

[文章编号] 1007-385X(2007)05-0466-05

EMP1 基因在人脑胶质瘤中的表达及其临床意义

张海涛¹, 卢亦成^{1*}, 何 金²(第二军医大学 1. 附属长征医院神经外科; 2. 附属长征医院病理科, 上海 200003)

[摘 要] 目的: 探讨上皮膜蛋白 1 基因(epithelial membrane protein 1, EMP1)在人脑胶质瘤中的表达及其与肿瘤恶性程度的相互关系。方法: 肿瘤组织标本均取自上海长征医院神经外科 2005 至 2006 年部分手术病例, 正常脑组织来源于捐献, 分别采用逆转录酶聚合酶链反应(RT-PCR)和免疫组化染色方法检测 33 例星形细胞瘤、3 例少枝胶质细胞瘤、2 例室管膜瘤以及 7 例正常脑组织标本中 EMP1 mRNA 及蛋白的表达。结果: EMP1 无论在基因还是在蛋白表达水平上, 在胶质瘤和正常脑组织中均有不同程度表达, 但在星形细胞瘤中表达的含量明显高于正常脑组织, 且在星形细胞瘤中含量随着其病理分级的增高而增高, 在低级别(WHO I ~ II 级)与高级别(III ~ IV 级)之间存在显著差异(蛋白 $P < 0.05$; 基因 $P < 0.01$)。结论: 基因 EMP1 在人脑胶质瘤中显著高表达, 并且与星形细胞瘤的恶性程度密切相关。

[关键词] 胶质瘤; 星形细胞瘤; 上皮膜蛋白 1 基因; RT-PCR; 免疫组织化学

[中图分类号] R739.41; R730.2 [文献标志码] A

Expression of epithelial membrane protein 1 in human gliomas and its clinical implications

ZHANG Hai-tao¹, LU Yi-cheng^{1*}, HE Jin²(1. Department of Neurosurgery, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 2. Department of Pathology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of epithelial membrane protein 1 (EMP1) in human glioma and its relationship with malignancy degree of tumors. **Methods:** The tumor specimens, including 33 astrocytomas, 3 oligodendrogliomas, and 2 ependymomas, were obtained during operation in the Department of Neurosurgery of Changzheng Hospital between 2005 and 2006; seven normal brain tissue samples came from donation. The expression of EMP1 mRNA and protein was detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and immunohistochemical staining. **Results:** The expression of EMP1 mRNA and protein was detected in the gliomas and the normal brain tissues, with the expression in the astrocytoma specimens significantly higher than that in the normal brain tissues ($P < 0.01$); besides, the expression in astrocytomas increased with the pathological grades, with significant difference found between the WHO I - II and WHO III -IV grades ($P < 0.05$ for protein, $P < 0.01$ for mRNA). **Conclusion:** EMP1 is highly expressed in human glioma and the expression is closely related to the malignant degree of astrocytoma.

[Key words] glioma; astrocytoma; epithelial membrane protein 1; RT-PCR; immunohistochemistry

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(5): 466-470]

脑胶质瘤侵袭性生长和术后复发是目前临床治疗疗效差和患者死亡的主要原因, 这一过程涉及肿瘤细胞黏附、细胞迁移、细胞增殖分化、凋亡等诸多环节。基因上皮膜蛋白 1(epithelial membrane protein 1, EMP1)基因位于第 12 号染色体长臂上^[1-2], 编码一种含 4 段跨膜区域的糖蛋白^[3], 参与涉及细胞周期调控、肿瘤形成、肿瘤细胞增殖及分化等多方面的细胞间信号传导通路^[4]。EMP1 基因在胃癌、乳腺癌及子宫平滑肌瘤等许多肿瘤中均显著表达, 但在脑胶质瘤方面的研究很少。因此, 本研究采用逆转录酶聚合酶链反应(reverse transcription-poly-

merase chain reaction, RT-PCR)和免疫组织化学的方法, 分别从基因和蛋白水平上对 EMP1 在人脑胶质瘤中的表达含量进行检测, 并进一步探讨其表达是否与胶质瘤恶性程度存在着联系。

[基金项目] 国家高科技研究发展(863)计划项目(No. 2005AA001070)。Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (No. 2005AA001070)

[作者简介] 张海涛(1980-), 男, 浙江绍兴人, 硕士生, 主要从事神经外科方面的研究

* Corresponding author. E-mail: lycheng@sh163.net

1 材料与方法

1.1 研究对象

全部标本总计 45 例,其中 33 例星形细胞瘤,3 例少枝胶质细胞瘤,2 例室管膜瘤以及 7 例正常脑组织标本;按 WHO 病理分级将星形细胞瘤分为 I ~ IV 级: I 级 1 例, II 级 13 例, III 级 5 例, IV 级 14 例。肿瘤标本均取自上海长征医院神经外科 2005 至 2006 年部分手术病例,其中正常脑组织来源于捐献,全部于实验室液氮内保存。新鲜标本进行 RT-PCR 检测,与其相对应的石蜡标本用于免疫组化染色,石蜡切片取自上海长征医院病理科。

1.2 RNA 提取、纯化及 cDNA 合成

抽提 RNA 时每例标本取 200 mg 组织置于液氮中,击碎,加入 1 ml Trizol Reagenl 试剂(GIBCO BRI 公司),匀浆后按说明书提取组织总 RNA,并用寡聚(dT)纤维素进行纯化,然后用美国 Beckman 公司的 DU-640 型核酸蛋白分析仪在波长 260 nm 检测 RNA 浓度,同时检测 280 nm 波长时的光密度值,确定 RNA 的纯度。最后,用 Reverse Transcription 试剂盒(Invitrogen 公司)将 RNA 反转录成 cDNA。

1.3 引物设计、合成及 PCR 反应

引物由上海基康生物技术公司设计并合成。*EMP1* 基因的上游引物序列为 5'-ATTGCCAAT-GTCTGTTGGTTT-3', 下游引物序列为 5'-AGAACGCCGATGATGAAGCT-3', 扩增产物长度为 380 bp;内参照基因为 β -Actin, 上游引物序列为 5'-CCTGGCACCCAGCACAAT-3', 下游引物序列为 5'-GCTGATCCACATCTGCTGGAA-3', 扩增产物长度为 118 bp。PCR 反应在 PE-9600 型热循环仪上进行, 20 μ l 的反应体系中加入 10 \times 上样缓冲液 2 μ l, 25 mmol/L MgCl₂ 1.2 μ l, 10 mmol/L dNTP 0.2 μ l, β -Actin 引物各 0.3 μ l, *EMP1* 引物各 0.3 μ l, 2.5 U/ μ l Taq 酶 0.3 μ l, 反转录产物 5 μ l, 加 DEPC(二乙基焦磷酸胺)处理过的的水至 20 μ l。95 $^{\circ}$ C 5 min 预变性, 94 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 58 $^{\circ}$ C 40 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 30 s, 共 30 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 4 $^{\circ}$ C 冷却后 -20 $^{\circ}$ C 保存。

1.4 半定量 RT-PCR 检测不同组别胶质瘤及正常脑组织中 *EMP1* mRNA 的表达

将进行半定量 RT-PCR 检测的 PCR 产物加溴酚兰,反复吸打混匀后在瑞典 Bio-Rad 公司的水平电泳仪上进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察结果并照像。半定量分析采用 Tanon GIS-2010 型紫外分光仪全自动凝胶成像分析系统分析灰度值,用 *EMP1*/ β -Actin mRNA 灰度值比表示 *EMP1* mRNA

相对表达量。

1.5 免疫组织化学染色检测不同组别胶质瘤及正常脑组织中 *EMP1* 蛋白的表达

将每例石蜡标本切片 3 张,厚度为 3 ~ 4 μ m,采用 EnVision 法染色,该法可以减少非特异染色,大大提高敏感性,按 EnVision 试剂盒操作说明进行各组的 *EMP1* 免疫组织化学染色。*EMP1* 鼠抗人多克隆抗体(Abnova, 中国台湾)稀释比例为 1:200。阳性对照用已知 *EMP1* 表达阳性的组织切片,阴性对照用磷酸盐缓冲液代替一抗。以细胞核、胞质和(或)胞膜内出现棕色、棕黄色染色为阳性细胞。

阳性染色判定:在 400 倍视野下,随机选择 10 个视野,计数 500 ~ 1000 个细胞,分别计算各组中抗体的阳性细胞率。根据阳性细胞率及染色强度按下述标准分级:(1)阴性(-),随机视野中无阳性细胞发现;(2)弱阳性(+),细胞核、胞质和(或)胞膜内均匀分布浅棕黄色反应,阳性细胞数少于 25%;(3)中等阳性(++),深棕黄色反应,阳性细胞数 25% ~ 50%;(4)强阳性(+++),棕黑色反应,呈粗大颗粒或块状着色,阳性细胞数 > 50%。

1.6 统计学处理

采用 SPSS10.0 软件进行统计处理,RT-PCR 检测的实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间的表达差异应用成组 *t* 检验进行分析;免疫组化的阳性表达率属于计数资料,采用 χ^2 检验分析比较各组间的差异,各两组间采取 Fisher 确切概率法。

2 结果

2.1 不同组别胶质瘤及正常脑组织中 *EMP1* mRNA 的表达

检测时将星形细胞瘤按病理级别分为两组, I、II 级为低级别组, III、IV 级为高级别组。结果显示 *EMP1* mRNA 在各组中均有不同程度表达,但在星形细胞瘤中的表达含量增高尤为明显,与正常脑组织比较差异有统计学意义($P < 0.01$),并且随着病理级别的增高而增高,高、低级别之间差异也有($P < 0.01$,图 1,表 1)。

2.2 不同组别胶质瘤及正常脑组织中 *EMP1* 蛋白的表达

EnVision 染色结果显示 *EMP1* 蛋白在各组中均有不同程度表达,主要在细胞质中呈现棕黄色粗细不均匀的颗粒。正常脑组织的阳性表达率为 28.6% (2/7),星形细胞瘤总的阳性表达率为 75.8% (25/33),其中低级别的阳性表达率为 57.1% (8/14),高级别为 89.5% (17/19),高级别星

形细胞瘤中 *EMP1* 染色的阳性程度较低级别明显增强(图2,表2)。*EMP1* 蛋白在星形细胞瘤中的表达显著高于正常脑组织($P < 0.05$),高、低级别比较有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 不同组别胶质瘤及正常脑组织中 *EMP1* mRNA 的表达($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Expression of *EMP1* mRNA in different gliomas and normal brain tissues

Group	n	<i>EMP1</i> mRNA/ β -Actin mRNA
Normal brain tissue	7	0.406 94 \pm 0.007 59
Astrocytoma	33	0.796 31 \pm 0.200 34 ^{**}
Low grade	14	0.599 41 \pm 0.039 13
High grade	19	0.941 39 \pm 0.133 70 ^{**$\Delta\Delta$}
Oligodendroglioma	3	0.556 47 \pm 0.026 93
Ependymoma	2	0.480 60 \pm 0.075 15

^{**} $P < 0.01$ vs normal brain tissue; ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ vs Low grade.

Low grade: Astrocytoma WHO grade I and II; High grade: WHO grade III and IV

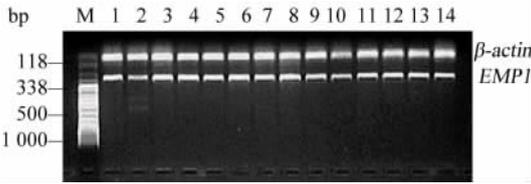


图1 *EMP1* 基因在人正常脑组织、胶质瘤中的表达

Fig.1 Expression of *EMP1* mRNA in human normal brain tissues and gliomas

M: 100 bp DNA ladder; 1-2: Normal brain tissues; 3-5: Astrocytoma grade IV; 6-8: Astrocytoma grade III; 9-11: Astrocytoma grade II; 12: Astrocytoma grade I; 13: Oligodendroglioma; 14: Ependymoma

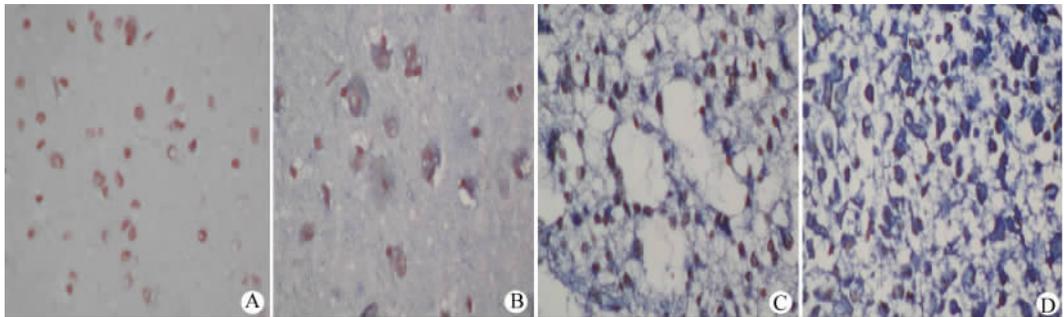


图2 正常脑组织及星形细胞瘤中 *EMP1* 蛋白的表达

Fig.2 Expression of *EMP1* protien in different gliomas and normal brain tissue (EnVision, $\times 400$)

A: Negative control staining in normal brain tissue; B: Positive expression of *EMP1* in normal brain tissues; C: Positive expression of *EMP1* in astrocytoma grade II; D: Positive expression of *EMP1* in astrocytoma IV

表2 不同组别胶质瘤及正常脑组织中 *EMP1* 蛋白的表达

Tab.2 Expression of *EMP1* protien in different gliomas and normal brain tissue

Groups	n	Positive number [n(%)]	Positive degree			
			-	+	++	+++
Normal brain tissue	7	2(28.6)	5	2	0	0
Astrocytoma	33	25(75.8) [*]	8	7	12	6
Low grade	14	8(57.1)	6	5	2	1
High grade	19	17(89.5) ^{*Δ}	2	2	10	5
Oligodendroglioma	3	2(66.7)	1	1	1	0
Ependymoma	2	1(50.0)	1	0	1	0

^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ vs normal brain tissue group; ^{Δ} $P < 0.05$ vs low grade group

3 讨论

EMP1 最早由瑞士科学家 Taylor 等^[5]于 1995

年发现,并根据其不同方面的作用而有很多命名,如 TMP、PAP、CL-20、B4B 等^[6]。*EMP1* 约由 160 个氨基酸残基组成,依据其所含疏水基团的不同又分为 *EMP1*、*EMP2*、*EMP3* 等 3 亚种,同时认为 *EMP1* 与 PMP22(peripheral myelin protein 22, 周围髓磷脂蛋白 22)同属于一类生物学功能特异的蛋白家族,约有 40% 与 PMP22 具有高度同源性^[7]。PMP22 主要集中于周围神经系统的神经膜细胞中,参与神经膜细胞的生长和分化,而 *EMP1* 在神经元的分化及轴突的生长方面也起到了一定的作用^[8]。随后又有研究^[9]表明,在未分化的胚胎干细胞中发现 *EMP1* 高表达,在已分化成体细胞的组织中低表达,延长了神经膜细胞的 G₁ 至 S + G₂/M 期的进程,并认为这类膜糖蛋白家族与细胞增殖、分化密切相关。PMP22/*EMPs* 的第一个亲水基团在细胞外形成一个

或多个同序列的环状结构^[10],可以与糖基化的氨基末端相连接,因此认为,该家族也同时参与细胞间的相互识别及细胞黏附等功能。

国外多项研究^[5,11-12]均已证实 *EMP1* 基因在许多正常组织中均有所表达,如胃底、盲肠、回肠及结肠等^[5]胃肠道组织中均有不同程度的表达,另外在肝脏、心脏、肺、骨骼、肌肉、肾脏、脾、前列腺、睾丸、卵巢、胎盘及胸腺中也有所表达。另有实验^[13-15]发现 *EMP1* 基因在支气管鳞状上皮细胞中大量表达,故又称其为鳞状上皮细胞分化标记物 CL-20,认为其功能可能与肿瘤发生相关,参与肿瘤细胞增殖、分化及凋亡等过程。近来还发现 *EMP1* 高表达时伴随 EGFR 也有显著表达^[16];也有实验表明^[17],EGFRv III(突变体)的过度表达会引起一系列基因表达的上调,其中就包括 *EMP1*。与此同时,一些相关研究也证实了 *EMP1* 在胃癌^[18]、乳腺癌^[14,19]及子宫平滑肌瘤^[20]中均有不同程度的高表达,但也有学者发现在食管癌^[21]、喉癌^[22]中 *EMP1* 基因的表达明显低于正常组织。

目前临床上对胶质瘤的诊断和分类分级仍主要依据显微镜下的形态学指标,如瘤细胞类别、形态,及伴发的瘤体内血管内皮增殖、坏死等。该传统分类在大多数情况下能根据肿瘤生物学行为的不同将其区分开来,但仍不能完全满足需求。因此,需要应用分子生物学的手段寻找胶质瘤分子诊断标志物和(或)分子治疗靶标,从而进一步完善胶质瘤的诊断和分类系统。本研究是在胶质瘤基因芯片的基础上筛选出基因 *EMP1*,并通过 RT-PCR 和免疫组化的方法在正常脑组织及胶质瘤中进行检测。结果发现,在人脑胶质瘤中,基因 *EMP1* 无论在 mRNA 水平,还是在蛋白表达水平上,其表达均明显高于正常脑组织,尤其在星形细胞瘤中表达更加显著,并且随着病理级别的增高而增高。胶质瘤恶性进展是一个逐步累积多基因改变的多步骤过程,在此过程中表现出一系列的病理组织重构特征,这些特征以其复杂的相关分子改变为基础,主要表现为具有恶性增殖、侵袭性生长、大量肿瘤新生血管生成等,其中最关键的是肿瘤发生的启动环节。本研究发现 *EMP1* 基因与胶质瘤的形成及恶性程度存在着一定的联系,很可能参与胶质瘤恶变的某些环节。研究^[23]表明, *EMP1* 基因还是 *C-myc* 相关基因, *C-myc* 在影响肿瘤形成过程中会导致 *EMP1* 的表达升高。曾报道^[24]在胶质瘤的基因芯片结果中发现与 *myc* 相关的基因(*UBE2C*, *EMP1* 和 *FBXW7*),其中基因 *UBE2C* 和 *EMP1* 表达上调, *FBXW7* 表达下调,可能与胶质瘤

的迁移、侵袭相关。由此认为,基因 *EMP1* 的过度表达可能是受其他一些重要分子的调控,进而参与影响胶质瘤形成及恶变等环节,具体机制还有待于进一步的研究。相信随着对胶质瘤分子生物学方面研究的进一步深入,一定能在分子水平上对其发生发展有更新的认识。

[参考文献]

- [1] Liehr T, Kuhlenbaumer G, Wulf P, et al. Regional localization of the human epithelial membrane protein genes 1, 2 and 3(*EMP1*, *EMP2*, *EMP3*) to 12p12.3, 16p13.2, and 19q13.3[J]. *Genomics*, 1999, 15, 58(1): 106-108.
- [2] Bredel M, Bredel C, Juric D, et al. High-resolution genome-wide mapping of genetic alterations in human glial brain tumors[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(10): 4088-4096.
- [3] Ben-Porath I, Benvenisty N. Characterization of a tumor-associated gene, a member of a novel family of genes encoding membrane glycoproteins[J]. *Gene*, 1996, 183(1-2): 69-75.
- [4] Wang HT, Kong JP, Ding F, et al. Analysis of gene expression profile induced by EMP-1 in esophageal cancer cells using cDNA microarray[J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(3): 392-398.
- [5] Taylor V, Welcher AA, Program AE, et al. Epithelial membrane protein-1, peripheral myelin protein 22, and lens membrane protein 20 define a novel gene family[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(48): 28824-28833.
- [6] Gnirke AU, Weidle UH. Investigation of prevalence and regulation of expression of progression associated protein (PAP) [J]. *Anticancer Res*, 1998, 18(6A): 4363-4369.
- [7] Lobsiger CS, Magyar JP, Taylor V, et al. Identification and characterization of a cDNA and the structural gene encoding the mouse epithelial membrane protein-1[J]. *Genomics*, 1996, 36(3): 379-387.
- [8] Wulf P, Suter U. Embryonic expression of epithelial membrane protein 1 in early neurons[J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 1999, 116(2): 169-180.
- [9] Zoidl G, Blass-Kampmann S, D'Urso D, et al. Retroviral-mediated gene transfer of the peripheral myelin protein PMP22 in Schwann cells: modulation of cell growth[J]. *EMBO J*, 1995, 14(6): 1122-1128.
- [10] Jetten AM, Suter U. The peripheral myelin protein 22 and epithelial membrane protein family[J]. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 2000, 64: 97-129.
- [11] Lee HS, Sherley JL, Chen JJ, et al. EMP-1 is a junctional protein in a liverstem cell line and in the liver[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334(4): 996-1003.
- [12] Taylor V, Suter U. Epithelial membrane protein-2 and epithelial membrane protein-3: two novel members of the peripheral myelin protein 22 gene family[J]. *Gene*, 1996, 175(1-2): 115-120.
- [13] Chen Y, Medvedev A, Ruzanov P, et al. cDNA cloning, genomic structure, and chromosome mapping of the human epithelial membrane protein CL-20 gene (*EMP1*), a member of the PMP22 family[J]. *Genomics*, 1997, 41(1): 40-48.

- [14] Schiemann S, Ruckels M, Engelholm LH, *et al.* Differential gene expression in human mammary carcinoma cells: identification of a new member of a receptor family[J]. *Anticancer Res*, 1997, 17 (1A): 13-20.
- [15] Hippo Y, Yashiro M, Ishii M, *et al.* Differential gene expression profiles of scirrhous gastric cancer cells with high metastatic potential to peritoneum or lymph nodes[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(3): 889-895.
- [16] Anjali J, Charles AT, Isett L, *et al.* Epithelial membrane protein-1 is a bio-marker of gefitinib resistance[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(33):11858-11863.
- [17] Ramnarain DB, Park S, Lee DY, *et al.* Differential gene expression analysis reveals generation of an autocrine loop by a mutant epidermal growth factor receptor in glioma cells[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 867-874.
- [18] Adam HJ, Henry FF, Alexander Z, *et al.* Expression of tight-junction protein claudin-7 is an early event in gastric tumorigenesis [J]. *Am J Pathol*, 2005, 167(2): 577-584.
- [19] Mackay A, Jones C, Dexter T, *et al.* cDNA microarray analysis of genes associated with ERBB2 (HER2/neu) overexpression in human mammary luminal epithelial cells[J]. *Oncogene*, 2003, 22 (17): 2680-2688.
- [20] Arslan AA, Gold LI, Mittal K, *et al.* Gene expression studies provide clues to the pathogenesis of uterine leiomyoma: new evidence and a systematic review[J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(4): 852-863.
- [21] 王海涛, 刘芝华, 王秀琴, 等. EMP-1 基因对人食管癌细胞生长的影响[J]. *癌症*, 2002, 21(3): 229-232.
- [22] 刘业海, 唐平章, 徐震纲, 等. EMP-1 基因在喉癌中的表达差异分析[J]. *中国医学科学院学报*, 2003, 2, 25(1): 47-51.
- [23] Ben-Porath I, Yanuka O, Benvenisty N. The tmp gene, encoding a membrane protein, is a c-Myc target with a tumorigenic activity [J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(5): 3529-3539.
- [24] Markus B, Claudia B, Dejan J, *et al.* Functional network analysis reveals extended gliomagenesis pathway maps and three novel MYC-interacting genes in human gliomas[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(19): 8679-8989.
- [收稿日期] 2007 - 07 - 26 [修回日期] 2007 - 08 - 16
- [本文编辑] 王莹

· 科技动态 ·

T 细胞通过改变 IL-7 反应性调节 CD8 分子的表达和 TCR 的自身反应性

CD8⁺T 细胞依赖 T 细胞受体所提供的存活信号,但同时必须避免自身反应性。发表于 *Nature Immunology* 的最新研究提示,T 细胞通过复杂的反馈调节机制使 CD8 共受体的表达水平保持在最佳的平衡点上。

Singer 等人发现了一条复杂的负反馈调节通路,该通路调节 CD8 分子在 T 细胞表面的表达。由于 I 类主要组织相容性分子(MHC I)限制性 TCR 的有效识别依赖 CD8 分子,因此本文作者提出的“共受体调节”模型能够解释机体如何维持能识别自身 MHC I 类分子、自身耐受性和抗原反应性的 CD8⁺T 细胞群体的稳定。MHC I 类分子限制性的初始型 CD8⁺T 细胞的维持需要间断性地与荷载抗原的 MHC I 类分子接触,同时需要可溶性分子,其中最重要的是 IL-7。而作为共受体的 CD8 分子表达水平影响 T 细胞存活和 T 细胞免疫。但 T 细胞离开胸腺后 CD8 分子表达的调节机制仍未阐明。

以前认为 T 细胞完成胸腺发育后,CD8 分子的表达水平将被固定,之后的环境因素和细胞自身的转录后调节机制将不发挥调节作用。作者对此进行了验证,发现过夜培养后,初始型 CD8⁺T 细胞的 CD8 分子表达水平大幅下降,这是由于 CD8 共受体 α 链的编码基因转录水平的特异性下调。在该培养体系中加入 IL-7 能使 CD8 表达水平维持原状,其机制是 IL-7 信号通过作用于增强子区影响细胞表面 CD8 的表达水平。同时作者发现,TCR 信号激活后,CD8⁺T 细胞迅速失去 IL-7 反应性。

为阐明体内识别抗原肽-MHC I 类分子复合物是否影响 IL-7 受体信号转导和 CD8 表达,作者采用了 HY TCR 转基因系统。雄性 TCR 转基因鼠特异性识别 HY 抗原,一部分 T 细胞可以通过阴性选择;这些 T 细胞 CD8 表达水平很低,离开胸腺后并不能导致自身免疫病。实验证实,雄性 HY 转基因鼠 T 细胞表面的低水平 CD8 表达并不是固定不变的,而是一系列转录后调节机制作用的结果,包括 TCR 信号激活和失去 IL-7 反应性。雄性 HY 转基因鼠 CD8⁺T 细胞的 IL-7 受体信号抑制并非因为 IL-7 受体表达下降。将 HY 转基因鼠的低表达 CD8 的 T 细胞体外培养过夜,使其能接触少量自身肽-MHC I 类分子复合物,T 细胞恢复 IL-7 反应性并上调 CD8 分子表达。这些恢复为 CD8 高表达、IL-7 敏感的 HY 特异性 T 细胞遇到表达 HY 自身配体的抗原递呈细胞将被活化。上述结果表明共受体调节通常会把 CD8 表达水平控制在能够避免自身免疫病的范围内,同时也能维持自身耐受性 CD8⁺T 细胞的存活。作者同时报道了不同的 TCR 转基因 T 细胞具有不同水平的 CD5 表达,CD5 表达多者 TCR 信号更强烈。而 CD8 表达与 CD5 的表达呈线性负相关。在 CTLA-4 缺陷鼠中 T 细胞 CD5 和 CD8 同时高水平表达,表明其体内共受体调节机制失灵。

Singer 等人的工作提供了 CD8 表达的动态数据,并提出了一种负向调节机制。这一负向调节通路的组成还需要进一步研究,以便更清楚地阐明 TCR 和 IL-7 受体信号如何在转录水平上调节 TCR 及其共受体 CD8 的自身反应性。此外,CD4 共受体是否也由 TCR 和外界信号所调节很值得研究。