引用本文:郭伟,陈小爽,王晓磊,等.共刺激因子B7同源体4蛋白在胆囊腺瘤和胆囊腺癌中的表达[J].安徽医药,2021,25(1):44-47.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.01.011.**

◇临床医学◇

共刺激因子B7同源体4蛋白在胆囊腺瘤和胆囊腺癌中的表达

郭伟,陈小爽,王晓磊,展鹏远

作者单位:河南大学第一附属医院普通外科,河南 开封475001

基金项目:河南省医学科技攻关联合共建项目(LHGJ20190512);河南省高等学校重点科研项目(18A320020);开封市科技发展计划(130351)

摘要:　目的　研究B7-H4(B7同源物4)蛋白在胆囊腺瘤恶变为胆囊腺癌过程中的意义。**方法**　选取河南大学第一附属医院2005年6月至2015年6月符合条件胆囊腺癌病例共58例,采用免疫组织化学法检测B7-H4在胆囊腺瘤和胆囊腺癌中的表达。应用SPSS 17.0软件包对其表达分析,所有结果$\alpha=0.05$(双侧)检验水准。**结果**　B7-H4蛋白在胆囊腺瘤阳性表达率为15.00%(6/40),在胆囊腺癌阳性表达率为67.24%(39/58),差异有统计学意义($\chi^2=26.017$,$P<0.05$)。B7-H4蛋白在胆囊腺癌低-中分化组阳性表达率为69.44%(25/36),在高分化组的阳性表达率为33.33%(4/12),差异有统计学意义($\chi^2=4.907$,$P=0.027$)。B7-H4在胆囊腺癌TNM(Ⅰ+Ⅱ)和TNM(Ⅲ+Ⅳ)中表达差异无统计学意义($\chi^2=2.379$,$P=0.123$)。B7-H4阳性表达与病人的年龄和性别无相关($\chi^2=0.005$,$P=0.944$),与伴胆囊结石($\chi^2=7.608$,$P=0.006$)、肿瘤长径($\chi^2=6.522$,$P=0.011$)、淋巴结转移($\chi^2=3.928$,$P=0.047$)相关。Kaplan-Meier生存分析:B7-H4阳性表达组中位生存率为26月,95%*CI*:20.661~31.339,B7-H4蛋白阴性表达组中位生存期为22月,95%*CI*:6.359~37.641,Log-Rank(Mantel-Cox)显示:B7-H4蛋白表达阳性者与表达阴性者三年生存期差异无统计学意义($\chi^2=0.187$,$P=0.665$)。**结论**　B7-H4蛋白在胆囊腺癌中表达明显高于胆囊腺瘤。B7-H4蛋白的阳性表达与胆囊腺癌的分化程度、肿瘤长径、胆囊结石及淋巴结转移相关,与胆囊病理分期、年龄、性别无相关。

关键词:　胆囊肿瘤;　共刺激因子B7同源体4;　细胞分化;　肿瘤分期;　癌变

The expression of B7-H4 protein in gallbladder adenocarcinoma and gallbladder adenoma

GUO Wei,CHEN Xiaoshuang,WANG Xiaolei,ZHAN Pengyuan

Author Affiliation:Department of General Surgery,The First Affiliated Hospital of Henan University,Kaifeng,Henan 475001,*China*

Abstract:　Objective　To explore the significance of B7-H4 in the process of gallbladder adenoma becoming gallbladder adenocarcinoma.**Methods**　A total of 58 eligible cases of gallbladder adenocarcinoma from June 2005 to June 2015 in the First Affiliated Hospital of Henan University were selected,and the expression of B7-H4 in gallbladder adenocarcinoma and gallbladder adenoma was detected by immunohistochemistry.SPSS17.0 software package was used to analyze its expression,all results $\alpha=0.05$ (bilateral) test level,$P<0.05$ was statistically significant.**Results**　The positive expression rate of B7-H4 protein in gallbladder adenoma was 15.00% (6/40),and the positive expression rate in gallbladder adenocarcinoma was 67.24% (39/58),the difference was statistically significant ($\chi^2=26.017$,$P<0.05$).The positive expression rate of B7-H4 protein in the low-medium differentiated group of gallbladder adenocarcinoma was 69.44% (25/36),and the positive expression rate in the well-differentiated group was 33.33% (4/12),the difference was statistically significant($\chi^2=4.907$,$P=0.027$).There was no significant difference in the expression of B7-H4 in gallbladder adenocarcinoma TNM (Ⅰ+Ⅱ) and TNM (Ⅲ+Ⅳ) ($\chi^2=2.379$,$P=0.123$).The positive expression of B7-H4 was not correlated with the age and gender ($\chi^2=0.005$,$P=0.944$),but was correlated with gallbladder stones ($\chi^2=7.608$,$P=0.006$),tumor diameter ($\chi^2=6.522$,$P=0.011$),lymph nodes Metastasis ($\chi^2=3.928$,$P=0.047$).Kaplan-Meier survival analysis:The median survival rate of the B7-H4 positive expression group was 26 months,95%*CI*:20.661-31.339,the median survival time of the B7-H4 protein negative expression group was 22 months,95%*CI*:6.359-37.641,Log-Rank (Mantel-Cox) showed that there was no significant difference in the three-year survival between B7-H4 protein expression positive and negative expression ($\chi^2=0.187$,$P=0.665$).**Conclusions**　The expression of B7-H4 protein in gallbladder adenocarcinoma is significantly higher than that in gallbladder adenoma.The positive expression of B7-H4 protein is associated with the degree of differentiation,tumor diameter,gallstone of

gallbladder adenocarcinoma and lymph node metastasis,and is not associated with pathological stage,age and gender of gallbladder.
Key words: Gallbladder neoplasms; Costimulatory factor B7 homolog 4; Cell differentiation; Neoplasm staging; Carcinogenesis

胆囊腺瘤癌变率约1.5%,是公认的胆囊腺癌癌前病变。B7-H4蛋白于多种恶性肿瘤中表达,许多研究揭示B7-H4在多种人类实体肿瘤中过表达,表达水平与病人预后不良和临床转归差密切相关,推测其参与了肿瘤的免疫逃避。本研究运用免疫组织化学法(免疫组化),分别检测胆囊腺瘤和胆囊腺癌中B7-H4蛋白的表达,对其在胆囊腺瘤恶变过程中有无意义进行探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取河南大学第一附属医院2005年6月至2015年6月符合条件胆囊腺癌病例共58例;其中女性36例、男性22例;年龄范围为32~81岁,中位年龄为61岁;WHO 2010年版胆囊癌病理分型:腺癌(乳头状型)33例,腺癌(硬化型)13例,腺癌(管状型)7例,腺癌(黏液型)5例;高分化(Ⅰ级)12例,中分化(Ⅱ级)29例,低分化(Ⅲ级)17例;AJCC(美国癌症联合委员会)和UICC(国际抗癌联盟)联合制定的胆囊癌TNM分期(2015年):其中Ⅰ期10例,Ⅱ期5例,Ⅲ(A+B)期16例,Ⅳ(A+B)期27例。对照组选取同期胆囊腺瘤40例。58例胆囊癌病人的1年生存率41.86%,2年生存率25.58%,3年生存率5.7%,中位生存时间6.5个月。本研究中病例均得到病人或其近亲属知情同意,研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 纳入标准 ①胆囊腺瘤病理明确;②胆囊腺癌病理明确;③临床资料及随访资料完整;④胆囊腺癌术前无抗癌措施。

1.3 主要试剂和实验方法 主要试剂:mouseB7-H4 MAb(克隆号297219),Rat IgG2B,美国R&D公司(苏州瑞诺德生物科技有限公司分包);通用型超敏S-P免疫组化染色试剂盒。

实验方法:采集标本玻片,同等条件免疫组化染色。玻片制作流程:10%甲醛溶液固定;石蜡固定后包埋;4 μm切片;乙醇脱水;二甲苯透明。

1.4 结果判定标准 阳性细胞为胞膜和(或)胞质中出现定位良好的黄棕色颗粒,且染色高于背景者[1]。以磷酸盐缓冲盐水代替一抗作阴性对照。依据阳性细胞占比和染色强度判读结果:a按染色细胞占比计算分数(1分=阳性细胞数<1/3;阳性细胞数1/3<2分<阳性细胞数2/3;3分=阳性细胞数≥2/3)。b按染色深浅记算分数(0分=无染色:浅黄染色记1分;棕黄染色记2分;棕褐染色记3分)。积分数=a×b。阴性:积分数=0。阳性:积分数=0<(+)≤积分数=2;积分数=2<(++)≤积分数=4;积分数=4(+++)≤积分数=9。

1.5 统计学方法 应用SPSS 17.0进行本研究数据分析。两指标间关联分析:采用四格表χ^2检验。多组资料间的两两比较:采用行×列χ^2检验。生存率统计分析:采用Kaplan-Mier,Log rank检验。结果判读以$\alpha=0.05$(双侧)检验水准,$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 B7-H4分别在癌旁正常组织、胆囊腺瘤和胆囊腺癌中的表达 免疫组化显示:B7-H4蛋白主要染色于组织细胞的胞膜、胞浆和(或)胞核中。B7-H4蛋白在慢性胆囊炎、癌旁正常组织、腺瘤、腺癌组织中表达率分别为0.00%、0.00%、15.00%、67.24%。慢性胆囊炎(图1A)和癌旁正常组织(图1B)无表达;在腺瘤阶段以胞膜为主,同时也存在胞质表达(图1C);在腺癌阶段同时存在核表达、胞质及胞膜表达(图1D)。

2.2 B7-H4蛋白在胆囊腺瘤和胆囊腺癌中的表达 B7-H4蛋白在胆囊腺瘤的阳性表达率15.00%(6/40),在胆囊腺癌阳性率为67.24%(39/58),差异有统计学意义($\chi^2=26.017$,$P<0.05$)。

2.3 B7-H4蛋白在胆囊腺癌分级中的表达 B7-H4蛋白在胆囊腺癌低-中分化组的阳性表达率69.44%(25/36),高分化组的阳性表达率33.33%(4/12),差异有统计学意义($\chi^2=4.907$,$P=0.027$)。

2.4 B7-H4蛋白在胆囊腺癌分期中的表达 B7-H4蛋白在胆囊腺癌TNM(Ⅰ+Ⅱ)中阳性表达率86.67%(13/15),在胆囊腺癌TNM(Ⅲ+Ⅳ)中阳性表达率60.47%(26/43),差异无统计学意义($\chi^2=2.379$,$P=0.123$)。

2.5 B7-H4蛋白在胆囊腺癌中阳性表达与相关影响因素的分析 B7-H4蛋白阳性表达在年龄和性别差异无统计学意义($P>0.05$)。B7-H4蛋白阳性表达在伴胆囊结石、肿瘤长径和有无淋巴结转移中差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.6 生存分析 Kaplan-Meier生存分析,胆囊腺癌病例中B7-H4蛋白阳性表达组中位生存期为26月,95%*CI*:20.661~31.339,B7-H4蛋白阴性表达组中位生存期为22月,95%*CI*:6.359~37.641。Log-Rank(Mantel-Cox)显示:B7-H4蛋白表达阳性组与表达阴性组3年生存期差异无统计学意义($\chi^2=0.187$,$P=0.665$)。

表1　胆囊腺癌58例B7同源物4(B7-H4)蛋白表达结果与影响因素的分析/例

临床特征	例数	B7-H4		χ^2值	P值
		阳性表达	阴性表达		
年龄				0.005	0.944
≥60岁	37	25	12		
<60岁	21	14	7		
性别				0.014	0.905
男	22	15	7		
女	36	24	12		
胆囊结石				7.608	0.006
伴	48	36	12		
不伴	10	3	7		
肿瘤长径				6.522	0.011
<1 cm	23	11	12		
≥1 cm	35	28	7		
伴淋巴结转移				3.928	0.047
是	35	27	8		
否	23	12	11		

3　讨论

胆囊腺瘤是公认的胆囊腺癌的癌前病变。目前认为女性、年龄≥50岁和直径≥1 cm是其癌变的高危因素,胆囊壁增厚和合并胆囊结石是其癌变的独立危险因素。但癌变机制尚不清楚。

B7家族是唯一从抗原递呈细胞单向传递信号到T细胞的刺激因子,对激活或者抑制T细胞免疫应答十分重要。其中B7-H4的基因组DNA定位于第1号染色体上,由6个外显子和5个内含子组成。B7-H4 mRNA广泛分布于正常组织中,但通过免疫组化法检测正常人的肝、肾、胰腺、卵巢、肠道等组织中均未见阳性结果,表明正常的外周组织可能在翻译水平上对B7-H4的表达进行严密的调控[2],而在包括膀胱癌[3]、乳腺癌[4]、卵巢癌[5]、肝癌[6]、前列腺癌[7]、食管癌[8]、宫颈癌[9]、肺腺癌[10]、喉癌[11]、结直肠癌[12]等多种人类实体肿瘤中过表达,且表达水平与病人预后不良和恶性转归密切相关,提示B7-H4可能在恶性肿瘤中的发生中发挥作用。作为免疫调节蛋白B7家族一员,B7-H4与特异性受体BTLA分子结合,能显著抑制T细胞增殖分裂,阻遏细胞周期连续进行,促进T细胞凋亡,从而在肿瘤免疫中起抑制作用[13]。Choi IH等[14]研究显示B7-H4在大多数正常组织细胞中不表达或低表达,相反在85%卵巢癌和31%肺癌组织中阳性表达,其研究表明:B7-H4在正常外周组织的翻译水平上表达受到严格调控,B7-H4可能在逃避肿瘤免疫方面发挥作用。Liu WH等[15]研究显示B7-H4的异常表达可能使本来正常的巨噬细胞拥有了抑制功能,使其可能在膀胱尿路上皮细胞癌细胞逃避免疫系统的攻击中发挥一定作用。Meng Z等[16]和廖林虹、于晓红[17]研究亦显示B7-H4在多种恶性肿瘤中有很高的表达比例,而在正常组织中的低表达或缺失蛋白的表达。何涛等[6]研究显示过表达B7-H4可导致肿瘤细胞侵袭及转移能力增加,并发现该过程可能与细胞的EMT转化PI3K/AKT通路激活有关,同时也发现,B7-H4与CXCL-12趋化因子及其受体的转录及蛋白表达有关,B7-H4表达被下调后,细胞侵袭能力也随之下调。Zhang C等[18]发现B7-H4能够抑制B7-CD28的共刺激作用和抑制T细胞分泌IL-10和INF-1等因子。Abadi等[19]发现,剔除B7-H4基因小鼠可显著抑制乳腺癌细胞的肺转移。以上证据表明,B7-H4可抑制T细胞介导的抗肿瘤免疫应答,因此,B7-H4可能作为治疗某些肿瘤尤其是高表达B7-H4的恶性肿瘤的潜在靶点。

本研究亦显示:B7-H4蛋白在胆囊腺瘤及胆囊腺癌中均有阳性表达,并且在胆囊腺癌中表达明显高于胆囊腺瘤;B7-H4的蛋白阳性表达与胆囊腺癌的分化程度有关,其表达在低、中分化组与高分化组的阳性表达差异有统计学意义,但本研究并未观察到低、中分化组之间的差异,可能与本研究人数较少有关,今后增加研究人数,分析其相关性。B7-H4的蛋白阳性表达与胆囊结石、肿瘤长径及有无淋巴结转移密切相关,但与胆囊病理分期、年龄、性别无相关;胆囊腺癌中有无表达在3年生存率方面差异无统计学意义。

综上分析,提示B7-H4蛋白可能在胆囊腺瘤恶变为胆囊腺癌的起始发生中发挥作用,并使恶性程度升高,其机制有待我们进一步研究。

(本文图1见插图1-2)

参考文献

[1] 展鹏远王晓磊,郭伟,等.共刺激因子B7-H1蛋白在胆囊癌中的表达及与预后的关系[J].肿瘤防治研究,2015,42(11):1128-1130.

[2] 汝燕,李素梅.B7-H4与糖尿病关系的研究进展[J].安徽医药,2011,15(11):1332-1334.

[3] 黄卫,陈湘.可溶性B7-H4在膀胱癌诊断中的价值[J].中国现代医学杂志,2015,25(30):65-67.

[4] 虞培娟,朱旬,严茹红,等.负性分子B7-H4在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J].南京医科大学学报(自然科学版),2016,36(5):520-523.

[5] 何彦,吴梅娟,吴真真.胸苷激酶1和B7-H4在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J].中华实验外科杂志,2015,32(2):394-396.

[6] 何涛,胡洪,谢楠,等.B7-H4在肝癌组织中的表达及其对肝癌细胞侵袭、迁移的影响[J].安徽医药,2019,23(9):1774-1778.

[7] 武有志.前列腺癌组织B7-H4蛋白表达水平及其与患者不良预后的关系[J].东南大学学报(医学版),2019,38(1):103-108.
[8] 陈欣然,宋永志,单保恩.协同刺激分子B7-H4在食管癌前病变组织中的表达及临床意义[J].癌变·畸变·突变,2018,30(5):368-373.
[9] 马迪,马文超,唐芳兰,等.共刺激分子B7-H4在宫颈癌组织中的表达及其临床意义[J].中国计划生育和妇产科,2018,10(4):45-48,52.
[10] 刘爱红,陈小科.共信号分子B7-H4在人肺腺癌中的表达及临床意义[J].临床肺科杂志,2015,20(10):1791-1793.
[11] 陈莉莉,陈永文,李红,等.B7-H4在人喉癌组织中的表达及意义[J].免疫学杂志,2015,31(3):224-229.
[12] 黄健,李小宁,赵英伟.人结肠直肠癌组织中B7-H4的表达及其临床意义[J].安徽医药,2009,13(8):910-912.
[13] OIKONOMOPOULOU K, LI L, ZHENG Y, et al. Prediction of ovarian cancer prognosis and response to chemotherapy by a serum - based multiparametric biomarker panel [J]. Br J Cancer, 2008,99(7):1103-1113.
[14] CHOI IH, ZHU G, SICA GL, et al. Genomic organization and expression analysis of B7 - H4, , an immune inhibitory molecule of the B7 family[J].J Immunol,2003,171(9):4650-4654.
[15] LIU WH, CHEN YY, ZHU SX, et al. B7-H4 expression in bladder urothelial carcinoma and immune escape mechanisms [J]. Oncol Lett,2014,8(6):2527-2534.
[16] MENG Z, WANG F, ZHANG Y, et al. Correction: B7-H4 as an independent prognostic indicator of cancer patients: a meta-analysis [J]. Oncotarget,2018,9(16):13100.
[17] 廖林虹,于晓红.卵巢上皮-间质肿瘤中B7-H3、B7-H4的表达及临床病理意义[J].临床与实验病理学杂志,2012,28(7):775-779.
[18] ZHANG C, LI Y, WANG Y. Diagnostic value of serum B7-H4 for hepatocellular carcinoma[J].J Surg Res,2015,197(2):301-306.
[19] ABADI YM, JEON H, OHAEGBULAM KC, et al. Host B7x promotes pulmonary metastasis of breast cancer[J].J Immunol,2013,190(7):3806-3814.

(收稿日期:2019-05-30,修回日期:2019-09-04)

引用本文:斯琴高娃,徐静,哈斯棍,等.纤维支气管镜肺泡灌洗在机械通气下卒中相关性肺炎治疗中的应用效果研究[J].安徽医药,2021,25(1):47-50.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.01.012.**

◇临床医学◇

纤维支气管镜肺泡灌洗在机械通气下卒中相关性肺炎治疗中的应用效果研究

斯琴高娃[a],徐静[b],哈斯棍[b],张建强[b]

作者单位:包头市蒙医中医医院,[a]重症医学科,[b]肺病科,内蒙古自治区 包头 014040

基金项目:内蒙古医科大学青年创新基金项目(YKE2016QNCX050)

摘要: 目的 探究纤维支气管镜肺泡灌洗在治疗机械通气下卒中病人相关性肺炎中的应用效果。**方法** 研究对象为包头市蒙医中医医院2016年2月至2018年2月收治的80例卒中相关性肺炎行机械通气治疗的病人,将其采用随机数字表法分成观察组与对照组各40例,其中观察组40例病人采用纤维支气管镜肺泡灌洗治疗,对照组40例病人采用常规吸痰治疗。探讨实施不同治疗对血气指标、炎症指标及治疗指标的影响。**结果** 观察组病人治疗后在白细胞(9.63±0.91)×10^9/L、降钙素原(0.32±0.03)ng/mL、C反应蛋白(31.63±3.57)mg/L上显著低于对照组(11.77±1.54)×10^9/L、(0.61±0.06)ng/mL、(46.78±4.19)mg/L,(t=7.566、27.341、17.407,均P<0.05),观察组在动脉血氧分压(83.32±8.03)mmHg、动脉血氧饱和度(93.67±3.25)%上显著高于对照组(76.52±7.16)mmHg、(87.66±3.19)%,结果有统计学意义(t=3.997、14.958,P<0.05),在动脉血二氧化碳分压上观察组结果(41.63±4.57)mmHg明显低于对照组(58.78±5.63)mmHg,(t=14.958,P<0.05),观察组的CPIS评分在治疗后3 d(5.24±0.56)分、治疗后7 d(3.01±0.32)分上显著比对照组低(6.57±0.63)分、(6.57±0.63)分,(t=9.979、17.633,P<0.05),观察组在机械通气总时间(25.63±2.74)h和住院时间(14.24±1.96)h上显著比对照组短(57.61±5.84)h、住院时间(20.27±2.63)h,(t=31.354、11.627,P<0.05)。**结论** 将纤维支气管镜肺泡灌洗应用于机械通气下卒中相关性肺炎病人的治疗时,能显著缩短机械通气总时间、住院时间及抗生素使用时间,改善病人血气指标及炎症指标,此方法值得应用与推广。

关键词: 肺炎; 卒中; 肺炎,吸入性; 支气管肺泡灌洗; 卒中相关性肺炎; 呼吸,人工

Study on the effect of fiberoptic bronchoscopic alveolar lavage in the treatment of stroke-related pneumonia under mechanical ventilation

Siqingaowa[a], XU Jing[b], Hasigun[b], ZHANG Jianqiang[b]