维普资讯 http://www.cqvip.com

第19卷 第4期 重庆医科大学学报 Vol. 19 No. 4
1994 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1994

267-269

胃粘液细胞癌中72KDⅣ型胶原酶的表达与其浸润的关系

R735.202

病理学教研室 彭 慧 苗德林 易永芬

提 要 采用免疫组织化学方法研究22例胃粘液细胞癌中72KDⅣ型胶原酶的表达及Ⅳ型胶原在胃癌组织的分布，结合电镜进行胃粘液细胞癌三种类型癌细胞的观察。结果显示该酶在胃粘液细胞癌第Ⅰ型细胞中有强烈的表达，Ⅰ、Ⅱ型细胞表达较弱，癌细胞周围Ⅳ型胶原呈阴性。揭示Ⅳ型胶原酶的表达与癌细胞的分化状态有关。癌细胞分泌Ⅳ型胶原酶降解基底膜Ⅳ型胶原，从而便于其向间质浸润。

关键词 胃粘液细胞癌；72KDⅣ型胶原酶
中图分类号 R735.202

我们以往对胃癌细胞与其浸润关系的研究表明，胃粘液细胞癌分泌多种水解酶如酸性磷酸酶、半乳糖苷酶等至细胞外间质，前者可破坏宿主细胞间钙桥、后者破坏纤维连接蛋白等防御结构，利于其浸润[1][2]。鉴于粘液细胞癌在浸润及转移过程中必须首先突破基底膜这一道屏障。体外研究表明基底膜中的Ⅳ型胶原可以被肿瘤细胞分泌的Ⅳ型胶原酶所降解[3]，从而便于癌细胞穿破基底膜，向间质浸润。因此，我们研究了胃粘液细胞癌中72KDⅣ型胶原酶的表达与其浸润的关系。

材料与方法

选择外科手术切除胃粘液细胞癌标本22例，经10%福尔马林固定，石蜡包埋，连续切片（厚5μ）。分别作如下染色：1. HE染色：按常规方法进行；2. 72KDⅣ型胶原酶免疫组化染色：采用ABC—DAB法，染色步骤参照carlos方法进行[4]。一抗用兔抗人72KDⅣ型胶原酶，由美国国立卫生研究所（NIH）william G·stetler－stevenson博士提供。ABC药盒系vector公司产品。用正常兔血清及TBS代替一抗设置阴性对照，用正常人乳腺组织设置阳性对照。染色结果判断：由着色强度和着色范围而定。着色强度按浅黄色（＋）、黄色（＋＋）、棕黄色（＋＋＋）判断，着色范围按细胞着色数0—25%为（＋）、25—75%为（＋＋），＞75%为（＋＋＋）判断。每例综合评为阴性、弱阳性、阳性及强阳性。

3. Ⅳ型胶原免疫组化染色

亦采用ABC法。抗Ⅳ型胶原单克隆抗体由Dako公司出品（稀释度1∶50）。ABC药盒由本校病生教研室提供。以TBS代替一抗设置阴性对照，每例中血管内皮下基底膜为阳性自身对照。结果判断：基底膜（BM）染色可归为以下几级，呈阴性为0级，碎片状为1级，薄而不连续状为2级，厚而不连续状为3级，连续线状为4级。

收集2例胃粘液细胞癌及2例正常胃粘膜作常规电镜标本，经半薄切片定位后，制超薄切片、用

维普资讯 http://www.cqvip.com

H—600型透射电镜观察。

结　果

1. 72KDⅣ胶原酶染色结果

胃粘液细胞癌光镜下分为以下三型细胞，它们常于同一病例中存在。第Ⅰ型：细胞体积小，胞浆少，嗜碱性，核为园形或椭园形，弥散分布。该型癌细胞胞浆呈阴性或弱阳性染色。第Ⅱ型：细胞体积较Ⅰ型细胞大，胞浆嗜伊红，核多呈园形或杆状，散在分布，少数病例偶见排列为条索状或不完整腺管状。该型癌细胞散在分布者多呈阳性或强阳性，着色部位于胞浆，有时核可被阳性颗粒遮盖（见图1）。第Ⅲ型：细胞为园形或椭园形，胞浆丰富透亮，核大小不一，染色深，多被挤至细胞一侧形成印戒状细胞，均呈弥漫分布，并分泌粘液至周围间质形成粘液湖。该型癌细胞内透明的粘液区均为阴性，而核周和细胞边缘的胞浆为弱阳性。

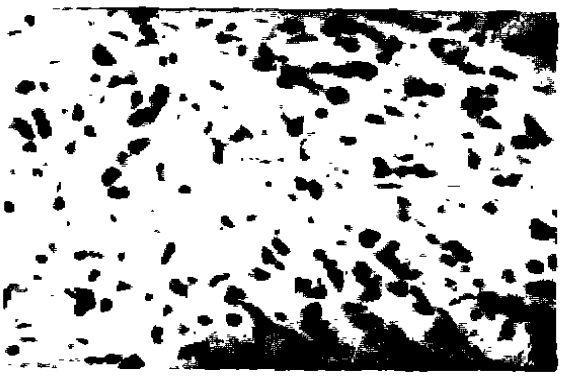


图1　胃粘液细胞癌Ⅰ型细胞72KDⅣ型胶原
酶呈强阳性染色　　ABC法×400

2. Ⅳ型胶原染色结果

散在分布的第Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型癌细胞周围基底膜染色阴性，排列为条索状或不完整腺管状的癌细胞基底膜染色呈2级或1级。

3. 电镜观察

胃粘液细胞癌三种类型细胞的结构电镜下观察如下，第Ⅰ型细胞：细胞体积小，胞浆少，核浆比例大，游离核蛋白体多，而粗面内质网与肿胀线粒体数量极少；第Ⅱ型细胞：细胞体积大，胞浆丰富，内有大量粗面内质网，偶可见高尔基氏复合体。粗面内质网多分布于核周，部份扩张状。胞核较大，形状不规则。胞浆内有数量不等电子密度低的分泌颗粒散在分布。第Ⅲ型细胞：细胞浆内充满各种形态、大小、电子密度不同的分泌颗粒，其中以低电子密度较多。可见粗面内质网及高尔基氏复合体位于核周及细胞边缘，部份扩张。胞核位于细胞的一侧。

讨　论

胃粘液细胞癌72KDⅣ型胶原酶的表达：我们观察到胃粘液细胞癌Ⅰ Ⅱ Ⅲ型细胞之间72KDⅣ型胶原酶的表达有差异，以Ⅰ型细胞最强，Ⅰ、Ⅲ型细胞较弱或阴性，与细胞的分化状态有关。Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型细胞反映了胃粘液细胞癌不同的分化状态。电镜观察见Ⅰ型细胞胞浆少，内质网及高尔基氏复合体少，游离核蛋白体多，因此其合成及分泌蛋白质的功能不活跃，导致酶的表达很低或不表达。Ⅱ型细胞粗面内质网及高尔基氏复合体数量明显增多，故细胞合成分泌蛋白功能活跃，酶的表达亦高。Ⅲ型细胞粗面内质网及高尔基氏复合体呈扩张状，且多位于核周和癌细胞边缘，属于合成分泌蛋白功能旺盛的细胞，但由于其粘蛋白的大量合成，细胞中粘液颗粒增多，且相互融合遮盖了大量的细胞器，不易在透射电镜中观察到，故酶的染色阳性反应亦难以显示。而核周及胞浆边缘阳性部位与高尔基体及粗面内质网在细胞中的分布一致。

72KDⅣ型胶原酶与胃粘液细胞癌浸润的关系：Fessler等证实在体外，72KDⅣ型胶原酶能特异地作用于Ⅳ型胶原单体上的一个特殊位点，使之发生断裂[5]，进而使Ⅳ型胶原

维普资讯 http://www.cqvip.com

被其它的蛋白酶彻底降解。我们观察到72KDⅣ型胶原酶在胃粘液细胞癌Ⅱ型细胞中有强烈的表达，部份Ⅰ、Ⅲ型细胞表达较弱，同时观察到散在分布的癌细胞基底膜染色呈阴性，提示胃粘液细胞癌分泌72KDⅣ型胶原酶降解基底膜Ⅳ型胶原，从而利于癌细胞突破基底膜向间质浸润。

浸润于间质中的Ⅱ型细胞胞浆内透明的粘液区及Ⅱ型细胞周围粘液湖中未见酶的着色，提示癌细胞在间质中的浸润与72KDⅣ型胶原酶关系不大，而与粘液中含有的其它酶，如组织蛋白酶等的作用有关。关于后者已在肠癌中得到证实。体外实验观察到72KDⅣ型胶原酶对间质Ⅰ、Ⅲ型胶原及平滑肌未见有明确的降解作用，我们的结果支持以上观点。

参 考 文 献

1 苗德林，等. 中华病理学杂志 1983；12(3)：169

2 易永芬，等. 中华病理学杂志 1991；20(4)：279

3 Liotta L. A，et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 1979，76：2268

4 Carlos M，et al. Am J. Pathol. 1990，136(3)：585

5 Fessler L. I，et al. J. Biol. Chem. 1984，259(15)：9783

(收稿日期 1993—12—28)

A STUDY ON RELATIONSHIP BETWEEN THE EXPRESS ON 72KD TYPE IV COLLAGENASE IN GASTRIC MUCINOUS CELL CARCINOMA AND CANCER INVASION

Peng Hui，et al.

Dept. of pathology

The expression of 72KD type IV collagenase and distribution of type IV coolagen in 22 cases of gastric mucinous carcinoma were studied by immunochistochemical technique and the three types of mucinous cell in gastric mucinous carcinoma were also studied by electronmicroscopy，The results show that intense cytoplasmic immunostaining of the enzyme could be found in type II cancer cell，while in type I and III cancer cells，a weak expression of the enzyme. The immunostaining of type IV collagen is negative around the diffuse cancer cells. The results indicate that production of 72KD type IV collagenase is related to differentiation of mucinous cell carcinoma. Mucinous cancer cells are able to elevate and secrete type IV collagenase to degrade basement membrane collagen，thus facilitating cancer to infiltrate into the stroma.

(上接第 262 页)were as control. The lysozyme revealed the most intense staining in the mucinous cell carcinoma and a tendency to show the more intense reactions in metastatic cancer cells of local lymphonodes than those in original lesions. The enzyme is also displayed in neck mucinous cells of propria gland and columear epithlial cells at the bottom of the foveola which were in the resected gastric mocosa with duodenal ulcers. The majority of enzyme labelled by gold particals was aggregated in secretroy granules with moderate electron density.

KEY WORDS Lysozyme Gastric Carcinoma；Immunohistochemistry；Ultrastructural Immunolocalization used