

CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞在肺癌中的表达及其临床意义

杨 兵, 潘 莹, 蔡韶芳, 杜均祥, 龚五星

[摘要] **目的:**探讨 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞在晚期肺癌中的表达及其临床意义。**方法:**应用流式细胞术分析 42 例肺癌患者(肺癌组)外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞表达水平,与 15 名健康志愿者作对照。**结果:**肺癌组患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞数量为(7.17 ± 3.63)%,明显高于对照组的(4.25 ± 2.11)% ($P < 0.01$)。肺癌组患者外周血中调节性 T 细胞数量在病理类型间差异无统计学意义($P > 0.05$),晚期肺癌患者外周调节性 T 细胞数量高于早期患者($P < 0.05$)。**结论:**调节性 T 细胞在肺癌患者中比率明显升高,并与临床进展有关。

[关键词] 肺肿瘤; CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞; 流式细胞术

[中图分类号] R 734.2

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.05.022

Expression and significance of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in patients with lung cancer

YANG Bing, PAN Ying, CAI Shao-fang, DU Jun-xiang, GONG Wu-xing

(Department of Traditional Chinese Medicine, The People's Hospital of Zhuhai, Zhuhai Guangdong 519000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the expression and clinical significance of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in patients with lung cancer. **Methods:** The expression of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in the peripheral blood of 42 patients with lung cancer (lung cancer group) and 15 healthy volunteers was determined by flow cytometry. **Results:** The number of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in the lung cancer group (7.17 ± 3.63)% was significantly higher than that in the healthy controls (4.25 ± 2.11)% ($P < 0.01$). The level of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in the lung cancer patients with different pathological classifications had no statistically significant difference ($P > 0.05$). The level of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in patients with advanced lung cancer was significantly higher than that in patients with early lung cancer ($P < 0.05$). **Conclusions:** The proportion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in the peripheral blood of patients with lung cancer is significantly increased, which is related to the progression of lung cancer.

[Key words] lung neoplasms; CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells; flow cytometry

近年来, CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞受到国内外学者的广泛关注,调节性 T 细胞可以通过抑制识别自身肿瘤细胞的肿瘤效应细胞的发育和活化,在 T 细胞介导的细胞免疫中起负性调节作用。有研究^[1]表明,调节性 T 细胞参与肿瘤的免疫逃逸,抑制特异性 T 效应细胞不能扩增到一定水平以清除肿瘤细胞。本研究采用流式细胞术检测肺癌外周血调节性 T 细胞的数量变化,探讨其与肺癌病程进展及临床病理之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集我院肿瘤科 2009 ~ 2012 年肺癌患者(肺癌组)42 例,其中男 27 例,女 15 例;年龄 46 ~ 75 岁。根据 UICC 的 TNM 分期标准将肺癌分为 I a ~ IV 期,根据 TNM 分期再分为早期和晚期,其中早期(I a ~ III a 期)10 例,晚期(III b ~ IV 期)32 例;腺癌 20 例,鳞癌 18 例,小细胞肺癌 4 例。对照

组为 15 名健康志愿者。

1.2 外周血单个核细胞的分离 外周血抗凝用磷酸盐缓冲液(PBS)1:1 稀释后,以淋巴细胞分离液(BD, Pharmingen, San Diego, USA)分离外周血单个核细胞。计数细胞后调整细胞数至 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 。

1.3 流式细胞仪检测 以检测 CD4⁺ CD25⁺ CD127^{dim} 作为表达 FoxP3⁺ 的 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞比率。肺癌组及对照组均采外周血 2 ml,经肝素钠抗凝,每管取 100 μl ,并分别直接加入 10 μl 荧光标记的鼠抗人 CD3、CD4、CD8、CD25、CD127 和 TCR $\gamma\delta$ (均购自 BD Pharmingen, USA)进行免疫标记反应,同时加入荧光标记的抗鼠 IgG 作为同型对照(BD Pharmingen, USA),并充分混匀,于室温中孵育 30 min 后,加入 4 ml 红细胞裂解液裂解红细胞,用 PBS (pH 7.2 ~ 7.4)洗 1 ~ 2 次,加入 0.4% 多聚甲醛-PBS 重悬细胞, FACS 流式细胞仪检测后,用 CELL Quest 软件进行数据分析。

1.4 统计学方法 采用 t (或 t') 检验。

2 结果

肺癌组患者外周血调节性 T 细胞阳性率明显

高于对照组 ($P < 0.01$)。晚期肺癌患者外周血调节性 T 细胞阳性率高于早期患者 ($P < 0.05$)。不同病理类型的肺癌患者其调节性 T 细胞阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 1)。

表 1 2 组患者外周血调节性 T 细胞阳性率比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组及临床特征	n	调节性 T 细胞/%	t	P
分组				
对照组	15	4.25 ± 2.11	3.74*	<0.01
肺癌组	42	7.17 ± 3.63		
分期				
早期	10	5.64 ± 2.24	2.05	<0.05
晚期	32	7.85 ± 3.16		
病理类型				
非小细胞肺癌组	38	6.53 ± 2.96	1.11	>0.05
小细胞肺癌组	4	4.84 ± 1.83		

* 示 t' 值

3 讨论

调节性 T 细胞是体内一类具有独特免疫调节功能的 T 细胞亚群,1995 年由 Sakaguchi 等^[2]首次报道。它具有免疫无能性和免疫抑制性两大特征,CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的免疫抑制性表现为 TCR 介导的信号刺激活化后能够抑制 CD4⁺和 CD8⁺细胞的活化和增殖,这种抑制作用是非抗原特异性的,它不仅抑制相同抗原特异性调节性 T 细胞的增殖,也抑制由相同抗原提呈细胞提呈的无关抗原特异性的细胞。调节性 T 细胞的持续表达对抑制免疫反应和维持机体的免疫耐受状态起重要作用,肿瘤患者外周血调节性 T 细胞比例增高会导致抗肿瘤免疫耐受,研究^[3]认为多种恶性肿瘤患者体内都存在调节性 T 细胞的过度表达。而肿瘤的发生又促进了调节性 T 细胞的增生,调节性 T 细胞又可抑制 T 细胞的增生和活性,抑制自然杀伤细胞介导的细胞毒作用,促进肿瘤的生长和转移。

研究^[4-6]表明,胰腺癌、乳腺癌、头颈部鳞癌、宫颈癌、食管癌等患者的外周血和肿瘤局部微环境中均存在调节性 T 细胞数量、比例升高,提示恶性肿瘤患者体内调节性 T 细胞上调是一种普遍存在的现象。在胃肠道恶性肿瘤中,调节性 T 细胞与肿瘤进展及不良预后密切相关,肿瘤切除后体内调节性 T 细胞数量下降至正常水平,而肿瘤复发时调节性 T 细胞水平再次升高^[7]。

本研究采用流式细胞术对肺癌患者进行调节性 T 细胞检测,结果表明肺癌患者调节性 T 细胞数量

明显高于对照组 ($P < 0.01$);不同病理类型的肺癌患者外周血调节性 T 细胞差异无统计学意义 ($P > 0.05$),说明不同类型的肺癌都出现了同样的抗肿瘤免疫抑制。本研究还发现早期和晚期肺癌患者的调节性 T 细胞阳性率差异也具有统计学意义 ($P < 0.05$),说明调节性 T 细胞调节的免疫耐受和肿瘤的生长密切相关,并直接参与了疾病进展。

与对照组相比,许多恶性肿瘤患者的外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞水平较高,而手术或化疗等有效治疗措施降低肿瘤负荷后,外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞水平能有所下降。其中采用化疗的患者中,治疗有效的患者其调节性 T 细胞的水平下降,而化疗无效或出现肿瘤复发时,降低的调节性 T 细胞水平可再次上升,提示调节性 T 细胞不但能反映肿瘤患者的免疫状态,还能反映治疗是否有效,为诊断肿瘤复发,判断预后提供重要的参考指标^[8-9]。同时也为肺癌的细胞免疫治疗提供一条新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] Ferrone S, Whiteside TL. Tumor microenvironment and immune escape [J]. Surg Oncol Clin N Am, 2007, 16(4): 755-774.
- [2] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL22 receptor α -chains (CD25). Break down of single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune disease [J]. J Immunol, 1995, 155(3): 1151-1164.
- [3] Ormandy LA, Hilleman T, Wedemeyer H, et al. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Res, 2005, 65(6): 2457-2464.
- [4] Xu T, Duan Q, Wang G, et al. CD4⁺CD25^{high} regulatory T cell numbers and FOXP3 mRNA expression in patients with advanced esophageal cancer before and after chemotherapy [J]. Cell Biochem Biophys, 2011, 61(2): 389-392.
- [5] 唐聃, 杨伟明, 姚新生, 等. 乳腺癌患者外周血 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性 T 细胞水平的检测及意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(5): 612-617.
- [6] 周利敏, 李红英, 张敦兰, 等. 调节性 T 细胞在宫颈癌外周血及肿瘤组织中的检测及其相关性研究 [J]. 海南医学院学报, 2014, 20(7): 899-901.
- [7] Xu H, Mao Y, Dai Y, et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with advanced gastrointestinal cancer treated with chemotherapy [J]. Onkologie, 2009, 32(5): 246-252.
- [8] 梁建明, 钟永, 蔡建强, 等. 胰腺癌患者外周血 CD4⁺CD25^{high}调节性 T 细胞分析 [J]. 蚌埠医学院学报, 2009, 34(10): 878-881.
- [9] Tokuno K, Hazama S, Yoshino S, et al. Increased prevalence of regulatory T-cells in the peripheral blood of patients with gastrointestinal cancer [J]. Anticancer Res, 2009, 29(5): 1527-1532.

(本文编辑 马启)