

被肿瘤细胞所摄取。

综上所述,在鼻咽癌裸鼠移植瘤表面设置体外磁场,通过静脉注射载顺铂磁性纳米药物可以实现药物的靶向性分布,这种靶向性分布既可通过原子吸收光谱对靶向组织药物浓度进行检测,还可通过 MRI 监测靶向组织药物载体的分布情况。

参考文献

- 1 XIE Minqiang, CHEN Shuaijun, XU Xueqing, *et al.* Preparation of two kinds of superparamagnetic carriers - supported cis - platinum complexes and the comparison of their characteristics. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51(2):151 - 157
- 2 Yuan F, Dellian M, Fukumura D, *et al.* Vascular Permeability in a human tumor xenograft: molecular size dependence and cutoff size. *Cancer Res*, 1995, 55(17):3752 - 3756
- 3 Kumares S, Tejjraj M, Anandrao R, *et al.* Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of controlled Release*, 2001, 70(1):1 - 4
- 4 Fink GR. Functional MR Imaging: from the BOLD Effect to Higher Motor Cognition. *Suppl Clin Neurophysiol*, 2004, 57(3):458 - 468
- 5 Pien HH, Fischman AJ, Thrall JH, *et al.* Using Imaging Biomarkers to Accelerate Drug Development and Clinical Trials. *Drug Discovery Today*, 2005, 10(4):259 - 266
- 6 Fischman AJ, Alpert NM, Rubin RH. Pharmacokinetic Imaging: a Noninvasive Method for Determining Drug Distribution and Action.

Clin Pharmacokinet, 2002, 41(8):581 - 602

- 7 徐华,宋涛,鲍秀琦,等. 磁性药物靶向治疗中 MRI 检测磁流体体内分布的实验研究. *中国医学影像学*, 2004, 12(6):427 - 429
- 8 Schneider E, Bolo NR, Frederick B, *et al.* Magnetic resonance spectroscopy for measuring the biodistribution and in situ in vivo pharmacokinetics of fluorinated compounds: validation using an investigation of liver and heart disposition of tecastemizole. *J Clin Pharm Ther*, 2006, 31(3):261 - 273
- 9 Ito A, Shinkai M, Honda H, *et al.* Medical Application of Functionalized Magnetic Nanoparticles. *J Biosci Bioeng*, 2005, 100(1):1 - 100
- 10 郑建伟,李高,唐涛,等. 磁共振检测纳米磁靶向性药物在荷瘤小鼠体内分布的初步研究. *放射学实践*, 2007, 22(1):9 - 12
- 11 Choi SH, Moon WK, Hong JH, *et al.* Lymph node metastasis: ultrasmall superparamagnetic iron oxide - enhanced MR imaging versus PET/CT in a rabbit mode. *Radiology*, 2007, 242:137 - 143
- 12 Tanimoto A, Kuribayashi S. Application of superparamagnetic iron oxide to imaging of hepatocellular carcinoma. *Eur J Radiol*, 2006, 58:200 - 216
- 13 Tatsumi Y, Tanigawa N, Nishimura H, *et al.* Preoperative diagnosis of lymph node metastases in gastric cancer by magnetic resonance imaging with ferumoxtran - 10. *Gastric cancer*, 2006, 9:120 - 128

(收稿:2010-09-27)

(修回:2010-11-15)

LBP、sCD14 与 LPS 相互作用对巨噬细胞释放 TNF- α 的影响

张 颖 舒旷怡 王 金 文 赵 飞 刘 洋 李向阳

摘 要 **目的** 研究脂多糖结合蛋白(LBP)、可溶性 CD14(sCD14)与脂多糖(LPS)相互作用后对巨噬细胞产生 TNF- α 的影响。**方法** 用 PMA 诱导 THP-1 细胞为巨噬细胞;设定 LPS 浓度为 1ng/ml,以 100、10、1、0.1、0.01 的比例,将 LBP-LPS 混合 37℃ 孵育 15min 后分别加入细胞培养板中;以及混合后不孵育直接加入;同时设立 LBP 对照组。在 LPS 浓度为 10ng/ml 和 1ng/ml 两组中,分别加入 1、0.5、0.1、0.01 μ g/ml 的 sCD14,混合 37℃ 孵育 15min 后分别加入两组细胞培养板中;以及混合后不孵育直接加入;同时设立 sCD14 对照组。用免疫化学发光法检测 TNF- α 的释放情况。最后对数据进行统计学分析。**结果** LPS 浓度为 1ng/ml 分泌 TNF- α 最低(143 $\pm$ 9pg/ml),与 10、100、1000ng/ml 间比较有统计学差异, P 均 <0.05 ;10、100、1000ng/ml 三组间无统计学差异($P>0.05$);TNF- α 的释放量随着 LPS 的浓度增高会出现饱和现象。浓度为 0.01、0.1、1、10、100ng/ml 的 LBP 刺激巨噬细胞 TNF- α 的释放量分别为 39.4 $\pm$ 1.2、107 $\pm$ 5、109 $\pm$ 3、102 $\pm$ 1、119 $\pm$ 9pg/ml。LBP/LPS 浓度比值 ≤ 10 时,TNF- α 释放量随 LBP/LPS 浓度比值增大而增高,在 LBP/LPS 浓度比值为 10 时释放量最高;未孵育组结果为 231 $\pm$ 10pg/ml,预孵育组结果为 164 $\pm$ 7pg/ml;两组 TNF- α 释放量有显著性差异($P<0.01$)。在 LBP/LPS 比值为 100 时,TNF- α 释放量下降;未孵育组结果为 149 $\pm$ 7pg/ml,预孵育组结果为 138 $\pm$ 2pg/ml。LPS 浓度为 0 时,随着 sCD14 浓度增加,THP-1 细胞释放 TNF- α 未见增加。

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y2080596);温州市科技计划项目(Y20100094)

作者单位:325000 温州医学院附属第二医院检验科

通讯作者:李向阳,电子信箱:lx@wzhealth.com

LPS 浓度为 1ng/ml, sCD14 浓度为 0.01μg/ml 和 0.1μg/ml 时, TNF-α 释放量无显著性差异 ($P=0.515$ 和 0.566); sCD14 浓度为 0.5 和 1μg/ml, 结果有显著性差异 ($P=0.017$ 和 $P<0.01$)。在 LPS 浓度为 10ng/ml, sCD14 浓度为 0.5μg/ml 和 1μg/ml 时 TNF-α 释放量结果均有显著性差异 ($P<0.01$)。未预孵育组与预孵育组 TNF-α 的释放量结果有显著性差异 ($P=0.014$)。结论 LBP 能活化巨噬细胞, 低浓度 LBP 可促进 LPS 刺激巨噬细胞释放 TNF-α, 且释放量随 LBP 浓度的增加而增加; 高浓度 LBP 对 LPS 刺激巨噬细胞有负性调节作用。sCD14 能促进 LPS 刺激巨噬细胞释放 TNF-α, 并表现出一定的剂量效应关系。

关键词 LBP sCD14 TNF-α

The Effect of LBP, sCD14 Interacted with LPS on Macrophage Secreting TNF-α. Zhang Ying, Shu Kuangyi, Wang Jinwen, et al. Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To investigate the effect of LBP, sCD14 interacted with LPS on macrophage secreting TNF-α. **Methods** THP-1 was induced to macrophage by PMA firstly. When the concentration of LPS was 10ng/ml, LBP-LPS pre-incubated (incubated at 37℃ for 15min after mixed together) or without pre-incubated stimulated macrophage according to the ratio of LBP/LPS (100, 10, 1, 0.1, 0.01). And macrophage treated with LBP was as a contrast. After that, they were divided into two groups and both of LPS were 10ng/ml and 1ng/ml, and the concentrations of sCD14 were 1, 0.5, 0.1, 0.01μg/ml. The secretion of TNF-α was detected by immune chemical radiation assay and a statistic analysis was made. **Results** TNF-α secretion was the lowest (143 ± 9pg/ml) when LPS was 1ng/ml, and had a significant difference from 10, 100, 1000ng/ml ($P<0.05$). There was no difference among the three groups ($P>0.05$). The secretion of TNF-α had a dose-response relationship with LPS. TNF-α were 39.4 ± 1.2, 107 ± 5, 109 ± 3, 102 ± 1, 119 ± 9pg/ml at corresponding concentration of LBP (0.01, 0.1, 1, 10, 100ng/ml). When LBP/LPS ≤ 10, the secretion of TNF-α increased with the enhance ratio of LBP/LPS, and reached a peak at 10. LBP-LPS in without pre-incubated group was 231 ± 10pg/ml, and the other was 164 ± 7pg/ml. There was significant difference between the two groups ($P<0.01$). TNF-α was decreased at 100 of LBP/LPS and without pre-incubation was 149 ± 7pg/ml, pre-incubation was 138 ± 2pg/ml. sCD14 itself could not stimulate macrophage to secrete TNF-α. When the concentration of LPS was 1ng/ml, sCD14 was 0.01μg/ml or 0.1μg/ml, TNF-α secretion had no visible diversity ($P=0.515$ and 0.566). However, When the concentration of sCD14 were 0.5 and 1μg/ml, it had a obvious diversity ($P=0.017$ and $P<0.01$). When the concentration of LPS was 10ng/ml, sCD14 was 0.5μg/ml or 1μg/ml, TNF-α secretion had significant difference ($P<0.01$), and pre-incubation and without pre-incubation also appeared significant difference ($P=0.014$). **Conclusion** LBP itself could activate macrophage, and low concentration of LBP promoted LPS to stimulate macrophage to secrete TNF-α with the concentration of LBP increasing. But it had a down-regulation effect on macrophage when high concentration. sCD14 also promoted the secretion of TNF-α and showed a dose-response relationship with sCD14.

Key words Lipopolysaccharide-binding protein; Soluble CD14; Tumor necrosis factor-α

革兰阴性菌或其产物激活免疫系统能导致一系列内毒素休克事件。现已证实, 革兰阴性菌细胞壁中的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 成分是诱导休克的一种主要介质^[1]。内毒素休克中体内激活细胞和体液应答所用的受体和应答途径了解尚不深入。单核-吞噬细胞是内毒素在体内的主要效应细胞。LBP 是一种急性时相蛋白, 在炎症初期浓度明显升高。LPS 与 LBP 结合后形成的 LPS-LBP 复合物有助于 LPS 附着于巨噬细胞表面, 使细胞对 LPS 的敏感性提高, 从而能使其更迅速地释放细胞因子 (如 TNF-α, IL-1, IL-6 等)^[2]。sCD14 是已报道了的 LPS 的几个受体之一, 内毒素血症患者血清中的 sCD14 浓度会升高, 且升高水平是全身性炎症反应的一种标志^[3-6]。CD14 分子在体内针对 LPS 的应答中起着重要作用^[7]。文献报道 CD14 与 LPS 通过 LBP 作为载体结合为复合体, 而且 LBP 有助于低浓度 LPS

与 CD14 结合而抑制高浓度 LPS 与 CD14 的结合。我们研究不同浓度的 LBP 与 LPS 的相互作用以及 LBP 不存在的情况下 LPS 与 CD14 相互作用后对巨噬细胞产生 TNF-α 的影响。以探讨脂多糖结合蛋白 (LBP) 及髓分化受体 CD14 与 LPS 结合后的激活及调节作用。

材料与方法

1. 材料: (1) 实验细胞: 细胞株为购自中国科学院细胞库的人单核细胞白血病单核细胞 (THP-1 细胞)。(2) 实验试剂: 脂多糖 (LPS, Sigma)、佛波醇酯 (PMA, Sigma)、脂多糖结合蛋白 (LBP, RnD)、可溶性 CD14 (sCD14, Prospec)、RPMI1640 细胞培养液 (Gibco)。

2. 实验方法: (1) 细胞培养: 购买 THP-1 细胞, 收到细胞株后, 转移到细胞培养瓶中, 放入 37℃ 二氧化碳孵箱培养。(2) 细胞转化: 细胞计数, 使细胞浓度为 $5 \times 10^6/\text{ml}$, 加到 24 孔板中, 同时加入 PMA, 其浓度为 100ng/ml, 培养 24h。取出细胞培养板, 弃上清, 观察细胞形态。用无菌 D-Hanks 液洗 3

次再加入无血清 RPMI1640 540 μ l,继续培养 12h。取出细胞,如观察细胞仍为贴壁细胞,则进行后续实验。(3) LPS 单独刺激巨噬细胞实验:稀释好的 LPS 直接加入到细胞培养板中,终浓度分别为 1000、100、10、1、0ng/ml。(4) LBP 组实验:1) LBP 单独刺激巨噬细胞实验:将稀释好的 LBP 直接加入细胞培养板中,终浓度分别为 100、10、1、0.1、0.01ng/ml。2) LBP - LPS 刺激组:① LBP - LPS 未孵育组:在细胞培养板中加入 LPS 和 LBP 的混合液,使 LPS 浓度为 1ng/ml, LBP 浓度为 100、10、1、0.1、0.01ng/ml;② LBP - LPS 预孵育组:在细胞培养板中加入 37 $^{\circ}$ C 孵育 15min 的 LPS 和 LBP 的混合液,使 LPS 浓度为 1ng/ml, LBP 浓度为 100、10、1、0.1、0.01ng/ml。(5) sCD14 组实验:1) sCD14 单独刺激巨噬细胞实验:将稀释好的 sCD14 直接加入上述细胞培养板中,浓度为 1、0.5、0.1、0.01 μ g/ml。2) sCD14 - LPS 未孵育组:① 1ng/ml LPS 组:在上述细胞培养板中加入 LPS 和 sCD14 的混合液,使 LPS 浓度为 1ng/ml, sCD14 浓度为 1、0.5、0.1、0.01 μ g/ml;② 10ng/ml LPS 组:在上述细胞培养板中加入 LPS 和 sCD14 的混合液,使 LPS 浓度为 10ng/ml, sCD14 浓度为 1、0.5、0.1、0.01 μ g/ml。3) sCD14 - LPS 预孵育组:① 1ng/ml LPS 组:在上述细胞培养板中加入 37 $^{\circ}$ C 孵育 15min LPS 和 sCD14 的混合液,使 LPS 浓度为 10ng/ml, sCD14 浓度为 1、0.5、0.1、0.01 μ g/ml;② 10ng/ml LPS 组:在上述细胞培养板中加入 37 $^{\circ}$ C 孵育 15min 的 LPS 和 sCD14 的混合液,使 LPS 浓度为 10ng/ml, sCD14 浓度为 1、0.5、0.1、0.01 μ g/ml。(6) 将加好的细胞培养板轻轻混匀放入 37 $^{\circ}$ C 二氧化碳培养箱培养 4h,吸取上清液转移到 1.5ml 的灭菌离心管中待测。TNF - α 测定采用德普公司化学发光试剂,仪器为德普公司的 DPC 1000 化学发光分析仪。

结 果

1. 使用 PMA 诱导 24h 前后 THP - 1 细胞比较,细胞由悬浮生长变为贴壁生长。实验中 PMA 诱导 6h 观察时已经有部分细胞贴壁,18h 大部分细胞已经完成贴壁,24h 后所有细胞几乎完全贴壁。

2. LPS 单独刺激巨噬细胞 TNF - α 的释放结果。如图 1 所示, LPS 浓度为 1ng/ml 分泌 TNF - α 最低 (143 $\pm$ 9pg/ml), 与 10、100、1000ng/ml 间比较有统计学差异, P 均 < 0.05 。10、100、1000ng/ml 三组间均无统计学差异 ($P > 0.05$)。

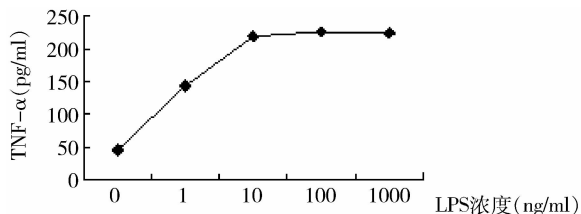


图 1 不同浓度 LPS 刺激巨噬细胞 TNF - α 释放量

3. LBP 单独刺激巨噬细胞 TNF - α 的释放结果。

如图 2 所示,比较 LBP 刺激巨噬细胞 TNF - α 的释放结果, LBP 浓度为 0.01、0.1、1、10、100ng/ml 时, TNF - α 释放量平均值分别为 39.4 $\pm$ 1.2、107 $\pm$ 5、109 $\pm$ 3、102 $\pm$ 1、119 $\pm$ 9pg/ml, LBP 浓度为 0.1ng/ml 时, TNF - α 释放量大幅度上升。

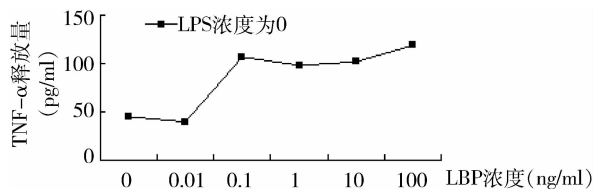


图 2 不同浓度 LBP 刺激巨噬细胞 TNF - α 释放量

4. LBP - LPS 混合刺激巨噬细胞 TNF - α 的释放结果。如图 3 所示, LBP/LPS 浓度。比值 ≤ 10 时, TNF - α 释放量随 LBP/LPS 浓度比值增大而增高,且在 LBP/LPS 浓度比值为 10 时释放量最高; LPS 浓度为 1ng/ml 时,未孵育组结果为 231 $\pm$ 10pg/ml,预孵育组结果为 164 $\pm$ 7pg/ml。预孵育组和未孵育组 TNF - α 释放量,经非参数配对检验, $z = -3.181$, $P < 0.01$,有显著性差异。在 LBP/LPS 比值为 100 时, TNF - α 释放量下降;未孵育组结果为 149 $\pm$ 7pg/ml,预孵育组结果为 138 $\pm$ 2pg/ml。

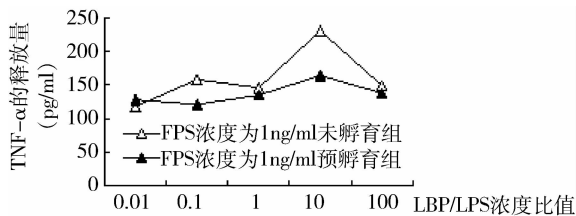


图 3 LBP - LPS 混合刺激巨噬细胞 TNF - α 释放量

5. sCD14 - LPS 刺激巨噬细胞 TNF - α 的释放结果。如图 4 所示, LPS 浓度为 0 时,随着 sCD14 浓度增加,巨噬细胞释放 TNF - α 呈一低平直线。在 LPS 浓度为 1ng/ml, sCD14 浓度为 0.01 μ g/ml 和 0.1 μ g/ml 时, TNF - α 释放量采用单因素方差分析无显著性差异 ($P = 0.515$ 和 0.566); sCD14 浓度为 0.5 μ g/ml 和 1 μ g/ml, 结果有显著性差异 ($P = 0.017$, $P < 0.01$)。在 LPS 浓度为 10ng/ml, sCD14 浓度为 0.5 μ g/ml 和 1 μ g/ml 时与 LPS 共同作用后 TNF - α 释放量结果均有显著性差异 ($P < 0.01$)。未预孵育组与预孵育组 TNF - α 的释放量结果采用非参数配对检验,结果有显著性差异 ($z = 1.57$, $P = 0.014$)。

讨 论

LPS 可以促进单核细胞释放 TNF - α , 当 LPS 浓

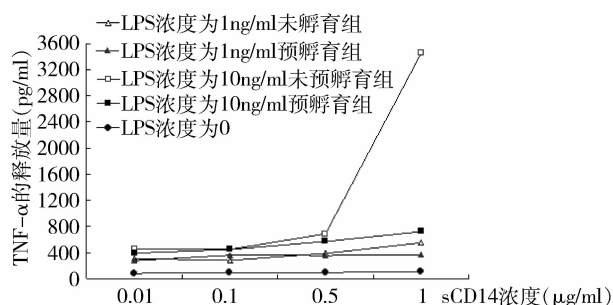


图 4 sCD14 和 LPS 混合刺激巨噬细胞 TNF- α 释放量

度为 1ng/ml 时,刺激分化后 THP-1 细胞 TNF- α 分泌量较低,当 LPS 浓度 > 10ng/ml 时,其刺激单核-吞噬细胞分泌 TNF- α 刺激无明显的浓度依赖性,即随着 LPS 浓度增加 TNF- α 分泌无明显增加。本文就 LBP、sCD14 分别与 LPS 相互作用对 TNF- α 释放量的影响进行比较。用不同浓度的 LBP 刺激巨噬细胞,在 LBP 浓度在 0.01ng/ml 时,TNF- α 释放量较低。在 LBP 浓度为 0.1ng/ml 到 100ng/ml 之间,LBP 对巨噬细胞刺激无明显的浓度依赖性,即随着 LBP 浓度的升高 TNF- α 释放量无明显增加。LBP 只是作为一种载体将 LPS 转运到 mCD14 或 sCD14,本身会从复合物中脱落继续进行运载,其本身不会与细胞直接接触引起细胞活化^[8]。

在 LBP-LPS 混合刺激巨噬细胞的实验中发现,在 LBP/LPS 浓度比值为 100 时,细胞释放的 TNF- α 反而下降,这个结果表明 LBP 在高浓度时的负性调节效应。LBP-LPS 预孵育组 TNF- α 的释放量比未孵育组明显降低。实验中我们使用无血清的培养基,血清中游离的 sCD14 基本已被分离,因此我们认为未孵育组刺激诱导后的 THP-1 细胞时,可能会导致细胞膜上的 mCD14 锚蛋白脱落变为 sCD14,高浓度的 LBP 会将部分 LPS 转移给 sCD14 从而使 LPS 中和^[9]。而预孵育组使 LBP 和 LPS 紧密结合,牢固的 LBP-LPS 复合物不能被结合在固化的丝氨酸磷脂表面而进入胞内引起细胞活化,可能大部分会被游离的 LBP 转移到 sCD14 上使 TNF- α 释放减少^[10]。sCD14 是体内结合 LPS 的重要受体,能不依赖于 LPS 而单独刺激单核-吞噬细胞分泌 TNF- α ,分泌过程有时间依赖性和浓度依赖性^[11]。用 PMA 诱导 THP-1 细胞,使 THP-1 细胞具有巨噬细胞的分泌特性,激活 PKC,细胞本身就会有大量的膜 mCD14 表达,并且也会有部分释放到上清液中成为游离 sCD14^[12]。

本研究结果表明随着 sCD14 浓度增加,THP-1 细胞释放 TNF- α 呈一低平直线,即 sCD14 在无血清基质中单独对单核-吞噬细胞无激活效应。sCD14 对 LPS 特别是高浓度 (≥ 10 ng/ml) LPS 具有正向调节作用。LPS 浓度为 1ng/ml 时,sCD14 能上调 LPS 的活化,但调节效应微弱;sCD14 在 1 μ g/ml,未孵育组 TNF- α 释放量也只是从 307 ± 3 pg/ml 上升到 548 ± 1 pg/ml;预孵育组 TNF- α 释放量也只是从 274 ± 6 pg/ml 上升到 367 ± 7 pg/ml。而 1 μ g/ml 的 sCD14 和 10ng/ml LPS 同时加入 THP-1 细胞,未孵育组释放 TNF- α 为 LPS 单独效应的 10 倍。因此我们认为 sCD14 对 LPS 的调节效应具有 LPS 的浓度依赖性。本实验中基本已经消除了血清中 LBP,所以 LPS 在低浓度时,必须以 LPS-LBP 的结构来结合 CD14,从而活化效应细胞。当基质中无 LBP 存在时,sCD14 的调节作用非常微弱;而 LPS 在高浓度时则不一定要通过 LBP/sCD14 发挥其调节效应,而是可以直接以 LPS-CD14 的形式来激活单核-吞噬细胞分泌炎症因子。10ng/ml LPS 单独刺激时 TNF- α 释放量为 339 ± 8 pg/ml,而加入 1 μ g/ml sCD14 后 TNF- α 分泌达到 3450 ± 3 pg/ml。表明 LBP 不是 CD14 和 LPS 结合所必需的,即 LPS、LBP 和 sCD14 之间可以以 LPS-sCD14 二体也可以以 LPS-LBP-sCD14 三体的形式存在^[13]。

我们在实验结果中没有观察到高浓度 sCD14 对 LPS 的抑制作用,分析原因,可能是无血清基质体系中缺乏脂蛋白等结合 LPS 的受体,sCD14 不能将 LPS 传递给其他受体,从而抑制了 sCD14 的分流作用^[8]。在一些感染和非感染性疾病中,宿主细胞常有 mCD14 分子表达的变化,体液中 sCD14 也会有相应变化。比如在败血症、多发性外伤、严重烧伤患者中,血浆 sCD14 水平很高,并且很多药物的使用也会使体内的 sCD14 发生变化。因此高浓度 sCD14 对 LPS 的调节作用有待进一步实验论证。而在预孵育组刺激细胞实验中,我们发现 sCD14 的调节效应明显减弱甚至消失,分析原因,可能是与 LPS 的激活形式有关。LPS 有效的激活形式是 LPS 单体,而 LPS 复合物或多聚体的形式会通过细胞内化作用进入细胞溶酶体被细胞降解,预孵育可能使 sCD14 和 LPS 的结合过于紧密,转运到细胞表面时,无法将 LPS 以单体的形式传递给细胞表面的 mCD14 使细胞激活,导致 LPS 与 sCD14 复合物形式被细胞内化降解^[14]。

参考文献

- 1 Morrison D C, Ryan J L. Endotoxins and disease mechanism. Annu

Rev Med, 1987, 38:417

- 2 Alain H, Anza F, Frank K, *et al.* Resistance to endo - toxin shock and reduced dissemination of gram - neg - ative bacteria in CD14 - deficient mice. *Immunity*, 1996, 4:407
- 3 Lei M G, Stimpson S A, Morrison D C. Specific endotoxini lipopolysaccharide - binding receptors on murine splenocytes (Ⅲ): binding specificity and characterization. *Immunol*, 1991, 147:1925
- 4 Hampton R Y, Golenbock D T, Penman M, *et al.* Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors. *Nature*, 1991, 352:342
- 5 Wright S D, Ramos R A, Tobias P S, *et al.* CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*, 1990, 249:1431
- 6 Ingalls R R, Golenbock D T, CD11c/CD18, a transmembrane signaling receptor for lipopolysaccharide. *J Exp Med*, 1995, 181:1473
- 7 Wurfel MM, Kunitake ST, Lichenstein H, *et al.* Lipopolysaccharide (LPS) binding Protein is carried on lipoproteins and acts a cofactor in the neutralization of LPS. *J Exp Med*, 1994, 180(3):1025
- 8 Edwin S Van Amersfoort, Theo J C. Van Berkel, *et al.* Receptors, Mediators, and Mechanisms Involved in Bacterial Sepsis and Septic Shock. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 2003, 16(3):379

-414

- 9 Regine Landmann, Hans - Peter Knope, Susanne Link. Human Monocyte CD14 Is Upregulated by Lipopolysaccharide. *INFECTION AND IMMUNITY*, 1996, 64(5):1762 - 1769
- 10 Thomas Gutschmann, Mareike Muller, Stephen F Carroll. Dual Role of Lipopolysaccharide (LPS) - Binding Protein in Neutralization of LPS and Enhancement of LPS - Induced Activation of Mononuclear Cells. *INFECTION AND IMMUNITY*, 2001, 69(11):6942 - 6950
- 11 Regine Landmann, Susanne Link. Soluble CD14 Activates Monocytic Cells Independently of Lipopolysaccharide. *INFECTION AND IMMUNITY*, 1998, 66(5):2264 - 2271
- 12 William A, Lynn, Yannan Liu. Neither CD14 nor Serum Is Absolutely Necessary for Activation of Mononuclear Phagocytes by Bacterial Lipopolysaccharide. *Infection and immunity*, 1993, 61(10):4452 - 4461
- 13 Eric Hailman, Henri S, Lichenstein, *et al.* Lipopolysaccharide (LPS) - binding Protein Accelerates the Binding of LPS to CD14. [J]. *Exp. Med*, January, 1994, Volume 179:269 - 277
- 14 Roselaar S E, A Daugherty Lipopolysaccharide decreases scavenger receptor mRNA in vivo. *J. Interferon Cytokine Res*, 1997, 17:573 - 579

(收稿:2010-08-13)

(修回:2010-12-23)

B7 - H4 在人类肝癌细胞株中的表达及药物作用后其在 BEL - 7404 中的表达变化

杜振东 于嘉屏 徐晓萍 林炜炜 徐磊 彭凤

摘 要 目的 研究 B7 家族的新成员 B7 - H4 mRNA 在肝癌细胞株中的表达,以及 BEL - 7404 在抗肿瘤药物索拉非尼作用下 mRNA 的表达变化。**方法** 采用反转录聚合酶链反应(RT - PCR)方法检测 10 株肝细胞株中 mRNA 的表达;使用不同浓度索拉非尼杀伤 BEL - 7404 后检测其 B7 - H4 mRNA 的表达。**结果** B7 - H4 mRNA 在部分肝癌细胞株中有表达;在使用索拉非尼后 BEL - 7404 B7 - H4 表达明显下降。**结论** B7 - H4 基因与肿瘤细胞生长活性密切相关。

关键词 肝细胞癌 B7 - H4 肿瘤免疫 索拉非尼

The Expression of B7 - H4 mRNA in HCC Cell Lines and the Changes in BEL - 7404 after Using Sorafenib. Du Zhendong, Yu Jiaping, Xu Xiaoping, Lin Weiwei, Xu Lei, Peng Feng. Department of Clinical Laboratory, Renji Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

Abstract Objective To study the mRNA expression of B7 - H4 in hepatocellular carcinoma(HCC) cell lines and the expression changes in BEL - 7404 under anticancer drug sorafenib. **Methods** The mRNA expression of B7 - H4 in ten liver cell lines was detected by reverse transcription polymerase chain reaction(RT - PCR). With different concentrations sorafenib, we observed the change of B7 - H4 mRNA expression in BEL - 7404. **Results** B7 - H4 mRNA was expressed partly in these liver cancer cell lines. B7 - H4 mRNA of BEL - 7404 was significantly decreased after using sorafenib. **Conclusion** B7 - H4 gene is closely related to tumor cell growth activity.

Key words Hepatocellular carcinoma; B7 - H4; Tumor immunity; Sorafenib

作者单位:200127 上海交通大学医学院附属仁济医院检验科

通讯作者:于嘉屏,电子信箱:Yujiapin@online.sh.cn