DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.09.022
第 21卷第 9期 第 三 军 医 大 学 学 报 Vol. 21, No. 9
1999年 9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 1999

人白细胞 DR抗原和第Ⅷ因子相关抗原在骨肉瘤血管内皮细胞中的表达

牟江洪* 王 东 陈 俐 李增鹏 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所病理科) 重庆, 400042

提 要 目的: 检测骨肉瘤血管内皮细胞中人白细胞 DR抗原 (HLA-DR)和第Ⅷ因子相关抗原 (FⅧRAg)的表达,及其对骨肉瘤生物学行为的影响。方法: 应用 HLA-DR和 FⅧRAg单克隆抗体对 80例骨肉瘤进行免疫组织化学染色。结果: 骨肉瘤血管内皮细胞几乎不表达 HLA-DR,而 FⅧRAg呈高表达。结论: 骨肉瘤血管内皮细胞主要表现为凝血功能而几乎丧失免疫功能,其与骨肉瘤的转移和预后有密切关系。

关键词 骨肉瘤;内皮细胞; HLA-DR; FⅧRAg
中图法分类号 R738.1

血管内皮细胞由于所处脏器或部位、组织环境和病理生理机能的不同而具有多种功能[1]。根据内皮细胞对 HLA-DR和 FⅧRAg的不同表达将其分为主要参与免疫功能和凝血功能两大类[2]。研究表明胃肠道癌、肺癌及 B细胞淋巴瘤间质血管内皮细胞血液凝固功能增强,而不具有免疫功能,此与恶性肿瘤的转移和扩散有密切关系[3,4]。我们以往的研究表明,血管内皮细胞 FⅧRAg阳性表达率 (分界值为 31.1%)可能成为判断骨肉瘤预后有价值的生物学指标[5],而有关骨肉瘤间质血管内皮细胞的表型特征,及其与骨肉瘤转移和预后的关系,目前尚未见报道。骨肉瘤恶性程度高,血行转移是其主要致死原因,其机制的研究具有较高的价值。

本研究应用免疫组化方法检测 80例骨肉瘤 HLA-DR和 FⅧRAg的表达,旨在进一步探讨骨肉瘤血管内皮细胞的表型特征及其与骨肉瘤转移和预后的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取我院 1968~1993年间长骨髓内型骨肉瘤 80例,其中手术切除 75例,活检标本 5例。男性 52例,女性 28例,男女比例为 1.8∶1 年龄 11~68岁,平均 23岁,10~19岁 52例,占 62.5%。肿瘤直径 5~25 cm,平均 10 cm 肿瘤侵犯软组织者 74例 (92.5%)。全部病例均随访,随访时间 5~25年,总体 2年存活率 33.8%, 5年存活率 18.3%。

1.2 免疫组织化学染色

全部标本经 10%福尔马林液固定,梯度酒精脱水,石蜡包埋, 4μm切片,作常规 HE及免疫组化染色。免疫组化染色采用 S-P法。HLA-DR和 FⅧRAg单克隆抗体为 Dako公司产品,染色方法按试剂盒说明进行。DAB显色,苏木精复染。以 PBS代替一抗作阴性对照,以正常淋巴结组织染色作阳性对照。

1.3 结果判定

血管内皮细胞不着色为阴性,染有黄褐色颗粒为阳性,其中部分内皮细胞着色为弱阳性 (+),全部内皮细胞着色为阳性 (++),内皮细胞及基膜均着色为强阳性 (+++)。

2 结果

HLA-DR和 FⅧRAg在骨肉瘤血管内皮细胞中的表达,见表 1。80例骨肉瘤中仅有 3例血管内皮细胞 HLA-DR为弱阳性表达,阳性产物定位于内皮细胞胞浆,见图 1。肿瘤周围正常组织血管内皮细胞 HLA-DR亦为阴性,正常对照淋巴结中血管内皮细胞 HLA-DR呈阳性表达。FⅧRAg染色,80例骨肉瘤血管内皮细胞均为阳性表达,见图 2正常淋巴结中血管内皮细胞为弱阳性表达。此外,骨肉瘤中各型肿瘤细胞 HLA-DR染色均为阴性。

随机选取 10个高倍视野分别计数血管总数和 HLA-DR及 FⅧRAg染色阳性血管数,计算单位视野平均阳性血管率, 3例 HLA-DR阳性病例中 1例阳性率大于 25%,而 80例 FⅧRAg阳性病例中 63例阳性率大于 25%,见表 2。

表 1 HLA-DR和 FⅧRAg在骨肉瘤血管内皮细胞中的表达

Tab 1 The expression of HLA-DR and FⅧRAg in osteosarcomas (n= 80)

	-	+	++	+++
HLA-DR	77	3	0	0
FⅧRAg	0	5	48	27

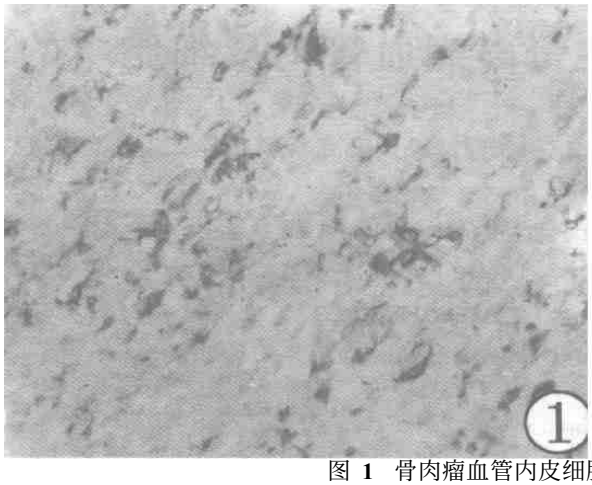
表 2 HLA-DR和 FⅧRAg染色血管阳性率

Tab 2 The positive rate of HLA-DR and FⅧRAg staining in osteosarcomas (n= 80)

	0	< 25%	25%~50%	50%~75%	> 75%
HLA-DR	77	2	1	0	0
FⅧRAg	0	17	47	11	5

* 牟江洪,男, 25岁,住院医师,学士

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



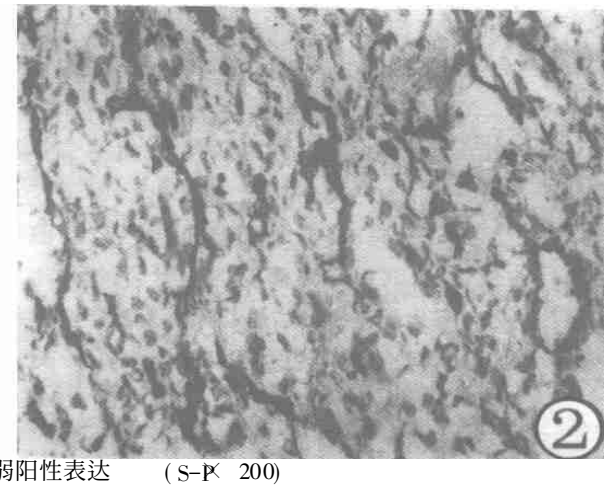


图 1 骨肉瘤血管内皮细胞 HLA-DR弱阳性表达 (S-P× 200)

Fig 1 Weak positive expression of HLA-DR in endothelial cells of blood vessels in osteosarcoma (S-P× 200)

图 2 骨肉瘤血管内皮细胞 FⅧRAg阳性表达 (S-P× 200)

Fig 2 Positive expression of FⅧRAg in endothelial cells of blood vessels in osteosarcoma (S-P× 200)

3 讨论

血管内皮细胞具有异质性,不同器官或部位的血管内皮细胞,在不同的病理生理状态下具有不同的功能,而其参与免疫和/或凝血功能的作用引起人们的广泛注意[2]。HLA-DR为人白细胞Ⅱ类抗原,其与免疫应答有关。T细胞对抗原刺激的应答必须先通过受体来识别抗原递呈细胞上的Ⅱ类抗原,Ⅱ类抗原的存在是 T细胞活化的必须信号。表达 HLA-DR的血管内皮细胞具有抗原识别递呈功能并激活 T辅助细胞[6],同时激发 T细胞依赖的免疫反应[7]。正常肺、胃肠道和淋巴结等器官或部位的血管内皮细胞中 HLA-DR和 FⅧRAg分别呈阳性和弱阳性表达,由此认为这些血管内皮细胞既参与免疫功能又参与凝血功能,在正常状态下以免疫功能为主;而胃肠道癌、肺癌和 B细胞淋巴瘤间质血管内皮细胞则只强表达 FⅧRAg,不表达或很少表达 HLA-DR,提示其凝血功能亢进、免疫功能抑制与恶性肿瘤的转移和浸润有密切关系[3,4]。

本研究对 80例骨肉瘤所做的免疫组化染色结果显示骨肉瘤血管内皮细胞 FⅧRAg均为阳性表达,HLA-DR则不表达或很少表达,提示其凝血功能增强而丧失免疫功能。血管内皮细胞的凝血功能增强使进入血中的癌细胞在血液高凝状态下易在靶器官形成癌栓;血管内皮细胞丧失免疫功能使癌细胞不被免疫系统识别、杀灭,并有机会与内皮细胞发生粘附,促进肿瘤的血行转移。骨肉瘤恶性程度高,血行转移是其主要致死原因之一。80例骨肉瘤随访结果显示 5年存活率为 18.3%,2年存活率为 33.8%,预后恶劣;而 3例 HLA-DR弱阳性表达中,存活时间分别为 6年 11个月、6年 2个月和 4年 3个月,预后相对较好,提示骨肉瘤中 HLA-DR即使是弱表达预后也较好。以 FⅧRAg阳性表达率分界值 31.1%[5]将 80例骨肉瘤分为 FⅧRAg高表达组和低表达组,统计学表明低表达组预后明显好于高表达组 ($P < 0.001$)。研究结果提示骨肉瘤血管内皮细胞凝血功能增强、免疫功能丧失的表型特征可能是骨肉瘤高转移、预后差的重要因素之一。此外,骨肉瘤周围正常组织血管内皮细胞不表达或很少表达 HLA-DR也与本研究中 80例骨肉瘤中侵犯软组织者高达 74例(92.5%)有关。

参考文献

1 Kinjo T, Takashi M, Miyake K, *et al*. Phenotypic heterogeneity of vascular endothelial cells in the human kidney. Cell Tissue Res, 1989, 256(1): 27

2 Christopher P, Marlene R, Magdi Y, *et al*. Antigenic heterogeneity of vascular endothelium. Am J Pathol, 1992, 141(4): 673

3 许凤连,李玉林,张丽红,等.胃肠道癌间质血管内皮细胞异质性的研究.中华医学杂志, 1994, 74(7): 431

4 Saito Y, Morise K, Nagura H. Immunohistochemical characterization of microvascular endothelial cells in primary B cell lymphoma of the gastrointestinal tract. Am J Gastroentero, 1991, 86(1): 297

5 王 东,陈 俐,高奉浔.骨肉瘤 P53蛋白过度表达与微血管密度的关系.第三军医大学学报, 1997, 19(6): 496

6 Rosenthal A S, Shevach E M. Function of macrophages in antigen recognization by guinea pig lymphocytes Ⅰ. Requirement for histocompatible macrophages and lymphocytes. J

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

Exp Med, 1973, 138(6): 1194
7 Weinberger O, Herrman S H, Mescher M F, *et al*. Cellular interactions in the generation of cytotoxic T lymphocyte response: role of Ia positive splenic adherent cells in presentation of H-2 antigen. Proc Natl Acad Sci USA, 1980, 77(12): 6091

(收稿: 1998-09-20;修回: 1999-04-01)
(编辑 张大春)

Expression of class Ⅱ major histocompatibility antigen and factor Ⅷ related antigen in vascular endothelial cells in osteosarcoma

Mou Jianghong, Wang Dong, Chen Li, Li Zengpeng (Department of Clinical Pathology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

Abstract **Objective**: To study the expression of class Ⅱ major histocompatibility antigen (HLA-DR) and factor Ⅷ related antigen (FⅧRAg) and the biological behavior of vascular endothelial cells of osteosarcoma. **Methods**: Immunohistochemical method was used in 80 cases of osteosarcoma to observe the expression of HLA-DR and FⅧRAg with their monoclonal antibodies. **Results**: FⅧRAg was strongly expressed in the vascular endothelial cells of osteosarcoma but HLA-DR was absent or only faintly expressed. **Conclusion**: The vascular endothelial cells of osteosarcoma participate in blood coagulation but not in immunoregulation, which is closely related with the metastasis and prognosis of osteosarcoma

Key words osteosarcoma; endothelial cells; class Ⅱ major histocompatibility antigen; factor Ⅷ related antigen

维生素 E乳剂静脉滴注治疗暴发型流行性脑脊髓膜炎伴 ARDS 1例报告

Treatment of a case of fulminant epidmic cerebrospinal meningitis complicated with ARDS by intravenous dripping of Vitamin E

向德栋* 李奇芬 张永明 顾长海 (第三军医大学附属西南医院全军传染病专科中心) 重庆, 400038

1 临床资料

患者,男, 31岁。因发热 1周,头痛呕吐 2 d,意识障碍 12 h于 1993年 1月 4日凌晨 0时 30分急诊入院。

1992年 12月 28日,病人无诱因出现发热(具体温度不详),伴右侧胸痛,给予对症处理,效果不佳。 1993年 1月 1日,因发热不退,胸痛加重入当地医院治疗(用药不详)。 1月 2日,患者出现头痛、呕吐、呕吐物为胃内容物,非喷射状。随后头痛加重,烦躁不安。1月 30日中午肌注吗啡 1支后安静,随后呼之不应,急诊转入我院。既往史,4岁开始患有喘息性支气管炎,时好时坏,经常使用激素。余无特殊。

入院体检: T 39℃, P 120次 /min, R 22次 /min, Bp 13/9 kPa。急性热面容,昏迷状态。面部及前胸皮肤潮红,无皮疹及瘀斑、瘀点,浅表淋巴结不肿大。双侧瞳孔等大等圆,直径 0.3 cm,对光反射迟钝。唇红,左侧有黄豆大小疱疹一个,牙关紧闭,咽、扁桃体未查。颈抵抗,气管居中,桶状胸,叩诊过度清音,双肺呼吸音粗糙,可闻及大量痰鸣音。心率 120次 /min,各瓣膜区未闻及杂音。腹平软,肝脾未及。四肢无畸形,肌张力增强,双膝反射减弱,巴彬斯基氏征阳性,布氏征阴性,克氏征阴性,踝阵挛阴性。

入院时血 WBC 9.9× 10^9/L, N 0.90, L 0.10, 尿蛋白++, 脑脊液压力 400 mm H_2O,外观清亮,细胞总数 1.450× 10^9/L, WBC 0.70× 10^9/L,多核 0.82,单核 0.18,糖 3.23 mmol/L,蛋白 0.98 g/L,氯 107 mmol/L,涂片未找到细菌。

入院后诊断为暴发性流行性脑脊髓膜炎脑膜脑炎型,给予大剂量青霉素,先锋铋、肾上腺皮质激素及 20%甘露酸加压静滴,病情无改善,体温仍 39℃以上,昏迷无好转。1月 7日,加用菌必治及氯霉素,体温有下降趋势,血 WBC及中性升高。但患者昏迷程度加深,呼吸增快,深大,两肺痰鸣音及大小水泡音。1月 9日,加用氨茶碱治疗,1月 10日上午,病人呈深昏迷状态,深浅反射消失,对光反射迟纯。呼吸 32~34次 /min,口唇发绀,血气分析示 pH 7.34, PaO_2 7.5 kPa, $PaCO_2$ 5.8 kPa,确诊为 ARDS。除持续给氧同时加用维生素 E乳剂 1 g静滴,每日 2次。当日下午 4时开始病人呼吸变慢至 24~26次 /min, 1月 11日体温降至 38℃,呼吸平稳,对光反射较前灵敏。1月 14日病人有痛苦表情,维生素 E乳剂用至第 16天为止。后经支持、抗感染等治疗,病人恢复正常出院。

(下转 678页)

* 向德栋,男, 34岁,主治医师,硕士

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