

肿瘤浸润性树突状细胞在口腔部鳞状细胞癌组织中的表达及价值

周湘, 杜宁, 刘昕

作者单位: 河北省儿童医院全质办, 河北 石家庄 050031

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题(20190131)

摘要: **目的** 探讨口腔部鳞状细胞癌病人癌组织中肿瘤浸润性树突状细胞的表达及其价值。**方法** 选择2017年6月至2018年6月河北省儿童医院收治的50例口腔部鳞状细胞癌病人作为观察组, 选取50例同时期来该院进行治疗的口腔良性肿物病人作为本次研究的对照组。取两组病人的肿物组织标本进行免疫组织化学染色法分析肿瘤浸润性树突状细胞密度, 采用流式细胞仪计数肿瘤浸润性树突状细胞的人主要组织相容性复合体Ⅱ类(MHC-Ⅱ)阳性细胞比例和白细胞抗原54(CD54)阳性细胞比例。**结果** 观察组肿瘤淋巴结转移分类(TNM)分期为Ⅲ期的肿瘤浸润性树突状细胞密度、MHC-Ⅱ阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例及CD54阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例均明显低于Ⅰ/Ⅱ期[(7.61±1.43)比(8.65±1.42), $P=0.014$; (5.31±1.80)%比(7.46±1.95)%, $P=0.000$; (6.62±2.11)比(8.21±1.86)%, $P=0.008$]; 肿瘤组织的最大直径≥5 cm的肿瘤浸润性树突状细胞密度、MHC-Ⅱ阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例及CD54阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例均明显低于肿瘤组织直径<5 cm的病人[(7.14±1.85)比(9.07±2.11), $P=0.001$; (5.42±1.84)比(7.73±1.85), $P=0.000$; (6.34±2.06)比(8.47±1.91), $P=0.000$]; 观察组肿瘤分化程度不同的病人上述指标相比均差异无统计学意义($P>0.05$); 观察组肿瘤浸润性树突状细胞密度明显低于对照组[(8.27±2.11)比(9.68±2.38), $P=0.002$], MHC-Ⅱ阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例明显低于对照组[(6.67±2.20)比(9.79±2.58), $P=0.000$], CD54阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例明显低于对照组[(7.46±2.31)比(9.83±2.54), $P=0.000$]。**结论** 口腔部鳞状细胞癌病人癌组织内肿瘤浸润性树突状细胞的密度下降、MHC-Ⅱ阳性及CD54阳性的细胞比例降低, 且随着TNM分期及肿瘤直径的增大, 肿瘤浸润性树突状细胞的表达水平更低。

关键词: 肿瘤, 鳞状细胞; 口腔肿瘤; 免疫组织化学; 胞间黏附分子1; 基因, MHCⅡ类; 肿瘤浸润性树突状细胞

Expression and value of tumor infiltrating dendritic cells in oral squamous cell carcinoma

ZHOU Xiang, DU Ning, LIU Xin

Author Affiliation: Hebei Provincial Children's Hospital Full Office, Shijiazhuang, Hebei 050031, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression and value of invasive dendritic cells in oral squamous cell carcinoma (SCC). **Method** Fifty patients with oral squamous cell carcinoma admitted to Hebei Provincial Children's Hospital from June 2017 to June 2018 were selected as the observation group, and 50 patients with benign oral masses treated in our hospital during the same period were selected as the control group. The neoplasm tissue samples of patients in the two groups were taken for immunohistochemical staining to analyze the density of tumor infiltrating dendritic cell, and flow cytometry was used for counting of tumor infiltrating dendritic cells MHC-Ⅱ positive cells and CD54 positive cells. **Result** In the observation group, the density of infiltrating dendritic cells, the proportion of MHC-Ⅱ-positive tumor infiltrating dendritic cells, and the proportion of CD54-positive tumor infiltrating dendritic cells in tumors with tumor lymph node metastasis classification (TNM) stage III were significantly lower than those with Ⅰ/Ⅱ stage [(7.61±1.43) vs. (8.65±1.42), $P=0.014$, (5.31±1.80)% vs. (7.46±1.95)%, $P=0.000$, and (6.62±2.11)% vs. (8.21±1.86)%, $P=0.008$]; the tumor infiltrating dendritic cell density, MHC-Ⅱ positive cell rate and CD54 positive cells in tumor with the maximum diameter of ≥ 5 cm were significantly lower than those of patients with tumor diameter < 5 cm [(7.14±1.85) vs. (9.07±2.11), $P=0.001$, (5.42±1.84) vs. (7.73±1.85), $P=0.000$ and (6.34±2.06) vs. (8.47±1.91), $P=0.000$]; There was no significant difference in the above indicators among patients with different degrees of tumor differentiation in the observation group ($P>0.05$). Tumor infiltrating dendritic cells density of observation group was obviously lower than that of the control group (8.27±2.11) vs. (9.68±2.38), $P=0.002$, percentage of MHC-Ⅱ positive cell significantly lower than the control group (6.67±2.20) vs. (9.79±2.58), $P=0.000$, percentage of CD54 positive cell significantly lower than the control group (7.46±2.31) vs. (9.83±2.54), $P=0.000$. **Conclusion** The density of tumor-infiltrating dendritic cells in the cancer tissue of patients with oral squamous cell carcinoma decreased, and the

proportion of MHC II -positive and CD54-positive cells decreased. With the increase of TNM staging and tumor diameter, the expression level of tumor infiltrating dendritic cells is lower.

Key words: Neoplasms, squamous cell; Mouth neoplasms; Immunohistochemistry; Intercellular adhesion molecule - 1; Genes, MHC class II; Neoplastic infiltrating dendritic cells

口腔部的鳞状细胞癌是临床较为常见的一种头颈部的恶性肿瘤,有较强的浸润性^[1-2],极易发生血行转移及粘膜下的扩散等,预后不良。近年,关于免疫系统与肿瘤发病的相关性研究不断进展,恶性肿瘤的免疫治疗法逐渐推广^[3-4],研究发现肿瘤浸润性树突状细胞可将恶性肿瘤病人体内的上述特异性物质呈递至T淋巴细胞,促进T淋巴细胞的增殖分化、诱导细胞毒性T细胞等生成,对恶性肿瘤的免疫耐受发挥调节作用并抑制癌细胞生长^[5-6],也有研究发现某些恶性肿瘤病人体内肿瘤浸润性树突状细胞生成减少、未分化细胞较多、表达水平出现异常等^[7]。本研究旨在探讨口腔部鳞状细胞癌病人癌组织中肿瘤浸润性树突状细胞的表达及其价值,为该类型恶性肿瘤免疫学发病机制及免疫治疗等提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2017年6月至2018年6月河北省儿童医院收治的口腔部鳞状细胞癌病人进行研究,纳入标准:符合口腔部鳞状细胞癌的诊断标准;年龄范围18~75岁;本次入院前未进行手术、放疗、化疗、分子生物学等治疗;未使用免疫调节剂类药物进行治疗。排除标准:合并其他部位或脏器的恶性肿瘤;合并有严重的感染性疾病、免疫性疾病等;伴有心、肝、肾等多器官的功能障碍;本次治疗为口腔部鳞状细胞癌复发再次入院;研究过程中自动退出的。

根据上述标准,共纳入50例口腔部鳞状细胞癌病人作为本研究的观察组,选取50例同时期来我院进行治疗的口腔良性肿物病人作为本研究的对照组。本研究已通过本院医学伦理委员会的审议[伦审(2017)11号],研究对象均签署本次研究的知情同意书。比较两组病人的性别、年龄及合并症等一般资料,均差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

表1 口腔部鳞状细胞癌与口腔良性肿物病人各50例一般资料比较

组别	例数	年龄/(岁, 性别(男/女)/例)	高血压/例(%)	糖尿病/例(%)	高脂血症/例(%)	
对照组	50	55.93±3.33 26/24	8(16.00)	6(12.00)	13(26.00)	
观察组	50	55.12±3.42 28/22	10(20.00)	5(10.00)	11(22.00)	
$\chi^2(t)$ 值		(1.200)	0.161	0.271	0.102	0.219
P 值		0.233	0.688	0.603	0.749	0.620

1.2 方法 入院后进行肿瘤组织切除术治疗,观察组取部分肿瘤组织标本,对照组取良性肿物组织标本,行免疫组织化学染色,方法如下:用石蜡包埋标本后进行切片、脱蜡、孵育等,再经蒸馏水冲洗后浸泡于PBS溶液中,进行抗原修复后添加一抗(白细胞抗原1a单克隆抗体、白细胞抗原83单克隆抗体)置于37℃条件下孵育2h,再经PBS溶液冲洗后添加二抗,再次冲洗后滴入工作液置于37℃条件下孵育20min,最后用PBS溶液冲洗后加入显色剂,经过10min显色反应后再次冲洗、复染,最后将切片脱水,透明后封片,在显微镜400倍镜头下随机选取五个视野对肿瘤浸润性树突状细胞进行计数,取均值作为该组织的肿瘤浸润性树突状细胞密度计数^[8]。另取两组病人的部分标本,在RPMI1640培养基中经过消化等形成细胞悬液,使用流式细胞仪(型号为Epics XL,美国Beckman coulter公司生产)计数肿瘤浸润性树突状细胞的MHC-Ⅱ阳性细胞比例和CD54阳性细胞比例。

1.3 观察指标 观察组病人肿瘤的TNM分期、肿瘤组织直径、分化程度及有无淋巴结转移等;计数肿瘤浸润性树突状细胞阳性表达情况、MHC-Ⅱ阳性细胞比例和CD54阳性细胞比例。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0统计学软件对本研究的数据进行统计处理分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用成组 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组肿瘤组织中肿瘤浸润性树突状细胞的表达水平、表型与病人临床病理特征的相关性 观察组肿瘤TNM分期为Ⅲ期的肿瘤浸润性树突状细胞密度、MHC-Ⅱ阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例及CD54阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例均明显低于Ⅰ/Ⅱ期($P<0.05$);肿瘤组织的最大直径 ≥ 5 cm的肿瘤浸润性树突状细胞密度、MHC-Ⅱ阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例及CD54阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例均明显低于肿瘤组织直径 < 5 cm的病人($P<0.05$);观察组肿瘤分化程度不同的病人上述指标相比均差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

表2 口腔部鳞状细胞癌50例肿瘤组织中肿瘤浸润性树突状细胞的表达水平、表型与病人临床病理特征的相关性比较 $\bar{x} \pm s$

类别	例数	肿瘤浸润性树突状细胞密度	MHC-Ⅱ阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例/%	CD54阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例/%
TNM分期				
I/Ⅱ期	28	8.65±1.42	7.46±1.95	8.21±1.86
Ⅲ期	22	7.61±1.43	5.31±1.80	6.62±2.11
<i>t</i> 值		2.561	4.042	2.784
<i>P</i> 值		0.014	0.000	0.008
肿瘤最大直径				
≥5 cm	24	7.14±1.85	5.42±1.84	6.34±2.06
<5 cm	26	9.07±2.11	7.73±1.85	8.47±1.91
<i>t</i> 值		3.427	4.423	3.794
<i>P</i> 值		0.001	0.000	0.000
分化程度				
中/低分化	21	7.93±1.65	6.44±1.97	7.11±1.86
高分化	29	8.33±1.82	6.87±1.91	7.75±1.83
<i>t</i> 值		0.797	0.775	1.212
<i>P</i> 值		0.429	0.442	0.231

2.2 两组病人肿瘤浸润性树突状细胞的表达水平及表型比较 观察组肿瘤浸润性树突状细胞密度明显低于对照组, MHC-Ⅱ阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例明显低于对照组, CD54阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例明显低于对照组, 见表3。

表3 口腔部鳞状细胞癌与口腔良性肿物病人各50例肿瘤浸润性树突状细胞的表达水平及表型比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	肿瘤浸润性树突状细胞密度	MHC-Ⅱ阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例/%	CD54阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例/%
对照组	50	9.68±2.38	9.79±2.58	9.83±2.54
观察组	50	8.27±2.11	6.67±2.20	7.46±2.31
<i>t</i> 值		3.135	6.507	4.881
<i>P</i> 值		0.002	0.000	0.000

3 讨论

研究发现机体免疫系统的功能紊乱与恶性肿瘤的发生发展密切相关^[9-10], 本研究探讨口腔部鳞状细胞癌病人肿瘤组织内肿瘤浸润性树突状细胞的表达情况, 与良性肿物对照组相比, 观察组病人的肿瘤浸润性树突状细胞的密度、MHC-Ⅱ阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例及CD54阳性肿瘤浸润性树突状细胞比例均明显下降, 观察组病人TNM分期较高、肿瘤直径较大的病人上述指标下降更明显。

20世纪30年代加拿大研究人员首次提出树突状细胞这一名称, 作为免疫系统内重要的组成部

分, 该类细胞具有强大的抗原呈递功能^[11], 对肿瘤细胞具有较强的杀伤性, 使体内共刺激分子能够大量表达、促进T淋巴细胞增殖分化^[12-14]。研究发现, 肿瘤浸润性树突状细胞在识别肿瘤组织的相关性抗原时能表达出MHC-Ⅰ、MHC-Ⅱ类分子, 诱发MHC-Ⅰ类限制性细胞毒性的T细胞免疫反应、MHC-Ⅱ类限制性CD4⁺T辅助性细胞I细胞相关反应等^[15-16]。肿瘤浸润性树突状细胞分泌的主要细胞因子是白细胞介素1(IL-1)、白细胞介素12(IL-12)等, 可致体内Th1/Th2失衡, 甚至出现Th1细胞的漂移, 促使大量细胞毒性T细胞的生成^[17]。T淋巴细胞在肿瘤浸润性树突状细胞的促进下聚集于肿瘤组织周边, 使抗血管生成的IFN- γ 和IL-12等大量合成, 减少肿瘤组织中血管的生成^[18]。随着研究的不断深入, 发现恶性肿瘤病人体内肿瘤浸润性树突状细胞表达水平下降, 其中MHC-Ⅱ阳性及CD54阳性的肿瘤浸润性树突状细胞明显减少、不成熟的细胞增多, 对机体免疫系统的抗原呈递、激活功能下降^[19-20], 影响恶性肿瘤病人的预后水平, 本研究的结果与前人研究成果一致, 口腔部鳞状细胞癌病人癌组织内肿瘤浸润性树突状细胞的密度下降、MHC-Ⅱ阳性及CD54阳性的细胞比例降低, 且随着TNM分期及肿瘤直径的增大, 肿瘤浸润性树突状细胞的表达水平更低。

综上所述, 口腔部鳞状细胞癌病人癌组织内肿瘤浸润性树突状细胞的表达水平降低, 且与癌组织TNM分期、直径大小等有关。

参考文献

- [1] 张永春, 王志强, 孙晶晶, 等. PIK3 CA rs4975596基因多态性与口腔癌的相关性研究[J]. 安徽医药, 2019, 23(2): 254-257.
- [2] 高前嵩, 蒋勇. 环氧化酶-2在口腔鳞癌发生过程中的表达和意义[J]. 安徽医药, 2016, 20(4): 732-734.
- [3] 沈晨, 范媛. 上皮细胞相关趋化因子及受体与口腔黏膜疾病[J]. 口腔生物医学, 2018, 9(3): 168-172.
- [4] 董斌, 张兵, 封亚萍, 等. VEGF诱导耐受性树突状细胞对口腔鳞状细胞癌患者T细胞免疫功能的影响[J]. 癌症进展, 2018, 16(9): 1111-1115.
- [5] UGUR M, MUELLER SN. T cell and dendritic cell interactions in lymphoid organs: more than just being in the right place at the right time [J]. Immunol Rev, 2019, 289(1): 115-128.
- [6] LEÓN B, LUND FE. Compartmentalization of dendritic cell and T-cell interactions in the lymph node: Anatomy of T-cell fate decisions [J]. Immunol Rev, 2019, 289(1): 84-100.
- [7] KUBOTA S, TOKUNAGA K, UMEZU T, et al. Author correction: lineage-specific RUNX2 super-enhancer activates MYC and promotes the development of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3943.

- [8] 王敏学. CD1a与CD83标记肿瘤浸润性树突状细胞在乳腺癌中的表达及相关性研究[D]. 延吉: 延边大学, 2015.
- [9] 黄琼, 李彦军, 孙成万, 等. 口腔癌组织中VEGF与DC成熟及Treg关系的临床观察[J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(9): 817-822.
- [10] ZHANG J, CHEN Y, CHEN K, et al. IL-33 drives the antitumour effects of dendritic cells via upregulating CYLD expression in pulmonary adenocarcinoma [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 1335-1341.
- [11] BHARGAVA A, SRIVASTAVA RK, MISHRA DK, et al. Dendritic cell engineering for selective targeting of female reproductive tract cancers[J]. *Indian J Med Res*, 2018, 148(Suppl): S50, S63.
- [12] WCULEK SK, AMORES-INIESTA J, CONDE-GARROSA R, et al. Effective cancer immunotherapy by natural mouse conventional type-1 dendritic cells bearing dead tumor antigen[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 100.
- [13] GUJER C, MURER A, MÜLLER A, et al. Plasmacytoid dendritic cells respond to Epstein-Barr virus infection with a distinct type I interferon subtype profile[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(7): 1129-1144.
- [14] 王利. 口腔鳞癌临床病理特征对患者外周血树突状细胞的影响[J]. 临床医药文献电子杂志, 2016, 3(59): 11714. DOI: 10.3877/j.issn.2095-8242.2016.59.017.
- [15] 蒋丽娟. 口腔癌VEGF诱导导致耐受性DC对T细胞免疫功能的影响[D]. 南京: 南京大学, 2016.
- [16] PAN L, SHANG N, SHANGGUAN J, et al. Magnetic resonance imaging monitoring therapeutic response to dendritic cell vaccine in murine orthotopic pancreatic cancer models[J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(3): 562-573.
- [17] CIOPLEA M, CARUNTU C, ZURAC S, et al. Dendritic cell distribution in mycosis fungoides vs. inflammatory dermatosis and other T-cell skin lymphoma[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(5): 4055-4059.
- [18] LIU G, FAN X, CAI Y, et al. Efficacy of dendritic cell-based immunotherapy produced from cord blood in vitro and in a humanized NSG mouse cancer model[J]. *Immunotherapy*, 2019, 11(7): 599-616.
- [19] 谢舒乐, 杨宏宇, 黄敬东, 等. 口腔白斑组织中树突状细胞亚群的免疫组化分析[J]. 实用口腔医学杂志, 2016, 32(1): 67-71.
- [20] 王宇峰, 齐渊元, 聂红, 等. 口腔扁平苔藓损害组织中树突状细胞亚群数量和比例[J]. 临床口腔医学杂志, 2015, 31(3): 140-144.

(收稿日期: 2019-04-23, 修回日期: 2019-08-25)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.10.024

◇临床医学◇

2018年合肥市某三甲医院消化内科门诊疾病谱分析

史冠男, 戴夫, 彭琼, 冯广铭, 甘惠中

作者单位: 合肥市第一人民医院消化内科, 安徽 合肥 230061

通信作者: 戴夫, 男, 主任医师, 博士生导师, 研究方向为消化系病, E-mail: hf sdf@sina.com

基金项目: 2016年度科技攻关计划(自筹)项目(680812060/201701-00118)

摘要: **目的** 分析合肥市滨湖医院消化内科门诊疾病谱构成。**方法** 根据合肥市滨湖医院门诊系统提供的电子病历, 收集2018年全年就诊于该院消化内科门诊的12 568例病人相关数据进行分析。**结果** 该院消化内科门诊2018年全年就诊病人年龄范围以>45~70岁最多, 共6 939人, 占总就诊人数的55.21%, 主要的就诊人群来源于合肥市滨湖区, 共6 662人, 占总就诊人数的53.01%; 排名前十的消化科疾病依次是慢性胃炎、幽门螺杆菌感染、消化性溃疡、反流性食管炎、结直肠炎、胃/肠息肉、肝损害、便秘、消化道出血、胆囊疾病; 每周增设胃癌前病变干预随访门诊共就诊198人次, 年龄(56.53±10.49)岁。**结论** 合肥市滨湖新区消化内科的门诊疾病以消化系统常见疾病为主; 随着胃癌前病变干预随访人数的增多, 胃癌的早诊早治干预随访是未来研究及发展的主要方向。

关键词: 消化系统疾病/流行病学; 胃肠病学; 门诊病人; 合肥; 疾病谱

Analysis of disease spectrum of in the outpatient department of gastroenterology of the third-grade hospital of Hefei in 2018

SHI Guannan, DAI Fu, PENG Qiong, FENG Guangming, GAN Huizhong

Author Affiliation: Department of Gastroenterology, The First People's Hospital of Hefei, Hefei, Anhui 230061, China

Abstract: Objective To analyze the disease spectrum composition of the Outpatient Department of Gastroenterology, Binhu Hospital, Hefei City. **Methods** The relevant data of 12 568 patients who admitted to the Outpatient Department of Gastroenterology, Binhu Hospital in 2018 were collected and analyzed, according to the electronic medical records provided by the outpatient system of Binhu Hospital of Hefei City. **Results** Patients ranging from 40 to 70 years old account for the highest proportion in all patients of