DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.01.047
第24卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 1
108 2002年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2002

消除角化细胞永生态，部分或完全抑制细胞转化[8]。而且E7的T细胞表位于第47～57的氨基酸位点[7]。所以中国地方株E7变异后，其功能如何和致癌性及抗原性的大小还值得研究。

Song[9]报道E6、E7基因能联合致癌，但只导入E6基因，可诱发小鼠皮肤恶性肿瘤，而仅导入E7基因却发生皮肤良性肿瘤。似乎在HPV16致癌中E6基因发挥更大的作用。我们的实验结果未发现E6基因序列变异，也未见到国内有关E6基因变异的报道。说明中国地方株E7变异多态性大于E6。可见，相对稳定的结构是维持其功能的保障。

由于Taq酶介导的DNA PCR合成中，碱基错配率为0.25%，在全长294bp的序列中发生两处差异，用实验误差难以解释，而其变异与中国湖北株完全相同，美国、菲律宾、印度、乌干达E7克隆株亦有一级结构及编码蛋白变异的报道[2]，也说明HPV E7基因存在多态性差异。

参考文献：

[1] Gariglio P, Benitez-bribriesca L, Berunen J, *et al*. Therapeutic Uterine-Cervix Cancer Vaccines in Humans[J]. Arch Med Res, 1998, 29: 279—284.

[2] Feltkamp M C, Smits H L, Vierboom M P, *et al*. Vaccination with cytotoxic T lymphocyte epitope-containing peptide protects against a tumor induced by human papillomavirus type 16-transformed cells[J]. Eur J Immunol, 1993, 23(9): 2 242—2 249.

[3] Barbosa M S, Vass W C, Lowy D R, *et al*. In vitro biological activities of the E6 and E7 genes vary among human papillomaviruses of different oncogenic potential[J]. J Virol 1991, 65(1): 292—298.

[4] Tornesello M L, Buonaguro F M, Meglio A, *et al*. Sequence variations and viral genomic state of human papillomavirus type 16 in penile carcinomas from Ugandan patients[J]. J Gen Virol 1997, 78 (Pt 9): 2 199—2 208.

[5] Veress G, Szarka K, Dong X P, *et al*. Functional significance of sequence variation in the E2 gene and the long control region of human papillomavirus type 16[J]. J Gen Virol 1999, 80 (Pt 4): 1 035—1 043.

[6] Icenogle J P, Sathya P, Miller D L, *et al*. Nuxleotide and Amino Acid Sequence Variation in the L1 andE7 Open Reading Frames of Human Papillomavivus Type 16[J]. Virology, 1991, 184(): 101—107.

[7] Iochmuller H, Johns T, Shoubridge E A. Expression of the E6 and E7 genes of human papillomavirus (HPV16) extends the life span of human myoblasts[J]. Exp Cell Res, 1999, 248(1): 186—193.

[8] 伍欣星，赵文先，丁晓华，等. 中国地方株人乳头瘤病毒16型基因一级结构及其变异[J]. 中华微生物和免疫学杂志，1996，16(6)：395—398.

[9] Song S, Pitot H C, Lambert P F. The human papillomavirus type 16 E6 gene alone is sufficient to induce carcinomas in transgenic animals[J]. J Virol, 1999, 73(7): 5 887—5 893.

（编辑 薛国文）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)01-0108-02

子宫内膜异位症患者外周血及腹腔液中NK细胞活性及细胞因子的测定分析

NK cell activity and cytokine levels in periphoral blood and peritoneal fluid of patients with endometriosis

周龙书[1]，焦亚萍[2]，黄立萍[1]，唐伟琼[1]（[1]广州军区总医院妇产科；[2]广州市妇婴医院妇产科；广州 510010）

许多研究表明，子宫内膜异位症与患者全身及腹腔内一系列细胞因子的改变有关，影响其发生和发展[1]。本研究通过测定34例内异症外周血及腹腔液内NK细胞活性及IL-6、IL-8、TNF-α水平，旨在了解它们的改变，并探讨其与内异症的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究共收集1999年6月至2000年6月在广州军区总医院、广州市妇婴医院行剖腹探查术后病理确诊为子宫内膜异位症的患者32例，年龄27～48岁。按美国生育协会修正标准分期：轻度组(Ⅰ、Ⅱ期13例)，重度组(Ⅲ、Ⅳ期19例)。同时选择正常育龄妇女19例为对照组，年龄28～42岁，无结核、肝炎、肿瘤及其他自身免疫性疾病。

1.2 标本收集

手术前、术中分别收集患者外周血5 ml、腹腔液10 ml，水平离心2 000 r/min，20 min，收集淋巴细胞，用Hanks液洗涤3次，调至细胞含量为5×10^6/L备用。另一只水平离心2 000 r/min，20 min，取上清液，分3管置于－30 ℃冰箱内待测。

1.3 测定方法

1.3.1 NK细胞活性测定 分别将已制备的淋巴细胞(含NK细胞)与经^{3}H-胸腺嘧啶标记的K_{562}细胞混合作为实验孔，另设自然释放孔(无淋巴细胞孔)。加入小牛血清0.1 ml，置5% CO_2孵箱内，37 ℃，48 h后分别收集各孔内细胞，冲洗后经液闪计数器测定未被杀灭的K_{562}细胞内^{3}H-胸腺嘧啶的每分钟脉冲数(cpm)。观察结果按下列公式计算。

$$\text{NK细胞活性}\% = \left[1 - \frac{\text{实验孔(cpm)}}{\text{自然释放孔(cpm)}}\right] \times 100\%$$

1.3.2 IL-6、IL-8及TNF-α测定 采用酶联免疫吸附法，试剂盒购自第四军医大学免疫学教研室，操作方法按药盒说明进行。

1.4 统计学方法

结果以$\bar{x}\pm s$表示，经t检验及方差分析法处理。

（下转111页）

作者简介：周龙书(1959－)，男，江苏省泰兴市人，硕士，主治医师，主要从事妇科疾病、肿瘤方面的研究，发表论文10篇。电话：36222917

收稿日期：2000-01-15；修回日期：2001-09-22

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

VEGFR 通路达到以抑制肿瘤生长的目的, 如转染缺陷基因或转染编码抗体的基因片段; 或利用杂交瘤技术产生抗体, 直接注入体内。这或许是儿童髓母细胞瘤治疗的一个努力方向。

参考文献:

[1] 陈礼刚, 朴永旭, 张伶俐, 等. 儿童髓母细胞瘤的生物学特性[J]. 第四军医大学学报, 2000, 21(9): 1 146.

[2] Landgren b, Schiller P, Cao Y, *et al*. Placenta growth factor stimulate s MAP kinase and mitogenicity but not phospholipase C-gamma and migratoon of endothelial cells expressing Flt 1[J]. Oncogene, 1998, 16(3): 359－367.

[3] Chan A S, Leung S Y, Wong M P, *et al*. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in the anaplastic progression of astrocytoma, oligodendroglioma, and ependymoma[J]. Am J Surg Pathol, 1998, 22(7): 816－826.

[4] Ferrara N, Henzel W J. Pituitary follicular cells secrete a novel hepar inbinding growth factor specific for vascular endothlia cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1989, 161(2): 851－858.

[5] 宋述梅, 曾　莉, 吴　健. VEGF 受体 KDR 胞外Ⅴ-Ⅶ区的克隆、单抗制备及 KDR 在不同来源肿瘤组织中的表达[J]. 中华肿瘤杂志, 1999, 21(2): 96－98.

[6] David K M, Casey A T, Hayward R D, *et al*. Medulloblastoma: the 5-year survival rate improving[J]. J Neurosurg, 1997, 86(1): 13－21.

[7] Carroll R S, Zhang J, Bello L, *et al*. KDR activation in astrocytic neoplasms[J]. Cancer, 1999, 86(7): 1 335－1 341.

[8] 陈礼刚, 曾凡俊, 卢　敏, 等. 儿童髓母细胞瘤及其显微外科治疗[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(4): 388－390.

[9] Millauer B, Shawver L K, Plate K H, *et al*. Glioblastoma growth inhibited in vivo by a dominant-negative Flk-1 mutant[J]. Nature, 1994, 367(6 463): 576－579.

（编辑　陈聪连）

（上接 108 页）

2　结果

内异症轻度组和重度组 NK 细胞活性均显著低于对照组（$P<0.01$），重度组显著低于轻度组（$P<0.01$），腹腔液组显著低于外周血组（$P<0.01$），见表 1。

内异症轻度组和重度组 IL-6、IL-8 及 TNF-α 水平均显著高于对照组（$P<0.01$），重度组显著高于轻度组（$P<0.01$），腹腔液组显著高于外周血组（$P<0.01$），见表 1。

表 1　3 组患者外周血及腹腔液中 IL-6、IL-8 及 TNF-α 水平及 NK 细胞活性比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	外周血				腹腔液			
		IL-6 ($\times10^{-3}$ng/L)	IL-8 ($\times10^{-3}$ng/L)	TNFα ($\times10^{-3}$ng/L)	NK 细胞活性(%, $\bar{x}\pm s$)	IL-6 ($\times10^{-3}$ng/L)	IL-8 ($\times10^{-3}$ng/L)	TNFα ($\times10^{-3}$ng/L)	NK 细胞活性(%, $\bar{x}\pm s$)
对照组	19	31±11	57±13	164±42	38.9±3.1	63±28	78±20	243±50	24.6±2.8
轻度组	13	54±22	79±18	212±57	20.7±2.6	89±37	104±22	299±66	12.5±1.8
重度组	19	85±35	108±26	290±63	6.9±1.1	124±39	136±32	381±81	3.7±0.6

3　讨论

3.1　NK 细胞活性与宫内膜异位症发生的关系

研究表明, 宫内膜异位症发病与维持自身稳定的免疫监视及防御功能缺陷有关[2], 而 NK 细胞的主要功能为免疫监视及防御。本研究结果显示, 内异症患者外用血及腹腔液中 NK 细胞活性均显著降低, 且疾病分期越晚, NK 细胞活性越低。此与 Oosterlynck 等[3] 的研究一致。由于 NK 细胞活性降低, 致使异位在腹腔内的有活性的子宫内膜细胞不能被彻底清除而发病。

3.2　患者外周血及腹腔液内 IL-6、IL-8、TNF-α 的水平

IL-6、IL-8、TNF-α 等主要是由单核巨噬细胞合成和分泌的一类介导炎症和免疫反应的多肽类蛋白。由于腹腔中存在血液细胞碎片、子宫内膜碎片、精子、卵泡液和卵泡细胞, 使腹腔巨噬细胞增多, 成为腹腔液白细胞中的优势细胞。本研究发现, 宫内膜异位症患者外周血及腹腔液巨噬细胞产生的 IL-6、IL-8、TNF-α 水平明显增高, 且随宫内膜异位症临床期别的增加而升高, 与文献[4] 报道一致。它们作为炎症介质, 使局部发生炎症反应, 如白细胞积聚、血管通透性增加、纤维蛋白沉积、促进成纤维细胞增殖等一系列非细菌性炎症反应, 介导内异症的发生和发展。研究表明, 新生血管的形成参与了宫内膜异位症的发生。而 IL-6、IL-8、TNF-α 都是新生血管生成的潜在诱导剂, 通过促进异位病灶周围新生血管的形成, 使异位子宫内膜得以生长、增生、分化。

3.3　患者腹腔内免疫环境改变的意义

目前研究认为, 腹腔环境的改变对宫内膜异位症的发生起着至关重要的作用[5]。有研究证实, 患者腹腔液中存在大量免疫活性细胞, 其中巨噬细胞占 90%以上, 且产生的细胞因子含量也高于非宫内膜异位症患者。本研究结果显示, 患者腹腔液 IL-6、IL-8、TNF-α 水平明显高于外周血。提示腹腔内免疫环境的改变比外周血具有更重要的临床意义。

关键词: 子宫内膜异位症; 自然杀伤细胞; IL-6; IL-8; TNF-α
中图法分类号: R711.710.2　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Brawn D P, Rotman C, Munana A, *et al*. Monocyte-mediatedenhancement of endometrial cell proliferation in women with endometriosis[J]. Fertil Steril, 1994, 61: 78－84.

[2] Dmoski W P, Gebel H M, Brawn D P. The role of cell-mediated immnnity in pathogenesis of endometriosis[J]. Acta Obstet Gynecal Scand, 1994, 159: 7－10.

[3] Oosterlynck D J, Vandiputte M, Meuleman G, *et al*. The naturnal Killer activity of peritoneal fluid lymphocytes is decreased in women with endometriosis[J]. Fertil Steril, 1992, 58: 290－294.

[4] Brawn D P, Rana N, Gebel H, *et al*. Spontaneous and induced synthesis of cytokines by peripheral blood monocytes in Patients with endmetriosis[J]. Fertil Steril, 1996, 65: 1 125－1 129.

[5] Mclaren J, Dealtry G, Prentice A, *et al*. Decreased levels of the potent regulator of monocyte/macrophage activation, interleukin-13, in the peritoneal fluid of patients with endometriosis[J]. Hum Reprod, 1997, 12: 1 307－1 310.

（编辑　汪勤俭）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net