

· 研究简报 · 文章编号: 1000-2790(2000)03-S0026-02

## CD80 和 CD86 在肝癌、肝硬化组织中的表达

翟守恒, 刘俊彬, 朱平, 王彦宏

(第四军医大学西京医院临床免疫科, 陕西 西安 710033)

关键词: CD80; CD86; 抗原; 肝肿瘤; 肝硬化; 免疫组织化学  
中图分类号: R392.31; R735.7 文献标识码: A

**0 引言** T 细胞介导的细胞免疫在实质器官肿瘤的抗肿瘤免疫应答中起着重要的作用<sup>[1]</sup>。这种免疫应答的产生至少涉及 2 种信号。其一由 MHC 与特异性抗原的复合物与 TCR 相互作用提供, 其二由共刺激分子提供。在适当的条件下, 共刺激分子 B7 家族与 MHC I, II 类分子在肿瘤细胞上的共同表达, 可以在抗原特异性免疫应答和肿瘤的免疫排斥中引起 T 细胞亚群的成功活化。不表达 CD80 和 CD86 的肿瘤细胞是没有免疫原性的<sup>[2]</sup>。因此, 我们采用免疫组织化学方法对肝细胞肝癌(HCC)、癌周组织(pericancerous tissue, PCT)及肝硬化(LC)组织细胞中 CD80(B7-1)和 CD86(B7-2)的表达进行检测, 以了解其在抗肝癌免疫中的作用和意义。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 所有标本均来自西京医院, 并经病理组织学检查证实。47 例 HCC 为 1994/1997 年外科手术切除标本, 其中 32 例含有癌周组织。30 例 LC 为 1996/1997 年 LC 并发上消化

道出血病例手术活检标本。经福尔马林固定、脱水, 常规石蜡包埋, 制备 5  $\mu\text{m}$  厚连续切片备用。鼠抗人 CD80(B7-1) 抗原 BB1 株 IgM 单克隆抗体和鼠抗人 CD86(B7-2) 抗原 BU 63 株 IgG1 单克隆抗体为美国 Ancell 公司产品, 购自深圳晶美公司。A PA 免疫组织化学检测试剂盒购自武汉博士德公司。

**1.2 方法** 石蜡切片常规脱蜡至水后 PBS 振洗, 按博士德 A PA 免疫组化试剂盒说明书染色。抗 CD80 单抗与抗 CD86 单抗浓度均稀释到  $2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。DAB 显色, 苏木精复染, 脱水透明后封片。光镜观察。以 2 例慢性活动性乙型病毒性肝炎组织为阳性对照, 2 例外伤性肝破裂正常肝组织为阴性对照,  $10\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  小牛血清 PBS 液替代一抗作空白对照。结果判定以组织细胞中出现棕褐色颗粒为阳性。统计学处理为  $\chi^2$  检验。

### 2 结果

**2.1 CD80 抗原的免疫组化染色** CD80 抗原在 HCC, PCT, LC 上均有胞质、胞核两种表达, 核表达呈不均匀的弥漫分布(图 1), 胞质表达多为环坏死区分布(图 2), 周围有淋巴细胞浸润。CD80 在 HCC 的表达明显低于 PCT ( $P < 0.05$ ) 和 LC ( $P < 0.01$ ), 但 PCT 和 LC 上 CD80 的阳性率无显著差别 ( $P > 0.05$ , 表 1)。

表 1 CD80 在 HCC, PCT 及 LC 上的免疫组化结果

分组	例数	细胞核阳性	细胞质阳性	总阳性
HCC	47	5(10.6%)	4(8.5%)	9(19.1%)
PCT	32	8(25.0%)	6(18.8%)	14(43.8%)
LC	30	9(30.0%)	6(20.0%)	15(50.0%)

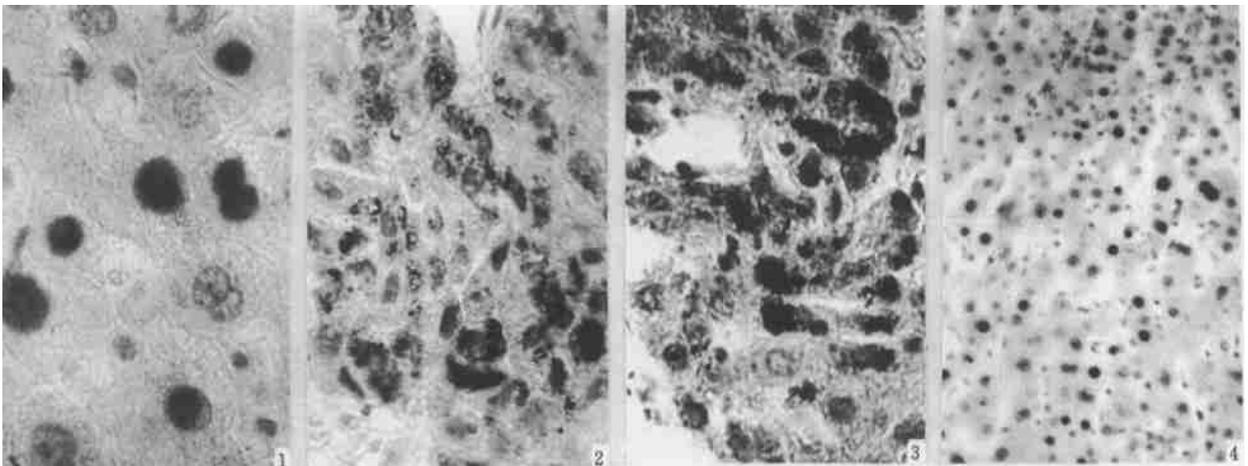


图 1 在癌周组织上 CD80 胞核阳性细胞呈弥漫分布 A PA  $\times 400$

图 2 在 HCC 组织中 CD80 胞质阳性细胞分布在坏死周围 A PA  $\times 400$

图 3 在 HCC 组织中 CD86 胞质阳性细胞分布在坏死周围 A PA  $\times 400$

图 4 在 LC 组织中 CD86 胞核阳性细胞呈弥漫分布 A PA  $\times 100$

收稿日期: 1999-01-04; 修回日期: 1999-03-22

作者简介: 翟守恒(1962-), 男(汉族), 山西省浑源县人。主治医师, 硕士(导师刘俊彬)。现工作在太原市解放军 264 医院传染科。Tel: (0351)4926111 Ext: 88076(O)

**2.2 CD86 抗原的免疫组化染色** CD86 抗原在 HCC, PCT, LC 上的表达、定位与分布和 CD80 类似(图 3, 4), 在 HCC 上表达的阳性率显著低于 PCT ( $P < 0.01$ ) 和 LC ( $P < 0.05$ ), 而 PCT 和 LC 上的阳性率则无显著性差别 ( $P > 0.05$ , Tab 2)。

3 讨论 共刺激分子B7家族属免疫球蛋白超家族成员,至少包括CD80(B7-1),CD86(B7-2)两个分子。主要表达在B淋巴细胞、活化T淋巴细胞、单核细胞和树突状细胞等APC细胞上。在某些慢性炎症组织和肿瘤细胞上也有不同程度的表达<sup>[2-4]</sup>。Mochizuki等<sup>[4]</sup>曾报道,CD80在慢性丙型肝炎肝细胞质中强烈表达。表达强度与肝炎的活动性、血清转氨酶水平密切相关,在肝细胞膜上的表达较少见。Tatsumi等<sup>[5]</sup>曾报道,CD80和CD86的mRNA在HCC细胞系中有低水平表达,这种低表达不能使肿瘤抗原引起有效免疫应答,而是诱导了T细胞的无能状态。如果导入CD80和CD86的外源基因,提高CD80和CD86的表达水平,则可诱导对HCC的抗肿瘤免疫。有关CD80和CD86在HCC和LC组织上的表达,尚未见报道。

表2 CD86在HCC, PCT及LC上的免疫组化结果

分组	例数	细胞核阳性	细胞质阳性	总阳性
HCC	47	2 (4.3%)	4 (8.5%)	6 (12.8%)
PCT	32	10 (31.3%)	5 (15.6%)	15 (46.9%)
LC	30	8 (26.7%)	3 (10.0%)	11 (36.7%)

CD80和CD86是以膜分子形式发挥作用的。但本研究显示,CD80和CD86在HCC上只有胞质和胞核两种表达形式,未见膜表达。国外曾经报道,在慢性活动性丙型肝炎肝细胞、EB病毒转化的B细胞、何杰金氏病的R-S细胞等,CD80和CD86都是以胞质表达为主<sup>[4]</sup>。其确切原因还不清楚。但CD80和CD86在这些细胞上均属诱导性表达,很可能是在靶细胞与CTL的相互作用过程中才出现在靶细胞膜上。未发生相互作用的靶细胞,细胞质、细胞核中虽然有阳性表达,但还未装配到细胞膜上。另外一个可能的原因是CD80和CD86虽然在细胞膜上有所表达,但在标本的处理过程中可能

被遮蔽或丢失,故呈阴性反应。细胞核阳性表达在文献中未见报道,这种阳性表达有何意义也还有待进一步研究。但起码可以说明,在HCC上CD80和CD86的低水平表达,不能引起有效抗肿瘤免疫应答。CD80和CD86在HCC上的胞质表达多为环坏死区分布则提示,B7家族在HCC上的足量表达是可以诱导有效抗肿瘤免疫应答的。这与Tatsumi的报道一致。HCC上两者阳性率显著低于LC和PCT的事实又说明,在LC向HCC转化的过程中,CD80和CD86的表达率降低了。虽然发生这种现象的原因还不清楚,但提示我们,这有可能是HCC产生免疫耐受的原因之一,在HCC的免疫治疗中,设法提高CD80和CD86在癌细胞上的表达率可能有重要意义。进一步的结果尚待研究。

#### 参考文献

- [1] Yoong KF, McNab G, Hubuscher SG *et al*. Vascular adhesion protein-1 and ICAM-1 support the adhesion of tumor-infiltrating lymphocytes to tumor endothelium in human hepatocellular carcinoma [J]. *J Immunol*, 1998; 160(8): 3978-3988.
- [2] Van Gool SW, Vandenberghe P, de Boer M *et al*. CD80, CD86 and CD40 provide accessory signals in a multiple-step T-cell activation model [J]. *Immunol Rev*, 1996; 153(2): 47-84.
- [3] June CH, Bluesone JA, Nadler LM *et al*. The B7 and CD28 receptor families [J]. *Immunol Today*, 1994; 15(7): 321-331.
- [4] Mochizuki K, Hayashi N, Katayama K *et al*. B7/BB-1 expression and hepatitis activity in liver tissues of patients with chronic hepatitis C [J]. *Hepatology*, 1997; 25(3): 713-718.
- [5] Tatsumi T, Takehara T, Katayama K *et al*. Expression of costimulatory molecules B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) on human hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 1997; 25(5): 1108-1114.

编辑 王文学

· 研究简报 · 文章编号: 1000-2790(2000)03-S0027-03

## 苯酚-硫酸法改用酶联免疫测定仪快速测定多糖组分

商 澎<sup>1</sup>, 高 蓉<sup>2</sup>, 梅其炳<sup>1</sup>, 曹之宪<sup>3</sup> (1 第四军医大学基础部药理学教研室, 陕西 西安 710033, 2 解放军 302 医院免疫室, 3 香港大学医学院药理系)

关键词: 多糖; 苯酚-硫酸法; 酶联免疫测定仪

中图分类号: R914.1 文献标识码: B

0 引言 苯酚-硫酸法测定单糖和多糖的方法<sup>[1]</sup>及其改良方

收稿日期: 1999-04-06; 修回日期: 1999-10-24

作者简介: 商 澎(1964-), 男(汉族), 北京市人, 讲师, 硕士生

Tel (029) 3374555

法<sup>[2]</sup>已成为多糖研究中必不可少的手段。多糖分离纯化中常利用液相色谱法分离纯化多糖样品, 逐管收集各分部流出液(一般要收集数十管至数百管), 经苯酚-硫酸法衍生后, 用分光光度计比色测定。由于后者每批一般最多只能测定三、四个样品, 费事费时, 损失样品较多等缺点, 我们参考改良苯酚-硫酸法, 改用酶联免疫测定仪进行比色测定, 建立了快速测定多糖组分的方法。测定多糖组分的同时, 采用 Serva blue G 染料结合法<sup>[3]</sup>还可快速测定多糖组分中的蛋白质。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

1.1.1 仪器 BECKMAN 168 高效液相色谱系统(美国 BECKMAN 公司), 高效凝胶过滤色谱柱 Biosep SEC-3000 (美国 Phenomenex 公司), 756MC 紫外可见分光光度计(上海第三分析仪器厂), DG3022A 酶联免疫检测仪(华东电子管厂), 96孔细胞培养板(瑞典 NUNCLON)。

1.1.2 试剂和样品 葡聚糖标准品 Fluka Dextran Standard