

论著·临床研究

乳腺肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群分析及其临床价值*

王宝珏, 潘法雷
(德州市第二人民医院乳腺二科, 山东德州 250000)

摘要:**目的** 检测乳腺癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞表达情况, 分析乳腺癌患者细胞免疫功能状况及其临床价值。**方法** 选择德州市第二人民医院收治的 138 例乳腺癌患者作为乳腺癌组, 再选择 50 例健康女性作为对照组, 采用流式细胞技术检测两组受试者外周血 T 淋巴细胞亚群以及 NK 细胞水平。**结果** 与对照组比较, 乳腺癌患者 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 以及 NK 细胞均显著降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 而 CD8⁺ 细胞水平显著升高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 不同临床分期乳腺癌患者细胞免疫功能差异有统计学意义 ($P<0.05$), 随着临床分期的升高, 患者 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 以及 NK 细胞水平降低 ($P<0.05$), 而 CD8⁺ 细胞水平逐渐升高 ($P<0.05$); 有淋巴结转移乳腺癌患者 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 以及 NK 细胞百分比较无淋巴结转移患者显著降低 ($P<0.05$), 而 CD8⁺ 细胞百分比较无淋巴结转移患者显著升高 ($P<0.05$)。**结论** 乳腺癌患者存在广泛的免疫功能低下或免疫失调, 且患者免疫功能的变化与肿瘤进展、淋巴结转移有关, 监测患者外周血淋巴细胞亚群水平, 对判断乳腺癌患者病情发展、治疗预后具有一定的参考价值。

关键词: 乳腺癌; 外周血 T 淋巴细胞; NK 细胞; 流式细胞技术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.10.020 中图法分类号: R737.9
文章编号: 1673-4130(2018)10-1230-04 文献标识码: A

Analysis of T lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with breast cancer and its clinical value*
WANG Baojue, PAN Falei
(Department of Mammary Gland 2, Dezhou Second People's Hospital,
Dezhou, Shandong 250000, China)

Abstract: **Objective** To detect the expression of T lymphocyte subsets and NK cells in peripheral blood of patients with breast cancer, and to investigate the status of cellular immune function and its clinical value in patients with breast cancer. **Methods** 138 patients with breast cancer were selected from Dezhou Second People's Hospital, and 50 healthy women were selected as the control group. The peripheral blood T lymphocyte subsets and NK cell activity were detected by flow cytometry in the two groups. **Results** Compared with the control group, the CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ and NK cells in breast cancer patients were significantly lower ($P<0.05$), while the number of CD8⁺ cells increased significantly, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The difference of cellular immune function of patients with breast cancer in different clinical stages was statistically significant ($P<0.05$); with the increase of clinical stages, the numbers of CD3⁺, CD4, CD4⁺/CD8⁺ and NK cells in the patients gradually decreased ($P<0.05$), while CD8⁺ cells increased gradually ($P<0.05$); the number of CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ and NK cells in breast cancer patients with lymph node metastasis was significantly lower than that in patients without lymph node metastasis ($P<0.05$), while the number of CD8⁺ cells was significantly higher than that in patients without lymphatic metastasis ($P<0.05$). **Conclusion** Immunodeficiency or immune disorder is very common in breast cancer patients, and changes of immune function in patients are correlated with tumor progression, lymph node metastasis, monitoring the level of peripheral blood lymphocyte subsets in patients with breast cancer has a certain reference value for judging the development of the patient's condition and the prognosis.

Key words: breast cancer; peripheral blood T lymphocytes; NK cells; flow cytometry

乳腺癌是乳腺上皮细胞发生恶性病变而发生的肿瘤, 是女性中常见的一种恶性肿瘤。相关临床调查报道, 乳腺癌发病率大约占有所有恶性肿瘤的 10%, 且近年来乳腺癌发病率呈不断上升的趋势^[1]。有研究

* 基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(ZR1012HL37)。
作者简介: 王宝珏, 男, 副主任医师, 主要从事乳腺肿瘤方面的研究。
本文引用格式: 王宝珏, 潘法雷. 乳腺肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群分析及其临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(10): 1230-1232.

显示,导致乳腺及机体其他部位恶性肿瘤发生的一个主要原因便是机体免疫力的降低,认为机体免疫功能与肿瘤的发生和发展有着密切的联系,当机体免疫功能受到抑制以及免疫功能降低时,肿瘤的发生危险性也随之增加;而在肿瘤生长的过程中,同样对机体的免疫功能造成了抑制,二者之间互为因果、相互作用,从而对肿瘤的发生和发展起到了决定性的作用^[2-3]。因此,详细了解乳腺癌患者的机体免疫功能,对肿瘤的治疗、预后及病情评估均具有着重要临床价值^[4]。本研究探讨了乳腺肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群分布情况及其临床价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 6 月至 2016 年 12 月本院收治的乳腺癌患者 138 例,均为女性,且均经临床病理检查确诊。患者年龄 27~73 岁,平均(52.49±14.28)岁;左侧 77 例、右侧 61 例;同侧腋窝有淋巴结转移者 89 例、无淋巴结转移者 49 例;肿瘤分期按照《新编常见恶性肿瘤诊治规范》中 TNM 分期标准,其中Ⅰ期患者 27 例、Ⅱ期患者 53 例、Ⅲ期患者 45 例、Ⅳ期患者 13 例。138 例乳腺癌患者均未经放疗或化疗。选择 50 例健康女性作为对照组,对照组年龄 21~68 岁,平均(50.27±15.31)岁。经比较,两组受试者年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。两组受试者均无免疫系统疾病或使用过免疫抑制剂。

1.2 仪器与试剂 美国 BD 公司 FACsan 流式细胞仪。单克隆抗体 FITC 标记兔抗人 CD3 抗体、PE 标

记兔抗人 CD4 抗体、PE 标记兔抗人 CD8 抗体、PE 标记兔抗人 NK 蛋白受体均购于美国 BD 公司。红细胞裂解液购于美国 BD 公司。

1.3 方法 取经肝素抗凝的 100 μ L 外周血,加入 20 μ L 单抗,混匀后将其置于室温避光染色 20 min;然后加入红细胞裂解液 1.5 mL,混匀,室温下避光放置 10 min;1 500 r/min 离心 5 min,弃去上清液后每管内加入 2 mL 0.1%叠氮钠的磷酸盐缓冲液,1 000 r/min 离心 5 min,弃去上清;加入 1 mL PBS,混匀后 2 h 内上机检测。采用 CellQuest 软件获取并分析相关数据结果。

1.4 统计学处理 采用统计学软件 SPSS22.0 进行数据处理分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组比较采用 t 检验,三组比较采用方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌患者与对照组细胞免疫功能比较 与对照组比较,乳腺癌患者 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺以及 NK 细胞水平均显著降低($P<0.05$),而 CD8⁺细胞水平显著升高($P<0.05$),见表 1。

2.2 不同分期乳腺癌患者细胞免疫功能比较 不同临床分析乳腺癌患者细胞免疫功能差异有统计学意义($P<0.05$),随着临床分期的升高,患者 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺以及 NK 细胞水平逐渐降低($P<0.05$),而 CD8⁺细胞水平逐渐升高($P<0.05$),见表 2。

表 1 乳腺癌患者与对照组细胞免疫功能比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	NK(%)
对照组	50	70.38±5.23	42.67±4.96	23.74±3.69	1.86±0.37	19.37±3.16
乳腺癌组	138	62.93±4.85	33.80±5.11	28.96±2.72	1.19±0.33	13.82±2.75
<i>t</i>		9.113	10.597	10.520	11.904	11.741
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 不同分期乳腺癌患者细胞免疫功能比较($\bar{x}\pm s$)

TNM 分期	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	NK(%)
Ⅰ期	27	67.63±5.17	38.64±6.71	24.42±3.10	1.59±0.41	16.57±2.31
Ⅱ期	53	63.65±4.01*	35.90±5.73*	27.66±2.81*	1.34±0.33*	14.74±2.63*
Ⅲ期	45	60.32±4.16*#	31.56±3.85*#	30.17±3.54*#	1.04±0.30*#	11.56±2.98*#
Ⅳ期	13	57.33±3.24*#△	27.30±4.27*#△	33.54±3.17*#△	0.85±0.27*#△	9.63±1.76*#△
<i>F</i>		13.482	7.482	9.281	14.214	10.642
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与Ⅰ期比较,* $P<0.05$;与Ⅱ期比较,# $P<0.05$;与Ⅲ期比较,△ $P<0.05$

表 3 有无淋巴结转移乳腺癌患者细胞免疫功能比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	NK(%)
无淋巴结转移	49	64.37±5.31	36.75±4.82	27.67±3.41	1.32±0.37	14.63±2.18
有淋巴结转移	89	61.64±4.62	30.17±5.63	29.71±2.50	1.07±0.31	11.12±2.05
<i>t</i>		3.023	7.224	3.676	4.015	9.242
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.3 有无淋巴转移乳腺癌患者细胞免疫功能比较 有淋巴结转移乳腺癌患者 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 以及 NK 细胞水平较无淋巴结转移患者显著降低 ($P < 0.05$), 而 $CD8^+$ 细胞水平较无淋巴结转移患者显著升高 ($P < 0.05$), 见表 3。

3 讨论

肿瘤免疫学研究结果显示, 肿瘤的发生、发展与机体免疫功能异常直接存在密切的联系, 而机体抗肿瘤免疫主要以细胞免疫为主^[5]。T 淋巴细胞是细胞免疫系统的一个重要组成部分, 其功能主要表现在细胞免疫以及体液免疫诱导方面, 在抗肿瘤免疫应答过程当中, 充当着至关重要的角色^[6-9]。根据表型以及功能的不同, 可将 T 淋巴细胞分为两大亚群, 分别为 $CD4^+$ T 细胞(辅助性)以及 $CD8^+$ T 细胞(细胞毒性/抑制性)^[10]。在正常机体中, $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 细胞处于相互诱导、相互制约的平衡状态, 而当两者的数量或者比例失衡时, $CD4^+$ T 细胞比例降低而 $CD8^+$ T 细胞比例升高, 导致机体细胞免疫功能降低, 从而导致机体抵御肿瘤的能力有所削弱, 这同时也是导致肿瘤发生的一个主要原因^[11-12]。而 NK 细胞来源于骨髓大颗粒淋巴细胞, 也属于一种重要的淋巴细胞, 在肿瘤监视过程及抗肿瘤免疫过程中发挥着重要的作用, 并且 NK 细胞可对肿瘤细胞产生非特异性杀伤作用, 并且这种肿瘤杀伤作用不需要特异性致敏源^[13-14]。如果机体 NK 细胞数量减少, 则机体免疫对肿瘤的杀伤、攻击作用将明显减弱^[15]。

本研究探讨了乳腺肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化, 结果显示, 乳腺癌患者其外周血 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 以及 NK 细胞水平明显低于健康人群, 而 $CD8^+$ 细胞水平则明显高于健康人群, 提示乳腺癌患者机体免疫功能受到明显抑制。目前研究显示, 在肿瘤组织当中可以分泌大量的免疫抑制因子, 这些免疫抑制因子可导致肿瘤患者的免疫功能出现进一步的损伤, 从而为肿瘤的生长、转移提供有利条件^[16-17]。本研究结果进一步证实了该观点, 乳腺癌患者机体免疫功能受到明显抑制。此外, 本研究分析了肿瘤分期以及淋巴结转移对患者免疫功能的影响。结果显示, 随着患者肿瘤分期升高, 患者机体免疫功能降低, 表明随着乳腺癌疾病的进展, 患者免疫功能遭受破坏程度越严重。而对于出现淋巴结转移的乳腺癌患者, 其细胞免疫功能明显低于无淋巴结转移患者, 表明乳腺癌淋巴结转移患者其免疫功能更为低下, 预后不良。

综上所述, 乳腺癌患者存在广泛的免疫功能低下或免疫失调, 且患者免疫功能的变化与肿瘤进展、淋巴结转移有关, 监测患者外周血淋巴细胞亚群水平, 对判断乳腺癌患者病情发展、治疗预后有着一定的参考价值。

参考文献

[1] 冀为, 周岩, 牛瑞芳. 外周血 T 淋巴细胞亚群与不同分子

分型乳腺癌患者无病生存的相关性研究[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(21): 1363-1367.

- [2] ALIZADEH D, TRAD M, HANKE N T, et al. Doxorubicin eliminates myeloid-derived suppressor cells and enhances the efficacy of adoptive T-cell transfer in breast cancer[J]. Cancer Res, 2014, 74(1): 104-118.
- [3] YU H, YANG J, JIAO S, et al. Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 expression in human breast cancer: implications for prognosis[J]. Cancer Immunol Immunother, 2015, 64(7): 853-860.
- [4] 曹林林, 刘颖男, 郑德明, 等. 乳腺癌患者手术前后 T 淋巴细胞亚群变化的实验研究[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(1): 113-114.
- [5] 庄海滨, 刘金花, 谢平. 右美托咪定对乳腺癌根治术患者 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞的影响[J]. 南昌大学学报(医学版), 2014, 54(6): 38-40, 43.
- [6] 梁新强, 刘海洲, 利基林, 等. 乳腺癌患者外周血 T 淋巴细胞和 NK 细胞水平分析[J]. 广西医学, 2013, 35(2): 132-134.
- [7] LI M, XING S, ZHANG H, et al. A matrix metalloproteinase inhibitor enhances anti-cytotoxic T lymphocyte antigen-4 antibody immunotherapy in breast cancer by reprogramming the tumor microenvironment[J]. Oncol Rep, 2016, 35(3): 1329-1339.
- [8] 白海亚, 马秀芬. 新辅助化疗对局部进展期乳腺癌患者 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞免疫功能的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(9): 843-845.
- [9] XIE Y, CHEN Y, AHMED K A, et al. Potent $CD4^+$ T-cell epitope P30 enhances HER2/neu-engineered dendritic cell-induced immunity against Tg1-1 breast cancer in transgenic FVBneuN mice by enhanced $CD4^+$ T-cell-stimulated CTL responses[J]. Cancer Gene Ther, 2013, 20(10): 590-598.
- [10] KASSAYOVÁ M, BOBROV N, STROJNY L, et al. Preventive effects of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* and dietary fiber in chemically-induced mammary carcinogenesis[J]. Anticancer Res, 2014, 34(9): 4969-4975.
- [11] 张铁英, 康丽花, 刘远航, 等. 不同分子亚型乳腺癌 T 淋巴细胞和 NK 细胞检测的临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(21): 3594-3595.
- [12] 田晓刚, 高力英, 董方. 乳腺癌术后放疗患者 T 淋巴细胞亚群与 ER、PR、Her-2 表达的相关性研究[J]. 中国癌症防治杂志, 2012, 4(4): 315-318.
- [13] DU T, SHI G, LI Y M, et al. Tumor-specific oncolytic adenoviruses expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor or anti-CTLA4 antibody for the treatment of cancers[J]. Cancer Gene Ther, 2014, 21(8): 340-348.
- [14] 欧超伟, 陈绍鹏, 曾敏娟, 等. 乳腺癌患者 T 淋巴细胞亚群与同型半胱氨酸及叶酸的相关性分析[J]. 现代预防医学, 2014, 41(11): 2107-2109.
- [15] 王文慧, 李海滨, 李景生, 等. 乳腺癌患者荷瘤状态 T 淋巴细胞亚群检测及其临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(8): 1873-1874.
- [16] FILATENKOV A, BAKER J, MÜLLER A M, et al. Treatment of 4T1 metastatic breast (下转第 1237 页)

介质无法被及时清除,使病情进一步加重,危及患者的生命^[14]。已有研究显示,创伤患者的 IL-6 和 TNF- α 水平异常增高往往提示该患者预后不良,且致死风险高,快速有效地降低 IL-6 和 TNF- α 水平,可显著改善患者的预后,提高生存率^[15-16]。加上创伤和手术对机体造成应激反应,机体免疫功能在不同程度上受到抑制,可表现为明显的疲劳,疼痛不适,情绪抑郁,食欲减退,免疫功能低下等,不利于术后病情康复^[17]。

诸多研究报道显示,输血可激活炎症因子的释放,尤其是输注异体血液时,因血液中含有较多的白细胞碎片,可抑制机体的免疫功能。IL-10 是一种重要的抗炎症细胞因子,可抑制 Th1 细胞的分化和 NF- κ B 的活性,并通过降低中性粒细胞的活性程度和降低血液中趋化因子的水平等多种途径起到抗炎症效果。SEKI 等^[18]报道的多中心研究结果证实血浆中的 IL-10 浓度升高与患者的临床预后呈正相关关系。本研究结果显示,与异体输血患者相比,自体血液回输组患者的促炎因子水平更低,抗炎因子水平更高,且体液免疫功能和细胞免疫功能均优于异体输血者;另外,自体血液回输患者的输血不良反应和感染发生率更低。提示自体血液回输有助于减轻患者的炎症反应水平,减轻输血对免疫功能的抑制作用,从而提高机体的免疫力,降低术后感染的风险。

总之,自体血液回输在脑外伤患者手术中具有迅速、及时、安全的优点,有助于节约用血,减轻创伤和输血对凝血功能、免疫功能的影响,降低输血并发症和术后感染的风险,值得临床推广应用。

参考文献

- [1] 陈秀兰,马爱兵. 自体血液回输在急诊大出血手术中的疗效观察[J]. 临床输血与检验, 2013, 15(4): 389-389.
- [2] 韩玲娟,潘秀军,吴正. 自体血液回输技术在全髋关节置换术中的应用[J]. 全科医学临床与教育, 2011, 9(4): 429-430.
- [3] 岳淑春,周大为. 自体血回输在抢救急性大出血手术中的价值[J]. 中国实用医药, 2011, 6(33): 89-90.
- [4] 许靖,高利臣,陆昊昌. 回收式自体输血在各类手术中的应用情况分析[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2015 (6): 97-100.
- [5] 许靖,姚小红,谢和宾,等. 闭合性颅脑外伤患者围术期输血与术后院内感染的关系[J]. 中南大学学报(医学版), 2015, 40(7): 797-801.
- [6] 胡伟良,王响林,胡常恩. 自体血回输技术在脑外伤手术患者中的应用[J]. 浙江创伤外科, 2014(5): 721-722.
- [7] 赵兴隆. 自体血液回收技术在脑外伤手术中的应用[J]. 中国农村卫生, 2015(5): 75.
- [8] HONG K, PAN J, YANG W, et al. Comparison between autologous blood transfusion drainage and closed-suction drainage/no drainage in total knee arthroplasty: a meta-analysis[J]. BMC Musculoskeletal Disorders, 2016, 17(1): 142.
- [9] 赵方. 颅脑外伤术中使用血液回收机的节约用血效果[J]. 中国继续医学教育, 2016, 8(6): 128-129.
- [10] PAWASKAR A, SALUNKE A A, KEKATPYRE A, et al. Do autologous blood transfusion systems reduce allogeneic blood transfusion in total knee arthroplasty? [J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2017, 25(9): 2957-2966.
- [11] RHEE P, INABA K, PANDIT V, et al. Early autologous fresh whole blood transfusion leads to less allogeneic transfusions and is safe[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2015, 78(4): 729-34.
- [12] 黄新华,张雅琴,姚华琪,等. 异体输血与稀释式自体输血对剖宫产术患者细胞免疫功能影响的比较[J]. 中华麻醉学杂志, 2016, 36(2): 199-202.
- [13] 胡晶,何振洲. 神经外科患者术中自体血回输回顾性临床分析[J]. 实用医学杂志, 2015(19): 3211-3213.
- [14] 纪雪红,韦爱芬,刘晓芬,等. 颅脑手术治疗患者术中自体血液回输与异体输血对其临床疗效影响及感染研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(1): 124-127.
- [15] TAKESHI W, JESMIN S, GANDO S, et al. The role of angiogenic factors and their soluble receptors in acute lung injury (ALI)/ acute respiratory distress syndrome (ARDS) associated with critical illness [J]. J Inflamm (Lond), 2013, 10(1): 6-13.
- [16] SEKHON M S, GRIESDALE D E, CZOSNYKA M, et al. The Effect of Red Blood Cell Transfusion on Cerebral Autoregulation in Patients with Severe Traumatic Brain Injury[J]. Neurocritical Care, 2015, 23(2): 210-216.
- [17] 俞敏. 急性肺损伤时损伤标志物的研究进展[J]. 中国当代儿科杂志, 2014, 16(1): 94-98.
- [18] SEKI T, TAKASHI K, KWANSA-BENTUM B, et al. Interleukin-4 (IL-4) and IL-13 suppress excessive neutrophil infiltration and hepatocyte damage during acute murine schistosomiasis japonica[J]. Infect Immun, 2012, 80(1): 159-168.

(收稿日期: 2017-09-11 修回日期: 2017-11-02)

(上接第 1232 页)

- cancer with combined hypofractionated irradiation and autologous T-cell infusion[J]. Radiat Res, 2014, 182(2): 163-169.
- [17] CHEN E P, MARKOSYAN N, CONNOLLY E, et al.

Myeloid cell COX-2 deletion reduces mammary tumor growth through enhanced cytotoxic t-lymphocyte function [J]. Carcinogenesis, 2014, 35(8): 1788-1797.

(收稿日期: 2017-09-26 修回日期: 2017-11-16)