

# 免疫组化园地

2012年 第1期

迎新试刊

本期编译：唐娜 校对：杨清海

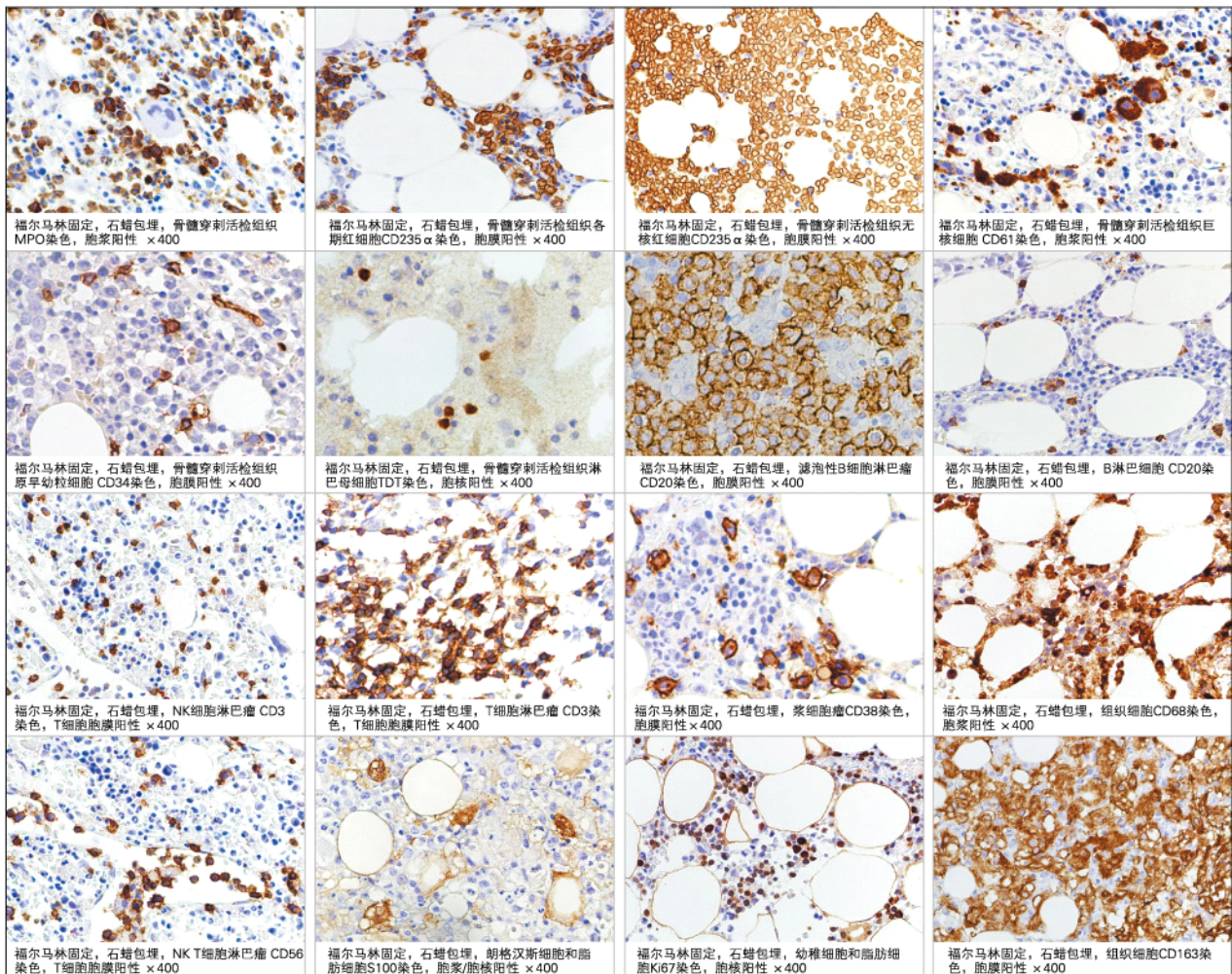
## 浅谈几种常用抗体在骨髓活检组织中的应用体会

关键词：骨髓活检，抗体，免疫

近年来随着骨髓活检病理检查的广泛应用，越来越多的血液病能够通过骨髓活检病理进行准确诊断，临床医生对病理的依赖也越来越大，因此骨髓活检病理检查给临床提供了很大帮助，尤其在淋巴瘤的诊断和分型中的作用突显优势，在此免疫组化染色检查起到功不可没的作用。然而在浩瀚的抗体中根据不同疾病和鉴别诊断需要，该如何选择抗体及组合应用抗体就尤为重要了。笔者根据多年来的工作实践浅谈对几种常用抗体在骨髓活检组织中的应用体会。

### 1. MPO (髓过氧化物酶) :

为粒系细胞标记抗体，细胞质着色。在粒系各阶段造血细胞均可见该标记物阳性表达，正常增生活跃的骨髓均呈强阳性反应，粒细胞从骨小梁旁区发生，越向骨小梁间区分化越成熟，原粒胞浆少，无颗粒，抗体表达强度弱，早幼粒阶段以下细胞染色强度增强，随着粒细胞的分化成熟，胞浆颗粒越多，该抗体表达强度也渐增。急性髓细胞白血病(M0-M4)MPO及慢性粒细胞白血病染色均显阳性。一般急性单核细胞白血病不表达或弱表达，部分病例也有不同程度的表达，可能与肿瘤时细胞分化欠单一有关。该抗体敏感性高，特异性强，很少假阴性或假阳性表达，除了与单核细胞有交叉表达外，与其他系造血细胞很少有交叉表达，粒系与单核系可结合常规HE染色形态加以区别，因此MPO是最常应用的抗体之一，可以用于观察骨髓活检组织中粒系的数量、分布、分化及白血病的分类。



## 2.CD235a (血型糖蛋白A(凝糖蛋白)):

为红系细胞标记抗体，细胞质着色。红系各阶段细胞均呈阳性表达，包括有核红细胞及成熟红细胞，正常骨髓呈强阳性表达，红系通常分布于骨小梁间区，呈簇状生长及弥漫分布，每簇红细胞为一个造血“热点”。该抗体主要应用于观察红系细胞增生量、分布及与其他系造血细胞的比例，用于观察再生障碍性贫血骨髓中是否有造血“热点”来预测再障的程度、预后及疗效，纯红再障者呈单一红系增生减低，缺铁性贫血者有核和无核红细胞胞质染色阳性减弱，可用于红白血病的诊断，观察其他系造血细胞白血病时红系增生是否受抑以指导化疗药用量。该抗体敏感性高，特异性强，交叉反应极少，是常用的免疫抗体之一。

## 3.CD61(血小板糖蛋白Ⅲα):

为巨核细胞标记抗体，细胞质着色，可识别各阶段巨核细胞，敏感性高，尚未观察到与其他系造血细胞发生交叉反应。成熟巨核细胞常规HE染色后在光镜下很容易观察，但小巨核细胞观测就有困难，它容易与幼稚红细胞和淋巴细胞混淆，这时使用CD61抗体标记小巨核细胞就显得很必要，同时也可用来观察骨髓中血小板的数量及分布，正常骨髓巨核细胞多为散在分布，当增生或肿瘤性病变时可呈簇状分布。

## 4.CD34:

为原始及幼稚前体细胞的标记抗体，细胞质着色。正常骨髓中原幼细胞数量很少，偶见个别阳性细胞，当骨髓增生活跃并左移时可见少数阳性细胞。该抗体常应用于判断是否有骨髓增生异常综合征(MDS)的ALIP现象(即幼稚前体细胞异常定位现象)，在急性髓细胞白血病(Mo)中通常呈强阳性表达。淋巴瘤细胞白血病多数病例为阴性表达，仅少数病例部分细胞出现阳性表达。CD34还是良好的血管内皮细胞标记物，可用于观察骨髓中微环境的血管分布及数量。

## 5.TDT:

为淋巴瘤细胞标记抗体，细胞核着色。正常骨髓中淋巴瘤细胞数量极少，正常骨髓几乎均呈阴性，偶见个别阳性细胞。肿瘤时淋巴瘤细胞不同程度增多，TDT在淋巴瘤细胞性淋巴瘤中呈弥漫强阳性。对于急性髓细胞白血病(Mo)中不表达，因此可以联合应用CD34和TDT来鉴别急性髓细胞白血病与淋巴瘤细胞淋巴瘤。

## 6.CD20:

为B淋巴细胞标记抗体，细胞膜着色。正常骨髓中仅有少量B淋巴细胞散在分布，偶见淋巴细胞聚集或淋巴滤泡形成，一般以非母细胞性小淋巴细胞存在，该抗体常用于初步筛诊骨髓中是否有B淋巴细胞白血病/淋巴瘤、或淋巴瘤侵犯骨髓，淋巴瘤侵犯骨髓常常细胞数较少，此时很容易漏诊，CD20染色可以将很少的B淋巴细胞显示出来，避免漏诊，另一方面如果淋巴瘤细胞较少时，即使CD20免疫组化染色见到阳性细胞也要谨慎，不可轻易诊断淋巴瘤，必须进一步结合

细胞形态才能准确做出淋巴瘤的诊断，淋巴瘤细胞形态一般多有不同程度细胞核增大，或细胞大小更为一致性，呈克隆性增生，或出现细胞异型性，有时可见簇状、巢状或片状排列，也可见核分裂或核仁，Ki-67增殖指数增高。虽然CD20对B淋巴瘤母细胞不表达，但可配合TDT及CD79a抗体标记，提高诊断准确性。

## 7.CD3:

为T淋巴细胞标记抗体，细胞膜着色。正常骨髓中有少量T淋巴细胞散在分布，偶见淋巴细胞聚集，主要为小T淋巴细胞，而T淋巴瘤母细胞极少。当T淋巴瘤侵犯骨髓时，如果肿瘤细胞较少，要注意CD3标记并结合细胞形态才能做出准确诊断，淋巴瘤时淋巴细胞数呈不同程度增多，簇状或聚集分布，核增大，有核异形、核分裂或核仁，增殖指数增高。

## 8.CD38:

为浆细胞标记物，细胞质着色，每一例正常骨髓中都会有数量不同的浆细胞存在，通常以成熟浆细胞为主，少数幼浆或前浆细胞，呈簇状或散在分布，可位于骨小梁间区或骨小梁旁区；如果正常骨髓浆细胞较多时，与浆细胞淋巴瘤难以区别，这时应结合临床病史及骨髓涂片细胞血检查才能做出准确诊断，否则不可轻易诊断骨髓瘤。CD38不仅只表达浆细胞，也表达原幼粒及红细胞，通过这些表达可以观察和判断幼稚细胞的数量和分布，对于骨髓增生异常综合症(MDS)的诊断有一定的帮助。

## 9.CD68:

为单核、组织细胞标记抗体，细胞质着色，正常骨髓中只有少数单核、组织细胞，但该抗体也能识别各阶段的粒细胞，因此该抗体无法用于鉴别粒细胞与单核细胞，二者区别主要靠排除其他系统肿瘤后再结合常规病理形态来鉴别。急性髓细胞白血病(M5)或恶组病人骨髓中CD68呈强阳性表达。有时与某些淋巴瘤(如NK/T或NK细胞淋巴瘤)易混淆，故可通过CD68免疫组化染色标记来进行区别。

## 10.CD56:

作为NK细胞标记物，但其他一些细胞也可表达(如红细胞、肺小细胞癌等)，细胞质着色。正常骨髓一般为阴性，少数病例中成熟红细胞中有少量阳性表达，这时一定要注意结合光镜HE染色下细胞形态，避免误诊。在骨髓中主要用于标记NK细胞或NK/T细胞淋巴瘤。小细胞癌转移到骨髓时，光镜下有时很难与骨髓造血细胞区别，极易容易漏诊，故可选用该抗体做为筛查及鉴别。

## 11.S100:

为多种细胞标记抗体，可染脂肪细胞、Langerhan细胞、神经鞘细胞、肌上皮细胞等，核染色阳性。正常骨髓造血细胞阴性，骨髓纤维化时一般呈阴性，但我们日常工作中发现个别病例呈中度阳性表达，这个可能与纤维化的

细胞成分不同有关，由于这类病例太少，难以进行总结但值得进一步探讨。S100在骨髓病理中可应用于Rosai-Dorfman病和Langerhan细胞肿瘤的诊断。

#### 12.CK (AE1/AE3) :

上皮性标记抗体，细胞质着色。正常骨髓呈阴性表达，一旦出现阳性时提示转移癌可能，部分间变性淋巴瘤也可以出现该抗体的阳性表达。部分骨髓转移癌因阳性细胞数较少，染色结果观察困难，要给予多切面进行染色。

#### 13.Ki-67:

细胞增殖活性指数标记物，细胞核表达。各例正常骨髓中阳性强度各不同，与造血细胞增殖活性相关，造血细胞增生活跃度与Ki-67的阳性率及阳性强度呈正比，但并非绝对，也有不呈正比的病例，主要与幼稚细胞的数量多少有关。Ki-67在骨髓良恶性病变诊断中只有参考意义，不能作为诊断依据。在骨髓肿瘤性病变中，ki-67并非都是高表达，如小细胞淋巴瘤/慢性淋巴细胞白血病中Ki-67阳性率通常很低。

综上所述，我们在日常骨髓病理诊断工作中常规选择MPO、CD235a、CD61、CD34、CD20、CD3、TDT、CD38、CD68、S100、CD56、CK (AE1/AE3)、Ki-67抗体作为一线基础筛查抗体，通过上述抗体的表达情况，基本上对正常骨髓、炎症性病变、骨髓异常增生、各系非淋巴造血细胞白血病（红系、粒系、巨核系等）和淋巴细胞肿瘤（淋巴瘤）及转移性肿瘤能够分门别类的进行筛诊，再结合形态学观察便可做出准确的诊断和鉴别诊断。对于淋巴性白血病/淋巴瘤诊断有了初步的分类，为进一步的淋巴瘤分型奠定了基础，可根据淋巴瘤初步分类再进一步选择不同组合抗体进行肿瘤分型。

注：以上所有组织块均非为塑料包埋组织，塑料包埋组织染色后形态学观察较石蜡包埋的HE染色更佳，但因塑料包埋会导致组织抗原丢失，无法进行后续的免疫组织染色，故笔者采用的是用福尔马林固定EDTA脱钙的石蜡包埋方式，EDTA脱钙同既往采用的强酸脱钙方式不同，对组织抗原的保存极佳。

致谢：本文由福建省立医院病理科王仪主任医师供稿

## 免疫组化问与答：

**Q:** 本人的研究方向为人体前列腺癌与前列腺结节性增生症组织中PSA（前列腺特异性抗原）和PSMA表达的比较，请问就本次实验是否可以用免疫组化双染方式来进行？

**A:** PSA与PSMA都是作为反映前列腺源性的组织特异性标记物，其中PSA在正常和良性增生前列腺组织中高表达，但在大于5-10%的特别是分化程度较低的前列腺癌中不表达；PSMA是前列腺癌辅助诊断和预后评价的重要指标之一，在正常前列腺表达率较低，但在前列腺癌中表达要高于PSA，且临床分期越晚，其表达越强，与肿瘤恶性程度成正相关。基于这一点，您的实验可能会产生以下几种情况：

- (1) 组织切片中PSA与PSMA均表达（可能性较大）
- (2) PSA与PSMA均不表达（可能性小）
- (3) 两者中只有一种表达，另一种不表达

其中（2）和（3）两种情况易于分辨，但在第（1）种情况下，考虑到PSA与PSMA均表达于胞浆，而且是出现在同一细胞胞浆都有表达的情况，鉴于免疫组化双染实验阳性结果是色原沉积，此时可能产生两种色原混杂，而且混杂产生的色泽同每种抗体表达强弱有关，如果该实验结果仅为显示是否为两种抗体的表达，而无须确定或比对每种抗体表达量时，可以采用免疫组化双染实验；但若是需要进行区分两者在细胞中的表达量的多少，在这一情况下建议不用酶免疫组化，而采用荧光免疫组化进行辨别，即利用不同的荧光素来标记两种抗体，再与被测抗原发生特异性结合，所形成的复合物在不同波长的激发光下可产生不同颜色的荧光，进而通过定量每种荧光物质的强度来推算出相应细胞表面抗原的表达量。

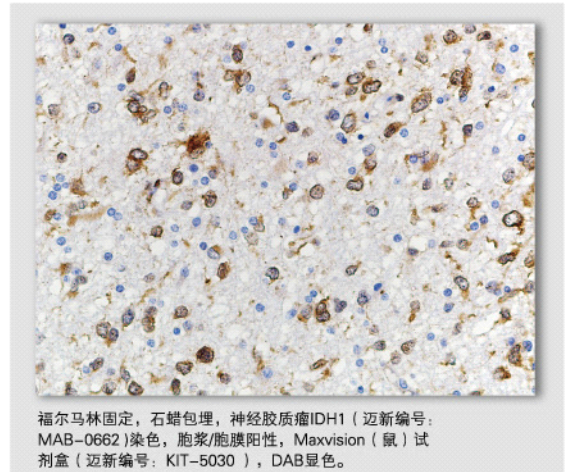
值得提醒的是，在酶免疫组化双染实验中，我们需要注意以下几点：

- 尽量使用修复方式相同的一抗，如若两种抗体修复方式不一样，则需要优化其修复方式，使该修复方式对两种抗体的染色结果均无影响；
- 两种一抗阳性表达部位最好定位于不同细胞。如果定位于同一细胞不同位置也可以，但因为界限问题可能难以区分。
- 两种一抗的种属可以相同，也可以不同，但考虑目前市场上二抗主要以羊抗鼠、羊抗兔和兔抗羊抗体为主，因而建议一抗尽量不要同时选择羊抗和兔抗抗体，避免发生交叉反应。

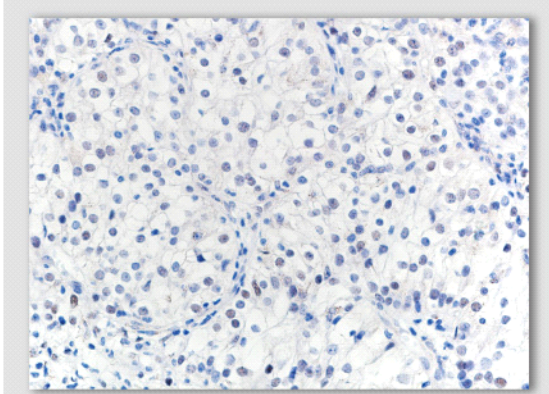
IDH1

IDH1 基因位于 2q33, 编码异柠檬酸脱氢酶同工酶 1。该抗体可以特异地识别脑肿瘤中IDH1基因的R132H突变。IDH1 R132H突变在大约70%的星形细胞瘤和少突神经胶质的肿瘤中发生, 且常见于WHO的II级和III级神经胶质瘤中。

IDH1 R132H突变在特殊脑肿瘤中的高频性和分布性使得我们可以通过免疫组化的方法高敏感性和特异性的辨别各种肿瘤, 如从原发胶质母细胞瘤中识别出间变性星形细胞瘤, 或者从纤维状星形细胞瘤或室管膜瘤中识别出WHO II级的弥漫星形细胞瘤, 也可以用于IDH1突变的肿瘤边缘同反应性胶质细胞增生的鉴别。有文献报道IDH1同p53连用检出率高达71.6%, 同IDH1 PCR检测类似。若三者联用检出率的特异性超过96%。



福尔马林固定, 石蜡包埋, 神经胶质瘤IDH1 (迈新编号: MAB-0662)染色, 胞浆/胞膜阳性, Maxvision (鼠) 试剂盒 (迈新编号: KIT-5030), DAB显色。



福尔马林固定, 石蜡包埋, 肾透明细胞癌TFE3 (迈新编号: RMA-0663)染色, 胞核阳性, Maxvision (鼠) 试剂盒 (迈新编号: KIT-5030), DAB显色。

TFE3

Xp11易位性肾细胞癌是肾癌分类中新发的一个亚型, 特点是包含Xp11.2在内的染色体易位, 最终导致包含TFE3转录因子基因在内的基因融合。相比于成年人, 这种肿瘤更易发生在儿童与青少年。形态学上, 这些肿瘤呈现出乳头状结构和透明细胞质, 并常有砂粒体。免疫组化显示, Xp11.2易位性肾细胞癌通常不表达或仅局灶性表达上皮标记物Cytokeratin和上皮膜抗原EMA。TFE3是Xp11.2易位性肾细胞癌最特异性标记物, 其机制可能是融合基因的形成, 促使TFE3过表达。

目前有研究显示TFE3抗体也是腺泡状软组织肉瘤 (ASPS) 辅助诊断非常有用的一个标记物。ASPS是一种罕见的不能确定分化类型的软组织肉瘤, 好发于年轻患者的躯干和四肢。尽管转移率相对较高, 但预后较好。特点是染色体在17q25和Xp11.2上发生重排, 产生ASPSR1-TFE3融合基因, 并异常转录。这种异常的嵌合转录因子保留了TFE3编码的N-末端和DNA结合结构域, 而ASPSR1编码部分可能提供了调节基因表达的片段。这个超级活化的转录因子可以诱导大量分子的表达, 促成ASPS的诊断、演进和转移。

2012年迈新病·理基金计划项目申请通知

2009年, 福州迈新启动迈新·病理基金计划项目, 旨在贯彻落实国家鼓励创新, 加快国家创新步伐, 挖掘和培养优秀的人才, 大力弘扬科学精神, 回馈病理界对迈新的长期支持, 促进我国病理事业发展、科技进步和病理人才成长。截至目前为止已持续举办了三届, 活动自开展以来, 得到了病理界各位老师的大力支持和踊跃参与, 在此表示衷心的感谢!

为了进一步调动科研人员的积极性和创造性, 突出重点, 集中优势, 着力解决目前免疫组化领域亟待解决的重大问题, 2012年迈新·病理基金项目将做试行调整, 增设招标项目, 原有自由命题项目仍继续保留。2012年招标意向分为“免疫组化质控、标准品的研究”和“病理诊断用新单抗或国产化抗体研究”两个方向, 对于招标项目将面向全国病理及病理相关学科招标。凡所在单位具备项目研究基本条件, 已从事病理或病理相关专业五年以上, 具有副高(含副高)以下, 从事技术或诊断的中青年专业人员, 在具备科研项目研究时间和能力的基础上均可申请(注: 自由命题项目仅限病理学科申请)。

迈新·病理基金管委会秉持“择优支持、公正合理”的评审原则, 将组织国内5位知名专家进行统一评审, 项目将通过通讯评审和基金常务会议评审相结合的方式进行审批, 您可以通过Email: maxim.fund@gmail.com或登陆迈新公司网站索取相关表格进行申请。申请表截止提交时间: 2012年10月18日, 评审时间: 10月25日—11月25日, 评审结果公布时间: 12月中下旬。

欢迎病理界同仁踊跃参与! 具体要求和相关动态请关注迈新公司主页<http://www.maxim.com.cn>或与相关工作人员联系, 联系人: 唐娜 13665019968。