

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)10-0930-03

肺癌患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的检测及其临床意义

刘顺民, 吴昌归 (第四军医大学西京医院呼吸内科, 陕西 西安 710033)

Measurement and significance of CD4⁺ CD25⁺ T cells in peripheral blood from patients with lung cancer

LIU Shun-Min, WU Chang-Gui

Department of Pulmonary Medicine, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China

【Abstract】 AIM: To discuss the changes and significance of CD4⁺ CD25⁺ T cells in peripheral blood from patients with lung cancer. **METHODS:** The changes of CD4⁺ CD25⁺ T cells in peripheral blood from 60 patients with lung cancer were evaluated by flow cytometry, and compared with ones from 60 healthy volunteers. **RESULTS:** ① The population of CD4⁺ CD25⁺ T cells in peripheral blood from patients with lung cancer accounted for (14.7 ± 1.8)% of the total number of CD4⁺ T lymphocytes, and the percentage was significantly higher than that of healthy volunteers [(6.5 ± 1.4)%, *P* < 0.05]; ② The number of CD4⁺ CD25⁺ T cells in peripheral blood from patients with lung cancer who had been treated with chemotherapy was lower than that of ones without chemotherapy [(14.7 ± 1.8)% vs (6.8 ± 1.4)%, *P* < 0.05]; ③ The expression of CD4⁺ CD25⁺ T cells was higher in peripheral blood from patients with lung cancer of the higher histopathological grade, farther metastasis and poorer differentiation. **CONCLUSION:** The CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in peripheral blood from patients with lung cancer is significantly increased in comparison with healthy subjects. It may be responsible for immune suppression in lung cancer. The change of its expression will provide a clinical evidence for judging the curative effect.

【Keywords】 Lung neoplasms; CD4⁺ CD25⁺ T cells; flow cytometry

【摘要】 目的: 探讨肺癌患者外周血中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的变化及意义。方法: 采用流式细胞技术检测 60 例肺癌患者外周血中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的变化, 并与健康对照组进行比较。结果: ① 肺癌患者外周血中 CD4⁺ CD25⁺

调节性 T 细胞占 CD4⁺ T 淋巴细胞总数高于健康对照者 [(14.7 ± 1.8)% vs (6.5 ± 1.4)%, *P* < 0.05]; ② 化疗前肺癌患者外周血中 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞明显高于化疗后 [(14.7 ± 1.8)% vs (6.8 ± 1.4)%, *P* < 0.05]; ③ 同时发现肺癌患者恶性程度越高, 转移及分化程度低者 CD4⁺ CD25⁺ T 的表达水平越高, 其预后也越差。结论: 肺癌患者外周循环血中 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞水平较高, 可能与肺癌患者免疫功能受损有关, 可作为评估肺癌患者预后的一项指标。

【关键词】 肺肿瘤; CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞; 流式细胞术
【中图分类号】 R743.2 **【文献标识码】** A

0 引言

肿瘤的发生、发展与机体的免疫监视机能密切相关。T 淋巴细胞不仅是细胞免疫的效应细胞, 而且在调节免疫反应中起着重要作用。近年研究发现, 人体内有一个具有独特免疫调节功能的 T 细胞亚群—CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞, 不仅能抑制自身免疫性疾病的发生, 还可能参与肿瘤免疫的调节。在人类健康个体的外周循环血中 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞占总 CD4⁺ T 细胞的 5% ~ 10%^[1-3], 而在乳腺癌、胰腺癌等肿瘤患者的外周血中, 这种调节性 T 细胞高达 13.2% ~ 16.6%^[4]。而且肿瘤恶性程度越高, CD4⁺ CD25⁺ T 细胞水平越高, 其预后也越差^[5]。CD4⁺ CD25⁺ T 细胞在人体内的表达水平与肿瘤的关系已成为目前研究的热点, 但有关 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞的表达与肺癌关系的研究报道较少, 我们探讨了肺癌患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞水平与肺癌的关系及其临床意义。

1 对象和方法

1.1 对象 肺癌患者 60 (男 42, 女 18) 例, 均经病理学或细胞学证实, 年龄 33 ~ 74 (54.0 ± 13.2) 岁。组织学类型及分级: 鳞癌 17 例、腺癌 15 例、小细胞未分化癌 28 例。根据国际抗癌协会标准进行临床分期: III 期 29 例、IV 期 31 例。组织分级: 高分化 15 例、中分化 21 例、低分化 24 例。正常对照组: 健康献血者 60 (男 35, 女 25) 例, 年龄 30 ~ 72 (52.0 ± 12.0) 岁。

1.2 方法 分别采集化疗前后肺癌患者、健康献血者外周静脉血 2 mL, 肝素抗凝。取静脉全血 100 μL,

收稿日期 2005-12-05; 接受日期 2006-03-08

通讯作者: 吴昌归。Tel: (029) 84775237 Email: changgui@fmmu.edu.cn

作者简介: 刘顺民, 硕士生(导师吴昌归)。Tel: (029) 87772935

Email: Lshunmin@fmmu.edu.cn

分别加入 CD₄-PE 标记和 CD₂₅-FITC 标记的 mAb 试剂 20 μL, 设相应的阴性同型对照, 室温闭光反应 30 min, 然后加 2 mL 溶血剂, 5 min 后离弃上清, 再加 0.5 ~ 1.0 mL 的 PBS 液洗涤 2 次, 流式细胞仪 (BD 公司, FACS Calibur) 检测, Cellquest 软件分析数据, 记录阳性细胞百分率, 减去非特异对照值, 样品在 6 h 内检测完毕. PE 标记的鼠抗人 CD₄, FITC 标记的鼠抗人 CD₂₅ mAb 及同型对照 PE 标记的鼠抗人 IgG1, FITC 标记的鼠抗人 IgG1 免疫球蛋白均购自法国 A. COULTER 公司, 溶血剂为实验室自行配制.

统计学处理: 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS12.0 统计软件进行方差分析及两两比较, 组内前后比较用配对 *t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义.

2 结果

2.1 化疗前肺癌患者与健康对照组外周血 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞数量的比较 治疗前 60 例肺癌患者与 60 例健康对照者外周血中 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞分别占 CD₄⁺T 淋巴细胞总数的 (14.7 ± 1.8)% 和 (6.5 ± 1.4)%, 肺癌患者外周血中 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的数量显著高于对照组 ($P < 0.01$).

2.2 肺癌患者外周血 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞数量与病理类型、组织分化程度和临床分期的关系 肺癌患者外周血中 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的数量与患者的病理类型不呈相关性 ($P > 0.05$), 但与临床分期和组织分化程度相关 ($P < 0.01$, 表 1).

表 1 肺癌患者外周血中 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的数量与临床参数的关系 ($\%$, $\bar{x} \pm s$)

临床参数	<i>n</i>	CD ₄ ⁺ CD ₂₅ ⁺
病理类型	小细胞	28 14.5 ± 2.2
	非小细胞	32 14.8 ± 1.4
临床分期	Ⅲ期	29 13.2 ± 1.3
	Ⅳ期	31 16.0 ± 0.8 ^b
组织分级	高分化	15 12.5 ± 0.9 ^d
	中分化	21 14.8 ± 0.5 ^f
	低分化	24 16.4 ± 0.5

^b $P < 0.01$ vs Ⅲ期; ^d $P < 0.01$ vs 中分化; ^f $P < 0.01$ vs 低分化.

2.3 肺癌患者化疗前后 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的变化

60 例肺癌患者化疗前后外周血中 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的数量分别占 CD₄⁺T 淋巴细胞总数的 (14.7 ± 1.8)% 和 (6.8 ± 1.4)%, 化疗前肺癌患者外周血中的 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的数量明显高于化疗后 ($P < 0.05$).

3 讨论

CD₄⁺CD₂₅⁺ 调节性 T 细胞是一具有免疫调节功能的 T 细胞亚群, 有研究表明, CD₄⁺CD₂₅⁺T 调节细胞在许多肿瘤患者的外周血和肿瘤组织中均有增高^[2,6], 提示肿瘤患者可能存在天然的免疫反应, 肿瘤细胞可以产生一系列逃避抗肿瘤反应的机制, 肿瘤患者体内 CD₄⁺CD₂₅⁺ 调节性 T 细胞数量的增高即是抑制肿瘤免疫的机制之一^[7]. CD₄⁺CD₂₅⁺ 调节性 T 细胞通过抑制效应 T 细胞功能, 在维持自身免疫耐受中发挥重要作用^[8].

我们通过对 60 例肺癌患者外周血 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞数量的检测, 并与正常对照组进行了对比研究, 发现正常人、肺癌患者外周血中 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞分别占 CD₄⁺T 淋巴细胞总数的 (6.5 ± 1.4)% 和 (14.7 ± 1.8)%, 与以往报道一致^[1-4], 引起这种变化的原因可能是肿瘤细胞通过某种机制使体内 CD₄⁺CD₂₅⁺ 调节性 T 细胞的数量增高来抑制肿瘤免疫^[5]. 本结果同时显示, 肺癌患者外周血中 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的数量与病理类型无明显相关关系 ($P > 0.05$), 但与肺癌分化程度和临床分期关系密切 (肺癌患者 TNM 分期越高、分化程度越低者 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞数量越高, 而随着化疗及病情的好转 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞数量则下降), 这说明随着肿瘤的进展, 肿瘤细胞产生的 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞数量增多, 使免疫细胞的活性被抑制, 肺癌患者抗肿瘤免疫应答减弱, 有利于肿瘤的生长与转移^[4], 经化疗后患者体内癌负荷减少, 与化疗前相比, 抑制肿瘤免疫的 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞数量也相应减少, 患者免疫抑制及免疫功能低下的状况得以改善.

通过研究, 我们认为肺癌患者体内 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞比例上升可能是导致免疫抑制的原因之一, 但详细的作用机制还有待进一步研究. 肺癌患者存在免疫功能低下, 临床上应加强免疫治疗. 另外也揭示检测肺癌患者外周血中治疗前后的 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞数量的变化可作为肺癌患者荷瘤状态及疗效评估的指标.

【参考文献】

- [1] Woo EY, Chu Cs, Goletz TJ, et al. Regulatory CD₄⁺CD₂₅⁺T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 4766-4772.
- [2] Wolf AM, Wolf D, Steurer M, et al. Increase in regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9: 606-612.
- [3] Schaefer C, Gkim G, Albers A, et al. Characteristics of CD₄⁺

CD25⁺ regulatory T cell in the peripheral circulations of patients with head and neck cancer [J]. BJC, 2005 8: 1-8.

- [4] Liyange UK, Moore TT, Joo HG, et al. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma [J]. Immunology, 2002, 169(5): 2756-2761.
- [5] Seo N, Hayakawa S, Takigawa M, et al. Interleukin-10 express at early tumor sites induces subsequent generation of CD4⁺ T regulatory cells and systemic collapses of antitumor immunity [J]. Immunology, 2001, 103(4): 449-457.
- [6] Sasada T, Kimura Y, Yoshida Y, et al. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T

cells in patients with gastrointestinal malignancies: Possible involvement of regulatory T cells in disease progression [J]. Cancer, 2003 98(5): 1089-1099.

- [7] Nakamura K, Kitani A, Fuss I, et al. TGF- β 1 plays an important role in the mechanism of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells activity in both humans and mice [J]. Immunology, 2004, 172(2): 834-842.
- [8] Rosenberg SA. Progress in human tumor immunology and immunotherapy [J]. Nature, 2001 411: 380-384.

编辑 井晓梅 袁天峰

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2006)10-0932-01

去白细胞加温后库血在临床中的应用与观察

苏晓丽, 党星波, 李彩玲, 彭春贤 (陕西省人民医院急救中心急诊外科, 陕西 西安 710068)

【关键词】库血; 白细胞过滤; 输血反应

【中图分类号】R457.1 【文献标识码】B

1 临床资料 2004-02/2004-11 在我科输血的 434 例患者, 其中普通组包括一般贫血、外科手术后贫血、创伤性失血性贫血等, 休克组均为中度以上失血性休克。观察指标为冷刺激反应(输血时出现寒颤、手臂发冷、肢端僵硬、体温下降、发抖及血管收缩等); 循环状态改善(输血 4 h 内出现面色转红、体表温度回升、组织灌注良好、心跳恢复正常、收缩压达到 12.0 kPa 左右(1 kPa = 7.5 mmHg)); 发热性非溶血性输血反应(输血期间或输血后 24 h 内体温升高 1℃(>38℃)或伴有寒战); 输血器滤网及针头堵塞。库血白细胞过滤采用康立医疗器材有限公司生产的一次性去白细胞滤器, 严格按照使用说明在超净工作室内进行滤除后备用。库血加温方法见文献[1]。分为库血未处理组(A组)库血白细胞过滤组(B组)和库血白细胞过滤+复温组(C组)。A组: 普通贫血组按住院床号 1~16 床的患者输血, 休克患者按每月 1~10 号的抢救输血患者。B组: 一般普通贫血患者组按住院床号 17~32 床的患者输血, 休克患者按每月 11~20 号的抢救输血患者。C组: 普通贫血组按住院床号 33~50 床的患者输血, 休克患者按每月 21~31 号的抢救输血患者。输血采用山东威高集团高分子制品股份有限公司生产的输血器, 对从输血科取回的血液, 按输血常规要求输注。结果普通组 C 组对减少输血过程中出现冷刺激反应优于前两组, 在减少非溶血性输血反应和输血时滤网或针头堵塞方面 B 组和 C 组明显优于 A 组(表 1)。休克患者组中 C 组对减少输血过程中出现冷刺激反应优于前两组, 在减少输血时滤网或针头堵塞方面 B 组和 C 组明显优于 A 组。在减少输血反应方面三组间有统计学意义, B、C 和 A 组相比无统计学意义, 在改善循环状态方面三组无统计学意义(表 2)。

收稿日期 2005-11-10; 接受日期 2005-11-30

作者简介 苏晓丽, 学士, 主管护师, 护士长。Tel: (029) 85253261 Ext. 3660 Email: sxli68@126.com

表 1 336 例贫血患者分组输血情况 [n(%)]

组别	n	冷刺激反应	堵塞	发热反应
A	83	33(39.76) ^f	23(27.71)	7(8.43)
B	126	40(31.75) ^f	0(0) ^b	1(0.79) ^a
C	127	0(0)	0(0) ^b	0(0) ^d

^aP < 0.05, ^bP < 0.01, ^dP < 0.01 vs A 组; ^fP < 0.01 vs C 组。A: 库血未处理组; B: 库血白细胞过滤组; C: 库血白细胞过滤+复温组

表 2 98 例休克患者分组输血情况对比

组别	n	冷刺激反应	堵塞	发热反应	循环状态改善
A	30	16(53.33) ^b	10(33.33)	3(10)	26(86.66)
B	32	14(43.75) ^b	0(0) ^d	0(0)	28(87.5)
C	36	0(0)	0(0) ^d	0(0)	34(94.44)

^bP < 0.01 vs C 组, ^dP < 0.01 vs A 组。A: 库血未处理组; B: 库血白细胞过滤组; C: 库血白细胞过滤+复温组。

2 讨论 血液在冷存条件下会发生一系列物理化学变化, 部分细胞失活、pH 值改变等。临床在抢救患者时, 快速输入大量冷藏库血可导致机体耗氧增多, 体温下降, 同时诱发心率失常、凝血功能障碍等, 严重影响输血效果。我们在输血前给库血滤白的同时加温处理, 起到了明显的效果, 并经三组比较, 库血滤白加温后在普通和休克组均无冷刺激反应出现, 改善了周围循环状况, 达到了满意的治疗效果。

血液在储存过程中, 微聚体的形成、红细胞流动性降低及冷凝集素的存在, 造成输血过程滤网或针头的堵塞。我们通过对三组比较可知, 库血经过滤白后, 在输血过程中没有出现针头或滤网堵塞的现象发生, 这是由于白细胞过滤器在过滤白细胞的同时可使血液中微聚体、微小凝块滤除的结果^[2]。滤白后的血液再进行复温处理, 进一步改善了红细胞膜的粘弹性, 提高了血液的流动性, 有利于休克患者的快速补血, 同时减少了输血不良反应。

【参考文献】

- [1] 杨江存, 于青, 詹杰, 等. 库血复温对储存红细胞血液流变学特性的影响 [J]. 中国输血杂志, 2005, 18(1): 15-16.
- [2] 刘景汉, 欧阳锡林, 李蕊, 等. 去白细胞输血在大剂量输血患者中的临床应用疗效分析 [J]. 解放军医学杂志, 2002, 27(6): 550-551.

编辑 甄志强