



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.009
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.009
Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(11):1374-1378.

· 基础研究 ·

活化的 NK 细胞与分化型甲状腺癌术后复发关系的 TCGA 数据库分析

李红强, 董晔尧, 柳楨, 王龙龙, 殷德涛

(郑州大学第一附属医院 甲状腺外科 / 河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室, 河南 郑州 450052)

摘要

目的: 探讨免疫细胞浸润与分化型甲状腺癌术后复发之间的关系。

方法: 从 TCGA 数据库中下载 507 例分化型甲状腺癌患者的临床数据, 运用反卷积算法估算 22 种免疫细胞在分化型甲状腺癌组织中的浸润情况, 用生存分析法分析各免疫细胞不同的浸润程度与患者术后复发之间的关系。

结果: 反卷积算法分析结果显示, 除初始 CD4 T 细胞在各样本中均未发现外, 其余 21 种免疫细胞在各肿瘤样本中有不同程度的浸润。Kaplan-Meier 生存曲线及 Log-rank 参数检验分析结果显示, 只有活化的 NK 细胞浸润与患者的无病生存有关, 浸润程度较高患者无病生存期长于浸润程度低患者 ($P=0.004$)。多因素 Cox 回归风险模型分析显示, 活化的 NK 细胞为分化型甲状腺癌术后复发的独立影响因素 ($HR=0.17$, $95\% CI=0.05\sim 0.62$, $P=0.007$)。

结论: 活化的 NK 细胞可以降低分化型甲状腺癌的复发风险, 延长患者的无病生存期, 是分化型甲状腺癌术后复发的独立保护因素。

关键词

甲状腺肿瘤; 肿瘤复发, 局部; 杀伤细胞, 天然
中图分类号: R736.1

Association of activated NK cells and postoperative recurrence of differentiated thyroid cancer based on TCGA Database

LI Hongqiang, DONG Yeyao, LIU Zhen, WANG Longlong, YIN Detao

(Department of Thyroid Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University/Key-Discipline Open Laboratory Clinical Medicine, Zhengzhou 450052, China)

Abstract

Objective: To investigate the relationship between immune cell infiltration and postoperative recurrence of differentiated thyroid cancer.

Methods: The clinical data of 507 patients were downloaded from the TCGA database. The infiltrations of 22 different kinds of immune cells in the cancer tissues were estimated by deconvolution method, and the relationship between the degree of infiltration of each kind of immune cells and postoperative recurrence of the

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81372863); 河南省高校科技创新团队资助项目 (19IRTSTHN002); 中原科技创新领军人才基金资助项目 (194200510011)。

收稿日期: 2019-09-06; **修订日期:** 2019-10-18。

作者简介: 李红强, 郑州大学第一附属医院主治医师, 主要从事甲状腺疾病的基础与临床方面的研究。

通信作者: 殷德涛, Email: detaoyin@zzu.edu.cn

patients was analyzed by survival analysis.

Results: The analysis of deconvolution showed that except the naive CD4 T was absent in all specimens, all the other 21 kinds of immune cells had varied degrees of infiltration in all specimens. The analysis of Kaplan-Meier survival curves and Log-rank tests showed that only the activated NK cell infiltration was significantly associated with the disease-free survival of the patients, as evidenced by the disease-free survival time in patients with high degree of activated NK cell infiltration was significantly longer than that in patients with low degree of activated NK cell infiltration ($P=0.004$). Multivariate Cox regression risk model showed that the degree of activated NK cell infiltration was an independent influential factor for postoperative recurrence of differentiated thyroid cancer ($HR=0.17$, $95\% CI=0.05-0.62$, $P=0.007$).

Conclusion: Activated NK cells can reduce the risk of postoperative recurrence of differentiated thyroid cancer and prolong the disease-free survival of patients, which is an independent protective factor against postoperative recurrence of differentiated thyroid cancer.

Key words

Thyroid Neoplasms; Neoplasm Recurrence, Local; Killer Cells, Natural

CLC number: R736.1

甲状腺癌是内分泌系统最常见的癌症^[1-2], 其中分化型甲状腺癌约占95%。分化型甲状腺癌预后较好^[3], 但仍有部分患者出现复发和远处转移^[4-6], 而且目前对于反复复发或难治性甲状腺癌缺乏有效治疗手段^[7-9]。肿瘤组织中浸润的免疫细胞被发现在多种实体肿瘤^[10-12], 如乳腺癌、肝癌、肺癌等的发生发展及临床结局中具有较强的相关性。免疫疗法已被用于部分肿瘤的治疗, 并取得了很好的疗效。而浸润的免疫细胞与甲状腺癌术后复发的关系尚不明确, 因此本研究通过对TCGA数据库中的数据进行再次挖掘, 对甲状腺癌组织中浸润的免疫细胞进行分析, 发现活化的NK细胞可以降低分化型甲状腺癌的复发风险。

1 材料与方法

1.1 数据获取

选取了TCGA数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov>) 中507例分化型甲状腺癌患者的RNA-seq数据并从cBioportal官网 (<https://www.cbioportal.org>) 下载了该组患者的临床信息资料。

1.2 研究方法

使用R 3.6.0软件对得到的RNA-seq数据进行提取和整理, 得到了mRNA数据矩阵并对数据进行校正, 删除了表达值极低的部分mRNA数据。

随后运用反卷积算法对甲状腺癌组织中的免疫细胞含量进行了估算。结合患者的临床信息资料, 运用survival程序包绘制了各免疫细胞的Kaplan-Meier生存曲线并进行了Log-rank参数检验。最后将生存分析中具有统计学意义的免疫细胞以及患者年龄、性别、T分期、单侧或者双侧腺叶癌变、有无腺外侵犯纳入Cox回归风险模型, 运用survminer程序包进行了多因素Cox回归分析。

1.3 统计学处理

数据采取了Kaplan-Meier生存曲线、Log-rank参数检验及多因素Cox回归癌变风险回归模型分析, 所有统计过程均在R软件中进行。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 分化型甲状腺癌组织中的免疫细胞含量估算

运用CIBERSORT反卷积算法^[13]将整理好的RNA-seq数据进行处理, 并对 $P\geq 0.05$ 的病例样本进行过滤删除, 得到了分化型甲状腺癌组织中的22种免疫细胞所占比例的数据矩阵, 并将在22种免疫细胞中各免疫细胞所占比例绘制了柱状图(图1)。结果发现初始CD4 T细胞在各样本中均未发现, 其余21种免疫细胞均在肿瘤样本中有不同程度的浸润。

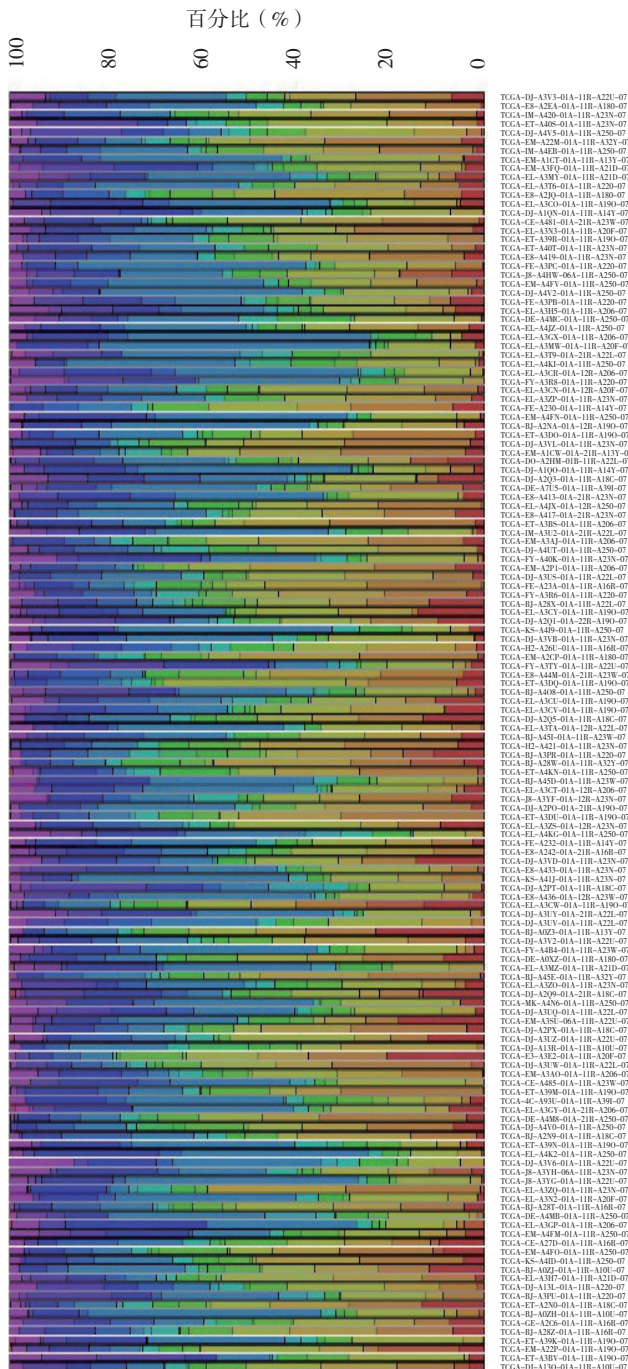


图 1 各种免疫细胞在 507 例分化型甲状腺癌组织中的浸润情况

Figure 1 Infiltration of different types of immune cells in the 507 specimens of differentiated thyroid cancer

2.2 生存分析

为进一步研究各免疫细胞与分化型甲状腺癌的复发风险之间的关系，以临床生存资料完整的 138 例患者为研究对象，有无复发为结局，以免疫细胞浸润程度的中位值为界分为高浸润程度组和低浸润程度组，绘制了除初始 CD4 T 细胞外的各免疫细胞的 Kaplan-Meier 无病生存曲线，并进行了 Log-rank 参数检验。结果发现只有活化的 NK 细胞浸润程度高低与患者的甲状腺癌有无复发之间具有统计学差异 ($P=0.004$)，浸润程度较高的 1 年和 3 年无病生存率明显高于浸润程度低的患者 (图 2)。

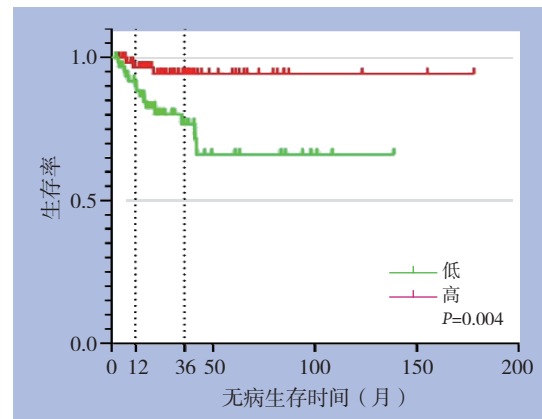


图 2 不同活化 NK 细胞浸润程度患者的无病生存曲线
Figure 2 Disease-free survival curves of patients with different degrees of activated NK cell infiltration

2.3 多因素 Cox 回归风险模型

以往研究^[7, 14-15]显示，患者年龄、性别、T 分期、单侧或者双侧腺叶癌变、有无淋巴结转移、有无腺外侵犯与患者复发事件明显相关，因此将其与活化的 NK 细胞纳入 Cox 回归分析，并将临床信息不完整的病例删除，最终纳入研究的共 132 例分化型甲状腺癌患者，对其进行多因素 Cox 回归风险模型分析。结果显示，只有活化的 NK 细胞为分化型甲状腺癌患者术后复发的独立影响因素 ($HR=0.17$, $95\% CI=0.05\sim 0.62$, $P=0.007$) (表 1)。

表 1 分化型甲状腺癌术后复发的影响因素分析

Table 1 Analysis of influential factors for postoperative recurrence of differentiated thyroid cancer

因素	n (%)	HR	95% CI	P
年龄 (岁)				
< 55	93 (70.45)			
≥ 55 岁	39 (29.55)	0.66	0.22~2.02	0.471
腺外侵犯				
无	91 (68.94)			
有	41 (31.06)	2.26	0.49~10.4	0.295
性别				
男	34 (25.76)			
女	98 (74.24)	1.67	0.55~5.1	0.368
活化的NK细胞浸润程度				
低	66 (50.00)			
高	66 (50.00)	0.17	0.05~0.62	0.007
单侧或双侧癌变				
单侧	108 (81.82)			
双侧	24 (18.18)	1.21	0.35~4.17	0.763
T分期				
T1/T2	81 (61.36)			
T3/T4	51 (38.64)	0.93	0.11~7.88	0.949

3 讨 论

分化型甲状腺癌是最常见的甲状腺癌病理分型,约占95%左右,包括乳头状癌和滤泡状癌,预后较好。但仍有部分患者出现复发和远处转移。

据文献^[16-19]报道,肿瘤免疫细胞浸润与结肠癌、胃癌、肝癌、肾癌等多种实体恶性肿瘤的发生发展和远期预后具有紧密的关系,但具体机制尚不明确。目前认为免疫逃逸^[20-22]是肿瘤的发生发展的重要机制之一。随着对肿瘤免疫细胞浸润研究的不断深入,免疫疗法也逐渐应用与部分实体肿瘤的治疗,并取得了良好的效果^[23-26]。

本研究基于TCGA数据库的mRNA表达数据,描述了分化型甲状腺癌中的免疫细胞浸润分布情况并分析了各免疫细胞浸润情况与分化型甲状腺癌术后复发时间的相关性。研究发现,除初始CD4 T细胞外的各免疫细胞均在分化型甲状腺癌中有不同程度的浸润。在进一步研究中,本研究发现这些免疫细胞中,只有活化的NK细胞与患者的术后复发事件密切相关,浸润程度较高的1年和3年无病生存率明显高于浸润程度低的患者。将其与患者年龄、性别、T分期、单侧或者双侧腺叶癌变以及有无腺外侵犯等危险因素纳入多因素Cox回归风险模型,结果发现较低程度的活化的NK细胞浸润是分化型甲状腺癌复发的独立风险因素。

综上所述,本研究发现活化的NK细胞浸润程度较高的患者术后出现复发的时间较长,预后较好。具有预测分化型甲状腺癌预后潜能。增强活化的NK细胞的浸润程度可能对分化型甲状腺癌的治疗有重要的意义,为研究甲状腺癌的发生发展机制及免疫治疗提供新思路。然而,影响甲状腺癌发生发展的因素众多,本研究基于TCGA数据库数据进行研究,不可避免的出现部分临床信息(如手术情况等)的缺失,以及部分样本的临床资料不全而被剔除,均会对结果造成影响。本研究仅通过公开数据库数据对肿瘤免疫浸润和分化型甲状腺癌的关系做了初步探讨。本课题组将继续对该课题进行研究论证。

参考文献

- [1] 殷德涛,雷梦园. 甲状腺癌靶向研究的热点与展望[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(5):623-626. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.05.001.
Yin DT, Lei MY. Advances of targeted therapy in thyroid carcinomas[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(5):623-626. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.05.001.
- [2] Yin DT, Lei M, Xu J, et al. The Chinese herb *Prunella vulgaris* promotes apoptosis in human well-differentiated thyroid carcinoma cells via the B-cell lymphoma-2/Bcl-2-associated X protein/caspase-3 signaling pathway[J]. Oncol Lett, 2017, 14(2):1309-1314. doi:10.3892/ol.2017.6317.
- [3] Lundgren CI, Hall P, Dickman PW, et al. Clinically significant prognostic factors for differentiated thyroid carcinoma: a population-based, nested case-control study[J]. Cancer, 2006, 106(3):524-531. doi:10.1002/ncr.21653.
- [4] Grant CS. Recurrence of papillary thyroid cancer after optimized surgery[J]. Gland Surg, 2015, 4(1):52-62. doi:10.3978/j.issn.2227-684X.2014.12.06.
- [5] Liu FH, Kuo SF, Hsueh C, et al. Postoperative recurrence of papillary thyroid carcinoma with lymph node metastasis[J]. J Surg Oncol, 2015, 112(2):149-154. doi:10.1002/jso.23967.
- [6] 关海霞,梁楠. 分化型甲状腺癌的动态风险评估——从疾病特点出发的新理念[J]. 中国普通外科杂志, 2016, 25(11):1536-1543. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.003.
Guan HX, Liang N. Dynamic risk stratification of differentiated thyroid cancer: a new concept that arose from the view of disease characteristics[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2016, 25(11):1536-1543. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.003.
- [7] 邱贝,赵波,董焯尧,等. 甲状腺乳头状癌颈部淋巴结转移的临床危险因素[J]. 河南医学研究, 2019, 28(10):1749-1752.

- doi:10.3969/j.issn.1004-437X.2019.10.007.
- Qiu B, Zhao B, Dong YY, et al. The risk factors of lateral cervical region lymph nodes metastasis in papillary thyroid cancer[J]. Henan Medical Research, 2019, 28(10):1749-1752. doi:10.3969/j.issn.1004-437X.2019.10.007.
- [8] 张文涛. 难治性甲状腺癌靶向治疗的分子基础及治疗进展[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2018.
- Zhang WT. Molecular basis and research progress in targeted therapy of refractory thyroid cancer[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2018.
- [9] 黄韬, 胡丽丽, 周军. 难治性分化型甲状腺癌的研究进展[J]. 东南大学学报:医学版, 2017, 36(5):876-881. doi:10.3969/j.issn.1671-6264.2017.05.040.
- Huang T, Hu LL, Zhou J. Research progress of refractory differentiated thyroid cancer[J]. Journal of Southeast University: Medical Science Edition, 2017, 36(5):876-881. doi:10.3969/j.issn.1671-6264.2017.05.040.
- [10] Barnes TA, Amir E. HYPE or HOPE: the prognostic value of infiltrating immune cells in cancer[J]. Br J Cancer, 2017, 117(4):451-460. doi:10.1038/bjc.2017.220.
- [11] Karn T, Jiang T, Hatzis C, et al. Association Between Genomic Metrics and Immune Infiltration in Triple-Negative Breast Cancer[J]. JAMA Oncol, 2017, 3(12):1707-1711. doi:10.1001/jamaoncol.2017.2140.
- [12] 宁克, 殷香保. 肝细胞癌免疫治疗的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2019, 28(2):234-240. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.02.015.
- Ning K, Yin XB. Research progress in immunotherapy of hepatocellular carcinoma[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(2):234-240. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.02.015.
- [13] Newman AM, Liu CL, Green MR, et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles[J]. Nat Methods, 2015, 12(5):453-457. doi:10.1038/nmeth.3337.
- [14] 殷德涛, 何华楠, 马润声, 等. 甲状腺乳头状癌合并代谢综合征患者的复发特点[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2018, 39(1):17-21. doi:10.7652/jdyxb201801005.
- Yin DT, He HN, Ma RS, et al. Characteristics of recurrent papillary thyroid cancer in metabolic syndrome patients[J]. Journal of Xi'an Jiaotong University: Medical Sciences, 2018, 39(1):17-21. doi:10.7652/jdyxb201801005.
- [15] 孙庆贺, 张磊, 杨进宝, 等. 2073例乳头状甲状腺癌淋巴结转移的因素分析[J]. 中华外科杂志, 2017, 55(8):592-598. doi:10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2017.08.008.
- Sun QH, Zhang L, Yang JB, et al. Related factors analysis for lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma: a series of 2 073 patients[J]. Chinese Journal of Surgery, 2017, 55(8):592-598. doi:10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2017.08.008.
- [16] Zhang Y, Xu J, Zhang N, et al. Targeting the tumour immune microenvironment for cancer therapy in human gastrointestinal malignancies[J]. Cancer Lett, 2019, 458:123-135. doi:10.1016/j.canlet.2019.05.017.
- [17] Guan M, Zhou Y, Liu S, et al. Photo-triggered gadofullerene: enhanced cancer therapy by combining tumor vascular disruption and stimulation of anti-tumor immune responses[J]. Biomaterials, 2019, 213:119218. doi:10.1016/j.biomaterials.2019.05.029.
- [18] Fan L, Li Y, Chen JY, et al. Immune checkpoint modulators in cancer immunotherapy: Recent advances and combination rationales[J]. Cancer Lett, 2019, 456:23-28. doi:10.1016/j.canlet.2019.03.050.
- [19] McDonald KA, Kawaguchi T, Qi Q, et al. Tumor Heterogeneity Correlates with Less Immune Response and Worse Survival in Breast Cancer Patients[J]. Ann Surg Oncol, 2019, 26(7):2191-2199. doi:10.1245/s10434-019-07338-3.
- [20] Villalba M, Rathore MG, Lopez-Royuela N, et al. From tumor cell metabolism to tumor immune escape[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2013, 45(1):106-113. doi: 10.1016/j.biocel.2012.04.024.
- [21] Sakurai D, Uchida R, Ihara F, et al. Immunosuppressive property of submandibular lymph nodes in patients with head and neck tumors: differential distribution of regulatory T cells[J]. BMC Res Notes, 2018, 11(1):479. doi:10.1186/s13104-018-3587-z.
- [22] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation[J]. Cell, 2011, 144(5):646-674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [23] Chovanec M, Mardiak J, Mego M. Immune mechanisms and possible immune therapy in testicular germ cell tumours[J]. Andrology, 2019, 7(4):479-486. doi: 10.1111/andr.12656.
- [24] Vansteenkiste J, Wauters E, Reymen B, et al. Current status of immune checkpoint inhibition in early stage NSCLC[J]. Ann Oncol, 2019, pii: mdz175. doi: 10.1093/annonc/mdz175. [Epub ahead of print]
- [25] Song D, Powles T, Shi L, et al. Bladder cancer, a unique model to understand cancer immunity and develop immunotherapy approaches[J]. J Pathol, 2019, 249(2):151-165. doi: 10.1002/path.5306.
- [26] Wang Z, Wang Z, Li B, et al. Innate Immune Cells: A Potential and Promising Cell Population for Treating Osteosarcoma[J]. Front Immunol, 2019, 10:1114. doi:10.3389/fimmu.2019.01114.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 李红强, 董晔尧, 柳楨, 等. 活化的NK细胞与分化型甲状腺癌术后复发关系的TCGA数据库分析[J]. 中国普通外科杂志, 2019, 28(11):1374-1378. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.009

Cite this article as: Li HQ, Dong YY, Liu Z, et al. Association of activated NK cells and postoperative recurrence of differentiated thyroid cancer based on TCGA Database[J]. Chin J Gen Surg, 2019, 28(11):1374-1378. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.009