

[文章编号] 1007-385X(2003)04-0235-04

淋巴细胞的伸入运动

杨介钻, 王小宁(第一军医大学分子免疫研究所, 广州 510515)

* 伸入运动(emperipolesis)是以白细胞或淋巴细胞出现于其他细胞胞浆内为特征的现象。淋巴细胞(lymphocyte)是分布于血液、淋巴液、淋巴器官及淋巴组织中体积较小的游离细胞,主要存在于外周淋巴器官或组织中。体内的淋巴细胞在血液循环系统和淋巴系统之间不断循环,被活化后具有进入外周组织的能力。淋巴细胞在与其他细胞接触过程中,出现了一种奇特现象——伸入运动,即淋巴细胞与另一细胞接触并进入后者胞浆的现象。已知淋巴细胞能伸入巨噬细胞、人或小鼠肠柱状上皮细胞、纤维母细胞、肝细胞、肌细胞及兔同种异体移植组织等。但淋巴细胞伸入细胞运动的病理生理学意义,伸入运动是在什么条件发生的,伸入运动与哪些疾病有关以及与伸入运动有关的一些分子机制都还不明确。下面就此做一阐述。

1 伸入运动现象及意义

淋巴细胞伸入运动是一种奇特的生物学现象。这一现象早在1925年就被发现。到了1956年Humble等^[1]重新把伸入运动描述为淋巴细胞侵入其他细胞并在其胞浆中活动的现象。关于伸入运动现象有不少的报道:由吸烟引起的鼻咽淋巴细胞增生的17位吸烟者为实验组和10位非吸烟者(5位慢性鼻窦炎,3位腺样肥大的成年人,2位患有腺样肥大的儿童)为对照组。在这2组中,发现浸润黏膜的淋巴细胞,经免疫组化确定为T细胞。在吸烟者的鼻咽黏膜半薄切片中可见变形和游走的细胞毒淋巴细胞。淋巴细胞贴于上皮细胞、纤毛细胞和杯状细胞,导致细胞破坏。吸烟者组织活检的透射电镜发现伸入运动现象,以许多渗透到细胞内的浸润T淋巴细胞引起上皮细胞破坏和黏膜浸润为特征^[2]。这些发现证实了吸烟对鼻咽淋巴组织的直接影响。另有报道^[3]在2例甲状腺肿瘤的手术过程中发现了胸腺组织,经涂片检查后表明是胸腺细胞伸入到胸腺上皮细胞内。而这在组织学上检测没被发现。这说明胸腺上皮细胞在淋巴细胞成熟过程中提供了机械支撑和扮演了主要的角色,即胸腺上皮细胞起到类似于保育细胞(nurse cell)的作用。

注射微量毒物凝集素(蓖麻蛋白普通凝集素-60, RCA-60)到迷走神经,选择性地破坏迷走神经输出神经元的同侧背部运动核。导致大量单核白细胞(巨噬

细胞,T-淋巴细胞)和少量的B淋巴细胞流入。同时也观察到单核细胞以血细胞渗出的方式进入背侧运动核的神经纤维网。渗透的淋巴细胞与迷走神经元胞体紧密结合或是进入其胞体内,其中一些细胞经历完整的轴-体突触接触,并且神经元内诱陷的淋巴细胞经历变性与分解过程,而巨噬细胞和浆细胞没在神经元胞体中出现。由此推测伸入运动的淋巴细胞是细胞毒T细胞。在这里RCA-60毒害的神经元可能表现出一种效应细胞与靶细胞接触的细胞毒作用形式^[4]。也有实验发现CD4⁺的淋巴细胞的伸入运动。滤泡树突状细胞(follicular dendritic cells, FDC)的伸入现象不被同种异型特异性T细胞和抗MHC-I/II抗原的单克隆抗体所抑制。并且FDC明显地吞食B细胞,单核细胞和巨噬细胞没有在FDC扩展的胞浆中发现。而当纯化的T-细胞群与FDC一起培养,T细胞的伸入运动就会发生,特别是CD4⁺T细胞,在出现伸入运动后的6h内淋巴细胞出现有丝分裂,在18h后淋巴细胞呈现凋亡现象。

另外也发现了NK细胞的伸入现象。Radosevic等^[5]使用共聚焦激光扫描显微镜和普通荧光显微镜研究NK细胞克隆与K562靶细胞间的细胞毒作用。观察到大约30%接触的NK细胞进入靶细胞内。并且NK细胞向靶细胞核接近或围绕核排列。若缺少钙离子这细胞毒过程将被抑制,没有肌动蛋白聚集和细胞伸入运动现象被观察到。另外发现细胞松弛素D(肌动蛋白聚合的抑制剂)能够完全抑制细胞的伸入运动和部分减少细胞毒活性;锌离子(抑制核酸内切酶)抑制伸入运动,使带有肌动蛋白聚集的靶细胞数量减少,并且与锌离子的浓度有关。因此他们认为伸入运动反映了细胞毒作用的重要功能,并且与依赖于细胞毒机制的肌动蛋白聚集和核酸内切酶活性有关。

2 淋巴细胞伸入运动与疾病关系

2.1 伸入运动是一种细胞毒现象

虽然淋巴细胞能伸入巨噬细胞、组织细胞、上皮细

[作者简介] 王小宁(1958-),男,山东省荣城市人,教授,博士生导师,主要从事分子免疫学研究
杨介钻(1973-),男,浙江苍南人,讲师,博士研究生

胞及内皮细胞等,但很多时候认为伸入运动是一种病理生理现象,伸入运动往往随着疾病的发生而出现。例如:伴有大块淋巴结病的窦状组织细胞增生(sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy, SHML)是一少见病种(以巨噬细胞、组织细胞家族的增殖为特征)。一位患有此病的62岁妇女颈部结节切片显示在以淋巴细胞和浆细胞为背景的切片上大组织细胞胞浆内保存完整淋巴细胞(伸入运动)。免疫组织化学提示SHML细胞是功能上活化的巨噬细胞。诊断后8个月,病人状况良好。一位在右胸上患有坚硬、黏连肿块已有1年的52岁妇女。穿刺活检和组织病理学检查发现浸润管状肿瘤,并以淋巴细胞的伸入运动为显著特征。该肿瘤对新佐剂化疗几乎完全敏感。这提示伸入运动可以诱导杀伤肿瘤效应,这效应可能与细胞因子的级联效应有关^[6],类似于CTL对靶细胞的杀伤作用。但也有发现淋巴细胞伸入运动对机体细胞的损害作用。在急性病毒性心肌炎中,NK细胞(进入心肌细胞)起主导作用。然后,致敏的细胞毒T细胞和活化的巨噬细胞通过它们与心肌靶细胞接近加剧了NK细胞介导的损伤。而在慢性期,非活化的NK细胞和细胞毒T细胞维持着这种细胞毒作用。使慢性病毒性心肌炎持续存在着。

伸入运动的发生意义并不限于此,有时观察到伸入运动现象有利于疾病的诊断。

2.2 伸入运动与疾病诊断

在4例局限于皮肤SHML病例中,观察到淋巴细胞伸入运动现象,另外免疫组织化学证明S100蛋白阳性出现于巨噬细胞中,这些发现有利于诊断组织细胞良性增生障碍伴有皮肤SHML^[7]。

环钻骨髓组织活检,固定液固定和石蜡包埋,苏木精和伊红染色及CD61单抗等用于鉴定超薄切片。发现在6例白血病人的骨髓中(1例是毛样细胞白血病,5例是慢性淋巴细胞白血病)有巨核细胞被伸入现象,这些巨核细胞胞浆中的单个生血细胞,大多数是淋巴细胞,偶而是嗜酸性粒细胞。但非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)的组织学类型、病症临床类型,病人年龄、性别等与伸入巨核细胞的发生率间没有相关^[8]。

腮腺RDD(rosai-dorfman disease, RDD)细胞学与组织学病理学特征是:显著的组织细胞增殖,其中有丰富的胞浆及淋巴细胞,并且以混合的炎症细胞浸润为背景^[9]。虽然此病很少影响中枢神经系统,但中枢神经系统可发生假的胞膜瘤。可能利用淋巴细胞伸入、S-100、CD68免疫染色阳性有助于鉴别假脑膜瘤^[10]。侵犯到中耳和外耳道的RDD是很少的,但通过鉴定淋

巴细胞的伸入运动及CD68、S-100免疫染色阳性、CD-1a阴性有助于确诊^[11]。

Das等^[12]报道了3例病人,用细针吸取活检(fine-needle aspiration, FNA)取病人下颌下颈淋巴结涂片,发现数量很多的组织细胞被淋巴细胞伸入,轻度的核扩张,少数组织细胞出现多核现象及反应性淋巴细胞。这表明FNA细胞学发现伸入现象是诊断SHML有用的手段。

3 其他细胞的伸入运动现象及意义

除了淋巴细胞的伸入运动外,常常还发现其他血细胞的伸入运动现象。也有人把细胞(通常是淋巴细胞、中性粒细胞)进入其他细胞,到处移动和离开而没经历吞噬作用称为伸入运动。Lee等^[13]发现Kupffers细胞(CD68免疫标签确定)肥大的胞浆中包含有4~8个有核红细胞。胞浆内的红细胞处于原核红细胞到网织红细胞的各个发育阶段,并且有的处于有丝分裂状态。没有发现伸入或被伸入细胞的受损情况。故他们认为胚肝中有核红细胞伸入Kupffers细胞的现象是胚肝中红细胞成熟的一个机制。在一位患有急性原巨核细胞淋巴瘤的2岁小孩中,在其骨髓标本中有中性粒细胞进入巨核细胞的现象。这细胞对IL-3起应答,可被反式-视黄酸抑制。细胞的核型是46,XX-16(16号染色体末端小部分易位)^[14]。另外用光学显微镜检查200例胃腺的切片,在22例中发现中性粒细胞在肿瘤细胞胞浆的现象(cannibalism,同类相食,类似于吞噬作用)。TUNEL染色确定肿瘤细胞内中性粒细胞凋亡的存在。因为占外周血白细胞总数2/3的中性粒细胞随时执行吞噬与消化微生物或其它异物的功能,进入肿瘤细胞的中性粒细胞的凋亡,这形态学特征提示人的胃腺癌逃避肿瘤免疫的可能机制^[15]。

通过大鼠实验发现,LPS处理的大鼠若再用抗LFA-1或抗ICAM-1抗体处理,其骨髓中性粒细胞伸入巨核细胞的发生率明显低于单用LPS处理的大鼠的^[16]。这提示巨核细胞被伸入现象部分依赖于黏附分子LFA-1/ICAM-1。另外也发现经LPS处理诱导大鼠骨髓巨核细胞吞食的一些中性粒细胞表现出特征性凋亡,其DNA片段用末端脱氧核苷酸转移酶介导的duTP-生物素切口末端标记法进行检测,确定伸入巨核细胞的中性粒细胞是凋亡而死的^[17]。这揭示巨核细胞有助于非特异性选择LPS处理过大鼠骨髓中过量的中性粒细胞。另外也发现经LPS处理的大鼠骨髓中血细胞伸入运动显著增加,伸入运动与血小板数量减少和巨核细胞中血小板加速生成紧密相关。

Aslan等^[18]报道了患有慢性中性粒细胞减少症的

男孩其发病机制可能与血细胞生成细胞伸入巨核细胞的症状有关。然而,巨核细胞伸入运动的病理生理学重要性还不确定,有的认为与肿瘤生成有关。也有研究发现中性粒细胞与巨核细胞的相互作用与骨髓纤维化的发病机制有关。中性粒细胞伸入到巨核细胞内,引起巨核细胞贮存细胞器的破坏和 α -颗粒漏入骨髓微环境中。 α -颗粒内二种重要的生长因子(PDGF, TGF- β)参加骨髓纤维化的产生(通过激活纤维细胞)^[19]。

4 与伸入运动类似的现象

伸入运动类似的现象,首先是吞噬作用(phagocytosis),也是一个细胞(颗粒)在另一细胞内的现象。但吞噬作用是效应细胞的主动过程,效应细胞通过其膜表面的分子把胞外细胞(颗粒)以胞吞方式吞噬入胞内形成吞噬体,然后与胞内溶酶体形成吞噬溶酶体,以此方式清除异物。周边运动(peripolysis)也是机体细胞呈现的一种现象,即淋巴细胞与其他细胞(通常是巨核细胞或隐蔽细胞,macrophage or veiled cell)接近,然后围绕(circle around)被接近的细胞,但没陷入被围绕的细胞。而伸入运动是淋巴细胞内陷(invaginates)进入靶细胞很深,以至于出现于靶细胞胞浆内。伸入运动是淋巴细胞的主动过程,这过程靶细胞膜是如何参与的还有待进一步研究。在肺部有疾患病人的支气管小泡灌洗液中,发现被淋巴细胞围绕的巨噬细胞没有受损,或只有暂时性的胞膜改变。用扫描和透射电子显微镜观察围绕着的淋巴细胞,结果显示其超微结构类似于小淋巴细胞的超微结构,这些细胞紧密地附在巨噬细胞表面,但没内陷。这提示周边运动可能是与肺部免疫应答调节有关的生理机制^[20]。

在多发性硬化空斑和一些脑肿瘤星形细胞胞浆中发现完整的、有活性的淋巴细胞(伸入的)。人类胚胎和成人星形细胞被淋巴细胞黏附钻入,是伸入运动而不是黏附,是温度和阳离子依赖性的,CD8和MHC I类分子在伸入运动中换演了重要的角色。在星形细胞胞浆内淋巴细胞通常保持活力,但偶而也经历溶解或者引起星形细胞中间极丝的破裂。伸入运动现象与吞噬作用有明显的区别,因为小胶质细胞表现出显著的吞噬特征而不参与伸入运动,而星形细胞具有明显的伸入运动特性,实验中很少发现吞噬作用^[21]。

5 结束语

淋巴细胞伸入运动这一奇特的生物学现象,很早就被人们所认识。以后也陆续发现了其他血细胞的伸入运动,并且在体内外实验中都得到证实。但人们还

不明确伸入运动这一过程中除了上面所述的膜表面分子参与外,是否有其它细胞分子或细胞因子的参与。伸入运动细胞主要是血细胞伸入其它细胞,还未见其他细胞伸入运动的报道。而在有的淋巴细胞伸入运动实验中发现主要是FcR⁺、SIg⁻亚群细胞的伸入运动,并且与靶细胞需预先被IgG抗体致敏有关。效应细胞伸入靶细胞后,可出现效应细胞凋亡、效应细胞细胞毒作用(经历靶细胞裂解或凋亡后效应细胞继续伸入另一细胞)或有利于效应细胞的生长成熟,但其规律如何?另外伸入运动的出现对疾病发生发展的影响如何?这些问题都需要有关研究者的进一步努力。

此外,更令人感兴趣的是淋巴细胞钻瘤现象(淋巴细胞伸入肿瘤细胞),Wang等^[22]在国内首先提出了单细胞水平的NK细胞钻瘤而致肿瘤靶细胞溶解模式,也发现钻入瘤细胞的淋巴细胞可能经历凋亡的过程,从而推测肿瘤细胞逃避机体的免疫监视。那么淋巴细胞的伸入运动是否是机体细胞免疫的一种表现,或者是一种机体免疫耗竭的病理过程,这问题已成为免疫学关注要点。随着分子生物学及免疫学技术的不断发展,及对上述问题进行深入研究。相信不久将来,人们掌握了淋巴细胞伸入运动的规律,通过对淋巴细胞伸入运动进行调控,从而可以进行肿瘤的治疗或干预肿瘤细胞的恶化。

[关键词] 淋巴细胞;伸入运动;细胞毒作用;细胞凋亡;免疫逃避

[中图分类号] R446.63; R730.2 **[文献标识码]** A

[参考文献]

- [1] Humble JG, Jayne WH, Pulvertaft RJ. Biological interaction between lymphocytes and other cells[J]. Br J Haematol, 1956, 2(3): 283-294.
- [2] Finkelstein Y, Malik Z, Kopolovic J, et al. Characterization of smoking-induced nasopharyngeal lymphoid hyperplasia[J]. Laryngoscope, 1997, 107(12pt 1): 1635-1642.
- [3] Nerurkar AY, Krishnamurthy S. Emperipolesis as a key feature in imprint cytology of the thymus: A report of two cases[J]. Acta Cytol, 2000, 44(6): 1059-1061.
- [4] Ng YK, Ling EA. Emperipolesis of lymphoid cells in vagal efferent neurons following an intraneural injection of ricin into the vagus nerve in rats[J]. Neurosci Lett 1999, 270(3): 153-156.
- [5] Radosevic K, van Leeuwen AM, Segers-Nolten IM, et al. Occurrence and a possible mechanism of penetration of natural killer cells into K562 target cells during the cytotoxic interaction[J]. Cytometry, 1995, 20(4): 273-280.
- [6] Saxena S, Beena KR, Bansal A, et al. Emperipolesis in a common breast malignancy. A case report[J]. Acta Cytol, 2002, 46(5): 883-886.
- [7] Ortiz-Hidalgo C, Cuesta-Mejias TC, Ochoa-Ochoa C, et al. Rosai-Dorfman disease limited to the skin. Four case reports[J]. Gac Med Mex, 2003, 139(1): 1-6.
- [8] Dzieciol J, Lemancewicz D, Kloczko J, et al. Megakaryocytes emperipolesis in bone marrow of the patients with non-Hodgkin's lym-

phoma[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2001, Suppl(2): 142-143.

[9] Juskevicius R, Finley JL. Rosai-Dorfman disease of the parotid gland: Cytologic and histopathologic findings with immunohistochemical correlation[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2001, 125(10): 1348-1350.

[10] Kitai R, Llana J, Hirano A, *et al*. Meningeal Rosai-Dorfman disease: Report of three cases and literature review[J]. *Brain Tumor Pathol*, 2001, 18(1): 49-54.

[11] Ahsan SF, Madgy DN, Poulik J. Otolaryngologic manifestations of Rosai-Dorfman disease[J]. *Int J Pediatr Otorhinaryngol*, 2001, 59(3): 221-227.

[12] Das DK, Gulati A, Bhatt NC, *et al*. Sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy (Rosai-Dorfman disease): Report of two cases with fine-needle aspiration cytology[J]. *Diagn Cytopathol*, 2001, 24(1): 42-45.

[13] Lee WB, Erm SK, Kim KT, *et al*. Emperipolesis of erythroblasts within Kupffer cells during hepatic hemopoiesis in human fetus [J]. *Anat Rec*, 1999, 256(2): 158-164.

[14] Skinnider LF, Pabello P, Zheng CY. Characteristics of a cell line established from a case of acute megakaryoblastic leukemia[J]. *Acta Haematol*, 1997, 98(1): 26-31.

[15] Caruso RA, Muda AO, Bersiga A, *et al*. Morphological evidence of neutrophil-tumor cell phagocytosis (cannibalism) in human gastric adenocarcinomas[J]. *Ultrastruct Pathol*, 2002, 26(5): 315-

321.

[16] Tanaka M, Aze Y, Fujita T. Adhesion molecule LFA-1/ICAM-1 influences on LPS-induced megakaryocytic emperipolesis in the rat bone marrow[J]. *Vet Pathol*, 1997, 34(5): 463-466.

[17] Tanaka M, Aze Y, Shinomiga K, *et al*. Morphological observations of megakaryocytic emperipolesis in the bone marrow of rats treated with lipopolysaccharide[J]. *J Vet Med Sci*, 1996, 58(7): 663-667.

[18] Aslan D, Yetgin S. Megakaryocyte emperipolesis in a child with chronic neutropenia: An unusual coexistence[J]. *Turk J Pediatr*, 2001, 43(3): 255-256.

[19] Schmitt A, Drouin A, Masse JM, *et al*. Polymorphonuclear neutrophil and megakaryocyte mutual involvement in myelofibrosis pathogenesis[J]. *Leuk Lymphoma*, 2002, 43(4): 719-724.

[20] Lyons DJ, Gantam A, Clark J, *et al*. Lymphocyte macrophage interactions: Peripolesis of human alveolar macrophages[J]. *Eur Respir J*, 1992, 5(1): 59-66.

[21] Furer M, Hartloper V, Wilkins J, *et al*. Lymphocyte emperipolesis in human glial cells[J]. *Cell Adhes Commun*, 1993, 1(3): 223-237.

[22] XN Wang, WJ Li. Mechanisms of natural killer cell-mediated tumor cell cytotoxicity at a single cell level[J]. *J Med Coll PLA*, 1987, 2(2): 107-117.

[收稿日期] 2003 - 09 - 01 [修回日期] 2003 - 10 - 15

· 研究简报 ·

[文章编号] 1007-385X(2003)04-0238-01

5-FU 和生物制剂联合诱导结肠癌细胞凋亡的研究

朱 强, 刘吉勇, 许洪伟, 徐 麟, 傅丽娜(山东省立医院消化内科, 济南 250021)

免疫治疗是抗肿瘤治疗的一个重要方面, 药物治疗和免疫治疗相结合是抗肿瘤治疗的一个重要研究方向。Fas 系统在结肠癌的肿瘤免疫中具有重要作用, 针对 Fas 系统的免疫治疗可能有一定效果。本实验旨在观察治疗结肠癌的首选药物 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 和抗 Fas 单抗对结肠癌细胞株 SW480 的联合作用及其作用机制。

将对数生长期的 SW480 细胞按 1×10^5 /ml 接种于 96 孔培养板, 24 h 后分为 10 μ g/ml 5-FU 组、1 μ g/ml 抗 Fas 单抗 (CH11) 组、5 μ g/ml 5-FU + 0.5 μ g/ml 抗 Fas 单抗组及空白对照 4 组, 与 SW480 细胞共培养。MTT 法检测细胞的存活率; TUNEL 法检测细胞的凋亡率; 免疫细胞化学法检测 5-FU 和/或抗 Fas 单抗处理前后细胞中 Bcl-2 的变化。

结果显示, 10 μ g/ml 5-FU、1 μ g/ml 抗 Fas 单抗、5 μ g/ml 5-FU + 0.5 μ g/ml 抗 Fas 单抗均可抑制细胞生长, 联合作用组抑制效果最明显, 其次是 5-FU 组, 抗 Fas 单抗组抑制效果较差。3 种方法均可诱导细胞凋亡, 在 48 h 时, 5-FU 组、抗 Fas 单抗组、联合组细胞的凋亡率, 比空白对照组高 ($P < 0.05$); 在 72 h 时, 联合组的凋亡率, 5-FU 组和抗 Fas 单抗组两两相比, 联合作用组诱导效果最明显, 其次是 5-FU 组, 抗 Fas 单抗

组诱导效果较差。5-FU 和/或抗 Fas 单抗与细胞共培养 72 h 后, 抑制 SW480 细胞 Bcl-2 表达的强度由高到低依次是联合组、5-FU 组、Fas 单抗组。以上结果表明, 抗 Fas 单抗、5-FU 均可抑制 SW480 细胞 Bcl-2 的表达, 5-FU 与抗 Fas 单抗对 SW480 细胞 Bcl-2 的表达有协同抑制作用。10 μ g/ml 5-FU 比 1 μ g/ml 抗 Fas 单抗对 SW480 细胞 Bcl-2 表达的抑制作用强。

Fas 途径调节细胞凋亡过程与 Bcl-2 的表达存在某种程度的耦联, Bcl-2 的表达可以部分地阻断 Fas 介导的凋亡。本实验的结果表明, 5-FU 和抗 Fas 单抗均可降低 SW480 细胞 Bcl-2 的表达率, 增强 Fas 信号传导。5-FU 和抗 Fas 单抗对诱导 SW480 凋亡有协同作用, 可以降低 5-FU 的用量, 减少副作用的发生。

[关键词] 肿瘤; 大肠; Fas 系统; 5-氟尿嘧啶; 抗 Fas 单抗; Bcl-2

[中图分类号] R735.35 [文献标识码] D

[收稿日期] 2003 - 06 - 02 [修回日期] 2003 - 08 - 10