DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.06.023

7. Goto A. The effect of urinary digitalislike factor on cultured vascular smooth cells. Hypertension 1989; 14(11):645～650
8. Kojima I, Yoshihara S, Ogata E. Involvement of endogenous digitalis-like substance in genesis of deoxycroticosterone-salt hypertension. Life Sci 1982; 30(21):1775～1781

(收稿：1990-06-02；修回：1991-09-14)

血清-酶联葡萄球菌A蛋白免疫组化法检测抗肿瘤相关抗原抗体

雷显谋 李增鹏 郭瑞峰△ (第三军医大学大坪医院 病理科) 630032

据文献报道证实[1]，肿瘤病人血清中有抗肿瘤相关抗原抗体（Antibodies to Tumor-related Antigens，简称AbT-Ag）存在。根据这一机理，在抗肿瘤人单克隆抗体的研究中，有应用细胞微点PAP法和微孔酶联免疫筛选法[1][2][3]检测血清抗体作病例筛选及克隆株筛选，以增加获得特异性抗肿瘤人单抗机率的报道。

我们以人血清为第一抗体，恶性上皮性癌瘤的组织切片作为肿瘤抗原，用酶联葡萄球菌A蛋白（HRP-SPA）间接免疫组化法检测肿瘤病人血清中的AbT-Ag，获得较满意的结果。报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 血清来源：采用双盲法收集上皮性癌瘤住院患者的血清31例，非癌瘤住院患者血清24例。

1.1.2 肿瘤抗原片制备：取肺、消化道、乳腺、甲状腺、肾及膀胱的癌组织共16块。常规组织处理，复合石蜡包埋，连续切片备用。

1.1.3 自身抗体检查用抗原片（第四军医大学病理学教研室提供）。

1.1.4 冻干HRP-SPA（上海生物制品厂产品，应用稀释浓度为1:40）。

1.1.5 磷酸盐缓冲液（PBS)：0.01mol/L，pH7.4。

1.2 方法

1.2.1 切片经3 %H_2O_2处理5 min，以抑制内源性过氧化酶活性。PBS洗5min，共2次。

1.2.2 取患者血清分别按1:16和1:32稀释，滴加于抗原片上，置湿盒内4 ℃过夜。PBS洗涤2次。

1.2.3 滴加稀释的HRP-SPA，室温中作用30min。PBS洗涤。

1.2.4 DAB显色反应5～10min。

1.2.5 苏木素液浅染细胞核。依次脱水，透明，树胶封片。

1.2.6 取预试验中多次均为阳性或阴性病人血清各2例分别作阳性和阴性对照，另用PBS代替血清作空白对照。

1.2.7 取7例对照组血清（其中阳性3例，阴性4例）追加作自身抗体检测，方法同上。

△ 野战外科研究所六室

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

2 结 果

附表 55例血清-HRP-SPA免疫反应结果

	病例数	阳性例数	阳性率（%）
癌瘤组	31	26	83.9
非癌瘤对照组	24	9	37.5

2.1 免疫学反应结果见附表

附表显示癌瘤患者血清阳性率明显高于对照组，二者间有非常显著的统计差异（$P<0.01$）。对照组的9例阳性病人中，1例为空肠腔内型脂肪瘤，其表面粘膜显示非典型性增生；2例为开放性胸外伤，表现为角化型鳞癌组织阳性；余6例为慢性肺部感染性疾病。对照组追加作自身抗体检测7例，其中肿瘤抗原片阳性的3例，自身抗体检测全部阳性，而肿瘤抗原片阴性者，自身抗体检测亦为阴性。

2.2 阳性免疫反应的分布

一阳性病人血清可表现为1种或1种以上癌组织阳性，但不同组织反应强度不一，阳性反应的特异性尚不明显。在鳞癌组织中呈部分癌巢分布（图1），腺癌、未分化癌则为弥漫性分布（图2、3），间质成分不着色，血管腔内呈阳性反应（图4）。同一病人血清的不同稀释浓度的阳性反应强度稍有差异，但二者不成正比，某些高稀释度（1:32）反较低稀释度（1:16）的阳性强度大。同一病人重复检测，其阳性反应的分布部位一致。

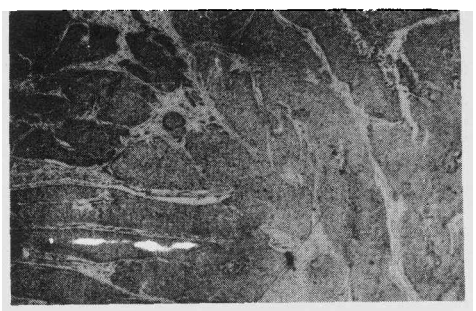


图1 鳞癌组织显示部分癌巢阳性 SPA×100

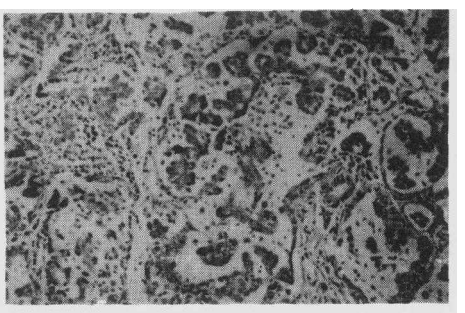


图2 腺癌组织，癌细胞弥漫阳性，间质阴性 SPA×200

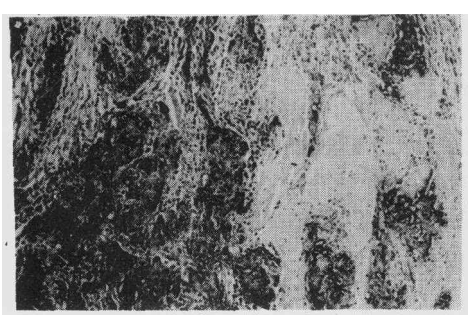


图3 未分化癌，癌细胞弥漫阳性，间质阴性 SPA×200

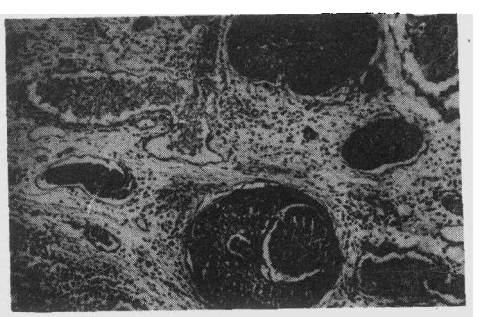


图4 显示鳞癌细胞及血管内物质阳性 SPA×200

3 讨 论

一般的肿瘤血清学检查，多采用已知特异性抗体检测血清中的肿瘤抗原如 CEA、AFP 等，适应范围较小。我们将血清作为第一抗体，使之与肿瘤组织切片中的瘤细胞（肿瘤抗原）作用，利用SPA 对人类免疫球蛋白的亲和特性，视其为“桥抗”，采用血清—HRP—SPA 免疫组织化学方法，进一步证实了肿瘤病人血清中有 AbT-Ag 存在。我们的实验结果显示恶性肿瘤的阳性率高达83.9%，少数病例（本组占16.1%）出现阴性结果，可能与肿瘤病人个体免疫反应性的差异有关。

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

关于免疫反应的特异性问题，本组实验发现同一病人血清可与1或1种以上肿瘤组织起反应，未表现出明显的特异性。这可能是由于肿瘤相关抗原的种类复杂，不同组织学类型的肿瘤具有部分相同的肿瘤抗原性，从而引起相应的抗体产生。

在非癌瘤对照组中亦有相当比例的阳性反应，阳性率达37.5%。这可能与本组血清系取自非恶性癌瘤的住院病人有关。分析本组假阳性病例，大致有下述3种情况及可能的解释：(1) 1例腔内型空肠脂肪瘤，其表面粘膜显示非典型性增生，可能已具有肿瘤抗原性；(2) 2例开放性胸外伤，2次血清均对角化性鳞癌组织有较强的阳性反应，可能为损伤的鳞状上皮性抗原物质进入血流引起相应的自身抗体产生；(3)慢性肺部感染性疾病可继发自身免疫现象[5]。我们的假阳性病例，在追加的自身抗体检测实验中亦显示阳性证明了这一点。王琰等[6]报告抗核抗体阳性的系统性红斑狼疮病人的血清可与乳癌细胞起反应，提示癌细胞除具肿瘤抗原性外，仍保留有自身组织的抗原性，故自身抗体阳性者，可同时在肿瘤组织中表达出来。肿瘤为非自身免疫性疾病，一般应无自身抗体。据此推测，肿瘤组织阳性而自身抗体检测阴性者，以肿瘤可能性大。二者均阳性则应考虑自身免疫性疾病的可能。我们的初步研究结果提示最好同时作自身抗体检查，以排除部分假阳性病例，提高检测的准确性。根据SPA的生物学特性，本方法亦适用于自身抗体检查，并已有类似文献报告[4][7]。我们建议可采用在同一切片中，同时制备肿瘤抗原片和自身免疫性疾病抗原片，可使肿瘤抗体和自身抗体检测同步一次完成。

我们的实验结果显示本法检测肿瘤病人血清中的AbT-Ag，具有较高的检出率，且具有成本低，方法简便，易于推广应用及切片可以存档便于复查等特点，不失为一种可取的肿瘤辅助诊断方法。

(此工作得到本院临床学科梁先万、李义兵、王仁云、孙海晨和向杰诸位医师提供病人血清，特致谢意。)

关键词 血清；酶联葡萄球菌A蛋白（HRP-SRA）；免疫组化法；抗肿瘤相关抗原抗体

参考文献

1. 杨莉，等。肿瘤病人血清抗体预选与分泌抗乳癌人单抗淋巴细胞系的建立。中国免疫学杂志 1989；5 (6)：332～335
2. Glassy MC, et al. An enzyme immunofiltration assay useful for detecting human monoclonal antibody. J Immunol Meth 1983；58：119～126
3. Lane DP and Lane EB. A rapid antibody assay system for screning hybridoma cultures. J Immunol Meth 1981；47：303～307
4. 杨天兵，等。生物素-亲和素-酶复合物免疫酶斑点法检测抗DNA抗体。临床检验杂志 1987；5 (4)：200
5. 罗振辉，等译：自身免疫性疾病的诊断和治疗。〔日〕大藤 真，太田善介，著。上海科学技术出版社 1982：203～206
6. 王琰，等。细胞涂片微点法——一种简便易行的McAB筛选法。中华微生物学和免疫学杂志 1986；6 (1)：26
7. 雷月英，郭觉学。酶联葡萄球菌A蛋白检测自身抗体的效果观察。临床与实验病理学杂志 1990；6 (1)：52～53

(收稿：1990-08-22；修回1991-06-07)

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