DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.02.037
第24卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 2
2002年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2002

文章编号:1000-5404(2002)2-0197-03

论著

粘蛋白在结石性胆囊炎中的变化及意义

陈东风,郑 伟,易 萍 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所消化内科,重庆 400042)

提 要:目的 探讨不同类型粘蛋白在结石性胆囊炎胆囊粘膜的表达规律及与结石形成的可能关系。方法 采用粘蛋白1(Mucin1,MUC1)、粘蛋白2(MUC2)及粘蛋白3(MUC3)的单克隆抗体,应用免疫组化方法检测对照组胆囊24例,胆固醇结石和胆红素结石胆囊粘膜54例及38例。结果 MUC1在对照组、胆固醇结石组、胆红素结石组阳性率分别为47.1%(10/24),50%(27/54),60.5%(22/38);MUC2分别为21%(5/24),40.7%(22/54),50%(19/38);MUC3分别为75%(18/24),29.6%(16/54),21.1%(8/38)。结论 粘蛋白与胆囊结石发生有一定关系。

关键词:粘蛋白;结石性胆囊炎
中图法分类号:R364.25;R394.3;R575.61 文献标识码:A

Role of mucin in the calcareous cholecystitis

CHEN Dong-feng, ZHENG Wei, YI Ping (Department of Gastroenterology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objectives To investiage the regular rules of mucins expression in mucosa of lithic cholecystitis and its relationship with calculus formation. Methods Mucin1(MUC1) Mucin2(MUC2) and Mucin3(MUC3) were detected in the mucosa of human normal gallbladders (24 cases), of gallbladder with cholesterol calculus (54 cases) and of gallbladder with bilirubin calcium gallstone (38 cases) with immuneohistochemical method respectively. Results The positive detection rates of MUC1, MUC2 and MUC3 in normal gallbladder mucosa were 47.1%(10/24), 21%(5/24) and 75%(18/24) respectively; they were 50%(27/54), 40.7%(22/54) and 29.6(16/54) in mucosa of gallbladders with cholesterol calculus respectively; and they were 60.5%(22/38), 50%(19/38) and 21.1%(8/38) in bilirubinic calculus of gallbladders with respectively. Conclusion Mucius may be related to cholecystitis and formation of different types cholecystolithiasis.

Key words: mucin; lithic cholecystitis

粘蛋白(Mucin,MUC)是由腺上皮细胞合成和分泌的一种高度糖基化、高分子量的糖蛋白。广泛分布于人类胃肠道、呼吸道,胆囊上皮细胞也可分泌粘蛋白,是组成胆囊粘液的主要成分,起保护和润滑作用。关于粘蛋白与胆囊结石的关系,既往研究较少,我们对不同种类胆囊结石胆囊粘膜MUC1,MUC2,MUC3的变化进行研究,探讨粘蛋白与胆囊结石、胆囊炎的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象

按文献[1]对胆固醇结石和胆红素结石标本进行筛选。患者均为我院2000-06—2001-01患胆石症择期手术者,其中胆固醇结石54例,胆红素结石38例。对照组24例,标本取自胆囊息肉手术患者,取材远离息肉1~2 cm,或因肝胆管结石手术行胆囊切除的标本。对照组标本均经HE染色证实无明显炎症、增生及化生。

1.2 试剂

MUC1、MUC2、MUC3单克隆抗体购自深圳晶美生物公司,抗体工作浓度为1∶80。AEC染色试剂盒也购自深圳晶美公司。

1.3 病理学观察

常规HE染色,光镜观察。

1.4 免疫组织化学染色

操作步骤按蔡文琴[2]法进行。主要步骤为:①石蜡切片,常规脱蜡至水;②过氧化氢,牛血清白蛋白室温孵育15 min,PBS洗2×3 min;③4%胃蛋白酶消化15 min,PBS洗3×5 min;④一抗(MUC1、MUC2或MUC3)37 ℃孵育30 min,PBS洗4×5 min;⑤生物素标记的二抗室温孵育10 min,PBS洗4×5 min;⑥三抗室温孵育10 min,PBS洗4×5 min;⑦AEC染色;⑧37 ℃干燥箱干燥后封片,光镜观察。以免疫组化预实验中发现的表达稳定的阳性切片作阳性对照,以PBS缓冲液代替一抗作阴性对照。阳性结果判断:胆囊腺体表面或细胞内出现棕黄褐红色的均质或颗粒样物质。

1.5 统计学分析

所得数据采用SPSS统计软件(8.0)进行χ^2检验。

2 结果

2.1 光镜观察结果

所有结石胆囊粘膜均有程度不同的炎症变化。

2.2 MUC1、MUC2、及MUC3在胆囊炎不同病理条件下的表达,见表1

表1 MUC1、MUC2及MUC3在不同结石胆囊粘膜表达

Tab 1 Expression of MUC1、MUC2 and MUC3 in different calcareous cholecystic mucosa

Group	n	Positive case(rate)		
		MUC1(%)	MUC2(%)	MUC3(%)
Control	24	10(41.7)	5(21)	18(75)
Cholestrol calculus	54	27(50)	22(40) *	16(29.6) **
Bilirubinic calculus	38	22(60.5) *	19(50) *	18(21) **

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ vs control

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970039)
作者简介:陈东风(1964—),男,重庆涪陵人,博士,副主任医师,副教授,主要从事肝脏损伤与修复,胆石症及消化介入研究,发表论文46篇。电话:(023)68757342
收稿日期:2001-07-15;修回日期:2001-09-23

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2.1 MUC1 的表达 对照组 24 例 MUC1 阳性表达率 41.7%(10/24),柱状细胞表面分布较多,胞浆内呈颗粒状乃至片状分布,胞核内无表达。

54 例胆固醇结石胆囊标本 MUC1 表达阳性率 50%(27/54),阳性表达多位于柱状细胞和粘膜表面,呈均质状,部分在胞浆内呈弥漫细颗粒状。

38 例胆红素结石标本 MUC1 阳性率 60.6%(22/38),粘蛋白表达主要位于腺腔表面,柱状细胞和杯状细胞的粘蛋白表达及分布无差异,见图 1A。

2.2.2 MUC2 的表达 对照组中阳性表达仅占 5 例,为 21%(5/24),MUC2 粘蛋白呈颗粒状分布于胞浆中,个别标本在粘膜表面上有阳性表达。总体观察,在对照组 MUC2 表达较弱。

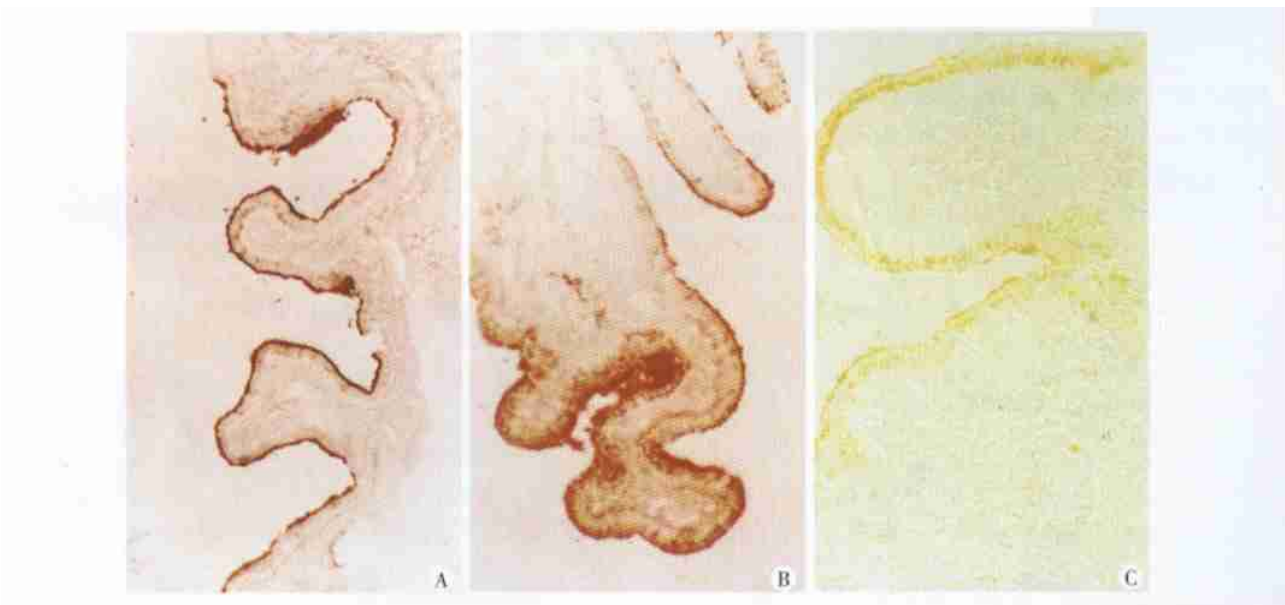
胆固醇结石 MUC2 表达阳性率为 40.7%(22/54),位于柱状上皮细胞胞浆内,少数也可见于细胞表面,呈弥漫颗粒状和均质状,着色强度较对照组高。

胆红素结石组阳性率 50%(19/38),主要位于柱状细胞浆内,细胞表面也有少许表达,呈颗粒状但不均质,而杯状细胞 MUC2 表达较弱,甚至不表达,见图 1B。

2.2.3 MUC3 表达情况 对照组胆囊粘膜标本阳性表达 18 例(75%),MUC3 表达分布弥散,粘膜表面无阳性表达物。

胆固醇结石组 MUC3 表达阳性率 29.6%(16/54),分布较对照组更为弥散,染色较浅。

胆红素结石组阳性率 21%(8/38),分布及特征与胆固醇结石组相似,见图 1C。



A: MUC1; B: MUC2; C: MUC3

图 1 MUC 在胆红素结石胆囊粘膜表达 (AEC×200)

Fig 1 Expression of MUC in cholecystic mucosa with bilirubinic calculus (AEC×200)

3 讨论

粘蛋白广泛分布于人胃肠道、呼吸道及子宫内膜表面,胆囊也可分泌较多粘蛋白,它是胆囊粘液的重要组成部分,除润滑及保护作用外,还参与细胞间通讯、维持细胞极性、抗原递呈及淋巴细胞活化等作用[3]。粘蛋白迄今发现 9 种,分别被命名为 MUC1-9,胆囊内仅有部分表达,其与胆囊炎及结石形成的关系研究较少。

既往对 MUC1、MUC2 研究主要集中在胃肠道,它们与胃肠道肿瘤的发生有一定关系,同时都表现为下调表达[4],而在人乳腺组织癌变过程中则为上调表达[5]。这提示 MUC1、MUC2 在不同组织中有不同的表达规律,起着不同的作用。对照组胆囊粘膜 MUC1 和 MUC2 皆有表达,主要分布于柱状细胞胞浆内,而 MUC1 同时也存在于细胞表面,这种区别可能与 MUC1 是跨膜性粘蛋白,而 MUC2 则为分泌性粘蛋白有关。MUC2 与 MUC1 相比,在对照组胆囊标本上表达阳性率明显低,且阳性颗粒的数量少,显色强度弱,提示 MUC2 可能不是正常胆囊粘膜分泌的主要粘蛋白,与生理状况下胆囊粘膜的润滑保护作用关系较小。MUC1、MUC2 在任何一种结石的胆囊粘膜中表达阳性率明显升高,但 MUC1 仅在胆红素结石组有显著性差异($P<0.05$),MUC2 在两种结石组均有显著性升高($P<0.05$),胆红素结石组升高相对更明显。粘蛋白结构中低聚糖侧链约占其组份的 75%,具有粘弹性及凝胶状性质,它可发挥润滑保护胆囊粘膜上皮的作用,但流动性差,可能会为结石形成的成核过程提供背景。同时粘蛋白结构中糖基区和疏水区,使其粘蛋白形成多聚体,发生结构交联,形成多相不均匀成核环境,为

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

胆固醇单水结晶及胆色素聚积起重要作用, 进而形成结石[6]。本研究发现结石胆囊粘膜 MUC1、MUC2 表达增加, 阳性颗粒数量增加, 着色加深, 且 MUC2 在结石组时除胞浆内存在, 细胞表面也有阳性反应, 说明 MUC1、MUC2 在结石状态下合成和分泌显著增加, 提示粘蛋白与胆囊结石形成有密切关系。不同结石种类, MUC1 和 MUC2 表达阳性率尽管无显著性差异, 但胆红素结石组表达阳性率较胆固醇结石组稍高, 分析其原因可能与胆固醇结石形成主要与胆固醇过饱和密切相关, 粘蛋白在胆固醇结石成石过程中只是促进因子, 而对胆红素结石, 粘蛋白的过度分泌, 多聚体结构交联为胆红素聚积形成结石可能更为重要[7,8]。从病理学观察可看出, 所有存在结石的胆囊, 都有炎症反应的变化, 炎症明显者, 胆囊上皮化生多者, MUC1、MUC2 表达较多, 提示炎症与粘蛋白分泌异常有一定关系, 但其确切的关系尚不明确。

MUC3 主要分布于肠道, 且在炎症及恶性转化时表达明显增加。胆囊内是否有 MUC3 表达, 既往研究尚不肯定。我们发现, MUC3 在正常胆囊粘膜不仅存在而且比 MUC1、MUC2 表达阳性率还高, 提示 MUC3 可能是正常胆囊粘膜上皮细胞分泌的主要粘蛋白。正常胆囊粘膜三种粘蛋白不同的表达阳性率, 提示它们在正常状况下粘蛋白基因表达是不同步的。有趣的是, MUC3 在肠道炎症时表达明显升高, 而在胆囊结石胆囊炎症时与 MUC1 和 MUC2 表达阳性率明显增高不同, MUC3 反而显著下降 ($P<0.01$), 结合病理观察发现, 炎症越重 MUC3 表达越少, 其原因可能为: ①MUC3 分子量大, 它容易诱导结石成核作用, 在结石形成过程中, 大量消耗了 MUC3, 使其在胆囊上皮细胞胞浆及表面 MUC3 减少。②由于 MUC3 是正常胆囊粘液的主要成分, 在炎症或已形成结石的刺激下, MUC3 基因表达下调, 使得原不易聚积和交联的粘蛋白发生变化, 打破相对平衡, 从而启动了结石形成过程[9]。但胆囊结石时 MUC3 表达阳性率明显下降的原因尚不明确。

粘蛋白与结石形成及胆囊炎症之间关系较为复杂, 推测可能系多种原因引起粘蛋白大量分泌, 分子结构变化, 导致或促进了胆囊结石的形成, 而结石又刺激粘膜炎症的发生, 腺体增生, 进一步导致粘蛋白分泌改变, 使结石逐渐变大, 但它们之间的确切关系尚需进一步研究。

参考文献:

[1] 裘法祖 主编. 外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 551－552.

[2] 蔡文琴, 王伯云 主编. 实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994. 496－497.

[3] Vandenhaute B, Buisiue M P, Debailleul V, *et al*. Mucin gene expression in biliary epithelial cells[J]. J Hepatol, 1997, 27(6): 1 057－1 066.

[4] Balague C, Gambus G, Carrato L, *et al*. Altered expression of MUC2, MUC4, and MUC5AC mucin genes in panereas tissues and cancer lines[J]. Gastroenterology, 1994, 106(7): 1 050－1 061.

[5] Mcguckin M A, Walsh M D, Hohn B G, *et al*. Prognostic significance of MUC1 epithelial Mucin expression in breast cancer[J]. Human Pathol, 1995, 26(4): 432－439.

[6] Madrid J F, Hernandez F, Ballesta J. Characterization of glycoproteins in the epithelial cells of human and other mammalian gallbladder. A review[J]. Microsc Res Tech, 1997, 38(6): 616－630.

[7] Ko C W, Lee S P. Gallstone formation, local factors[J]. Gastroenterol Clin North Am, 1999, 28(1): 99－115.

[8] Nunes D P, Afahal N H, Offner G D. A recombinant bovine gallbladder mucin polypeptide binds biliary lipids and accelerates cholesterol crystal appearance time[J]. Gastroenterology, 1999, 116(4): 936－942.

[9] Ho S B, Shekels L L, Toribara N W, *et al*. Altered Mucin core peptide expression in acute and chronic cholecystitis[J]. Dig Dis Sci, 2000, 45(6): 1 061－1 071.

（编辑　谢义霞）

（上接 196 页）

断。本组病例中 15 例有明确的肾或肾外结核病史, 多数病例病程长, 呈反复进行性加重的尿路刺激症状, 血尿及长期腰部不适等。此外, 需对声像图进行仔细观察, 单纯性囊肿壁清晰, 薄而光滑, 结核空洞性无回声壁厚不清晰; 肾实质内小占位性病变形态较规则, 单发多见, 而酐酪坏死病灶形态不规则, 常多发; 单纯性肾积水时无回声区边缘清晰光滑, 而结核所致者由于肾盂肾盏粘膜纤维增生, 无回声边缘回声强, 不规则; 结核钙化灶多位于实质内, 而结石则多位于肾盂内。

总之, 肾结核的超声及 X 线诊断正确率均较低, 但超声因其价廉、无创、可重复等优点, 在仔细观察声像图的同时密切结合临床, 注意与其它常见病鉴别, 在肾结核的诊断中, 仍不失为一种较好的影像诊断法。

关键词: B 超; X 线; 肾结核

中图法分类号: R527.104　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 张学文, 于惠元. 肾结核声像和病理类型的关系[J]. 中国超声医学杂志, 1988, 4(1): 11－12.

[2] 王正滨, 袁　梅, 范玉英, 等. 肾结核的超声显像诊断与分型的进一步探讨[J]. 中华超声影像学杂志, 1997, 6(4): 220－222.

[3] Das K M, Vaidyanathan S, Rajwanshi A, *et al*. Renal tuberculosis: diagnosis with sonographically guided aspiration cytology[J]. AJR Am J Roentgenol, 1992, 158(): 571－573.

[4] 程瑞萍, 王怀禄, 赵夏夏, 等. 肾结核的 B 型超声诊断[J]. 中华超声影像学杂志, 1995, 4(2): 83－84.

[5] 王育勤, 滕丽霞, 顾淑春, 等. B 型超声诊断肾结核与 X 线肾造影及肾 CT 扫查对比分析[J]. 白求恩医科大学学报, 1999, 25(3): 325.

（编辑　王　红）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net