

· 论 著 ·

[文章编号] 1007-385X(2008)03-0248-06

EGFR、MVD 和 LRP 在上皮性卵巢癌中的表达及其临床意义

陈爱平^{1*}, 张 晶¹, 刘 晖², 韩淑娟¹, 刘丽芝¹(1. 青岛大学医学院附属医院妇产科, 山东 青岛 266003; 2. 青岛大学医学院附属医院病理科, 山东 青岛 266003)

[摘 要] 目的: 探讨表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、微血管密度(microvessel density, MVD)和肺耐药蛋白(lung resistance protein, LRP)在上皮性卵巢癌中的异常表达及其临床意义。方法: 采用免疫组化法检测 76 例上皮性卵巢癌、9 例交界性卵巢肿瘤、17 例良性卵巢肿瘤和 15 例正常卵巢组织中 EGFR、LRP 的表达和 MVD 计数, 并对患者进行随访, 评价化疗效果及预后。结果: (1) 卵巢癌组织中 EGFR、LRP 阳性表达率分别为 73. 68% 和 71. 79%, MVD 计数为 21.77 ± 9.85 , 均显著高于正常卵巢组织和良性肿瘤($P < 0.01$)。(2) EGFR 与 FIGO 分期、细胞学分级及腹水产生有关($P < 0.05$), 与年龄、组织学类型、残留灶大小及有无淋巴结转移无相关性($P > 0.05$); 低分化、有腹水及残留灶 ≥ 2 cm 的癌组织中 MVD 计数较高($P < 0.05$); LRP 与肿瘤临床病理参数无相关性($P > 0.05$)。(3) 在卵巢癌组织中, EGFR 表达与 MVD 计数和 LRP 表达均呈正相关($P < 0.05$)。(4) 对患者术后化疗的随访资料分析发现, EGFR 和 LRP 表达阴性者化疗有效率分别高于表达阳性者($P < 0.05$)。(5) Kaplan-Meier 法比较生存曲线表明, EGFR 和 LRP 阳性表达、低分化、有腹水和化疗耐药者术后生存时间短($P < 0.01$), 多因素分析表明 LRP 蛋白表达和化疗疗效与患者术后生存时间独立相关($P < 0.05$)。结论: EGFR 和 LRP 与上皮性卵巢癌的血管生成及产生化疗耐药有关, 两者阳性表达预示患者化疗敏感性低、术后生存时间短; 该两指标有助于预测化疗耐药和判断患者预后。

[关键词] 上皮性卵巢肿瘤; 表皮生长因子受体; 微血管密度; 肺耐药蛋白; 化疗敏感; 预后

[中图分类号] R737.31; R730.54 [文献标志码] A

Microvessel density and expression of epidermal growth factor receptor and lung resistance protein in epithelial ovarian cancer and their clinical relevance

CHEN Ai-ping¹, ZHANG Jing¹, LIU Hui², HAN Shu-juan¹, LIU Li-zhi¹(1. Department of Gynecology and Obstetrics, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, Shandong, China; 2 Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Shandong Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the microvessel density (MVD) and expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and lung resistance protein (LRP) in epithelial ovarian cancer and their clinical relevance. **Methods:** Expression of EGFR, LRP protein were evaluated by immunostaining in primary ovarian epithelial tumors, including 76 malignant ones, 9 borderline ones, 17 benign adenomas, and 15 normal tissues; and the MVDs were also calculated in the above tissues. The patients were followed up and the outcome of chemotherapy and the prognosis of the patients were evaluated. **Results:** (1) EGFR, LRP positive rates and MVD in the malignant ovarian specimens were 73. 68%, 71. 79% and 21.77 ± 9.85 , respectively, which were significantly higher than those in the normal and benign ones($P < 0.01$). (2) Expression of EGFR was associated with FIGO stage, grades of cytology differentiation and presence of hydroperitoneum ($P < 0.05$), but not with ages, histological types, sizes of residual tumors, and presence of lymph node metastasis ($P > 0.05$). Low differentiation, hydroperitoneum and residual tumor ≥ 2 cm were associated with higher MVDs ($P < 0.05$). LRP expression was not associated with the clinicopathologic parameters($P > 0.05$). (3) Expression of EGFR was positively correlated with the MVD and LRP expression in ovarian cancer tissues ($P < 0.05$). (4) We also found that ovarian cancer tissues negative of EGFR and LRP had higher effective rate for chemotherapy than those positive of them ($P < 0.05$). (5) Kaplan-Meier method showed that patients survived shorter when ovarian cancer tissues were positive of

[基金项目] 青岛市科技局基金资助项目(No. KGD-10). Supported by Science and Technology Bureau of Qingdao (No. KGD - 10)

[作者简介] 陈爱平(1964-), 女, 山西省长治市人, 副主任医师, 博士, 硕士生导师, 主要从事妇科肿瘤方面的研究

* Corresponding author. chenai ping516@163.com

EGFR and LRP and when the cancer tissues were poorly differentiated and chemotherapeutic resistant ($P < 0.01$); Cox proportional risk model analysis indicated that LRP positive expression and chemotherapeutic effect were independently related to survival time ($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of EGFR and LRP are related to angiogenesis and chemotherapy resistance in epithelial ovarian cancer. EGFR and LRP expression indicates low sensitivity to chemotherapy and shorter survival time of the patients, which will be helpful in distinguishing chemotherapy resistance and predicting prognosis.

[**Key words**] epithelial ovarian neoplasms; epidermal growth factor receptor; microvessel density; lung resistance protein; chemotherapy sensitivity; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(3): 248-253]

上皮性卵巢癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤,尽管术后铂类联合化疗延长了患者的生存时间,但5年生存率仍徘徊于30%左右,其原因与癌组织血管丰富及肿瘤细胞易产生化疗耐药密切相关。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)属于酪氨酸激酶家族成员之一,其异常表达和活化能促进肿瘤组织的血管生成并引起细胞化疗耐药的产生。卵巢癌组织中微血管密度(microvessel density, MVD)是评价血管生成的重要指标^[1]。肺耐药蛋白(lung resistance protein, LRP)是一种化疗耐药谱主要为铂类的多药耐药蛋白,对卵巢癌是一个预测化疗敏感的独立预后因素^[2]。本课题对卵巢癌组织中EGFR、LRP表达和MVD计数及它们的相关性进行研究,并探讨三者表达的临床意义及与预后的关系。

1 材料与方法

1.1 病例选择

76例石蜡包埋的原发性上皮性卵巢癌组织标本选自2002-2006年青岛大学医学院附属医院,入选患者年龄24~69岁,中位年龄48岁。组织学类型:浆液性囊腺癌54例,黏液性囊腺癌16例,子宫内膜样腺癌4例,透明细胞癌2例;临床分期:按FIGO1998手术病理分期标准,I~II期33例,III~IV期43例;细胞学分级:高分化3例,中分化19例,低分化54例。所有病例均行肿瘤细胞减灭术或分期手术,术前未接受放、化疗及免疫治疗,术后均给予3个疗程以上以铂类为基础的联合化疗,方案以PC(铂类加环磷酰胺)、PAC(铂类、多柔比星加环磷酰胺)或PT(紫杉醇加铂类)为主。另取同期卵巢上皮性交界性肿瘤9例,良性肿瘤17例(包括浆液性囊腺瘤12例,黏液性囊腺瘤5例),卵巢正常组织15例作对照(子宫肌瘤及附件切除者卵巢组织,经H-E染色确定)。病理诊断由病理科专家复诊。

1.2 实验方法及结果判定

免疫组化染色:4 μm 连续切片,每份标本切4

张,1张作H-E染色,其余行免疫组化染色。采用PV-6000两步法检测EGFR、CD34和LRP蛋白的表达,每批切片中均设阳性对照片和阴性对照片。已知卵巢癌阳性切片作为阳性对照,PBS代替一抗作为阴性对照。鼠抗人EGFR单克隆抗体(ZA-0505,稀释度1:60),鼠抗人CD34单克隆抗体(ZM-0046,稀释度1:50),鼠抗人LRP单克隆抗体(ZM-0325,工作液),免疫组化PV-6000试剂盒,DAB显色剂,均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

阳性结果判定标准^[3-5]:EGFR阳性表达定位于胞质或胞膜,以肿瘤细胞质或胞膜染成棕黄色为阳性,未染色为阴性(-),染为淡黄色为弱阳性(+),棕黄色为阳性(++),棕褐色为强阳性(+++),后3种均记为阳性(+).LRP阳性表达定位于胞质,根据阳性细胞数判定:阳性细胞占肿瘤细胞总数<10%定为阴性(-),阳性细胞数>10%定为阳性(+).CD34阳性表达定位于胞膜,以内皮细胞胞膜染成棕黄色为阳性(+),未染色为阴性(-)。

MVD评估^[6]:先在低倍镜($\times 100$)下选择一个CD34染色阳性高密度区(hot spot),后在高倍镜下($\times 400$)计数微血管,取3个视野的均值作为MVD。临近肿瘤细胞及周围结缔组织,分界清楚的棕黄色单个内皮细胞或内皮细胞群作为一个微血管计数,但管腔面积大于8个红细胞的血管不纳入计数范围。

1.3 术后随访及化疗疗效的评定

患者术后行第一次化疗前复查CA125水平,以此为基础跟踪CA125下降情况,同时根据患者手术情况联合盆腔、腹部检查和CT、B超检查,追踪化疗过程中患者临床症状的缓解程度、CA125下降情况、肿瘤包块变化,综合其化疗后复发时间来判断其化疗疗效。结合文献制定其判断标准为^[7]:(1)化疗敏感性卵巢癌:初期采用以铂类为基础的化疗,已获得经临床证实的缓解(临床症状消失,盆腔、腹部检查和CT、B超检查均无包块复发或残留包块无进一步增大,血清CA125值下降至正常),停药超过6个月以内未出现复发者。(2)耐药性卵巢癌:对初期以铂类

为基础的化疗达到临床缓解,但完成化疗后,在相对较短的时间内即6个月之内出现复发者。(3)持续性卵巢癌:对初期以铂类为基础的化疗有反应或明显反应,但进一步检查发现有残余病灶 CA125 水平升高、二次探查术病理检查有镜下病灶、CT 检查异常、盆腔及腹部检查有阳性体征者。(4)难治性卵巢癌:对以铂类为基础的化疗无效,包括在初期化疗期间肿瘤稳定或肿瘤进展。患者完成3个疗程的化疗后开始进行评定,将(1)类归为对化疗有效,后3类归为对化疗无效,即化疗耐药。化疗结束后至少随访1年,中位随访时间30个月。患者随访至死亡或2007年8月,失访12人,随访率为84.21%。

1.4 统计学处理

所有统计学处理均采用 SPSS14.0 软件。显著水平为双侧 $\alpha = 0.05$ 。两组率的差别的假设检验和 EGFR、LRP 表达的相关性采用 χ^2 检验,EGFR、LRP 表达与 MVD 计数的相关性采用 Spearman 相关分析;寿命表法计算生存率;Kaplan-Meier 法比较生存曲线;Cox 风险比例模型进行多参数分析。

2 结果

2.1 EGFR、MVD 和 LRP 在正常卵巢及卵巢肿瘤组织中的表达

EGFR 主要定位于胞膜或胞质(图1A),呈棕黄色染色,在恶性及交界性卵巢肿瘤中的阳性表达率分别为73.68%和66.67%,良性及正常组织中分别为23.53%和26.67%。LRP 表达为细胞质内棕黄色颗粒分布(图1B),在恶性及交界性卵巢肿瘤中的阳性表达率分别为71.79%和77.78%,良性组织中为20.00%,正常组织无一例表达。CD34 染色阳性为组织内皮细胞膜呈棕黄色显色(图1C),MVD 计数在恶性及交界性卵巢肿瘤组织中分别为(21.8 ± 9.9)和(16.2 ± 8.7),良性及正常组织中分别为(8.6 ± 2.1)和(8.7 ± 1.5)。恶性及交界性卵巢肿瘤中的 EGFR 和 LRP 阳性表达率以及 MVD 计数均显著高于正常组织及良性肿瘤($P < 0.01$);恶性和交界性肿瘤间相比及良性肿瘤与正常卵巢间相比表达无显著性差异($P > 0.05$,表1)。

2.2 EGFR、LRP 表达和 MVD 计数与患者临床病理参数的关系

86.05% III ~ IV 期、81.48% 低分化和 92.57% 有腹水的癌组织中 EGFR 表达为阳性,均高于 I ~ II 期、高/中分化和无腹水的癌组织($P < 0.05$)。从染色强度来看,期别越晚、分化越低,EGFR 阳性表达越强。

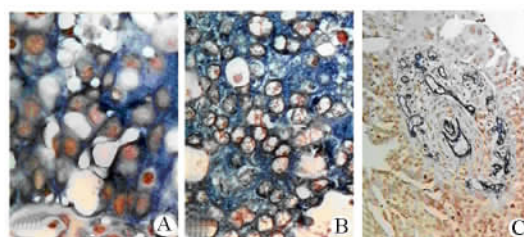


图1 EGFR、LRP 和 CD34 在上皮性卵巢癌组织中的表达
Fig. 1 Expression of EGFR, LRP, and CD34 in epithelial ovarian cancer tissues

A: Expression of EGFR (×400); B: Expression of CD34(×100); C: Expression of LRP(×400)

表1 EGFR、LRP 和 MVD 在卵巢肿瘤及正常卵巢组织中的表达

Tab. 1 Expression of EGFR, MVD and LRP in ovarian tumor and normal ovary tissues

Group	N	EGFR [n(%)]	LRP [n(%)]	MVD ($\bar{x} \pm s$)
Normal tissue	15	4 (26.67)	0	8.9 ± 1.52
Benign tumor	17	4 (23.53)	3 (17.65)	8.6 ± 2.09
Borderline tumor	9	6 (66.67)	7 (77.78)	16.2 ± 8.71
Ovarian cancer	76	56 (73.68)	54 (71.79)	21.8 ± 9.85

MVD 计数在低分化、有腹水和残留癌灶 ≥ 2 cm 组织中分别为(23.1 ± 9.64)、(25.7 ± 9.01)、(29.6 ± 11.82),均高于高/中分化、无腹水和残留灶 < 2 cm 的组织($P < 0.05$)。LRP 表达与肿瘤临床病理参数均无相关性($P > 0.05$,表2)。

2.3 EGFR、LRP 表达与 MVD 计数之间的相互关系
在卵巢癌组织中,根据 EGFR 蛋白表达的不同分级(-、+、++、+++),MVD 计数分别为(12.8 ± 4.50)、(19.4 ± 7.99)、(24.2 ± 7.60)、(29.52 ± 9.03),随 EGFR 蛋白阳性表达强度的增强,MVD 计数有增多趋势。Spearman 相关分析显示,EGFR 蛋白表达与 MVD 计数显著相关($R = 0.548, P < 0.01$)。

76 例卵巢癌中,EGFR 与 LRP 共同阳性表达 44 例,共同阴性表达 10 例。 χ^2 检验分析发现 EGFR 与 LRP 蛋白之间有相关性($P < 0.05$)。

2.4 EGFR 和 LRP 表达与卵巢癌化疗有效率的关系

76 例卵巢癌患者中,EGFR 表达阴性者化疗有效率为 85.00%(17/20),EGFR 表达阳性者化疗有效率为 57.14%(32/56),两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);LRP 表达阴性者化疗有效率为 90.91%(20/22),LRP 表达阳性者化疗有效率为 53.70%(29/54);两组比较有显著统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 EGFR、LRP 蛋白表达和 MVD 计数与卵巢癌患者临床病理特征的关系
Tab. 2 Correlation of EGFR, LRP expression and microvessel density with clinicopathologic characteristics in ovarian carcinoma

Index	EGFR			LRP			MVD ($\bar{x} \pm s$)
	-	+	Positive rate (%)	-	+	Positive rate (%)	
Age							
≤48	5	32	86.49	5	32	86.49	22.6 ± 7.76
>48	15	24	61.53	17	22	56.41	20.3 ± 11.03
Hydroperitoneum							
-	18	31	63.27	16	33	67.35	19.2 ± 9.21
+	2	25	92.57*	6	21	77.78	25.7 ± 9.01*
Lymphnode metastasis							
-	10	34	77.27	14	30	68.18	20.9 ± 8.52
+	10	22	68.75	8	24	58.33	22.4 ± 10.03
Residual tumor							
<2 cm	16	36	69.23	17	35	67.31	19.7 ± 8.09
≥2 cm	4	20	83.33	5	19	79.17	29.6 ± 11.82*
Cytology differentiation							
G ₁ /G ₂	10	12	54.55	9	13	59.09	17.7 ± 8.59
G ₃	10	44	81.48*	13	41	75.93	23.1 ± 9.64*
Clinical stage							
I - II	14	19	57.58	10	23	76.47	20.9 ± 8.10
III-IV	6	37	86.05*	12	31	68.18	22.0 ± 10.71
Histological type							
Serous	13	41	75.93	14	40	74.07	22.7 ± 9.60
Mucinous and other	7	15	68.18	8	14	63.64	18.5 ± 9.18

* $P < 0.05$ vs the other item in the same index

2.5 EGFR、LRP 表达及 MVD 计数与患者生存的关系

随访资料完整的卵巢癌患者 64 例,平均生存时间为 30.92 个月,按寿命表法计算其 3 年总生存率为 53.00%。Kaplan-Meier 法比较生存曲线(图 2),经 Log-Rank 检验表明:EGFR 和 LRP 阳性表达、低分化、有腹水和化疗耐药组术后生存时间低于 EG-

FR 和 LRP 阴性表达、高/中分化、无腹水和化疗敏感组(分别 $P = 0.002$ 、 $P = 0.004$ 、 $P = 0.012$ 、 $P = 0.026$ 和 $P = 0.000$)。Cox 模型多参数分析表明,LRP 阳性表达和化疗疗效与患者术后生存时间独立相关($P = 0.024$ 和 $P = 0.000$)。

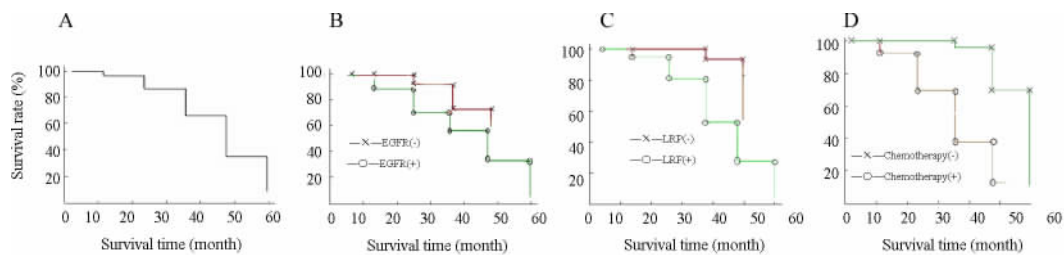


图 2 不同分组卵巢癌患者的生存曲线

Fig. 2 Survival curves of patients with ovarian cancer in different groups

A: Total survival curve; B: Survival curves of patients with different EGFR expression; C: Survival curves of patients with different LRP expression; D: Survival curves of patients with different chemotherapy efficacy groups

3 讨论

研究表明^[8],EGFR 与自发性肿瘤细胞生长、浸润、血管生成潜能和远处转移的发生之间存在着本质上的联系。Tomov 等^[9]采用免疫组化方法研究了 EGFR 在良、恶性卵巢肿瘤中的表达情况,发现恶性卵巢组织 EGFR 的表达率显著高于良性组织 ($P < 0.01$);有腹水和进展期的患者其 EGFR 表达率更高。本研究中发现 EGFR 在上皮性卵巢癌组织中的阳性表达明显高于良性和正常组织,而且与临床分期、细胞分化程度及腹水产生有关,说明 EGFR 的高表达在上皮性卵巢癌的发生、发展过程中起到了一定的作用,表达愈强者预示卵巢癌恶性程度愈高。因此,EGFR 可作为判断卵巢肿瘤恶性程度的一个指标。

卵巢癌血管丰富,其血管生成是患者预后不良的因素之一。癌组织内的新生血管不仅给肿瘤组织输送营养物质和排泄代谢废物,促进卵巢癌细胞的生长、浸润和转移,而且大量不成熟新生血管的产生,伴有其通透性增加而引起腹水产生,能加快卵巢癌的进展。研究表明^[1],卵巢癌组织中 MVD 是提示患者无瘤生存的最佳因子,是评价血管生成的重要指标。陈递林等^[6]研究发现,浆液性卵巢癌组织中 MVD 较良性及交界性肿瘤高;癌组织分化愈差,期别愈晚,MVD 愈高,且 MVD 与患者预后有关。Raspollini 等^[10]发现,浆液性卵巢癌中 MVD 和临床分期与疾病生存率相关,多因素分析显示 MVD 是浆液性卵巢癌独立的预后因子,并且 MVD 可以独立预测疾病复发。本研究发现,上皮性卵巢癌中 MVD 计数明显高于良性和正常组织,而且与患者腹水产生、分化程度和残留灶有关,说明卵巢癌恶性程度越高,血管生成越丰富。研究还发现,随 EGFR 阳性表达强度的增强,MVD 计数有增多趋势,两者显著相关,说明 EGFR 表达与血管生成有关,可能通过促进癌组织内新生血管的形成,加快卵巢癌的进展。

卵巢癌的化疗方案主要是以铂类为基础的联合化疗。临床研究发现,肿瘤细胞对化疗药物(尤其是铂类)产生耐药性是导致卵巢癌综合治疗失败的关键因素。常作用于 DNA 的化疗药物如顺铂、VP-16、多柔比星等可在抑制细胞生长的同时,使细胞的 EGFR 蛋白表达增多,化疗后复发或效果不佳的患者 EGFR 水平也显著高于效果较好的患者,说明 EGFR 的表达水平与肿瘤对化疗药物的敏感性之间存在着某种联系。研究^[11-12]发现,肿瘤细胞过度表达 EGFR 时显示耐药性增加,用 RTK 抑制剂能增

加 EGFR 高表达的卵巢癌细胞株的化疗敏感性,EGFR 单克隆抗体和铂类联合应用治疗卵巢癌也显示了很好的疗效^[13-14]。LRP 是一种主要介导铂类化疗药物的多药耐药相关蛋白,其可能通过细胞核、胞质中物质转运及囊泡胞吐作用降低细胞内有效药物浓度而导致肿瘤耐药。有学者研究发现,卵巢癌组织 LRP 表达阳性者对以铂类为基础的化疗反应率低,预后差,其阳性表达程度的强弱反映不同癌组织的化疗敏感性^[4]。Kofschoten 等^[15]研究发现 LRP 表达是对顺铂耐药性最有价值的预测指标。本研究通过分析上皮性卵巢癌患者临床化疗资料和定期复查的随访资料,发现 EGFR、LRP 表达阴性者对化疗的有效率高于表达阳性者,许多表达阴性患者完成 3 个疗程的化疗后 CA125 即降至正常,而且至复发的间隔时间长,其阳性表达则预示患者生存时间短,有 1 例患者两者表达均为强阳性,术后 3 个月因疾病持续进展死亡。表明 EGFR、LRP 在上皮性卵巢癌组织中的表达与其化疗耐药及预后相关。研究还发现 EGFR 与 LRP 蛋白之间有表达相关性,因此认为 EGFR 的阳性表达与铂类耐药存在一定联系,可能是通过上调铂类耐药相关蛋白的表达来引起肿瘤细胞耐药,因而进一步在 DNA 和 RNA 水平检测肿瘤组织中 EGFR、LRP 的变化,可能会进一步揭示 EGFR 与卵巢癌的化疗耐药之间的关系。

【参考文献】

- [1] 梁元姣,吴元赓,顾关皎,等. 卵巢癌内血管生成与区域淋巴结微转移的关系[J]. 癌症, 2003, 22(2): 185-188.
- [2] Brinkhuis M, Izquierdo MA, Baak JP, et al. Expression of multidrug resistance-associated markers, their relation to quantitative athologic tumor characteristics and prognosis in advanced ovarian cancer[J]. Anal Cell Pathol, 2002, 24(1): 17-23.
- [3] 李文锦,颜士杰,钱和年,等. 卵巢黏液性囊腺瘤 EGFR、neu、PCNA 的表达与临床病理研究[J]. 浙江肿瘤, 1996, 2(2): 67-69.
- [4] Izquierdo MA, van der Zee AG, Vermorken JB, et al. Drug resistance-associated marker Lrp for prediction of response to chemotherapy and prognoses in advanced ovarian carcinoma[J]. Natl Cancer Inst, 1995, 87(16): 1230-1237.
- [5] Arts HJ, Katsaros D, de Vries EG, et al. Drug resistance-associated markers P-glycoprotein, multidrug resistance-associated protein1, multidrug resistance-associated protein2, and lung resistance protein as prognostic factors in ovarian carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 1999, 5(10): 2798-2805.
- [6] 陈递林,彭芝兰,王和,等. 卵巢浆液性肿瘤中的血管生成研究[J]. 医学研究通讯, 2005, 34(8): 16-21.
- [7] 沈铿,郎景和. 复发性卵巢恶性肿瘤的诊治规范[J]. 中华妇产科杂志. 2003, 38(11): 717-720.

- [8] Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358 (11): 1160-1174.
- [9] Tomov S, Popovska S, Veselinova T *et al.* Immunohistochemical analysis of epidermal growth factor receptors expression in malignant ovarian tumors [J]. *Akush Ginekol (Sofia)*, 2005, 44 (2): 42-47.
- [10] Raspollini MR, Amunni G, Villanucci A, *et al.* Prognostic significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in advanced serous carcinoma [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2004, 14(5): 815-823.
- [11] Park SJ, Armstrong S, Kim CH, *et al.* Lack of EGF receptor contributes to drug sensitivity of human germline cells [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(2): 334-341.
- [12] Coley HM, Shotton CF, Ajose-Adeogun A, *et al.* Receptor tyrosine kinase (RTK) inhibition is effective in chemosensitising EGFR-expressing drug resistant human ovarian cancer cell lines when used in combination with cytotoxic agents [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(8): 941-948.
- [13] Secord AA, Blessing JA, Armstrong DK, *et al.* Phase II trial of cetuximab and carboplatin in relapsed platinum-sensitive ovarian cancer and evaluation of epidermal growth factor receptor expression: a Gynecologic Oncology Group study [J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 108 (3): 493-499.
- [14] Posadas EM, Liel MS, Kwitkowski V, *et al.* A phase II and pharmacodynamic study of gefitinib in patients with refractory or recurrent epithelial ovarian cancer [J]. *Cancer*, 2007, 109(7): 1323-1330.
- [15] Kolfschoten GM, Hulscher TM, Pinedo HM, *et al.* Drug resistance features and S- phase fraction as possible determinants for drug response in a panel of human ovarian cancer xenografts [J]. *Br J Cancer*, 2000, 83(7): 921- 927.
- [收稿日期] 2008 - 02 - 22 [修回日期] 2008 - 04 - 20
- [本文编辑] 王莹

· 科技动态 ·

凋亡细胞可通过诱导调节性 B 细胞的产生保护小鼠免受自身免疫炎症反应

细胞凋亡是由基因控制的细胞自主的有序的死亡。凋亡的细胞可被体内的抗原提呈细胞所吞噬。树突状细胞(dendritic cell, DC)作为目前已知的机体内功能最强的抗原提呈细胞,在摄取抗原后开始成熟,在成熟过程的同时发生迁移,进入外周淋巴器官。成熟 DC 表达大量 MHC II 类分子,共刺激分子和黏附分子的表达也显著增加,可有效激发 T 细胞应答。以往的研究表明,凋亡细胞可以抑制 DC 的活化,从而发挥免疫调节作用,除了 DC 以外,B 细胞作为抗原提呈细胞,在免疫应答的早期也可以诱导 T 细胞的增生和活化。然而目前为止,尚无凋亡细胞作用于 B 细胞的相关报道。

作者首先将凋亡细胞静脉注射 BALB/c 小鼠体内,同时将 OVA 特异性的 T 细胞以及特异性 OVA 肽辅以完全福氏佐剂免疫小鼠。7 d 后取小鼠脾脏和淋巴结,分离出 CD4⁺T 细胞。发现经凋亡细胞处理的小鼠 CD4⁺T 细胞分泌高剂量的 IL-10,胞内染色实验证实 IL-10 由 OVA 特异性的 CD4⁺T 细胞分泌。

作者进而研究凋亡细胞诱导 CD4⁺T 细胞分泌 IL-10 的机制。结果发现,凋亡细胞可直接作用于活化的脾脏 B 细胞,促使 B 细胞分泌 IL-10,从而诱导抗原特异性的高分泌 IL-10 的 CD4⁺T 细胞的产生。进一步研究发现,凋亡细胞主要作用于边缘区 B 细胞,从而介导了高剂量的 IL-10 分泌。

在上述实验的基础上,作者采用胶原诱导的关节炎模型研究凋亡细胞是否能够影响 CD4⁺T 细胞依赖的自身反应性疾病。实验证实,凋亡细胞可减轻疾病小鼠的关节炎症状,同时凋亡细胞处理的关节炎小鼠的 CD4⁺T 细胞高分泌 IL-10 以及血清中抗胶原蛋白的自身反应性抗体的滴度降低。在小鼠体内应用 IL-10 的中性抗体证实小鼠关节炎症状的减轻确实由 IL-10 所介导。取凋亡细胞处理后的小鼠 B 细胞,将其被动转移至关节炎小鼠体内,可减轻关节炎小鼠的疾病严重程度,同时血清中自身反应性抗体的滴度降低。

综上所述,该研究通过体内、体外实验和小鼠的关节炎模型证实,凋亡细胞可诱导调节性 B 细胞产生 IL-10,作用于抗原特异性的效应性 T 细胞,从而调控获得性免疫应答反应。

[钱莉摘译,钱程审阅. Gray M, Miles K, Salter D, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104 (35): 14080 -14085]