维普资讯 http://www.cqvip.com

微循环系统，通常肝微动脉的压力为30.0～35.0mmHg(4.0～kPa)，终末门微静脉的压力为3.0～4.0mmHg(0.4～0.5kPa)；微动脉可以直接把动脉血喷射入窦状隙，这样不仅影响了窦状隙的血流速度和血氧人含量，而且也是提高了窦状隙的血压并增加了对静脉血的推力。但低压的门静脉血则是靠肝微动脉和毛细血管前括约肌的周期性活动(开放与关闭)而进入压力比它高8倍，由动脉血充盈的窦状隙内。即当微动脉人口括约肌开放时，动脉血在高压下(4.0～4.7kPa)射人窦状隙或终末门微静脉，并把低压的门静脉血带入引流的中央静脉；当微动脉人口括约肌关闭时，门静脉血仍然可以借助于终末门微静脉压（0.49kPa）和中央静脉压(0.049kPa)之间的压力差而流动。因此，肝微动脉的周期性关闭在调节肝脏的血流方面起重要作用；此外，微动脉和窦状隙人口及出口处的内皮细胞和枯否氏细胞的肿胀或缩小。也能影响窦状隙和窦周间隙之间血液的运转，对局部循环进行一定的调节[11]。贮脂细胞对微循环是否有调节作用目前还不清楚，但是这种细胞同内皮细胞和枯否氏细胞一样，都具有微管和微丝，因而提示有收缩的能力。

微血管的舒缩状态及内皮劝胞的活动均处于神经和体液因素的调节下。来自腹腔神经结的交感神经(肾上腺素能)纤维，缠绕于肝动脉周围形成肝丝，由肝门人肝，支配血管壁平滑肌，起收缩血管的作用，此外，在血浆和组织液中尚有多种能影响血管平滑肌舒缩的血管活性物质，如1.激素，包括去甲肾上腺素，肾上腺素、血管加压素和血管紧张素II等，2.代谢产物，胆汁中的某些物质借助于胆管周围毛细血管丛与肿管之间的一种反向交换装置被重吸收；另外，在胆道上皮中的基底颗粒细胞可以释放"P"物质，也同时被胆管周围毛细血管丛吸收。这些被吸收的物质都可以调节和影响肝小叶的微循环。再者，胆盐被小肠壁吸收后通过肠肝循环人肝也具有调节肝微循环的功能。

三　胆管病变时的肝内微循环

(一)胆管完全阻塞时肝内微循环的变化

胆总管完全阻塞后，胆道压力逐渐升高，初期，毛细血管上皮细胞的微绒毛部份或全部消失，胆管亦发生肿胀呈水泡状[12]，随着胆管的不断扩张，Glission鞘中邻近的门静脉、肝动脉必然受压迫，使进人肝窦的阻力增高，灌流减少。Edlund[13]用活体显微镜观察发现大鼠在结扎胆总管2～6天后，肝窦内有红细胞聚集，中央静脉血流变慢，内有血细胞聚集，但无血栓形成；8～15天，在门静脉，肝窦和中央静脉内均有红细胞聚集，且中央静脉的血流非常缓慢，并出现小血栓。Franco[14]和Kodamo[15]均观察到在结扎大鼠胆总管2～4周后，肝脏血流明显减少，肝窦内胶原纤维增生，4周以后即使解除胆管阻塞，肝血流也不可能再恢复正常，因此，不可避免地会发生胆汁性肝硬化。Lozaro[16]在结扎家兔胆管后的4～12天分别作肝内血管铸型扫描电镜观察，发现多数肝窦是由肝动脉供血，仅有少数是肝动脉和门静脉双重供血，肝动脉在胆管结扎后4天就增粗，7天后门静脉供应肝窦质的分支进行性减少，中断的门静脉可通过胆管周围血管丛形成侧支循环进人肝窦，中央静脉和小叶下静脉常见到扩张，门静脉在胆管周围、肝表面、胆管与肝静脉之间形成交通支。黄晓强等人[17]将家兔胆总管双重结扎，50天后作肝微血管铸型扫描电镜观察，发现肝窦明显减少，残存的肝窦呈细条索状，少数肝窦扩张，形成双静脉吻合，再生结节中央部份不充盈，有动脉小分支呈丛状包绕，门静脉的小分支减少，肝动脉轻度扩张。

(二)胆管梗阻合并细菌感染时肝内微循环改变

金德等[18]报道结扎狗的二级胆管后注人大肠杆菌和脆弱杆菌混合液，造成结扎处以上胆道的完全梗阻伴感染病变。三个月后可见到肝脏体积缩小呈颗粒状，光镜下部分肝

维普资讯 http://www.cqvip.com

小叶结构破坏，汇管区小胆管及纤维组织大量增生，分割肝小叶呈结节状，小时间静脉扭曲、减少，肝动脉分支内膜增厚等改变，这些病理变化较单纯结扎同级胆管者更为明显。黄晓强等[19]报道，对肝内胆管结石病人在手术中取出的肝叶进行微血管铸型扫描电镜观察，发现胆管的梗阻伴感染使胆管明显扩大，管壁增厚，肝内胆管周围毛细血管丛亦随之扩张，血管丰富。汇管区呈明显扩大，纤维组织增多，其中含有丰富的互相吻合的血管网，这些血管的来源主要是增生的纤维组织中新生的毛细血管和一些肝实质破坏后或萎缩后残留的毛细血管化的肝窦。纤维隔中的血管杂乱而无一定方向，多数扭曲，且血管数的多少及扭曲变形同纤维化的程度呈正比。Kyung[20]用肝血管造影证实在胆管癌或肝细胞癌侵犯胆管时，胆管周围血管丛明显扩张，如病变持续发展，则胆管周围血管丛的内层血管变细，有的闭塞、而外层静脉网在纤维组织压迫下变细、扭曲，造成胆管壁的血液循环障碍，最终影响肝内微循环灌流。

Huang T.等人[21]将狗折胆总管作不会结扎，造成胆管部分梗阻后，注入大肠杆菌到梗阻的胆管管内，发现在20cmH_2O(1.96kpa)压力下，细菌出现于胸导管淋巴液中，当压力升至25cmH_2O(2.45kpa)时，细菌即在液中出现，由于毛细胆管高压及合并的细菌感染作用，使正常时的血胆屏障遭到破坏，胆汁及微细结石、细菌或碎片被压入Diss间隙和肝实质内，造成门管区及肝实质内多发性脓肿发生，必将对肝内微循环造成严重影响。殷凤峙等人[22]观察了100例肝胆管结石肝叶切除的标本，发现有胆砂性血栓者为30例，发病率高达30%。胆砂性血栓主要在肝内微循环系统的小叶间静脉、肝窦、中央静脉及小叶下静脉中，胆砂血栓内含有杆菌及白细胞，这种大量带菌的胆砂在肝内不仅引起炎性病变和小脓肿形成，而且对肝内微循环也造成严重损害，因此，胆道梗阻伴感染对肝内微循环的影响应足以引起重视。

正常及病理状态下肝脏的微循环都十分重要，但由于肝微循环解剖上的特点及研究方法学上的困难，这方面的文献报道不多，还有许多问题未能取得共识，必须继续深入研究，本综述是将目前所查到的文献收集综合，难免挂一漏万，待今后继续补充修改。

参 考 文 献

1. Rappaport AM. et al. adv. Microcirc 1975; 6:155
2. Wiedeman MP. et al. Microvasculature of specific organs and tissues. In:Wiedeman MP. et al. eds. An introduction to microcirculation New York:Academic Press 1981:47
3. Pappaport AM. Microvascular Research 1973;6:212
4. Metta PM. Arch Histol Jpn 1984;47(1):1
5. Arias IM. The liver; biology and pathobology, New York Raven, 1982;627
6. 田 牛.微循环第一版 北京:北京科学出版社 1980;131
7. Lautt WW. Gastroenterology, 1977; 73:1163
8. Lifsion N. AM. J. Physiology 1970;218:1480
9. 张朝佑器官内微血管铸型扫描电镜图谱 科学出版社1988;54
10. 廖 瑞,等.解剖学报 1985;16(1):89
11. Nolan JP. Hepatology 1981;1:458
12. Desmot VJ. Cholestasis: A Problem. In:Csomos G. et al. eds. Clinical Hepatology. History Present state Outlook.Berlin: Springer-Verlag, 1983;299
13. Edlund Y. Acta Pathol Micro Scand 1962;54(2)181
14. Franco D. Arch Surg 1979;114:1064
15. Kodama O. et al. Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi 1990;87(1):49
16. Lozano IDR. J. Path Bact. 1965;90:471
17. 黄晓强,等.中华实验外科杂志 1987;4(4):151
18. 金 德,等.延边医学院学报 1990;13(9):195
19. 黄晓强,等.中华外科杂志 1987;25(6):330
20. Kyung JC. et al. Radiology 1983;147:357
21. Huang T. Arch Surg. 1969;98:629
22. 殷凤峙.实用外科杂志 1991;11(4):173

(收稿日期1993-05-10)

维普资讯 http://www.cqvip.com

第19卷 第1期 重庆医科大学学报 Vol.19 No.1
1994 ACTA UNIVERSITATS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1994

上皮膜抗原，单克隆抗体

75~78

上皮膜抗原单克隆抗体研究动态

病理生理教研室 程 正 综述 范维珂 审校

R392.101

中图分类号 R446·0

乳汁中的脂肪以脂球形式存在。Storch等人用直接染色法发现乳脂球外包有一层蛋白膜，称为乳脂球膜(Milk Fat Globule Membrane, MFGM)。此后，Herald, Thompson等人用化学分析法证实MFGM为一种主要由磷脂和蛋白组成的结构，是乳腺上皮以顶浆分泌方式泌乳时由细胞质膜包绕脂滴所形成[1]。Dowben等用电镜观察发现MFGM上含有多种蛋白、脂类及糖等成分[1-5]。为了研究MFGM的生物学意义，不少学者用其提取物制备多克隆及单克隆抗体。用这些抗体所作的免疫组化研究显示，MFGM的抗原不仅存在于乳腺上皮细胞，也存在于其他腺与非腺上皮细胞，且多分布于上皮细胞管腔面的表面膜，基本上不存在于非上皮类型的细胞。因而Heydeman等人认为这类抗原具有上皮组织特异性，称为上皮膜抗原(Epithelial Membrane Antigen, EAM)[6]。本文拟就EMA及其单克隆抗体研究和应用动态作一扼要综述。

一、EMA的生化特性

EMA是从乳脂球膜(MFGM)中提取的一类主要含蛋白及糖类的复合物。其制备一般先用低速离心从乳汁中收集乳脂。用超声、除垢剂、低渗或冻融等方法粉碎乳脂球膜。高速离心去除脂滴收集MFGM[1,2]。经电镜鉴定收获物确为MFGM后。再用萃取法或柱层析法制备EMA[4-6]。Dowben等最早用透射电镜观察到MFGM具有典型的单位膜结构，即两侧高电子密度区和中间低电子密度区的脂质膜结构，厚约90°A[1,2]化学分析发现膜上含有碱性磷酶酶、酸性磷酸酶、磷酸二酯酶、胆碱酯酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、三磷酸腺苷酶、醛缩酶、半乳糖转移酶、黄嘌呤氧化酶等十余种酶和大量磷脂[1]。用不同方法从MFGM中提取的EMA制备物，其成分不尽相同。一般用化学分析和十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺 胶电泳(SDS-PAGE)鉴定这些提取物的化学组成和蛋白分子量范围。Ceriani最早用萃取法提取EMA，从提取物中分离出4条蛋白区带，分子量为46、70、150和>400KD[3]。Imam等人则分离出19条蛋白区

维普资讯 http://www.cqvip.com

带，分子量为39～260KD，其中主要的6条区带分别为39、42、52、58、70和155KD[4,7]。用双相电泳，还可鉴定出35种不同蛋白[6]。Freudenstein[2]Ormerod[3]等都曾用层法制备EMA。后者报导提取的EMA各成分中，蛋白约占4.7～16.0%，分子量为51～1000KD、糖类约占22.9～58.0%。主要含7种单糖，其含量由高到低依次为半乳糖、酷酸氨基葡萄糖、酷酸抽氨基半乳糖、甘露糖、葡萄糖、岩藻糖和唾液酸。这些糖类是否以糖蛋白或糖脂的形式或两者兼而有之的形式存在尚不清楚。上述各种方法获得的蛋白分子量范围不尽相同，可能与各法提取过程中蛋白的丢失和/或降解程度有关。由此，也可见EMA提取物成分的复杂性。

二、抗EMA抗体的复杂性

Ceriani最早用EMA提取物免疫家兔制备EMA抗血清[3]。其后Ormerod[6]、Heyderman[8]等相继制备出多种多克隆抗体及10余种单克隆抗体(表1)。由于EMA成分的复杂性，这些抗体所识别的抗原决定簇亦各不相同，组织学分布也不完全一致。其中应用较广的有E-29、HMFG-1、HMFG-2。

E29由Heyderman等于1985年报导，性质如上。E29的抗原存在于乳腺、各种外分泌腺和大多数被复上皮的细胞腔面膜。在分化不良的上皮肿瘤中，E29抗原也出现在细胞质中[10,11]。它已广泛应用于临床病理的免疫组化诊断。据Swanson统计，E29与上皮源性肿瘤反应的特异性为89.1%，灵敏度为84.8%[9]。HMFG-1与HMFG-2由Taylor-Papadimitriou等于1981年报导。二者均为IgG1亚类抗体。HMFG-1与一些300～400KD的糖蛋白有高度亲和力，在正常组织中除不与静止期乳腺上皮反应外，抗原分布与E29基本一致。但在低分化乳癌及乳腺导管癌中，反应较弱[12,16,18]。HMFG-2识别80～＞400KD的糖蛋白，其抗原的组织学分布与E29相似[11,12,19]。此外还有Fosler等报导的LICR-LON M3、M18、M24单抗。其中M8与E29最为接近，识别＞400KD的糖蛋白[14]，但在肝细胞、生殖细胞、睾丸间质细胞亦可阳性[16]；M24与M8相似，但宫颈与宫内膜不染色；M18识别—＞200KD的含丰乳糖的糖蛋白，可使皮肤颗层染色而汗腺与胆道上皮阴性；M3识别含寡糖及糖脂的决定簇，可使肌上皮、血管外皮及某些神经原染色[13]。由上可

表1. 国外报导的抗EMA单克隆抗体

抗体名称	IgG亚类	识别抗原分子量或决定簇
E29	IgG2a	250KD～＞440KD糖蛋白，含寡糖残基表位
HMFG-1	IgG1	300～400KD糖蛋白，含半乳糖残基
HMFG-2	IgG1	80～＞400KD糖蛋白
LICR-LON		
M3	IgM	42～93KD，含寡糖和糖脂片段
M8	IgG1	＞200KD和400KD的糖蛋白
M18	IgM	＞200KD，表面含1→4β半乳糖和1→6酷酸氨基葡萄糖
M24	IgM	39～59KD糖及糖脂蛋白
67D11	IgG1	67D11和115H10为EMA3抗原上的重叠表位
115H10	IgG1	
BLMRL-HMFG		
MC3	IgG1	46KD多肽片段
MC5	IgG1	平均分子量400KD的两条糖蛋白区带

维普资讯 http://www.cqvip.com

见，EMA成分的复杂性能产生抗EMA抗体的复杂性。这在鉴定与筛选抗EMA单抗时应特别注意。

三、EMA在正常组织中的分布

用抗体EMA多克隆及单克隆抗体的大量研究表明:EMA不仅存在于正常乳腺上皮细胞[15-19]，而且还存在于几乎所有上皮成分，尤其是各种外分泌腺上皮。皮肤汗腺、皮脂腺、乳腺、胃腺、胰腺、胆管及胆囊上皮、宫内膜及输卵管、输精管、唾液腺、支气管腺等外分泌腺，支气管及肺泡上皮、肾远曲管和集合管及尿道上皮，一般与抗EMA抗体是强阳性反应。胃肠道粘膜上皮、阑尾、宫颈内膜、前列腺、甲状腺、滋养叶合体细胞及间皮组织(胸膜、腹膜、卵巢间皮)等呈弱阳性反应。在弱阳性组织中，部分组织对有的EMA抗体呈阴性反应。上皮组织中，正常鳞状上皮(皮肤、食管、宫颈)、肾近曲小管、肝细胞对各种抗EMA抗体均呈阴性反应[6,10,20]。发生病变后(炎症或恶变)鳞状上皮和肾近曲小管可出现阳性[21,22]。其他组织类型的细胞，包括各种内分泌组织(甲状腺除外)、淋巴造血组织、中板及外周神经组织、生殖细胞、胎盘以及骨骼、肌肉、血管内皮等结缔组织均呈EMA阴性。近来也有作者报导部分非上皮组织偶有EMA阳性反应。如胎儿脊索[23]、蛛网膜颗粒[24]室管膜、脉络丛、神经外膜[25,26]、组织细胞[28]和浆细胞等。

EMA在正常组织中分布的特点是一般限于上皮细胞的腔缘表面膜，不超过紧密联结。细胞基底面及侧面胞膜无EMA分布。此即所谓极性分布[6,12]。Peterson等用免疫电镜研究发现EMA在胞质中的高尔基氏器和粗面内质网上也有分布，但光镜下不易见到[29]。EMA表面膜分布的生物学意义尚不清楚。EMA分布的另一特点是非均一性。即同一组织中具有相同形态学特征的细胞只有部分细胞与一种单抗发生反应。此现象地EMA阳性的肿瘤组织中同样存在。这可能与细胞表面膜抗原糖基类型的差异有关[11,30,32]。

四、EMA在肿瘤组织中的分布

为了探讨EMA在肿瘤病理诊断中的意义。Heydreman[6,11]、Ceriani[3]、Ormerod[5]、Cordell[10]、Sloane[20]等人先后将抗EMA多克隆及单克隆抗体用于各种肿瘤的免疫组化检测。结果显示，各种肿瘤细胞中EMA的分布与其相应正常组织基本一致。即抗EMA抗体可显示乳腺癌、胃肠道腺癌、胰腺癌、胆管细胞癌、肺鳞癌、肺腺癌及小细胞癌、肾腺癌、膀胱癌、甲状腺癌、宫颈鳞癌、宫内膜腺癌、前列腺癌、恶性间皮瘤、滑膜肉瘤[20,33,34]等上皮源性肿瘤为EMA阳性;而在基底细胞癌、黑色素瘤、中枢及外周神经系统肿瘤、神经内分泌肿瘤、淋巴瘤及各种结缔组织肿瘤中阴性[10,11,20]。此分布提示，EMA是较好的上皮源性肿瘤标志物，可作为上皮源性肿瘤的诊断和鉴别诊断的依据之一。近来亦有作者报导抗EMA单抗(如E29)可与某些类型的恶性淋巴瘤发生反应[25,28]。

抗EMA抗体在肿瘤组织中的免疫组化染色特点是:1.着色程度一般略强于相应的正常组织。此外，某些正常时不着色的上皮组织，如皮肤鳞形上皮和宫颈鳞形上皮发生恶变后呈EMA阳性;2.恶变后的上皮细胞除腔面膜染色加深外，还可以在细胞侧面质膜甚至全部细胞出现染色反应，部分细胞还在胞浆中出现小环状、斑点状或片状着色，即细胞EMA分布的极性紊乱;电镜观察发现粗面内质网及高尔基体内EMA明显增多[29];3.EMA在肿瘤组织中亦存在非均一性分布[11,31,32];4.EMA可以耐受甲醛固定和石蜡包埋等处理，因而抗EMA抗体可广泛应用于常规肿瘤组织切片的免疫组化诊断。

五、EMA单抗在临床病理诊断中的应用

由于单抗具有均一性好，特异性高和交叉反应少等优点，近年来抗EMA单抗已逐渐取代多克隆抗体而广泛应用于上皮源性肿瘤

维普资讯 http://www.cqvip.com

的免疫组化诊断。小园细胞肿瘤、大多边性细胞肿瘤及多形性梭形细胞肿瘤属低分化肿瘤，可山多种组织发生，在常规HE染色的病理切片中常难以鉴别其组织来源，病理诊断较困难。用免疫组化法检测EMA对这些肿瘤的鉴别诊断有一定的应用价值。

1.小园细胞肿瘤　软组织中，转移性小细胞癌常不易与一些软组织肿瘤相鉴别，如神经母细胞瘤、尤文氏肉瘤、小细胞骨肉瘤、软骨肉瘤、小.胞恶性淋巴瘤等，由于EMA几乎特异地局限于上皮细胞，因而抗EMA单抗阳性可协助诊断转移性小细胞癌[25,29,36]。但应注意EMA在小细胞淋巴瘤中也偶而可见。这种情况可用抗角蛋白单抗帮助鉴别或加用白细胞共同抗原单抗来确诊小细胞淋巴瘤[37]。皮肤浅层组织小园细胞肿瘤中，Merkel细胞癌、小细胞汗腺癌与小细胞黑色素瘤(尤其是无色素性)常难以鉴别。EMA单抗染色阳性可排除黑色素瘤[38]。如为阴性，可用S-100单抗证实黑色素瘤[39]；用抗神经微丝单抗证实Merkel细胞癌[40]。

2.大多边形细胞肿瘤　这一类异质性肿瘤包括上皮癌、恶黑、生殖细胞肿瘤，恶性淋巴瘤、上皮样肉瘤、脊索瘤、透明细胞肉瘤。EMA职性提示上皮癌，其他肿瘤可用相应单抗鉴定。

3.多形性梭形细胞肿瘤　低分化或未分化肿瘤细胞有时可表现为多形性或梭形。包括低分化癌、滑膜肉瘤、神经化纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、平滑肌肉瘤、血管肉瘤、脂肪肉瘤以及卡波济氏肉瘤等。这类肿瘤中只有低分化癌和滑膜肉瘤始终保持EMA阳性[20,25,33,34]。其他肿瘤都表达波形蛋白抗原[9]。藉此，可以将上皮癌和滑膜肉瘤与上述其他组织来源的肿瘤相区别。

4.肿瘤微转移灶的免疫细胞化学探查

Ghosh等用EMA单抗检测41例恶性肿瘤病人渗出液，其中11例检出EMA阳性癌细胞，而常规细胞学检查均未发现异型细胞。Redding等用EMA单抗检测110例乳腺癌者的骨髓涂片，31例有EMA阳性细胞，检出液为28%。Neville等用EMA单抗检测乳腺癌患者的骨髓内转移，结果显示，在有淋巴结转移的患者中，33%伴有骨髓转移，在没有其他转移证据的病人中20%出现骨髓转移。这些资料表明，EMA单抗在上皮来源的恶性肿瘤细胞学和微转移病灶的检查中亦有重要意义。

应注意的是：不光学者报导抗EMA单抗可与某些淋巴瘤(主要是T细胞淋巴瘤)发生反应[9,25]。Delsil等报导在70—75%的淋巴细胞为主型何杰金氏病病例中，RS细胞出现EMA阳性，而其他类型的何杰金氏病的RS细胞EMA阴性；但另外学者也在结节硬化型和混合细胞型何杰金氏病的RS细胞中观察到EMA阳性[9]。此外，好有B细胞淋巴瘤出现EMA阳性的报导。所以EMA在淋巴瘤中的表达特点尚无定论，但只要在用白细胞共同抗原单抗即可将淋巴瘤与上皮性肿瘤加以鉴别。总之，由于EMA抗原成分复杂，有实用价值的抗EMA单抗必须经过认真筛选与鉴定，以期获得高特异性的优质单抗试剂。本室已研制成高特异性EMA单抗，通过国内外病理科应用及鉴定，加以肯定，将另文以表。

参 考 文 献

1 Dowben R M, et al. Biochem Biophys Acta 1967; 135: 1

2 Freudenstein C, et al. Exp Cell Res 1979; 118: 277

3 Ceriani R L, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1977; 74: 582

4 Imam A et al. Biochem J 1981; 193: 47

5 Ormerod M G, et al. Br J Cancer 1983; 48: 533

6 Heyderman E, et al. J Clin Path 1979; 32: 35

7 Imam A J Biochem 1986; 99: 143

8 Imam A, et al. Cancer RES 1984; 44: 2016

9 Swanson P E. In Wick M R(eds): Monoclonal Antibodies in Diagnostic Immunohistochemistry. Marcel Dekker Inc, New York Basel 1988; 227

(下转目次页)