

宫颈癌患者 T 淋巴细胞亚群与自然杀伤细胞水平和病情的相关性

王祝荣^a, 杨霞^a, 何佳萌^b, 王丽^c, 胡晓美^d

(扬州大学附属医院, a 妇科肿瘤, b 妇科, c 肿瘤科, d 检验科, 扬州 225009)

[摘要] **目的** 探讨宫颈癌患者 T 淋巴细胞亚群与自然杀伤细胞(NK 细胞)水平和病情的相关性。**方法** 选取 226 例宫颈癌患者, 根据宫颈癌临床分期分为 I 期组(52 例)、II 期组(63 例)、III 期组(57 例)及 IV 期组(54 例)四组。另选同期健康体检者 60 例女性作为对照组, 使用流式细胞仪检测并比较上述各组 T 淋巴细胞亚群(CD_3^+ 、 $CD_3^+CD_4^+$ 、 $CD_3^+CD_8^+$ 、 $CD_3^+CD_4^+/CD_3^+CD_8^+$)及 NK 细胞($CD_{16}^+CD_{56}^+$)水平。**结果** II 期组、III 期组及 IV 期组 CD_3^+ 水平明显低于对照组和 I 期组($P < 0.05$), 且随着分期的增加, CD_3^+ 水平逐渐降低($P < 0.05$); I 期组、II 期组、III 期组及 IV 期组 $CD_3^+CD_4^+$ 、 $CD_3^+CD_4^+/CD_3^+CD_8^+$ 水平明显低于对照组($P < 0.05$), 且随着分期的增加, $CD_3^+CD_4^+$ 、 $CD_3^+CD_4^+/CD_3^+CD_8^+$ 水平逐渐降低($P < 0.05$); II 期组、III 期组及 IV 期组 $CD_3^+CD_8^+$ 水平明显高于对照组与 I 期组($P < 0.05$), 且随着分期的增加, $CD_3^+CD_8^+$ 水平逐渐升高($P < 0.05$)。I 期组、II 期组、III 期组及 IV 期组 $CD_{16}^+CD_{56}^+$ 数量明显低于对照组($P < 0.05$), 且随着分期的增加, $CD_{16}^+CD_{56}^+$ 数量逐渐降低($P < 0.05$)。宫颈癌患者临床分期与 CD_3^+ 、 $CD_3^+CD_4^+$ 、 $CD_3^+CD_4^+/CD_3^+CD_8^+$ 及 $CD_{16}^+CD_{56}^+$ 水平成负相关($P < 0.01$), 与 $CD_3^+CD_8^+$ 成正相关($P < 0.01$)。**结论** T 淋巴细胞亚群与 NK 细胞水平可反映宫颈癌患者的细胞免疫功能, 宫颈癌临床分期越晚, 细胞免疫功能越低。

[关键词] 宫颈肿瘤; T 淋巴细胞亚群; 自然杀伤 T 细胞; 免疫; 细胞

中图分类号: R737.33 文献标识码: A DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2018.02.008

Relationship between T Lymphocyte subsets and NK cells and disease condition of patients with cervical cancer

Wang Zhurong*, Yang Xia, He Jiameng, Wang Li, Hu Xiaomei (* Gynecologic Oncology Department of Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Corresponding author: Yang Xia, Email: yxsxyz@163.com

[Abstract] **Objective** To investigate the relationship between T lymphocyte subsets and NK cells and disease condition of patients with cervical cancer. **Methods** A total of 226 patients with cervical cancer in our hospital were divided into stage I group (52 cases), stage II group (63 cases), stage III group (57 cases) and stage IV group (cases) according to their clinical stage, and 60 cases of healthy women in the same period were selected as control group. The T lymphocyte subsets (CD_3^+ , $CD_3^+CD_4^+$, $CD_3^+CD_8^+$, $CD_3^+CD_4^+/CD_3^+CD_8^+$) and NK cells ($CD_{16}^+CD_{56}^+$) of each group were detected by Flow cytometry and compared. **Results** The CD_3^+ level of stage II group, stage III group, stage IV group were significantly lower than those of control and stage I group($P < 0.05$), and CD_3^+ level decreased with the increase of stage($P < 0.05$). The $CD_3^+CD_4^+$, $CD_3^+CD_4^+/CD_3^+CD_8^+$ levels of stage I group, stage II group, stage III group, stage IV group were significantly lower than those of control group($P < 0.05$), and $CD_3^+CD_4^+$, $CD_3^+CD_4^+/CD_3^+CD_8^+$ levels decreased with the increase of stage($P < 0.05$). The $CD_3^+CD_8^+$ levels of stage II group, stage III group, stage IV group were significantly higher than those of control and stage I group($P < 0.05$), and CD_3^+ level increased with the increase of stage($P < 0.05$). The $CD_{16}^+CD_{56}^+$ levels of stage I group, stage II group, stage III group, stage IV group were significantly lower than those of control group($P < 0.05$), and $CD_{16}^+CD_{56}^+$ levels decreased with the increase of stage($P < 0.05$). The clinical stage of cervical cancer was negatively correlated with CD_3^+ , $CD_3^+CD_4^+$, $CD_3^+CD_4^+/CD_3^+CD_{56}^+$ and $CD_{56}^+CD_{56}^+$ ($P < 0.01$), and positively

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目(BK20161387)

作者简介: 王祝荣, 主治医师, Email: wqrsxyz@163.com

通信作者: 杨霞, 副主任医师, Email: yxsxyz@163.com

correlated with CD3⁺CD8⁺ ($P < 0.01$). **Conclusion** T lymphocyte subsets and NK cell levels could reflect the cellular immune function of cervical cancer patients, and the clinical stage of cervical cancer is later, the cellular immune function is worse.

[**Keywords**] Uterine cervical neoplasms; T-lymphocyte subsets; Natural killer T-cells; Immunity, cellular

宫颈癌是临床上常见的妇科癌症之一,其发病率、死亡率仅次于乳腺癌,居女性恶性肿瘤第 2 位^[1-2]。调查显示,我国每年宫颈癌新发病例超过 15 万例,且近年来其发病人群呈现年轻化,严重威胁着女性的健康^[3]。研究^[4-5]表明,宫颈癌的发生、发展与机体的免疫功能密切相关,特别是细胞免疫功能,其在机体的抗肿瘤免疫中占主导地位;T 淋巴细胞亚群与自然杀伤细胞(NK 细胞)水平的变化是反映细胞免疫功能的最常用的临床指标,它们与肿瘤的发生、发展及扩散有着明显的相关性。本研究探讨 T 淋巴细胞亚群与 NK 细胞水平在宫颈癌患者不同临床分期中的变化,以期为宫颈癌患者细胞免疫功能的变化及预测预后提供一定参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2016 年 1 月至 2017 年 6 月间于我院就诊的 226 例宫颈癌患者作为研究对象,年龄 25 ~ 70 岁,平均(51.2 ± 10.8)岁。所有患者均经病理确诊为宫颈癌,宫颈癌病理类型分别为鳞癌 195 例、腺癌 35 例。依据《新编常见恶性肿瘤诊治规范》TNM 分期标准将所有患者分为 I 期组(52 例)、II 期组(63 例)、III 期组(57 例)及 IV 期组(54 例)。另选我院同期健康体检者 60 例女性作为对照组,年龄 25 ~ 72 岁,平均(52.5 ± 10.6)岁。各组在性别、年龄等方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:①经病理确诊为宫颈癌;②伴有依据《新编常见恶性肿瘤诊治规范》TNM 分期标准进行分期;③患者知情且同意。

排除标准:①进行放疗、化疗者;②免疫系统疾

病者;③使用过免疫抑制剂者。

1.3 检测方法及指标 所有患者均于清晨空腹采集外周血 3 mL,离心分离血清,使用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺)及 NK 细胞(CD16⁺CD56⁺)水平,并计算 CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 比值。其中单克隆抗体 CD3-FITCA、CD4-PE、CD8-PE、(CD16⁺CD56⁺)-PE 及 FACSCalibur 流式细胞仪均购自于美国 Becton Dickinson 公司,红细胞裂解液购自北京索莱宝科技有限公司。T 淋巴细胞用 CD3、CD4 及 CD8 标记,自然杀伤细胞(NK 细胞)用 CD16⁺CD56⁺ 标记。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 处理数据,计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,行 t 检验;计数资料行 χ^2 检验;相关性分析采用 logistic 回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 T 淋巴细胞亚群水平比较 II 期组、III 期组及 IV 期组 CD3⁺ 水平明显低于对照组、I 期组($P < 0.05$),且随着分期的增加,CD3⁺ 水平逐渐降低($P < 0.05$);I 期组、II 期组、III 期组及 IV 期组 CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 水平明显低于对照组($P < 0.05$),且随着分期的增加,CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 水平逐渐降低($P < 0.05$);II 期组、III 期组及 IV 期组 CD3⁺CD8⁺ 水平明显高于对照组与 I 期组($P < 0.05$),且随着分期的增加,CD3⁺CD8⁺ 水平逐渐升高($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组 NK 细胞数量比较 I 期组、II 期组、III 期组及 IV 期组 CD16⁺CD56⁺ 数量明显低于对照组($P <$

表 1 各组 T 淋巴细胞亚群水平比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺
对照组	60	65.38 ± 12.07	39.50 ± 7.96	25.57 ± 5.03	1.54 ± 0.36
I 期组	52	62.02 ± 10.59	32.42 ± 6.28 ^a	27.16 ± 5.22	1.19 ± 0.23 ^a
II 期组	63	57.96 ± 9.72 ^{ab}	25.98 ± 4.36 ^{ab}	32.05 ± 6.27 ^{ab}	0.81 ± 0.19 ^{ab}
III 期组	57	53.21 ± 8.49 ^{abc}	21.56 ± 3.73 ^{abc}	34.26 ± 6.34 ^{ab}	0.63 ± 0.15 ^{abc}
IV 期组	54	50.26 ± 6.33 ^{abcd}	16.34 ± 3.08 ^{abcd}	34.98 ± 6.55 ^{abc}	0.48 ± 0.12 ^{abcd}

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 I 期组比较,^b $P < 0.05$;与 II 期组比较,^c $P < 0.05$;与 III 期组比较,^d $P < 0.05$

0.05),且随着分期的增加,CD₁₆⁺CD₅₆⁺数量逐渐降低($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组 NK 细胞数量比较

组别	例数	CD ₁₆ ⁺ CD ₅₆ ⁺ ($\bar{x}\pm s, \%$)
对照组	60	22.16 $\pm$ 5.13
I 期组	52	19.23 $\pm$ 4.52 ^a
II 期组	63	16.94 $\pm$ 3.18 ^{ab}
III 期组	57	13.52 $\pm$ 2.70 ^{abc}
IV 期组	54	10.08 $\pm$ 2.25 ^{abcd}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与 I 期组比较,^b $P<0.05$;与 II 期组比较,^c $P<0.05$;与 III 期组比较,^d $P<0.05$

2.3 宫颈癌病情与 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞数量相关性分析 宫颈癌患者临床分期与 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞数量均有相关性,与 CD₃⁺、CD₃⁺CD₄⁺、CD₃⁺CD₄⁺/CD₃⁺CD₈⁺ 及 CD₁₆⁺CD₅₆⁺ 水平成负相关(CD₃⁺: $r=-0.538, P<0.01$;CD₃⁺CD₄⁺: $r=-0.721, P<0.01$;CD₃⁺CD₄⁺/CD₃⁺CD₈⁺: $r=-0.685, P<0.01$;CD₁₆⁺CD₅₆⁺: $r=-0.529, P<0.01$),与 CD₃⁺CD₈⁺ 成正相关($r=0.495, P<0.01$)。

3 讨论

近年来,宫颈癌的发病率逐渐上升,且呈现年轻化的趋势,宫颈癌是严重威胁女性健康的恶性肿瘤之一,了解其发展历程对宫颈癌的防治尤为重要^[6]。研究^[7-8]表明,恶性肿瘤的发生、发展与机体的免疫功能失衡关系密切,正常的机体具备完善的免疫监视、识别功能,当肿瘤发展时,机体的抗肿瘤免疫功能降低,而抗肿瘤免疫功能以细胞免疫为主。因此,研究宫颈癌患者细胞免疫功能的变化对肿瘤的早期诊断、预防及治疗尤为关键。

T 淋巴细胞亚群是细胞免疫系统重要的组成部分,且在细胞免疫功能中起主导作用^[9]。研究表明肿瘤患者存在 T 淋巴细胞亚群比例失衡现象^[10]。T 淋巴细胞免疫调节主要由 CD₃⁺、CD₄⁺、CD₈⁺ 完成,CD₃⁺ 是淋巴细胞的主要组分,具有多种生物功能,可参与细胞免疫应答、杀伤靶细胞、调节体液免疫等,在抑制恶性肿瘤的发展中有着重要作用^[11]。CD₄⁺ 为辅助性 T 细胞,也是一种诱导细胞,其不仅可通过分泌细胞因子辅助 B 细胞产生抗体,增强巨噬细胞杀伤肿瘤细胞与抗原呈递能力,调节体液免疫,还可以通过免疫记忆直接作用于肿瘤细胞^[12]。CD₈⁺ 可表达抑制性 T 细胞与细胞毒 T 细胞,其中抑制性 T 细胞主导细胞免疫与体液免疫的负向调节,

肿瘤患者的细胞毒 T 细胞水平增加时,抑制性 T 细胞相对减少,辅助性 T 细胞的活性降低,间接导致 B 细胞的分化被抑制,从而降低机体对肿瘤细胞的免疫反应;细胞毒 T 细胞是具有特异性杀伤活性的效应细胞,可通过分泌 TNF 等细胞因子发挥杀伤效应,介导肿瘤细胞凋亡,还可通过分泌颗粒酶及穿孔素杀伤肿瘤细胞^[13-14]。本研究显示,宫颈癌患者 CD₃⁺、CD₃⁺CD₄⁺ 及 CD₃⁺CD₄⁺/CD₃⁺CD₈⁺ 水平明显低于对照组($P<0.05$),且随着分期的增加,其水平越低($P<0.05$),表明宫颈癌患者细胞免疫功能与正常人比较明显低下;而 CD₃⁺CD₈⁺ 水平与对照组比较明显升高,且 II、III、IV 期组较健康人群高,差异有统计学意义($P<0.05$),说明宫颈癌患者细胞免疫功能较健康人群差。

NK 细胞是一类独立的淋巴细胞群,其不需要预先致敏,也不需要抗体与补体激活可直接杀伤肿瘤细胞,其作用机制与细胞毒 T 细胞类似,能够通过分泌并释放细胞毒性因子结合肿瘤细胞表面受体从而杀伤肿瘤细胞,还可以通过分泌颗粒酶及穿孔素介导肿瘤细胞溶解,且其仅杀伤肿瘤细胞对宿主细胞一般无胞毒作用,是机体免疫防御系统的第一道防线,在抗肿瘤系统中发挥着举足轻重的作用^[15]。NK 细胞表面标志物是 CD₁₆⁺CD₅₆⁺,检测其水平可了解 NK 细胞在宫颈癌患者中水平的变化^[16]。本次研究显示,宫颈癌患者 CD₁₆⁺CD₅₆⁺ 水平明显低于对照组($P<0.05$),且随着分期的增加,CD₁₆⁺CD₅₆⁺ 数量逐渐降低($P<0.05$),提示了宫颈癌患者 NK 细胞数量较正常人低,细胞免疫功能较低,其原因可能是在杀伤肿瘤细胞时消耗了大量的 NK 细胞。

综上所述,T 淋巴细胞亚群与 NK 细胞水平可反映宫颈癌患者的细胞免疫功能,宫颈癌临床分期越晚,细胞免疫功能越低。

参考文献

[1] 刘芬芬,余海瀛,赵德宇,等.尿液巯基化合物检测在筛查宫颈癌及癌前病变中的临床价值[J].中国临床保健杂志,2017,20(1):11-13.

[2] 齐丽敏,王雪,孙波,等.端粒酶、人类表皮生长因子受体 2 和 c-myc 基因在宫颈病变中的表达及与高危型人乳头瘤病毒感染的相关性[J].中国临床保健杂志,2015,18(2):164-167.

[3] 乔友林,赵宇倩.宫颈癌的流行病学现状和预防[J/CD].中华妇幼临床医学杂志:电子版,2015,11(2):1-6. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1673-5250.2015.02.001

[4] 曹建芳,郝敏,赵卫红.宫颈微环境免疫功能与宫颈癌