



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.022
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.022
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(9):1319-1322.

· 简要论著 ·

胰腺癌患者外周血 CD4⁺CD25^{high} T 细胞比率变化特点及其临床意义

雷宏伟, 高岩, 李杰

(大连医科大学附属第二医院 肿瘤放疗科, 辽宁 大连 116027)

摘要

目的: 探讨胰腺癌患者外周血中高表达 CD25 的 CD4⁺ 调节性 T 细胞 (CD4⁺CD25^{high}T) 的表达比率及其临床意义。

方法: 选取 50 例确诊胰腺癌患者作为胰腺癌组、50 例急性胰腺炎患者作为 AP 组、50 例健康体检对象作为对照组, 分别采用流式细胞技术检测三组研究对象的外周血的 CD4⁺CD25^{high}T 细胞水平, 采用 ELISA 检测胰腺癌患者外周血 γ -干扰素 (INF- γ)、白细胞介素 4 (IL-4)、白细胞介素 10 (IL-10) 的水平。

结果: 胰腺癌组患者的 CD4⁺CD25^{high}T 细胞占 CD4⁺T 细胞的比率显著的高于 AP 组、对照组 ($P < 0.05$), AP 组的 CD4⁺CD25^{high}T 细胞占 CD4⁺T 细胞的比率显著的高于对照组 ($P < 0.05$); I-II 期患者 CD4⁺CD25^{high}T 细胞占 CD4⁺T 细胞的比率显著的高于 III、IV 期 ($P < 0.05$); I-II 期患者的 INF- γ 、IL-4、IL-10 水平显著的高于 III、IV 期患者 ($P < 0.05$); 胰腺癌患者的 CD4⁺CD25^{high}T 细胞水平与 INF- γ 、IL-4、IL-10 水平均呈现显著的正相关 ($r = 0.372$ 、 $r = 0.401$ 、 $r = 0.226$, $P < 0.05$)。

结论: 胰腺癌患者的 CD4⁺CD25^{high}T 细胞比率显著的提高, 并且与患者的临床分期、免疫功能变化具有一定的关系。

关键词

胰腺肿瘤; CD4⁺CD25^{high}T; 免疫, 体液
中图分类号: R735.9

目前胰腺癌的发病率逐年攀升, 正趋近于一种常见消化系统恶性肿瘤, 严重威胁着人类的健康和生命安全^[1]。当前, 针对癌症发生和发展机制研究表明, 癌症患者外周血中高 CD25 的 CD4⁺ 调节性 T 细胞 (CD4⁺CD25^{high}T) 呈现高表达, 其能够和细胞直接接触, 抑制患者机体发生免疫性疾病, 并可显著调控肿瘤免疫^[2], 同时不受人体细胞因子控制。研究^[3]显示, 肿瘤环境中 CD4⁺CD25^{high}T 细胞比例上调, 造成人体肿瘤免疫调节机制失衡。胰腺癌作为常见肿瘤之一, 目前关于其和 CD4⁺CD25^{high}T 细胞表达变化间关系的研究仍处于起步阶段。本文研究性分析胰腺癌患者外周血中

高表达 CD4⁺CD25^{high}T 的表达比率, 探查其变化特点与患者肿瘤免疫机制间关系, 并探讨其对胰腺癌临床治疗的指导意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 50 例确诊胰腺癌患者作为胰腺癌组、50 例急性胰腺炎患者作为 AP 组、50 例健康体检对象作为对照组。胰腺癌组 50 例患者, 其中女 21 例, 男 29 例; 年龄 29~69 岁, 平均 (47.80 ± 13.17) 岁; 病理结果: 腺癌 49 例, 恶性黏液囊腺瘤 1 例; 依据 UICC 1997 年临床分期标准: I~II 期 20 例, III 期 16 例, IV 期 14 例。AP 组 50 例患者, 其中女 24 例, 男 26 例; 年龄 25~67 岁, 平均 (45.92 ± 14.05) 岁; 其中胆源性 AP 患者 43 例, 脂源性 AP 患者 7 例。对照组 50 例, 其中女 23 例, 男 27 例; 年龄 24~69 岁,

收稿日期: 2015-06-10; 修订日期: 2015-08-06。

作者简介: 雷宏伟, 大连医科大学附属第二医院主治医师, 主要从事恶性肿瘤放疗化疗方面的研究。

通信作者: 李杰, Email: ljhxjy@163.com

平均(45.82 ± 14.09)岁。三组间年龄、性别差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 纳入排除标准

1.2.1 纳入标准^[4] (1)胰腺癌患者的诊断全部经病理学证实;(2)胰腺癌患者近1个月内未进行抗肿瘤治疗、3个月内未进行免疫治疗;(3)AP患者的诊断主要依据2004年中国急性胰腺炎诊治指南中急性胰腺炎的诊断标准;(4)本研究获得三组研究对象的知情同意。

1.2.2 排除标准^[5] (1)合并其他部位或器官的胰腺癌患者;(2)合并胰腺或胰周感染的患者。

1.3 实验仪器与方法

鼠抗人CD4、CD8、CD25、CD3抗体均购自美国BD公司,鼠抗人IgG1免疫球蛋白购自上海一研生物科技有限公司,IL-10、IFN- γ 及IL-4的ELISA试剂盒购自北京普赞生物技术有限公司,CytoFLEX流式细胞仪购自美国贝克曼公司。

1.4 检测方法

分别采集患者病后3 d、20 d、60 d外周血标本5 mL,对应记为I期、II期、III期,即刻检测Treg及Foxp3,常规分离外周血标本获得上清液,于-20℃条件下冷存。应用荧光直接标记法及流式细胞仪检测外周血CD4⁺CD25^{high}T;ELISA法检测IL-10、IFN- γ 及IL-4表达,按照ELISA试剂盒说明书逐步检测,根据血清样品的吸光度A值可在标准曲线上查出其浓度。

1.5 统计学处理

数据分析及统计在专业软件SAS9.0软件包中处理,三组研究对象的CD4⁺CD25^{high}T细胞、INF- γ 、IL-4、IL-10水平采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,三组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK- q 检验;相关性分析采用Pearson线性相关分析法。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 三组研究对象的CD4⁺CD25^{high}T细胞水平比较

胰腺癌组、AP组、对照组的CD4⁺CD25^{high}T细胞占CD4⁺T细胞的比率比较差异均有统计学意义($P < 0.05$);组间比较:胰腺癌组患者的CD4⁺CD25^{high}T细胞占CD4⁺T细胞的比率高于AP

组、对照组($P < 0.05$),AP组的CD4⁺CD25^{high}T细胞占CD4⁺T细胞的比率高于对照组($P < 0.05$)(表1)。

表1 三组CD4⁺CD25^{high}T占CD4⁺T细胞比率比较($n=50$, %, $\bar{x} \pm s$)

组别	CD4 ⁺ CD25 ^{high} T	F	P
胰腺癌组	16.24 ± 5.20 ^(1,2)	13.840	<0.001
AP组	4.28 ± 2.09 ⁽¹⁾		
对照组	2.26 ± 1.35		

注:1)与对照组比较, $P < 0.05$;2)与AP组比较, $P < 0.05$

2.2 胰腺癌患者不同临床分期患者的CD4⁺CD25^{high}T细胞水平比较

胰腺癌I~II、III、IV期患者的CD4⁺CD25^{high}T细胞占CD4⁺T细胞的比率比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),组间比较I~II期高于III期、IV期患者且差异均具有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

表2 不同临床分期患者的CD4⁺CD25^{high}T占CD4⁺T细胞比率比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD4 ⁺ CD25 ^{high} T	F	P
I~II期	20	20.67 ± 3.18 ^(1,2)	10.867	0.005
III期	16	14.15 ± 2.70		
IV期	14	13.89 ± 2.61		

注:1)与IV期患者比较, $P < 0.05$;2)与III期患者比较, $P < 0.05$

2.3 胰腺癌不同分期临床患者INF- γ 、IL-4、IL-10水平比较

胰腺癌I~II期、III期、IV期患者的INF- γ 、IL-4、IL-10水平比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),I~II期患者的INF- γ 、IL-4、IL-10水平显著的高于III、IV期患者且差异均具有统计学意义($P < 0.05$)(表3)。

表3 胰腺癌不同分期临床患者INF- γ 、IL-4、IL-10水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	INF- γ (pg/mL)	IL-4 (pg/mL)	IL-10 (μ g/mL)
I~II期	20	967.32 ± 185.20 ^(1,2)	76.80 ± 15.29 ^(1,2)	18.95 ± 6.10 ^(1,2)
III期	16	580.21 ± 115.47 ⁽¹⁾	35.19 ± 11.57 ⁽¹⁾	11.35 ± 4.03
IV期	14	338.75 ± 98.61	23.98 ± 5.18	12.28 ± 4.17
F		11.568	14.393	4.048
P		0.003	<0.001	<0.001

注:1)与IV期患者比较, $P < 0.05$;2)与III期患者比较, $P < 0.05$

2.4 胰腺癌患者 CD4⁺CD25^{high} T 细胞水平与 INF- γ 、IL-4、IL-10 水平相关性分析

胰腺癌患者的 CD4⁺CD25^{high} T 细胞水平与 INF- γ 、IL-4、IL-10 水平均呈现显著的正相关 ($r=0.372$ 、 $r=0.401$ 、 $r=0.226$, 均 $P<0.05$)。

3 讨论

淋巴 T 细胞从初次被研究者发现以来, 针对其细胞亚群 CD4⁺CD25^{high} 和机体炎性反应及各类癌症肿瘤间的研究日益增多^[6]。诸多研究显示, CD4⁺CD25^{high} 调节性 T 细胞能够有效调控、抑制生物体免疫性及炎性疾病的产生、发展。肿瘤免疫作为机体主要免疫之一^[7-10], 故 CD4⁺CD25^{high} 细胞也可显著调节该免疫答应, 实现机体自身抗肿瘤机制。有研究者^[11]通过大鼠试验证明, 通过特异性消除小鼠体内 CD4⁺CD25^{high} 细胞表达, 能够显著加强其对绝大部分的肿瘤细胞拮抗功能, 推断出该类调节性 T 细胞具有一定抗肿瘤免疫特性。研究者^[12-13]通过生化试验还证明, 人和大鼠 CD4⁺CD25^{high} 细胞间具有相似细胞结构及特性, 其能够抑制细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 以清除肿瘤, 并阻碍效应器细胞天然免疫答应功能正常发挥。并有文献^[14]报道, 若人体淋巴细胞出现肿瘤浸润及转移时, CD4⁺CD25^{high} 细胞数量呈现上升趋势, 表明 CD4⁺CD25^{high} 于该类肿瘤患者外周血和黏膜组织细胞内呈现表达上调, 同时其可合成并分泌高水平抑制性细胞因子, 降低健康细胞复制、增殖, 故笔者推断 CD4⁺CD25^{high} 细胞和胰腺癌患者肿瘤发生和发展也具有一定相关性。

CD4⁺CD25^{high} 细胞作为调节性 T 细胞之一, 其包括自然生成型和诱导生成型, 其中自然生成型 CD4⁺CD25^{high} 细胞由人体于胸腺内合成、分泌, 约占到整体水平的 5%~10%^[15], 其具有表达相关调节性细胞的特性。其还于人体内外均对细胞具有抑制活性, 能够将免疫抑制特性直接作用于细胞, 且不受细胞因子限制^[16], 并能够诱导人体生产调节性 T 细胞, 该类细胞能够结合 IL-10 及 TGF- β 发挥机体免疫抑制。研究证明, 自体同源 T 细胞具有自识别肿瘤抗原机制, 人体肿瘤免疫属于自身免疫之一, 且生化检测显示, 多种癌症患者外周

血及肿瘤组织内 CD4⁺CD25^{high} T 细胞成分数量上调^[17-18]。在本研究中, 胰腺癌组患者 CD4⁺CD25^{high} T 细胞占 CD4⁺T 细胞的比率显著的高于 AP 组、对照组 ($P<0.05$), AP 组的 CD4⁺CD25^{high} T 细胞占 CD4⁺T 细胞的比率显著的高于对照组 ($P<0.05$), 结果表明胰腺癌患者外周血内 CD4⁺CD25^{high} T 细胞数量明显增加时, 患者细胞免疫功能被抑制, 当免疫功能下降时, 有进一步促进了肿瘤的发展。故此在某种意义上说, 当肿瘤发展到一定程度时, 患者体内 CD4⁺CD25^{high} T 细胞数量就会较正常人高。在研究中, 结果显示胰腺癌 I~II 期患者 CD4⁺CD25^{high} T 细胞占 CD4⁺T 细胞的比率显著高于 III、IV 期患者且差异均具有统计学意义 ($P<0.05$); 这种比率上的变化, 说明随着患者肿瘤分期的不断进展, CD4⁺CD25^{high} T 细胞在 CD4⁺T 细胞中所占比例呈现下降趋势, 这可能是因为癌症患者接受化疗抗癌治疗后, CD4⁺CD25^{high} T 细胞数量下降速度高于 CD4⁺T 细胞, 使其抑制免疫系统效果下降, 使得病情趋于缓解, 这也预示 CD4⁺CD25^{high} T 细胞比例降低可作为评估化疗疗效的指标之一。在研究中, 胰腺癌 I~II 期患者外周血 INF- γ 、IL-4、IL-10 水平显著的高于 III 期、IV 期患者, 差异均具有统计学意义 ($P<0.05$); 且各项炎性因子与胰腺癌患者 CD4⁺CD25^{high} T 细胞水平均呈现显著正相关性。这是可能是体内自身抗原和树突状细胞 (dendritic cells, DC) 介导特异性调节性细胞促使组织调节细胞抑制肿瘤反应 CTL^[19-20], 造成细胞抗癌因子平衡趋于刺激患者机体自身耐受发挥功效, 使得 INF- γ 、IL-4、IL-10 表达上调, 抑制记忆性 T 细胞活性, 导致 DC 表面内共刺激分子表达下调, 减弱抗原递呈效率, 增强人体抗肿瘤免疫答应。

综上所述, 胰腺癌患者的 CD4⁺CD25^{high} T 细胞数量较正常水平显著提高, 且和癌症临床分期、免疫功能变化具有正相关性, 对其做相关研究能够提高胰腺癌早期诊断的准确性, 并可增强目前对临床免疫治疗胰腺癌疗效的检测。

参考文献

- [1] Hamza E, Mirkovitch J, Steinbach F, et al. Regulatory T cells in early life: comparative study of CD4⁺CD25^{high} T cells from foals and adult horses[J]. PLoS One, 2015, 10(3):e0120661. doi: 10.1371/

- journal.pone.0120661.
- [2] 吴世乐, 宋世铎, 张逸, 等. 抑制胰腺癌细胞中诱骗受体3表达对T淋巴细胞功能的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(5):1062-1065.
- [3] 乔晓媛, 牛润桂, 魏淑青. 中晚期肺癌患者化疗前后的CD4⁺CD25⁺调节性T细胞含量变化及其作用研究[J]. 中国药物与临床, 2015, 15(5):680-682.
- [4] 郭晓静, 张艺蓉, 付丽. 肿瘤微环境中的Th17细胞[J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(5):853-856.
- [5] Strömbeck A, Rabe H, Lundell AC, et al. High proportions of FOXP3(+) CD25(high) T cells in neonates are positively associated with allergic sensitization later in childhood[J]. Clin Exp Allergy, 2014, 44(7):940-952.
- [6] 姜红, 刘广志, 周建华, 等. 多发性硬化抗原特异性调节性T细胞的免疫活性[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2015, 41(3):180-182.
- [7] 薄利魁. 老年初诊急性髓细胞白血病患者CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的表达[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(1):151-155.
- [8] Sommer W, Knöfel AK, Madrahimov N, et al. Allogeneic CD4⁺CD25^{high} T cells regulate obliterative bronchiolitis of heterotopic bronchus allografts in both porcine and humanized mouse models[J]. Transplantation, 2015, 99(3):482-491.
- [9] Sadallah S, Amicarella F, Eken C, et al. Ectosomes released by platelets induce differentiation of CD4⁺T cells into T regulatory cells[J]. Thromb Haemost, 2014, 112(6):1219-1229.
- [10] 陈应泰, 王成锋, 何明彦, 等. 低剂量重离子束照射对胰腺癌患者外周血淋巴细胞亚群比例和细胞因子表达的影响[J]. 中华肿瘤杂志, 2014, 36(6):435-439.
- [11] Bahador A, Hadjati J, Hassannejad N, et al. Frequencies of CD4⁺ T Regulatory Cells and their CD25(high) and FoxP3(high) Subsets Augment in Peripheral Blood of Patients with Acute and Chronic Brucellosis[J]. Osong Public Health Res Perspect, 2014, 5(3):161-168.
- [12] Periolo N, Guillén L, Arruvito ML, et al. IL-15 controls T cell functions through its influence on CD30 and OX40 antigens in Celiac Disease[J]. Cytokine, 2014, 67(1):44-51.
- [13] 张意兰. 胰腺癌化疗后应用DC-CIK细胞对免疫平衡的影响及临床疗效研究[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(9):42-45.
- [14] 陈树波, 李元栋, 孔祥顺, 等. 1-甲基色氨酸联合树突状细胞疫苗对胰腺癌荷瘤小鼠的免疫作用[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(9):1900-1902.
- [15] 何宋兵. CD4⁺IL-17⁺细胞在胰腺癌肿瘤微环境中的分布、表型特征、分化募集机制及临床意义的实验研究[D]. 苏州:苏州大学, 2012:16-26.
- [16] 蔡凯, 艾月琴, 张闯, 等. DC-CIK细胞治疗局部晚期和晚期胰腺癌患者的临床疗效[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20(4):449-455.
- [17] 宋晓燕, 马宁, 姜振宇, 等. 原发性胰腺癌患者高强度聚焦超声治疗前后外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的变化及其意义[J]. 吉林大学学报:医学版, 2013, 39(04):791-794.
- [18] 甘宁. FOXP3蛋白在人脑胶质瘤中的表达及临床意义[D]. 石家庄:河北医科大学, 2012:10-17.
- [19] 刘爱华. 化疗联合DC-CIK细胞治疗对胰腺癌患者免疫功能的影响[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2012, 6(20):76-79.
- [20] Saraceni C, Agostino N, Weiss MJ, et al. Clinical characteristics and treatment-related biomarkers associated with response to high-dose interleukin-2 in metastatic melanoma and renal cell carcinoma: retrospective analysis of an academic community hospital's experience[J]. Springerplus, 2015, 4:118. doi: 10.1186/s40064-015-0890-1.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 雷宏伟, 高岩, 李杰. 胰腺癌患者外周血CD4⁺CD25^{high} T细胞比率变化特点及其临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(9):1319-1322. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.022
Cite this article as: LEI HW, GAO Y, LI J. Characteristic change of CD4⁺CD25^{high} T cell ratio in peripheral blood of patients with pancreatic cancer and its significance[J]. Chin J Gen Surg, 2015, 24(9):1319-1322. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.022