

子宫正常平滑肌、平滑肌瘤和平滑肌肉瘤的凝集素组化研究

唐 建 武

(大连医学院病理教研室)

朱 正 美

(大连医学院生化教研室)

由于各种细胞对于凝集素结合的敏感性不同,凝集素结合特性已成为研究细胞分化、细胞成熟和肿瘤细胞表型改变等的有效指标,并已应用到肿瘤诊断与鉴别诊断研究中^[1-3]。但迄今国内外尚未见到用组化方法研究平滑肌及其相应良、恶性肿瘤与凝集素结合活性的报道。有鉴于此,我们对子宫正常平滑肌,平滑肌瘤和平滑肌肉瘤与五种凝集素的结合进行了半定量观察,以了解不同性质的平滑肌细胞糖成分的精细变化以及凝集素结合用于判断平滑肌肿瘤良恶性方面的实用价值。

材 料 与 方 法

材料 大连医学院和大连市妇产医院 1986—1988 年外检材料中,随机选出并经常规病理切片已确定的子宫正常平滑肌 11 例、平滑肌瘤 12 例、子宫平滑肌肉瘤 11 例。组织经福尔马林固定、石蜡包埋切片,分别进行五种凝集素组化染色。

方法和试剂 切片脱蜡至水。1%胰酶 37℃消化 30 分钟(显示花生素结合的切片则用 1%神经氨酸酶 37℃处理 1 小时),然后置甲醇-H₂O₂ 室温 30 分钟,1%牛血清白蛋白 30 分钟。再以生物素化的凝集素室温作用 1 小时,ABC 法,DAB 呈色。或以未标记的

凝集素室温作用 1 小时,相应抗凝集素兔抗血清(1:100)37℃ 1 小时,抗兔 IgG(1:100)37℃30 分钟,PAP 法,DAB 呈色。最后以 0.5%甲基绿复染,常规脱水封固。生物素化的凝集素、抗兔 IgG、ABC 和 PAP 试剂分别为 Dako 和 Vector 公司产品。阴性对照:1) 1 M 特异性单糖阻滞相应凝集素,或 2) 磷酸盐缓冲液替代凝集素。本文所用的凝集素种类、单糖特异性及工作条件等见表 1。

染色强度的判定 依组织切片大小不同,分区观察 10 个以上高倍镜视野,计数至少 300 个细胞。参考 Skultosky 和 Kawai 等的标准^[4,5],将观察对象的凝集素结合半定量地分为 5 级:0 级,5%以下的细胞染成弱阳性;Ⅰ级,5%—50%的细胞弱阳性;Ⅱ级,50%以上的细胞弱阳性;Ⅲ级,在Ⅱ级的基础上有少数细胞浓密强阳性;Ⅳ级,多数细胞浓密强阳性。据此计算该组病例的平均着色强度级数,即平均强度级数=各例强度级数总和/阳性例数。

结 果

上述五种凝集素与子宫正常平滑肌、平滑肌瘤和平滑肌肉瘤的凝集素结合情况见表 2。表中数字为不同组的平滑肌组织与某凝集素结合阳性的例数。括弧内的百分比为各组的阳性率,括弧内的数字为该组的平均强度级数。此

表 1 所用凝集素的种类、单糖特异性及工作条件

种 类	缩写	单糖特异性	制剂浓度	显色系统
刀豆素	ConA	α-D-甘露糖(和/或葡萄糖)	生物素化, 50 μg/ml	ABC
麦胚素	WGA	N-乙酰-氨基葡萄糖(和/或神经氨酸)	生物素化, 50 μg/ml	ABC
花生素	PNA	β-D-半乳糖	未标记, 100 μg/ml	PAP
蓖麻素	RCA	β-D-半乳糖	未标记, 100 μg/ml	PAP
豌豆素	PSL	α-D-甘露糖(和/或葡萄糖)	未标记, 100 μg/ml	PAP

表显示恶性平滑肌组织与良性平滑肌组织(包括正常平滑肌和平滑肌瘤)对某些凝集素的结合有很大的差别。11例平滑肌肉瘤中,刀豆素和麦胚素染色分别有10例(91%)和8例(73%)呈阳性反应,两者的平均强度级数分别为3.2级和2.0级。刀豆素和麦胚素的阳性呈色产物多均匀分布于肉瘤细胞浆内,尤以胞浆丰富异型性明显的瘤巨细胞最多(图版图1—4)。在较小的瘤细胞中,则主要位于胞浆内近核区域。平滑肌肉瘤与豌豆素和蓖麻素分别有2例(18%)和1例(9%)呈阳性反应,但染色比刀豆素和麦胚素浅淡,着色的瘤细胞也较稀少。除1例正常平滑肌中部分肌细胞刀豆素反应弱阳性外,其余正常平滑肌和平滑肌瘤组织均未与任何一种凝集素结合。此外,各类组织中许多血管内皮细胞、巨噬细胞和成纤维细胞与凝集素的反应亦呈阳性。

表2 子宫平滑肌肉瘤,平滑肌瘤和正常平滑肌的凝集素结合

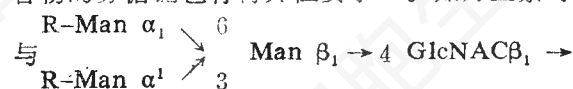
	平滑肌肉瘤 (n=11)	良性平滑肌瘤 (n=12)	正常平滑肌 (n=11)
ConA	10(91%, 3.2)	0	1(9%, 1.0)
WGA	8(73%, 2.0)	0	0
PSL	2(18%, 1.7)	0	0
PNA	1(9%, 1.0)	0	0
RCA	0	0	0

讨 论

目前只有少数有关凝集素组化结合的研究涉及间叶组织及其肿瘤。Holthöfer等^[6]发现,荆豆素与血管内皮细胞有特异性亲合,可做为血管源性肿瘤的标记物。Roholl等^[7]对良性淋巴结滤泡增生与非何杰金氏淋巴瘤研究后指出,与蓖麻素和豌豆素的结合能证明何杰金细胞的组织细胞来源,但花生素结合则缺乏这种特异性。Pean^[8]报道与骨骼肌结合的7种凝集素中,只有刀豆素能有效地显示假肥大性肌营养不良障碍时肌群的局限性改变。我们迄今未见到

国内外有关良恶性平滑肌肿瘤细胞与凝集素组化结合的文献,因此本文是这方面研究的首例报告。

在我们应用的五种凝集素中,刀豆素和麦胚素与平滑肌瘤结合的阳性率分别达91%和73%,而正常子宫平滑肌和平滑肌瘤与这两种凝集素的结合率分别为9%和0%。由此我们认为,利用刀豆素和麦胚素的这种结合性质对鉴别子宫平滑肌肿瘤的良恶性具有一定的价值,同时也有助于了解平滑肌肉瘤细胞结构中糖成份的精细变化。平滑肌肉瘤细胞与刀豆素和麦胚素结合的增多,提示在其膜相结构中 α -D-甘露糖或/和 α -D-葡萄糖基、N-乙酰-D-氨基葡萄糖基或/和N-乙酰神经氨酸基有更多的暴露。有趣的是,刀豆素与豌豆素虽具有相同的单糖特异性,但平滑肌肉瘤细胞对前者的阳性反应率占91%,而对后者仅为18%。近年对凝集素糖特异性进行的深入研究得知,除对糖复合物末端单糖基外,各种凝集素对糖复合物的寡糖链也有特异性要求^[9]。如刀豆素可



4 GlcNAc 结合,而豌豆素则仅与末端岩藻糖化的上述寡糖链结合。因此,1. 决定子宫平滑肌肉瘤刀豆素与豌豆素反应不同的主要是寡糖链中岩藻糖基而不是末端其他单糖的性质。2. 平滑肌肉瘤与正常平滑肌及平滑肌瘤相比,除肉瘤细胞上述单糖基增多外,其与刀豆素麦胚素结合的特异寡糖链或也有所增加。

尽管子宫平滑肌瘤与正常平滑肌在病理形态上已有所不同,但本文两者的凝集素反应基本一致。这可能系我们采用的凝集素种类有限,未选到能敏感显示两者差别的凝集素所致,从而反映出凝集素组化研究方法的局限性。这也从一个侧面提示平滑肌瘤细胞在糖组份性质上更近似于正常平滑肌细胞,而与平滑肌肉瘤细胞相差较大。对于肉瘤细胞糖组分改变的意义尚待进一步探讨。至少在乳腺和消化道,已证明刀豆素和麦胚素分别具有与癌胚抗原相结合

的特点。

摘 要

报告 34 例子宫正常平滑肌、平滑肌瘤和平滑肌肉瘤与五种凝集素的组化结合特性。在 11 例平滑肌肉瘤中, 刀豆素和麦胚素染色阳性的分别有 10 例(91%)和 8 例(73%), 豌豆素和花生素各有 2 例(18%)和 1 例(9%)阳性。除 1 例正常平滑肌中部分细胞刀豆素反应弱阳性外, 其余 11 例正常平滑肌和 11 例平滑肌瘤均未与任何一种凝集素结合。因此, 某些凝集素组化结合特性的改变, 对于了解平滑肌肉瘤细胞结构糖成分的精细变化、鉴别子宫平滑肌瘤的良恶性, 具有一定意义。

图 版 说 明

1. 子宫平滑肌瘤。刀豆素染色, ABC 法, 甲基绿复染。凝集素结合阴性。400×

2. 子宫平滑肌肉瘤。刀豆素染色, ABC 法, 1 mol/L α -D 甘露糖和 1 mol/L α -D-葡萄糖阻滞。甲基绿复染。

凝集素结合阴性。400×

3. 子宫平滑肌瘤。刀豆素染色, ABC 法, 甲基绿复染。凝集素结合阳性。400×

4. 子宫平滑肌肉瘤。麦胚素染色, ABC 法, 甲基绿复染。凝集素结合阳性。400×

参 考 文 献

- [1] Allison, R. T., 1986, *Med. Lab. Sci.*, 43: 369-376.
- [2] Damjanov, I., 1987, *Lab. Invest.*, 57: 5-9.
- [3] Walker, P. A., 1985, *Histopathology*, 9: 1121-1125.
- [4] Skultosky, E. et al., 1987, *Am. J. Pathology*, 126: 25-31.
- [5] Kawai, T. et al., 1988, *Am. J. Pathology*, 130: 401-410.
- [6] Holthöfer, H. et al., 1982, *Lab. Invest.*, 47: 60-66.
- [7] Roholl, P. J. M. et al., 1985, *Human Pathol.*, 16: 763-769.
- [8] Pean, S. D. J. et al., 1981, *Histochem. Cytochem.*, 29: 542-546.
- [9] Lis, H. and Sharon, N., 1986, *Ann. Rev. Biochem.*, 55: 35-43.

低 渗 介 质 对 影 泡 载 体 的 影 响

贾 丽 法祥光 范启修

(中国医学科学院血液学研究所)

应用脂质体或天然红细胞膜(影泡)包封基因、蛋白质等生物大分子使之与靶细胞融合把大分子物质导入靶细胞的载体技术是在膜分子生物学基础上发展起来的新技术。近年来, 生物大分子载体技术已与分子遗传学、免疫学和医学研究相结合并已显示其良好前景。国外已有把病毒、质粒、酶等生物大分子包封入影泡的成功例子^[1-3], 1981 年叶秀珍、李昌本等曾用影泡装载大分子物质并导入靶细胞^[4-5]。

制备影泡载体一直沿用重蒸水或低渗 PBS 作为溶胀红细胞、开放膜孔使大分子物质进入影泡的主要手段。在实践中我们发现这些方法存在膜结构损伤较大、弥合性差、包封率偏低

和稳定性差等缺点, 为此我们作了改进, 采用 HEPES-EDTA 系统并使用 Mg^{2+} , 除研究了影泡装载牛血清白蛋白、L-天门冬酰胺酶实验技术外, 本文主要在包封量、形态、稳定性等方面比较了改进的 HEPES-EDTA 系统与常用的 PBS 系统制备的影泡载体的优缺点并探讨了影响包封率的主要因素。

材 料 和 方 法

血样用正常人肝素抗凝新鲜血。标准牛血清白蛋白(BSA, 分子量 67000)购自上海生化试剂厂, L-天门冬酰胺酶(分子量 141000)购自 Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd(TOKYO, JAPAN)。其他试剂均为分析纯。