

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.04.017

· 临床研究 ·

## 食管鳞癌和转移淋巴结组织中 CD1a 和 CD83 的表达及其临床意义

王雷<sup>1</sup>, 单保恩<sup>2</sup>, 刘亮<sup>3</sup>, 何明<sup>1</sup>, 孟宪利<sup>1</sup>, 王士杰<sup>1\*</sup> (1. 河北医科大学第四医院胸外科, 河北石家庄 050011; 2. 河北医科大学第四医院科研中心, 河北石家庄 050011; 3. 河北医科大学第四医院肿瘤研究所流式细胞室, 河北石家庄 050011)

[摘要] 目的: 探讨食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和转移淋巴结组织中 CD1a 和 CD83 的表达及其与 ESCC 临床病理特征间的关系。方法: 选取河北医科大学第四医院胸外科 2002 年 5 月至 2003 年 12 月间手术切除并经病理确诊的 78 例 ESCC 石蜡标本, 采用流式细胞术检测 78 例 ESCC、24 例正常食管黏膜、35 例正常淋巴结和 32 例转移淋巴结组织中 CD1a 和 CD83 的表达。结果: (1) ESCC 组织中 CD1a 和 CD83 的表达量明显低于正常黏膜 CD1a 和 CD83 的表达量(均  $P < 0.05$ )。 (2) CD1a 表达量与癌组织浸润深度、临床分期、分化程度及淋巴结转移无相关性(均  $P > 0.05$ ); CD83 表达量与 ESCC 临床分期及淋巴结转移有关( $P < 0.05$ )。 (3) 转移淋巴结组织中 CD1a 表达量与正常淋巴结无显著性差异( $P > 0.05$ ); 转移淋巴结组织中 CD83 表达量显著低于正常淋巴结组织( $P < 0.05$ )。结论: ESCC 组织中 CD83 的表达量反映 ESCC 局部免疫状态, 在 ESCC 的发生、发展过程中具有重要作用, 可作为评价食管癌生物学行为的指标。

[关键词] 食管鳞癌; 转移淋巴结; 树突状细胞; CD1a; CD83

[中图分类号] R735.1; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)04-0401-04

## CD1a and CD83 expression in tumor infiltrating dendritic cells of esophageal squamous cell carcinoma and tumor-infiltrating lymph node

WANG Lei<sup>1</sup>, SHAN Bao-en<sup>2</sup>, LIU Liang<sup>3</sup>, HE Ming<sup>1</sup>, MENG Xian-li<sup>1</sup>, WANG Shi-jie<sup>1\*</sup> (1. Department of Thoracic Surgery, the Fourth Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Research Center, the Fourth Affiliated Hospital of HeBei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 3. FCM Lab of Tumor Institute, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate CD1a and CD83 expression in tumor infiltrating dendritic cell (TIDC) of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and tumor-infiltrating lymph node tissues, and to discuss its relationship with the clinical pathological characteristics of esophageal carcinoma. **Methods:** Seventy-eight paraffin samples were obtained from pathologically diagnosed esophageal carcinoma patients in the fourth hospital of Hebei medical university during 2002 to 2003. Flow cytometry was used to examine the expression of CD1a and CD83 on TIDC in 78 esophageal carcinoma tissues, 24 normal esophageal mucosal samples, 35 normal lymph nodes and 32 tumor-infiltrating lymph nodes. **Results:** (1) The expression of CD1a and CD83 in ESCC tissues was significantly lower than those in the normal esophageal mucosa ( $P < 0.05$ ). (2) CD1a expression was not correlated with the tumor infiltration, clinical stage and lymph node metastasis of esophageal carcinoma (all  $P > 0.05$ ), while CD83 expression was correlated with the clinical stage and lymph node metastasis (all  $P < 0.05$ ). (3) There was no significant difference in CD1a expression between normal lymph node and tumor-infiltrating lymph node ( $P > 0.05$ ), but CD83 expression in tumor-infiltrating lymph node was less than that in the normal lymph node ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The expression of CD83 in TIDC can reflect the local immune status of esophageal carcinoma, and also plays an important role in the development and progression of esophageal carcinoma. CD83 expression may serve as a biomarker for evaluating biological characteristics of esophageal carcinoma.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma; tumor-infiltrating lymph node; dendritic cell; CD1a; CD83

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(4): 401-404]

[基金项目] 河北省普通高等学校强势特色学科基金资助(冀教高 2005 No. 52)。Supported by the Key Specific Discipline Fund of Higher Institutions of Hebei Province (Hebei Higher Institutions 2005 No. 52)

[作者简介] 王雷(1976-),男,河北省石家庄市人,医学博士,主治医师,主要从事胸部肿瘤的基础与临床研究

\*通信作者( Corresponding author)。E-mail: hb.w.sj@163.com

树突状细胞(dendritic cell, DC)是机体内功能最强的抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),能摄取、加工提呈抗原,刺激T淋巴细胞增殖分化,处于启动、调控并维持免疫应答的中心环节,对激发抗肿瘤免疫有重要作用<sup>[1-3]</sup>。TIDC(tumor infiltrating dendritic cell)是浸润至肿瘤及其附近转移淋巴结内的树突状细胞,它的数量和功能可以反映机体的免疫状态。研究肿瘤组织微环境中DC的免疫功能有助于发现肿瘤细胞免疫逃逸的原因和开展DC疫苗的研究。近年来有关TIDC与肿瘤的浸润程度、生物学行为及预后的研究备受关注,特别是在胃癌、肝癌等<sup>[46]</sup>方面的报道很多,但对食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中TIDC的研究较少,关于其与ESCC临床及预后的关系结论不一。CD1a是DC的特异性标志,CD83是DC成熟的表面标志分子。本研究用流式细胞术检测了ESCC癌组织及其转移淋巴结中TIDC表面CD1a和CD83的表达,以及与ESCC临床病理特征间的关系,探讨ESCC免疫逃逸的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

选取河北医科大学第四医院胸外科2002年5月至2003年12月手术切除并经病理证实的ESCC患者78例,术前均未行化疗、放疗或者其他治疗。其中男性49例,女性29例,年龄39~71岁,中位年龄54岁。根据UICC食管鳞癌国际TNM分期标准(1997),其中I~II期34例,III~IV期44例。术中取淋巴结67例,其中转移淋巴结32例,非转移淋巴结35例。24例正常食管黏膜组织作为对照。

### 1.2 试剂

PE标记鼠抗人CD1a单克隆抗体和FITC标记鼠抗人CD83单克隆抗体购自eBioscience公司,克隆号分别为HI149和HB15e。

### 1.3 ESCC和淋巴结组织单细胞悬液的制备和流式细胞仪检测

将石蜡包埋组织在切片机上切取40 μm厚的组织片5片,加入二甲苯6 ml(室温),1 d后更换一次二甲苯,蜡脱净后弃去二甲苯;再依次加入100%、95%、70%、50%梯度的酒精5 ml,每步骤10 min,加入蒸馏水5 ml,用网搓法制备单细胞悬液。取单细胞悬液100 μl(含 $1 \times 10^6$ 个细胞),分别加入荧光标记的抗CD1a和CD83单抗20 μl,室温避光放置2 h,流式细胞仪检测。检测前以flow-check™ Fluorpheres(10 μm)荧光微球校准。

### 1.4 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS12.0统计软件进行t检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CD1a和CD83在正常食管黏膜和ESCC组织中的表达

CD1a在正常食管黏膜中的表达量为(28.70 ± 8.99)%,在ESCC组织中表达量为(22.28 ± 11.74)%,两者差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图1)。CD83在正常食管黏膜中及ESCC组织中的表达量分别为(19.70 ± 6.79)%和(13.39 ± 8.78)%,两者差异有统计学意义( $P < 0.01$ ,图1)。

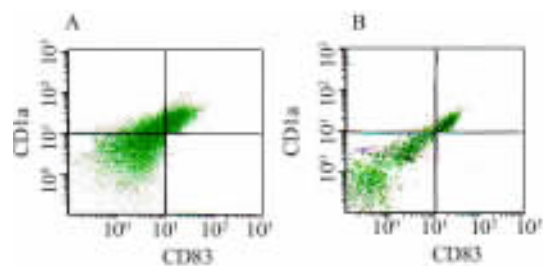


图1 CD1a、CD83在正常食管黏膜和ESCC中的表达

Fig. 1 Expression of CD1a and CD83 in normal esophageal mucosa and ESCC cells

A: Normal esophageal mucosa; B: ESCC

### 2.2 CD1a和CD83表达与ESCC临床病理特征间的关系

CD1a的表达量与ESCC淋巴结转移、肿瘤浸润深度、临床分期和分化程度等因素均无关(均 $P > 0.05$ );但CD83表达与ESCC淋巴结转移和临床分期有关(均 $P < 0.05$ ),与浸润深度、分化程度、年龄和性别无关(均 $P > 0.05$ ,表1)。

### 2.3 CD1a和CD83在ESCC转移淋巴结和正常淋巴结组织中的表达

CD1a在转移淋巴结组织中的表达量为(30.67 ± 9.82)%,在正常淋巴结中的表达量为(34.77 ± 8.09)%,两者差异无统计学意义( $P > 0.05$ );然而CD83在转移淋巴结组织中的表达量为(23.12 ± 8.12)%,在正常淋巴结中表达量为(27.87 ± 9.27)%,两者差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,表2)。

## 3 讨论

机体的抗肿瘤免疫机制十分复杂,DC在启动特异性抗肿瘤免疫反应的抗原提呈中发挥着关键性作用。DC摄取肿瘤抗原,经加工处理后,以MHC II

类分子限制的方式提呈给 CD4<sup>+</sup>T 细胞,使之活化并发挥抗瘤效应;或者以交叉提呈的方式提呈给 CD8<sup>+</sup>T 细胞,从而促进其大量活化、增殖、分化,产

生特异性的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte,CTL),发挥抗瘤效应。此外,DC 可通过合成和分泌一些细胞因子发挥抗肿瘤作用。

表 1 CD1a 和 CD83 在食管鳞癌组织中的表达及其与 ESCC 临床病理特征间的关系

Tab. 1 Expression of CD1a and CD83 in ESCC tissues and its relationship with clinical pathological characteristics of ESCC( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Pathological characteristic	n	CD1a	P	CD83	P
Age					
<60	43	23.87 ± 10.42		14.10 ± 8.48	
≥60	35	20.31 ± 13.06	0.182	12.50 ± 9.17	0.427
Gender					
male	49	22.83 ± 12.72		12.47 ± 6.98	
female	29	21.36 ± 10.01	0.597	13.93 ± 9.71	0.483
Differentiation					
Well	56	23.49 ± 11.27		14.04 ± 8.54	
Poor	22	19.20 ± 12.60	0.147	11.72 ± 9.36	0.297
Tumor infiltration					
T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	42	21.91 ± 12.09		14.24 ± 9.32	
T <sub>3</sub> -T <sub>4</sub>	36	22.70 ± 11.46	0.768	12.39 ± 8.11	0.355
TNM stage					
I - II	44	23.65 ± 12.47		15.23 ± 9.76	
III-IV	34	20.50 ± 10.64	0.243	10.74 ± 6.54	0.018

表 2 CD1a 和 CD83 在食管鳞癌转移淋巴结组织中的表达

Tab. 2 Expression of CD1a and CD83 in tumor-infiltrating lymph node tissues

Lymphaden tissue	n	CD1a	P	CD83	P
Tumor-infiltrating	32	30.67 ± 9.82		23.12 ± 8.12	
Normal	35	34.77 ± 8.09	0.066	27.89 ± 9.27	0.029

机体内存在复杂的肿瘤免疫逃逸机制,致使肿瘤细胞逃避免疫监视。其中肿瘤宿主体内 DC 的异常是肿瘤免疫逃逸机制的一个重要方面,TIDC 的浸润程度反映了宿主防御机制所处的状态,TIDC 数量减少和功能低下或缺陷,不能有效提呈肿瘤抗原和提供协同刺激信号,以致 T 细胞介导的抗肿瘤免疫不能有效发挥作用<sup>[7-9]</sup>。研究<sup>[10-11]</sup>发现在肿瘤及其周围组织中都可可见到 TIDC 的浸润,TIDC 浸润明显的患者其生存时间长于 TIDC 轻微浸润的患者。对 ESCC 组织中 TIDC 临床意义的研究报道很少且结果不尽相同。Ishigami 等<sup>[12]</sup>发现 ESCC 组织中 TIDC 高浸润组比低浸润组的肿瘤浸润深度浅,临床分期早,患者 5 年生存率具有显著性差异;但曹富民

等<sup>[13]</sup>研究发现 TIDC 浸润与 ESCC 临床病理特征和预后无关。

既往曾通过检测 S100 蛋白表达来反映 TIDC 情况。S100 蛋白是小分子钙结合蛋白,在神经组织和单核细胞上也有表达,肿瘤组织的 S100 染色很难区分其表达是在 TIDC 上,还是在肿瘤局部神经组织中。即使 S100 标记到 TIDC 上,其表达数量也只能反映肿瘤组织内浸润 TIDC 的数量,对其功能无提示作用,因此,S100 不是检测 TIDC 理想的指标<sup>[14]</sup>。目前国内、外比较公认的鉴定 DC 的分子是 CD1a 和 CD83。CD1a 是鉴定人外周血与骨髓中 DC 较特异的指标,CD1a 阳性细胞数可反映 DC 的数量;CD83 分子是 DC 的成熟标记,DC 培养早期不表

达 CD83 分子, 成熟后 DC 才表达 CD83。Iwamoto 等<sup>[15]</sup>研究发现 CD1a 阳性表达的 T1DC 的数量与乳腺癌淋巴结转移和预后无关, 而 CD83 阳性表达的 T1DC 的数量却与之相关, 提示乳腺癌组织中浸润的成熟 DC 对患者预后的重要性。本研究发现 ESCC 组织中 CD1a 和 CD83 的表达低于正常食管黏膜组织, 说明肿瘤组织内成熟和非成熟 DC 数量均减少, 这可能是肿瘤免疫逃逸的重要因素。进一步研究发现 CD1a 的表达与肿瘤临床病理指标无关, 但 CD83 的表达与 ESCC 临床分期和淋巴结转移有关, 病程越晚, CD83 表达量越低。无淋巴结转移组 CD83 表达量高于淋巴结转移组, 提示 CD83 能够反映 ESCC 的微环境免疫状态, 可以作为 T1DC 的检测指标。

树突状细胞在摄取和加工抗原后, 迁徙至淋巴器官, 将抗原提呈给 T 细胞, 使其充分活化从而产生抗肿瘤效应, 局部转移淋巴结组织中 DC 能更好的反映机体抗肿瘤免疫能力。本研究发现 ESCC 转移淋巴结中 DC 的数目少于正常淋巴结, 表明晚期 ESCC 患者机体全身或局部转移淋巴结中免疫力下降。其原因可能是由于肿瘤细胞释放的抑制性细胞因子影响了 DC 的成熟和功能, 这些因子包括 VEGF、IL-10 等。ESCC 转移淋巴结中已证实高表达 VEGF<sup>[16]</sup>, 而 VEGF 可抑制淋巴结中 DC 的成熟。

ESCC 的治疗手段以手术切除为主, 辅以化疗和放疗, 但其远期疗效仍不够理想。ESCC 患者就诊时多数已发展为晚期, 手术难以完全切除, 而放、化疗不仅对造血系统、消化系统等产生严重毒性作用, 而且最终还可能诱导肿瘤细胞产生免疫耐受。ESCC 和淋巴结组织内成熟 DC 数量的减少可能是 ESCC 发生免疫逃逸的原因之一。近年来肿瘤生物治疗已成为肿瘤治疗的一种新手段, 以 DC 疫苗活化 CTL 发挥抗肿瘤效应为基础的免疫治疗取得了初步成果<sup>[17-19]</sup>, 这对 ESCC 的治疗将具有深远的意义。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] 柯奇周, 王娅兰. 树突状细胞在肿瘤中的研究进展 [ J ]. 国际肿瘤学杂志, 2006, 33(3): 179-182.
- [ 2 ] Sherman M. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, risk factors, and screening [ J ]. Semin Liver Dis, 2005, 25(2): 143-154.
- [ 3 ] Hao S, Bai O, Yuan J, et al. Dendritic cell-derived exosomes stimulate stronger CD8<sup>+</sup> CTL responses and antitumor immunity than tumor cell-derived exosomes [ J ]. Cell Mol Immunol, 2006, 3(3): 205-211.
- [ 4 ] 蔡晓燕, 邱双健, 吴志全, 等. 肝癌局部树突状细胞和记忆 T 淋巴细胞与患者预后的关系 [ J ]. 中华医学杂志, 2005, 85(10): 671-675.
- [ 5 ] 赵增仁, 李勇, 杨进强, 等. 胃癌及区域淋巴结中树突状细胞 CD83、CD80、CD86 的表达与临床意义 [ J ]. 第三军医大学学报, 2006, 28(4): 376-377.
- [ 6 ] Tsukayama S, Omura K, Yoshida K, et al. Prognostic value of CD83<sup>+</sup> mature dendritic cells and their relation to vascular endothelial growth factor in advanced human gastric cancer [ J ]. Oncol Rep, 2005, 14(2): 369-375.
- [ 7 ] Takagi S, Miyagawa S, Ichikawa E, et al. Dendritic cells, T-cell infiltration, and Grp94 expression in cholangio cellular carcinoma [ J ]. Hum Pathol, 2004, 35(7): 881-886.
- [ 8 ] Vermi W, Bonocchi R, Facchetti F, et al. Recruitment of immature plasmacytoid dendritic cells ( plasmacytoid monocytes ) and myeloid dendritic cells in primary cutaneous melanomas [ J ]. J Pathol, 2003, 200(2): 255-268.
- [ 9 ] 陈芳雪. 树突状细胞功能缺陷与肿瘤免疫逃逸 [ J ]. 国际肿瘤学杂志, 2007, 9(1): 22-26.
- [ 10 ] Saito H, Osaki T, Murakami D, et al. Prediction of sites of recurrence in gastric carcinoma using immunohistochemical parameters [ J ]. J Surg Oncol, 2007, 95(2): 123-128.
- [ 11 ] Dadabayev AR, Sandel MH, Menon AG, et al. Dendritic cells in colorectal cancer correlate with other tumor-infiltrating immune cells [ J ]. Cancer Immunol Immunother, 2004, 53(11): 978-986.
- [ 12 ] Ishigami S, Natsugoe S, Matsumoto M, et al. Clinical implications of intratumoral dendritic cell infiltration in esophageal squamous cell carcinoma [ J ]. Oncol Rep, 2003, 10(5): 1237-1240.
- [ 13 ] 曹富民, 张祥宏, 严霞, 等. 食管鳞癌组织中 NK 细胞和 DC 浸润与预后的关系 [ J ]. 癌症, 2005, 24(2): 232-236.
- [ 14 ] 雷晓, 余佩武, 石彦, 等. 胃癌浸润性树突状细胞 CD83 和 S100 的表达及其临床意义 [ J ]. 中国普通外科杂志, 2005, 14(10): 740-743.
- [ 15 ] Iwamoto M, Shinohara H, Miyamoto A, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating dendritic cells expressing CD83 in human breast carcinomas [ J ]. Int J Cancer, 2003, 104(1): 92-97.
- [ 16 ] 袁欣, 白世祥, 刘菊, 等. 食管癌原发灶及转移淋巴结血管内皮生长因子和微血管形成的测定 [ J ]. 肿瘤防治杂志, 2001, 8(3): 251-252.
- [ 17 ] 杨静悦, 曹大勇, 刘文超, 等. IL-18 基因增强肿瘤抗原致敏 DC 诱导的 CTL 特异性杀伤肝癌细胞 [ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(1): 55-58.
- [ 18 ] Gilboa E. DC-based cancer vaccines [ J ]. J Clin Invest, 2007, 117(5): 1195-1203.
- [ 19 ] Curti A, Tosi P, Comoli P, et al. Phase I / II clinical trial of sequential subcutaneous and intravenous delivery of dendritic cell vaccination for refractory multiple myeloma using patient-specific tumor idiotype protein or idiotype (VDJ)-derived class I-restricted peptides [ J ]. Br J Haematol, 2007, 139(3): 415-424.

[ 收稿日期 ] 2009-04-18

[ 修回日期 ] 2009-06-15

[ 本文编辑 ] 徐红梅