

文章编号: 1005-6947(2013)10-1338-04

· 简要论著 ·

Treg 细胞在 II 期结肠癌组织中的数量及临床意义

徐为¹, 付海啸¹, 邱磊¹, 宋军¹, 李慧中², 张宝福², 郑骏年²

(1. 徐州医学院附属医院 胃肠外科, 江苏 徐州 221002; 2. 徐州医学院江苏省肿瘤生物治疗重点实验室, 江苏 徐州 221002)

摘要

目的: 研究肿瘤浸润调节性 T 淋巴细胞 (Treg) 在 TNM 分期 II 期结肠癌癌巢、癌间质中的数量及其临床意义。

方法: 采用免疫组化技术检测 49 例原发性 II 期结肠腺癌局部浸润 Treg 细胞的分布, 并分析其临床意义。

结果: 癌组织中浸润的 Treg 细胞数量与年龄、性别及肿瘤大小无关 (均 $P>0.05$); 高中分化癌组织 Treg 细胞数量多于中低分化组癌组织, 癌巢中浸润的 Treg 细胞数量低于癌间质中浸润的 Treg 细胞数量 ($P<0.001$); 癌组织 Treg 细胞高数量组、癌间质 Treg 细胞高数量组的总生存率 (OS) 分别明显高于癌组织 Treg 细胞低数量组与癌间质 Treg 细胞低数量组 (均 $P<0.05$); 癌巢 Treg 细胞高数量组的 OS 低于癌巢 Treg 细胞低数量组, 但差异无统计学意义 ($P=0.299$)。

结论: Treg 细胞在 II 期结肠癌癌巢及癌间质中发挥不同的作用, 癌组织、癌间质及癌巢中浸润的 Treg 细胞数量可能分别是影响结肠癌临床预后的预测指标。

关键词

结肠肿瘤 / 病理学; T 淋巴细胞, 调节性; 预后

中图分类号: R735.3 文献标志码: B



DOI:10.7659/j.issn.1005-6947.2013.10.021
<http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3666.shtml>

结直肠癌是常见的恶性肿瘤之一, 全球范围内每年约有 50 万人死于结直肠癌^[1]。现今尽管结直肠癌在临床与基础研究方面均取得了长足的进步, 但是总体而言结肠癌的病死率并没有显著改善^[2]。近年来肿瘤免疫微环境越来越受到重视, 其中调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg) 是一种在维持免疫耐受中具有重要作用的 T 淋巴细胞, 由 Sakaguchi 等^[3]首先发现。Treg 细胞在许多恶性肿瘤中与患者预后呈负相关性。然而, 在结直肠癌中却发现肿瘤浸润 Treg 细胞越多患者预后越好^[4]。本实验采用组织芯片及免疫组化技

术检测 Treg 细胞在 II 期结肠腺癌癌巢、癌间质中的分布并分析其临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

49 例具有完整随访资料的结肠腺癌组织芯片购自上海芯超生物科技有限公司, 患者术前均未接受新辅助治疗。其中, 男 35 例, 女 14 例; 年龄 48~90 岁, 中位年龄 70 岁; 病理高中分化 (I 级 / I~II 级 / II 级) 组 31 例, 中低分化 (II~III 级 / III 级) 组 18 例; 随访时间至 2012 年 8 月 (63~73 个月)。

1.2 主要试剂

链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶 (SP) 试剂盒 (SP-9002, 美国 ZYMED 公司), 3, 3'-二氨基联苯胺 (DAB) (ZLI-9031, 美国 Invitrogen 公司), 鼠抗人-FOXP3 抗体 (ab20034 clone 236A/E7, 美国 Abcam 公司)。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81202015)。

收稿日期: 2013-04-09; **修订日期:** 2013-10-12。

作者简介: 徐为, 徐州医学院附属医院主任医师, 主要从事胃肠道恶性肿瘤的基础与临床方面的研究。

通信作者: 宋军, Email: songjunwk@126.com

1.3 免疫组化法检测癌巢、癌间质及癌旁组织中的 Treg 细胞

采用免疫组化 SP 法进行检测, 严格按照 SP 试剂盒说明书步骤进行操作, 抗叉头样螺旋转录因子 (transcription factor forkhead box P3, FOXP3) 一抗工作液 (1:100) 4 ℃ 过夜。组织中 FOXP3+Treg 细胞为棕黄色颗粒, 定位于胞核 (图 1)。每个组织点随机观察 5 个高倍镜视野 ($\times 400$ 倍), 以 5 个高倍镜视野阳性细胞总数进行统计分析, 以各指标的中位数作为 cutoff 值将其分为高数量组和低数量组。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 16.0 软件进行统计学处理, 计量资料统计描述采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 计量

资料的比较采用 t 检验或 χ^2 检验, 生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 生存率比较的 Log-rank 检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Treg 细胞数分析

癌组织中浸润的 Treg 细胞数量与年龄、性别及肿瘤大小无关 (均 $P > 0.05$); 病理高中分化组较中低分化组癌组织中浸润的 Treg 细胞数量多 [(20.48 ± 18.17) vs. (11.44 ± 10.27)] ($P = 0.031$); 癌巢中浸润的 Treg 细胞数量较癌间质中浸润的 Treg 细胞数量少 [(2.45 ± 4.62) vs. (14.69 ± 15.88)] ($P < 0.001$) (图 1)。

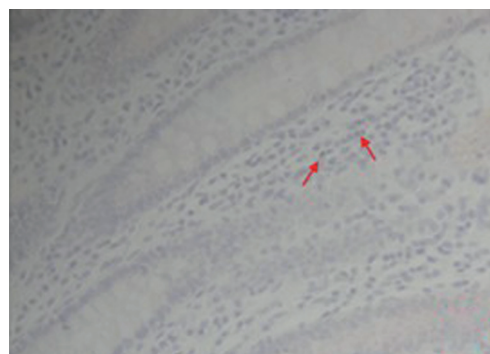
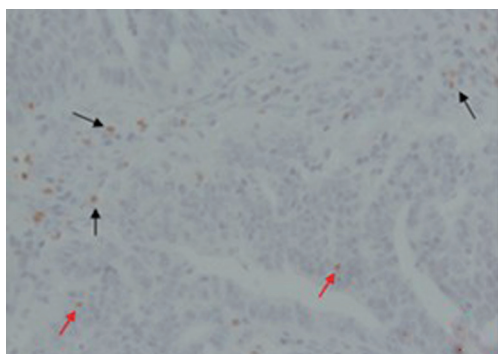


图 1 免疫组化 SP 法检测 Treg 细胞 ($\times 400$) 黑箭头: 癌间质; 红箭头: 癌巢

2.2 临床预后分析

生存分析及生存率比较发现, 癌组织 Treg 细胞高数量组的总生存率 (OS) 明显高于癌组织 Treg 细胞低数量组 ($P = 0.030$) (图 2A); 癌间质 Treg 细胞高数量组的 OS 明显高于癌间质 Treg 细胞低数量组 ($P = 0.018$) (图 2B); 癌巢 Treg

细胞高数量组的 OS 低于癌巢 Treg 细胞低数量组, 但差异无统计学意义 ($P = 0.299$) (图 2C); 病理高中分化组中, 癌组织中浸润的癌组织 Treg 细胞高数量组的 OS 明显高于癌组织 Treg 细胞低数量组 ($P = 0.042$) (图 2D)。

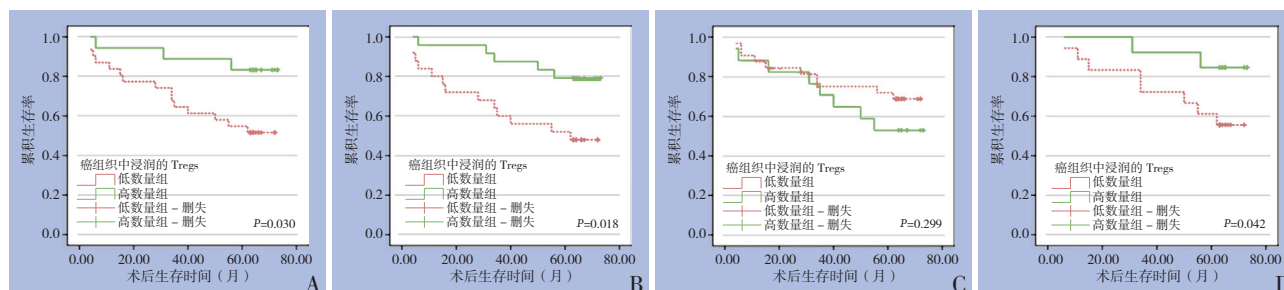


图 2 不同分组间生存率的比较 A: 癌组织 Treg 细胞高、低数量组比较; B: 癌间质 Treg 细胞高、低数量组比较; C: 癌巢 Treg 细胞高、低数量组比较; D: 高中分化癌组织 Treg 细胞高、低数量组比较

3 讨论

FOXP3 作为 Treg 细胞最主要的表面标记

已经得到公认^[5]。在恶性肿瘤组织中, Treg 细胞通过抑制自然杀伤细胞 (nature killer cells, NK)、CD4+ 及 CD8+T 淋巴细胞等表达、迁移

到肿瘤局部，发挥抑制抗肿瘤免疫反应的作用^[6]。在胰腺癌^[7]、卵巢癌^[8]、肺癌^[9]、肝癌^[10]、乳腺癌^[11]、肾细胞癌^[12]、胃癌^[13]以及子宫颈癌^[14]等肿瘤中发现，Treg 细胞浸润数量越多患者预后越差。而在结直肠癌^[4]及鼻咽癌^[15]中却得出了相反的结论，即肿瘤浸润 Treg 细胞数量越多患者预后越好。另外 Pagès 等^[16]和 Galon 等^[17]发现，在结直肠癌肿瘤局部免疫细胞种类、密度、功能状态和分布的综合免疫学因素是一个独立的预后因素，并优于传统的 TNM 分期。

本研究通过免疫组化原位显色观察 II 期结肠癌中 Treg 细胞的浸润情况发现：癌组织中浸润的 Treg 细胞数量越多患者预后越好，通过对病理高中分化组单独分析也得到了相同的结果，进一步说明了结肠癌癌组织中浸润的 Treg 细胞与临床预后密切相关。结肠癌与鼻咽癌具有一个共同特点，即癌组织中均存在大量微生物的浸润，从而诱导局部产生抗微生物免疫反应，产生更多的血管内皮生长因子（VEGF）而促进肿瘤的生长^[2]，Treg 细胞通过抑制这种反应间接表现出抗肿瘤生长的作用。另外，在抑制免疫的研究中也发现，Treg 细胞广泛参与免疫系统细胞因子的调节，可能直接或间接影响 IL-1，IL-2，IL-10，TGF- β 及 IFN- γ 等的作用，影响淋巴细胞的增殖分化^[18]。

本研究同时发现，癌间质中浸润的 Treg 细胞数量越多患者预后越好，而癌巢中浸润的 Treg 细胞数量越多患者预后越差。说明 Treg 细胞在结肠癌癌巢及癌间质中发挥着不同的作用。在癌间质中 Treg 细胞可能以抑制抗微生物免疫反应为主，在癌巢中 Treg 细胞则可能通过与癌细胞的直接接触，以抑制抗肿瘤免疫反应为主。在肿瘤微环境中的 Treg 细胞可能通过抑制肿瘤局部免疫，使肿瘤细胞逃避免疫监视，达到促进肿瘤的生长以及侵袭或转移的作用^[19]。

因此，癌组织、癌间质及癌巢中浸润的 Treg 细胞数量可能分别是影响结肠癌临床预后的预测指标。

参考文献

- [1] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000[J]. *Int J Cancer*, 2001, 94(2):153-156.
- [2] Mitry E, Rachet B, Quinn MJ, et al. Survival from cancer of the rectum in England and Wales up to 2001[J]. *Br J Cancer*, 2008, 99(Suppl 1):S30-S32.
- [3] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases[J]. *J Immunol*, 1995, 155(3):1151-1164.
- [4] Ladoire S, Martin F, Ghiringhelli F. Prognostic role of FOXP3+ regulatory T cells infiltrating human carcinomas: the paradox of colorectal cancer[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60(7):909-18.
- [5] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3[J]. *Science*, 2003, 299(5609):1057-1061.
- [6] Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, et al. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(7):490-500.
- [7] Hiraoka N, Onozato K, Kosuge T, et al. Prevalence of FOXP3+ regulatory T cells increases during the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma and its premalignant lesions[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(18):5423-5434.
- [8] Curiel TJ, Coukos G, Zou L, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival[J]. *Nat Med*, 2004, 10(9):942-949.
- [9] Petersen RP, Campa MJ, Sperlazza J, et al. Tumor infiltrating Foxp3+ regulatory T-cells are associated with recurrence in pathologic stage I NSCLC patients[J]. *Cancer*, 2006, 107(12):2866-2872.
- [10] Gao Q, Qiu SJ, Fan J, et al. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(18):2586-2593.
- [11] Bates GJ, Fox SB, Han C, et al. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(34):5373-5380.
- [12] Li JF, Chu YW, Wang GM, et al. The prognostic value of peritumoral regulatory T cells and its correlation with intratumoral cyclooxygenase-2 expression in clear cell renal cell carcinoma[J]. *BJU Int*, 2009, 103(3):399-405.
- [13] Perrone G, Ruffini PA, Catalano V, et al. Intratumoural FOXP3-positive regulatory T cells are associated with adverse prognosis in radically resected gastric cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2008, 44(13):1875-1882.
- [14] Jordanova ES, Gorter A, Ayachi O, et al. Human leukocyte antigen class I, MHC class I chain-related molecule A, and CD8+/regulatory T-cell ratio: which variable determines survival of cervical cancer patients?[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(7):2028-2035.
- [15] Zhang YL, Li J, Mo HY, et al. Different subsets of tumor infiltrating lymphocytes correlate with NPC progression in different ways[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9:4.
- [16] Pagès F, Berger A, Camus M, et al. Effector memory T cells, early

文章编号: 1005-6947(2013)10-1341-04

· 简要论著 ·

结直肠肿瘤的腹腔镜微创治疗临床分析

王伟, 马利林, 朱建伟, 陈瑞新, 夏骏, 田晓寒, 陶然

(南通大学附属医院 普通外科, 江苏南通 226001)

摘要

目的: 探讨腹腔镜下微创治疗结直肠肿瘤的临床价值。

方法: 回顾分析腹腔镜下完成结直肠肿瘤手术 255 例临床资料, 其中腹腔镜右半结肠切除术 27 例, 腹腔镜结肠部分切除术 5 例, 腹腔镜左半结肠切除术 13 例, 腹腔镜乙状结肠根治切除术 40 例, 腹腔镜直肠癌前切除术 (Dixon 术) 119 例, 腹腔镜 Miles 术 50 例, 腹腔镜下全结肠切除 1 例。

结果: 255 例手术均成功切除肿瘤 (255 例中 1 例为手助式, 2 例为腹腔镜辅助式), 无手术死亡病例; 术中发生输尿管损伤尿外溢 1 例, 经放置输尿管支架后治愈; 无其余明显术中并发症; 术中出血量平均约 35 mL, 平均手术时间 155 min (其中后 80 例平均手术时间 130 min)。术后肠功能恢复时间平均为 2.3 d; 术后疑有吻合口小渗漏 1 例, 经局部引流等治疗而愈; 发生切口感染 2 例, 肿瘤局部浸润较深者术后尿潴留症状 1 例。术后随访最长 75 个月, 随访率 84.3% (215/255), 2 例复发转移, 尚未发现死亡者。

结论: 腹腔镜下结直肠肿瘤根治术, 手术创伤小, 术中操作精准, 术后恢复快, 手术并发症少, 在一定程度上超过传统开腹结直肠肿瘤根治术的临床疗效, 值得临床进一步推广。

关键词

结直肠肿瘤 / 外科学; 腹腔镜; 预后

中图分类号: R735.3 文献标志码: B



DOI:10.7659/j.issn.1005-6947.2013.10.022
<http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3667.shtml>

随着微创外科理念日益深入人心, 腔镜技术

也逐步引入腹部外科领域, 目前除腹腔镜胆囊切除术外, 腹腔镜结直肠癌根治术是最为成熟的腹腔镜外科手术方式^[1]。我院 2006 年 9 月—2012 年 12 月完成腹腔镜下肿瘤切除或根治术 255 例, 取得了较为满意的效果, 现予以总结并分析如下。

基金项目: 南通大学附属医院科技基金资助项目 (Tdfy0965)。

收稿日期: 2013-04-26; **修订日期:** 2013-09-10。

作者简介: 王伟, 南通大学附属医院主治医师, 主要从事胃肠道肿瘤方面的研究。

通信作者: 马利林, Email: wangweint@126.com

metastasis, and survival in colorectal cancer[J]. N Engl J Med, 2005, 353(25):2654-2666.

科杂志, 2007, 16(7):690-692.

(本文编辑 宋涛)

[17] Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome[J]. Science, 2006, 313(5795):1960-1964.

[18] 张梅, 徐书杭, 徐瑜, 等. 抗原特异性 CD4+CD25+T 细胞对同种异体胰岛移植影响及作用机制研究 [J]. 中国普通外科杂志, 2008, 17(9):878-882.

[19] 陈中, 倪家连, 刘鲁岳, 等. CD4+CD25+ 调节性 T 细胞在肝癌微环境中的分布状况与局部免疫状态的关系 [J]. 中国普通外

本文引用格式: 徐为, 付海啸, 邱磊, 等. Treg 细胞在 II 期结肠癌组织中的数量及临床意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2013, 22(10):1338-1341. DOI: 10.7659/j.issn.1005-6947.2013.10.021

Cite this article as: XU W, FU HX, QIU L, et al. The tumor-infiltrating regulatory T lymphocyte in stage II colon cancer and its clinical significance[J]. Chin J Gen Surg, 2013,22(10):1338-1341. DOI: 10.7659/j.issn.1005-6947.2013.10.021