

CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞在胰腺癌组织中的浸润及临床意义

蒋维香 林彦俊 岳建明

【摘要】 目的 探讨 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞在胰腺癌组织中的浸润及临床意义。方法 收集 2016 年 6 月至 2018 年 10 月间在四川大学华西医院被确诊为胰腺癌的 52 例患者的肿瘤组织标本和癌旁组织标本,应用免疫组织化学法检测肿瘤组织和癌旁组织中的 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞的表达情况,分析不同 CD163⁺、CD204⁺ 表达水平与胰腺癌患者的临床资料和预后的关系。结果 胰腺癌组织中 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞数目均多于癌旁组织。单因素分析显示,CD163⁺ 高表达患者与低表达者相比,在肿瘤大小、淋巴结转移、血管侵犯及 TNM 分期方面差异有统计学意义($P < 0.05$);CD204⁺ 高表达患者与低表达者相比,在肿瘤大小、血管侵犯方面差异有统计学意义($P < 0.05$)。淋巴结转移是 CD163⁺ 高表达的独立危险因素,TNM 分期是 CD204⁺ 高表达的危险因素(P 均 < 0.05)。Kaplan-Meier 生存曲线分析显示,CD163⁺、CD204⁺ 表达水平较低的胰腺癌患者的总生存率均高于高表达者(P 均 < 0.05)。结论 胰腺癌患者肿瘤组织中存在 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞浸润,且 CD163⁺、CD204⁺ 表达水平分别与患者的淋巴结转移、TNM 分期密切相关,检测其表达水平对于评估胰腺癌的进展和预后具有一定的参考价值。

【关键词】 CD163⁺;CD204⁺;胰腺癌;巨噬细胞;临床病理参数;预后评估

DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2019.06.014

胰腺癌是消化系统中预后较差的恶性肿瘤之一,早期诊断困难,且具有较高的侵袭性和转移性,确诊后患者平均生存期 < 6 个月,5 年生存率 $< 5\%$ ^[1]。研究表明,肿瘤微环境包括多种细胞和分子,在肿瘤的发生、生长及转移等生物学行为中具有重要作用^[2]。其中以肿瘤浸润性细胞、炎性细胞为代表的免疫反应是肿瘤微环境中的主要参与者之一。研究证实,在卵巢癌中,高比例的 CD8⁺ T 细胞或 CD45RO⁺ 记忆 T 细胞浸润肿瘤组织是有利于预后的指标^[3],相反如调节性 T 细胞(Treg)、骨髓源性抑制细胞(MDSC)和肿瘤相关巨噬细胞等,可通过抑制患者的免疫反应来加速肿瘤生长和转移^[4]。巨噬细胞是主要的免疫群体之一,而免疫细胞在复杂的肿瘤微环境中扮演着十分重要的角色^[5]。本研究采用免疫组织化学方法观察了 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞在胰腺癌组织中的表达,并探讨其表达水平与临床病理及预后之间的关系。

1 资料与方法

1.1 基本资料

收集 2016 年 6 月至 2018 年 10 月间在四川大学华西医院被确诊为胰腺癌的 52 例患者的肿瘤组织标本和癌旁组织标本,所有患者术前均未进行放射治疗、化学治疗。52 例患者中,男 28 例,女 24 例,平均年龄(61.32 ± 10.31)岁;有淋巴结转移 27 例,无淋巴结转移 25 例;TNM 分期为 I 期 10 例,II 期 17 例,III 期 19 例,IV 期 6 例。纳入标准:(1)术后经病理诊断证实为胰腺癌者;(2)在四川大学华西医院进行手术治疗者;(3)预计生存期 ≥ 1 个月者(手术至患者失访或死亡的时间);(4)临床资料及随访资料完整者;(5)未参与其他研究者。排除标准:(1)合并其他部位恶性肿瘤患者;(2)继发性肿瘤患者;(3)接受过放射治疗、化学治疗者;(4)合并精神疾病无法配合研究者;(5)不愿意参与本研究者。本研究经医院医学伦理委员会核准,所有入组患者均签署知情同意书。

1.2 组织标本取材及检测方法

所有患者的手术操作及标本采集均由同一组

经验丰富的医师完成。胰腺癌组织标本取自典型病变部位,癌旁组织取自距胰腺癌病灶边缘 5 cm 处。组织标本经手术切除离体后,常规取材,采用 10%中性福尔马林溶液固定,进行逐级脱水、透明,常规石蜡包埋,切片机连续切片,厚度为 4 μm,然后应用免疫组织化学 SP 法染色,以检测组织标本中 CD163⁺、CD204⁺巨噬细胞的表达水平。

1.3 判定标准及分组方法

阳性细胞染色标准:细胞结构清晰,着色与背景的对比清楚。应用 100 倍显微镜选取组织标本中 3 个阳性染色高密度区域,然后应用 400 倍显微镜对上述区域进行阳性细胞计数,取平均值。以区域内 CD163⁺巨噬细胞≤18 个为低表达组,CD163⁺巨噬细胞>19 个为高表达组;以区域内 CD204⁺巨噬细胞≤20 个为低表达组,CD204⁺巨噬细胞>21 个为高表达组。

1.4 观察指标

观察并分析 CD163⁺、CD204⁺巨噬细胞表达与胰腺癌患者临床病理参数的关系,影响胰腺癌组织中 CD163⁺、CD204⁺巨噬细胞表达的因素,以及不同 CD163⁺、CD204⁺巨噬细胞表达水平患者的总生存率[随访终点为患者死亡或至本研究数据收集终点(2019 年 1 月末)]。

1.5 统计学分析

本研究采用 SPSS 19.0 软件和 MedCalc 15.2.2 软件进行数据分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,行 *t* 检验;计数资料以例表示,行卡方检验;单因素分析显示差异有统计学意义的指标进行非条件 Logistic 回归分析;应用 Kaplan-Meier 生存曲线比较两组的总生存率。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD163⁺、CD204⁺巨噬细胞在胰腺癌组织和癌旁组织中的表达

胰腺癌组织中 CD163⁺、CD204⁺巨噬细胞计数分别为(18.54±2.64)个、(23.45±3.26)个,均高于癌旁组织的(13.18±1.54)个、(17.16±2.84)个,差异均有统计学意义(*t*=12.646, *P*<0.05; *t*=10.491, *P*<0.05)。

2.2 CD163⁺、CD204⁺巨噬细胞的表达水平与胰腺癌患者临床病理参数的单因素分析

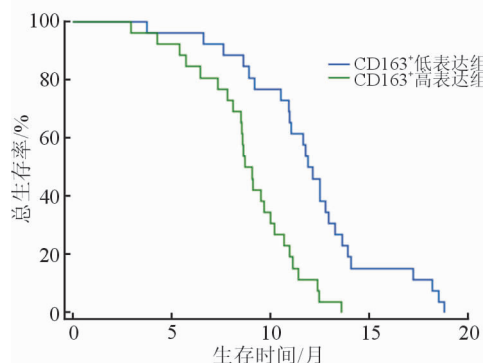
单因素分析显示,在胰腺癌组织中,CD163⁺高表达患者与低表达者相比,在肿瘤大小、淋巴结转移、血管侵犯及 TNM 分期方面差异有统计学意义(*P*<0.05);CD204⁺高表达患者与低表达者相比,在肿瘤大小、血管侵犯方面差异有统计学意义(*P*<0.05)。详见表 1。

表 1 CD163⁺、CD204⁺巨噬细胞的表达水平与胰腺癌患者临床病理参数的关系/例

项目	CD163 ⁺		χ^2 值	<i>P</i> 值	CD204 ⁺		χ^2 值	<i>P</i> 值
	低表达	高表达			低表达	高表达		
性别			1.238	0.266			0.662	0.416
男	12	16			16	12		
女	14	10			11	13		
年龄			0.310	0.578			0.734	0.392
≤60 岁	15	13			13	15		
>60 岁	11	13			14	10		
肿瘤大小			5.026	0.025			9.270	0.002
<2 cm	23	16			25	14		
≥2 cm	3	10			2	11		
浸润			1.991	0.158			0.145	0.704
T1~T2	4	1			3	2		
T3~T4	22	25			24	23		
淋巴结转移			13.019	0.000			1.211	0.271
是	20	7			16	11		
否	6	19			11	14		
血管侵犯			25.071	0.000			22.599	0.000
是	5	23			6	22		
否	21	3			21	3		
TNM 分期			10.681	0.001			1.211	0.271
I~II 期	19	8			16	11		
III~IV 期	7	18			11	14		

2.3 影响胰腺癌组织中 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞表达的 Logistic 回归分析

将单因素分析中显示差异有统计学意义的指标进行非条件 Logistic 回归分析,结果显示淋巴结转移是 CD163⁺ 高表达的独立危险因素,有淋巴结转移患者出现 CD163⁺ 高表达的概率约为无淋巴结转移患者的 28 倍($OR = 28.596, P = 0.001$);TNM 分期是 CD204⁺ 高表达的危险因素,TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期患者出现 CD204⁺ 高表达的概率约为Ⅰ~Ⅱ期患者的 1.9 倍($OR = 1.926, P = 0.029$);其余指标未见明显差异($P > 0.05$)。



2.4 CD163⁺、CD204⁺ 表达水平与胰腺癌患者预后的关系

在 52 例胰腺癌患者中,CD163⁺ 高表达者和低表达者均为 26 例,低表达患者的平均生存时间为(12.05 ± 3.56)个月,高于高表达患者[(8.88 ± 2.52)个月],且差异有统计学意义($\chi^2 = 16.519, P < 0.01$);CD204⁺ 高表达患者为 25 例,低表达患者为 27 例,低表达患者的平均生存时间为(9.43 ± 3.11)个月,高于高表达患者[(6.01 ± 2.26)个月],且差异有统计学意义($\chi^2 = 21.278, P < 0.01$)。见图 1。

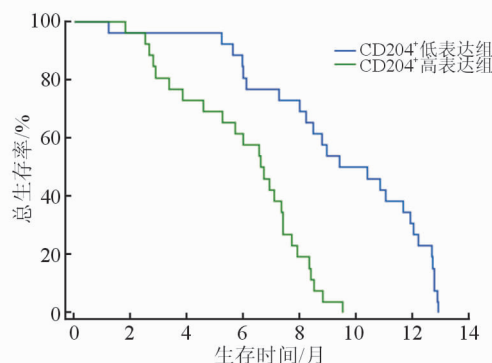


图 1 胰腺癌患者的 Kaplan-meier 生存曲线 A 不同 CD163⁺ 表达水平的患者 B 不同 CD204⁺ 表达水平的患者

3 讨论

胰腺癌具有高度侵袭性,缺乏早期诊断症状,发病率与病死率相近,总体预后极差^[6]。肿瘤微环境包括肿瘤所在组织的结构、功能和代谢,与肿瘤细胞自身的(细胞核和细胞质)内在环境有关,且与肿瘤的生长关系密切^[7]。肿瘤组织中浸润的炎性细胞大部分为巨噬细胞^[8]。

巨噬细胞是机体固有免疫反应的重要组成部分,肿瘤相关巨噬细胞(TAM)是外周血单核细胞浸润至实体肿瘤组织中而演变成的巨噬细胞,依据其活化状态和功能可分为经典活化的巨噬细胞(M1 型)和替代性活化的巨噬细胞(M2 型)。活化的 M1 型 TAM 介导机体获得性免疫和肿瘤细胞的凋亡;而 M2 型 TAM 与 M1 型相反,其可发挥诱导炎症反应、肿瘤新生血管和淋巴管生成、免疫抑制等作用,促进肿瘤进展^[9]。肿瘤细胞可分泌相关因子,诱导巨噬细胞向 M2 型转化,致使肿瘤组织中 TAM 以 M2 型为主^[10-11]。研究发现,TAM 在结直肠癌、肺癌及食管癌组织中高表达,且与患者的预后不良有关^[12]。另有研究发现,M2 型 TAM 高表达可促进胰腺癌患者淋巴血管生成和微转移,且其在肿瘤组织中浸润与低生存率明显相关^[13]。CD163⁺、

CD204⁺ 巨噬细胞均为 M2 型 TAM 的表型,本研究应用免疫组织化学方法观察了其在胰腺癌组织中的浸润,并分析其与临床病理参数的关系,以及不同 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞表达水平患者之间预后的差异,以期胰腺癌的靶向治疗及预后判断提供参考。结果发现,胰腺癌组织中的 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞表达数目多于癌旁组织($P < 0.05$),提示胰腺癌组织中存在 M2 型 TAM 浸润。此外,本研究结果还提示 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞在胰腺癌的发生、进展中可能起着重要作用。有研究显示,CD163⁺ 在结直肠癌组织中浸润,且与分化程度、淋巴结转移等关系密切^[14]。本研究进一步采用非条件 Logistic 回归分析显示,淋巴结转移是胰腺癌组织中 CD163⁺ 巨噬细胞表达的危险因素,TNM 分期是胰腺癌组织中 CD204⁺ 巨噬细胞表达的危险因素。淋巴结转移与多种肿瘤的预后不良关系密切,TNM 分期越高表示肿瘤发展越接近中晚期,而相应的 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞表达阳性率越高,提示 CD163⁺、CD204⁺ 可作为评估胰腺癌预后的候选指标,同时靶向耗损其在肿瘤组织中的浸润及其功能,将会是治疗胰腺癌的有效方法^[14]。本研究进一步观察了不同 CD163⁺、

CD204⁺ 巨噬细胞表达水平患者总生存期之间的差异,发现 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞高表达患者的总生存率均明显低于低表达患者($P<0.05$),提示两者高表达与患者的生存时间存在联系。有研究显示,M2 型 TAM 高浸润与患者的低生存率明显相关^[15],这与本研究结果基本一致。

综上所述,胰腺癌患者肿瘤组织中存在 CD163⁺、CD204⁺ 巨噬细胞浸润,且分别与患者的淋巴结转移、TNM 分期关系密切,检测其表达水平对于评估胰腺癌的进展和预后具有一定参考价值。

参 考 文 献

- 1 李江涛,周秋霞,杨谦,等. CD19⁺ CD24^{hi} CD38^{hi} Breg 细胞在胰腺癌患者外周血中的频率及其与 Treg 细胞间的关系[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(4): 590-593.
- 2 Hui L, Chen Y. Tumor microenvironment: Sanctuary of the devil[J]. Cancer Lett, 2015, 368(1): 7-13.
- 3 周剑,倪兵. 人卵巢癌 PD-1⁺ CD8⁺ T 细胞 CD38/CD101 的表达及其临床意义[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(11): 957-965.
- 4 张美静,王斌,湛先保. 胰腺癌免疫治疗的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(3): 288-292.
- 5 彭美玉,郭振涛. 免疫细胞在胰腺癌发生发展中的作用[J]. 中国肿瘤, 2018, 27(4): 294-298.
- 6 卓萌,焦锋,王理伟. 胰腺癌微环境治疗策略的进展与思考[J].

- 中国肿瘤临床, 2018, 45(6): 271-276.
- 7 陈璐,高威. 肿瘤酸性微环境的形成机制及其对肿瘤进展的影响[J]. 肿瘤, 2019, 39(2): 140-145.
- 8 强丽华,张勇,刘翠华. 组织定居巨噬细胞在维持免疫稳态中的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(10): 1153-1159.
- 9 卢晓梅,周剑. M2 型肿瘤相关巨噬细胞在肿瘤浸润转移中的研究进展[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(11): 1393-1395.
- 10 王艺,王理伟. 胰腺癌患者免疫状态及免疫治疗进展[J]. 肿瘤, 2018, 38(6): 610-616.
- 11 陈勇,廖子君,徐瑞. 肿瘤相关巨噬细胞在肿瘤浸润转移过程中的作用[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(5): 897-900.
- 12 徐栩,姚健楠. 肿瘤相关巨噬细胞调节肿瘤免疫治疗作用的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(11): 1610-1613.
- 13 Lundgren S, Karnevi E, Elebro J, et al. The clinical importance of tumour-infiltrating macrophages and dendritic cells in periaampullary adenocarcinoma differs by morphological subtype [J]. J Transl Med, 2017, 15(1): 152.
- 14 马俊,黄晓培,常文军,等. M2 型巨噬细胞标志物 CD163 与结直肠癌预后的关系[J]. 第二军医大学学报, 2018, 39(3): 252-257.
- 15 周剑,贺家勇,刘涛,等. 食管鳞状细胞癌组织中 M2 型巨噬细胞浸润与患者预后及临床病理参数的相关性[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(11): 1380-1382, 1387.

(收稿日期:2019-04-29)

(本文编辑:周骏)

《国际消化病杂志》(双月刊)征订启事

《国际消化病杂志》是由上海市卫生和计划生育委员会主管,上海市卫生和健康发展研究中心(上海市医学科学技术情报研究所)主办的国家级学术期刊。自 1963 年创刊以来,相继入选中国学术期刊统计源期刊、中国期刊全文数据库收录期刊、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)等国内外知名数据库。本刊为消化系疾病专业性刊物,学术内容涵盖消化系疾病各领域,且栏目丰富,包括论著、综述、述评、短篇论著、病例报告、文摘等。

本刊单价为 12 元,全年定价:72 元(邮发代号:4-299)。热忱欢迎本学科及相关学科的临床、教学及科研工作者投稿和订阅本刊。

本刊联系地址:200031 上海市建国西路 602 号 《国际消化病杂志》编辑部

Email: xiaohuafence@sina.com

Tel: 021-33262058

网址: <http://gjxhb.paperopen.com>

微信公众号: gjxhzbzz