DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.04.001

论著

人恶性肿瘤相关核仁抗原 P_{24} 在肿瘤病理诊断中的意义探讨*

严森荣** 晏良逖 王晓东 胡川闽 (第三军医大学基础部病理学教研室) 630038

提 要 为初步探讨 HMNA P_{24} 在肿瘤病理学中的意义,本研究用抗 P_{24} McAb MA_2 以间接免疫荧光和 ABC 法对 552 例人体组织标本进行染色观察。结果表明,P_{24} 可在 97% 的各种人恶性肿瘤细胞核仁中检出,而在 98.6% 的良性肿瘤组织核仁阴性;不典型增生组织有 50% 核仁染色阳性;正常人体组织和非肿瘤性病变组织细胞核仁全部阴性。说明 P_{24} 有较高的恶性肿瘤特异性,是区别良恶性肿瘤的较为有效的肿瘤标志物。

关键词 抗原,肿瘤;肿瘤标志物;核仁非组蛋白;肿瘤/诊断

有关研究表明,在肿瘤标志物中,人恶性肿瘤相关核仁抗原(HMNA)对恶性肿瘤识别能力之高,是所有其它肿瘤标志物无法比拟的,阳性诊断符合率达 94%～100%,阴性符合率也高达 92%～100%[1~5]。作者另文报告了抗 HMNA 单克隆抗体(McAbs)的建立及 HMNA P_{24} 的鉴定[6]。本文则初步探讨 P_{24} 在临床肿瘤病理诊断中的实用价值。

1 材料与方法

1.1 抗 HMNA McAb MA_2 的建立及其相应抗原 P_{24} 的鉴定见作者另文[6]。

1.2 异硫氰酸荧光素标记羊抗小鼠抗体(FAb)购自中国医学科学院生物制品研究所,ABC 药盒购自 Pharma 公司。

1.3 临床病理材料

本组共含各种人体组织 552 例,其中恶性肿瘤 193 例,良性肿瘤 74 例,不典型增生组织 44 例,"疑癌"组织 22 例,炎性增生组织 50 例,其它非肿瘤性病变组织 107 例和正常组织 62 例。

1.4 间接免疫荧光(IF)和 ABC 染色

外科病理标本取材后,用缓冲的 1% 福尔马林固定 1 h 或不固定直接作低温恒冷切片,风干后再用 4℃ 丙酮固定 15min,然后分别加 MA_2 和 FAb 孵育,最后用荧光显微镜观察。石蜡包埋组织常规切片,用 MA_2 按一般程序用 ABC 染色。本组 IF 染色标本共114例,各例的石蜡包埋组织同时进行了 ABC 染色,两法染色结果完全吻合。

2 结果

2.1 P_{24} 在组织细胞中的一般分布

用 IF 或 ABC 法,MA_2 在各类细胞的染色中,胞浆、核膜、核浆都可有不同程度的着色(图 1),间质亦有一定程度的着色,有些基底膜的着色尤为明显。这与作者另文的 ELISA 分析[6]及文献图片[1~5]的结果一致;结果的判断主要根据核仁是否着色。

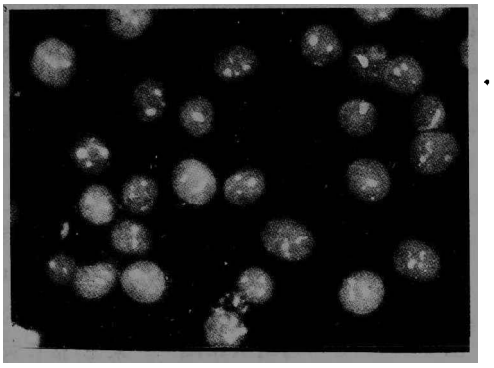


图 1 Hela 细胞 MA_2 IF 染色 ×400

Fig 1 Immunofluoresent micrograph of Hela cells stained with the McAb MA_2 by IF method

The nucleoli showed bright positive fluorescence, and the karuoplasm, the nuclear membrane and the cytoplasm were also stained in some extent. ×400

* 国家自然科学基金资助项目

** 现在广州第一军医大学病理学教研室,510515

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

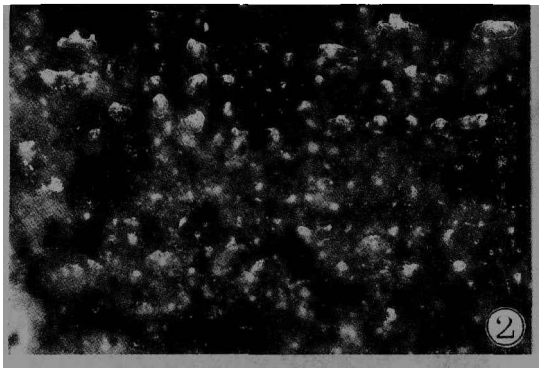
2.2 核仁 P_{24} 阳性结果(表 1)

在所检 193 例人恶性肿瘤组织标本中,有 187 例(97.0%)呈核仁 P_{24} 阳性(图 2～3)。阳性强度在各种组织起源和组织学分类的恶性肿瘤中无差别,但有随瘤细胞的分化程度降低而加强趋势。而在鳞状细胞癌中,高分化的阳性强度反高。本组 22 例临床病理诊断为"可疑"或"高度可疑"癌组织中,全部显核仁 P_{24} 阳性。在 44 例临床病理诊断为"不典型增生"的组织中,有 22 例核仁 P_{24} 阳性,阳性的出现与病理分级无明显关系。在 74 例良性肿瘤组织中,仅有 1 例(1.4%)乳腺腺瘤核仁 P_{24} 阳性。

表 1 P_{24} 免疫组化染色结果(552 例)

Tab 1 Results of Immunochemical stain of P_{24} (552 cases)

1. Positive tissues (232 cases)	2. Negative tissues (320)
(1)Carcinoma (160)	(1)Normal tissues (62)
(2)Sarcoma (20)	(2)Inflamatory hyperplastic tissues (50)
(3)Other malignant tumors (7)	(3)Atypical hyperplasia (22)
(4)Benign tumors (1)	(4)Other non-tumor tissues (107)
(5)"Dubious carcinoma" (22)	(5)Benign tumors (73)
(6)Atypical hyperplasia (22)	(6)Carcinoma (6)



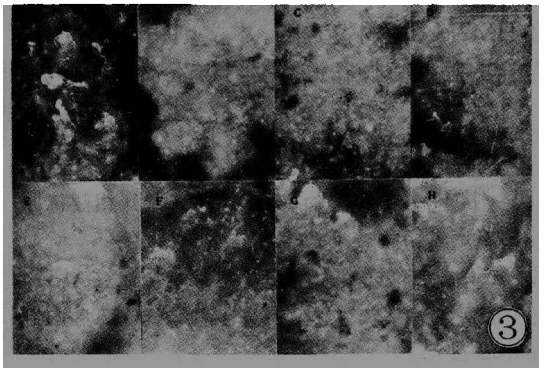


图 2 人肝细胞癌组织 MA_2 IF 染色,核仁荧光阳性。 ×370

Fig 2 Immunofluorescent micrograph of human hepatocellular carcinoma stained with the McAb MA_2 by IF method, Bright nucleolar fluorescence was seen. ×370

图 3 人恶性肿瘤组织 MA_2 IF 染色,核仁荧光均为阳性。 ×240

(A)食道鳞癌;(B)肺鳞癌;(C)乳腺腺癌;(D)胃腺癌;(E)肝细胞癌;(F)肺腺癌;(G)结肠腺癌;(H)横纹肌肉瘤。

Fig 3 Immunofluorescent micrograghs of human malignant tumors stained with the McAb MA_2 by IF method. Bright nucleolar fluorescence was seen in all specimens (A－H). ×240

(A)Squamous carcinoma of the esophagus; (B)Squamous carcinoma of the lung; (C)Adenocarcinoma of the breast; (D)Adenocarcinoma of the stomach; (E)Hepatocellular carcinoma; (F) Adenocarcinoma of the lung; (G)Adenocarcinoma of the colon; (H)Rhabdomyosarcoma.

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

2.3 核仁 P_{24} 阴性结果(表 1)

在所检 62 例取于人体各部的正常组织中,核仁 P_{24} 全部阴性(图 4)。50 例包括有气管、支气管、食道、胃和结肠粘膜等在内,临床病理诊断为"炎性增生"的组织中,核仁 P_{24} 全部阴性。107 例各种其它非肿瘤性疾病的临床活检材料中,其核仁也未能检出 P_{24}。74 例良性肿瘤组织中,有 73 例(98.6%)核仁 P_{24} 阴性。另有 6 例恶性肿瘤(占所检恶性肿瘤的 3%)核仁染色阴性,对照 HE 切片,这些肿瘤均为高分化腺癌。

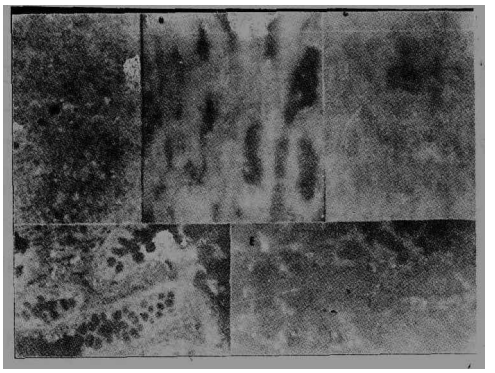


图 4 正常人体组织 MA_2 IF 染色,均未见核仁荧光。 ×240

(A)肝脏;(B)横纹肌;(C)平滑肌;(D)胃粘膜;(E)肺组织。

Fig 4 Immunofluorescent micrographs of normal human tissues stained with the McAb MA_2 by IF method. No nucleolar fluorescence was seen in these specimens (A—E). ×240

(A) liver; (B) striated muscle; (C) smooth muscle; (D) stomach musosa; (E) lung

3 讨论

从定义上讲,HMNA 不是肿瘤特异性抗原,而是癌胚抗原或肿瘤相关抗原,但其在人体组织中,绝对优势地表达于恶性细胞核仁,而在良性肿瘤、非肿瘤性病变组织和正常细胞核仁阴性,使之成为很有应用潜能的恶性肿瘤"共性"标志物,在临床肿瘤病理诊断中有广阔的应用前景[1~5]。

P_{24} 是作者所研制的 McAb MA_2 识别的分子量为 24kd 的 HMNA,虽然其也可以从各类细胞的胞浆和核浆等组份中检出,但其表达的优势是在恶性肿瘤细胞的核仁中[6]。本研究观察表明,以核仁染色阳性来判断恶性肿瘤,其准确率可达 97%,而以核仁阴性来判别良性肿瘤时,准确率可高达 98.6%。正常组织、炎性增生组织和其它非肿瘤性病变组织核仁 P_{24} 更是全部阴性。作者因而认为,P_{24} 对人恶性肿瘤组织有很高的特异性,它对临床病理诊断中准确区分良恶性肿瘤具有一定的实用价值。

P_{24} 在恶性肿瘤细胞中的表达强度有随细胞分化程度的降低而增强的趋势,这可能与癌细胞一般分化越低,细胞增殖越活跃,蛋白质合成旺盛,核仁亦相应肥大有关。鳞状细胞癌细胞却又与此有异,高分化的细胞核仁 P_{24} 表达反强,其中原因尚有待进一步探讨。但在作者另项实验中,Hela 细胞经正丁酸钠诱导发生细胞分化后,核仁 P_{24} 的含量是肯定降低的。本组核仁 P_{24} 阴性的 6 例恶性肿瘤,均是高分化腺癌,这可能是由于细胞分化程度高,核仁 P_{24} 含量太微以致检测不出。

一般认为不典型增生属于癌前病变,并且其分级越高越有可能发生癌变。在本组 44 例临床病理诊断为不典型增生的组织中,有 22 例(50%)核仁 P_{24} 阳性,但阳性的出现却与病理分级无明显关系。轻、中和重度病变核仁 P_{24} 阳性的例数大致相当,无显著差异;阴性病例也是如此。本组病例未能做随访观察,其中原故尚不得而知,但近时许多研究表明,不典型增生的分级和肿瘤恶性程度分级一样,都存在形态分级和生物学行为的不一致性,是否 HMNA 的表达与其最终的恶性演变有关,尚有待进一步研究。

至于核仁外其它部位 HMNA 检出阳性的问题,在以往文献[1~5]中的图也可见类似

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

情况，但未见有关说明。作者考虑，HMNA 是在胞浆核糖体中合成[7]，经一转运机制最后定位于核仁。这个过程是连续性的，不可能是跳跃式，在其合成和转运途径部位可检出一定量的存在是合理的。作者另文 ELISA 分析也证明这种情况的存在[6]。

（西南医院病理科和手术室、新桥医院病理科、重庆市肿瘤医院病理科为本研究提供标本，谨致谢忱！）

参考文献

1. Busch H, Gyorkey F, et al. A nucleolar antigen found in a broad range of human malignant tumor sepcimens. Cancer Res, 1979; 39: 3024～3030
2. Freeman JW, Mckorie DK, et al. Identification and partial characterization of a nucleolar antigen with a molecular weight of 145 000 foud in a broad range of human cancer. Cancer Res, 1986; 46: 3593～3598
3. Freeman JW, Busch RK, et al. Identification and characterization of a human proliferation-associated nucleolar antigen with a MW 120 000 expressed in early G_1 phase. Cancer Res, 1988; 48: 1244～1251
4. Davis FM, Hittelman WN, et al. Human malignancy－associated nucleolar antigen as a marker for tumor cells in patients with acute leukemia. Blood, 1984; 63: 676～683
5. Lu M, Davis FM, et al. Double immuno-enzymatic labeling of lymphomatous tissue for both immunologic phenotype and a malignancy－associated nucleolar antigen. Am J Pathol, 1986; 123: 73～78
6. 严森荣 胡川闽。抗人肿瘤相关核仁抗原单克隆抗体的建立。单克隆抗体通讯，1992; 8(2): 48～52
7. Satoh K, Busch H. Characterization of nucleolar antigens of normal rat liver, regenerating rat liver, and Novikoff ascite hepatoma cells following in vitro translation of polyadeylic acid-containing RNA. Cancer Res, 1983; 43: 2143～2149

（收稿：1992-08-18；修回：1993-04-16）

Study on the diagnostic significance of human malignance-associated nucleolar antigen P_{24} for tumors

Yan Senrong, Yan Liangsui, Wang Xiaodong, Hu Chuanmin (Department of Pathology, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract In order to assess the significance of human malignancy-associated nucleolar antigen P_{24} in the diagnosis of tumors, 552 specimens of human tissues were stained and observed with immuno－fluorescent and ABC methods using anti-P_{24} monoclonal antibody MA_2. It was found that P_{24} was positive in the nucleolus of 97% cases of malignant tumors and in 50% of atypical hyperplastic tissues but negative in 98.6% cases of benign tumors and in all the normal or nontumorous tissues.

On the basis of these findings, it is believed that P_{24} is highly specific to malignant tumors and will be a useful marker for the differential diagnosis between malignant and benign tumors.

Key words antigen, neoplasm; tumor markers, biological; neoplasm/DI; nucleolar nonhistone protein

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