

CD27 / CD27L 在肝癌患者血清中的含量及临床意义

曹薇薇 晏真明 余少培[△]

(安康职业技术学院基础医学系 陕西 安康 725000)

摘要 目的 探讨原发性肝癌患者外周血中 CD27 和 CD27L 的含量及其临床意义。方法 采用 ELISA 法检测 38 例肝癌患者和 40 例健康查体者外周血中 CD27 及 CD27L 蛋白的含量,并分析两者与病理类型和临床分期的关系。结果 :与健康查体组相比,肝癌患者外周血中 CD27 蛋白含量未检测到明显变化 ($t=1.760, P=0.082$),但 CD27L 蛋白含量显著升高 ($t=39.982, P<0.001$)。Spearman 秩相关分析表明 CD27 和 CD27L 之间无显著相关性 ($r_s=0.305, P=0.084$)。CD27 在不同病理类型和不同病理分期的肝癌患者血清中的含量无统计学差异 ($P>0.05$) ;CD27L 蛋白含量在 III 期和发生淋巴结转移的患者中显著升高 ($P<0.05$)。结论 :CD27/CD27L 通路与肝癌的恶性进展和淋巴结转移有密切关系。

关键词 原发性肝癌 ;CD27 ;CD27L

中图分类号 R735.7 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)23-4511-03

The Clinical Significance of Detection of Serum CD27 and CD27L in Hepatocellular Carcinoma

CAO Wei-wei, YAN Zhen-ming, YU Shao-pe[△]

(Department of Basic Medical, Ankang Occupation Technical College, Ankang, Shaanxi, 725000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the serum concentration and the clinical pathological significance of CD27 and CD27L protein in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** The serum concentration of CD27 and CD27L in 38 cases of HCC and 40 cases of healthy examinations (normal control) were detected by ELISA method. The relationships between the expression of the two proteins and the clinical pathological athological types and stagings were analyzed by statistical methods. **Results:** The serum concentration of CD27 in HCC patients was similar to normal control ($t=1.760, P=0.082$), but the level of CD27L in HCC patients was higher than in normal control ($t=39.982, P<0.001$). Spearman correlation showed no significant relationship between expressions of CD27 and CD27L ($r_s=0.305, P=0.084$). In patients with HCC, no statistics difference of CD27 level existed in all pathological types and stagings ($P>0.05$), but the concentration of CD27L was obviously increased in stage III and lymphatic metastasis of patients ($P<0.05$). **Conclusion:** The pathway of CD27/CD27L has close relationship with malignant progression and lymphatic metastasis of HCC.

Key words: Primary liver carcinoma; CD27; CD27L

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID:1673-6273 (2012) 23-4511-03

前言

CD27 / CD27L (CD70) 是一条重要的共刺激通路,属于肿瘤坏死因子家族成员,在 T 淋巴细胞^[1,2]、B 淋巴细胞^[3]和 NK 细胞^[4,5]等的活化、增殖中发挥重要作用。生理条件下,75 % 的 T 细胞,部分胸腺细胞、B 细胞以及 NK 细胞有 CD27 表达,且细胞活化后表达增加,而 CD27L 在人体内的表达水平较低,仅在少数活化的 T 细胞和 NK 细胞表面存在^[6]。目前研究发现,CD27 / CD27L 通路的生物效应并不局限于对 T 细胞活化提供第二刺激信号,其在多种肿瘤的发生、发展中表现出复杂的作用。已有文献报道,CD27 / CD27L 通路与直肠癌^[7]、肾癌^[8]、脑瘤^[9]、多发性骨髓瘤^[10]和黑色素瘤^[11]的关系密切,但与原发性肝癌细胞系(肝癌)的关系研究较少。吴晗等^[12]检测了肝癌细胞系和组

织标本中 CD27L 的 mRNA 表达水平,发现肝癌细胞系 BEL27402、27721 为阳性,HepG2 细胞呈阴性;肝癌组织中为阳性,而在癌旁及正常肝组织中不表达。该研究首次报道了 CD27L 与肝癌的关系,并认为表达 CD27L 的肝癌细胞可躲避人体免疫系统的攻击从而得以生长和发展。但 CD27 和 CD27L 蛋白在肝癌患者体内的表达情况目前仍不清楚,它们与临床病理指标之间的关系也未得到阐明。针对此问题,本研究对 38 例肝癌患者和 40 例健康查体者血清中 CD27 和 CD27L 的蛋白含量进行检测,分析 CD27 / CD27L 通路与肝癌临床病理指标的相关性,并对其临床意义做初步探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集安康职业技术学院附属医院于 2009 年 1 月至 2011 年 6 月期间确诊的 38 例肝癌患者的血清标本,其中男性 27 例,女性 11 例,中位年龄 53 岁(33 岁 -79 岁)。所有病例术前均未行放疗和化疗,均有完整的临床及病理资料。同时随机选择并收集 40 例门诊健康查体者的血清标本为对照组,其中男性

作者简介 曹薇薇(1980-),女,本科,助教,主要从事临床检验教学与基础研究,电话 1915-3285004,

E-mail 1aoweimei1980@yahoo.cn

[△]通讯作者 余少培,E-mail yushaopei2010@163.com

(收稿日期 2011-12-06 接受日期 2011-12-30)

23 例,女性 18 例,中位年龄 47 岁(37 岁 -65 岁)。两组患者在年龄和性别构成方面无显著性差异,具有可比性($X^2=1.898$, $P=0.243$; $t=0.564$, $P=0.613$)。

1.2 临床病理资料

38 例肝癌患者的病理组织学类型构成为 低分化癌 7 例、中分化癌 21 例、高分化癌 10 例 病理分期为 I 期 12 例、II 期 14 例,III 期 9 例,IV 期 3 例;浸润深度 (T) :T1-12 例、T2-14 例、T3-7 例,T4- 5 例 淋巴结转移者 (N1) 8 例,无淋巴结转移者 (N0) 30 例 出现远处转移者 (M1) 3 例。

1.3 检测方法

CD27 / CD27L 的 ELISA 检测试剂盒购自 Biosource 公司。具体操作方法参照试剂盒说明书。过程简述如下 将不同浓度的标准品和待测血清样本加入微孔反应板中,100 μ L / 孔 洛

孔加入生物素化抗体工作液 50 μ L,振荡混匀后室温放置 120 分钟 反应结束后,将各孔内液体吸干并反复洗涤 5 次 洗涤干燥后再加入酶结合物工作液 100 μ L / 孔 振荡混匀后室温放置 30 分钟 反应结束后,将各孔内液体吸干并反复洗涤 5 次 洛孔再加入显色剂 A、B 各 50 μ L,振荡混匀,37 $^{\circ}$ C 下避光反应显色 10 分钟 显色结束后,加入终止液 50 μ L,振荡混匀。最后,在 490 nm 的条件下以酶标仪检测标准品各孔的吸光度,绘制标准曲线后计算得到检测样品内 CD27 和 CD27L 的含量。

1.4 统计学方法

实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两样本均数比较用两样本 t 检验。多样本均数比较用完全随机设计方差分析,组间比较用 SNK-q 检验。相关性分析采用 Spearman 秩相关的检验方法。取 $P<0.05$ 为有统计学意义。

表 1 肝癌组患者血清 CD27 / CD27L 含量与临床病理指标的关系

Table 1 The relationship between levels of serum CD27/CD27L and clinicopathological parameters in liver cancer patients

Clinicopathological parameters	CD27 (pg / mL)			CD27L (pg / mL)		
	Levels	Statistic Values	P Values	Levels	Statistic Values	P Values
Histological type		1.810	0.179		1.319	0.280
Poorly differentiated	11.24 $\pm$ 3.66			118.14 $\pm$ 15.87		
Moderately differentiated	11.58 $\pm$ 3.08			123.29 $\pm$ 15.64		
Well differentiated	10.73 $\pm$ 2.91			127.32 $\pm$ 16.31		
Clinical stage		1.064	0.377		18.036	<0.001
Stage I	10.98 $\pm$ 2.67			112.64 $\pm$ 14.78		
Stage II	11.45 $\pm$ 3.24			123.09 $\pm$ 15.27		
Stage III	11.52 $\pm$ 3.75			133.41 $\pm$ 16.45		
Stage IV	11.70 $\pm$ 3.67			125.26 $\pm$ 15.88		
Invasive depth		1.411	0.256		2.512	0.075
T1	10.47 $\pm$ 2.89			125.17 $\pm$ 15.18		
T2	11.53 $\pm$ 3.43			122.55 $\pm$ 14.36		
T3	11.59 $\pm$ 3.10			128.29 $\pm$ 15.83		
T4	11.66 $\pm$ 3.51			128.29 $\pm$ 15.83		
Lymphatic metastasis		0.570	0.737		2.117	0.046
N0	11.02 $\pm$ 2.95			119.41 $\pm$ 14.96		
N1	11.71 $\pm$ 3.06			132.39 $\pm$ 15.22		

2 结果

2.1 血清中 CD27 / CD27L 的含量

38 例肝癌患者血清中 CD27 和 CD27L 的平均浓度为 (11.31 $\pm$ 4.25) pg / mL、(122.43 $\pm$ 16.14) pg / mL 健康体检组分别为 (9.62 $\pm$ 4.14) pg / mL、(13.28 $\pm$ 5.51) pg / mL。两组比较,CD27 的含量无统计学差异 ($t=1.760$, $P=0.082$),但肝癌患者血清中 CD27L 的含量显著升高 ($t=39.982$, $P<0.001$)。Spearman 秩相关分析表明,肝癌患者血清中 CD27 和 CD27L 的含量无显著相关性 ($r_s=0.305$, $P=0.084$)。

2.2 与临床病理指标的关系

将肝癌患者按照组织类型和病理分期分组,比较各组间 CD27 和 CD27L 的含量差异。统计分析结果表明,CD27 在不同组织学类型和不同病理分期的肝癌患者血清中的含量无统计学差异 ($P>0.05$)。CD27L 的含量随组织恶性程度的增加有升高的趋势,但高、中、低分化三组的总体均数比较无统计学差异 ($F=1.319$, $P=0.280$)。在不同临床分期中,四组患者 CD27L 含量的总体均数比较有统计学差异 ($F=18.036$, $P<0.001$),但除 III 期患者的 CD27L 含量显著高于其他分期患者外 ($P<0.05$),其余分期患者之间比较无统计学差异 ($P>0.05$)。不同浸润深度的肝

癌患者间,CD27L 的含量无统计学差异 ($F=2.512, P=0.075$) 有淋巴结转移的患者血清 CD27L 含量高于无淋巴结转移者,差异有统计学意义 ($t=2.117, P=0.046$)。由于发生远处转移的患者数较少(只有 3 例),故本研究未进行该项目统计分析。结果见表 1。

3 讨论

原发性肝癌是威胁人类健康最重要的消化系统恶性肿瘤之一。其发病率在恶性肿瘤中排第五位,但致死率却为第二位。据最新统计报道,目前全球每年确诊的肝癌新发病例约有 75 万例,而每年的死亡病例约为 70 万例^[13]。肝癌的高发率和高死亡率与癌细胞生长迅速、逃避免疫监视有密切的关系。T 细胞是体内参与抗肿瘤免疫反应的主要免疫细胞,而肝癌细胞可通过改变抗原结构及沉默共刺激信号系统等机制逃避 T 细胞对其免疫杀伤作用。

CD27 / CD27L 通路是 T 细胞活化的重要共刺激分子通路之一,可促进 T 细胞的增殖,调节抗原致敏性淋巴细胞的数量和功能^[14]。目前对该通路的研究大多集中在自身免疫性疾病、炎症及肿瘤的发生、发展等方面^[15],但该通路与肿瘤的关系目前尚有较多争论。有学者认为,肿瘤细胞可通过其表面表达的 CD27L 与 T 细胞表面的 CD27 受体相结合,从而促进肿瘤抗原特异性 T 细胞的增殖与分化,增强抗肿瘤免疫应答而达到促使肿瘤细胞的自发性凋亡,减缓肿瘤的生长^[16]。但也有研究报道肿瘤细胞表达的 CD27L 蛋白与 T 细胞表面 CD27 结合后,可诱导瘤区的 T 细胞凋亡,使肿瘤可以逃避人体免疫系统的攻击,并得以生长和发展^[17]。分析不同研究结果的原因,可能是不同组织来源的肿瘤细胞对于 CD27 / CD27L 通路的影响不同;另外,CD27 / CD27L 通路的功能与局部组织内树突状细胞和自然杀伤细胞的免疫状态也有较大的关系^[18-20]。

本研究为探讨 CD27 / CD27L 通路与肝癌的关系,对比检测肝癌患者和健康查体人群外周血中的 CD27 和 CD27L 蛋白含量,并分析与临床病理指标之间的关系。结果表明,与健康人群比较,肝癌患者外周血中 CD27L 蛋白的含量显著升高,而 CD27 无明显变化。这提示,肝癌患者体内的淋巴细胞没有被活化,其免疫状态较低下,而外周血中增高的 CD27L 可能是由迅速增生的肿瘤细胞所分泌,其主要功能为抑制体内的抗肿瘤免疫效应。统计分析表明,外周血 CD27 蛋白在不同组织学类型和不同临床分期的肝癌患者间无显著差异。而 CD27L 蛋白虽在不同组织学类型间无表达差异,但随恶性程度增加有升高的趋势;同时,III 期患者和有淋巴结转移的患者,其外周血中 CD27L 的含量显著升高。由于不同浸润深度的肝癌患者间,CD27L 的含量无统计学差异,因而 CD27L 蛋白在不同临床分期患者间的差异表达应主要与癌灶发生淋巴结转移和远处转移相关,这也进一步提示 CD27 / CD27L 通路可能在肝癌的恶性进展和转移中发挥重要的作用,但具体机制还有待于进一步研究探索。此外,我们还对肝癌患者外周血 CD27 和 CD27L 表达的相关性进行了统计分析,但未发现有显著性结论,这提示外周血中 CD27 和 CD27L 的来源不同,且两者之间并不存在固定的对应关系,其含量变化受机体的免疫状态影响较大。

综上所述,本研究首次检测肝癌患者外周血中 CD27 和

CD27L 的蛋白含量,并分析该通路与肝癌组织学类型和临床分期之间的关系,初步证明了 CD27 / CD27L 通路与肝癌的恶性进展、淋巴结转移有密切关系。在后续的研究中,我们将进一步扩大样本量,进行生存分析,并结合免疫组织化学染色等技术进行更为深入的研究,预期可得到更加信服的结论。

参考文献 (References)

- [1] Keller AM, Xiao Y, Peperzak V, et al. Costimulatory ligand CD70 allows induction of CD8⁺ T cell immunity by immature dendritic cells in a vaccination setting [J]. *Blood*,2009,113(21):5167-5175
- [2] Di Mitri D, Azevedo RI, Henson SM, et al. Reversible senescence in human CD4⁺CD45RA⁺CD27⁻ memory T cells [J]. *Immunol*,2011,187(5):2093-2100
- [3] Satpathy S, Shenoy GN, Kaw S, et al. Inhibition of terminal differentiation of B cells mediated by CD27 and CD40 involves signaling through JNK [J]. *Immunol*,2010,185(11):6499-6507
- [4] Hayakawa Y, Sato-Matsushita M, Takeda K, et al. Early activation and interferon- γ production of tumor-infiltrating mature CD27 (high) natural killer cells [J]. *Cancer Sci*,2011,102(11):1967-1971
- [5] Fu B, Wang F, Sun R, et al. CD11b and CD27 reflect distinct population and functional specialization in human natural killer cells [J]. *Immunology*,2011,133(3):350-359
- [6] Keller AM, Schildknecht A, Xiao Y, et al. Expression of costimulatory ligand CD70 on steady-state dendritic cells breaks CD8⁺ T cell tolerance and permits effective immunity [J]. *Immunity*,2008,29(6): 934-946
- [7] 谢锡驹, 王锋, 李小腾等. 直肠癌组织中 CD70 蛋白的表达及意义 [J]. *江苏医药*,2011,37(1):54-56
Xie Xi-ju, Wang Feng, Li Xiao-teng, et al. Rectal cancer CD70 protein expression and significance [J]. *Jiangsu Medicine*,2011,37(1):54-56
- [8] Diegmann J, Junker K, Gerstmayer B, et al. Identification of CD70 as a diagnostic biomarker for clear cell renal cell carcinoma by gene expression profiling, real-time RT-PCR and immunohistochemistry [J]. *Eur J Cancer*,2005,41(12):372-376
- [9] Held-Feindt J, Mentlein R. CD70/CD27 ligand, a member of the TNF family, is expressed in human brain tumors [J]. *Int J Cancer*,2002,98(3):352-356
- [10] McZEarcherm JA, Oflazoglu E, Francisco L, et al. Engineered anti-CD70 antibody with multiple effector functions exhibits in vitro and in vivo antitumor activities [J]. *Blood*,2007,109(3):1185-1192
- [11] Pepe CA, Ricci R, Cortelazzi C, et al. The vast majority of lymphocytes infiltrating primary cutaneous melanoma express the CD27 costimulatory receptor: implications for melanoma progression [J]. *Eur J Dermatol*,2011,21(2):178-183
- [12] 吴晗, 韩振龙, 曹英林. CD70 在肝癌中的表达及其对淋巴细胞增殖抑制作用的研究 [J]. *山东大学学报(医学版)*, 2008, 46(1):27-30
Wu Han, Han Zhen-long, Cao Ying-lin. CD70 in hepatocellular carcinoma and its inhibition of lymphocyte proliferation studies [J]. *Shandong University (Medical Sciences)*,2008,46(1):27-30
- [13] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics, 2011 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90
- [14] Libregts S, van Olfen RW, van der Sluijs KF, et al. Function of CD27 in helper T cell differentiation [J]. *Immunol Lett*,2011,136(2): 177-186

(下转第 4504 页)

- loneliness on malnutrition in elderly population [J]. Med Arh, 2011, 65 (2): 92-95
- [11] Kalman M, Wells M, Gavan CS. Returning to school: experiences of female baccalaureate registered nurse students [J]. J N Y State Nurses Assoc, 2009, 40(1): 11-16
- [12] Chen HC, Chuang CH. A discourse on female nurse job stress and reproductive hazards [J]. Hu Li Za Zhi, 2011, 58(6): 101-106
- [13] Landtblom AM, Tondel M, Hjalmarsson P, et al. The risk for multiple sclerosis in female nurse anaesthetists: a register based study [J]. Occup Environ Med, 2006, 63(6): 387-389
- [14] Goldberg SE, Whittamore KH, Harwood RH, et al. The prevalence of mental health problems among older adults admitted as an emergency to a general hospital [J]. Age Ageing, 2012, 41(1): 80-86
- [15] Sloane PD, Hartman M, Mitchell CM. Psychological factors associated with chronic dizziness in patients aged 60 and older [J]. J Am Geriatr Soc, 1994, 42(8): 847-852
- [16] Goldzweig G, Hubert A, Walach N, et al. Gender and psychological distress among middle- and older-aged colorectal cancer patients and their spouses: an unexpected outcome [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2009, 70(1): 71-82
- [17] Okamoto R, Tanigaki S, Iwamoto S, et al. Development of a learning outcome creation program to enhance the competence of public health nurses part of action research to contribute to the local community [J]. Nihon Koshu Eisei Zasshi, 2011, 58(9): 778-792
- [18] Salama FS, Kebriai A, Durham T. Oral care for special needs patients: a survey of Nebraska general dentists [J]. Pediatr Dent, 2011, 33(5): 409-414
- [19] 李艳, 李莎, 朱德发. 不同人员陪护对干部内科老年疾病预后的影响 [J]. 安徽医学, 2009, 30 (6) : 683-684
- Li Yan, Li Sha, Zhu De-fa. Influence of different accompany persons on clinical outcomes for the Aged Patients with Chronic disease [J]. Anhui Medical Journal, 2009, 30 (6) : 683-684 (In Chinese)
- [20] 曾友燕, 王志红, 吕伟波, 等. 老年人社会支持性家庭护理服务需求的质性研究 [J]. 护士进修杂志, 2006, 6 (21) : 495-496
- Zeng You-yan, Wang Zhi-hong, Lu Wei-bo, et al. Qualitative Study on the Needs of Social Supported Home Nursing Care for the Elderly [J]. Journal of Nurses Training, 2006, (21) 6: 495-496 (In Chinese)

(上接第 4513 页)

- [15] Nolte MA, van Olfen RW, van Gisbergen KP, et al. Timing and tuning of CD27-CD70 interactions: the impact of signal strength in setting the balance between adaptive responses and immunopathology [J]. Immunol Rev, 2009, 229(1): 216-231
- [16] Kang JS, Bae S, Kim H, et al. Interleukin-18 increases metastasis and immune escape of stomach cancer via the down-regulation of CD70 and maintenance of CD44 [J]. Carcinogenesis, 2009, 28(7): 480-485
- [17] Hashimoto-Okada M, Kitawaki T, Kadowaki N, et al. The CD70-CD27 interaction during the stimulation with dendritic cells promotes naive CD4⁺ T cells to develop into T cells producing a broad array of immunosimulatory cytokines in humans [J]. Int Immunol, 2009, 21(8): 891-904
- [18] Taraban VY, Martin S, Attfield KE, et al. Invariant NKT cells promote CD8⁺ cytotoxic T cell responses by inducing CD70 expression on dendritic cells [J]. Immunology, 2008, 180(7): 4615-4620
- [19] De Colvenaer V, Taveirne S, Delforche M, et al. CD27-deficient mice show normal NK-cell differentiation but impaired function upon stimulation [J]. Immunol Cell Biol, 2011, 89(7): 803-811
- [20] Watt SV, Andrews DM, Takeda K, et al. IFN-gamma-dependent recruitment of mature CD27⁺ (high) NK cells to lymph nodes primed by dendritic cells [J]. J Immunol, 2008, 181(8): 5323-5330