潜能的关系。发现局部淋巴结的转移与 N—乙酰半乳糖胺的表达密切有关。且其浸润和转移行为可以通过检测原发癌是否有 N—乙酰半乳糖胺的表达来预测。因此，他们提出 N—乙酰半乳糖胺的表达可以作为乳腺癌浸润和转移潜能的早期指标。在大肠癌中，大肠粘液腺癌具有很强的浸润能力。实验结果表明大肠粘液腺癌不仅有很多 N—乙酰半乳糖胺，并且浸润至肠壁深肌层中的癌细胞较粘膜下层中的癌细胞 N—乙酰半乳糖胺表达更多。而浸润力低的大肠管状腺癌 N—乙酰半乳糖胺含量极少。半乳糖特异性的花生凝集素在大肠管状腺癌中的表达较强，但在大肠粘液腺癌中表达较弱，明显低于 SBA 染色。表明大肠管状腺癌糖链末端表现出较多的半乳糖。近年来的研究报告[6-7]，任何肿瘤细胞表面皆存在共同的半乳糖特异性的内源性凝体素，其作用是促使瘤细胞表面糖链末端的半乳糖基相互聚集，进而介导肿瘤细胞间相互附着，不易分离。大肠管状腺癌糖链末端正好是较多的半乳糖，提示内源性凝集素易于促使瘤细胞相互粘着，不易分离。这可能是癌细胞仍呈腺管状排列，不易浸润至周围组织的原因之一。而大肠粘液腺癌糖链末端是 N—乙酰半乳糖胺和唾液酸，并非半乳糖。因而大肠粘液腺癌不能依靠半乳糖特异性的内原性凝集素来介导癌细胞间的相互附着，致使其从原发癌游出而浸润至周围组织。故其恶性程度高，转移局部淋巴结亦多，预后较差。如示意图所示：

(2)唾液酸的表达与大肠粘液腺癌浸润的关系

本实验中大肠粘液腺癌用神经氨酸酶消化后，大部分病例 SBA 染色较消化前强，并且浸润至肠壁深肌层中的癌细胞用该酶消化后染色增强更明显。而浸润力低的大肠管状腺癌用该酶消化后仅有少部分染色增强。以上事实表明大肠粘液腺癌不仅有较多的 N—乙酰半乳糖胺，而且末端有较多的唾液酸。由于唾液酸具有生物掩蔽作用[8]。可以影响到巨噬细胞及免疫活性细胞对肿瘤特异性抗原的识别。其原因可能是大量的、带负电荷的唾液酸覆盖了肿瘤细胞膜上的抗原决定簇，使



图示内源性凝集素和癌细胞糖链的相互作用

维普资讯 http://www.cqvip.com

其不能被宿主体内的免疫防御系统所识别。此外，实验证明唾液酸可以削弱转移性肿瘤细胞与纤维连接蛋白及IV型胶原纤维的粘附[9]，因而有利于肿瘤细胞的扩散、游走和浸润。

参 考 文 献

1 Boland CR, et al. Pro. Natl. Acad. Sci. USA 1982,79(6):2051

2 全国大肠癌病理协作组，中华肿瘤杂志 1986,8(2):156

3 Caldero J, et al. Vir Arch. A 1989,45:347

4 Leathem A. et al. J. Pathol. 1985,145:73A

5 Leathem A. et al. J. Pathol. 1984,142:32A

6 Raz A. et al. Cancer Res. 1981,41:32A

7 Meromsky L, et al. Cancer Res. 1986,46:5270

8 Schauer R. 国外医学《分子生物学分册》1986,8(4):185

9 Dennis J, et al. Nature (London) 1982,300:274

(收稿日期 1993—11—02)

A STUDY ON THE RELATION BETWEEN SOYBEAN AGGLUTININ (SBA) EXPREESSION IN COLORECTAL ADENOCARCINOMA AND CANCER CELL INVASION

Wang Shunhe, et al.

Dept. of Pathology

Sixty six surgical specimens of colorectal adenocarcinoma were divided into two groups: (1) Mucinous adenocarcinoma 38 cases; (2) Tubular adenocarcinoma 28 cases. 10 normal specimens from the resected margins of colorectal tracts were used as control gronp . They were studied by Avidin—Biotin peroxidase immunohistochemical techniques.

The results showed that the positive rate of SBA in mucinous adenocarcinoma is much higher than that in tubular adenocarcinoma. After neuraminidase digestion, all groups showed more intensive staining than those of the non—neuraminidase digestion except tor control group.

The present study indicates that there are more N—acetygalactosamine and sialic acid in the glycoprotein compartments of mucinous adenocarcinomas than those in the tubular adenocarinomas. And the expression of the two glycosamines shows a close association with tumor invasion of mucinous adenocarcinoma.

KEY WORDS Colorectal carcinomas; Receptor for lectin; Tumor invasion

---

上接 179 页

PHARMACOKINETICS OF ENOXACIN, CIPROFLOXACIN, OFLOXACIN AND PEFLOXACIN

Xiao Yonghong, et al

Dept. of Infectious Diseases, The First Hospital

The pharmacokinetics of enoxacin, ciprfloxacin, ofloxacin and pefloxacin, after administration of a single oral dose of 400mg , were stndied and reported in this paper. 6 volunteers participated in each drug group. Serum drug concentrations were determined by HPLC. The concentration and time profiles of 4 drugs all conformed to one—compartment open model. The Tmax (h) and Cmax (μg/ml) were 2.12 and 2.47 for enoxcin, 1.55 and 2.55 for ciprofloxacin, 1.29 and 4.41 for ofloxacin, 3.76 and 6.74 for pefolxacin. The Vd of each drug was 3.07, 2.47, 1.97, 2.60L/kg respectively. The elemination half—lives were 2.35, 2.93, 3.74, 13.35h respectively. Thus, the Cmax and T1/2ke were the highest and longest for pefloxacin, intermediate in value for ofloxacin and ciprofloxacin, and lowest for enoxacin.

KEY WORDS Enoxacin; ciprofloxacin; Ofloxacin; Pefloxacin; Pharmacokinetics