

T 淋巴细胞介导后细胞免疫在口腔扁平苔藓发病中的作用研究

张春燕¹ 林志勇¹ 慕成² 凌涤生³ 孙善珍³

(1 山东省立医院, 山东济南 250021 2 山东大学第二医院 3 山东大学口腔医院)

【摘要】 采用 SABC 免疫组化法对 25 例口腔扁平苔藓患者(OLP 组)及 8 例正常人(对照组)的颊黏膜标本进行朗格罕细胞(LC)、HLA-DR 角朊细胞、淋巴细胞浸润程度及基底细胞变性程度检测。结果对照组中 LC 主要位于基底细胞层, 偶见于基底细胞层上方, 固有层中少见, 无 1 例 HLA-DR⁺角朊细胞存在。OLP 组 LC 位于棘细胞层的中、下部及基底细胞层, 甚至见于棘细胞全层, 固有层中多见。上皮中的 LC 数量明显高于对照组($P < 0.001$), 14 例显示存在 HLA-DR⁺角朊细胞, 且固有层中淋巴细胞浸润程度与基底细胞变性程度呈正相关。证明 T 淋巴细胞介导的细胞免疫反应在 OLP 的发病中起重要作用。

【关键词】 口腔扁平苔藓, 朗格罕细胞, 免疫组化, S-100 蛋白, HLA-DR 抗原

【中图分类号】 R781 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-266X(2005)35-0049-02

口腔扁平苔藓(OLP)是一种有潜在危险的癌前状态^[1], 最常见于颊黏膜。其发病原因尚不清楚, 近来认为细胞免疫起重要作用。2004 年 1 月~2005 年 1 月, 我们采用免疫组化法对 OLP 患者受损颊黏膜的朗格罕细胞(LC)、HLA-DR 角朊细胞数量、分布情况及淋巴细胞浸润程度与基底细胞变性程度进行了观察, 旨在对其免疫发病机制进行深入探讨。

1 材料与方法

1.1 材料 25 例 OLP 口腔颊黏膜标本(OLP 组)均来源于山东大学口腔医院病理科(1993 ~ 1997 年)。男 5 例, 女 20 例; 年龄 32 ~ 61 岁, 平均 48.7 岁。正常颊黏膜 8 例(对照组), 男 2 例, 女 6 例; 年龄 28 ~ 55 岁, 平均 46.4 岁。两组性别、年龄无显著差异。所有标本常规福尔马林固定, 石蜡包埋, 连续组织切片, 厚度 4 μ m。免疫组化所用试剂: S-100 多克隆小鼠抗人抗体(稀释度 1: 100, 美国 Sigma 公司), HLA-DR 单克隆小鼠抗人抗体(稀释度 1: 50, 德国 B. M. 公司), 即用型 SABC 试剂盒(武汉博士德公司), DAB(美国 PAKO 公司)。

1.2 方法 石蜡切片烘 2h, 60 $^{\circ}$ C。切片经二甲苯脱蜡 2 \times 15s, 经逐级酒精 100% ~ 75% 后入水, PBS 洗 3 \times 3s。3% H₂O₂ 室温 10s, PBS 洗 3 \times 3s。复合消化液室温 10s, PBS 洗 3 \times 3s(HLA-DR 抗体省略此步)正常羊血清封闭切片, 湿盒中 37 $^{\circ}$ C 30s, 甩干。一抗(S-100 或 HLA-DR 抗体), 湿盒中 4 $^{\circ}$ C 过夜, PBS 洗 3 \times 3s。二抗羊抗小鼠 IgG, 湿盒中 37 $^{\circ}$ C 30s, PBS 洗 3 \times 3s。SABC, 湿盒中 37 $^{\circ}$ C 60s, PBS 洗 3 \times 3s。DAB, H₂O₂ 液显色, 显微镜下控制显色, 自来水冲洗 15s。苏木素复染, 盐酸酒精分化, 自来水冲洗 15s。经逐级酒精 75% ~ 100% 脱水, 二甲

苯透明, 树脂封片。阴性对照: 用 PBS 代替一抗, 其余步骤不变。

1.3 结果判定 S-100⁺LC 胞浆及核浆棕褐色着色, HLA-DR⁺LC 胞膜及胞浆棕褐色着色。选取病变典型区域, 连续计数 5 个 40 \times 10 高倍镜视野中的阳性细胞数, 取平均值, 即为每 40 \times 10 高倍镜视野中 LC 数。观察到 HLA-DR⁺角朊细胞的标本记为(+), 无为(-)。参考张筱林(1984 年)提出的 OLP 中淋巴细胞浸润程度及基底细胞变性程度的分度标准, 固有层淋巴细胞带浅、窄, 细胞分布密度低为轻度浸润; 淋巴细胞带浅、窄, 但细胞分布密度密集或淋巴细胞带宽而细胞分布密度低为中度; 淋巴细胞带宽且细胞分布密集为重度浸润。基底细胞变性程度: 基底细胞中出现水肿为轻度; 基底细胞破损、液化退变或基底细胞层下方出现小裂隙为中度; 基底细胞层下方有水疱形成为重度。每一标本依据占优势的分度定级。

1.4 统计学处理 采用秩和检验、*t* 检验及四格表的确切概率法。

结果

2.1 S-100⁺LC 及 HLA-DR⁺LC 的表达 所有标本中 S-100⁺LC 及 HLA-DR⁺LC 的分布基本一致。对照组主要位于基底细胞层, 偶见于其上方, 固有层中 S-100⁺细胞少见。OLP 组主要位于棘细胞层的中、下部, 也可见于基底细胞层, 甚至棘细胞全层, 固有层中 S-100⁺细胞多见。LC 在上皮中散在分布或围绕结缔组织乳头分布。两组上皮 LC 计数见表 1。

表 1 两组上皮 LC 计数结果(个 $\bar{x} \pm s$)

组别	n	S-100 ⁺ LC	HLA-DR ⁺ LC
OLP 组	25	1.75 ± 1.14*	2.22 ± 1.74*
对照组	8	0.35 ± 0.14	0.40 ± 0.11

茫 :与对照组比较, *P < 0.001

2.2 HLA-DR⁺角朊细胞的表达 对照组无 1 例显示 HLA-DR⁺角朊细胞存在, OLP 组中有 14 例(56%), HLA-DR⁺角朊细胞分布不一致, 有的阳性细胞呈灶状或片状存在, 有的散在分布于基底细胞层及棘细胞层, 有的只偶见于基底细胞层。未发现其分布与固有层中淋巴细胞浸润程度有明显关系。

2.3 OLP 固有层淋巴细胞浸润程度与基底细胞变性程度的相关性 淋巴细胞浸润程度轻中度 20 例, 其中基底细胞变性程度轻中度 17 例, 重度 3 例, 重度 5 例, 其中变性程度轻度 1 例, 重度 4 例。经四格表确切概率法检验, P < 0.05, 可以认为 OLP 中淋巴细胞浸润程度与基底细胞变性程度呈正相关。

3 讨论

LC 来源于骨髓, 经血液迁移到皮肤和黏膜。LC 是启动细胞免疫反应的关键成分, 在皮肤黏膜的局部免疫反应中具有重要作用。已经证实, 表皮缺乏 LC 时如接触外来抗原, 非但不能产生超敏反应, 反而产生对该作用抗原的特异性免疫耐受。

根据本文 LC 的分布及计数结果, 我们认为, OLP 中存在异常的抗原性物质吸引 LC 向上皮游走, 且其游走能力增强, 可达棘细胞层的中部甚至上部。因仅 2% 的上皮 LC 具有分裂增殖能力, 故 OLP 上皮中 LC 数量的增加, 可能为固有层中 LC 及指突状细胞(IC)向上皮迁移所致。本研究发

现 OLP 固有层中 S-100⁺细胞明显较正常组织多见, 与上皮 LC 的增加相对应, 提示从血液迁移到结缔组织的 S-100⁺细胞也增加。

精神因素是国内外学者公认的 OLP 发病因素之一。Hosoi 等发现表皮中神经样突起与多数 LC 胞膜有接触, 常见含降钙素基因相关多肽(CGRP)的神经与 LC 并列。电镜下观察可见 LC 的胞膜及

其附近有 CGRP 的沉积^[2]。CGRP 在体外实验中可以调节 LC 的抗原递呈功能, 示周围神经系统与免疫系统能够相互作用。在未知刺激的影响下(如紧张、抑郁等), 神经在上皮 LC 附近释放生物活性物质(包括 CGRP)来调节 LC 的功能, 从而引起细胞免疫的改变。因此, LC 在 OLP 的发病机制中起着重要作用。

本研究发

现灶状或片状存在的 HLA-DR⁺角朊细胞周围可见 LC, 尤其是其下方固有层中 S-100⁺细胞聚集。已证实正常口腔黏膜中 LC 可表达 T₄ 抗原, 但是 T₄⁺LC 与 T₆⁺LC 之比仅为 1:3; 而在 OLP 黏膜上皮中 T₄⁺LC 与 T₆⁺LC 之比达 1:1^[3]。T₄ 抗原与 HLA-DR 抗原能相互作用加强细胞之间的黏附。在 OLP 病损黏膜中部分角朊细胞表达 HLA-DR 抗原, 可能通过 T₄/HLA-DR 的相互作用, 促使 LC 进入上皮中, 从而使细胞免疫反应持续进行。OLP 中角朊细胞表达 HLA-DR 抗原不同标本之间及同一标本内的分布不一致, 也反映了 OLP 病损处于不同的免疫活性状态。国内外对 OLP 进行免疫组化研究的结果差异很大, 除了与检测方法、标志抗体及计数方法不同之外, 还反映了 OLP 是一个不断发展变化的过程, 其免疫活性处于活跃与相对静止的交替状态, 不同患者及疾病不同的发展阶段, 其免疫学特征不尽相同。由于病例选择的原因而造成研究结果的不一致。

综上所述, T 淋巴细胞介导的细胞免疫反应在 OLP 的发生、发展中起重要作用, 本研究从免疫病理学角度阐述了 OLP 组织学改变的形成机制。

【参考文献】

[1] 许国祺. 口腔癌前病变 - 白斑与扁平苔藓. 第 1 版. 北京: 中国医药科技出版社, 1992, 148.

[2] Hosoi J, Murphy GF, Egan CL, et al. Regulation of Langerhans cell function by nerves containing calcitonin gene-related peptide [J]. Nature, 1993, 363: 159-163.

[3] Farthing PM, Matear P, Cruchley AT. Langerhans cell distribution and keratinocyte expression of HLA-DR in oral lichen planus [J]. Oral Pathol Med, 1992, 21: 451-455.

(收稿日期 2005-09-07)

· 告读者 ·

《山东医药》杂志被俄罗斯《文摘杂志》列为来源期刊

经中国科学技术期刊编辑学会国际交流工作委员会、中国高等学校自然科学学报研究会对外联络委员会认定《山东医药》杂志自 2004 年起已被世界六大著名检索期刊之一的俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI)列为来源期刊。

本刊编辑部