

· 临床研究 ·

外周血淋巴细胞亚群和NK细胞在鉴别良恶性肺磨玻璃结节中的意义

王 健¹, 蒋国军¹, 戴 婷², 史国振¹, 陈明治¹, 冯俊成¹

¹宜兴市人民医院心胸外科, ²药学部, 江苏 宜兴 214200

[摘要] 目的:分析肺磨玻璃结节(ground-glass opacity, GGO)患者外周血中T淋巴细胞亚群、B淋巴细胞以及NK细胞的水平,评估其在鉴别良恶性结节中的价值。方法:选取100例肺GGO患者为研究对象,其中60例经术后病理明确诊断为恶性GGO的患者为研究组,40例良性GGO患者为对照组。应用流式细胞仪检测研究对象外周血中T淋巴细胞亚群、B淋巴细胞以及NK细胞的水平,比较各指标在两组中的差异并用ROC曲线评估其诊断效能。结果:①两组患者的外周血CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺T细胞水平差异均无统计学意义($P > 0.05$),但研究组患者的CD4⁺/CD8⁺比值显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);②对照组的B淋巴细胞水平显著高于研究组,而NK细胞水平却显著低于研究组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);③ROC曲线得到CD4⁺/CD8⁺比值最佳截断点($CD4^+/CD8^+ < 2.12$)诊断恶性GGO的灵敏度、特异度和正确率为90.0%、50.0%、74.0%,而B淋巴细胞(< 11.48)和NK细胞(> 16.18)诊断恶性GGO的灵敏度、特异度和正确率分别为71.7%、72.5%、72.0%和63.3%、85.0%、72.0%。结论:早期肺癌的发生与细胞免疫状态的改变密切相关,而外周血B淋巴细胞、NK细胞的水平和CD4⁺/CD8⁺比值可作为临床鉴别良恶性GGO重要的参考指标。

[关键词] 肺磨玻璃结节;淋巴细胞亚群;NK细胞;良恶性

[中图分类号] R734.2

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2019)08-1217-03

doi:10.7655/NYDXBNS20190824

美国癌症协会(ACS)最新发布的癌症统计数据显示肺癌已居恶性肿瘤发病率及死亡率首位,严重威胁着人群健康与生命质量^[1],而肺癌患者的预后主要取决于肿瘤分期的早晚。随着计算机断层扫描(computed tomography, CT)在肺癌筛查中的广泛应用,越来越多的早期肺癌以无症状肺磨玻璃结节(ground-glass opacity, GGO)的形式被发现,也对尽早明确其良恶性以及有效管理提出了更高要求,但目前肺GGO的诊疗策略仍高度依赖于结节的大小、密度等CT表现以及影像学数据的随访。现代肿瘤免疫学研究表明,恶性肿瘤的发生往往伴有机体免疫功能的低下和紊乱,尤其与细胞免疫关系密切^[2-4]。本研究拟通过比较外周血淋巴细胞亚群及自然杀伤(natural killer, NK)细胞水平,探讨其在鉴别良恶性GGO中的意义并分析细胞免疫状态的改变对早期肺癌发生的影响。

1 对象和方法

1.1 对象

选取2017年1月—2018年12月在本院门诊就

诊的肺GGO患者100例。所有患者均有详细的CT影像学检查资料,收住入院并行手术治疗。经术后病理明确诊断为原位腺癌或浸润性腺癌的60例恶性GGO患者为研究组,并排除不典型腺瘤样增生等癌前病变;40例良性GGO患者为对照组,术后病理包括炎性结节、纤维性增生结节等。研究对象排除标准:合并其他恶性肿瘤、自身免疫性疾病或脏器功能不全的患者;存在急性或慢性感染并且近期使用过抗生素的患者;长期使用糖皮质激素或增强免疫功能相关制剂的患者。本研究得到了所有入组患者的书面知情同意,并得到了医院伦理委员会的批准。

1.2 方法

所有患者于入院当日早晨抽取空腹静脉血,注入肝素钠抗凝试管中并送检,应用流式细胞仪(Epics-XL型, Beckman Coulter, 美国)检测总T淋巴细胞(CD3⁺)、T辅助性细胞亚群(CD3⁺CD4⁺, 即Th细胞)、T抑制性细胞亚群(CD3⁺CD8⁺, 即Tc细胞)以及总B淋巴细胞(CD3⁻CD19⁺)和NK细胞(CD3⁻CD56⁺),保证在4 h内完成检测。

1.3 统计学方法

所有数据采用SPSS22.0统计软件进行分析。计数资料以例数表示,并用 χ^2 检验行两组间比较,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,符合正态分布的均数间比较用 t 检验,非正态分布用Mann-Whitney U 秩和检验。用ROC曲线评价淋巴细胞亚群和NK细胞的诊断价值时,根据最大约登指数确定最佳截断点。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床资料比较

对照组中,男14例,女26例,平均年龄(56.4 \pm 13.0)岁,结节平均大小(7.9 \pm 1.7)mm;而研究组中,男29例,女31例,平均年龄(60.0 \pm 7.1)岁,结节平均大小(8.1 \pm 1.8)mm。两组患者在性别、年龄和结节大小上差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 外周血T淋巴细胞亚群、B淋巴细胞与NK细胞水平的比较

两组患者的外周血CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺T细胞水平差异均无统计学意义($P > 0.05$),但研究组患者的CD4⁺/CD8⁺比值显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组的B淋巴细胞水平显著高于研究组,而NK细胞水平却显著低于研究组,差异均有统计学意义($P < 0.05$,表1)。

表1 两组患者淋巴细胞亚群和NK细胞水平的比较

指标	对照组	研究组	P 值
CD3 ⁺ T细胞(%)	65.55 \pm 14.51	69.24 \pm 10.30	> 0.05
CD4 ⁺ T细胞(%)	36.85 \pm 13.65	38.89 \pm 9.71	> 0.05
CD8 ⁺ T细胞(%)	25.35 \pm 14.22	27.37 \pm 9.01	> 0.05
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2.09 \pm 1.04	1.36 \pm 0.59	< 0.05
B淋巴细胞(%)	15.01 \pm 6.23	9.14 \pm 5.42	< 0.05
NK细胞(%)	11.78 \pm 5.92	20.12 \pm 9.44	< 0.05

2.3 ROC曲线评价B淋巴细胞、NK细胞以及CD4⁺/CD8⁺比值鉴别良恶性GGO的效能

CD4⁺/CD8⁺比值最佳截断点为2.12,计算曲线下面积(AUC)为0.721(0.618~0.823);最佳截断点诊断恶性GGO的灵敏度、特异度和正确率分别为90.0%、50.0%、74.0%。B淋巴细胞和NK细胞的最佳截断点分别为11.48和16.18,对应的AUC为0.771(0.680~0.861)和0.759(0.665~0.853),最佳截断点诊断恶性GGO的灵敏度、特异度和正确率分别为71.7%、72.5%、72.0%和63.3%、85.0%、72.0%。

3 讨论

研究表明,恶性肺GGO部分为原位癌,并且此时患者多无淋巴和血流转移,因此早期准确诊断十分重要。但在临床工作中,对良恶性GGO的鉴别及诊疗策略的制定主要依靠对CT征象的经验性判断或定期随访观察。肺GGO在CT上主要表现为密度轻度增加、呈局灶性云雾状阴影,阴影内血管和支气管纹理清晰可辨^[5]。统计显示,根据CT诊断恶性GGO的准确率尚可,但部分恶性GGO还是可能因随访观察而延误治疗,而且良性GGO也很容易被误认为恶性而过度治疗。此外,血清肿瘤标志物在肺癌晚期升高明显,常用于肿瘤治疗效果的监测,但对恶性GGO等早期肺癌的诊断价值有限,灵敏度和特异度均较差^[6]。因此,寻找更简便、经济、可靠的鉴别良恶性GGO的指标或手段,制定更完善的管理策略,对于提高早期肺癌的诊断率、改善患者预后以及避免良性GGO因过度治疗带来的死亡及并发症具有重要的指导意义和应用价值。

恶性肿瘤的发生发展与机体的细胞免疫功能关系密切,而发挥免疫效应的细胞主要包括T淋巴细胞、NK细胞^[7]。T淋巴细胞又分为CD4⁺和CD8⁺两大亚群,CD3⁺T细胞反映整体的细胞免疫状态,CD4⁺T细胞代表辅助性T细胞,在抑制肿瘤的生长与转移方面具有重要作用;而且CD4⁺T又可通过影响B淋巴细胞抗体的产生促使CD8⁺抑制性T细胞分化成细胞毒性T细胞(CTL)后杀伤肿瘤细胞,增强抗肿瘤效应^[4]。因此,CD4⁺/CD8⁺比值能反映细胞的免疫状态是否稳定。正常情况下,T淋巴细胞亚群并非恒定不变,而是处于动态平衡状态中,但CD4⁺/CD8⁺的比值相对稳定,其值下降表示患者处于免疫抑制状态^[8]。有研究发现,肺癌肿瘤细胞可分泌产生大量的免疫抑制因子,导致T细胞亚群数量的改变和活性比例的失衡、异常,与肺癌的发生发展相关^[9],因而可作为临床上预测治疗效果及评估预后的重要指标^[10],但与我们的研究结果部分不一致。本研究发现,研究组患者的CD4⁺/CD8⁺比值显著低于对照组,但两组的CD4⁺、CD8⁺T细胞的水平均无明显差异。这可能是由于CD4⁺T细胞无法直接识别肿瘤细胞,是受抗原提呈细胞的激发进一步激活CTL而发挥抗肿瘤作用^[11],因此在早期肺癌中的变化比较滞后,使肿瘤细胞发生免疫逃逸;而机体可能已经处于轻微的免疫抑制状态,CD4⁺/CD8⁺比值能较敏感地反映机体的免疫功能情况。

本研究还发现,研究组患者血液中的NK细胞水平较对照组显著升高。NK细胞对靶细胞的识别不受主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制,能够预先致敏并分泌细胞毒因子直接杀伤肿瘤细胞,是机体抗肿瘤免疫及清除非己细胞的第一道防线,而且能阻止肿瘤的早期转移^[12]。因此在本研究中早期肺癌患者的体内,NK细胞的水平有明显升高。而大量关于免疫功能与中晚期肺癌关系的研究报道,机体的免疫功能状态与肿瘤分期密切相关^[13]。可能随着病情的进展,调节性T细胞表达逐渐升高,NK细胞介导的天然免疫受到抑制,NK细胞的数量和活性均下降。这也进一步验证了本研究结果,对于早期能够手术的恶性GGO患者,肿瘤对免疫功能的抑制作用可能较弱,NK细胞可能在细胞免疫中占主导作用,因而NK细胞水平的升高可以作为鉴别良恶性GGO的敏感指标。此外,本研究还显示,研究组患者血液中的B淋巴细胞水平显著低于对照组,这可能是由于部分良性GGO术后病理为炎性感染性病灶,体内存在B淋巴细胞介导的体液免疫状态导致。

本研究运用ROC曲线分析了CD4⁺/CD8⁺比值和血液中B淋巴细胞、NK细胞对恶性GGO的诊断价值,发现CD4⁺/CD8⁺比值 < 2.12、B淋巴细胞 < 11.48%和NK细胞 > 16.18%有较好的诊断效能,显示各自的曲线下面积分别为0.721、0.771和0.759。CD4⁺/CD8⁺比值在最佳截断点诊断恶性GGO的灵敏度、特异度和正确率分别为90.0%、50.0%、74.0%,灵敏度高,但特异度低,而NK细胞的特异度达到85.0%。进一步分析认为,CD4⁺/CD8⁺比值和NK细胞均能较敏感地反映机体的免疫功能状态,但在鉴别良恶性肺GGO方面,NK细胞可能较CD4⁺/CD8⁺比值更为理想。但本研究未检测淋巴细胞亚群及NK细胞的活性,其联合细胞水平对恶性GGO的鉴别诊断价值有待进一步评估。

综上所述,早期肺癌的发生与细胞免疫状态的改变密切相关,而外周血B淋巴细胞、NK细胞的水平和CD4⁺/CD8⁺比值为临床上鉴别良恶性肺GGO提供了重要的参考依据。待进一步扩大样本量验证后,可能可以作为较好的临床指标用于恶性肺GGO的辅助诊断,以对肺GGO患者实行更完善、更有效的管理。

[参考文献]

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. [J]. *Ca Cancer J Clin*, 2017, 67(1):7
- [2] Lavin Y, Kobayashi S, Leader A, et al. Innate immune landscape in early lung adenocarcinoma by paired single-cell analyses [J]. *Cell*, 2017, 169(4):750-765
- [3] 王文婷,王 莉,吴雨洁,等. 外周血NK细胞绝对值在慢性淋巴细胞白血病中的预后价值[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(1):97-100
- [4] Sallin MA, Sakai S, Kauffman KD, et al. Th1 differentiation drives the accumulation of intravascular, non-protective CD4 T cells during tuberculosis [J]. *Cell Rep*, 2017, 18(13):3091-3104
- [5] 浦学慧,徐 海,刘 冲,等. 肺微小脑膜上皮样结节CT表现与病理对照[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(4):600-604
- [6] 夏 宁,张 宇,郝可可,等. 血清肿瘤标志物联合检测诊断肺癌的临床应用研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(12):1784-1786
- [7] Banat GA, Tretyn A, Pullamsetti SS, et al. Immune and inflammatory cell composition of human lung cancer stroma [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9):e0139073
- [8] Derman BA, Macklis JN, Azeem MS, et al. Relationships between longitudinal neutrophil to lymphocyte ratios, body weight changes, and overall survival in patients with non-small cell lung cancer [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1):141
- [9] Jiang T, Chen X, Zhou W, et al. Immunotherapy with dendritic cells modified with tumor-associated antigen gene demonstrates enhanced antitumor effect against lung cancer [J]. *Transl Oncol*, 2017, 10(2):132-141
- [10] 吴姗姗,严 峰,邓玉玲,等. 小细胞和非小细胞肺癌晚期患者CD3⁺CD4⁺及CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞亚群的差异 [J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(1):114-116
- [11] Karimi G, Mahmoudi M, Balali-Mood M, et al. Decreased levels of spleen tissue CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T lymphocytes in mice exposed to berberine [J]. *J Acupunct Meridian Stud*, 2017, 10(2):109-113
- [12] Sun JC, Beilke JN, Lanier LL. Adaptive immune features of natural killer cells [J]. *Nature*, 2009, 457(7229):557-561
- [13] 江金华,严汀华,卢穗万,等. 外周血T淋巴细胞亚群与NK细胞检测在肺癌诊断及治疗中的意义[J]. *肿瘤研究与临床*, 2013, 25(2):90-93

[收稿日期] 2019-03-11