DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.01.016

204例大肠息肉的免疫组织化学研究

阎晓初 柳凤轩 陈意生 于冬梅 贺光友 （第三军医大学西南医院 病理科） 630038

提 要 本文采用4种抗结肠癌单克隆抗体CL-2、CL-4、MC_3和MC_5检测了204例大肠息肉。结果显示，4种抗体的相应抗原在正常大肠粘膜为阴性表达，在炎性与幼年性息肉以及单纯性腺瘤阳性表达低，而在腺瘤不典型增生和腺瘤癌变阳性表达较高，提示其阳性率与不典型增生有关（$P<0.01$），4种抗体的相应抗原在大肠癌组织中占优势，且对判定癌前病变的抗原表达有一定的价值，可作为早期判断腺瘤癌变的参考。

关键词 大肠息肉；腺瘤；不典型增生；癌变；单克隆抗体

本文应用4种抗人结肠癌单克隆抗体CL-2、CL-4、MC_3和MC_5对204例大肠息肉进行免疫组化研究，旨在探讨大肠腺瘤与癌的关系，为大肠癌的早期发现寻求一些有助诊断的指标。

1 材料与方法

标本来源 收集我院1980年～1988年手术切除的大肠息肉204例，按《全国大肠癌病理研究统一规范》分类分级[1]，计炎性与幼年性息肉41例，单纯性腺瘤68例（管状腺瘤54例，绒毛状腺瘤14例），腺瘤Ⅰ级不典型增生42例（管状腺瘤27例，绒毛状腺瘤15例），腺瘤Ⅱ级不典型增生31例（管状腺瘤12例，绒毛状腺瘤19例），腺瘤Ⅲ级不典型增生8例（管状腺瘤1例，绒毛状腺瘤7例），腺瘤癌变14例（管状腺瘤癌变4例，绒毛状腺瘤癌变10例）。另取非肿瘤性大肠标本基本正常部分的肠粘膜10例作为正常对照。所有标本均经10%福尔马林固定，石蜡包埋，连续切片。

免疫组化染色 采用PAP染色，每批切片以同浓度DAB液，同等时间在染色缸内显色。第一抗体（抗人结肠癌单克隆抗体）：解放军总医院肿瘤单克隆研究室提供的CL-2（IgG_1）、CL-4（IgM）和第四军医大学消化病研究室提供的MC_3（IgG_1）、MC_5（IgG_1）。第二抗体为羊抗鼠IgG和鼠PAP（无锡制药二厂出品的PAP试剂盒）。

结果判定 参照朱氏判断标准[2]阳性反应分为3级：胞浆或胞膜或腺腔呈深棕色（+++），胞浆或胞膜或腺腔呈棕色（++），胞浆或胞膜或腺腔着浅棕色（+），前两者为强阳性，后者为弱阳性。细胞、腺腔与背景均不着色者为阴性。根据切片中阳性细胞数占肿瘤细胞的比例分为3级，阳性细胞数<30%、30%～70%，>70%。

2 结 果

2.1 4种单克隆抗体在大肠息肉的阳性表达（见表1）

表1 4种抗体在大肠息肉的阳性率（%）

Tab.1 The positive rate of four antibodies in colorectal polyps

Histologic type	Cases	The monoclonal antibodies			
		CL-2	CL-4	MC_3	MC_5
Normal mucosa	10	0	0	0	0
Inflammatory & Juveile polyps	41	4(9.76)	2(4.88)	5(12.20)	3(7.32)
Simple heperplasia in adenomas	68	19(27.44)	16(23.53)	18(26.47)	17(25.00)
Mild dysplasia in adenomas	42	29(69.05)	27(64.28)	31(73.81)	30(71.43)
Moderate dysplasia in adenomas	31	25(80.65)	26(83.87)	27(87.09)	25(80.65)
Severe dysplasia in adenomas	8	7(87.50)	7(87.50)	7(87.50)	7(87.50)
Canceration in adenomas	14	13(92.86)	13(92.86)	14(100.0)	13(92.86)

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

正常大肠粘膜、炎性与幼年性息肉及单纯性腺瘤各组间阳性率经X^2检验无显著性差异（$P>0.05$）。而腺瘤不典型增生阳性率较上述各组显著增高（$P<0.01$）。本研究共有腺瘤不典型增生81例，4种抗体染色平均阳性62/81（76.54%），其中管状腺瘤27/40（67.50%），绒毛状腺瘤35/41（85.36%）。

2.2 4种单克隆抗体在大肠息肉阳性程度（见表2）

表2 4种抗体在大肠息肉的强阳性率（%）

Tab. 2 The strong positive rate of four antibodies in colorectal polyps

Histologic type	Cases	The monoclonal antibodies			
		CL-2	CL-4	MC_3	MC_5
Normal mucosa	10	0	0	0	0
Inflammatory & Juveile polyps	41	0	0	0	0
Simple heperplasia in adenomas	68	0	0	0	0
Mild dysplasia in adenomas	42	1(2.38)	0	1(2.38)	2(4.76)
Moderate dysplasia in adenomas	31	8(25.82)	9(29.03)	5(16.12)	6(19.35)
Severe dysplasia in adenomas	8	4(50.00)	5(62.50)	3(37.50)	3(37.50)
Canceration in adenomas	14	12(85.71)	12(85.71)	11(78.77)	10(71.43)

本研究163例腺瘤中，单纯性腺瘤均呈弱阳性染色（图1），于腺瘤Ⅰ级不典型增生的个别强阳性病例均为绒毛状腺瘤。但在腺瘤Ⅰ、Ⅱ级不典型增生和腺瘤癌变时，染色反应逐级增强（图2、3、4）。经统计学处理，它们与Ⅰ级不典型增生强阳性率比较有显著差异（$P<0.05$）。4种抗体中，CL-2、CL-4对腺瘤中重度不典型增生和癌变的强阳性率较MC_3、MC_5高。

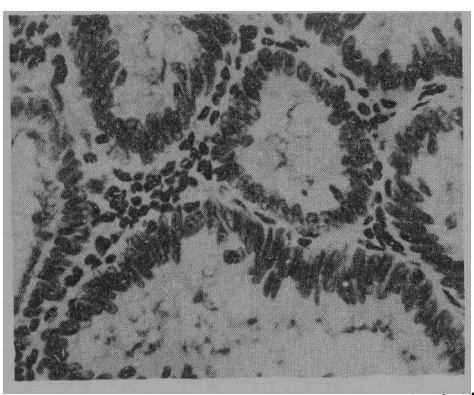


图1 管状腺瘤CL-2染色呈腺腔、胞膜弱阳性。×450

Fig.1 Tubular adenoma stained with CL-2. Note weak staining of the luminal contents and membrane. ×450

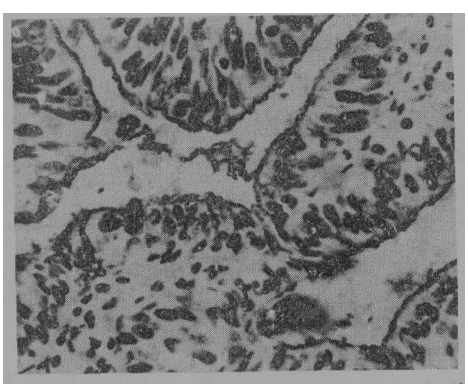


图2 绒毛状腺瘤Ⅱ级不典型增生MC_5染色胞膜、腺腔呈强阳性。×450

Fig.2 Villous adenoma with moderate dysplasia stained with MC_5. Note intense staining of membrane and luminal contents. ×450

2.3 4种单克隆抗体在大肠息肉阳性细胞数（见表3）及其抗原分布

经统计学处理腺瘤不典型增生的阳性细胞数较单纯性腺瘤显著增多（$P<0.05$）。在大肠腺瘤中，4种抗体的相应抗原分布也不太一致，CL-2、CL-4以胞浆、胞膜染色为主（图5），CL-4在某些病例表现为杯状细胞粘液滴着色和腺腔粘液着色（图6）。MC_3、MC_5多数病例呈胞膜、腺腔粘液着色为主，但在腺瘤癌变时，胞浆、胞膜和腺腔均可染色。

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

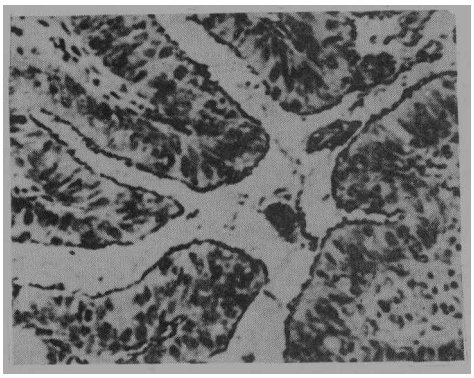


图 3　绒毛状腺瘤Ⅲ级不典型增生MC_5染色胞浆、胞膜呈强阳性。×450

Fig.3　Villous adenoma with severe dysplasia stained with MC_5. Note intense staining of membrane. ×450

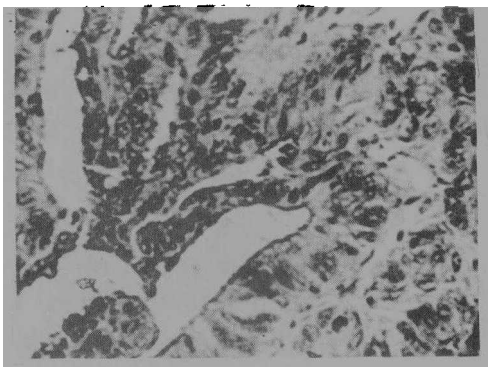


图 4　腺瘤癌变MC_3染色胞浆、胞膜、腺腔呈强阳性。×450

Fig.4　Canceration in adenoma stained with MC_3. Note intense staining of cytoplasm, membrane and luminal contents. ×450

表 3　4 种抗体在大肠息肉染色阳性细胞数超过30%的病例

Tab.3 The positive staining cell(more than 30%)of four antibdies in colorectal polyps

Histologic type	Cases	The monoclonal antibodies			
		CL-2	CL-4	MC_3	MC_5
Normal mucosa	10	0	0	0	0
Inflammatory & Juveile polyps	41	0	0	0	0
Simple heperplasia in adenomas	68	6(8.82)	4(5.88)	8(11.76)	2(2.94)
Mild dysplasia in adenomas	42	16(38.09)	14(33.33)	20(47.62)	18(42.85)
Moderate dysplasia in adenomas	31	19(61.29)	19(61.29)	19(61.29)	23(74.69)
Severe dysplasia in adenomas	8	6(75.00)	7(87.50)	6(75.00)	6(75.00)
Canceration in adenomas	14	13(92.86)	13(92.86)	14(100.0)	13(92.86)

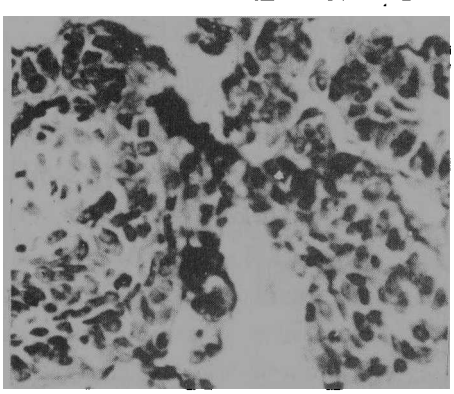


图 5　腺瘤癌变CL-2染色胞浆、胞膜呈强阳性。×450

Fig.5　Canceration in adenoma stained with CL-2. Note intense staining of cytoplasm and membrane. ×450

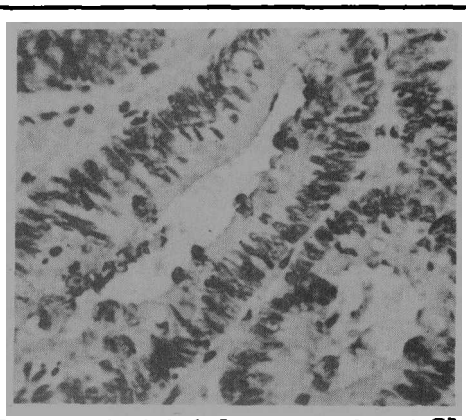


图 6　混合型腺瘤Ⅰ级不典型增生CL-4染色呈杯状细胞粘液滴着色。×450

Fig.6　Tubulovillous adenoma with mild dysplasia stained with CL-4. Secretory vacuole of goblet cells are stained, ×450

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

3 讨 论

大肠癌是我国常见的恶性肿瘤之一，其发病率在某些地区有逐年升高趋势。但至今对其组织发生尚未完全肯定。自Morson[3]提出大肠癌由腺瘤癌变引起以来，国内外应用CEA和BGA抗体对腺瘤与癌关系的研究有一些报告[4][5]，其结果趋向大肠腺瘤是一种癌前病变。但同时采用多种单克隆抗体对大肠息肉与癌变关系的研究国内尚未见报告，因此我们采用4种抗结肠癌单克隆抗体检测了204例大肠息内，结果显示4种抗体的相应抗原主要存在于大肠腺瘤不典型增生和癌变中，它们的表达随不典型增生程度的增加而递增，其阳性率显著高于单纯性大肠腺瘤。腺瘤Ⅲ级不典型增生的阳性表达与癌变者十分相接近。表明这些抗体相应抗原的表达与腺瘤异型增生程度密切相关。因此，我们认为在腺瘤发展成癌的过程中，主要是不典型增生起重要作用。这也支持不典型增生与癌关联的观点，类似此观点在大肠腺瘤粘液、癌基因和DNA含量的研究也得到证实[4][6][7]。

本研究163例腺瘤中，管状腺瘤有98例，其中Ⅰ级不典型增生占27.55%，Ⅱ～Ⅲ级不典型增生占13.26%，癌变占4.08%；绒毛状腺瘤65例中，Ⅰ级不典型增生23.08%，Ⅱ～Ⅲ级不典型增生占40.00%，病变占15.38%，由此看出绒毛状腺瘤较管状腺瘤易发生癌变，同时4种抗体染色结果也提示绒毛状腺瘤较管状腺瘤阳性表达高，绒毛状腺瘤及其不典型增生含有更多的癌相关抗原，它与癌的关系更加密切，其恶变倾向最大，这与文献报告相符[2][5][8]。

近年来随着单克隆抗体技术的发展，肿瘤研究逐步深入，大肠癌和大肠腺瘤这方面的研究也屡见不鲜。但目前较多的单克隆抗体并非对结肠癌绝对特异，往往与其它肿瘤或正常组织有交叉，表明这些抗体的相应抗原成分复杂，存在广泛。据报道[9][10]，本研究采用的4种抗体中有3种抗体所检测的抗原不完全同于CEA和BGA。CL-4的抗原是1种涎酸化的糖蛋白，在结肠癌组织中占优势，其抗原决定簇不受加热处理和胰蛋白酶消化而失活，在石蜡包埋组织中能长期保存。MC_3和MC_5的相应抗原在结肠癌的分布也较广泛，但与其它肿瘤（肺、胃、食道癌）有交叉。我们研究结果发现该4种抗体的相应抗原在大肠腺瘤癌变组织中占优势，它们的阳性表达与腺瘤不典型增生呈正相关。但CL-2、CL-4的抗原在腺瘤Ⅱ～Ⅲ级不典型增生和癌变时的强阳性表达高，因此，我们认为CL-2、CL-4对检测腺瘤异型增生的癌相关抗原，尤其在两者联合应用时对判断腺瘤恶性倾向有较大参考价值。

参 考 文 献

1. 全国大肠癌病理研究协作组。全国大肠癌病理研究统一规范。杭州：浙江医科大学出版，1982：2～15
2. 朱明华 王文亮 马福成，等。抗人结肠癌单克隆抗体MC_6用于结肠癌及大肠腺瘤的免疫组化研究。中华消化杂志 1987；7:191
3. Morson BC. The polyp-cancer sequence in the large bowel. Proc R Soc Med 1974;67:451
4. Enblad P, Busch C, Carlsson U,et al.The adenoma-carcinoma sequence in rectal adenomas support by the expression of blood group substances and carcinomas antigens. Am J Clin Pathol 1988; 90:121
5. 虞积耀 谷望宁 王鲁平，等。大肠癌和大肠息肉的免疫组织化学研究。中华消化杂志 1988；8:7
6. Goh HS, Jass JR. DNA content and the adenoma-carcinoma sequence in the colorectum. J

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

Clin Pathol 1986; 39:387

7. Lanza G. Ras P21 oncoprotein expression in human colonic neoplasia—an immunohistochemical study with monocloeal antibody RAP-5. Histopathology 1988; 12:595

8. Kahn HJ, Yeger H, Loftus R, et al. Monoclonal antibody to a human pancreative carcinoma cell line recognizes gastrointestinal neoplasia. Am J Pathol 1989; 134:641

9. 袁玫 刘成贵 李力，等。抗结肠癌单克隆抗体CL-3、CL-4血清学诊断的应用。中国肛肠病杂志 1988；（4）：3

10. 史代明 张学庸 陈希陶，等。结肠癌单克隆抗体$MC_{3、6、7、10}$的制备及相应抗原免疫组化定位的研究。单克隆抗体通讯 1986；（3）：19

（收稿：1989.12.23；修回：1990.12.26）

Immunohistochemical Study of 204 Colorectal Polyps

Yan Xiaochu, Liu Fengxian, Chen Yisheng, et al (Department of Clinical Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing 630038)

Abstract This paper is to present the immunohistochemical changes of 204 colorectal polyps with monoclonal antibodies against colonic carcinoma (CL-2, CL-4, MC_3, and MC_5). It was found the corresponding antigens of the 4 kinds of antibodies were negatively expressed in normal colonic mucosal epithelium, weakly expressed in inflammatory polyps, juvenile polyps and simple adenomas, and strongly expressed in adenomas with dysplasia and canceration. These facts suggest that the positive expression of the 4 monoclonal antibodies is closely related to dysplasia of the polyps, and the corresponding antigens of the 4 antibodies are predominant in the tissues of colorectal carcinomas. It is believed that determination of antigen expression is valuable to detect the precancerous changes and early malignant degeneration of adenomas.

Key words colorectal polyp; adenoma; dysplasia; canceration; monoclonal antibody

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