DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.06.011

用BC2单抗检测人正常腺上皮组织中MUC1基因的表达*

汪荣泉** 房殿春 刘为纹 晋华源 鲁 荣 (第三军医大学附属西南医院消化内科)重庆,400038

提 要 目的:揭示MUC1基因在人正常腺上皮中的表达规律。方法:用BC2单克隆抗体和ABC免疫组织化学方法检测腺上皮组织中的MUC1核粘蛋白的表达。结果:MUC1核粘蛋白主要分布于胃粘膜的上皮层和基底部,上皮层内以核周明显,腺颈及基底部呈弥漫胞浆型;胃窦、胃底的表达无差异,十二指肠及空肠的表达类似,杯状细胞和柱状细胞弥漫胞浆,呈弱阳性,两种细胞的表达模式一致,结肠粘膜上皮层及隐窝处有弱阳性表达,胆囊上皮及宫颈上皮细胞内的表达亦较弱。结论:MUC1核粘蛋白广泛地存在于人正常腺上皮细胞内,但具组织异质性。

关键词 核粘蛋白;免疫组织化学
中图法分类号 R394;R392.1

目前,已克隆的7种粘蛋白基因中,MUC1克隆最早[1]。它是一种编码大而复杂、高度糖化的分子,是7种粘蛋白中唯一的跨膜分子,与肿瘤细胞的表型变化、细胞粘附、免疫识别、肿瘤的转移和预后有密切关系[2,3]。本研究应用BC2抗体(IgG1)[4]检测MUC1核粘蛋白的表达,明确其在人正常腺上皮中的表达特点,为进一步了解其在各腺上皮肿瘤发生过程中的异常表达及其意义打下基础。

1 材料与方法

1.1 实验标本

10例正常胃粘膜,取自胃癌手术切缘组织,经HE染色不存在癌组织及癌前病变;2例十二指肠组织,取自胃癌切除标本的十二指肠部分;1例空肠组织取自残胃癌切除的空肠部分;1例胆囊组织取自慢性胆囊炎切除标本;2例结肠组织取自其结肠癌切除标本的切缘部分;1例宫颈标本取自子宫肌瘤患者全子宫切除的宫颈部分。

1.2 试剂

抗MUC1核心肽的单克隆抗体BC2由蒙尔本大学奥斯汀研究所的IAN FC Mckenzie和P. X. Xing博士惠赠,ABC试剂盒购自北京中山公司,DAB显色试剂盒购自福州迈新技术公司。

1.3 实验方法

切片经常规脱蜡,水化后,用内源性过氧化物酶阻断剂和正常马血清分别室温孵育30 min以减低非特异性染色;BC2抗体(1∶100)4℃孵育过夜;生物素标记的二抗和抗生物素-过氧化物酶连接物室温分别孵育30 min,DAB显色1~3 min,苏木素衬染,脱水、透明、封片。

1.4 实验对照

免疫组织化学染色时,设立空白试验和替代试验作为阴性对照,以确保实验的特异性和可靠性。

* 全军"九五"医药卫生科研基金资助项目,No. 96M091
** 汪荣泉,男,31岁,主治医师,博士研究生

2 结果

2.1 胃粘膜的表达

正常胃粘膜的上皮层细胞核周呈均匀的强阳性染色,腺颈的中下部及粘膜的基底部呈明显的均匀强阳性染色,弥漫整个胞浆,腺颈的中上部略浅,腺颈的中下部至粘膜的基底部的MUC1核粘蛋白的表达具逐渐增强的趋势,有些标本腺颈部的阳性反应细胞呈散在分布,基底腺泡状结构阳性,胃窦与胃底处粘膜的MUC1基因的表达相似,见图1。

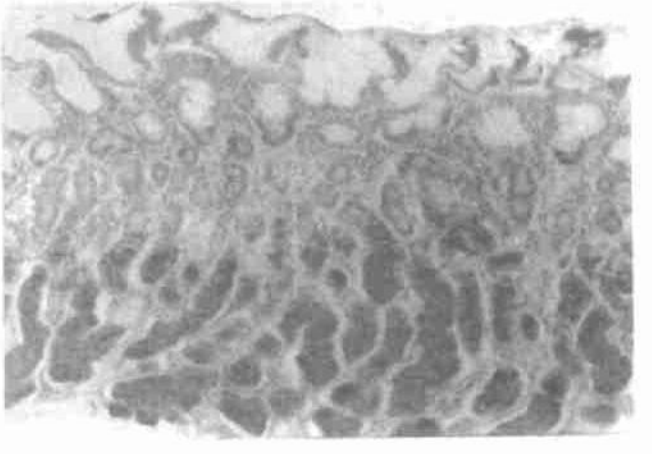


图1 正常胃粘膜组织中MUC1核粘蛋白的表达
MUC1核粘蛋白主要位于上皮细胞的核周及粘膜基底 (S-P×100)

Fig 1 Expression of Apomucin 1 in the normal gastric mucosal tissue
Apomucin 1 mainly situated in the peri-nuclear area of epithelial cells and basal cells (S-P×100)

2.2 肠道粘膜的表达

人正常十二指肠和人空肠组织中MUC1基因产物的表达类似,在整个粘膜上皮细胞的胞浆内呈弥漫均质性阳性,以核周明显,杯状和柱状细胞的表达无区别,均呈弱阳性反应,见图2,其细胞膜上无抗原存在,杯状细胞的粘液滴内反应缺如,结

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

肠、乙状结肠粘膜内亦存在 MUC1 基因产物的表达，肠道粘膜中 MUC1 基因产物的表达明显较胃粘膜弱。

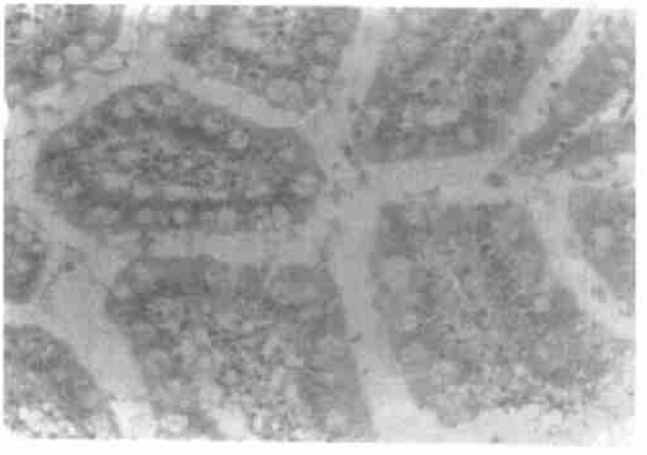


图 2 正常小肠粘膜组织中 MUC1 核粘蛋白的表达
MUC1 核粘蛋白主要位于杯状细胞和柱状细胞的细胞浆内 (S-P×200)

Fig 2 Expression of Apomucin 1 in the normal small intestinal mucosal tissue
Apomucin 1 diffusely distributed in the cytoplasm of goblet cells and columnar cells (S-P×200)

2.3 宫颈、胆囊组织内的表达

人宫颈组织中腺上皮存在较胃粘膜弱的 MUC1 核粘蛋白的表达，抗原主要存在于腺上皮的核周，呈弥漫性分布，见图 3。胆囊上皮中 MUC1 核粘蛋白表达较弱，在胞浆内呈均质状分布。

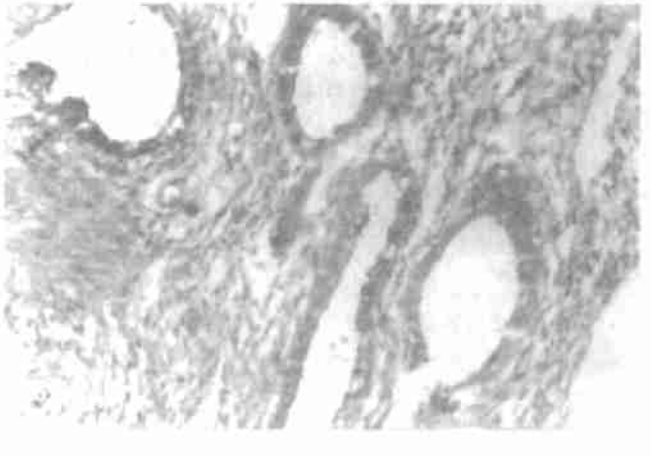


图 3 正常宫颈粘膜组织中 MUC1 核粘蛋白的表达
MUC1 核粘蛋白主要位于宫颈腺上皮的胞浆内 (S-P×100)

Fig 3 Expression of Apomucin 1 in the normal cervix of uterus
Apomucin 1 located in the cytoplasm of glandular epithelial cells (S-P×100)

3 讨论

粘蛋白是一种高度糖基化、高分子量的糖蛋白，分布于多种上皮组织细胞表面。粘蛋白在正常的组织上皮起主要的细胞保护作用，在肿瘤细胞中具有促使肿瘤细胞对正常细胞的粘附作用和减少肿瘤细胞的粘附力，在肿瘤细胞表面通过位阻现象使肿瘤细胞逃避免疫识别。目前，已克隆了 7 种粘蛋白基因。MUC1 粘蛋白又称跨膜蛋白，具跨膜序列，是 7 种粘蛋白中唯一的膜相关粘蛋白。

MUC1 粘蛋白的核心肽由 20～125 个高度糖化的随机重复单位组成，每个重复单位由 20 个氨基酸组成，它们是 VTSAPDTRPAPGSTAPPAHG。本研究应用 Xing 博士用人乳脂球体膜(Human milk fat globule membrane)制备的 MUC1 核粘蛋白的单克隆抗体 BC_2(IgG1)对一些人正常腺上皮核粘蛋白的表达进行了研究，结果 MUC1 核粘蛋白主要分布于胃粘膜的上皮层和基底部，上皮层以核周明显，基底部以胞浆弥漫型为主；十二指肠、空肠、结肠、胆囊和宫颈内亦有表达，与胃粘膜相比，则较弱。本结果与我们以前用 MUC1 核粘蛋白的另一杂交瘤细胞所产生的单抗 BC1(IgG3)相比，亦有所不同，如十二指肠用 BC1 抗体揭示 MUC1 核粘蛋白的表达呈细颗粒状、强阳性、弥漫分布于核周，而用 BC2 抗体则发现 MUC1 核粘蛋白的表达呈弥漫胞浆均质状；在胃的表达亦有所不同，BC1 抗体揭示 MUC1 主要表达在上皮及腺颈，而 BC2 抗体则是上皮和基底，这主要可能与两种单抗所针对的 MUC1 核粘蛋白的表位有所不同有关，Xing 用实验证实 BC2 抗体的表位是“APDTR”，而 BC1 抗体的表位不清楚，但 BC1 和 BC2 抗体都是针对 MUC1 核粘蛋白或不完全糖化的仍有核粘蛋白表位显露的 MUC1 粘蛋白，而在不同细胞群表达的 MUC1 核粘蛋白由于 VNTR 数目的不同所导致的异质性，同时不完全糖化时所连接的寡糖链的不同及不同的植物血凝素的连接均可影响其表位的显露，这就大大地增加了其结构上的复杂性。本结果与 Xing 和 Carrato 的结果相似[4,5]，Xing 的结果表明 MUC1 在各种不同的组织中其分布具异质性，这与本结果一致，但我们发现胃中的表达很强，而肠道、胆囊、宫颈中的表达不是没有，而是较弱，肠道组织中杯状细胞粘液滴内无 MUC1 的核粘蛋白是因为粘液滴内是粘蛋白高度糖化的成熟部分，已掩盖了其核粘蛋白的表位。

参考文献

1 Swallow D M, Gendler S, Griffiths B, *et al*. The human

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

tumor-associated epithelial mucins are coded by an expressed hypervariable gene locus PUM. Nature, 1987, 328 (2): 82

2 刘学仁，邵永孚，张　伟，等. MUC1 粘蛋白基因表达在大肠癌淋巴结微小转移诊断中的应用. 中华肿瘤杂志，1996，18 (6): 483

3 Nakamori S, Ota D M, Cleary K R, *et al*. MUC1 mucin expression as a marker of progression and metastasis of human colorectal carcinoma. Gastroenterology, 1994, 106(2): 353

4 Xing P X, Tjandra J J, Stacker S A, *et al*. Monoclonal antibodies reactive with mucin expressed in breast cancer. Immunol Cell Biol, 1989, 67(2): 183

5 Carrato C, Balague C, De Blos C, *et al*. Differential apomucin expression in normal and neoplastic human gastrointestinal tissues. Gastroenterology, 1994, 107(1): 160

（收稿：1998-06-08；修回：1999-06-04）

（编辑　张大春）

Detection of the expression of MUC1 gene in normal human glandular epithelial cells with BC2 monoclonal antibody*

Wang Rongquan, Fang Dianchun, Liu Weiwen, Jin Huayuan, Lu Rong (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract **Objective**: To study the pattern of expression of MUC1 core protein in normal human glandular epithelial cells. **Methods**: The apomucin 1 protein of MUC1 was detected with BC2 monoclonal antibody and ABC immunohistochemistry. **Results**: MUC1 core protein was mainly distributed in the epithelium and the basement of gastric mucosa; it was found in the perinuclear area of the epithelial cells and dispersely distributed in the cytoplasm of the basal cells and the cells of glandular neck. The expression showed no difference between the tissues of the fundus and antrum of the stomach. There was weak diffuse positive cytoplasmic staining of the goblet cells and columnar cells in the duodenum and jejunum. Reactivity in the goblet cells was similar to that in the columnar cells. Weak expression of apomucin 1 was found in the crypt and superficial epithelial cells of the colon and glandular epithelial cells of uterine cervix and gall bladder. **Conclusion**: MUC1 core protein was widely expressed in normal human glandular epithelial cells but there was a heterogeneous reactivity in different organs.

Key words apomucin; immunohistochemistry

* This project was supported by the "Ninth five" obligatory budget of PLA, No. 96M0981

（上接 409 页）

题有 3 个。第一是硬核白内障在撕囊时红光反射不好或无红光反射，囊膜也变得薄和脆，难以达到一个完整无弱点的连续环形撕囊。当撕囊不完整或截囊时，前囊口边的弱点极易成为 Phaco 操作中后囊破裂的源点。第二是硬核白内障往往核大，后囊下无多少皮质或无多少成形皮质，这样在反复转动核时后囊与核之间的保护大大降低，容易在转核过程中撕破后囊。第三是硬核需要较多的能量。过多 Phaco 能量的释放无疑会加重术中和术后角膜内皮及虹膜的反应。

笔者在术中体会，适时地调节真空水平将有利于解决硬核 Phaco 手术中遇到的 3 个问题[4,5]。第一，在分核时采用中真空、中等能量水平保持原位对晶体核进行打遂道和分核，分核块数为 4 块左右即行，当分核成功后即不再反复转动核以免撕破后囊。第二，采用高真空依次吸住被分开的各块晶体核，让其阻塞 Phaco 头，将其拖至瞳孔中央，配合阻塞爆破模式，以较高能量快速乳化吸住晶体核块。第三，当晶体核剩下最后薄块或一小块时，后囊很容易随液流被吸向 Phaco 头造成破裂，故此时应及时下调至低真空水平，约 100 mmHg 左右，再配合低能量 Phaco 彻底清除晶体核。第四，换至 I/A（灌吸）方式时，400 mmHg 左右的真空对一般皮质均可做到彻底清除，如果吸住后囊，只要及时吐出，也不会吸破后囊。需要抛光后囊膜时，则需将真空下调至 100 mmHg 以下，此时后囊可安全地在 I/A 头上不断地被抛磨而不会破裂。不同的病人还会有不同的具体情况，但整个手术过程中灵活不断的真空变化可使晶体核在我们的 Phaco 头上变得松紧从容，后囊安全可靠，实现手术者对 Phaco 手术全过程的安全控制。

关键词　白内障/外科手术；超声乳化；真空调节

中图法分类号　R776.1

参考文献

1 姚　克，姜节凯，陈佩卿，等. 白内障超声乳化摘除及后房型人工晶体植入术. 中华眼科杂志，1996，32(2): 85

2 李绍珍，刘奕志. 原位碎核的超声乳化白内障摘除术. 中华眼科杂志，1996，32(2): 92

3 朱思泉，吴笑梅，李　冰. 硬核白内障的超声乳化吸出及人工晶体植入术. 中华眼科杂志，1998，34(2): 90

4 Emery J M, Little J H. Phacoemulsification and aspiration of cataracts. London: Mosby, 1979. 46～48

5 Fine I H. The chip and flip phacoemulsification technique. J Cataract Refract Surg, 1991, 17(6): 366

（收稿：1999-01-13；修回：1999-04-01）

（编辑　王　红）

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