·临床检验研究论著·

可溶性 B7H3 分子在肺癌患者血清中的表达及其临床意义*

王　蕾[1]，宁小晓[1]，李和根[2]，徐蔚杰[2]，周　蕾[2]，许　玲[2]
（上海中医药大学附属龙华医院：1. 检验科；2. 肿瘤科，上海 200032）

摘　要：目的　通过检测可溶性 B7H3（sB7H3）分子在肺癌患者血清中的表达水平，评价 sB7H3 分子在肺癌诊断及治疗中的临床应用价值。**方法**　收集上海中医药大学附属龙华医院支气管肺癌患者血清标本 196 例作为肺癌组，收集各类肺炎患者血清标本 50 例作为良性疾病组，以及 60 例健康体检者血清标本作为健康对照组。采用 ELISA 法检测各组人群血清中 sB7H3 水平，比较和分析 sB7H3 表达特点。**结果**　肺癌组 sB7H3 水平显著高于良性疾病组与健康对照组，差异均有统计学意义（$P<0.01$），良性疾病组与健康对照组间 sB7H3 水平差异无统计学意义（$P=0.139$）。肺癌患者 sB7H3 水平与患者的年龄、性别、组织病理分型及临床分期无关（P 分别为 0.503、0.133、0.810、0.074）。手术治疗的肺癌患者 sB7H3 水平高于未手术治疗的肺癌患者，差异有统计学意义（$P=0.014$）。**结论**　sB7H3 在肺癌患者的血清表达量升高，对肺癌的辅助诊断具有一定的临床意义。

关键词：肺肿瘤；　B7H3；　酶联免疫吸附测定
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.22.019　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)22-2986-02

Expression and clinical significance of soluble B7H3 in serum of lung cancer patients*

Wang Lei[1], *Ning Xiaoxiao*[1], *Li Hegen*[2], *Xu Weijie*[2], *Zhou Lei*[2], *Xu Ling*[2]
(1. *Department of Clinical Laboratory*;
2. *Department of Oncology, Longhua Hospital Shanghai University of TCM, Shanghai* 200032, *China*)

Abstract: Objective　To detect the expression of soluble B7H3 in serum of lung cancer patients, and to explore the clinical significance of soluble B7H3 in diagnosis and treatment. **Methods**　196 specimens out of the corresponding patients who had been diagnosed with lung cancer by Longhua Hospital Shanghai University of TCM were collected. 50 patients with other pulmonary diseases (OPD) were chosen as OPD group. 60 specimens of healthy people were collected as normal group. All the sB7H3 levels of the specimens were detected by ELISA and then the expression characteristic of sB7H3 could be analyzed. **Results**　The sB7H3 levels in lung cancer patients were significantly higher than that of OPD group and normal group ($P<0.01$). There was no significance between OPD group and the normal group ($P=0.139$). No significant difference of sB7H3 levels was observed in patieits of different sex, age, histological subtype or tumor stage ($P=0.503$, 0.133, 0.810, 0.074). The sB7H3 levels of lung cancer patients with operation were significantly higher than those without operation ($P=0.014$). **Conclusion**　sB7H3 is a valuable biomarker for lung cancer. And it suggests a clinical significance in the anriliary diagnosis of lung cancer.

Key words: lung neoplasms;　B7H3;　enzyme-linked immunosorbent assay

肺癌是严重危害人类健康和生命的重大疾病之一，2010 年世界卫生组织（WHO）公布的 2008 年全球统计结果显示[1]：肺癌是最为常见的恶性肿瘤，年新发病例 161 万，死亡 138 万，分别占恶性肿瘤的 12.7% 和 18.2%。在我国，肺癌的病死率在所有恶性肿瘤中居第一位[2]，成为我国第一大癌症，因此肺癌防治和早期诊断有十分重要的意义。目前已经发现多种与肺癌相关的血清肺癌标志物，其中具有临床价值的主要有：癌胚抗原（CEA）、糖类抗原 12-5（CA12-5），糖类抗原 19-9（CA19-9）、鳞癌抗原（SCC）、Cyfra21-1 和神经元特异性烯醇化酶（NSE）等。B7H3 分子是近年来新发现的共刺激分子 B7 家族成员，其对由 T 细胞介导的免疫反应在机体抗肿瘤过程中发挥着重要的作用[3]。目前国内外关于血清中可溶性 B7H3（sB7H3）分子在肿瘤诊治中的临床应用研究较少，本研究通过 sB7H3 在 196 例肺癌患者血清中表达水平的研究，探讨 sB7H3 在肺癌诊断及治疗中的临床价值。

1　资料与方法

1.1　一般资料　2011 年 8 月至 2012 年 1 月上海中医药大学附属龙华医院肺癌患者 196 例，作为肺癌组，其中男 115 例，女 81 例，中位年龄 63（37～85）岁。根据 2009 年国际抗癌联盟（UICC）修订的肺癌 TNM 分期标准[4]，196 例患者中有Ⅰ期 40 例、Ⅱ期 11 例、Ⅲ期 42 例、Ⅳ期 103 例；非小细胞癌 188 例、小细胞肺癌 8 例；有手术治疗史的患者 113 例、未经手术治疗患者 83 例。选择 50 例肺炎患者作为良性疾病组，其中男 26 例，女 24 例，中位年龄 75.5（24～95）岁。健康对照组 60 例，男 32 例，女 28 例，中位年龄 39（23～59）岁。

1.2　仪器与试剂　Wellscan MK3 酶标仪，购自于芬兰 Thermo 公司；sB7H3 试剂盒，购自于美国 R&D 公司。

1.3　方法　采集待检者清晨空腹静脉血 4 mL，20 ℃ 4 000 r/min 离心 5 min，－80 ℃ 冻存待测，避免反复冻融。采用 ELISA 法检测血清中 sB7H3，严格按照试剂配套说明书操作。

1.4　统计学处理　采用 Excel 2007 进行数据整理，采用 SPSS13.0 统计学软件进行统计学分析。组间比较采用非参数检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

*　基金项目：国家中医管理局中医肿瘤学科资助项目（LHZLK-1116）。　作者简介：王蕾，女，主任技师，主要从事实验室管理和临床实验室诊断学的相关研究。

2.1 各组 sB7H3 水平比较　肺癌组、良性疾病组、健康对照组的 sB7H3 水平分别为(19.78±7.27)、(14.61±5.84)、(16.00±4.25) ng/mL。肺癌组的 sB7H3 水平显著高于良性疾病组与健康对照组，差异均有统计学意义($P<0.01$)。良性疾病组与健康对照组间 sB7H3 水平差异无统计学意义($P=0.139$)。

2.2 肺癌患者 sB7H3 表达水平与患者性别、年龄的关系　肺癌组 sB7H3 水平与性别、年龄无关(P 分别为 0.503、0.133)，见表 1。

表 1　sB7H3 水平与性别、年龄的关系

项目		比例[n(%)]	sB7H3(ng/mL)	P
性别	男	115(58.67)	19.68±5.38	0.503
	女	81(41.33)	19.92±9.28	
年龄	≤60 岁	83(42.35)	19.75±9.36	0.133
	>60 岁	113(57.65)	19.80±5.18	

2.3 肺癌患者 sB7H3 水平与组织病理分型的关系　肺癌组中非小细胞肺癌患者与小细胞癌患者的 sB7H3 水平差异无统计学意义($P=0.228$)，非小细胞癌患者中按不同组织病理类型两两比较，其 sB7H3 水平均差异无统计学意义($P>0.05$)，见表 2。

表 2　sB7H3 水平与组织病理类型的关系

组织病理类型	比例[n(%)]	sB7H3(ng/mL)
非小细胞肺癌	188(95.92)	19.72±7.33
鳞癌	46(23.47)	18.98±5.10
腺癌	106(54.08)	20.03±8.46
大细胞癌	10(5.10)	22.07±10.13
混合细胞癌	26(13.27)	18.87±3.62
小细胞肺癌	8(4.08)	21.05±4.36

2.4 肺癌患者 sB7H3 与临床分期的关系　根据 TNM 分期，本次研究的 196 例患者中，Ⅰ期患者 40 例，占 20.41%；Ⅱ期患者 11 例，占 5.61%；Ⅲ期患者 42 例，占 21.43%；Ⅳ期患者 103 例，占 52.55%。Ⅰ～Ⅳ期肺癌患者的 sB7H3 水平分别为(17.52±3.59)、(21.01±3.73)、(20.4±6.57)、(20.26±8.58)ng/mL，Ⅰ期患者 sB7H3 水平最低，与Ⅱ期患者比较，差异有统计学意义($P=0.022$)，与Ⅲ期和Ⅳ期患者比较，差异无统计学意义(P 分别为 0.056、0.051)。

2.5 肺癌患者 sB7H3 水平与手术治疗的关系　肺癌组中接收手术切除肿瘤治疗的有 113 例，sB7H3 水平为(20.59±7.24)ng/mL；未经手术的有 83 例，sB7H3 水平为(18.67±7.10) ng/mL。手术治疗患者的 sB7H3 水平高于未接受手术治疗的患者，差异有统计学意义($P=0.014$)。

3　讨　论

B7H3 分子是 2001 年新发现的 B7 家族成员，是近年来肿瘤研究的热点。B7H3 最早由 Chapoval 等[5]从人树突状细胞来源的 cDNA 文库中克隆而来，其位于人染色体 15q24.1 上。B7H3 mRNA 在人体组织多种正常组织包括淋巴样组织和非淋巴样组织上表达，B7H3 在蛋白水平上的表达并不像 mRNA 水平表达广泛，仅表达于一些恶性肿瘤细胞、DC 细胞以及成纤维细胞[6-7]。本文基于对肺癌患者血清中 sB7H3 这一新指标的研究，结合临床资料，研究肺癌患者血清中 sB7H3 表达的特点，同时与良性肺部疾病和健康体检人群血清中 sB7H3 分子水平相比较，探讨 sB7H3 在肺癌患者血清中的表达水平，评价 sB7H3 在肺癌诊断及治疗中的意义和作用。

本研究中，肺癌患者 sB7H3 水平显著高于良性肺部疾病患者与健康体检人群($P<0.01$)，良性肺部疾病患者与健康体检人群间 sB7H3 水平无明显差异($P=0.139$)，说明 B7H3 在发生肺恶性肿瘤时表达升高，而良性病变则不会升高，提示外周血检测 sB7H3 对肺恶性肿瘤特异性高，在临床上对于区分良恶性病变有较高的诊断价值。

B7H3 自被发现以来，其生理学功能存在较大争议，作用机制至今不明。在本研究中，sB7H3 的表达水平与性别、年龄、组织病理类型和临床分期均无关，手术治疗过的肺癌患者 sB7H3 水平较未手术治疗过患者的高($P=0.014$)。而 Zhang 等[8]在关于血清中 B7H3 分子的研究中发现，非小细胞肺癌患者血清中 B7H3 其高表达与肿瘤的分级呈正相关性，与性别、年龄和组织学分型不相关，但也有研究认为 B7H3 分子在非小细胞肺癌中的表达水平与患者的年龄、性别、肿瘤大小、淋巴结的转移、病理分期均不相关，与淋巴细胞的浸润呈负相关[9]。这些研究结果提示 B7H3 分子可能在肿瘤的发生、发展中参与了多种作用机制。

B7H3 的作用可能是正性的也可能是负性的：早期的研究表明 B7H3 是 T 细胞的正性共刺激分子，它参与机体的细胞免疫应答，促进 $CD3^+$ 诱导的 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞的增殖，选择性诱导细胞因子干扰素-γ 和白细胞介素-10 的产生，促进 $CD8^+$ CTL 细胞的生长和分化，通过活化的 $CD8^+$ CTL 细胞来加强肿瘤细胞的免疫原性从而导致肿瘤的消退或延缓肿瘤的生长[10-11]。这也可能是本研究中接受手术的患者其 sB7H3 水平高于未接受手术的患者的原因，可接受手术治疗的患者相对病情相对较轻，该类患者 sB7H3 水平的升高可能有帮助患者延缓或消退肿瘤生长的作用；然而目前也有许多研究显示 B7H3 分子能够抑制 T 细胞增殖，降低干扰素-γ 的释放，$CD8^+$ CTL 细胞的活性降低，使 CTL 启动机体的肿瘤免疫机制受到影响[12-13]。B7H3 高表达的恶性肿瘤患者通常有较差的预后及生存期。究竟 B7H3 如何发挥作用，对 T 淋巴细胞进行调控的具体作用机制还有待于进一步深入的研究。

综上所述，sB7H3 分子在肺癌患者的血清表达量升高，对肺癌的辅助诊断有一定的临床意义，而 B7H3 对肿瘤免疫的调控机制还有待进一步研究。

参考文献

[1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. Int J Cancer, 2010, 127(12): 2893-2917.

[2] Chen W, Zhang S, Zou X. Estimation and projection of lung cancer incidence and mortality in China[J]. Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 2010, 13(5): 488-493.

[3] Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(4): 263-274.

[4] Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming(seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours[J]. J Thorac

(下转第 2990 页)

例小细胞的 B 细胞肿瘤中，以 SLL 为主，占 52.2%。从形态学来讲，外周 B 淋巴细胞瘤中除典型的 CLL、HCL、浆细胞样淋巴细胞淋巴瘤和边缘绒毛状细胞淋巴瘤可以作出初步诊断外，其他如 MCL、FL 和 MZL 等都很难作出准确的判断。在各个类型之间，细胞特征仍有细微的差异。本组病例经形态学和 FCM 结果相互印证发现，MCL 在骨髓像里，通常表现出 2 类细胞：一是形态特征与正常小淋巴细胞极为相似，仅易见伪足和核畸形变；二是部分细胞胞体偏大且大小不一，外形不规则，易见伪足和瘤状突起，胞质量较多，细胞核大，伴畸形；染色质偏细，部分有核仁。在化疗后，骨髓像发现通常第一类细胞减少不显著，第二类细胞减少明显。这种骨髓瘤细胞在经受细胞毒性药物杀伤后出现分化程度低的细胞减少，分化程度高的细胞不减的现象，可能就是 MCL 具备类似弥漫性大淋巴细胞淋巴瘤的侵袭性和低恶性度淋巴瘤的不可治愈性的细胞学表现[6]。FL 细胞在骨髓表现为偏成熟的淋巴细胞，胞体略大于小淋巴细胞，染色质粗，但不呈块状或龟背状改变。MZL 形态与 CLL 接近，但通常细胞膜外缘易见绒毛状突起。

大细胞幼稚型的 NHL 细胞可见于 BLL、TLL，形态学特征对病理分型帮助意义不明。大细胞原始型的 NHL 细胞可见于 DLCBL、B-LBL、T-LBL 和 NK 细胞淋巴瘤。从本组病例看 T 细胞和 NK 细胞淋巴瘤所占比例较高，共 66.7%。T 细胞淋巴瘤在 FCM 检测中胞浆 CD3 阳性对诊断价值较高，但由于 NK 或 NK/T 淋巴瘤可能丢失多个 T 细胞抗原标志，因此，NK/T 细胞淋巴瘤在骨髓中的诊断应综合分析。组织细胞型的 NHL 细胞多见于 T 细胞淋巴瘤和间变大细胞淋巴瘤，B 细胞淋巴瘤少见。其细胞特点在于细胞大小悬殊，外形极不规则，呈多种细胞形态改变，容易伴随浆细胞、组织细胞、吞噬细胞等反应性细胞增多，须与感染相关的噬血细胞综合征相鉴别[7]。

应用骨髓细胞形态学和流式细胞术联合检测 NHL 细胞 BMI，可以提高诊断的准确性并对大部分 NHL BMI 进行病理分型[8-9]。骨髓细胞形态学在对外周淋巴细胞肿瘤的诊断上，由于瘤细胞与正常淋巴细胞难以鉴别，容易漏诊，此时应用 FCM 技术联合检测可以帮助确定淋巴细胞是否是克隆性改变。在 T 细胞及 NK 细胞淋巴瘤的诊断上，由于伴发的髓系标志较多以及大量的 T 细胞标志丢失，FCM 诊断结果有不确定性，结合骨髓细胞形态学及细胞化学染色，可以最终明确诊断。

由于 NHL 在细胞形态和免疫表型的多样性和复杂性，很多 LBMI 的诊断仅靠骨髓细胞形态学和 FCM 还不能做到准确分型，需要结合淋巴结病理形态和免疫组织化学、染色体核型分析以及突变基因检测的结果进行综合分析判断[10]。

参考文献

[1] 江红. 侵犯骨髓的非霍奇金淋巴瘤细胞形态特点[J]. 广西医科大学学报，2009，26(6)：928.

[2] Howell SJ，Grey M，Chang J，et al. The value of bone marrow examination in the staging of Hodgkin′s lymphoma：a review of 955 cases seen in a regional cancer centre[J]. Br J Haematol，2002，119(2)，408-411.

[3] 任新明，肖瑛，杨宝珍，等. 非霍奇金淋巴瘤骨髓浸润的瘤细胞特点[J]. 宁夏医学杂志，2007，29(11)：967-968.

[4] 江红. 侵犯骨髓的非霍奇金淋巴瘤细胞形态特点[J]. 广西医科大学学报，2009，26(6)：928-929.

[5] 凌家瑜，孙晓非，严苏丽，等. 112 例淋巴系统恶性肿瘤骨髓免疫表型分析[J]. 癌症，2007，26(4)：418-422.

[6] Howe JG，Crouch J，Cooper D，et al. Real-time quantitative reverse transcription-PCR for cyclin D1 mRNA in blood，marrow，and tissue specimens for diagnosis of mantle cell lymphoma[J]. Clin Chem，2004，50(1)：80-87.

[7] 刘恩彬，陈辉树，杨晴英. 等. 非霍奇金淋巴瘤侵犯骨髓的病理形态及免疫表型特点分析[J]. 中国肿瘤临床，2005，32(16)：923-927.

[8] 万岁桂，孙雪静，惠吴函，等. 多参数流式细胞术检测 B 细胞非霍奇金淋巴瘤骨髓侵犯[J]. 中国实验血液学杂志，2010，18(2)：473-476.

[9] Stetler-Stevenson M，Braylan RC. Flow cytometric analysis of lymphomas and lymphoproliferative disorders[J]. Sem in Hematol，2001，38(2)：111-123.

[10] 王娜，谢守军，申兴斌，等. 细胞遗传学联合免疫细胞化学检查在首诊非霍奇金淋巴瘤骨髓侵犯中的应用[J]. 中国实验诊断学，2010，14(4)：582-584.

（收稿日期：2013-05-08）

（上接第 2987 页）

Oncol，2007，2(8)：706-714.

[5] Chapoval AI，Ni J，Lau JS，et al. B7-H3：A costimulatory molecule for T cell activation and IFN-γ production[J]. Nat Immunol，2001，2(3)：269-274.

[6] Sun M，Richards S，Prasad DVR，et al. Characterization of mouse and human B7-H3 genes[J]. J Immunol，2002，168(12)：6294-6297.

[7] Steinberger P，Majdic O，Derdak SV，et al. Molecular characterization of human 4Ig-B7-H3，a member of the B7 family with four Ig-like domains[J]. J Immunol，2004，172(4)：2352-2359.

[8] Zhang G，Xu Y，Lu X，et al. Diagnosis value of serum B7-H3 expression in non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer，2009，66(2)：245-249.

[9] 孙静，茆勇，顾文超，等. 协同刺激分子 B7-H3 在非小细胞型肺癌中的表达及其临床意义[J]. 中国免疫学杂志，2011，27(7)：594-596.

[10] Prasad DVR，Nguyen T，Li Z，et al. Murine B7-H3 is a negative regulator of T cells[J]. J Immunol，2004，173(4)：2500-2506.

[11] Sun X，Vale M，Leung E，et al. Mouse B7-H3 induces antitumor immunity[J]. Gene Ther，2003，10(20)：1728-1734.

[12] Luo L，Qiao H，Meng F，et al. Arsenic trioxide synergizes with B7H3-mediated immunotherapy to eradicate hepatocellular carcinomas[J]. Int J Cancer，2006，118(7)：1823-1830.

[13] Wu CP，Jiang JT，Tan M，et al. Relationship between co-stimulatory molecule B7-H3 expression and gastric carcinoma histology and prognosis[J]. World J Gastroenterol，2006，12(3)：457-459.

（收稿日期：2013-05-10）