

卵巢上皮癌中 HLA-DR 及 HLA-ABC 表达的临床意义

杨清元¹, 林仲秋¹, 周奕², 周晖¹, 张丙忠¹, 康金玉¹

(1. 中山大学附属第二医院妇产科, 广东 广州 510120; 2. 解放军第 458 医院妇产科, 广东 广州 510000)

摘要:【目的】研究卵巢上皮癌(EOC)中 HLA-DR 及 HLA-ABC 的表达及其临床意义, 为以 HLA 为靶点的肿瘤免疫治疗提供理论依据。【方法】应用免疫组织化学 SP 法检测 57 例卵巢上皮癌、35 例卵巢良性上皮肿瘤及 20 例正常卵巢组织中 HLA-DR 及 HLA-ABC 的表达情况。【结果】①卵巢癌 HLA-DR 阳性率(63/57)显著高于良性肿瘤(4/35)及正常卵巢组织(1/20), $P < 0.05$; I 期卵巢癌 HLA-DR 的阳性率显著高于 III 期与 IV 期, $P < 0.01$; 高分化组 HLA-DR 的阳性率显著高于中、低分化组, $P < 0.05$ 。②卵巢癌 HLA-ABC 的阳性率(67/57)显著低于良性肿瘤(60/35)及正常卵巢组织(20/20), $P < 0.05$; I 期卵巢癌 HLA-ABC 的阳性率显著高于 III 期与 IV 期, $P < 0.01$ 。③ HLA-DR 及 HLA-ABC 的阳性率与卵巢癌患者的生存率均呈正相关, 阳性表达组的生存率明显高于阴性组, $P < 0.05$ 。【结论】HLA-DR、HLA-ABC 异常表达可能与卵巢癌的发生发展有关; HLA-DR 及 HLA-ABC 可以作为评估卵巢癌预后的指标之一。

关键词: 卵巢肿瘤; 组织相容性抗原; 预后; 免疫组织化学

中图分类号: R737.31

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)05-0481-05

Clinical Significance of Expression of HLA-DR and HLA-ABC Antigen in Epithelial Ovarian Carcinoma

YANG Qing-yuan¹, LIN Zhong-qiu¹, ZHOU Yi², ZHOU Hui¹, ZHANG Bing-zhong¹, KANG Jing-yu¹

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120 China, 2. Department of Gynecology and Obstetrics, The 458 Hospital of Chinese People's Liberation Army, Guangzhou 510000, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the significance of HLA-DR and HLA-ABC antigen expression in ovarian epithelial carcinoma and to provide the theoretical basis on tumor immune therapy targeting HLA. 【Methods】Streptomyces avidin-peroxidase (S-P) immunohistochemical method was used to detect the HLA-DR and HLA-ABC antigen expression in normal ovarian tissues, benign and ovarian carcinomas. 【Results】① The positive rate of HLA-DR in ovarian carcinomas was obviously higher than those in benign ovarian tumor and normal ovarian tissues, which was obviously higher in stage I than that in stage III & IV; The positive rate of HLA-DR was obviously higher in high differentiated group than those in median and low differentiated groups. ② The positive rate of HLA-ABC in ovarian carcinomas was obviously lower than those in benign ovarian tumor and normal ovarian tissues, which was obviously higher in stage I than that in stage III & IV. ③ The positive rate of HLA-DR & HLA-ABC were positively correlated with the survival rate of ovarian carcinoma. 【Conclusion】The abnormal expression of HLA-DR & HLA-ABC may be associated with the pathogenesis of ovarian carcinoma. HLA-DR & HLA-ABC may be the prognostic factors of ovarian epithelial carcinoma.

Key words: ovarian tumor; histocompatibility antigen; prognosis; immunohistochemistry

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2004, 25(5): 481-485]

人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 复合体是迄今所知最为复杂、最具有多态性

的人类遗传体系, 它编码 HLA-I 类、II 类和 III 类抗原^[1]。HLA 决定机体组织相容性, 与免疫应答及免

收稿日期: 2003-10-25

作者简介: 杨清元(1971-), 女, 侗族, 广西柳州人, 硕士, 医师, 林仲秋, 教授, 通讯作者。

疫调节有关,尤其是 T 细胞免疫反应,而 T 细胞免疫在机体抗肿瘤免疫反应中占重要地位。与细胞免疫有关的主要为 I 类和 II 类抗原,其中人白细胞 ABC 抗原(HLA-ABC)是经典的 I 类抗原,人白细胞 DR 抗原(HLA-DR)是表达最频繁的 II 类抗原。近年来国内外学者对多个系统的肿瘤进行 HLA 的研究,发现其与肿瘤的发生、发展、治疗及预后相关,但其结论尚存在争议。目前关于 HLA 与卵巢癌生物学行为的相关性也未得到一致的结论。为此,我们应用免疫组化方法检测了 57 例卵巢癌中 HLA-DR 及 HLA-ABC 的表达,分析了它与卵巢癌生物学行为的关系,为以 HLA 为靶点的肿瘤免疫治疗提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 标本与临床资料

收集中山大学附属第二医院 1995 年 1 月至 2001 年 12 月手术切除的卵巢癌石蜡标本 57 例,患者年龄 17~73 岁,平均 47.3 岁,所有患者接受卵巢癌根治术或卵巢癌细胞减灭术,术前未接受化疗、放疗或其他辅助治疗,术后给予 PAC/PC 或 TP 方案化疗。参照 FIGO (1988)卵巢恶性肿瘤分期标准: I 期 15 例, II 期 10 例, III 期 25 例, IV 期 7 例;浆液性囊腺癌 20 例,黏液性囊腺癌 19 例,卵巢内模样癌 18 例;高分化 (G1) 21 例,中分化 (G2) 23 例,低分化 (G3) 13 例。另取卵巢良性上皮肿瘤 35 例,正常卵巢组织 20 例。

1.2 免疫组织化学染色

1.2.1 主要试剂 SP 超敏免疫组化试剂盒及 HLA-DR 鼠抗人单克隆抗体(即用型)购自福州迈新生物技术公司,HLA-ABC 鼠抗人单克隆抗体(浓缩型)由第四军医大学免疫教研室提供美国 ATCC 公司产品。

1.2.2 免疫组化染色程序 ①切片脱蜡至水;②抗原修复处理;③按试剂盒说明进行常规免疫组化染色(链霉菌抗生物素蛋白—过氧化酶法,SP 法);④ DAB 显色后苏木精复染。HLA-DR 及 HLA-ABC

阳性对照片分别由福州迈新公司及第四军医大学免疫教研室提供,阴性对照以 PBS 代替一抗。

1.2.3 染色结果判断 3 人盲法阅片,按等级评分方法^[2],根据阳性染色强度和阳性细胞所占百分比评估 HLA-DR 及 HLA-ABC 的表达,按染色强度评分:无色 0 分,淡黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分;按阳性细胞所占百分比评分:阴性 0 分,阳性细胞 $\leq 10\%$ 1 分, $11\% - 50\%$ 2 分, $51\% - 75\%$ 3 分, $> 75\%$ 4 分,两者相乘分值 ≥ 3 为免疫组化阳性,分 4 等级: - (≤ 2 分) + ($3 - 4$ 分) ++ ($5 - 8$ 分) +++ ($9 - 12$ 分)。

1.3 随访调查

随访期限为自术后第 1 天开始到本实验结束或患者死亡之时,随访时间 1~82 个月,平均 33 个月,失访 1 例,随访率 98.25%。

1.4 统计方法

采用 SPSS10.0 软件进行统计分析,计数资料两组间比较用 Mann-Whitney 检验,多组间比较用 Kruskal-Wallis 检验,预后分析应用 Kaplan-Meier 曲线法、Log-rank 检验和 Cox 回归模型。检验水准可取 0.05。

2 结 果

2.1 HLA-DR 在不同卵巢组织中的表达及其与卵巢癌临床病理参数的关系

HLA-DR 阳性表现为细胞膜或胞浆染成黄色、棕色或棕褐色;同一阳性片中不同区域的细胞可见染色强弱不一,或仅区域阳性,表现出较大的异质性。HLA-DR 在正常组织、良性肿瘤及卵巢癌中的表达见表 1,卵巢癌 HLA-DR 阳性率显著高于正常卵巢组织和良性肿瘤, $P < 0.01$ 。HLA-DR 表达与卵巢癌临床病理参数的关系见表 2,统计分析显示 HLA-DR 表达与病理类型无关 ($P > 0.05$), I 期卵巢癌 HLA-DR 的阳性率显著高于 III 期及 IV 期, $P < 0.01$, 高分化组的 HLA-DR 阳性率显著高于中、低分化组, $P < 0.05$ 。

表 1 正常卵巢组织、卵巢良性肿瘤、卵巢癌 HLA-DR 表达

Table 1 The expression of HLA-DR in normal ovarian tissues, benign and ovarian carcinomas

Group	n	-	+	++	+++	Positive rate (%)
Normal tissues	20	19	1	0	0	5.00
Benign tumor	35	31	3	1	0	11.43
Ovarian carcinoma	57	24	19	11	3	57.89

表 2 HLA-DR 表达与卵巢癌临床病理参数的关系

Table 2 The relationship between HLA-DR expression and the clinicopathology of EOC

Clinicopathology	n	-	+	++	+++	Positive rate (%)
Stage						
I	15	2	6	4	3	86.67
II	10	3	4	3	0	70.00
III	25	14	7	4	0	44.00
IV	7	5	2	0	0	28.57
Differentiation						
G1	21	5	8	5	3	76.19
G2	23	12	6	5	0	47.83
G3	13	7	5	1	0	46.15
Histological type						
Serous cystadenocarcinoma	20	10	6	4	0	50.00
Mucinous cystadenocarcinoma	19	7	7	3	2	63.16
Endometrioid carcinoma	18	7	6	4	1	61.11

2.2 HLA-ABC 在不同卵巢组织中的表达及其与卵巢癌临床病理参数的关系

HLA-ABC 阳性表达表现为细胞膜或胞浆染成黄色、棕色或棕褐色。HLA-ABC 在正常卵巢组织、良性肿瘤及卵巢癌中的表达见表 3, 卵巢癌 HLA-ABC 阳性表达率显著低于正常卵巢组织和良

性肿瘤, $P < 0.05$ 。HLA-ABC 表达与卵巢癌临床病理参数的关系见表 4, 统计分析显示 HLA-ABC 表达与病理类型及组织学分化程度无关 ($P > 0.05$); I 期卵巢癌 HLA-ABC 的阳性率显著高于 III 期及 IV 期, $P < 0.05$ 。

表 3 正常卵巢组织、卵巢良性肿瘤、卵巢癌 HLA-ABC 表达

Table 3 The expression of HLA-ABC in normal ovarian tissues, benign and ovarian carcinomas

Group	n	-	+	++	+++	Positive rate (%)
Normal tissues	20	0	9	2	9	100
Benign tumor	35	5	16	7	7	85.71
Ovarian carcinomas	57	20	22	14	1	64.91

表 4 HLA-ABC 表达与卵巢癌临床病理参数的关系

Table 4 The relationship between HLA-ABC expression and the clinicopathology of EOC

Clinicopathology	n	-	+	++	+++	Positive rate (%)
Stage						
I	15	4	1	9	1	73.33
II	10	3	4	3	0	70.00
III	25	9	14	2	0	64.00
IV	7	4	3	0	0	42.86
Differentiation						
G1	21	6	6	8	1	71.43
G2	23	7	12	4	0	69.57
G3	13	7	4	2	0	46.15
Histological type						
Serous cystadenocarcinoma	20	7	9	4	0	65.00
Mucinous cystadenocarcinoma	19	7	7	4	1	63.16
Endometrioid carcinoma	18	6	6	6	0	66.67

2.3 HLA-DR、HLA-ABC 表达与卵巢癌患者生存预后的关系

Kaplan-Meier 曲线法生存分析及 Log-rank 检验显示 HLA-DR 和 HLA-ABC 与卵巢癌的生存率均呈

正相关,阳性组的生存率明显高于阴性组,差异有显著性($P < 0.05$),见下图。

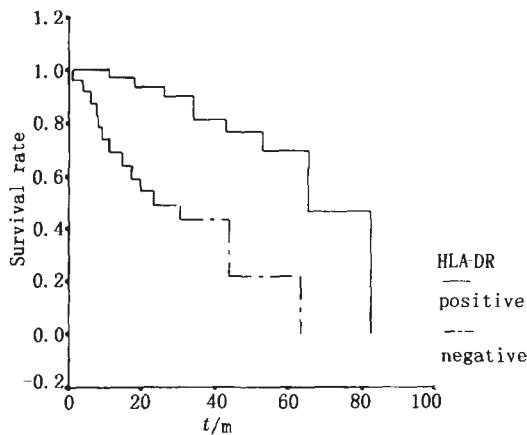


图 1 HLA-DR 的表达与术后生存率的关系

Fig. 1 The relationship between the survival rate and expression of HLA-DR in EOC

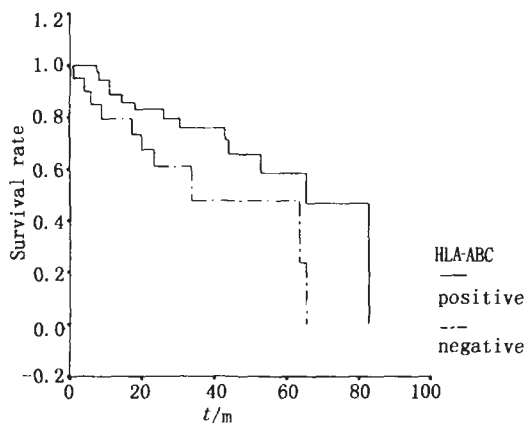


图 2 HLA-ABC 的表达与术后生存率的关系

Fig. 2 The relationship between the survival rate and expression of HLA-ABC in EOC

3 讨论

3.1 HLA-DR 在卵巢癌中的表达及临床意义

HLA-II 类抗原是免疫相关抗原(Ia 抗原),可作为免疫细胞间识别标记诱发免疫应答和调节免疫细胞间相互作用的膜表面标志物,在免疫应答中是一种重要的免疫分子。传统观点认为 HLA-II 类抗原的表达仅限于免疫系统细胞,但有学者研究发现某些上皮细胞^[3]也可检出 HLA-II 类抗原。在临床研究中,相继有学者证实,不表达 II 类抗原的组织发生恶变后出现 II 类抗原阳性表达(主要为 HLA-DR)。本研究发现 HLA-DR 在卵巢癌组织中也出现异常表达,阳性率为 57.89%,显著高于卵巢

良性肿瘤和正常卵巢组织,提示 HLA-DR 表达异常可能是卵巢上皮组织恶性转变的标志之一。

肿瘤细胞重新表达 HLA-DR 的机制尚无一致看法,有以下几种学说:① HLA-DR 是肿瘤分化的标志物,当正常细胞发生恶变时又重新表达,与恶性表型同时发生;②肿瘤组织刺激机体产生炎症反应,肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)释放多种细胞因子如 IFN- γ 和 TNF- α 等,诱导肿瘤细胞表达 HLA-DR;③在肿瘤转化过程中,HLA-DR 基因表达及基因调控发生了改变,使 HLA-DR 由不表达变为表达,成为肿瘤发展早期的一个膜表面标志物。

此外,本研究发现,HLA-DR 表达率与卵巢癌分期及组织分化级别呈负相关,与肖国宏等^[4]的报道相似。卵巢癌组织中 HLA-DR 的阳性率显著高于卵巢良性上皮肿瘤和正常卵巢组织,I 期卵巢癌 HLA-DR 阳性率显著高于 III 期及 IV 期;高分化组显著高于中、低分化组。上述结果表明,HLA-DR 阳性表达可能有助于预测卵巢癌的发生发展。单因素分析显示 HLA-DR 表达与卵巢癌的生存率呈正相关,阳性组的生存率显著高于阴性组($P < 0.01$),与 Matsushita 等^[5]的报道相似,提示 HLA-DR 可以作为卵巢癌的一个预后指标。HLA-DR 在肿瘤演进中的作用可能是递呈肿瘤抗原给 CD4⁺T 细胞,肿瘤细胞易被识别和杀伤,从而可以控制肿瘤发展。支持这种理论的最直接的证据是鼠肿瘤细胞转染 MHC-II 类基因后能有效的抑制野生型肿瘤的发展^[6]。

3.2 HLA-ABC 在卵巢癌中的表达及临床意义

HLA-I 类抗原在人体内存在于有核细胞膜表面,其中 HLA-ABC 是经典的 I 类抗原。细胞毒性 T 细胞(CTL)在机体抗肿瘤免疫中起决定作用,而 CTL 激活及杀伤肿瘤细胞的前提是表位肽-TCR-HLA-I 类抗原三元复合物的形成。许多研究发现肿瘤细胞表面的 HLA-I 类抗原表达缺失或密度降低^[7],使得肿瘤不呈现或仅呈现弱的抗原性,CTL 对肿瘤的识别功能降低,这可能是肿瘤逃避机体免疫监视的机制之一。在本研究中,卵巢癌的 HLA-ABC 阳性率显著低于正常卵巢组织、卵巢良性肿瘤,说明卵巢上皮在癌变过程中可能伴随 HLA-ABC 的改变。

本研究结果显示 HLA-ABC 阳性率与肿瘤分期呈负相关,随卵巢癌的进展,HLA-ABC 的缺失率越多,I 期卵巢癌 HLA-ABC 的阳性率显著高于 III 期

及IV期, $P < 0.01$, 这提示 HLA-ABC 的表达可能有助于预测卵巢癌的发生发展。单因素分析显示 HLA-ABC 与卵巢癌的生存呈正相关, 阳性表达组的生存率明显高于阴性组, 差异有显著性 ($P < 0.05$), 提示 HLA-ABC 表达下降可导致肿瘤细胞免疫原性降低, 不能有效地将肿瘤抗原呈递给 CD8⁺T 细胞, 因而不能有效发挥 CD8⁺T 细胞的细胞毒作用, 从而导致肿瘤细胞的免疫逃逸, 使肿瘤得以发生、发展; 上调 HLA-ABC 可提高肿瘤细胞的免疫原性, 增加其对 CTL 的敏感性, 提高免疫治疗的疗效。

参考文献:

- [1] Beck S, Aguado B, Bahram S, *et al.* Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex the MHC sequencing consortium[J]. *Nature*, 1999, 401(6756): 921-3.
- [2] 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准

[J]. *中国癌症杂志*, 1996, 6(4): 229-31.

- [3] 沈文律, 夏仁品. HLA-DR 抗原在结肠癌组织中的表达及其意义 [J]. *中华普通外科杂志*, 2000, 15(3): 142-4.
- [4] 肖国宏, 陈惠祯, 张桂清, 等. HLA-DR 在上皮性卵巢癌中的表达及意义 [J]. *实用医学杂志*, 2001, 17(2): 112-3.
- [5] Matsushita N, Ghazizadeh M, Konishi H, *et al.* Association of ovarian tumor epithelium coexpressing HLA-DR and CA-125 antigens with tumor infiltrating cytotoxic T lymphocytes [J]. *J Nippon Med Sch*, 2003, 70(1): 40-4.
- [6] Ostrand-Rosenberg S, Thakur A, Clements V. Rejection of mouse sarcoma cells after transfection of MHC class II genes [J]. *J Immunol*, 1990, 144(10): 4068-71.
- [7] Tait B D. HLA class I expression on human cancer cells. Implications for effective immunotherapy [J]. *Hum Immunol*, 2000, 61(2): 158-65.

(编辑 张恩健)

(上接第 480 页 from page 480)

膜作用。此外, 以上中药促进胃肠蠕动的作用尚可以弥补吗丁啉仅促进胃、十二指肠排空作用而无促进十二指肠以下肠蠕动的缺陷, 达到胃以下消化道都有蠕动加强的效果。中西医结合的治疗方案, 既吻合西医对 FD 的发病机制及治疗原则, 又符合中医对该病的病因、病机及辨证施治的原则, 因而中西药合用相得益彰, 更能消除腹胀、腹痛、早饱、嗝气、反酸、恶心、呕吐的症状, 提高疗效。本组资料表明, 吗丁啉、雷尼替丁和中药宽中理气汤是治疗 FD 的有效药物, 中西药联合应用可进一步提高 FD 的治疗效果, 其疗效指数和有效率明显高于单用中药组或单用西药组, 可能与两者起协同作用有关。

近年来研究发现, 大多数 FD 患者与胃肠运动功能紊乱有关^[5, 6]。上消化道运动功能紊乱是 FD 患者腹胀、早饱、上腹疼痛、恶心、厌食症状的主要原因^[7]。目前已知胃肠激素对消化系统的生理功能具有重要的调节作用, 其分泌异常可导致许多临床症状或综合征。其中胃动素与胃泌素的分泌异常被认为与 FD 的发病有密切的关系。胃动素是产生于十二指肠和空肠的一种肽类激素, 其主要功能是影响胃和肠道的蠕动, 与消化间期移动运动复合波 (MMC) 密切相关, 并能刺激胃蛋白酶和胰液的分泌及胆囊的收缩。胃泌素是胃窦和十二指肠 G 细胞分泌的一种消化道激素, 具有促进胃酸分泌、胃窦收缩及营养胃肠道黏膜等生理功能。本组资料表明, FD 患者的血清胃动素与胃泌素水平明显低于

正常对照组, 3 种疗法都能不同程度地升高血清胃动素与胃泌素水平, 而以中西医结合组的作用最好, 优于单用中药组或单用西药组。

参考文献:

- [1] 陈欣童. 吗丁啉、雷尼替丁加中药治疗功能性消化不良疗效观察 [J]. *中国现代医学杂志*, 1999, 9(6): 63-5.
- [2] 中华中医药学会内科脾胃病专业委员会. 功能性消化不良中医诊疗规范 (草案) [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2002, 10(4): 194.
- [3] 李仪奎, 姜名瑛. 中药药理学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1992, 116-28.
- [4] 陈少夫, 李宇权, 何风云, 等. 木香对胃酸分泌、胃排空及胃泌素、生长抑素、胃动素的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1994, 14(7): 406-8.
- [5] Kamerling I M, Van Haarst A D, Burggraaf J, *et al.* Motilin effects on the proximal stomach in patients with functional dyspepsia and healthy volunteers [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 284(5): G776-81.
- [6] Serag H B, Talley N J. Health-related quality of life in functional dyspepsia [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2003, 18(4): 387-93.
- [7] Stanghellini V, Ghidini C, Maccarini M R, *et al.* Fasting and post prandial gastrointestinal motility in ulcer and non-ulcer dyspepsia [J]. *Gut*, 1992, 33(2): 184-90.

(编辑 刘清海)