

[文章编号] 1000-2200(2004)03-0241-03

肺癌患者红细胞 CD35、CD44s、CD58 测定及其意义

王恩举¹, 潘立民¹, 张伊莉¹, 李莹¹, 穆新林², 陈余清²

[摘要] 目的: 探讨肺癌患者红细胞 CD35、CD44s、CD58 在不同病理类型、不同分期及化疗前后分子的数量变化。方法: 参照王海濱方法, 将经过处理的定量红细胞悬液, 移入 V 型板中, 依次加入 CD35、CD44s、CD58 单克隆抗体。进行细胞酶免疫分析。取上清液, 在酶标仪 405 nm 读取其吸光度 A 值; 减去对照孔 A 值为标本的测定值。结果: 不同病理类型的肺癌红细胞 CD35、CD44s 和 CD58 除差分化癌外, 均较正常组降低 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。但各病理类型之间红细胞 CD35、CD44s、CD58 比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。III、IV 期肺癌组红细胞 CD35 和 CD44s 较 I、II 期肺癌组降低 ($P < 0.05$)。化疗组肺癌红细胞 CD35 较非化疗组降低 ($P < 0.05$), CD44s 和 CD58 两组比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。结论: 肺癌患者红细胞 CD35、CD44s、CD58 较正常人降低, 且随着病情的进展红细胞免疫功能进一步下降, 表明红细胞 CD35、CD44s、CD58 分子数量的变化与肿瘤的转移和恶化程度有关。这种关系的紊乱可能对肺癌的发生、发展、预后产生重要的影响。

[关键词] 肺肿瘤; 红细胞膜免疫分子; CD35; CD44s; CD58

[中国图书资料分类号] R 734.2 [文献标识码] A

Significance of quantitative assay of CD35、CD44s and CD58 expressed on erythrocytes in patients with lung cancer

WANG En-ju, PAN Li-Min, ZHANG Yi-Li, LI Ying, MU Xin-Lin, CHEN Yu-Qing

(Department of Internal Medicine, Bengbu Railway Central Hospital, Anhui 233040, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship between quantitative molecule expression of CD35, CD44s and CD58 on erythrocytes and types of pathology, stages and before and after chemical treatment in lung cancer.

Methods: Glutaraldehyde-fixed red blood cells were analyzed in "V" microtitre plates, mouse monoclonal anti-human CD35, CD44s and CD58 were added in order. After immunoenzymic reaction process in the plates, the red bloodcell supernatant was transferred to a clean microtitre plate and read at 405nm (A405). **Results:** Except poorly differentiated lung cancer, CD35, CD44s and CD58 expressed were significantly lower on erythrocytes in various pathologic types in lung cancer groups than in control group. The difference was significant ($P < 0.05$ and $P < 0.01$). The difference was not significant in CD35, CD44s and CD58 expressed ($P < 0.05$) on erythrocytes in various pathologic types of lung cancer ($P > 0.05$). It showed that quantitative molecule expression of CD35, CD44s and CD58 in the patients with lung cancer in III and IV stages were significantly lower than that in I and II stages ($P < 0.05$). Compared with the patients with lung cancer before chemical treatment, expression of CD35 was significantly lower in the patients with lung cancer after chemical treatment. There was no significant difference between CD44s and CD58 molecule expressions ($P > 0.05$). **Conclusions:** Our data suggest that quantitative molecule expression of CD35, CD44s and CD58 on erythrocytes in the patients with lung cancer is lower than normal and the erythrocytes immuno-function descends with the aggravation of the disease. Furthermore, this data displays that change of CD35, CD44s and CD58 quantities expression on erythrocytes is associated with metastasis and deterioration of the tumor in the patients with lung cancer, which may be of importance to the development and prognosis of lung cancer.

[Key words] lung neoplasms; erythrocytes membrane immune molecule; CD35; CD44s; CD58

[收稿日期] 2004-01-08

[作者单位] 1. 蚌埠铁路中心医院(蚌埠医学院第二附属医院)内科, 安徽蚌埠 233040; 2. 蚌埠医学院附属医院 肺科, 安徽蚌埠 233004

[作者简介] 王恩举(1959-), 男, 安徽明光人, 副主任医师。

红细胞通过膜上广泛存在的免疫分子(如 CD35、CD44s、CD58、DAF、SOD 酶、过氧化酶等多种与免疫有关的物质), 参与机体识别抗原、清除循环免疫复合物、增加吞噬细胞的吞噬功能、递呈抗原、

调控淋巴细胞、效应细胞样作用等非特异性和特异性免疫反应;在抗感染、抗肿瘤和自身稳定的免疫反应及调控中都具有重要作用^[1,2],愈来愈受到人们的普遍重视。我们用酶联定量法测定肺癌患者红细胞膜上 I 型补体受体(CR1, CD35)、CD44s、CD58,以了解肺癌患者的红细胞免疫功能及不同病理类型、不同分期肺癌患者的红细胞免疫功能状态和化疗对肺癌患者红细胞免疫功能的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 (1) 肺癌组: 46 例肺癌患者,系 2001 年 1~9 月本院内科、胸外科以及蚌埠医学院附属医院肺科和化疗科住院病例。男 30 例,女 16 例;年龄 23~82 岁。所有病例均经纤维支气管镜组织活检、转移淋巴结活检组织、手术标本组织病理以及纤支镜刷片、胸水脱落细胞涂片多次找癌细胞确诊。其中,鳞癌 22 例,腺癌 12 例,小细胞未分化癌 8 例,因癌细胞分化不良,不能分型的分化癌 4 例。左侧肺癌 21 例,右侧肺癌 25 例。I、II 期肺癌 11 例,III、IV 期肺癌 35 例。(2) 健康组: 50 名健康者,男 27 名,女 23 名;年龄 20~76 岁。

1.2 试剂来源 红细胞 CD35、CD44s、CD58 试剂盒,由第二军医大学附属长海医院免疫室提供。

1.3 方法 按王海滨等^[3,4]创立的完整红细胞膜免疫分子细胞酶免疫分析法进行测定。取受检者清晨空腹静脉血 1 ml,枸橼酸钠抗凝,水平离心 2 000 r/min,5 min 后,取沉淀红细胞 10 μ l(定量)。三次洗涤后,以戊二醛固定,最后洗涤后加入 1% S/BSA(生理盐水/小牛血清),4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。实验时样品洗涤后,以磷酸缓冲液(PBS, pH 7.2)配制成 2% 红细胞悬液。取样品红细胞悬液 20 μ l、6 μ l 及 6 μ l 分别做 CD35、CD44s、CD58 定量测定。按王海滨法,依次加入 I 抗(鼠抗人 CD35、CD44s、CD58 单抗)、II 抗(鼠抗人 CD2 单抗)及碱性磷酸酶标记羊抗鼠 IgG。最后获取样品上清液,以酶标仪 405 nm 测定,读取吸光度值 A,减去对照孔(无 I 抗)值,求得各样品 A 值。

1.4 统计学方法 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

2.1 不同病理类型肺癌红细胞膜免疫分子测定 不同细胞类型肺癌红细胞 CD35、CD44s 和 CD58(除分化癌外)均较正常组降低($P < 0.05$)。但鳞癌、腺癌、小细胞癌和分化癌之间红细胞 CD35、

CD44s、CD58 比较,差异均无显著性($P > 0.05$)(见表 1)。

表 1 正常组和四型肺癌组红细胞 CD35、CD44s、CD58 的测定值比较($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	CD35	CD44s	CD58
正常	50	1.41 \pm 0.22	1.39 \pm 0.35	1.83 \pm 0.39
鳞癌	22	0.81 \pm 0.25**	0.87 \pm 0.32**	1.05 \pm 0.41**
腺癌	12	0.71 \pm 0.15**	0.98 \pm 0.28**	1.30 \pm 0.29**
小细胞癌	8	0.62 \pm 0.08**	0.96 \pm 0.17**	1.19 \pm 0.30**
分化癌	4	0.70 \pm 0.07**	0.89 \pm 0.25*	1.51 \pm 0.53
<i>F</i>	—	62.44	13.29	18.90
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01	<0.01
MS _{组内}	—	0.044	0.103	0.147

q 检验:与正常组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 I、II 期肺癌组和 III、IV 期肺癌组红细胞膜免疫分子测定 I、II 期肺癌组和 III、IV 期肺癌组红细胞 CD35、CD44s 和 CD58 均较正常组降低($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。III、IV 期肺癌组红细胞 CD35 和 CD44s 较 I、II 期肺癌组降低($P < 0.05$),而 CD58 两组间差异无显著性($P > 0.05$)(见表 2)。

表 2 正常组与 I、II 期肺癌组和 III、IV 期肺癌组红细胞 CD35、CD44s、CD58 测定值比较($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	CD35	CD44s	CD58
正常组	50	1.41 \pm 0.22	1.39 \pm 0.35	1.83 \pm 0.39
I、II 期	11	0.89 \pm 0.22**	1.14 \pm 0.20*	1.36 \pm 0.30**
III、IV 期	35	0.71 \pm 0.19 Δ *	0.91 \pm 0.23 Δ *	1.16 \pm 0.32
<i>F</i>	—	120.85	27.05	37.76
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01	<0.01
MS _{组内}	—	0.044	0.088	0.127

q 检验:与正常比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$;与 I、II 期比较 $\Delta P < 0.05$

2.3 非化疗组与化疗组肺癌红细胞膜免疫分子测定 非化疗组与化疗组肺癌红细胞 CD35、CD44s、CD58 均较正常组明显降低($P < 0.01$)。化疗组肺癌红细胞 CD35 较非化疗组降低($P < 0.05$),但两组间 CD44s、CD58 比较,差异均无显著性($P > 0.05$)(见表 3)。

3 讨论

红细胞 CD35 是一种表达于血细胞膜表面的单链糖蛋白分子,其中 95% 的 CD35 位于红细胞膜上。它的主要配体是补体活化片段 C3b 和 C4b,是红细胞发挥其免疫黏附功能的物质基础。本文显示不同

病理类型肺癌患者红细胞 CD35 均较正常组明显降低 ($P < 0.01$)。但各病理型之间红细胞 CD35 比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。III、IV 期肺癌组红细胞 CD35 较 I、II 期肺癌组明显降低 ($P < 0.01$)。化疗组肺癌红细胞 CD35 较非化疗组降低 ($P < 0.05$)。其发生原因可能与应激状态的出现、 β -内啡肽含量的异常增高、血清中出现 Er 抑制细胞、肿瘤细胞分泌红细胞免疫抑制因子^[5] 以及肺癌细胞的存在可激活体内补体旁路, 而使红细胞膜上 CD35 消耗; 同时红细胞膜上 CD35 分子的数量还受遗传基因决定, 王海滨等^[3] 报道正常人高表达占 76.2%; 中表达占 22.6%; 低表达占 1.2%。但结肠癌、肝癌患者高表达显著降低, 而中、低表达显著升高。说明后天因素可引起红细胞 CD35 基因组点突变^[6], 继而影响 CD35 在红细胞膜上的表达。

表 3 正常组和非化疗组与化疗组肺癌红细胞 CD35、CD44s 和 CD58 测定值 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	CD35	CD44s	CD58
正常组	50	1.41±0.22	1.39±0.35	1.83±0.39
非化疗组	29	0.81±0.23**	0.94±0.33**	1.19±0.31**
化疗组	17	0.66±0.03 Δ **	0.91±0.21**	1.21±0.35**
F	—	126.66	24.32	36.85
P	—	<0.01	<0.01	<0.01
MS 组内	—	0.042	0.105	0.130

q 检验: 与正常组比较 ** $P < 0.01$; 与非化疗组比较 $\Delta P < 0.05$

标准型 CD44(CD44s) 是一个重要的分化抗原, 它与透明质酸有较高的亲和力, 是透明质酸的主要受体。红细胞 CD44s 对配体透明质酸的黏附与结合作用, 在机体特异性免疫调节、炎症扩散及肿瘤转移中有重要的意义; 同时红细胞 CD44s 参与细胞间相互作用, 在淋巴细胞的发育、归巢、肿瘤转移、细胞激活和信号传导中也有重要作用。红细胞 CD44s 的数量是 CD35 分子数量的 3~20 倍, 是 CD58 分子的 1.2~2 倍, 是红细胞上数量表达最多的免疫分子。本文显示不同病理类型肺癌红细胞 CD44s 较正常组明显降低 ($P < 0.01$)。但各型之间红细胞 CD44s 比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。III、IV 期肺癌组红细胞 CD44s 较 I、II 期肺癌组降低 ($P < 0.05$)。化疗组肺癌红细胞 CD44s 与非化疗组比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。

CD58 又称淋巴细胞功能相关性抗原-3(LFA-3), 是淋巴细胞 CD2 的天然配体。CD58 广泛表达于血细胞, 在红细胞上表达的数量是 CD35 的 3~10

倍。CD58 与 CD2 结合可促进 T 细胞与其他细胞的相互作用; 扩大免疫应答反应, 包括诱导和效应阶段的反应; 介导 T 细胞与 APC/靶细胞的黏附作用; CD58 也是信号传递因子和重要的黏附分子。本文显示不同病理类型肺癌红细胞 CD58 较正常组明显降低 ($P < 0.01$)。但各病理型之间红细胞 CD58 比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。III、IV 期肺癌组红细胞 CD58 较 I、II 期肺癌组无明显降低 ($P > 0.05$)。化疗组肺癌红细胞 CD58 与非化疗组比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。

红细胞数量庞大, 在机体整体免疫功能的稳定中具有重要的平衡作用。肺癌患者红细胞 CD35、CD44s 和 CD58 降低, 且随着病情的进展红细胞免疫功能进一步下降, 表明红细胞 CD35、CD44s 和 CD58 分子数量的变化与肿瘤的转移和恶化程度有关。这种关系的紊乱可能对肺癌的发生、发展、预后产生重要的作用。现已公认, 多数抗肿瘤药物具有免疫抑制作用, 并可引起不同程度的骨髓抑制。本文肺癌化疗组红细胞 CD35 较非化疗组降低 ($P < 0.05$), 说明化疗对肺癌患者红细胞免疫功能有一定影响。但肺癌化疗组红细胞 CD44s、CD58 与非化疗组比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$), 可能与非化疗组患者病情严重难以承受化疗, 而化疗组患者病情相对较轻等有关。不同化疗药物对不同类型肺癌患者红细胞 CD35、CD44s 和 CD58 的影响, 以及如何提高化疗肺癌患者红细胞免疫功能等有关问题, 有待于进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 郭峰, 黄盛东, 赫丽, 等. 红细胞在抗肿瘤免疫反应中的作用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1995, 15(3): 183~187.
- [2] Sommer F, Huber M, Rollinghoff M, et al. CD44 plays a costimulatory role in murine T cell activation; Ligation of CD44 selectively lo-stimulates IL-2 production, but not poliferation in TCR-stimulated murine Th1 cell[J]. *Int Immunol*, 1995, 7(11): 1779~1786.
- [3] 王海滨, 张景萍, 王辉, 等. 红细胞 CR1 分子的定量测定及其临床意义[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000, 20(4): 381~384.
- [4] 王海滨, 钱宝华, 张继利, 等. 肿瘤患者红细胞 CD44s 与 CD58 分子的定量测定及意义[J]. 中华微生物和免疫学杂志, 2001, 21(4): 427~430.
- [5] 郭峰, 钱宝华, 闵碧荷, 主编. 血液免疫学研究[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 1998: 10.
- [6] 郭峰, 张俊洁, 赵书平, 等. 正常人红细胞 CR1 密度相关基因组多态性分布分析[J]. 上海免疫学杂志, 1998, 18(3): 152~154.