

浸润麻醉,麻醉生效后用 Bowmann 泪囊探针进行细到粗逐步扩张,沿扩张乳管插入 FDS,以生理盐水驱赶滞留在乳管镜内的气体并使乳管保持扩张状态。充盈满意后缓慢循腔进镜,至乳管分叉处,调整内镜与分支开口角度,观察不同乳管分支。注意观察溢液导管各分支的管腔和管壁的结构,不断调节乳头和乳管镜的位置,获得最佳图像,拍照,记录病变导管的形态特征。检查结束,若考虑诊断乳腺导管扩张症及乳管炎,首先彻底冲洗管腔,尽量排净冲洗液,然后向乳管内注入庆大霉素 80000 IU 和地塞米松 5 mg 混合液适量,乳头涂以红霉素软膏,覆盖无菌纱布。术后 24 h 禁浴。

2 结果

本组 95 例经 FDS 拟诊为乳管扩张症 17 例,乳管炎 53 例,乳管炎合并乳管扩张症 25 例。95 例经乳管冲洗,庆大霉素及地塞米松灌注治疗,其中 95 例均获随访(最后随访时间为 2008 年 3 月):14 例溢液未变,71 例溢液消失,10 例溢液减少,有效率为 85.3%。

3 讨论

乳头溢液是乳腺疾病中的常见症状,乳腺导管尤其是大导管上皮增生、炎症、出血、坏死及肿瘤等病变都可能发生乳头溢液^[1]。以往诊断主要方法为乳管造影和溢液涂片脱落细胞学检查等间接方法,存在阳性率低,敏感性差等不足。FDS 作为一种可直视下观察病变乳管内情况,诊断乳头溢液的新方法,与之前方法比较优势明显。自 1989 年日本冈崎亮(Okazaki)等与藤仓(Fujikura)株式会社共同研制开发成功 FDS 以来,随着乳腺微创外科以及制造技术的发展,FDS 已被临床证明是检查乳管内病变的较好方法,如结合乳管灌注等方法可早于乳腺 X 线摄影几年检测到乳腺癌^[2]。

目前 FDS 被用于发现溢液乳管内肿物,并在乳管镜引导下对肿物行活检和手术切除;乳腺癌高危筛查等为 FDS 研究热点。其临床价值日见凸显。但我

们认为,在利用 FDS 行乳管内肿物诊断活检,高危患者筛查的同时,应对乳管镜在非肿瘤性良性病变疾病中的诊断及治疗价值应给予足够的重视。非肿瘤性良性病变疾病主要为乳管炎及乳管扩张症。周坚等^[3]报道占其研究病例 36.7%,李金峰等^[4]报道占其研究病例 52.0%,本组病例中占 79.2%。虽然统计数据存在差异,但均表明非肿瘤性良性病变疾病在乳头溢液中所占比例不容忽视。既往该类疾病除手术治疗外缺少有效治疗方法,现利用 FDS 可行非手术方法治疗,使患者免除不必要的手术创伤和精神负担。乳管炎及乳管扩张症在 FDS 下表现为导管相对扩张,管壁欠光滑呈毛绒状,管壁血管纹不清楚或充血,管壁附数量不等的絮状渗出物,管腔可有渗出物,严重者局部管腔狭窄或管腔内大量膜状物甚至闭塞,管壁较僵硬。我们对所发现非肿瘤性良性病变均利用生理盐水彻底冲洗管腔,排净冲洗液后庆大霉素 80000 IU 和地塞米松 5 mg 混合液灌注的方法进行治疗。治疗后 81 例溢液消失,有效率为 85.3%。国内罗永辉等^[5]也有类似报道,其治愈率为 85.7%,与我们的统计数据基本相似。本组病例治疗过程中患者无明显不适,方便、安全、创伤小,治疗后无感染等并发症,疗效确切。我们认为,对于非肿瘤性良性病变所致乳头溢液,利用 FDS 进行诊断,并行乳管灌注是一种非常有效的治疗手段,值得推广。

参 考 文 献

- 1 哈里斯,主编;王永胜,于金明,叶林,译. 乳腺病学(美)[M]. 济南:山东科学技术出版社,2006.45-49.
- 2 左文述. 现代乳腺肿瘤学[M]. 济南:山东科学技术出版,2006.9.
- 3 周坚,邹强,王红鹰,等. FDS 诊断乳头溢液的临床价值[J]. 外科理论与实践,2006,11(2):119-121.
- 4 李金峰,欧阳涛,王天峰,等. 纤维光导乳管镜用于乳头溢液的诊断[J]. 中华普通外科杂志,2004,19(12):725-727.
- 5 罗永辉,万雪婷,雷秋模,等. 乳管内视镜下灌注治疗在乳头溢液疾病中的应用价值[J]. 江西医学院学报,2006,46(5):129-130.

(收稿日期:2008-03-29)

· 综述 ·

间充质干细胞免疫调节作用研究进展

洪再发¹ 王效民²

【摘要】 间充质干细胞是除造血干细胞以外的一种成体干细胞,具有自我更新、横向分化和免疫调节作用。间充质干细胞本身具有低免疫原性;在体外试验中表现出免疫抑制的作用,具有诱导免疫耐受的功能。间充质干细胞抑制 T 细胞对同种抗原和分裂素刺激的增生,阻碍细胞毒性 T 淋巴细胞细胞的发育;另外对抗原呈递细胞、自然杀伤细胞、B 细胞等淋巴细胞都有相应的影响。

【关键词】 骨髓间充质干细胞;免疫调节;免疫抑制

Immunological regulation of mesenchymal stem cell HONG Zai-

Fa¹, WANG Xiao-Min² ¹Postgraduate of Grade 2006, Fujian Medical University, Fujian 350004, Cjina; ²Department of Hepato-Biliary Surgery, Xiamen Zhongshan Hospital of Xiamen University, Xiamen 361004, China

[Abstract] Besides the haemopoietic stem cell, mesenchymal stem cell (MSC) is an adult stem cell in the marrow. It has the ability to self-renew, differentiate into various kinds of tissue and regulate the immunological system. MSC possess low immunogenicity. It shows the immunosuppressive ability *in vitro* and has function of inducing immune-tolerance. MSC suppress accrementation of T cell response to the allotigen and mitogen and hinderes the development of cytotoxic T lymphocyte cell. In addition, MSC can influence antigen presenting cell, natural kill cell, B cell, and so on.

[Key words] mesenchymal stem cell; immunological regulation; immune suppression

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)首先由Friedenstein等^[1]描述,它具有自我更新、横向分化和免疫调节作用。MSC被认为具有免疫抑制和减轻炎症反应的作用^[1,2]。这种抑制作用是通过人类白细胞相关抗原依赖性机制而发挥的。

1 MSC与淋巴细胞的反应

人MSC表达中等水平的细胞表面MHC-II分子, MHC-II分子在他细胞表面没有检测到,但细胞溶解产物蛋白印迹显示细胞含有II类同种异体抗原的胞内沉淀物。只有恰当表达共刺激分子,细胞所表达MHC分子才能直接刺激T细胞。而人类MSC没有表达共刺激分子CD80(B7-1)、CD86(B7-2)或者CD40,即使在干扰素 γ (interferon factor- γ , INF- γ)刺激后也没有表达。然而,经INF- γ 刺激后且充分表达MHC-II类同种异体抗原的MSC,在存在抗原呈递细胞或者共刺激信号的情况下都不能引起T细胞增殖^[3,4]。

1.1 MSC-T细胞的相互作用

MSC与T细胞共孵育后:共孵育组T细胞在数量上明显减少;CD8⁺免疫调节性T细胞和CD4⁺CD25⁺免疫调节性细胞T细胞比例增加;CD25⁺T细胞减少;IL-2低分泌,而IL-4、IL-10高分泌^[5]。

在混合淋巴细胞反应和分裂素刺激淋巴细胞反应中MSC抑制原始T细胞和记忆T细胞反应^[6-7]。如果在6d的培养中,第1d加入MSC,其抑制效果最明显。MSC的抑制作用是MHC非依赖性,但具有剂量依赖性的。大剂量其抑制效果明显,小剂量经常会加强淋巴细胞的增生^[8]。若MSC经INF- γ 预处理其抑制效应会进一步加强^[6]。MSC的抑制作用与它的来源无明确的关系。

1.2 MSC在调节性T细胞中的作用

作者单位:¹350004 福州,福建医科大学2006级研究生;²361004 厦门,厦门大学附属中山医院肝胆外科

表达有CD25的原始CD4⁺T细胞亚群叫作调节性T细胞,而调节性T细胞具有潜在的抑制作用。MSC在IL-2刺激的淋巴细胞反应和混合型淋巴细胞反应中可增加CD4⁺CD25⁺T细胞和CD4⁺CD25⁺CTLA4⁺T细胞的比例。在MSC刺激分裂素激活的淋巴细胞之前就排除CD25⁺细胞不会影响MSC抑制T细胞增殖的能力^[9]。

1.3 MSC在辅助性T(Th)细胞和细胞毒性T(CTL)细胞方面的作用

在TH-1发育信号存在时,如CD3、CD28、IL-4、IL-2和IL-12的刺激下,原始T细胞(TH-0细胞)发育成熟为INF- γ 分泌细胞。若培养基中存在MSC, INF- γ 的分泌量会减少。MSC有诱导TH-0细胞向TH-2细胞分化的倾向^[10]。在混合淋巴细胞反应中,若一开始就加入MSC, MSC能抑制CD8⁺T细胞介导的胞溶作用^[11]。若在CD8⁺T细胞发挥细胞毒性溶解细胞时才加入,其不会影响CD8⁺T细胞的胞毒作用^[8,11]。如加入IL-2,其胞毒作用有所减轻。

1.4 MSC抑制T细胞的可能机制

MSC诱导TH-0细胞向TH-2细胞分化。淋巴细胞与MSC共培养发现IL-2低分泌,而IL-4、IL-10高分泌^[5]。其中IL-2可刺激T细胞增殖,使得TH1细胞增加,并激活细胞毒性T细胞CTL,从而诱导排斥反应。IL-4、IL-10作为免疫调节分子有抑制T细胞增殖的作用^[10]。

MSC分泌可溶性分子如转化生长因子-B1(TGF-B1)、干细胞生长因子(HGF)、吡啶胺2,3-二氧化酶(IDO)、其前列腺素E2(PGE2)及细胞间接触抑制同种异基因持刺激细胞或者有丝分裂原引起的T细胞增殖^[10]。TGF-B关系到细胞生长增殖,对免疫功能有抑制作用:抑制免疫细胞的增殖,包括所有类型T细胞、B细胞、细胞毒性T淋巴细胞、自然杀伤细胞;抑制免疫效应细胞的分化和活性等。HGF可能有助于免疫抑制环境的形成。IDO加双氧酶抑制T细胞

的增殖可催化色氨酸到犬尿素的转化,并可通过色氨酸的损耗来抑制 T 细胞的反应^[12]。PGE2 是由环氧合酶合成的,介导调节性 T 细胞的生成^[13]。在植物凝集素活化的淋巴细胞与 MSC 共培养的试验中,PGE2 合成抑制因子可以恢复大部分淋巴细胞的增生。MSC 通过可溶性因子抑制 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的发育成熟^[7,11,14]。这种抑制因子不是由 MSC 组成性分泌的,可能是通过细胞间接触才产生的^[1,15]。

MSC 通过上调 CD8⁺CD28⁺ T 细胞、CD4⁺CD25⁺ T 细胞,下调 CD4⁺ T 细胞改变 T 细胞亚群来发挥其抑制淋巴细胞增殖作用。CD4⁺CD25⁺ T 细胞在体外发挥抑制作用没有 MHC 限制性,能够抑制同种异基因或者是同种同基因 T 细胞增殖,且可以强烈抑制 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的活化。与 MSC 共培养的 T 细胞经刀豆蛋白 A 作用后,CD8⁺CD28⁺ 亚群所占的比例较未经 MSC 处理的 T 细胞显著增加^[16]。说明上调 CD8⁺CD28⁺ 亚群是 MSC 发挥其抑制作用的重要环节。

2 MSC 对 APC 的作用

树突状细胞(dendritic cell, DC)在培育过程中可分为成熟 DC 和不成熟 DC。不成熟 DC 在体外可诱导免疫调节性 T 细胞的活化,进而诱导免疫耐受^[5]。MSC 抑制 DC 的分化和成熟,干扰 DC 的内吞功能,减少 DC IL-12 的分泌,使其刺激同种异体 T 淋巴细胞增殖的能力减低^[17]。其机制可能是 MSC 具有抑制由 DC 诱导分化的 T 淋巴细胞增殖分化的作用,且 T 淋巴细胞与 MSC 共培养后,T 细胞亚群由 Th-1、CTL-1 向 Th-2、TCL-2 极化,这可能与 MSC 的负性免疫调节作用有关。

3 MSC 对自然杀伤细胞(NK 细胞)的作用

体外研究发现,在与效应性 T 细胞或纯化的 NK 细胞共培养时,MSC 可降低 Th1 细胞和 NK 细胞 INF- γ 的分泌水平和提高 Th2 细胞分泌 IL-4 的水平。Rasmusson 等^[11]研究了 MSC 对这两种细胞的影响,发现在不同时间点加入 MSC,对这两种效应细胞的作用效果不同。在混合淋巴细胞反应的第 1 d 加入 MSC,抑制作用可达 70%,在第 3 d 加入 MSC,裂解细胞的能力不受影响。MSC 可通过 IL-2 刺激 NK 细胞而减少 IFN- γ 的分泌量。

4 MSC 对 B 细胞的作用

MSC 被证明可以抑制由 B 细胞分裂原、美洲商陆分裂原或者是来自葡萄球菌的刀豆蛋白 A 诱导的淋巴细胞的增生^[18-19]。B 细胞的增生被停留在细胞分裂的 G0/G1 期阶段,没有无丝分裂的发生。当纯化的 B 细胞被活化时,MSC 与 B 细胞以 1:1 的比例

存在情况下免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)生成细胞和 IgG、IgA 的水平都有所下降^[18]。MSC 下调趋化性细胞因子受体 CXCR4、CXCR5 和 CCR7B 的表达;还有降低对 CXCL12、CXCR4 配体、CXCL13 和 CXCR5 配体的趋化性;表明大量的 MSC 可以抑制 B 细胞的趋化性特性。有试验表明 MSC 显著抑制同种来源的 B 细胞增殖和早期的活化(CD25 表达下降);而对晚期活化有促进作用(CD40 表达上升)。MSC 对 B 细胞增殖、早期活化和 IL-4 生成的抑制可能也会影响 B 细胞 IgG 的分泌下调。

5 展望

现在对于 MSC 的大部分认识来源于体外试验,更多临床体内试验还有待进一步研究。目前在欧洲有很多研究中心就关于 MSC 的临床应用进行联合试验^[5]。由于 MSC 具有非特异性免疫抑制活性,它也许会降低对体内病毒、真菌、细菌在体内的免疫活性。另外,MSC 移植会不会导致胞内病毒传染的问题还待进一步研究。由于 MSC 具有免疫抑制而且有可能减轻急性移植物抗宿主病,不知 MSC 是否会增加白血病复发的机会,因为它去掉了移植物抗宿主白血病效应。

总之,从体外试验、试验性动物模型到人体安全性和前瞻性的研究,MSC 正逐步应用在前瞻性的临床试验中。

参 考 文 献

- [1] Maitra B, Szekeley E, Gjini K, et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2004, 33(6):597-604.
- [2] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo[J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(1): 42-48.
- [3] Krampert M, Glennie S, Dyson J, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide [J]. *Blood*, 2003, 101(9): 3722-3729.
- [4] Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness [J]. *Blood*, 2005, 105(5): 2214-2219.
- [5] Le Blanc K, Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience [J]. *J Intern Med*, 2007, 262(5): 509-525.
- [6] Le Blanc K, Tammik L, Zetterberg E, et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells [J]. *Exp Haematol*, 2003, 31(10): 890-896.
- [7] Klyushnikova E, Mosca JD, Zemetkina V, et al. T cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells: immunogenicity, tolerance, and suppression [J]. *J Biomed Sci*, 2005, 12(1): 47-57.
- [8] Potian JA, Aviv H, Ponzio NM, et al. Veto-like activity of mesenchymal stem cells: functional discrimination between cellular responses to alloantigens and recall antigens [J]. *Immunol*, 2003, 171(7): 3426-3434.
- [9] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate

- allogeneic immune cell responses [J]. *Blood*, 2005, 105 (4): 1815-1822.
- [10] 乌仁娜,姚志娟,楼晓,等.骨髓间充质干细胞对异体 T 细胞几种细胞因子分泌的影响[J].中国免疫学杂志,2006,22(5):426-430.
- [11] Rasmussen I, Ringden O, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells[J]. *Transplantation*, 2003, 76(8): 1208-1213.
- [12] Munn DH, Zhou M, Attwood JT, et al. Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism [J]. *Science*, 1998, 281 (5380): 1191-1193.
- [13] Akasaki Y, Liu G, Chung NH, et al. Induction of a CD4⁺ T regulatory type 1 response by cyclooxygenase-2-overexpressing glioma [J]. *Immunol*, 2004, 173(7): 4352-4359.
- [14] Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation [J]. *Transplantation*, 2003, 75(3): 389-397.
- [15] Augello A, Tasso R, Negrini SM, et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway [J]. *J Immunol*, 2005, 35 (5): 1482-1490.
- [16] Filaci G, Suciu-Foca N. CD8⁺ T suppressor cells are back to the game: are they players in autoimmunity [J]. *Autoimmun*, 2002, 1 (5):279-283.
- [17] 曹伟杰,张萍,徐清芳,等.人骨髓间充质干细胞抑制单核细胞来源的树突状细胞的成熟和功能[J].中原医刊,2006,33(8):7-9.
- [18] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions [J]. *Blood*, 2006, 107 (1): 367-372.
- [19] Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex [J]. *Immunol*, 2003, 57(1): 11-20.

(收稿日期:2008-02-28)

通过蛋白组学方法筛选胰腺癌肿瘤标记物的研究进展

汤厚阔 陈炯*

【摘要】 蛋白质组(proteome)是指一种基因所表达的全套蛋白质,即一个细胞在特定生理或病理状态下表达的所有种类的蛋白质。蛋白组学是以蛋白组为研究对象,对蛋白组的研究不仅能为生命活动规律提供物质基础,也能为阐明众多疾病发病机理提供理论依据以及解决的途径。通过对正常个体和病理个体间的蛋白质组比较分析,就可以找到某些疾病特异性表达的蛋白分子,它们不但能成为新的药物设计的分子靶点,也能作为疾病尤其是肿瘤的标志物。

【关键词】 胰腺癌;蛋白组学;肿瘤标记物

Progress of proteomics in screening the diagnosis marker of pancreatic cancer

TANG Hou-Kuo, CHEN Jiong

Department of General Surgery, Affiliated Provincial

Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001, China

【Abstract】 The proteome is the entire complement of proteins expressed by a genome, cell, tissue or organism, which are all types of proteins expressed by one cell in the specific physiological or pathological states. The study of proteomics not only can help us to understand the general rules of activity of proteins, but also illuminate the pathologic mechanisms of numerous diseases. By proteomic analysis of normal individual and pathological individuals, we can find some disease-specific protein molecules, which not only can be a new target for drug design, but also can be a molecular markers of some diseases especially tumors.

【Key words】 pancreatic carcinoma; proteomics; tumor marker

蛋白组学是以蛋白组为研究对象,在整体水平上研究蛋白质的组成、调控以及活动规律^[1]。后基因时代蛋白组学技术的发展为寻找肿瘤标志物尤其是胰腺癌的肿瘤标志物提供了许多新方法,而肿瘤标志物的发现对肿瘤的预防、早期诊断、早期治疗、肿瘤的复发、肿瘤的转移等有着深远的意义。本文就目前蛋白质组学的研究方法、内容以及在胰腺癌肿瘤标志物筛

选方面的研究进展作一综述。

1 研究蛋白组学的方法

1.1 双向凝胶电泳(two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)

双向凝胶电泳在蛋白质的分离方面应用多年。2-DE 可以将数千种蛋白质同时分离,这是其他蛋白组学技术所无法比拟的,因此它已成为蛋白组学研究中首选的分离技术^[2]。它的原理是利用蛋白质不同的等电点和分子量,而在相互垂直的两个方向上运用等电聚焦电泳和十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电

基金项目:安徽省科技攻关计划项目(No. 07010302230)

作者单位:230001 合肥,安徽医科大学附属医院普外科

通讯作者:陈炯, Email: Ch_jiong@126.com