DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.04.008

128例不同类型肿瘤的角蛋白标记研究

张战根 姚云泉 朱梅刚 胡时勇* 高广正 谢 青 王 勇（新桥医院 病理科）

提 要 本文用多克隆抗角蛋白抗体，以免疫过氧化酶PAP法，对128例不同类型肿瘤的常规石蜡包埋组织进行标记。其结果大多数癌除肝细胞肝癌、肾透明细胞癌外，大部分肿瘤细胞显示中等度到强阳性。在滑膜肉瘤、恶性间皮瘤及胸腺瘤上皮样成份弱阳性。黑色素瘤、恶性淋巴瘤、恶性纤维组织细胞瘤、上皮样平滑肌瘤、精原细胞瘤和类癌都显阴性。结果提示该多克隆抗角蛋白抗体在低分化或未分化癌与淋巴瘤、黑色素瘤等鉴别诊断中是有价值的。

关键词 肿瘤；角蛋白；免疫酶技术；免疫化学；抗体；角蛋白标记；多克隆抗体

在肿瘤病理诊断中，低分化或未分化肿瘤的诊断、鉴别诊断仍是很困难的。细胞角蛋白抗体的应用，为解决上皮源性与非上皮性肿瘤的鉴别诊断提供了一种有用的方法。我们用多克隆角蛋白抗体对128例不同类型肿瘤进行标记，探讨角蛋白在这些肿瘤中的分布及其在低分化肿瘤诊断中的辅助作用。

材 料 与 方 法

一、病例选择：绝大部分病例为我院2年内确诊恶性肿瘤的蜡块。所有织组块均用10%福尔马林液固定，石蜡切片，并有HE切片对照，双盲法阅片，角蛋白阳性程度的确定，以正常鳞状上皮及腺上皮为标准，接近者为强阳性。

二、免疫过氧化酶染色方法：应用多克隆抗角蛋白抗体(由上海医科大学免疫室提供)。石蜡切片厚4μ，脱蜡后酒精洗涤。室温条件下放入0.3%双氧水甲醇处理20min。水和PBS液（0.01mol pH7.2～7.4）洗5 min。移入预热的PBS液37℃ 10min。胰酶消化20min，PBS液洗5 min。将切片置入湿盒中滴加1∶10正常小牛血清，于37 ℃ 孵育30min，倾去牛血清，滴加兔抗人角蛋白（1∶500），置湿盒内于4℃冰箱中过液。PBS液洗10min，滴加1∶25正常混合人血清-PBS液稀释的羊抗兔IgG，置湿盒内于37℃温箱孵育30min，PBS液洗10min，DAB液显色3～4 min。用PBS液代替一抗作阴性对照。

观 察 结 果

标记结果除肝细胞癌及肾透明细胞癌呈阴性外，其它绝大部分上皮性肿瘤不论其分化程度与组织学类型都显示不同程度的阳性反应。癌细胞角蛋白抗体反应的部位在胞浆，呈棕褐色细颗粒状弥漫或于胞浆周缘分布，有的于腺体的顶部(图1)。大多数肿瘤细胞呈中度到强阳性，少数反应较弱。癌细胞对角蛋白的表达有两种类型，一是癌细胞的角蛋白反应都呈阳性，见于高分化鳞癌及管状腺癌(图2)；二是角蛋白阳性细胞呈不均匀分布，即在同一癌巢中有些癌细胞阳性，而另一些则阴性，见于低分化或

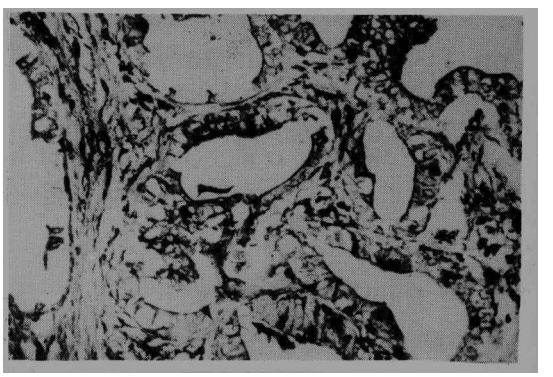


图1 角蛋白标记，在胆管型肝癌细胞中胞浆与腺腔内缘阳性。PAP法 ×420

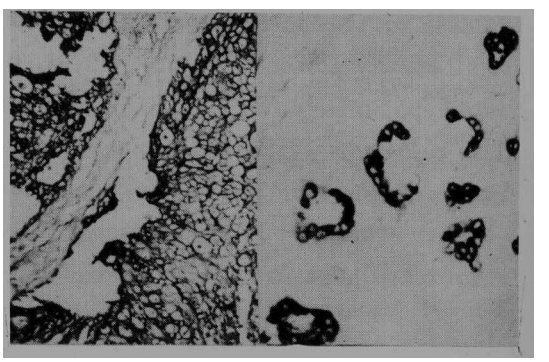


图2 高分化鳞癌细胞角蛋白标记强阳性(左)，乳腺粘液腺癌细胞亦强阳性(右)。PAP法 ×210

* 石家庄军医学校病理教研室

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

未分化癌（图3）。

5例胸腺癌，2例间皮肉瘤，3例滑膜肉瘤中的2例混合型，1例梭型细胞为主型。上皮性分化成份全部阳性（图4）。而精原细胞瘤、类癌、恶性淋巴瘤、黑色素瘤、平滑肌肿瘤及恶性纤维组织细胞瘤全为阴性结果。

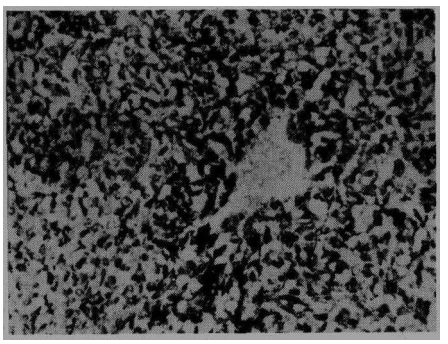


图3 未分化癌细胞角蛋白标记中央部中等度阳性，其余的癌细胞弱阳性。 PAP法×210

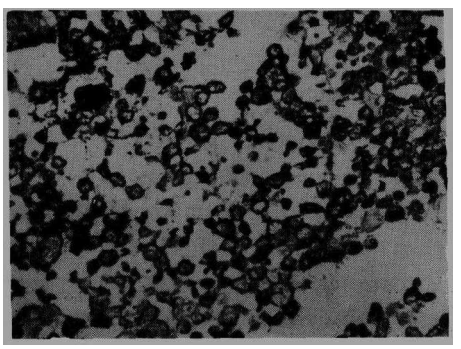


图4 滑膜肉瘤，上皮样瘤细胞角蛋白标记阳性。PAP法×210

11例淋巴结内诊断没有肯定是未分化癌或淋巴瘤，结果有7例角蛋白显示弱到中度阳性。确定为转移性癌。

讨 论

角蛋白（Keratin）作为细胞骨架的组成部分，中间丝蛋白的5种成分之一，是上皮性肿瘤的标记性蛋白[2][3]。根据大量研究，到为目前止，认为角蛋白除眼的晶状体和肾小球足细胞阴性外，几乎存在于所有类型的上皮细胞内[3]。抗全角蛋白抗体（多克隆）及抗不同分子量的角蛋白抗体（单克隆）部分能在冰冻切片，酒精或福尔马林液固定标本的石蜡切片中标记细胞角蛋白[4]，我们的结果证明新近或较久的蜡块，均能达到满意的效果，本组研究表明角蛋白标记意义及作用有以下几个方面：

一、角蛋白总的标记作用

1．对上皮性肿瘤的标记：所标记的128例不同类型肿瘤中，88例肯定的上皮性肿瘤中除肝细胞型肝癌和肾透明细胞癌标记阴性外，其它类型上皮性肿瘤绝大部分呈不同程度的阳性标记。从阳性瘤细胞对角蛋白的反应看，其标记的特点是：鳞癌的阳性反应强于腺癌；高分化癌强于低分化癌；低分化癌强于未分化癌。上述瘤细胞对角蛋白的表达差异，是符合癌细胞分化很差时，其角蛋白中丝发育不良这一理论。对某些肿瘤有提示细胞分化方向的意义。如在唾腺腺癌中，当癌细胞向腺泡方向分化时，显示阴性结果。当它向腺管样结构分化时，则显阳性。肝细胞肝癌阴性，而胆管型肝癌细胞则阳性（图1）。Gown和Kahn用不同的角质层抗原制成不同分子量的单克隆角蛋白抗体，检测肝细胞与胆管上皮，胰腺腺泡细胞与其导管上皮，肾近曲小管与远曲小管上皮，结果出现相反的角蛋白反应。这也证明了不同类型的上皮存在不同分子量的角蛋白。

2．对某些非上皮性肿瘤的标记作用：应用于胸腺瘤，间皮瘤及滑膜肉瘤的标记[4][5][6][7]。本文对10例上述肿瘤作标记，结果全部肿瘤显示阳性，但以上皮型瘤细胞阳性最强。滑膜肉瘤的上皮性分化细胞明显阳性，梭形细胞成份弱阳性或阴性。Corson[7]对24例滑膜肉瘤标记，结果8例双向型全部阳性，16例单向梭形细胞分化的有8例阳性。这可能是单克隆抗体的缘故。本组所有平滑肌性肿瘤，恶性纤维组织细胞瘤，黑色素瘤及恶性淋巴瘤共14例进行标记，全部呈阴性反应。

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

3．对某些特殊肿瘤的标记：我们对类癌，精原细胞瘤共5例作了角蛋白标记，全部显示阴性结果。据文献报告[5][6]，一些作者用单克隆抗角蛋白抗体AE_1、AE_3对上述肿瘤作标记，结果显示弱到中度阳性。本文使用的多克隆抗体，这可能与抗体纯度有关，但有人认为与技术操作有关，有待于今后的研究。

二、角蛋白标记在肿瘤鉴别诊断中的作用　这方面是最有意义的部分。本组材料发现有下列几个方面：

1．淋巴结内转移性低分化或未分化癌以及恶性淋巴瘤的鉴别诊断：本组选择的11例中淋巴结内恶性肿瘤在标记前没有能肯定是癌或淋巴瘤。标记结果有7例阳性，肯定了转移性癌的诊断。

2．低分化鳞癌与恶性黑色素瘤的鉴别。尤其是梭形细胞鳞癌，有时鉴别困难。本组有2例牙龈梭形细胞鳞癌也曾怀疑为无色素性黑色素瘤，标记结果前者阳性，而后者阴性。

3．间皮肉瘤与上皮样平滑肌瘤，弥漫性腹膜平滑肌瘤病的鉴别：前者阳性，后两者阴性。

此外，角蛋白对多形性癌与癌肉瘤的鉴别也有一定的帮助。本组2例直肠多形性癌曾怀疑为癌肉瘤，标记结果肿瘤细胞全部阳性，但因癌细胞分化的差异，角蛋白阳性反应的强度是不一致的。

通过本组材料的探讨性研究，表明该国产多克隆抗角蛋白抗体具有检测范围广泛，阳性反应强的特点，其反应性与特异性均足以应用于肿瘤的诊断，鉴别诊断和科学研究，但并不能解决一切问题，尤其对分化很差的肿瘤反应较弱，加之其它因素如抗体浓度掌握不当或技术操作不妥，都可能造成假阴性或假阳性。细胞保存的好坏及抗体纯度等也会影响检测效果。对这些分化很差，反应较弱的肿瘤，评价时尤需慎重，必要时借助单克隆角蛋白抗体和其它中丝蛋白，甚至电镜作为互补，这将对肿瘤的诊断，鉴别诊断和组织发生的研究发挥其更大的作用。

参考文献

1. EDITORIAL. Diagnostic immunohistochemistry of human tumors: An interim evaluation. Am J Surg 1984;8:615～624
2. 朱明华、黄卓逗。角蛋白在肿瘤病理诊断与鉴别诊断中的应用。国外医学：生理病理与临床分册 1986；1
3. 常福聚、赵庆夏。中间丝分型在肿瘤诊断中的应用。国外医学：肿瘤学分册 1986；4
4. Pinkus GS. et al. Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization: An immunoperoxidase study of various tumors using polyclonal and monoclonal antibodies. Histo Chem and Cyto Chem 1985;33:465～473
5. Pinkus, GS et al. Are keraktin p otein a better tumor marker than epitheli l memb ane antigen? comparative immunohistochemical study of various paraffin-embedded neoplasms using monoclonal and polyclonal antibodies. Am J Clin Pathol 1986;85:269～277
6. Spagnolo DV, et al. Monclonal anti-keratin (AE_1) reactivity in routinely processed tissues from 166 human neoplasms. Am J Clin Pathol 1985; 84: 697～704
7. Corson JM, et al. Keratin proteins and carcinoembryonic antigen in synovial sarcomas: An immunohistochemical study of 24 eases. Human Pathol 1984;15:615～621

（收稿：1987.11.10；修回：1988.11.24）

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

A Keratin Marking Study from 128 Human Neoplasms of Various Type

Zhang Zaigen, et al (Department of Pathology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical College)

Specimens from 128 human tomors of various types are marked in routinely paraffin-embedded tissues by PAP three stage immunoperoxidase technics with a polyclonal antikeratin antibody(PAKA). The majority of the carcinomas, except hepatocellular, adrenocortical clear cell ones are stained of strong or moderate intensity in the majority of tumor cells. The similar results are obtained in synovial sarcoma, malignant mesothelioma,and thymoma. Malignant melanoma,malignant lymphoma,malignant fibrous histocytoma,and myoleioblastoma, seminoma, carcinoid tumor do not show any reactivity with PAKA. The results suggest that PAKA is valuable in diagnostic distinction of poorly or undifferentiated carcinoma from lymphoma,melanoma.

Key words: neoplasms/ID; keratin/DU; immunoenzyme technics; immunochemistry; antibodies; keratin marking; polyclonal antibody

---

（上接265页）

访，随访期间发现胃癌5例（早癌4例，晚期癌1例），占随访人数的6.1%。5例均发生于Ⅱ型肠化粘膜基础上，占Ⅱ型肠化的20%，与Ⅰ、Ⅱ型肠化相比，差别有显著不同。从随访结果来看，Ⅱ型肠化确系有较高潜在癌变危险性的特殊类型，应引起密切注意。9种抗原标志物中，MG7、MGd1、MC3相应抗原及CEA和类CA19-9抗原阳性肠化组的癌变率与抗原阴性组相比差别有显著意义，对确定肠化随访范围有帮助。如先以粘液染色对肠化进行分型作为初筛，然后对Ⅱ型肠化进行上述5种抗原的免疫组化染色，可望进一步缩小对肠化的随访范围。

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