

文章编号:1005-6947(2008)07-0714-02

· 简要论著 ·

# 原发性肝癌患者体内的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞变化及其意义

黄凯<sup>1</sup>, 吴宇<sup>1</sup>, 杨国华<sup>2</sup>

(1. 福建省肿瘤医院腹部外科, 福建 福州 350001; 2. 福建省立医院肿瘤外科, 福建 福州 350001)

**摘要:**目的 探讨原发性肝细胞癌(HCC)患者体内 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞变化的及其意义。方法 实验分 HCC 组( $n=20$ )与正常人对照组( $n=10$ ),采用免疫荧光标记法,流式细胞仪分离出外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞,分析两组 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞所占 T 细胞的比例。计算并比较癌组织与癌旁组织中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞所占 T 细胞的比例。结果 HCC 组机体的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞比例为(19.3 ± 3.0)%,明显高于对照组(5.2 ± 1.6)%( $P < 0.05$ )。癌组织中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞比例为(6.5 ± 2.9)%,癌旁组织中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞比例为(5.8 ± 2.1)%,( $P > 0.05$ )。结论 原发性肝细胞癌患者机体免疫功能降低的原因之一可能是外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞数明显增加。

[中国普通外科杂志,2008,17(7):714-715]

**关键词:** 癌,肝细胞; CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞; 免疫

**中图分类号:** R 735.7 **文献标识码:** B

原发性肝细胞癌(HCC)预后差,这可能与患者机体免疫力下降及肿瘤的形成、生长及转移有关。研究表明,CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞能抑制肿瘤浸润性 T 细胞(TIL)及细胞毒性 T 细胞(CTL)活性,降低机体免疫力,其在肺癌及胃癌患者机体内数量增多<sup>[1-3]</sup>,本文就 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞在 HCC 患者机体内变化进行研究。

## 1 资料与方法

### 1.1 分组及一般资料

(1)肝癌组:2008年1~4月我院收治的 HCC 患者,20例,均为术后病理证实。其中男 14例,女 6例;年龄(50 ± 11)岁,高分化 12例,低分化 5例,中分化 3例,伴门静脉癌栓 2例,所有病例均未见远处转移。(2)对照组:为门诊健康体检者 10例,男 3例,女 7例,年龄(43 ± 14)岁。

### 1.2 试剂

胶原酶(Sigma-Aldrich)和玻璃酸酶(Sigma-Aldrich),DNA 消化酶(Sigma-Aldrich)购自上海

西唐生物科技有限公司,抗人 CD25 单克隆抗体(单抗),抗-CD4 单抗,抗 CD3 单抗均购自福州迈新生物技术公司。

### 1.3 实验方法

1.3.1 外周血单个核细胞(PBMC)及 TIL 的制备 采用聚蔗糖/泛影葡胺分层液密度离心法<sup>[4]</sup>分离 PBMC。取肝癌组织及癌旁组织,大小约 1 cm × 1 cm × 1 cm,立即置入保温瓶中,送我院病理科制成厚约 1 mm 切片,用 1 mg/mL 胶原酶,2.5 U/mL 玻璃酸酶,0.1 mg/mL DNA 消化酶消化 2 h,然后用流式细胞仪分离出 TIL。

1.3.2 细胞分离 采用抗人 CD25 单抗,抗-CD4 单抗,抗 CD3 单抗,与 T 细胞表面的 CD4,CD25,CD3 受体结合,T 细胞表面标记不同,流式细胞仪可从 PBMC 及 TIL 细胞识别、分离其中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞,比较 HCC 组与对照组外周血中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞占 T 细胞比例,并比较癌组织与癌旁组织中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞占 T 细胞比例。

### 1.4 统计学处理

实验结果均用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。数据利用 SPSS 15.0 软件分析统计。组间差异采用 Student't 检验, $P < 0.05$  差异有统计学意义。

## 2 结果

HCC 组患者 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞占 T 细胞的比

收稿日期:2008-04-29; 修订日期:2008-06-15。

作者简介:黄凯,男,福建省肿瘤医院硕士研究生,主要从事消化系统肿瘤外科方面的研究。

通讯作者:杨国华 E-mail:yang9903276@163.com

例为(19.3 ± 3.0)%,明显高于对照组的(5.2 ± 1.6)%,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) (图1)。癌组织中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞比例为(6.5 ± 2.9)% ,

癌旁组织中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞比例为(5.8 ± 2.1)% ,两者差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

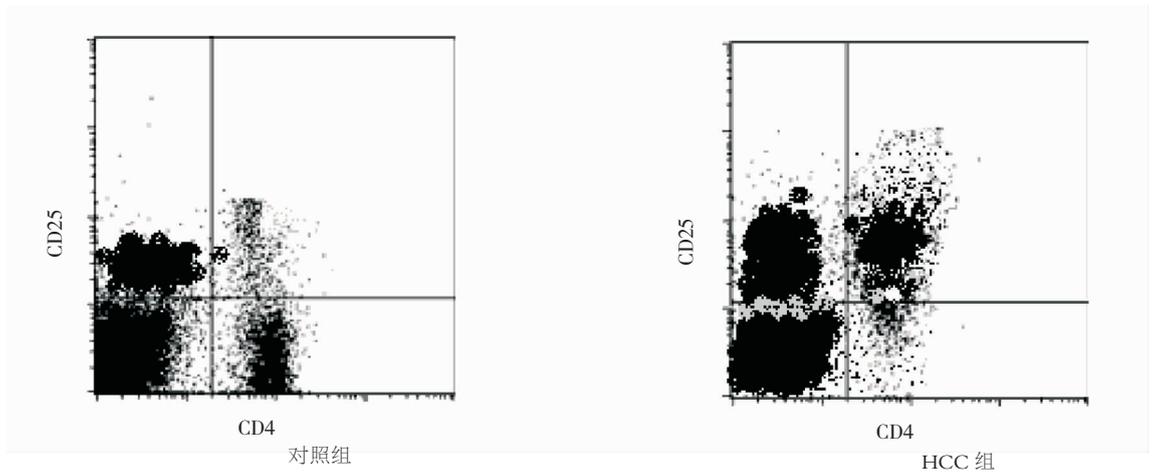


图1 对照组和 HCC 组 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞分布

### 3 讨论

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞亦称调整性 T 细胞,是维持机体免疫系统内环境稳定的一群 T 细胞,它们能抑制 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞介导的免疫应答,在抑制移植物免疫排斥反应、移植物抗宿主反应和自身免疫病中发挥重要作用,同时它还能下调效应 T 细胞的抗肿瘤作用,降低机体的抗肿瘤能力。有研究表明,活化 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞产生白介素 10 (IL-10) 和  $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ ), IL-10 可抑制肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ )、白介素 1 (IL-1 $\beta$ ) 及白介素 6 (IL-6) 等多种细胞因子的产生以及其活化,从而抑制效应 T 细胞活化及参与细胞免疫应答<sup>[5]</sup>。IFN- $\gamma$  能活化细胞毒 T 细胞和肿瘤浸润 T 细胞<sup>[3]</sup>。研究表明, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞能抑制 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞生长,这也可能是肝癌患者细胞免疫力下降的原因之一<sup>[4-6]</sup>。

肝癌免疫治疗是肝癌综合治疗的重要组成部分,但效果尚不尽人意,这与肿瘤逃逸免疫有关,因为肿瘤细胞表面 MHC-I 表达缺乏而使肿瘤抗原提呈受限,肿瘤细胞表面抗原决定簇缺失或减少,肿瘤细胞分泌免疫抑制因子, T 细胞活化信号传导通路细胞分子下降,通过 Fas-FasL 诱导 T 细胞凋亡,本研究结果表明肝癌患者 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞增多,这可能也是肝癌患者机体 T 细胞活化产生效应 T 细胞杀伤肿瘤能力下降的原因之一。

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞增多机制尚不明,还有待深入研究,如何减少 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞或降低 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞对细胞免疫抑制,将为肝癌的细胞免疫治疗提供一条新的思路。

#### 参考文献:

- [1] Woo EY, Yeh H, Chu CS, *et al.* Cutting edge: regulatory T cells from lung cancer patients directly inhibit autologous T cell proliferation [J]. *Immunol*, 2002, 168 (15): 4272 - 4276.
- [2] Wang SK, Zhu HF, He BS, *et al.* CagA + H pylori infection is associated with polarization of T helper cell immune responses in gastric carcinogenesis [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13 (21): 2923 - 2931.
- [3] Yan H, Takamoto M, Sugane K. Exposure to bisphenol A prenatally or in adulthood promotes T(H)2 cytokine production associated with reduction of CD4CD25 regulatory T cells [J]. *Environ Health Perspect*, 2008, 116 (4): 514 - 519.
- [4] 吴雄文,梁智辉.实用免疫学实验技术[M].湖北科学技术出版社,2002.124 - 125.
- [5] Ichihara F, Kono K, Takahashi A, *et al.* Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with gastric and esophageal cancers [J]. *Clinical Cancer Research*, 2003, 9 (12): 4404 - 4408.
- [6] 陈中,倪家连,刘鲁岳,等. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞调节性 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]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16 (7): 571 - 575.