基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2011.10.010

共刺激分子 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 在人子宫颈癌的表达及意义

耿卫朴，徐 曼，王渝琦，徐光旭，陈 瑜，王婷婷，黄文烁，赵 涌
（重庆医科大学基础医学院病理教研室，重庆医科大学分子与肿瘤研究中心，重庆 400016）

【摘 要】目的：研究共刺激分子程序性死亡配体 1（Programmed death ligand 1，PD-L1）、程序性死亡配体 2（Programmed death ligand 2，PD-L2）和 B7-H4 在人子宫颈癌的表达及其与临床病理特征的关系。方法：采用免疫组织化学 PV-6000 法检测 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 在 10 例正常人宫颈组织、10 例高级别 CIN（CIN Ⅱ～Ⅲ级）和 67 例子宫颈癌中的表达，并分析 3 种共刺激分子的表达与子宫颈患者临床病理特征的相关性。结果：正常人宫颈组织上皮不表达 PD-L1 和 B7-H4，而基底层细胞微弱表达 PD-L2；CIN Ⅱ～Ⅲ的瘤变宫颈上皮微弱表达 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4；子宫颈癌细胞表达 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 的阳性率分别为 70%（47/67）、51%（34/67）和 46%（31/67）。统计学分析显示宫颈癌细胞 PD-L1 的表达与癌细胞浸润深度明显相关（$P<0.01$），与年龄、组织学类型无关；PD-L2 的表达与肿瘤的淋巴结转移（$P<0.05$）有关；B7-H4 的表达与肿瘤的淋巴结转移（$P<0.05$）和局部血管内瘤栓形成（$P<0.05$）相关。结论：人子宫颈癌细胞异常表达 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4，且与肿瘤浸润和转移密切相关。PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 可能成为子宫颈癌免疫治疗的潜在靶点。

【关键词】PD-L1、PD-L2、B7-H4；子宫颈癌；免疫组织化学
【中国图书分类法分类号】R392.3；R392.11；R737.3 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-05-01

An investigation of PD-L1, PD-L2 and B7-H4 expressions in human cervical cancer and their significance

GENG Wei-pu, XU Man, WANG Yu-qi, XU Guang-xu, CHEN Yu, WANG Ting-ting, HUANG Wen-lian, ZHAO Yong
(*Department of Pathology, Molecular Medicine and Tumor Research Center, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the expressions of co-stimulation molecules PD-L1, PD-L2 and B7-H4 in human cervical cancers and their association with clinical and pathologic characteristics of the patients. *Methods*: The expressions of PD-L1, PD-L2 and B7-H4 in 10 cases of normal human cervical tissue, 10 cases of CIN Ⅱ～Ⅲ, and 67 cases of cervical cancer were detected by immunohistochemistry PV-6000 staining, and the relationship of their expressions to clinical and pathologic characteristics was evaluated. *Results*: There was no PD-L1 or B7-H4 expression in normal cervical tissue, but weak expression of PD-L2 in basal cervical epithelium; faint expressions of PD-L1, PD-L2 and B7-H4 were determined in CIN Ⅱ～Ⅲ; 70%(47/67)PD-L1, 51%(34/67)PD-L2 and 46%(31/67)B7-H4 were detected in cervical cancers. PD-L1 expression in cancer cells was related to the cancer invasion depth ($P<0.01$), PD-L2 expression related to the lymph node metastasis ($P<0.05$), and B7-H4 expression related to lymph node metastasis ($P<0.05$) and vascular invasion ($P<0.05$). *Conclusion*: PD-L1, PD-L2 and B7-H4 express aberrantly in cervical cancer and are closely associated with the invasion and metastasis of cervical cancer. PD-L1, PD-L2 and B7-H4 may be the potential immunotherapy targets of cervical cancer.

【Key words】PD-L1, PD-L2, B7-H4; cervical cancer; immunohistochemistry

宫颈癌是我国女性生殖道最常见的恶性肿瘤，近年来发病率逐年升高并出现年轻化趋势，因此宫颈癌的防治意义重大[1]。文献报道宫颈癌局部微环境常出现 T 细胞免疫水平低下，而 T 细胞免疫在识别和杀伤肿瘤细胞、抑制肿瘤的生长和扩散中起重要作用[2]。T 细胞的有效活化是 T 细胞发挥免疫功能的前提，T 细胞活化需要双信号系统：一是 T 细胞受体与抗原肽-MHC 复合物结合而接受抗原刺激信号；二是共刺激分子所提供的协同刺激信号[3]。程序性死亡配体 1（Programmed death ligand 1，PD-L1）、程序性死亡配体 2（Programmed death ligand 2，PD-L2）和 B7 Homolog 4（B7-H4）是近年来发现的 B7 家族共刺激分子，它们在抑制 T 细胞活化增殖和功能、促进 T 细胞凋亡中发挥了重要作用[4,5]。本文采用

作者介绍：耿卫朴（1983-），女，硕士，
研究方向：肿瘤病理与肿瘤免疫。
通信作者：徐 曼，女，教授，Email：manxucqmu08@yahoo.cn。
基金项目：重庆市自然科学基金资助项目（编号：CSTC，2009BB5268）。

免疫组织化学染色法检测了 10 例正常人宫颈组织、10 例高级别 CIN 和 67 例宫颈癌 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 的表达，并通过统计学方法分析其表达与患者年龄、组织学类型、浸润深度及淋巴结转移等临床病理特征的相关性。

1 材料与方法

1.1 临床资料

87 例实验标本均随机取自重庆医科大学病理教研室，经查相关文献样本量足够，其中包括正常子宫颈组织 10 例、高级别 CIN（CIN Ⅱ~Ⅲ级）10 例和子宫颈癌 67 例（其中鳞状细胞癌 60 例，腺癌 7 例）。患者年龄为 32~65 岁，平均 43.12 岁。所有组织均经 10%中性福尔马林固定、石蜡包埋。

1.2 试剂和方法

兔抗人 PD-L1（bs-1103R）、兔抗人 PD-L2（bs-1868R）、兔抗人 B7-H4（bs-0673R）抗体购自北京博奥森生物技术有限公司，PV-6000 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司。4 μm 石蜡切片常规脱蜡至水，3%H_2O_2 孵育 10 min 消除内源性过氧化物酶活性，PBS 洗 3 次。采用枸橼酸钠缓冲液（pH 6.0）进行 PD-L1 和 PD-L2 抗原修复、Tris-EDTA（pH 9.0）进行 B7-H4 抗原修复，自然冷却后 PBS 洗 3 次。分别滴加 PD-L1 抗体、PD-L2 抗体和 B7-H4 抗体（稀释比分别为 1:50；1:150；1:100），4℃过夜。PBS 洗 3 次后，滴加山羊抗兔抗体，37℃孵育 30 min，PBS 洗 3 次后，DAB 显色，苏木精复染，中性树脂封片。以 PBS 替代一抗作为阴性对照。

1.3 结果判断

PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 在胞膜/胞浆棕黄色染色为阳性；胞膜、胞浆无染色为阴性。染色结果判断标准采用 Fromowitz 阳性细胞半定量分级法：阳性细胞数<10%为 0 分，10%~25%为 1 分，26%~50%为 2 分，51%~80%为 3 分，>80%为 4 分；细胞染色强度，阴性为 0 分，淡黄色为 1 分，棕黄色为 2 分，棕褐色为 3 分。根据阳性细胞数与相应染色强度之和判定染色结果：0~1 分为阴性；2~7 分为阳性，其中 2~5 分为+~++，6~7 分为+++。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件的秩和检验和 *Fisher* 精确检验进行统计学分析，对宫颈癌临床病理特征进行 *Logstic* 回归相关性分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

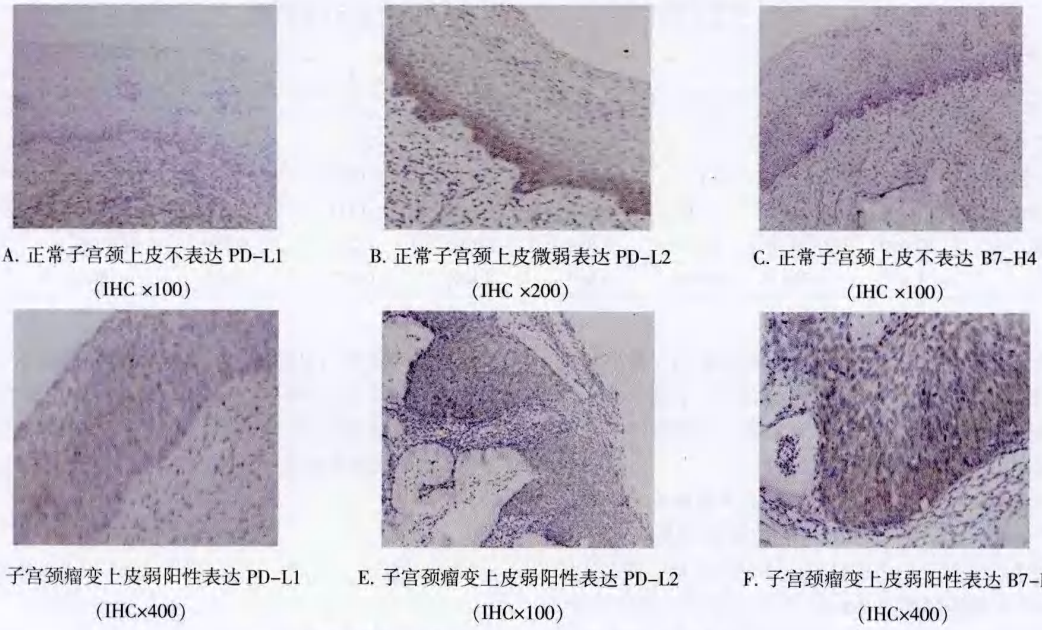
2 结 果

2.1 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 在正常人子宫颈上皮、高级别 CIN 和子宫颈癌的表达

正常人子宫颈组织上皮不表达 PD-L1 和 B7-H4，而 PD-L2（2/10）仅在基底层细胞微弱表达；高级别 CIN 瘤变上皮微弱表达 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4（图 1）；宫颈癌细胞 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 的阳性表达率分别为 70%（47/67）、51%（34/67）和 46%（31/67）（图 2），显著高于 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 在宫颈瘤变上皮细胞的表达（$Z=-2.130$，$P<0.05$）、（$Z=-2.055$，$P<0.05$）、（$Z=-2.202$，$P<0.05$）（表 1）。此外，PD-L1、PD-L2、B7-H4 在宫颈癌局部的间质细胞也有表达。

2.2 子宫颈癌表达 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 与临床病理特征的相关性分析

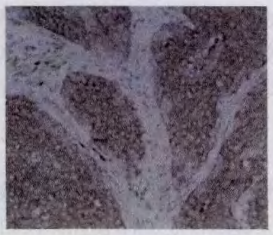
我们观察到同一病例中 PD-L1 在深部浸润的癌细胞表达明显强于浅表浸润的癌细胞；统计学分析结果也显示浸润深度≥10 mm 的子宫颈癌病例癌细胞表达的 PD-L1 明显强于浸润深度<10 mm 的宫颈癌病例（$P=0.002$），但 PD-L1 的表达与患者年龄、宫颈癌的病理组织学类型无关。PD-L2 在子宫颈癌的表达与淋巴结转移（$P=0.011$）有关，2 例发生淋巴结转移的宫颈癌病例，转移灶和原发灶癌细胞均表达 PD-L2；



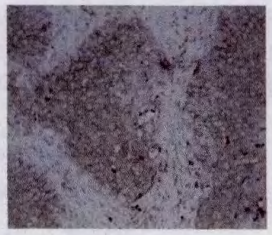
A. 正常子宫颈上皮不表达 PD-L1（IHC ×100）　B. 正常子宫颈上皮微弱表达 PD-L2（IHC ×200）　C. 正常子宫颈上皮不表达 B7-H4（IHC ×100）

D. 子宫颈瘤变上皮弱阳性表达 PD-L1（IHC×400）　E. 子宫颈瘤变上皮弱阳性表达 PD-L2（IHC×100）　F. 子宫颈瘤变上皮弱阳性表达 B7-H4（IHC×400）

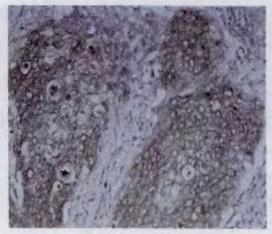
图 1　PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 在不同组织的表达



A. 子宫颈鳞状细胞癌表达 PD-L1（IHC×200）



B. 子宫颈鳞状细胞癌表达 PD-L2（IHC×200）



C. 子宫颈鳞状细胞癌表达 B7-H4（IHC×200）

图 2　PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 在子宫颈鳞状细胞癌组织中的表达

表 1　PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 在不同组织的表达（例）

类别	例数（n）	PD-L1			PD-L2			B7-H4		
		−	+~++	+++	−	+~++	+++	−	+~++	+++
高级别 CIN	10	5	5	0	8	2	0	9	1	0
子宫颈癌	67	20	21	26	33	14	20	36	17	14

表 2　子宫颈癌 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	类别	PD-L1，n（%）			PD-L2，n（%）			B7-H4，n（%）		
		阴性	阳性	P	阴性	阳性	P	阴性	阳性	P
分期	Ⅰ期	15（34）	29（66）	0.402	21（49）	23（51）	1.000	26（59）	18（41）	0.303
	Ⅱ期	5（22）	18（78）		12（52）	11（48）		10（44）	13（56）	
组织学类型	鳞癌	17（28）	43（72）	0.418	27（45）	33（55）	0.054	33（55）	27（45）	0.696
	腺癌/腺鳞癌	3（43）	4（57）		6（86）	1（14）		3（43）	4（57）	
淋巴结转移	无	15（36）	27（64）	0.270	26（62）	16（38）	0.011	28（67）	14（33）	0.011
	有	5（20）	20（80）		7（28）	18（72）		8（32）	17（68）	
局部血管癌栓形成	无	18（30）	41（70）	1.000	31（52）	28（48）	0.259	35（59）	24（41）	0.020
	有	2（25）	6（75）		2（25）	6（75）		1（12）	7（88）	
浸润深度（mm）	<10	18（43）	24（57）	0.002	24（57）	18（43）	0.131	24（57）	18（43）	0.613
	≥10	2（8）	23（92）		9（36）	16（64）		12（48）	13（52）	
年龄	<45	13（32）	27（68）	0.599	18（45）	22（55）	0.460	21（53）	19（47）	1.000
	≥45	7（26）	20（74）		15（56）	12（44）		15（56）	12（44）	

表 3　子宫颈癌 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 *Logstic* 回归分析结果

因素	PD-L1			PD-L2			B7-H4		
	B	Exp（B）	P	B	Exp（B）	P	B	Exp（B）	P
分期	−21.774	0.000	0.294	−3.350	0.035	0.730	1.411	4.101	0.224
组织学类型	−0.678	0.508	0.427	−1.915	0.147	0.041	1.616	5.035	0.542
淋巴结转移	1.315	3.724	0.174	1.683	5.380	0.007	1.198	3.313	0.006
局部血管癌栓形成	−0.296	0.744	0.749	1.100	3.004	0.144	2.175	8.798	0.013
浸润深度（mm）	23.030	1.004E10	0.003	2.668	14.405	0.242	−0.799	0.450	0.826
年龄	1.401	4.059	0.564	0.609	1.838	0.397	−0.854	0.426	0.806

B7-H4 在子宫颈癌的表达与淋巴结转移（P=0.011）和局部血管内癌栓形成（P=0.020）有关（表 2）。虽然同一病例中 PD-L2 和 B7-H4 在深部浸润癌细胞的表达略强于浅表浸润的癌细胞，但无统计学差异（表 2）。

2.3　对宫颈癌临床病理特征进行 *Logstic* 回归相关性分析

为了探讨子宫颈癌 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 的表达与临床病理特征的关系，对之进行 *Logstic* 回归分析。在 6 个临床病理特征中浸润深度与 PD-L1 的表达有较密切的关系，其中淋巴结转移、浸润深度和年龄的 OR 值大于 1；组织学类型和淋巴结转移与 PD-L2 的表达有较密切的关系，除了分期和组织学类型因素外其余的 OR 值均大于 1；淋巴结转移和局部血管癌栓形成与 B7-H4 的表达有较密切的关系，除了局部血管癌栓形成和年龄因素外其余的的 OR 值均大于 1（表 3）。

3　讨　论

本实验发现 PD-L1 在子宫颈癌的表达与癌细胞浸润深

度明显相关($P<0.01$)，深部浸润的癌细胞 PD-L1 的表达强度明显高于浅部浸润的癌细胞，而且 PD-L1 强阳性的癌细胞巢内及其周围浸润的淋巴细胞极少，提示 PD-L1 可能在抑制 T 细胞免疫中发挥重要作用。Wu 等人也发现胃癌细胞 PD-L1 表达与肿瘤浸润深度有关[6]。PD-L2 在子宫颈癌的表达与淋巴结转移($P<0.05$)有关，我们对 4 例发生淋巴结转移的宫颈癌细胞进行 PD-L2 免疫组化分析，发现 2 例宫颈癌原发灶和转移至淋巴结的癌细胞内均表达 PD-L2，1 例原发灶中癌细胞无表达而淋巴结转移的癌细胞表达 PD-L2，该结果提示 PD-L2 可能参与抑制外周 T 细胞免疫活性，促进肿瘤的进展。实验还发现 PD-L1 和 PD-L2 在宫颈癌局部的淋巴细胞和梭形细胞也有表达，结合文献报道 PD-L1 可表达于静息和活化的 T、B 淋巴细胞、巨噬细胞、树突状细胞；PD-L2 也可少量表达于上述细胞[7]。我们推测这些 PD-L1 和 PD-L2 阳性间质细胞部分为淋巴细胞，部分可能为树突状细胞。此外，本研究中发现 PD-L1(70%)和 PD-L2(51%)的阳性表达率明显高于 Rezaul 等报道的宫颈癌 PD-L1(19%)和 PD-L2(29%)阳性表达率，其原因可能与其选择的宫颈癌病例存在种族差异、宫颈癌浅表浸润或组织芯片观察范围局限有关[8]。

文献报道 PD-L1 与 PD-L2 的结构 34%相同，IFN-r 可诱导 PD-L1 表达，而 IL-4 和 IL-13 可诱导 PD-L2 表达[9,10]。PD-L1 和 PD-L2 可与 T 细胞的 PD-1 分子特异结合抑制 T 细胞免疫应答，从而发挥免疫负调节作用[11,12]。人的外周血 T 细胞不表达 PD-1，但活化的 T 细胞高表达 PD-1。PD-L1 的 IgV 样结构域与 PD-1 胞外区结合后，通过 PD-1 分子胞浆区尾部的免疫受体酪氨酸抑制基序下调 CD3/CD28 诱导的 PI3K/Akt 激酶活性，抑制 T 细胞增殖相关基因的转录并促 T 细胞凋亡[13]；同时还招募蛋白酪氨酸磷酸酶-1，使与其结合的信号分子去磷酸化，从而抑制 T 细胞的增殖活化和功能。Monu N 等发现 SHP-1 可与 Zeta 链相关蛋白结合使其去磷酸化而抑制 T 细胞增殖活化、并可使 $P56^{lck}$ 失活而抑制肿瘤内浸润 T 细胞的溶瘤作用[14,15]。还有文献报道当 T 淋巴细胞表面 PD-1 和 TCR 发生配基化后，可抑制 Ca^{2+} 内流并通过PD-1 胞浆区 C 端 ITAM 招募酪氨酸磷酸酶-2，使下游信号分子去磷酸化而失活[16,17]。Carter L 证实当 PD-L2 与 PD-1 结合后，也通过阻断 CD28 介导的 PI3K 途径抑制 T 细胞增殖和分化[15]，但亦有报道 PD-L2 可能通过 PD-1 以外的受体促进 CD4+T 细胞增殖和细胞因子分泌[18-20]，这可能是 PD-L1 和 PD-L2 生物学功能存在差异的原因。

本实验还观察到在淋巴结转移和血管内瘤栓形成的病例，B7-H4 阳性率分别为 68%和 88%，明显高于无淋巴结转移和无血管内瘤栓形成的病例，B7-H4 阳性率分别为 33%和 41%，提示 B7-H4 在子宫颈癌中表达与淋巴结转移($P<0.05$)和血道转移($P<0.05$)有关。

文献报道 B7-H4 不仅抑制 CD4+T 和 CD8+T 淋巴细胞活化增殖、诱导 T 细胞凋亡，还下调其 IL-2、IL-10 和 IFN-r 分泌，并且抑制 CD8+T 细胞的细胞毒功能，从而促进肿瘤的免疫逃逸[21-23]。Sun 等也发现 B7-H4 在非小细胞肺癌中的表达与淋巴结转移有关[24]。文献报道 B7-H4 在宫颈癌、乳腺癌、结肠癌异常表达，且 B7-H4 的表达水平与癌的进展有关[25]。实验中也发现 B7-H4 在宫颈癌局部淋巴细胞和梭形细胞表达，结合文献报道 B7-H4 可表达在淋巴细胞、巨噬细胞、成熟的树突状细胞和活化的 T 淋巴细胞[25]，我们推测这些细胞可能为淋巴细胞和树突状细胞。

总之，人子宫颈癌细胞及局部间质细胞异常表达 PD-L1、PD-L2 和 B7-H4，且与肿瘤浸润和转移密切相关。PD-L1、PD-L2 和 B7-H4 可能成为子宫颈癌免疫治疗的潜在靶点。

参 考 文 献

[1] 乔友林.中国妇女乳头状瘤病毒感染和子宫颈癌的流行病学研究现状及其疫苗预防前景[J].中华流行病学杂志，2007，28:937-940.

[2] Jayshree R S，Sreenivas A，Tessy M，et al.Cell intrinsic & extrinsic factors in cervical carcinogenesis[J].Indian J Med Res，2009，130(3)：286-295.

[3] Folkl A，Bienzle D.Structure and function of programmed death (PD) molecules[J].Veterinary Immunology and Immunopathology，2010，134(1-2)：33-38.

[4] Chen Y，Liu P P，Gao F，et al.A dimeric structure of PD-L1：functional units or evolutionary relics[J]?Protein Cell，2010，1(2)：153-160.

[5] Tseng S Y，Otsuji M，Gorski K，et al.B7-DC，a new dendritic cell molecule with potent properties for T cells[J].J Exp Med，2001，193(7)：839-845.

[6] Wu C，Zhu Y，Jiang J，et al.Immmunohistochemical localization of programmed death ligand-1 in gastric carcinoma and its clinical significance [J].Acta Histochem，2006，108(1)：19-24.

[7] Peggs K S，Quezada S A，Allison J P.Cancer immunotherapy：co-stimulatory agonists and co-inhibitory antagonists[J].Clinical and Experimental Immunology，2009，157(1)：9-19.

[8] Karim R，Jordanova E S，Piersma S J，et al.Tumor-expressed B7-H1 and B7-DC in relation to PD-1+ T-cell infiltration and survival of patients with cervical carcinoma[J].Clin Cancer Res，2009，15(20)：6341-6347.

[9] Freeman G J，wherry E J，Ahmed R，el al.Reinvigorating exhausted HIV-specific T cells via PD-1-PD-1 ligand blockade[J].ExpMed，2006，203(10)：2223-2227.

[10] Latchman Y，Wood C R，Chernova T，el al.PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activiation[J].Nat Immunol，2001，2(3)：261-268.

[11] Blank C，Mackensen A.Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion:an update on implications for chronic infections and tumor evasion[J].Cancer Immunol Immunother，2007，56(5)：739-745.

[12] Butte M J，Keir M E，Phamduy T B，et al.Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses[J].Immunity，2007，27(1)：111-122.

[13] Parry R V，Chemnitz J M，Frauwirth K A，et al.CTLA-4 and PD-1 Receptors Inhibit T-Cell Activation by Distinct Mechanisms[J].Mol Cell Biol，2005，25(21)：9543-9553.

[14] Riley J L.PD-1 signaling in primary T cells[J].Immunol Rev，2009，229(1)：114-125.

基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2011.10.011

硫化氢通过核因子 -kappa B 途径抑制肿瘤坏死因子 alpha 诱导的角质形成细胞的炎症反应

Ammar K H Alshorafa，郭 庆，曾凡钦，陈敏春，谭国珍，唐增奇，尹若菲
（中山大学孙逸仙纪念医院皮肤科，广州 510120）

【摘 要】目的：探讨外源性硫化氢（Hydrogen sulfide，H_2S）对肿瘤坏死因子 alpha（Tumor necrosis factor alpha，TNF-α）诱导的角质形成细胞分泌炎症因子白细胞介素 6（Interleukin 6，IL-6）、白细胞介素 8（Interleukin 8，IL-8）以及一氧化氮（Nitric oxide，NO）的影响，并探讨核转录因子 kappa B（Nuclear factor kappa B，NF-κB）信号通路途径是否参与此过程。方法：应用 TNF-α 诱导 HaCat 细胞分泌炎症因子，以硫氢化钠（Sodium hydrosulfide，NaHS）作为 H_2S 的供体，设置不同浓度的量效组。采用 ELISA 法测定 HaCat 细胞分泌 IL-6 和 IL-8 的水平，RT-PCR 法检测 HaCat 细胞 IL-6 和 IL-8 的 mRNA 水平，Griess 法检测 HaCat 细胞分泌 NO 水平，Western blot 检测 HaCat 细胞胞内诱导型一氧化氮合酶（Inducible nitric oxide synthase，iNOS）、磷酸化 I-kappa B-alpha（Phosphorylation of I-kappa B-alpha，p-IKB-α）和胞核内 NF-κB P65 水平。结果：10 ng/ml 的 TNF-α 能显著诱导 HaCat 细胞内 IL-6 和 IL-8 因子的转录和分泌，培养上清 NO 产量和胞内 iNOS 含量明显增高，胞内 p-IKB-α 和胞核 P65 水平明显提高。在 TNF-α 诱导 HaCat 细胞前 1 h，给与 20~400 μmol/L 的 NaHS 做预处理，结果显示 NaHS 呈剂量依赖性地抑制 HaCat 细胞分泌 IL-6、IL-8 和 NO，并能部分抑制 NF-κB 信号通路的活化。结论：H_2S 通过抑制 NF-κB 信号通路的活化来抑制 TNF-α 诱导角质形成细胞的炎症反应。

【关键词】硫化氢；角质形成细胞；白细胞介-6；白细胞介-8；一氧化氮；诱导型一氧化氮合酶；核转录因子 kappa B
【中国图书分类法分类号】R758.63 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-07-21

Hydrogen sulfide inhibits tumor necrosis factor alpha induced inflammatory response of keratinocytes via nuclear factor-kappa B pathway

Ammar K H Alshorafa, GUO Qing, ZENG Fan-qin, CHEN Min-chun, TAN Guo-zhen, TANG Zeng-qi, YIN Ruo-fei
(*Department of Dermatology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Yat-sen University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of exogenous hydrogen sulfide (H_2S) on the production of interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8), and nitric oxide (NO) in keratinocytes induced by tumor necrosis factor alpha (TNF-α), and to explore whether nuclear factor kappa B (NF-κB) signaling pathway is involved in this process. *Methods*: HaCat cells were induced by TNF-α to secrete inflammatory factors, and the H_2S donor, sodium hydro-

作者介绍：Ammar K H Alshorafa（1980-），男，博士，
研究方向：皮肤病与性病学，银屑病。
通信作者：曾凡钦，男，教授，Email：537039401@qq.com。

[15] Monu N, Frey A B. Suppression of proximal T cell receptor signaling and lytic function in CD8+ tumor-infiltrating T cells [J]. Cancer Res, 2007, 67(23): 11447-11454.

[16] Carter L, Fouser L A, Jussif J, el al. PD-1: PD-L inhibitory pathway affects both CD4 (+) and CD8 (+) T cells and is overcome by IL-2 [J]. Eur Immunol, 2002, 32(3): 634-643.

[17] Golden-Masonl, Palmer B, Klarquist J, et al. Upregulation of PD-1 expression on circulating and intrahepatic hepatitis C virus-specific CD8+T cells associated with reversible immune dysfunction [J]. J Virology, 2007, 81(17): 9249-9258.

[18] Shin T, Kennedy G, Gorski K, et al. Cooperative B7-1/2 (CD80/CD86 and B7-DC costimulation of CD4+T cells independent of the PD-1 receptor [J]. J Exp Med, 2003, 198(1): 31-38.

[19] Dong H, Zhu G, Tamada K, et al. B7-H1 determines accumulation and deletion of intrahepatic CD8(+) T lymphocytes [J]. Immunity, 2004, 20(3): 327-336.

[20] Liu X, Gao J X, Wen J, et al. B7DC/PDL2 promotes tumor immunity by a PD-1-independent mechanism [J]. Exp Med, 2003, 197(12): 1721-1730.

[21] Yamaura K, Watanabe T, Boenisch O, et al. In vivo function of immune inhibitory molecule B7-H4 in alloimmune responses [J]. Am J Transplant, 2010, 10(10): 2355-2362.

[22] Inman B A, Frigola X, Dong H, et al. Costimulation, coinhibition and cancer [J]. Current Cancer Drug Targets, 2007, 7(1): 15-30.

[23] Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T cell immunity [J]. Nature Rev Immunol, 2004, 4(5): 336-347.

[24] Sun Y, Wang Y, Zhao J, et al. B7-H3 and B7-H4 expression in non-small-cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2006, 53(2): 143-151.

[25] Qian Y, Shen L, Cheng L, et al. B7-H4 expression in various tumors determined using a novel developed monoclonal antibody [J]. Clin Exp Med, 2011, 11(3): 163-170.

（责任编辑：关蕴良）