

• 论 著 •

## BST-2 在 pSS 患者唇腺、外周血淋巴细胞中的表达及增殖作用\*

张 硕<sup>1</sup>, 高尔涵<sup>1</sup>, 达林泰<sup>2</sup>, 巴格那<sup>1</sup>, 杨文博<sup>1</sup>, 孙明启<sup>2</sup>

(1. 内蒙古自治区人民医院口腔科, 内蒙古呼和浩特 010017; 2. 内蒙古医科大学附属医院口腔科, 内蒙古呼和浩特 010059)

**摘要:**目的 探讨原发性舍格伦综合征(pSS)患者唇腺及外周血 B 淋巴细胞中骨髓基质细胞抗原 2 (BST-2) 的表达情况及其在 pSS 中的作用。方法 将 2017 年 9 月至 2018 年 3 月在内蒙古自治区人民医院接受治疗的 40 例 pSS 患者作为 pSS 组; 将同期体检的 30 例健康者作为对照组。采用实时荧光定量 PCR 检测纳入研究者的唇腺组织及外周血 B 淋巴细胞中 BST-2 的表达水平。免疫组织化学法检测唇腺组织内 BST-2 的表达情况, 并分析 BST-2 对淋巴细胞增殖的影响。结果 pSS 组的外周血 B 淋巴细胞和唇腺组织中 BST-2 的表达水平明显高于对照组( $P < 0.05$ ); pSS 患者唇腺组织中浸润的局灶性淋巴细胞和少数周围导管上皮内 BST-2 表达量较高, 而在对照组中仅在导管上皮细胞内存在散在性少量表达。连续切片的 pSS 患者唇腺组织染色显示, pSS 患者的唇腺组织内 CD19 染色阳性细胞和 BST-2 阳性细胞基本一致。结论 pSS 患者唇腺组织和外周血 B 淋巴细胞 BST-2 水平明显增高; BST-2 通过对腺体内 B 淋巴细胞的浸润及增殖, 参与 pSS 的发病及进展。

**关键词:**唇腺组织; CD19; B 淋巴细胞; 骨髓基质细胞抗原 2; 舍格伦综合征

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2020.05.008

**中图法分类号:**R446.63

**文章编号:**1673-4130(2020)05-0544-04

**文献标识码:**A

Study the BST-2 expressions in libial gland and peripheral blood lymphocyte  
and its effect in lymphocyte proliferation for pSS patients\*

ZHANG Shuo<sup>1</sup>, Gorhan<sup>1</sup>, Darlingtai<sup>2</sup>, Baghdad<sup>1</sup>, YANG Wenbo<sup>1</sup>, SUN Mingqi<sup>2</sup>

(1. Department of Stomatology, People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot, Inner Mongolia 010017, China; 2. Department of Stomatology, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010059, China)

**Abstract:** **Objective** To study the bone marrow stromal antigen 2 (BST-2) expressions in libial gland and peripheral blood lymphocyte and its effect in lymphocyte proliferation for primary Sjögren's syndrome (pSS) patients. **Methods** A total of 40 pSS patients treated from September 2017 to March 2018 in People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous were selected. 30 healthy check-ups were selected in control group. The expression of BST-2 in labial gland tissue and peripheral blood B lymphocytes was detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The expression of BST-2 in labial gland was detected by immunohistochemistry, and the effect of BST-2 on lymphocyte proliferation was analyzed. **Results** The expression level of BST-2 in peripheral blood B lymphocytes and labial gland tissue of pSS group was significantly higher than that of the control group ( $P < 0.05$ ); the expression level of BST-2 in infiltrating lymphocytes and a few peripheral ductal epithelium of pSS patients was higher than that of the control group, but only a small amount of BST-2 was scattered in the ductal epithelium. The results showed that CD19 positive cells and BST-2 positive cells were basically the same in the labial gland of pSS patients. **Conclusion** The level of BST-2 in labial gland and peripheral blood B lymphocytes of patients with pSS significantly increases, and BST-2 was involved in the pathogenesis and progress of pSS by infiltration and proliferation of B lymphocytes in glands.

**Key words:** labial gland; CD19; B lymphocyte; bone marrow stromal antigen 2; Sjögren's syndrome

\* 基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目[2017MS(LH)0844]。

作者简介: 张硕, 女, 主任医师, 主要从事口腔医学的相关研究。

本文引用格式: 张硕, 高尔涵, 达林泰, 等. BST-2 在 pSS 患者唇腺、外周血淋巴细胞中的表达及增殖作用[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41

舍格伦综合征是指泪腺、唾液腺等外分泌腺的淋巴细胞浸润,出现进行性破坏的慢性自身免疫性疾病,临床主要特征为眼干、口干等症状,临床又称干燥综合征。原发性舍格伦综合征(pSS)是指病变主要局限于自身外分泌腺;伴发其他自身免疫性病变者称为继发性舍格伦综合征<sup>[1]</sup>。pSS 的发病机制尚待深入研究,可能与激素水平紊乱、遗传易感性、病毒等诱发因素密切相关。骨髓基质细胞抗原 2(BST-2)是一种天然免疫蛋白,属于 II 型跨膜蛋白,其相对分子质量为  $(30\sim 36)\times 10^3$ 。有研究指出,BST-2 的表达主要受转录激活因子 3 和活化信号传导的调控,肿瘤细胞中的 BST-2 过量表达可促使癌细胞侵袭、迁移、增殖<sup>[2]</sup>。本研究探讨了 pSS 患者唇腺及外周血淋巴细胞中 BST-2 的表达水平及其对淋巴细胞增殖的作用,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 将 2017 年 9 月至 2018 年 3 月在内蒙古自治区人民医院接受诊治的 40 例 pSS 患者纳入研究作为 pSS 组,男 22 例、女 18 例,年龄 25~64 岁,平均  $(46.8\pm 4.2)$  岁,类风湿因子  $(150.3\pm 73.4)$  IU/mL, C 反应蛋白  $(4.5\pm 0.8)$  mg/L,红细胞沉降率  $(22.4\pm 3.1)$  mm/h,平均病程  $(34.2\pm 6.8)$  个月。纳入标准:符合世界卫生组织制定的 pSS 的诊断标准<sup>[3]</sup>;经临床检查、影像学检查、实验学检查确诊;均为初诊患者。将同期 40 例体检健康者作为对照组,男 21 例、女 19 例,年龄 25~64 岁,平均  $(46.7\pm 4.1)$  岁。本研究经内蒙古自治区人民医院医学伦理委员会审批通过,全部纳入研究者均自愿参加本研究并签署知情同意书。排除标准:接受免疫抑制剂、激素治疗者及原发性自身免疫疾病患者。pSS 组和对照组的平均年龄、性别构成等一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

**1.2 仪器与试剂** 主要仪器包括美国 BD 公司生产的 BD Calibur 型流式细胞仪,北京天根生化科技公司生产的高速组织研磨器,美国 Eppendorf 公司生产的 Centrifuge 5417R 型台式高速冷冻离心机,美国 ABI 公司生产的 ABI PRISM 7300 型实时荧光定量 PCR 扩增仪。检测试剂包括美国 BD 公司提供的 APC 凋亡检测试剂盒,日本同仁化学科技公司生产的 CCK-8 试剂盒,上海领科生物技术有限公司生产的慢病毒包装的 BST-2 过表达载体,美国 Sigma 公司生产的 RPMI 1640 培养基,上海基因科技有限公司提供的免疫组织化学二抗试剂盒,美国 Abcam 公司生产的 BST-2、CD19 单克隆抗体,上海生工生物技术有限公司生产的 BST-2 引物,日本 Takara 公司生产的 PCR 定量试剂盒、反转录试剂盒,美国 Invitrogen 公司生产的 Trizol 裂解液,加拿大 Cedarlane 公司生产的人淋巴细胞分离液。

## 1.3 标本收集

**1.3.1 切取标本** 全部患者接受唇腺活检手术,取部分唇腺标本,予以甲醛溶液固定,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,制作连续切片,厚  $4\ \mu\text{m}$ ,予以病理学诊断及免疫组织化学染色。其他标本置存于液氮内备用。

**1.3.2 外周单个核细胞分选** 空腹采集 15 mL 静脉血,在装有枸橼酸钠抗凝剂的无菌试管内。外周血单个核细胞(PBMC)用淋巴细胞分离液分选,采集三分之一离心后加入 Trizol 裂解液 1 mL,在  $-20\ ^\circ\text{C}$  环境下放置备用。

**1.3.3 分选 B 淋巴细胞** 将预留的 PBMC 悬液离心 10 min,  $1\ 500\ \text{r/min}$ ,除去上清液,加入磁珠缓冲液 80 mL,予以 EDTA 磁珠缓冲液(终浓度为 2 mmol/L,含 0.5% BSA),加入磁珠抗体(CD19)20  $\mu\text{L}$ ,冰上孵育 20 min,加入缓冲液 500  $\mu\text{L}$  重悬,移取至分选柱,缓冲液 500  $\mu\text{L}$  润洗,流净细胞混合液后,加入 2 次缓冲液 500  $\mu\text{L}$ ,转移分选柱至新的离心管内(容积 15 mL),滴加缓冲液 1 mL,针芯推送液体至离心管内,获得分选出的 CD19 阳性标记细胞(B 淋巴细胞),离心 10 min,除去上清液,加入裂解液 1 mL 备用。

**1.4 方法** 实时定量 PCR 检测:抽提的唇腺组织 RNA 中加入 Trizol,予以高速组织研磨器研磨至匀浆状态,加入 Trizol 细胞裂解液,室温置存 5 min,加入氯仿 200  $\mu\text{L}$ ,剧烈震荡 15 s,室温置存 10 min,  $4\ ^\circ\text{C}$  离心 15 min,  $12\ 000\ \text{r/min}$ ,吸取离心后的上层水相至 EP 管内,加入体积相同的异丙醇,轻轻混匀;室温下孵育 10 min 后,  $4\ ^\circ\text{C}$  离心 15 min,  $12\ 000\ \text{r/min}$ ,除去上清液,加入 75%乙醇 1 mL,混匀,无水乙醇,  $4\ ^\circ\text{C}$  离心 15 min,  $8\ 000\ \text{r/min}$ ,除去上清液,室温晾干后,加入 DEPC 水,混匀吹打后, RNA 纯度及浓度予以分光光度计检测。根据试剂说明书操作 PCR 扩增,由上海生工生物公司合成引物,以管家基因  $\beta$ -actin 表达量为内参分析数据。根据试剂盒说明书操作完成免疫组织化学检测。

**1.5 统计学处理** 全部数据进行 SPSS19.0 软件系统处理分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

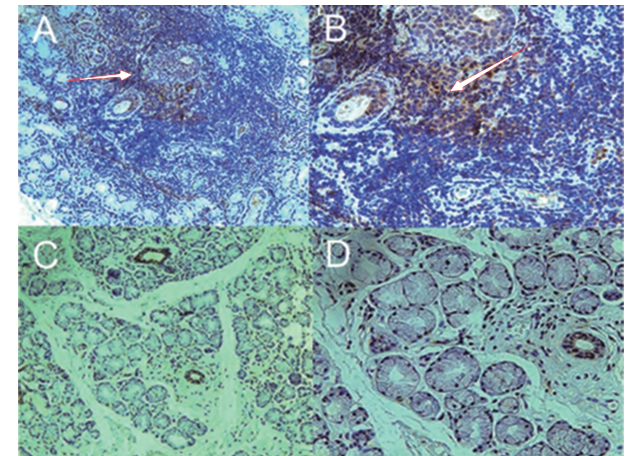
**2.1 实时定量 PCR 检测两组外周血 B 淋巴细胞和唇腺组织的 BST-2 表达** pSS 组的外周血 B 淋巴细胞和唇腺组织中 BST-2 的表达水平明显高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

**2.2 免疫组织化学法检测唇腺组织内 BST-2 的表达** pSS 患者唇腺组织中,在浸润的局灶性淋巴细胞和少数周围导管上皮细胞内 BST-2 表达量较高,而在对照组中仅在导管上皮细胞内散在性少量表达,见图 1。pSS 患者唇腺组织的连续切片免疫组织化学染色显



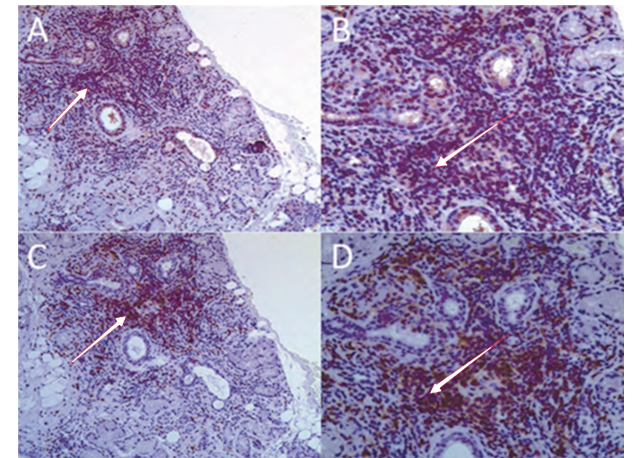
示,唇腺组织内浸润的局灶性淋巴细胞表达 BST-2 和 CD19,CD19 染色阳性细胞和 BST-2 阳性表达细胞基本一致,见图 2。

| 表 1 两组间外周血和唇腺组织中 BST-2 的相对表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ ) |          |                    |              |
|-----------------------------------------------------|----------|--------------------|--------------|
| 组别                                                  | <i>n</i> | 外周血 B 淋巴细胞中的 BST-2 | 唇腺组织中的 BST-2 |
| pSS 组                                               | 40       | 7.21±1.26          | 3.40±1.70    |
| 对照组                                                 | 40       | 1.64±0.53          | 1.22±0.61    |
| <i>t</i>                                            |          | 25.77              | 7.63         |
| <i>P</i>                                            |          | <0.01              | <0.01        |



注:A、B 为 pSS 患者唇腺组织切片染色(A 为 200×,B 为 400×);C、D 为对照组唇腺组织切片染色(C 为 200×,D 为 400×);箭头表示 BST-2 阳性染色。

图 1 免疫组织化学法检测唇腺组织内 BST-2 的表达情况



注:A、B 为 pSS 组唇腺组织 BST-2 染色(A 为 200×,B 为 400×);C、D 为 pSS 组唇腺组织内 CD19 染色(C 为 200×,D 为 400×);箭头表示 BST-2 阳性染色。

图 2 免疫组织化学法检测唇腺组织连续切片的 BST-2 和 CD19 表达

### 3 讨 论

目前多数研究 BST-2 的学者主要将精力集中在其对病毒复制的调控上,BST-2 通过限制病毒扩散,

从而抑制反转录病毒感染<sup>[4-5]</sup>。同时 BST-2 作为病毒感染的“感受器”,能诱导 NF-κB 活性,发挥出免疫防御功能<sup>[6]</sup>。BST-2 能促进人巨细胞病毒进入单核细胞,增强人巨细胞病毒的感染性<sup>[7-8]</sup>。还有研究显示,BST-2 可作为免疫球蛋白样转录因子 7 的配体,调控浆细胞样树突细胞分泌促炎因子<sup>[9-10]</sup>。因此部分学者认为 BST-2 对病毒起到双重作用,从而导致机体免疫功能紊乱,引起 pSS 的发生<sup>[11-13]</sup>。但 BST-2 在 pSS 中具体作用机制如何尚未完全明确。检测 pSS 患者唇腺及外周血淋巴细胞中 BST-2 的表达情况,探讨其对淋巴细胞增殖的作用已成为医学研究的热点<sup>[14-16]</sup>。

本研究探讨了 pSS 患者唇腺组织及外周血淋巴细胞中 BST-2 的表达情况及其对淋巴细胞增殖的作用。实时定量 PCR 检测显示,pSS 组的外周血 B 淋巴细胞和唇腺组织中的 BST-2 表达水平明显高于对照组;免疫组织化学检测显示,pSS 组唇腺组织中的局灶性浸润淋巴细胞和少数周围导管上皮内 BST-2 均有阳性表达,而在对照组中仅在导管上皮细胞内有散在性的阳性表达。根据外周血 B 淋巴细胞 BST-2 的表达情况分析,唇腺组织内的 B 淋巴细胞也可能表达 BST-2。对 pSS 组唇腺组织进行连续切片的标本分别进行 BST-2 和 CD19 的染色,CD19 染色阳性细胞和 BST-2 阳性细胞基本一致,与姜季委等<sup>[17]</sup>的研究结果大体一致。BST-2 主要通过多病毒的复制进行调控,对病毒的扩散进行限制,对反转录病毒感染进行抑制;BST-2 可作为病毒感染的“感受器”<sup>[18-19]</sup>,对 NF-κB 的活性进行诱导,发挥其免疫防御功能。骨髓基质细胞抗原-2 可促使人巨细胞病毒进入单核细胞等表达 BST-2 的细胞内,增强人巨细胞病毒的感染性<sup>[20]</sup>。同时,BST-2 可作为免疫球蛋白样转录因子 7 的配体发挥功能,对浆细胞样树突细胞产生的其他促炎因子及 IFN 进行调控,BST-2 对病毒的双重作用引发机体免疫功能失衡,进而导致 pSS 的发病。

### 4 结 论

pSS 患者唇腺组织和外周血 B 淋巴细胞 BST-2 表达水平明显增高,BST-2 可能通过调控腺体内 B 淋巴细胞的浸润及增殖,与 pSS 的发病及进展存在直接联系。

### 参考文献

[1] 霍阳,高旭光,冯敏,等.原发性舍格伦综合征患者交感皮肤反应特点分析[J].中国全科医学,2016,35(8):698-702.

[2] 徐虹,卢慧宇,杨雨田.原发性舍格伦综合征合并间质性肺病一例[J].中华老年医学杂志,2016,23(3):96-97.

[3] 王天祥,李金龙,柳洪志,等.原发性舍格伦综合征患者 Th22 细胞及其细胞因子 IL-22 的表达及意义[J].中国医科大学学报,2015,28(12):172-173.

[4] 杜世文,俞创奇,石欢,等.辅助性 T 细胞及其细胞因子与

- 原发性舍格伦综合征的相关性[J]. 国际口腔医学杂志, 2017, 21(2): 267.
- [5] 夏萍, 张梅兮, 穆森, 等. 舍格伦综合征患者唾液 MMP-9 表达与组织病理分级相关性研究[J]. 口腔医学研究, 2017, 35(12): 46-47.
  - [6] 陈婵, 郑凌艳, 石欢, 等. 骨髓基质细胞抗原 2 在原发性舍格伦综合征中的表达及意义[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2018, 40(5): 380-381.
  - [7] 王凯臣, 梁婷婷, 王永坤, 等. RNA 聚合酶 2 延长因子相关因子 2 通过调节骨髓极致抗原 2 的表达调控前列腺癌细胞的增殖与迁移[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 31(9): 4704-4705.
  - [8] 李丹, 何乐, 王红云, 等. 体外培养人骨髓基质细胞表面抗原检测及分化能力观察[J]. 山东医药, 2014, 6(12): 7854-7856.
  - [9] 孙泽林, 张亚卓. 单克隆人永生化骨髓基质干细胞分化能力与表面抗原 CD105 的相关性研究[J]. 中华医学杂志, 2016, 35(41): 698-702.
  - [10] 张亚婷, 方建培, 翁文骏, 等. 骨髓基质细胞及抗晚期抗原 4 抗体联合阿糖胞苷对急性髓系白血病 HL-60 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 白血病·淋巴瘤, 2016, 23(9): 96-98.
  - [11] 樊龙, 朱翠翠, 皮玉瑞, 等. 基质金属蛋白酶-14 和 Bst-2 通过蛋白质结构域相互作用而抑制 Bst-2 的生物活性[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2016, 28(3): 172-173.
  - [12] 夏荣木, 蒋启仓, 杨龙, 等. 表皮生长因子影响大鼠骨髓间充质干细胞增殖和迁移的信号通路[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(29): 267.
  - [13] 辛国荣, 倪健, 刘洋, 等. 骨髓间充质干细胞和干细胞因子在老年炎症性肠病的实验研究[J]. 中国老年保健医学, 2017, 35(5): 46-47.
  - [14] 黄泽楠, 刘忠军, 王静成, 等. 辛伐他汀对大鼠髓核间充质干细胞增殖及分泌功能的影响[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2017, 40(7): 380-381.
  - [15] 李凌君, 王雪野, 肖中平, 等. 二肽基肽酶 4 抑制剂西格列汀对胰岛基质细胞衍生因子 1 $\alpha$  降解及胰岛  $\beta$  细胞再生的影响[J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 31(5): 4704-4705.
  - [16] 黄丽玉, 郭阳. 原发性干燥综合征合并神经系统病变研究进展[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2019, 6(1): 7854-7856.
  - [17] 姜季委, 林梅青, 马兰, 等. 原发性中枢神经系统淋巴瘤合并干燥综合征和自身免疫性甲状腺炎一例[J]. 中华医学杂志, 2018, 31(33): 4704-4705.
  - [18] HOFMANN J J, BRIOT A, ENCISO J, et al. Endothelial deletion of murine Jag1 leads to valve calcification and congenital heart defects associated with Alagille syndrome[J]. Development, 2016, 139(23): 4449-4460.
  - [19] CHEN H, OROZCO L D, WANG J, et al. DNA methylation indicates susceptibility to isoproterenol-induced cardiac pathology and is associated with chromatin states [J]. Circ Res, 2016, 118(5): 786-797.
  - [20] HAMMITT K M, NAEGELI A N, VAN DEN BROEK R W M, et al. Patient burden of Sjögren's: a comprehensive literature review revealing the range and heterogeneity of measures used in assessments of severity[J]. RMD Open, 2017, 3(2): 440-443.

(收稿日期: 2019-06-28 修回日期: 2019-10-19)

(上接第 543 页)

- [9] 崔建英, 高蓉, 牛黎明, 等. 血清 cTnI、CK-MB、hs-CRP 联合 SAA 与 LDH1 在重症哮喘患者并发心肌损伤的相关性分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(1): 97-101.
- [10] 卿爽. 血清心肌酶谱、肌钙蛋白 I 和超敏 C-反应蛋白在手足口病患儿中的临床意义[J]. 中外医学研究, 2018, 16(3): 70-71.
- [11] 刘春艳, 龙佩, 朱薇. 血清肌钙蛋白 I、肌酸激酶同工酶及乳酸转氨酶联合检测对小儿手足口病诊断意义探讨[J]. 实用医院临床杂志, 2019, 16(1): 11-13.
- [12] 张海洋. 血细胞参数联合 CK-MB、cTnI 在冠心病诊断中的作用[J]. 实验与检验医学, 2019, 37(1): 130-132.
- [13] 谢博, 李瑞, 王姗姗, 等. hs-cTnT 联合 CK-MB 检测在诊断小儿病毒性心肌炎中的临床价值[J]. 黑龙江医药, 2019, 32(1): 198-200.
- [14] 谢加奖, 游攀, 蔡贤惠, 等. 肌酸激酶、肌酸激酶 MB 型同工酶在精神障碍疾病的临床价值[J]. 中国卫生标准管理, 2019, 10(1): 111-113.
- [15] 杨自慧, 李学云. 研究精神分裂症急性发作期患者心肌酶谱的变化[J]. 中国卫生标准管理, 2018, 9(22): 106-108.
- [16] International Organization for Standardization. Medical laboratories-Particular requirements for quality and competence: ISO15189[S]. Geneva: ISO, 2007.
- [17] Clinical and Laboratory Standards Institute. User demonstration of performance for precision and accuracy: EP15-A2[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- [18] National Committee for Clinical Laboratory. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: EP6-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [19] National Committee for Clinical Laboratory. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: C28-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2000.
- [20] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative methods: EP2-A2 [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- [21] 黄勤烽, 黄少铃, 王美珠, 等. 罗氏尿微量清蛋白检测试剂盒性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(15): 2055-2057.
- [22] 于森琛, 孙芹敏, 姜凤全. 强生 VITROS 5600 全自动生化免疫分析仪性能验证报告[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(1): 56-60.
- [23] 吴金斌, 欧嘉文. VITROS5600 分析仪检测 3 项心肌损伤标志物的性能评价[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(2): 3256-3259.

(收稿日期: 2019-06-03 修回日期: 2019-10-09)