

文章编号:1005-6947(2008)02-0177-03

· 简要论著 ·

# CD68 在胆囊壁中的表达及其与胆固醇结石的关系

周启胜<sup>1</sup>, 孙明生<sup>2</sup>

(1. 南昌大学医学院第三附属医院 普通外科, 江西 南昌 330008; 2. 江西省南昌市第一医院 普通外科, 江西 南昌 330008)

**摘要:**目的 观察 CD68 在胆囊壁中的表达和分布, 探讨其与胆固醇结石发病之间的关系。方法 采用 PV-9000 免疫组化方法检测 CD68 在 34 例胆固醇结石患者胆囊壁(结石组)和 15 例非胆囊结石患者胆囊壁(对照组)标本中的表达。结果 CD68 主要表达于胆囊黏膜上皮细胞顶侧。结石组的 CD68 表达显著高于对照组, 其差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 胆固醇结石患者胆囊壁中 CD68 的表达上调, 与胆固醇结石的形成可能有关。 [中国普通外科杂志, 2008, 17(2): 177-179]

**关键词:** 胆结石/病因学; CD68; 巨噬细胞; 胆固醇

**中图分类号:** R 657.4

**文献标识码:** B

胆囊壁具有吸收和转运脂质的功能, 在胆汁中胆固醇过饱和时, 胆囊壁吸收脂质的功能明显增强; 巨噬细胞吞噬大量脂质, 沉积在胆囊壁内<sup>[1-2]</sup>。胆囊壁中的脂质堆积是影响胆汁中胆固醇过饱和、胆结石成核作用、胆囊收缩功能减弱的重要因素, 与胆固醇结石的形成密切相关<sup>[3-4]</sup>。对此的有关研究目前报道较少。本实验旨在通过检测胆囊壁中 CD68 的表达水平, 探讨其与胆固醇结石的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 标本分组 (1) 结石组: 收集 2006 年 1 月—2007 年 6 月本院普外科单纯胆囊胆固醇结石患者行腹腔镜胆囊切除术的胆囊标本 34 例; 男 10 例, 女 24 例; 年龄 28~73 (平均  $47.7 \pm 12.3$ ) 岁。以病理诊断、手术后胆结石肉眼剖面观为诊断标准。(2) 对照组: 选择同期非胆囊结石患者同时行胆囊切除的胆囊标本 15 例; 男 10 例, 女 5 例; 年龄 27~76 (平均  $52.5 \pm 15.4$ ) 岁; 其中慢性非结石性胆囊炎 6 例, 肝癌 3 例, 胰腺癌 4 例, 胃癌 2 例。标本取材后固定, 常规石蜡包埋, 制

成厚 4  $\mu\text{m}$  的切片。所有标本由 HE 染色光镜下获得病理诊断, 排除胆囊急性炎症或其他合并症而无明显肝功能异常者。

1.1.2 试剂 鼠抗人巨噬细胞(CD68)单克隆抗体及免疫组织化学染色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 免疫组化法检测 CD68 的表达 石蜡切片脱蜡至水, 采用 PV-9000 即用型二步法检测。CD68 单克隆抗体的工作浓度为 1:200。以磷酸盐缓冲液代替一抗作阴性对照。

1.2.2 结果评判标准 采用半定量积分法。在高倍镜( $\times 40$ )下根据每张切片单位面积阳性细胞数及染色强度积分, 着色细胞比例 1/3 以下为 1 分, 1/3~2/3 为 2 分, >2/3 以上为 3 分; 着色程度分为无着色 0 分, 棕色 1 分, 棕褐色 2 分。根据两者乘积积分划分成阴性( $\leq 2$  分)和阳性(>2 分); 由此判断 CD68 的含量及表达强弱。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件对两组的数据进行统计学分析。差异的显著性行  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

CD68 主要在胆囊黏膜上皮细胞顶侧表达, 胞浆着色, CD68 阳性细胞形态为细颗粒状, 呈密集

收稿日期:2007-08-22; 修订日期:2008-01-21。

作者简介:周启胜,男,南昌大学医学院第三附属医院主治医师,主要从事肝胆外科方面的研究。

通讯作者:周启胜 E-mail:zhouqisheng56@163.com

分布(图1A,图2A);黏膜下层CD68阳性细胞体积增大,为圆形或椭圆形,聚积成团(图1B);非胆囊结石组为弱阳性或阴性表达(图2A-B);

肌层及浆膜层较少表达。阴性对照无表达。结石组胆囊壁CD68的表达高于非结石组。经半定量分析,两组有统计学差异( $P < 0.05$ )(表1)。

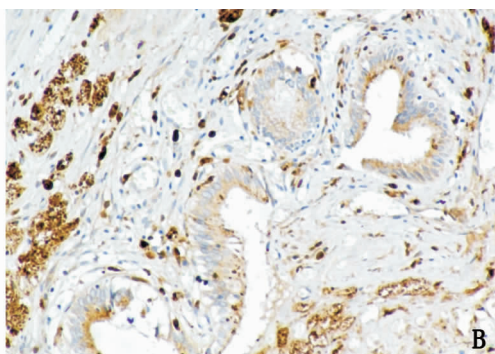
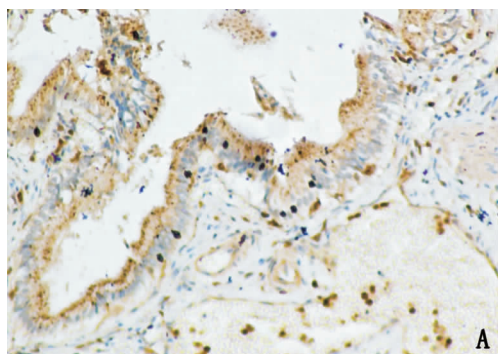


图1 胆囊结石胆囊壁CD68阳性表达( $\times 40$ ) A:黏膜上皮细胞顶侧胞浆内可见棕褐色颗粒;B:黏膜下层吞噬脂质的巨噬细胞沉积

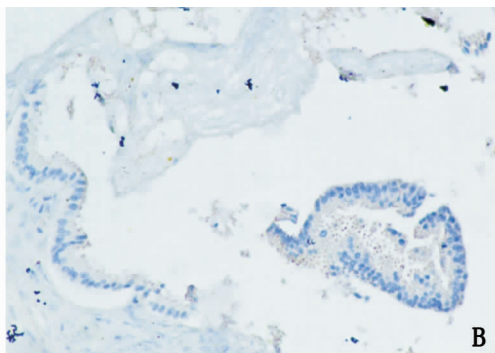
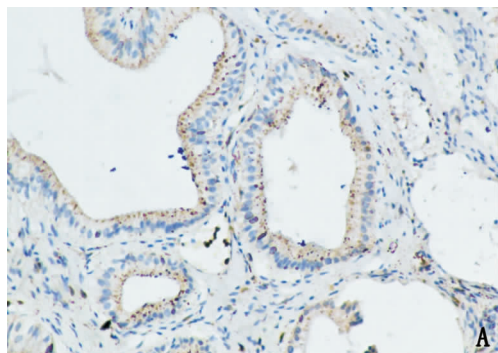


图2 非胆囊结石胆囊壁CD68表达( $\times 40$ ) A:黏膜细胞CD68弱阳性表达,胞浆内可见褐色颗粒;B:CD68阴性表达

表1 两组CD68的表达差异

组别	例数	阳性	阴性	$\chi^2$	$P$
		例(%)	例(%)		
结石组	34	18(52.94)	16(47.06)	4.61	<0.05
对照组	15	3(20.00)	12(80.00)		

### 3 讨论

胆固醇的逆转运(RCT)主要为转运外周细胞内的胆固醇至肝细胞。胆囊壁的RCT系通过胆囊黏膜上皮细胞<sup>[5]</sup>及巨噬细胞吸收脂质;在细胞膜脂质调节蛋白的作用下,脂质转运出细胞外,形成高密度脂蛋白(HDL),血浆HDL参与机体RCT<sup>[6]</sup>。当胆汁中胆固醇过饱和时,胆囊壁开始大量吸收脂质,胆囊黏膜对脂质的吸收改变了胆汁中胆固醇的浓度,巨噬细胞吞噬大量的脂质形成泡沫细胞,则堆积在胆囊壁内<sup>[7]</sup>。

目前,通过巨噬细胞源性的泡沫细胞的研究<sup>[8]</sup>,已明确巨噬细胞脂质转运的途径及调节机

制。巨噬细胞通过不同的胞吞方式摄取氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)的清道夫受体,巨噬细胞内经清道夫受体吞噬的ox-LDL被转运到溶酶体,胆固醇酯成分被水解成游离胆固醇和脂肪酸,转出细胞外。巨噬细胞也可通过酯酰辅酶A胆固醇酯酰转移酶(ACAT)的作用将过多的胆固醇以胆固醇酯的形式储存在细胞内,导致巨噬细胞内有大量胆固醇酯和三酰甘油蓄积,发展成为泡沫细胞<sup>[9]</sup>。巨噬细胞脂质转运受抗氧化剂、肝X受体/视黄醇类X受体(LXR/RXR)、清道夫受体<sup>[10,4]</sup>等多种因素的调节。巨噬细胞对脂质转运具有重要的作用,其功能状况反映了周围组织的脂质代谢水平。

CD68是一种分子质量为110kD的糖蛋白,作为一种胞浆内分子表达于细胞中,与溶酶体有关,可以检测人体组织中存在的巨噬细胞。本实验显示CD68主要表达于胆囊黏膜上皮细胞的顶侧。当胆汁中胆固醇的浓度过饱和时,胆囊黏膜处于高浓度胆固醇胆汁环境中,吸收脂质,使黏

膜上皮细胞内脂质堆积,诱导巨噬细胞向黏膜上皮细胞的顶侧游走并集聚于此;巨噬细胞开始吞噬脂质,并逐渐增大,向处于低浓度的黏膜下层转运。巨噬细胞在调节因子作用下,将脂质转出细胞外,通过RCT清除脂质。一旦巨噬细胞中脂质的转出功能障碍,形成泡沫细胞,胆囊壁即出现脂质沉积及纤维脂肪组织增生等慢性炎症改变。故认为巨噬细胞的增加主要是对脂质反应的结果。

胆固醇结石形成的重要条件是胆汁中胆固醇过饱和状态<sup>[11]</sup>,CD68能反映胆汁中胆固醇的浓度,与胆固醇结石的形成相一致。同时,胆囊壁脂质沉积导致其发生慢性炎症改变、纤维化,影响胆囊壁对脂质的吸收和胆囊壁的收缩功能,进一步促进胆结石的形成。因此认为,CD68反映了胆囊壁对脂质的吸收和转运状况,与胆固醇结石的形成有关。

#### 参考文献:

[1] Koga A. Fine structure of the human gallbladder with cholesterosis with special reference to the mechanism of lipid accumulation [J]. *Br J Exp Pathol*, 1985, 66(5): 605 - 611.

[2] 李哲夫,陈孝平. 胆固醇结石成因的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16(2): 170 - 172.

[3] 许榕生. 初步探讨胆囊壁内泡沫细胞及其吞脂功能在胆囊胆固醇结石形成中的作用[J]. *外科理论与实*

践, 2005, 10(4): 345 - 348.

[4] Miquel J F, Moreno M, Amigo L, *et al.* Expression and regulation of scavenger receptor class B type I (SR-B I) in gall bladder epithelium [J]. *Gut*, 2003, 52(7): 1017 - 1024.

[5] Lee J, Choi HS. Reverse cholesterol transport in cultured gallbladder epithelial cells [J]. *Korean J Gastroenterol*, 2004, 43(3): 145 - 152.

[6] Waddington E I, Boadu E, Francis G A. Cholesterol and phospholipid efflux from cultured cells [J]. *Methods*, 2005, 36(2): 196 - 206.

[7] Corradini GS, Ripani C, Guardia DP, *et al.* The human gallbladder increases cholesterol solubility in bile by differential lipid absorption: a study using a new in vitro model of isolated intra-arterially perfused gallbladder [J]. *Hepatology*, 1998, 28(2): 314 - 322.

[8] Tang CK, Yi GH, Yang JH, *et al.* Oxidized LDL upregulated ATP binding cassette transporter-1 in THP-1 macrophages [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(5): 581 - 586.

[9] Lee J, Shirk A, Oram J F, *et al.* Polarized cholesterol and phospholipid efflux in cultured gall-bladder epithelial cells: evidence for an ABCA1-mediated pathway [J]. *Biochem J*, 2002, 364(2): 475 - 484.

[10] Karen S, Richard ML, Davld PW. ABCA1 gene expression and apoA-I mediated cholesterol efflux are regulated by LXR [J]. *Biochemi Biophys Res Communi*, 2000, 274(3): 794 - 802.

[11] 刘为民,彭彦辉. 胆汁中蛋白成分对胆固醇结石形成的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2006, 15(3): 224 - 226.

## 本刊启事

由国家科技部中国科学技术信息研究所主办的中国科技论文统计结果发布会于2007年11月15日在北京国际会议中心举行。与其同时,中国科学技术信息研究所出版的2006年版《中国科技期刊引证报告》(核心版),对1723种中国科技论文统计源期刊的引文数据进行了统计分析。我刊2006年总被引用频次为1100,影响因子为0.625,分别居1723种统计源期刊的第269位和第341位;5年影响因子为0.804。

中国普通外科杂志编辑部

2008年1月15日