DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.02.031


# 经验交流

## 子宫内膜腺癌组化、免疫组化观察及临床意义

## Histochemical and immunohistochemical detection of endometrical adenocarcinoma and its clinical significance

朱英桂* 柳凤轩** 贺光友** (第三军医大学基础医学部病理学教研室)重庆, 400038

提 要 目的: 探讨宫内膜腺癌组化、免疫组化特征及临床意义。方法: 采用组化、免疫组化的方法,对其粘蛋白含量、分布及免疫阳性物的表达进行观察。结果: 子宫内膜腺癌与宫颈腺癌在粘蛋白含量与分布存在着差异: 子宫内膜腺癌粘蛋白含量少且以硫酸粘蛋白为主,而宫颈腺癌则含量丰富且以唾酸粘蛋白为主。波形蛋白(Vimentin)在宫内膜腺癌阳性表达率为73.3%,而宫颈腺癌均阴性表达。雌激素受体(ER)、癌胚抗原(CEA)、增殖细胞核抗原(PCNA)在肿瘤分类中表达无明显差异,但对预后和分级有一定意义,ER阳性者临床内分泌治疗疗效和预后较好;而 CEA对于肿瘤早期转移有一定关系。结论: 组化和 Vimentin检测对宫颈腺癌及子宫内膜腺癌有鉴别诊断意义,而 ER、CEA对预后和治疗可提供参考指导。

子宫内膜癌是妇科常见恶性肿瘤之一,近年来其发病率明显上升[1],引起广泛关注[2]。我们对82例宫内膜腺癌进行了组织形态、组化、免疫组化观察,旨在探讨宫内膜腺癌中粘蛋白含量与分布及波形蛋白(Vimentin)、癌胚抗原(CEA)、雌激素受体(ER)、增殖细胞核抗原(PCNA)分布及表达水平,为鉴别诊断、临床治疗和估价预后提供参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 标本与试剂

82例子宫内膜腺癌均为病理确诊病例,按 Siverberg[2]提供的1988年(ISGP)组织分类及 Creasmen[3]描述分级标准,其中管状腺癌73例(Ⅰ级33例、Ⅱ级23例、Ⅲ级17例)、腺鳞癌3例、腺癌中伴鳞化5例。将73例管状腺癌及宫颈腺癌、宫内膜增生各5例一同进行观察。组织常规固定包埋,连续切片10张,分别做 AB/PAS、AF/AB、HID/AB组化染色,并用 ABC法进行免疫组化染色。本实验所用小鼠抗 Vimentin、PCNA、ER及兔抗 CEA,其稀释浓度分别为1:15、1:50、1:100,除 ER由迈新公司提供外,均为 Doko公司提供。

#### 1.2 方法

采用 ABC法,染色结果采用计分法,其判断标准为以胞浆(核)内出现棕黄色为阳性反应,以5个视野中阳性细胞百分数及着色强度计分,分为强阳性(卅)、阳性(卄)、弱阳性(+)及阴性(-)。用 PBC替代一抗做对照染色。

### 2 结果

#### 2.1 一般临床资料

82例宫内膜腺癌患者,年龄最大67岁,最小29岁,45岁以上占83%,原发或继发不孕者分别为14、17例,绝经后发病者53例。临床以阴道不规则流血或月经过多为主(73.3%),同时伴白带增多,呈脓性、水样、血样带为主要症状。48例获随访结果,随访时间最长16年,最短6个月,死亡7例,36例生存在5年以上。

#### 2.2 病理观察

2.2.1 巨检 见宫体多呈不同程度增大,宫腔多扩张,内膜部分增厚,病变区多位于宫角或宫底部,呈局限性、弥漫性增厚,粗糙不平,呈颗粒状、息肉状,且常伴出血、坏死。色灰白或暗红,质较脆。

2.2.2 光镜 瘤细胞大部分呈管状腺癌排列,管腔大小形态不一,有少数病例尚伴有乳头状结构或呈粘液腺癌样、浆液腺癌样分化,个别病例还可见到透明细胞区。它们与管状腺癌之间有过渡或混杂或单独呈灶性分体。

2.2.3 粘蛋白染色反应 宫内膜腺癌、宫颈腺癌及宫内膜增生均做了组化染色,结果显示宫内膜腺癌粘蛋白含量甚少且以硫酸粘蛋白为主体的占优势,Ⅰ级多沿腺腔面呈线状分布,而Ⅲ级多分布上胞浆内或腺腔中。宫颈腺癌含有丰富粘蛋白,且充满整个癌细胞,见图1,唾酸粘蛋白为主,宫内膜增生粘蛋白含量与分布随分化而异。

2.2.4 免疫组化反应 15例宫内膜腺癌(各级5例)、宫颈腺癌、宫内膜增生各5例做了免疫组化观察,结果见附表。

* 朱英桂,女,56岁,副教授
** 附属西南医院病理科 重庆, 400038

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

在宫内膜腺癌及增生细胞中,Vimentin位于胞浆和腺腔面,强度以(+)~(++)为主,73.3%的腺癌呈阳性表达,各组之间差异不明显,而在宫颈腺癌均阴性表达。ER位于胞核/胞浆中,其含量随分级升高而含量渐少。CEA表达于胞浆内以胞膜着色为主,在Ⅰ级腺癌,分布于腺腔边缘呈颗粒状线型分布,见图2,在低分化腺癌呈弥漫散在呈颗粒状出现于腺腔内,阳性率为93.3%,而宫颈腺癌与其差异不明显。PCNA定位于胞核中,呈棕黄色颗粒,其阳性表达随分级升高而增强,在宫内膜腺癌各组之间相差非常显著,$P < 0.001$

附表　4种免疫组织化学检测结果

| 组织类型 | 病例 | Vimentin | | | | ER | | | | CEA | | | | PCNA | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | − | + | ++ | +++ | − | + | ++ | +++ | − | + | ++ | +++ | − | + | ++ | +++ |
| 宫内膜腺癌 | 15 | 4 | 4 | 5 | 2 | 4 | 5 | 2 | 4 | 1 | 6 | 5 | 3 | | 6 | 6 | 3 |
| 宫颈腺癌 | 5 | 5 | − | − | − | 1 | 3 | 1 | | 1 | 1 | 1 | 2 | | 1 | 3 | 1 |
| 宫内膜增生 | 5 | | 3 | 2 | | 1 | 2 | 2 | | 1 | 3 | 1 | | | 2 | 2 | 1 |

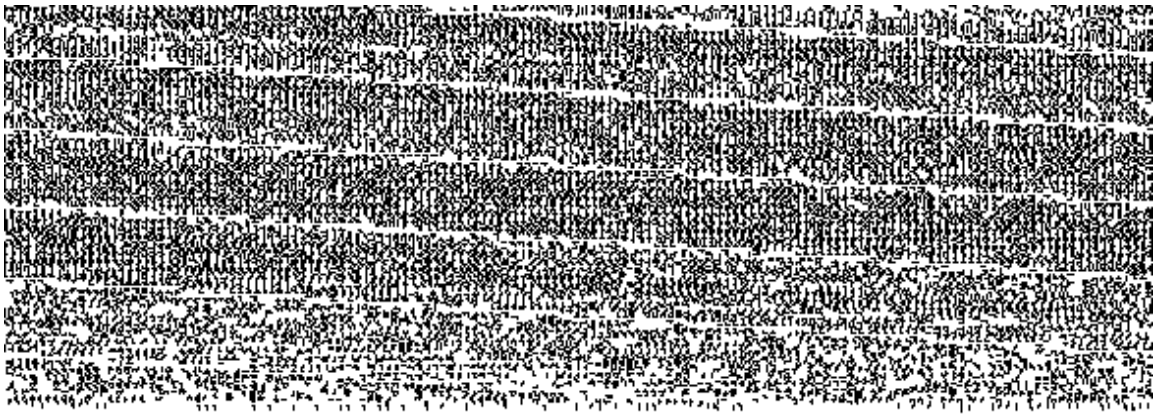


图1　宫颈腺癌细胞内含丰富粘蛋白,充满整个癌细胞　(AB/PAS×400)

图2　高分化宫内膜腺癌　CEA阳性表达于腺腔缘,呈颗粒状线型分布　(ABC×2000)

## 3　讨论

### 3.1　宫内膜腺癌与宫颈腺癌的鉴别

宫内膜腺癌起源于苗勒管多能干细胞[4],致使宫内膜腺癌与宫颈腺癌难于区分,尤其是宫内膜腺癌中呈粘液样分化腺癌与宫颈腺癌中呈宫内膜样分化者,确定其原发病灶更难,但通过组化及免疫组化染色,有一定帮助,宫内膜腺癌粘蛋白少且以硫酸粘蛋白为主,Vimentin表达阳性率73.3%,而宫颈腺癌粘蛋白含量丰富以唾酸粘蛋白为主,而Vimentin不表达,与文献[5]报道一致,但对少数病例,如加详细病史及临床检查更利于鉴别。

### 3.2　ER在宫内膜腺癌和治疗中的意义

绝经后延,原发/继发不孕,体内雌激素水平持续升高,引起宫内膜增生,其雌激素胞浆——核受体系统,可形成雌激素——受体复合物,进入细胞核中与染色体结合,通过影响转录使核糖核体合成增加,蛋白合成增多,直接影响DNA合成和核分裂过程,致使内膜持续增生及肿瘤形成。ER和PR受雌、孕激素调节并存在协同和拮抗作用,但在肿瘤时,可能因致癌因子损害受体产生,引起细胞功能/代谢紊乱,或产生某种物质损害受体使其基因关闭/损害受体的亲合力,使ER不表达或低表达,本实验发现ER随肿瘤分化程度升高而阴性表达增强,与文献[6]报道一致,据认为ER的含量变化可综合反应分期、分级对预后的影响,是一个功能性客观指标,我们随访的结果亦支持这一点,故临床进行血清中ER水平检测,对指导临床治疗和估价预后有一定意义。

### 3.3　预后

关于子宫内膜腺癌的预后高危因素,根据我们的观察,肿瘤的预后与肿瘤分化程度、肌层浸润深度,机体应答反应有关外,尚同ER CEA阳性表达强度有一定关系:ER含量越高,预后较好;CEA有随肿瘤分级升高而阳性增强的明显趋势,随访中发现,强阳性表达者,转移率高,且转移早(2/5),据文献报道,CEA不只是结肠癌标志物,亦是转移标志物,CEA分子间可发

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

生嗜同性(Homohilic)结合,被带到肝脏进行处理的CEA与表达CEA的癌细胞结合,从而增加癌细胞在肝内形成转移的机会。转移靶细胞血管内皮细胞和癌细胞表面的粘附分子相互识别可能对癌转移的器官特异性有重要意义,我们例数较少,有待进一步研究。

(免疫组化由附属新桥医院病理科谢青教授帮助制作,特此致谢!)

关键词 子宫内膜腺癌;雌激素受体;免疫组织化学;子宫颈肿瘤

中图法分类号 R737.33

## 参考文献

1 尹雪彬,沈 锃,郎景和.子宫内膜癌的病理分类治疗及预后影响因素的现代观.中华妇产科杂志,1996;31(8):508

2 Siverberg S B. Pathology of endometial carcinoma. In: Sciarra J W ed, Gynecology and Obstetries. 2nd ed. Vol 4 philadelphia: Haoper & Row, 1988 5~6

3 Creasmen W T. New gynecologic cancer staging. Obstet Gynecol, 1990; 75 287

4 洪 雨,杜心谷.子宫内膜癌495例组织分型和预后分析.上海医科大学学报,1987;14(6):421

5 Dabbs M D, Kin R, Thomas Narris M D. Interme diatic filaments in endometrial and endocervical carcinomas the diagnostic utihty of vimentin patherns. Am J Surg Pathol, 1986; 10 568

6 张国楠,张师前.子宫内膜癌生物化学特征.国外医学:妇产科学分册,1994;12(5):282

(收稿:1997-07-15;修回:1998-01-20)

(编辑 张大春)

# 银染色法结合 PCR-SSCR技术检测 LDH亚单位变异

# Detection of genetic mutation in human lactate dehydrogenase subunit using PCR-SSCR in combination with silver staining

刘泽军* 何长生 刘倩予 Dey DC** (第三军医大学附属西南医院检验科)重庆,400038

提 要 目的:应用单链构象多态技术检测乳酸脱氢酶基因变异。方法:使用银染色法结合PCR-SSCP分析变异基因。结果:乳酸脱氢酶的变异发生在H基因的外显子4上。结论:用银染色法代替放射性标记的PCR-SSCP分析更适于常规实验室应用。

自从Orita[1]开发了单链构象多态性(SSCP)后,这项技术已被广泛运用,尤其对检测基因点突变具有其它方法无法比拟的优点。但其操作时需要使用放射性物质而且所需时间较长,本实验用银染色技术代替放射性物质检测乳酸脱氢酶亚单位变异,简化了操作程度,得到了理想的效果。

## 1 材料和方法

成年男性患者,实验室检查乳酸脱氢酶活力低于正常值范围,同工酶分析H亚单位所占比例较低,怀疑可能有遗传性亚单位变异,因此对其DNA进行PCR-SSCP分析。从患者全血中提出DNA,多聚酶链反应扩增H亚单位的7个外显子(Gene amp system 9600扩增仪),1.5μl PCR产物与1.5μl染料混合(染料中含有98%甲酰胺,0.05%溴酚蓝,0.05%二甲苯蓝,20 mmol/L EDTA),95℃加热2 min使变性,然后立即置于冰水溶中速冷,选用Phast凝胶12.5和Phast凝胶缓冲液,300 V,15℃条件下,在phast系统全自动电泳仪上电泳,电泳结束后,用银染色法鉴定分离的DNA泳动带。银染色程序见表1,表中所用溶液逐一由机器自动加入。

表1 银染色程序

| 步骤 | 溶液 | | 时间($t$/min) | 温度(℃) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 固定液 | 0.7%苯磺酸<br>24%乙醇 | 8 | 50 |
| 2 | 染色液 | 0.2%硝酸银<br>0.07%苯磺酸 | 10 | 50 |
| 3 | 蒸馏水 | | 1 | 25 |
| 4 | 显象液 | 80 ml 2.5%碳酸钠<br>80μl 37%甲醛<br>80μl 2%硫代硫酸钠 | 4 | 30 |
| 5 | 终止液/保存液 | 1%醋酸<br>5%醋酸钠<br>10%甘油 | 5 | 50 |

* 刘泽军,男,42岁,副主任技师,硕士

** 浜松医科大学临床检查部,日本

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