黑素细胞肿瘤增生活性研究

高天文 刘荣卿* (第三军医大学西南医院皮肤科) 630038

恶性黑素瘤(MM)病理诊断中存在两大困难:(1)良恶性黑素细胞肿瘤的鉴别;(2)无色素性 MM 与其它非黑素细胞肿瘤的鉴别。先天性小痣在人群中的发生率约 1%,但对其易恶变与否、应如何处理等,目前尚在争论中。本研究应用显微分光光度计 DNA 定量、核仁组成区银染色(AgNORs)计数、透射电镜观察、N-ras 基因产物 p21 蛋白检测、抗人增殖细胞抗体 Ki-67 标记染色等与肿瘤增生活性相关的技术方法,并通过 MM 的临床资料分析及有关 MM 诊断、鉴别诊断的免疫组化染色,针对上述两个问题进行探讨,发现:(1)MM DNA 含量与各型色素痣差异非常显著($P<0.01$),色素痣中的先天性巨痣 DNA 含量最高,先天性小痣次之,后天性小痣最低,3 型痣之间 DNA 含量有显著差异($P<0.05$);(2)应用本研究中采用的 AgNORs 计数法,能将 82 例良恶性黑素细胞肿瘤明确区别开;(3)13/15 例 MM Ki-67 标记染色阳性,38 例色素痣全部阴性;(4)透射电镜下 15/18 例 MM 找到异常黑素小体,1/3 例先天性巨痣及 3/15 例先天性小痣的皮内痣细胞中发现异常黑素小体,9 例后天性皮内痣细胞中未发现异常黑素小体;(5)所染 21 例含色素性 MM 及 36 例无色素性 MM 中,S100 蛋白、波形纤维蛋白全部阳性,且多为强阳性及中度阳性;(6) N-ras p21 蛋白在 MM 中表达率为 54.17%,先天性巨痣 30.77%,先天性小痣表达率 15.38%,15 例后天性痣全部阴性;(7)54 例获随访结果或有完整记录的 MM 中,6 例源于先天性小痣,无源于先天性巨痣及后天性痣病例,结果提示:(1)AgNORs 计数、DNA 定量、Ki-67 标记染色、透射电镜观察有助于黑素细胞肿瘤的良恶性鉴别诊断;抗 S100 蛋白、波形纤维蛋白抗体标记染色、透射电镜观察有助于无色素性 MM 的鉴别诊断;(2)实验室资料支持以往临床对先天性巨痣易恶变的认识;(3)先天性小痣较后天性痣易恶变,宜作预防性切除。

关键词 恶性黑素瘤;先天性小痣;DNA;核仁组成区银染色;超微结构;免疫组化;N-ras 蛋白;诊断;恶变

桥粒提取、桥粒蛋白 DP Ⅰ、Ⅱ McAb 的制备及应用研究

刁庆春 刘荣卿* (第三军医大学西南医院皮肤科) 630038

上皮细胞中含有一种细胞连结结构——桥粒。我们从牛鼻表皮组织中初步将桥粒成分提取出来,在电镜下观察,桥粒结构保存较好。提取的桥粒成份作 SDS－PAGE,结果与有关文献比较,我们认为 DP Ⅰ可能有 3 种成份:DP Ⅰa、Ⅰb、Ⅰc,分子量分别为 235kd、226kd 和 215kd;DP Ⅱ可能有 DP Ⅱa、Ⅱb、Ⅱc 3 种成份,分子量分别为 206kd、198kd 和 186kd;DP Ⅲ有两种成份:DP Ⅲa、Ⅲb,分子量为 87kd 和 86kd。其它蛋白成份与文献报道相似。

用初提的桥粒蛋白免疫 BALB/c 小鼠,应用杂交瘤细胞培养技术,建立了一株抗桥粒蛋白的单克隆抗体杂交瘤细胞系,定名为 DH1。经免疫印迹法检查证实 DH1 为同时抗 DP Ⅰ和 DP Ⅱ的单克隆抗体。

用 ABC 法和 IIF 法对 McAbDH1 的组织学分布进行了观察,结果发现 McAbDH1 在人、兔和大白鼠的各种上皮组织包括皮肤、气管上皮、肺泡上皮、食道、胃、肠粘膜上皮、肝细胞及胆小管上皮、肾小管上皮细胞、输尿管及膀胱移行上皮细胞、胸腺上皮细胞均为阳性;此外,在心肌细胞及蒲氏纤维亦为阳性。在非上皮源性细胞如平滑肌细胞、骨骼肌细胞、神经胶质细胞及神经元细胞、脾细胞、胸腺淋巴细胞、软骨细胞、血管内皮细胞及肾小球为阴性。

---

* 导师

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

用 ABC 染色法探讨 McAbDH1 在肿瘤中的应用价值，结果 DH1 在老年疣、基底细胞癌、鳞状细胞癌、腺癌和膀胱移行细胞癌等上皮源性肿瘤为阳性；而在其它非上皮细胞源性肿瘤如皮肤纤维瘤、平滑肌瘤、乳腺纤维瘤、混合痣、蓝痣以及平滑肌肉瘤、隆突性皮肤纤维肉瘤、黑色素瘤中均为阴性。DH1 不但在上皮肿瘤冰冻切片中为阳性，而且在石蜡切片中亦为阳性结果，提高了 DH1 的实用价值。

根据我们的研究结果，我们认为桥粒蛋白中的 DP Ⅰ、DP Ⅱ和 DP Ⅲ很可能不是单一成份，DP Ⅰ和 DP Ⅱ有 3 种成份，DP Ⅲ有两种成份。抗桥粒蛋白单克隆抗体 DH1 具有广泛的种属和上皮组织交叉反应性，在各种上皮组织中都为阳性，而在非上皮组织中则为阴性。DH_1 在上皮源性肿瘤中为阳性反应，而在非上皮类肿瘤中为阴性，且 DH1 可以用于石蜡标本。因此，DH1 可作为上皮组织及上皮源性肿瘤的一个标记物，在肿瘤的病理诊断及鉴别诊断中有较大的应用价值，可望推广应用，成为肿瘤鉴别诊断标记物中的一个新成员。

关键词 桥粒；桥粒蛋白；单抗；肿瘤；免疫组化

（上接 486 页）

的螺旋形微生物感染者，该 4 例患者均为男性，年龄 31～37 岁，均患有慢性活动性胃炎，其中 2 例伴有原因不明的新近消化道出血。

螺旋形微生物长 7～9μm，宽 0.6～0.7μm，6～8 个较规则螺旋，革兰氏染色阴性，主要分布在胃小凹及胃腺粘液中，各视野内数量分布不等，多者可达 200 个左右，局部以多形核白细胞浸润为主。在本文所采用的人工培养条件下未见生长，接种动物后未见局部及全身异常反应，亦未见螺旋形和微生物在动物体内生长。尿素酶试验阴性，除 1 例患者血清中抗 HP IgG 抗体达 1∶1600 以外，其余≤1∶800。其它血清学反应阴性。

3 讨论

1987 年 Dent 等在胃炎患者胃粘膜中发现一种与 HP 不同的新的螺旋形微生物[1,2]，现被称之为人胃螺旋菌(Gastrospirillum hominis GH)[3,4]。本文所报告的 4 例螺旋形微生物与 GH 在形态上完全一致，在 HP 专用培养基上不生长，多数患者血清中抗 HP 抗体水平不高，与梅毒螺旋体有关的血清学反应阴性，可能就是 GH，但最后鉴定还有待进一步研究。

国内外现有资料显示，GH 与人类胃炎具有密切相关性，但因其未能在体外培养成功，其主要生物学特性及病原学意义仍不明确，值得深入研究。

关键词 螺旋菌科；胃炎；胃粘膜；人胃螺旋菌

参考文献

1. Dent JC, McNuity CAM, Uff JC, et al. Spiral Organism in the gastric antrum. Lancet, 1987; 7: 96
2. McNulty CAM, Dent JC, Curry A, et al. New spiral baoterium in gastric mucosa. J Clin Pathol, 1989; 42: 585
3. Dick K, Loo A, Watson G, et al. Use of the mouse for the isolation and investigation of stomach-associated: Spiral-helical shaped bacteria from man and other animals. J Med Microbiol, 1989; 29: 55
4. Lee A, Dent J, Hzaell S, et al. Origin of spiral organism in human gastric antrum. Iancet, 1988; 6: 300

（收稿：1992-01-04；修回：1992-06-09）

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net