

成人肾脏 ABO 组织血型 1-4 型糖链 H 物质的分布

李如波¹, 王保捷¹, 藤谷登², 木村博司³

(1. 中国医科大学法医学院, 辽宁 沈阳 110001; 2. 日本冈山理科大学生物化学科临床病理研究室, 岡山 700-0005; 3. 日本久留米大学医学部法医学与人类遗传学教室, 久留米 830-0011)

【摘要】目的 观察 1 型 H、2 型 H 及 3/4 型 H 糖链在成人肾组织中的分布及其与分泌状态的关系。**方法** 应用抗 ABO 抗体及 3 种糖链特异的单克隆抗 H 抗体的免疫组织化学方法, 检查分泌型与非分泌型个体肾组织中相应抗原物质的分布。**结果** 在分泌型和非分泌型人的肾远曲小管均表达 2 型 H 和 3/4 型 H 物质, 1 型 H 和 3/4 型 H 物质只在分泌型人肾集合管表达, 在非分泌型人中不表达。另外集合管的 2 型 H 物质的表达与分泌状态无关。**结论** 人肾组织有 ABH 物质的表达, 不同肾组织细胞表达的 H 物质结构差异与 ABO 型分泌状态有关。

【关键词】 法医病理学; 肾; ABO 组织血型; H 血型物质; $\alpha(1, 2)$ 岩藻糖转移酶; 免疫组织化学

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1001-5728(2004)01-0026-04

Distribution of H Type 1-4 Chains of ABO Histo-blood Group in Adult Human Kidney/ (Δ LI Ru-bo, WANG Bao-jie, FUJITANI Noboru, et al. / Δ Department of Forensic Pathology, China Medical University, School of Forensic Medicine, Shenyang, 110001, China)

【Abstract】Objective To investigate the distribution of H type 1-4 chains of ABO histo-blood group in adult human kidney and their relationships with secretor status. **Methods** By means of a sensitive immunohistochemical method using a panel of the monoclonal antibodies specific for H type 1, H type 2 and H type 3/4 structures respectively, the distribution of these particular histo-blood group antigens were investigated in adult human kidney. **Results** The distal convoluted tubules derived from metanephric blastema expressed the H type 2 and H type 3/4 in the secretor and nonsecretor status. The collecting tubules derived from ureteric bud expressed the H type 1 and H type 3/4 chains only in secretor individuals but not in nonsecretor individuals from which it is suggested that the expression of the H type 1 and H type 3/4 in collecting tubules be controlled by Se type 0 (1, 2) fucosyltransferase (Se enzyme). Additionally, expression of the H type 2 in the collecting tubules derived from ureteric bud is independent of the secretor status, from which it is suggested that the expression of H type 2 in the collecting tubules be controlled by H type $\alpha(1, 2)$ fucosyltransferase (H enzyme). **Conclusion** The human renal tissue expresses A, B, and H substances, and variation of expression of H substance that varied with different renal tissue cells is related to ABO secretor status in individuals.

【Key words】 Forensic pathology; Kidney; ABO histo-blood group; H substance; $\alpha(1, 2)$ fucosyltransferase; Immunohistochemistry

红细胞膜、组织及体液中的 ABH 血型抗原 (血型物质) 是糖脂和糖蛋白糖链末端逐步糖基化所形成^[1]。根据唾液中是否含有 ABH 血型物质, 将个体分为分泌型和非分泌型。H 血型物质至少由 4 种核心糖链构成 (1 型链: Gal β 1-3GlcNAc β 1-; 2 型链: Gal β 1-4GlcNAc β 1-; 3 型链: Gal β 1-3GalNAc α 1-; 4 型链: Gal β 1-3GalNAc β 1-)^[1]。所有 H 抗原都是在 H

型 $\alpha(1, 2)$ 岩藻糖转移酶 (H 酶) 或 Se 型 $\alpha(1, 2)$ 岩藻糖转移酶 (Se 酶) 作用下由以上核心糖链末端加糖基所形成^[2]。现已证明 H 酶主要调控中胚层来源的红细胞 H 血型物质的表达, 而 Se 酶主要调控内胚层来源的上皮细胞和分泌液中的 H 血型物质的表达。以前的研究表明, 下颌腺的浆液细胞表达 3/4 型 H 物质, 粘液细胞表达 1 型 H 物质, 两者均由 Se 型 $\alpha(1, 2)$ 岩藻糖转移酶 (Se 酶) 调控。下颌腺导管上皮的 1-4 型 H 物质的表达是由 H 型 $\alpha(1, 2)$ 岩藻糖转移酶 (H 酶) 所调控^[3,4]。

近年来, 正常上皮组织的 ABO 及 Lewis 物质的表达与胎儿发育、分化、细胞成熟和肿瘤的发生都有关, 已受到广泛关注。许多肿瘤相关抗原被认为

【基金项目】 教育部留学归国基金资助项目 (教外留司 [1997] 832 号)

【作者简介】 李如波 (1964-), 男, 辽宁铁岭人, 副教授、医学博士, 主要从事颅脑损伤法医病理形态学及 ABO 血型物质在人体组织内分布与基因调控方面的研究。

是修饰的血型抗原^[5]。ABH 及其相关糖链抗原位于细胞膜表面,参与细胞-细胞间的联络^[6]。然而人体肾脏各类型细胞中的不同类型核心糖链血型抗原的分布尚不清楚,本研究用一系列抗 H 单克隆抗体对分泌型和非分泌型个体的肾脏 1-4 型 H 抗原分布进行了研究,同时分析了其基因调控。

1 材料与方法

1.1 材料来源及分组

正常成人肾脏组织从 20 例尸检获得,其中 12 例为分泌型(3 例 A 型,3 例 B 型,6 例 O 型),8 例为非分泌型(2 例 A 型,3 例 B 型,3 例 O 型)。通过常规血球凝集试验确定 ABO 血型 and Lewis 血型。分泌型通过 Lewis 血型来判断,即 Le(a-b+)为分泌型,Le(a+b-)为非分泌型,Le(a+b+)为弱分泌型^[2]。抗 A、抗 B、抗 Le^a、Le^b 单克隆抗体及植物血凝素 UEA-I 分别购于日本 Kokusai、Ortho 和美国 EY laboratory。特异作用于 2 型 H 糖链的 3A5 单抗由久留米大学医学部法医学与人类遗传学教室制备^[4,7];主要作用于 1 型 H 糖链的 1E3 单抗系由日本群马大学法医教室馈赠^[8];作用于 3/4 型 H 糖链的 MBrl 单抗由意大利实验肿瘤研究所馈赠^[9]。

1.2 免疫组织化学染色

正常肾组织经 10% 福尔马林固定,石蜡组织快切片,脱蜡,用 LSAB 方法进行免疫组织化学染色^[3,4,10]。用 3% H₂O₂ 处理及 10% 正常兔血清封闭,用 PBS-T 稀释 500 倍的一抗及 PBS 中 10mg/mL UEA-I (含有 0.1% BAS) 湿盒中 4℃ 反应过夜。PBS-T 洗后加生物素标记的兔抗鼠免疫球蛋白,再加链霉菌素抗生物素过氧化物酶,最后 DAB 显色,苏木素核复染,封片。

2 结果

正常人肾脏 1-4 型 H 糖链抗原分布见表 1。无论分泌型或非分泌型,肾小球毛细血管内皮

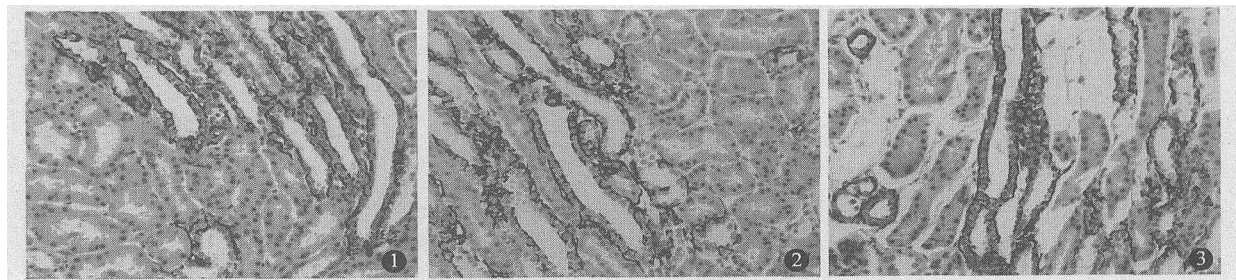
A、B、H 免疫组织化学染色阳性,且与标本血型一致。肾小球囊壁层、脏层上皮及肾小球间皮细胞抗 H 及 UEA-I 阴性。H 抗原的表达在肾小管各段不同,主要集中在集合管和远曲小管上,而在近曲小管和 Henle 氏袢不表达。阳性反应位于小管的顶端,偶尔存在于细胞质中。1 型 H 糖链抗原的表达位于分泌型内髓质区的集合管腔面和胞质内,而不存在于内皮、远曲小管、近曲小管、Henle 氏袢和毛细血管。非分泌型中抗 H 1E3 抗体偶尔与集合管细胞表面反应阳性(照片 1)。A、B 或 O 型的肾脏中 2 型 H 抗原分布于肾小球毛细血管、远曲小管和集合管上皮,不依赖于分泌型状态和 ABO 血型的差别。强阳性反应位于远曲小管和集合管的胞质或腔面(照片 2)。在分泌型个体中从外髓到内髓的集合管胞质中抗 MBrl 均呈阳性反应。相反,远曲小管阳性反应存在于分泌型和非分泌型个体中,尤以皮质下的远曲小管为明显(照片 3)。UEA-I 和抗 A、抗 B 的染色结果与抗 H 3A5 的结果相同,并与供体的血型一致。

表 1 分泌型和非分泌型肾中 H 1-4 型糖链物质和 A 或 B 抗原的表达

Table 1 The expression of H type 1-4 chain substances and A or B antigen in human kidney and their relationships to Secretor status

组织类型	分泌状态	1E3	3A5	MBrl	A or B	UEA-I
肾小球毛细血管	Se	-	+	-	+	+
	nSe	-	+	-	+	+
近曲小管	Se	-	-	-	-	-
	nSe	-	-	-	-	-
Henle 氏袢	Se	-	-	-	-	-
	nSe	-	-	-	-	-
远曲小管	Se	-	+/-	+/-	+/-	+/-
	nSe	-	-/+	-/+	-/+	-/+
集合管皮质端	Se	-	-	-	-	-
	nSe	-	-	-	-	-
集合管外髓	Se	-/+	+	+	+	+
	nSe	-	-	-	-	-
集合管内髓	Se	+	+	+	+	+
	nSe	-/+	+	-	+	-
红细胞和血管内皮	Se	-	+	-	+	+
	nSe	-	+	-	+	+

Se: 分泌型; nSe: 非分泌型; +: 阳性; -: 阴性; +/-: 阳性 >> 阳性; -/+ : 阴性 >> 阳性



照片 1 分泌型人肾集合管 1 型 H 物质染色阳性(1E3 抗体, LSAB 法 ×400); 照片 2 分泌型人肾集合管 2 型 H 物质染色阳性(3A5 抗体, LSAB 法 ×400); 照片 3 分泌型人肾集合管 3、4 型 H 物质染色阳性(MBrl 抗体, LSAB 法 ×400)

Photo 1 H Type 1 in collecting tubules were positive stained in kidney of secretor (1E3 antibody, LSAB ×400); Photo 2 H Type 2 in collecting tubules were positive stained in kidney of secretor (3A5 antibody, LSAB ×400); Photo 3 H Type 3/4 in collecting tubules were positive stained in kidney of secretor (MBrl antibody, LSAB ×400)

3 讨论

免疫组织化学研究表明 ABH 及其相关抗原特异地分布于人体肾脏^[11,12]、膀胱上皮^[13,14]及膀胱肿瘤组织中^[15]。

Bariety 等^[12]用间接免疫荧光抗体方法检测到 A 抗原存在于 A 型和 AB 型正常肾脏的整个血管内皮和远曲小管,而在分泌型集合管中呈弱阳性,内髓区肾小管比外髓区肾小管上皮染色更强和弥散。Trickett^[16]用 A 单克隆抗体研究发现血型 A 抗原表达于所有 A 型肾脏的血管内皮中,尤以在外周毛细血管内为明显,也表达于远曲小管上皮中,而集合管的阳性反应仅存在于 Le (a - b +) 的个体中。Cordon-Cardo^[17]用 UEA-I 检测 2 型 H 抗原,发现 2 型 H 抗原在人体肾脏集合管中的表达与分泌型有关。Orntoft^[13,14]分别用抗 1 型 H 和抗 2 型 H 单克隆抗体对正常膀胱上皮的研究发现 1 型 H 抗原存在于 O 型分泌型个体的膀胱中间层和基底层上皮胞质和胞膜上,而不存在于非分泌型的个体中。2 型 H 抗原存在于 O 型分泌型个体的膀胱中间层上皮的胞质和胞膜上,在非分泌型中仅存在于上皮的管腔表面,且抗原较少,染色淡。Ulfvin^[18]研究表明 A₁ 亚型个体具有比 A₂ 亚型的个体更多的 3 型 A 糖脂;而用薄层层析色谱法检测分泌型中的 3 型 A 糖脂多于非分泌型。

本研究发现 H 抗原的表达在各段肾小管有所不同,主要分布在集合管和远曲小管中,而不见于近曲小管和 Henle 氏袢中。无论在分泌型还是非分泌型中远曲小管上皮细胞表现抗 H 3A5 和抗 HMBr1 强阳性反应,而与抗 H 1E3 不反应。这一结果提示 2 型 H 和 3/4 型 H 抗原在远曲小管中的表达是由 H 型 α (1, 2) 岩藻糖转移酶所调节的。同时也观察到分泌型个体的集合管抗 H 1E3、抗 H 3A5、抗 H MBr1 及 UEA - I 强阳性,但染色程度各部位不同。分泌型个体中的集合管上皮 1-4 型 H 糖链的抗原分布由外髓向内髓呈递增态势。皮层集合管上皮完全缺少 H 抗原的表达。然而在外髓层集合管显示抗 H MBr1 强阳性反应,抗 H 3A5 弱反应,抗 H 1E3 不反应。在内髓层这三种抗体均呈强阳性反应。非分泌型集合管上皮完全缺少抗 H 1E3 和抗 H MBr1 免疫染色,偶尔抗 H 1E3 弱阳性,伴有抗 H 3A5 的弱阳性。这种非分泌型 1 型 H 抗原的偶尔表达可能是由于弱分泌型的原故。弱分泌型, Lewis 型为 Le (a + b +), 已被证实是由于 α (1, 2) 岩藻糖转移酶基因的 A385T 变异所致,又称为弱 Se 基因 (Se^W)^[2]。由此可知,集合管上皮的 1 型 H 和 3/4 型 H 物质的表达是依赖于分泌型的。相反,集合管上皮 2 型 H 物质的表达

不依赖于分泌型状态,这一结果表明两种类型的 α (1, 2) 岩藻糖转移酶在集合管中均有活性,一种为 Se 型 α (1, 2) 岩藻糖转移酶 (Se 酶),调控 1 型 H 和 3/4 型 H 物质的表达;另一种为 H 型 α (1, 2) 岩藻糖转移酶 (H 酶),调控 2 型 H 物质的表达。

其它学者也报导 X 抗原,即 Le^a 的 2 型异构体,表达于近曲小管和 Henle 氏袢的降支,不依赖于分泌型基因,而 ABH、Le^a 和 Le^b 抗原在远曲小管和集合管中的表达却依赖于分泌型基因^[11,12,17]。但本研究没有发现任何 H 抗原在近曲小管中的表达。Le^a 抗原而非 Le^b 抗原在这些细胞中的表达仅存在于 Lewis 阳性的个体中,而不存在于 Lewis 阴性的个体中,且不依赖于分泌状态,因此可以认为这此细胞中缺少 α (1, 2) 岩藻糖转移酶,而存在 α (1, 3/4) 岩藻糖转移酶。

具有组织血型特异性的糖脂和糖蛋白被认为在抗原分化、在特定类型细胞的发生及其功能上起重要作用^[17]。近年来这些抗原作为分化的指标逐渐引起一些研究者的注意,其原因是在转化过程,包括成熟结构、前驱物质的蓄积、ABH 抗原的缺失,异常的 A、B 型特性,及一些肿瘤中 Lewis 抗原表达的强化或修饰等^[11]。因此本文不同类型 H 型抗原物质在肾脏组织中特定部位的表达的研究,表明肾小管上皮在这些抗原的发生上存在着抗原性差异。根据不同结构 H 物质在肾组织细胞表达的差异可以判断个体的分泌状态。本研究结果也有利于理解肾脏肿瘤的分类和组织发生来源。

【参 考 文 献】

- [1] Oriol R, Le Pendu J, Mollicone R. Genetics of ABO, H, Lewis, X and related antigens [J]. Vox Sang, 1986, 51: 161 - 171.
- [2] Henry S, Oriol R, Samuelsson B. Lewis histo-blood group system and associated secretory phenotypes [J]. Vox Sang, 1995, 69: 166 - 182.
- [3] Liu YH, Fujitani N, Koda Y, et al. Presence of H type 3/4 chains of ABO histo-blood group system in serous cells of human submandibular gland and regulation of their expression by the secretor gene (FUT2) [J]. J Histochem Cytochem, 1999, 47: 889 - 894.
- [4] Liu YH, Fujitani N, Koda Y, et al. Distribution of H type 1 and of H type 2 antigens of ABO group in different cells of human submandibular gland [J]. J Histochem Cytochem, 1998, 46: 69 - 76.
- [5] Le Pendu J, Marionneau S, Cailleau-Thomas A, et al. ABH and Lewis histo-blood group antigens in cancer [J]. APMIS, 2001, 109: 9 - 31.

(下转第 32 页)

需要与反映言语频率的其它客观检测方法联合应用。

本试验 86 耳中 40Hz AERP 与 ABR 的测试, 有 4 耳在 105dB 时 ABR 未引出, 2 耳 40Hz AERP 未引出, 其中未引出 ABR 的两耳在三个低频、80dB 时引出了 40Hz AERP。通过正常组和障碍组的反应阈与主观听阈差值的均值比较, 说明应用 ABR 可以客观评定高频范围的听阈, 应用 40Hz AERP 可以客观评定言语频率范围的听阈。在法医学鉴定中, 联合应用 40Hz AERP 和 ABR, 能提高客观听阈评定的准确性。此外, 我们对 6 例主诉听力障碍的被鉴定耳, 联合应用 40Hz AERP 和 ABR 进行检测, 发现在上述各频率反应阈与主观听阈明显不符, 将测得的反应阈值分别代入本试验所得出的相关回归方程, 四个听阈预估值与纯音测听掩蔽试验实测值一致。证明上述 6 例均明显夸大听力障碍程度。

【参 考 文 献】

- [1] 顾瑞, 于黎明. 聋儿听性脑干反应和 40Hz 听觉相关电位测试 [J]. 中华耳鼻喉科杂志, 1989, 24 (3): 130-132.
- [2] Szyfter w, Dauman R, de Sauvage RC. 40Hz middle latency responses to low frequency tone pips in normally hearing adults [J]. Otolaryngol, 1984, 13 (5): 275-280.
- [3] 傅宝田. 40Hz 听觉相关电位的正常值 [J]. 中华耳鼻喉科杂志, 1988, 23 (3): 156-158.
- [4] Lenarz T, Gulzow J, Grozinger M, et al. Clinical evaluation of 40Hz middle-latency responses in adults: frequency, specific threshold estimation and suprathreshold amplitude characteristics [J]. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec, 1986, 48 (1): 24-32.
- [5] Musiek FE, Geurkink NA. Auditory brainstem and middle latency evoked response sensitivity near threshold [J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1981, 90 (3 PE 1): 236-240.
- [6] Kileny P, Shea SL. Middle-latency and 40-Hz auditory evoked responses in normal-hearing subjects: click and 500-Hz thresholds [J]. J Speech Hear Res, 1986, 29 (1): 20-28.
- [7] Osterhammel PA, Shallop JK, Terkildsen K. The effect of sleep on the auditory brainstem response (ABR) and the middle latency response (MLR) [J]. Scand Audiol, 1985, 14 (1): 47-50.
- [8] Jerger J, Chmiel R, Frost JD Jr, et al. Effect of sleep on the auditory steady state evoked potential [J]. Ear Hear, 1986, 7 (4): 240-245.
- (收稿日期: 2003-12; 修回日期: 2004-01)
- [6] Hakomori S. Aberrant glycosylation in tumors and tumor-associated carbohydrate antigens [J]. Adv Cancer Res, 1989, 52: 257-331.
- [7] Liu YH, Akiyama H, Jia JT, et al. Characterization of a monoclonal antibody specific for H type 2 structure of ABO blood group, and its use for measuring H type 2 on human red blood cells [J]. J Clin Lab Anal, 1996, 10: 144-148.
- [8] Nakajima T, Yazawa S, Miyazaki S, et al. Immunochemical characterization of anti-H monoclonal antibodies obtained from a mouse immunized with human saliva [J]. J Immunol Methods, 1993, 159: 261-267.
- [9] Bremer EG, Lavery SB, Sonnino S, et al. Characterization of a glycosphingolipid antigen defined by the monoclonal antibody MBrl expressed in normal and neoplastic epithelial cells of human mammary gland [J]. J Biol Chem, 1984, 259: 14773-14777.
- [10] Li R, Fujitani N, Jia JT, et al. Immunohistochemical indicators of early brain injury: an experimental study using the fluid-percussion model in cats [J]. Am J Forensic Med Pathol, 1998, 19: 129-136.
- [11] Cordon-Cardo C, Reuter VE, Finstad CL, et al. Blood group-related antigens in human kidney: moleculatation of Lewis determinants in renal cell carcinoma [J]. Cancer Res, 1989, 49: 212-218.
- [12] Bariety J, Oriol R, Ninglais N, et al. Distribution of blood group antigen A in normal and pathologic human kidneys [J]. Kidney Int, 1980, 17: 820-826.
- [13] Orntoft TF, Wolf H, Clausen H, et al. Blood group ABO and Lewis antigens in fetal and normal adult bladder urothelium immunohistochemical study of type 1 chain structures [J]. J Urology, 1987, 138: 171-176.
- [14] Orntoft TF, Wolf H, Clausen H, et al. Blood group ABO-related antigens in fetal and normal adult bladder urothelium. Immunohistochemical study of type 2 chain structures with a panel of mouse monoclonal antibodies [J]. Lab Invest, 1988, 58: 576-583.
- [15] Orntoft TF. Carbohydrate changes in bladder carcinomas [J]. APMIS Suppl, 1992, 27: 181-187.
- [16] Trickett LP, Evans PR, MacIver AG, et al. Variable localization of blood group antigen in group A kidneys [J]. Br J Exp Pathol, 1983, 64: 137-143.
- [17] Cordon-Cardo C, Lloyd KO, Finstad CL, et al. Immunohistochemical distribution of blood group antigens in the human urinary tract: Influence of secretor status [J]. Lab Invest, 1986, 55: 444-454.
- [18] Ulfvin A, Backer AE, Clausen H, et al. Expression of glycolipid blood group antigens in single human kidneys: Change in antigen expression of rejected ABO incompatible kidney grafts [J]. Kidney Int, 1993, 44: 1289-1297.
- (收稿日期: 2003-12; 修稿日期: 2004-01)