

# 原发性肝癌患者 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞亚群的分析

裘宇容<sup>1</sup>,杨春莉<sup>1</sup>,陈炼波<sup>2</sup>,王 前<sup>1</sup>(第一军医大学<sup>1</sup>南方医院检验科,<sup>2</sup>中心实验室,广东广州 510515)

摘要:目的 研究原发性肝癌(HCC)病人外周血 CD8<sup>+</sup>细胞亚群及 CD8<sup>+</sup>T 细胞上 CD28 分子的表达。方法 用流式细胞仪对 20 例原发性肝癌病人的 CD8<sup>+</sup>细胞亚群及 CD8<sup>+</sup>T 细胞上 CD28 分子(即 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>)的表达进行检测。结果 HCC 病人 CD8<sup>+</sup>细胞百分率升高,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞百分率降低,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞百分率升高,与对照组相比具有显著性差异。CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞百分率与 CD8<sup>+</sup>T 细胞百分率的相关性研究表明,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞数与 CD8<sup>+</sup>T 细胞数之间呈正相关。结论 HCC 病人 CD8<sup>+</sup>细胞升高,CD8<sup>+</sup>细胞上 CD28 分子的表达是异常的,即 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞数升高,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞数降低;CD8<sup>+</sup>T 细胞的升高是 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞亚群升高的结果。

关键词:原发性肝癌;CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>;CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>

中图分类号:R446 文献标识码:A 文章编号:1000-2588(2002)01-0072-02

Analysis of CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> cell subsets in patients with hepatocellular carcinoma  
QIU Yu-rong<sup>1</sup>, YANG Chun-li<sup>1</sup>, CHEN Lian-bo<sup>2</sup>, WANG Qian<sup>1</sup>  
Clinical Laboratory, Nanfang Hospital<sup>1</sup>, Central Laboratory<sup>2</sup>, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract Objective To study the expression of the costimulatory molecule CD28 on peripheral blood CD8<sup>+</sup>T cells from patients with hepatocellular carcinoma (HCC). Method The expression of CD28 on CD8<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> cell subsets in the peripheral blood obtained from 20 HCC patients and 15 healthy controls were assayed by flow cytometry. Results The elevated percentages of CD8<sup>+</sup> cells, decreased percentages of CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> cells and increased percentages of CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> cells were observed in the peripheral blood of HCC patients as compared with those of the control group (P<0.01). Positive correlation between the percentage of CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> cells and that of CD8<sup>+</sup> cells were found. Conclusion CD28 expression on CD8<sup>+</sup>T cells was aberrant in the peripheral blood of HCC patients, and the elevation of CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> cell number results in the increase of CD8<sup>+</sup> cell number.

Key words hepatocellular carcinoma; CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>; CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>

CD28 分子为细胞共刺激分子,表达于 95% 的 CD4<sup>+</sup>和 50%~95% 的 CD8<sup>+</sup>T 细胞上,能与抗原提呈细胞上的 B7 分子结合所介导的共刺激信号协助激活 T 细胞的增殖和包括 IL-2 在内的多种淋巴因子的分泌,并能阻止细胞无反应性的诱导<sup>[1]</sup>。健康个体 CD8<sup>+</sup>细胞上 CD28 分子的表达与 CD8<sup>+</sup>T 细胞克隆的扩增是平行的<sup>[2]</sup>,然而 HIV 感染病人、类风湿性关节炎病人 CD28 分子的表达与细胞克隆的扩增是不平行的<sup>[3,4]</sup>。为了解原发性肝癌(HCC)病人细胞上 CD28 分子的表达情况,我们用流式细胞仪对 20 例 HCC 病人进行了 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞的检测,报道如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

HCC 患者 20 例,其中 15 例病理诊断为 HCC,5 例病人为按照 1977 年中国肝癌防治协作会议制定的标准作出的诊断;平均年龄 43 岁。正常对照组 15 例为健康查体人员,平均年龄 30 岁。

### 1.2 研究方法

检测方法按文献 [5] 进行。实验中所使用的三标记单克隆抗体 CD3<sup>+</sup>Cy5/CD4<sup>+</sup>FITC/CD8<sup>+</sup>PE 购于法国国际免疫公司。单克隆抗体 CD8<sup>+</sup>PE、CD28<sup>+</sup>FITC 购于深圳晶美生物有限公司。

### 1.3 统计学处理

以均数±标准差表示实验结果,t 检验分析各组的差异,线性回归方法分析 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>、CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>与 CD8<sup>+</sup>T 细胞之间的关系。

## 2 结果

HCC 病人 CD8<sup>+</sup>细胞百分率显著升高,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞百分率明显减少,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞百分率明显增多,与正常对照组相比具有显著性差异(表 1)。图 1 为 HCC 病人 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>、CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>与 CD8<sup>+</sup>T 细胞的直线回归图。CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>与 CD8<sup>+</sup>T 细胞的相关系数 r=0.909,相关系数显著性检验 P<0.01,具有显著性差异。CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>与 CD8<sup>+</sup>T 细胞的相关系数 r=0.174,相关系数显著性检验无显著性差异。

## 3 讨论

收稿日期:2000-08-08

作者简介:裘宇容(1963-),女,江西南昌人,1988年毕业于第一军医大学,硕士,副主任技师,电话:02085142145

表 1 对照组与 HCC 病人外周血 CD8<sup>+</sup>细胞亚群中 CD28 分子的表达 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

Tab.1 CD28 expression on CD8<sup>+</sup> cell in HCC patients and the controls (Mean $\pm$ SD, %)

Tcellsubsets	control(n=15)	HCC(n=20)	P
CD8 <sup>+</sup>	23.7 $\pm$ 5.54	28.1 $\pm$ 4.88	P<0.01
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	9.04 $\pm$ 4.01	19.3 $\pm$ 5.01	P<0.01
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup>	13.3 $\pm$ 2.52	8.76 $\pm$ 2.96	P<0.01

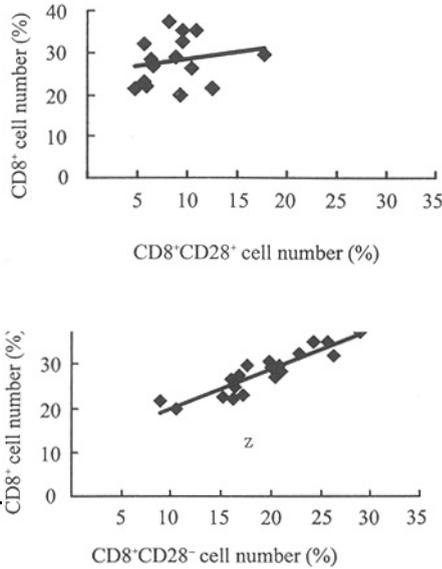


图 1 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> cell 与 CD8<sup>+</sup> cell 的直线回归关系

Fig.1 Correlation of CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> cell with CD8<sup>+</sup> cells

研究表明 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞是属于同一细胞族具有不同表型的两个细胞亚群,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞具有短的端粒,分化能力比 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞低,是一种终末细胞,是由于抗原的慢性刺激而由 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞分化而来<sup>[4,6,7]</sup>。健康个体 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞的百分率对外周血 CD8<sup>+</sup>T 细胞的升高具有相同功能,然而在一些感染性疾病和慢性疾病病人则并非如此。HIV 感染的病人 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞升高而导致 CD8<sup>+</sup>T 细胞的升高,而 EBV 和流感病毒感染的病人则是 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞升高引起 CD8<sup>+</sup>T 的升高<sup>[4]</sup>。本研究的 HCC 病人,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞百分率升高,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞百分率降低,从 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞、CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>与 CD8<sup>+</sup>T 细胞的相关性研究可见,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>与 CD8<sup>+</sup>T 细胞数之间无相关性,而 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞与 CD8<sup>+</sup>细胞之间的相关系数  $r=0.909, P<0.01$ , 说明 HCC 病人 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞与 CD8<sup>+</sup>细胞之间成正相关,即 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞

升高导致 CD8<sup>+</sup>T 细胞的升高。

CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞是 MHC-1 类限制性细胞毒前体细胞,具有 MHC-1 类限制细胞毒活性,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞降低,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞升高的 HH(血色病)病人其 CD8<sup>+</sup>T 细胞的淋巴细胞毒活性比正常人低二分之一以上<sup>[2]</sup>。CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞亚群的功能至今仍不十分清楚,因为 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞的升高也见于 CD8<sup>+</sup>细胞升高的健康个体。然而有学者认为 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞具有免疫抑制作用,可抑制抗体的产生及同种异体抗体所诱导的细胞增殖反应;且 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞亚群由 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞分化而来,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞的长期升高导致 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞的消耗,最终导致机体免疫系统对新的抗肿瘤细胞的无反应性。因此,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞降低,CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞升高的个体免疫功能是紊乱的。HCC 病人 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>细胞升高,抑制机体的抗肿瘤免疫,而 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>细胞降低,T 细胞的杀伤性功能降低,不足以发挥有效的抗肿瘤作用,这也许使肿瘤细胞得以逃避细胞毒 T 细胞的杀伤作用,从而使肿瘤扩散,病情恶化。

参考文献:

- [1] SchwartzRH. CostimulationofTlymphocytes: theroleofCD28, CTLA-4and B7/BB1inIL-2productionand immunotherapy [J]. Cell,1992,7(12):1065-8.
- [2] ArosaFA,LLiviraL,PortoG, et al Anomalies of theCD8T cell poolinhaemochromatosis:HLA-A3-linkedexpansionofCD8CD28 T cell[J]. Clin Exp Immunol,1997,107:548-50.
- [3] FitzgeraldJE, RicaltonNS, MeyerAC, et al Analysis ofclonal CD8+T cell expansions in normal individuals and patients with reumatoidarthritis [J]. J Immunol,1995, 154:3538-41.
- [4] DalodM,SinetM,DeschenminJC, et al Altered ex vivo balance betweenCD28+ and CD28 cellswithin HIV-specificCD8+ T cellof HIV-seropositivepatients [J].EurJImmunol,1999,29(1):38-44.
- [5] 裴宇容,洪军,杨春莉.剥夺睡眠对人体免疫功能的影响 [J]. 第一军医大学学报,1999,19(4):337-8. Qiu Yu-rong, HongJun, YangChun-li.Effectsofsleepdeprivation onhumanimmunefunction [J].JFirstMilMedUniv,1999,19(4): 337-8.
- [6] BrinchmanJE,DoblougJH,HegerBH, et alExpressionofcostimulatorymoleculeCD28 on cells in human immunodeficiency virus type1infection:functionalandclinicalcorrelations [J].JInfectDis, 1994,169:730-4.
- [7] EffrosR, AllsoppR, ChiuC, et al Shortenedtelomeresinthe expandedCD28CD28-cellssubsetinHIVdiseaseimplicatereplicative senescenceinHIVpathogemesis [J]. AIDS,1996,10:F17-19.

(责任编辑:段咏慧)