

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.01.020

PD-L1 和 PD-1 在 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结中的表达情况及与预后相关性研究

程璐¹, 徐琪超², 梅舟¹, 徐哲^{3△}

苏州大学附属常州老年病医院/常州市第七人民医院:1. 检验科;2. 血液肿瘤科, 江苏常州 213000;
3. 常州市第二人民医院检验科, 江苏常州 213000

摘要:目的 探讨程序性死亡受体 1(PD-1)和程序性死亡配体 1(PD-L1)在 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结中的表达情况及与预后相关性。方法 选取 2017 年 12 月至 2021 年 5 月常州市第七人民医院收治的 T4 期结直肠癌患者 80 例,采取免疫组化法对结直肠癌组织及周围转移淋巴结中的 PD-L1、PD-1 表达进行检测,比较 PD-L1、PD-1 表达与淋巴结转移、年龄、肿瘤最大径、组织学分级及预后的关系。结果 PD-L1、PD-1 高表达患者总生存期和无进展生存期表达率与 PD-L1、PD-1 中度表达和低表达患者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结患者中检测到 54 例 PD-L1 表达,其中高表达 38 例(70.37%)、中度表达 10 例(18.52%)、低表达 6 例(11.11%),差异有统计学意义($P < 0.05$);T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结患者中检测到 54 例 PD-1 表达,其中高表达 38 例(70.37%)、中度表达 10 例(18.52%)、低表达 6 例(11.11%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 PD-L1、PD-1 在结直肠癌组织中表达明显上升,且淋巴结转移及预后生存关系密切。

关键词:程序性死亡受体 1; 程序性死亡配体 1; 结直肠癌; 预后

中图分类号:R735.35

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)01-0076-04

The expression of PD-L1 and PD-1 in T4 colorectal cancer tissue and surrounding metastatic lymph nodes and their correlation with prognosis

CHENG Lu¹, XU Qichao², MEI Zhou¹, XU Zhe^{3△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Hematology Oncology, Changzhou Geriatric Hospital affiliated to Soochow University/Changzhou No. 7 People's Hospital, Changzhou, Jiangsu 213000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Changzhou Second People's Hospital, Changzhou, Jiangsu 213000, China

Abstract: Objective To investigate the expression of programmed death receptor 1 (PD-1) and programmed death ligand 1 (PD-L1) in the tissues of stage T4 colorectal cancer and surrounding metastatic lymph nodes and their correlation with prognosis. **Methods** Eighty patients with stage T4 colorectal cancer admitted to the Changzhou No. 7 People's Hospital from December 2017 to May 2021 were selected. The expression of PD-L1 and PD-1 in colorectal cancer tissues and surrounding metastatic lymph nodes was detected by immunohistochemical method. The relationship between the expression of PD-L1 and PD-1 and lymph node metastasis, age, tumor maximum diameter, histological grade and prognosis were compared. **Results** The expression rates of overall survival and progression-free survival in patients with high expression of PD-L1 and PD-1 were significantly different from those in patients with moderate and low expression of PD-L1 and PD-1 ($P < 0.05$). PD-L1 expression was detected in 54 patients with colorectal cancer tissues and surrounding metastatic lymph nodes at stage T4, including 38 patients with high expression (70.37%), 10 patients with moderate expression (18.52%), and 6 patients with low expression (11.11%), the differences were statistically significant ($P < 0.05$). PD-1 expression was detected in 54 patients with colorectal cancer tissues and surrounding metastatic lymph nodes at stage T4, including 38 patients with high expression (70.37%), 10 patients with moderate expression (18.52%), and 6 patients with low expression (11.11%), the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of PD-L1 and PD-1 is significantly increased in colorectal cancer tissues, and lymph node metastasis is closely related to prognosis and survival.

作者简介:程璐,女,主管技师,主要从事免疫学研究。△ 通信作者, E-mail: xzfighting@126.com。

本文引用格式:程璐,徐琪超,梅舟,等. PD-L1 和 PD-1 在 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结中的表达情况及与预后相关性研究[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(1): 76-79.

Key words: programmed death receptor 1; programmed death ligand 1; colorectal cancer; prognosis

结直肠癌作为较为常见的恶性肿瘤之一,目前已成为全球癌症相关死亡的主要原因^[1]。随着人们饮食、环境的不断改变,其发病率也呈持续上升趋势,且患者术后多出现复发情况^[2]。有研究显示^[3],我国经确诊为结直肠癌的患者中,20%~25%患者发生复发和癌旁转移。目前,主要通过手术、化学药物方法进行治疗,并取得了一定的效果,但既往治疗对于癌旁转移认识不足,因此导致术后易复发,影响预后,因此,针对免疫系统的抗癌疗法对于治疗结直肠癌具有重要意义,程序性死亡受体 1(PD-1),程序性死亡配体 1(PD-L1)作为免疫系统负向调节因子在抗肿瘤免疫领域中起到了至关重要的作用^[4-5]。因此本研究旨在探讨 PD-L1 和 PD-1 在 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结中的表达情况及与预后的相关性,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 12 月至 2021 年 5 月常州市第七人民医院收治的 80 例 T4 期结直肠癌患者,41 例男性、39 例女性;年龄 34~86 岁,平均(63.54±3.82)岁;按国际抗癌协会分类标准进行组织学分级:G1 级 12 例、G2 级 49 例、G3 级 19 例。随访 12 个月。

1.2 仪器与试剂 采用日本 OLYMPUS 公司 BX51 显微镜进行细胞免疫组化染色结果观察并拍照。PD-1 抗体和 PD-L1 抗体均购于福建迈新生物技术有限公司,浓缩型二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(产品编号 DAB-0031)购于迈新公司,免疫组化广谱(EliVision TM plus)试剂盒(产品编号 KIT-9903)购于迈新公司。

1.3 方法 对 PD-L1、PD-1 实施蛋白免疫组化检测,应用标准链霉亲和过氧化物酶,将组织切片放在特定浓度一抗中一晚,隔天,将组织切片放入羊抗兔 IgG 内孵育 30 min,再将组织切片转移至经过氧化酶标记的链霉亲和素室温孵育 20 min。用 50 μL Tris-HCL 缓冲液(pH=7.6)将切片染色,并放置于显微镜下观察约 6 min,再用水冲洗,最后用苏木素进行染

色,用 1%盐酸酒精分化、氨水返蓝梯度酒精脱水、吹干、封片处理。

1.4 观察指标 所有组织采用常州市第七人民医院病理科病理组织库中保存的结直肠癌患者癌及管状腺瘤组织蜡块。采用 DAKO Hercept Test 评分,PD-L1 和 PD-1 阳性显色:细胞浆呈现黄色至黄褐色颗粒。采用半定量积分法来表达 PD-L1 和 PD-1,评分指标结合染色强度和阳性细胞百分比,选择 5 个视野进行观察。染色强度:不着色提示 0 分;浅黄色提示 1 分;棕黄色提示 2 分;棕褐色提示 3 分,颜色越深,分值越高。阳性细胞百分比:低于 0%~<10%为 1 分;10%~<50%为 2 分;≥50%为 3 分。染色强度和染色的阳性细胞计数乘积小于 3 分为阴性,反之则为阳性。所有免疫组化切片由 2 名研究者独立进行判断评估,若结果不一致时,则重新共同观察确定。总生存期是指从随机化开始至因任何原因引起死亡的时间;无进展生存期是指随机化到患者出现肿瘤进展或死亡的时间。根据检测出的阳性细胞数确定高表达、中度表达及低表达,其中低表达为阳性细胞数>20%,中度表达阳性细胞数>40%,高表达阳性细胞数>65%。

1.5 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 t 及 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PD-L1、PD-1 在总生存期和无进展生存期中的表达率比较 PD-L1、PD-1 高表达患者总生存期和无进展生存期表达率与 PD-L1、PD-1 中度表达和低表达患者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结患者 PD-L1 表达率比较 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结患者中检测到 54 例 PD-L1 表达,其中高表达 38 例(70.37%)、中度表达 10 例(18.52%)、低表达 6 例(11.11%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 PD-L1、PD-1 在总生存期和无进展生存期中的表达率比较 [$n(\%)$]

项目	PD-L1			PD-1		
	高表达	中度表达	低表达	高表达	中度表达	低表达
总生存期	21(26.25)	10(12.50)	49(61.25)	19(23.75)	9(11.25)	52(65.00)
无进展生存期	22(27.50)	18(22.50)	40(50.00)	23(28.75)	13(16.25)	44(55.00)

2.3 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结患者 PD-1 表达率比较 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结患者中检测到 54 例 PD-1 表达,其中高表达 38

例(70.37%)、中度表达 10 例(18.52%)、低表达 6 例(11.11%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 PD-L1、PD-1 表达与结直肠癌预后关系 淋巴

结转移、远处转移、组织学分级对 PD-L1、PD-1 表达存在影响。见表 4。

表 2 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结患者 PD-L1 表达率比较[n(%)]

因素	n	高表达	中度表达	低表达	χ^2	P
年龄						
>60 岁	36	17(47.22)	12(33.33)	7(19.44)	1.346	0.510
≤60 岁	44	26(59.09)	10(22.73)	8(18.18)		
性别						
男性	41	22(53.66)	12(29.27)	7(17.07)	0.050	0.975
女性	39	21(53.85)	12(30.77)	6(15.38)		
肿瘤最大径						
<2 cm	26	13(50.00)	12(46.15)	1(3.85)	5.565	0.062
2~<5 cm	47	29(61.70)	14(29.79)	4(8.51)		
≥5 cm	7	3(42.86)	1(14.29)	2(28.57)		
周围转移淋巴结						
是	54	38(70.37)	10(18.52)	6(11.11)	18.833	<0.001
否	26	5(19.23)	15(57.69)	6(23.08)		
远处转移						
是	9	8(88.89)	1(11.11)	0(0.00)	3.517	0.172
否	71	38(53.52)	23(32.39)	10(14.08)		
组织学分级						
G1	12	6(50.00)	4(33.33)	2(16.67)	0.020	0.601
G2	50	31(62.00)	15(30.00)	4(8.00)		
G3	18	9(50.00)	3(16.67)	7(38.89)		

表 3 T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结患者 PD-1 表达率比较[n(%)]

因素	n	高表达	中度表达	低表达	χ^2	P
年龄						
>60 岁	36	18(50.00)	13(36.11)	5(13.89)	1.780	0.411
≤60 岁	44	25(56.81)	11(25.00)	10(22.73)		
性别						
男	41	23(56.10)	12(29.27)	6(14.63)	0.412	0.814
女	39	22(56.41)	13(33.33)	4(10.26)		
肿瘤最大径						
<2 cm	26	14(53.85)	10(38.46)	2(7.69)	0.702	0.704
2~<5 cm	47	30(63.83)	14(29.79)	3(11.54)		
≥5 cm	7	3(42.86)	2(28.57)	1(14.29)		
周围转移淋巴结						
是	54	38(70.37)	10(18.52)	6(11.11)	18.833	0.001
否	26	5(19.23)	15(57.69)	6(23.08)		
远处转移						
是	9	8(88.89)	1(11.11)	0(0.00)	3.898	0.142
否	71	39(54.93)	25(35.21)	7(9.86)		
组织学分级						
G1	12	6(50.00)	5(41.67)	1(8.33)	0.435	0.805
G2	50	30(60.00)	16(32.00)	4(8.00)		
G3	18	10(55.56)	4(22.22)	4(22.22)		

表 4 PD-L1、PD-1 表达与结直肠癌预后关系

项目	风险系数	95%CI	P
组织学分级	1.101	1.101~2.104	0.045
远处转移	2.931	1.972~5.982	0.007
淋巴结转移	2.109	1.288~4.781	0.007

3 讨 论

结直肠癌作为世界范围内最为常见的恶性肿瘤之一^[6],目前主要采取手术、放化疗及药物控制等治疗手段。随着医疗技术的不断进步,不断地有新型化疗药物及分子靶向药物运用到临床,并取得了显著的成果,但因结直肠癌而死亡的患者人数仍占多数,且患者术后情况不容乐观^[7-8]。当前免疫疗法已成为治疗肿瘤的重要策略,而免疫耐受现象则成为了肿瘤免疫疗法的主要障碍,癌细胞在癌变部位通过各类机制对自身进行保护,通过上调免疫抑制性分子 PD-L1 表达而达到逃避机体免疫反应的目的^[9-10]。

PD-L1 作为凋亡相关蛋白在免疫应答中发挥至关重要的作用,在免疫应答中,PD-L1 对其配体 PD-1 和淋巴细胞结合起到诱导作用,进而传递给 T 淋巴细胞其抑制信号,最终起到调节外周 T 细胞免疫耐受的作用^[11-12]。PD-L1、PD-1 通路及肿瘤免疫逃逸系统在治疗过程中受到破坏,T 细胞的免疫功能将会增强,引起肿瘤细胞分解,从而达到治疗效果^[13-14]。有研究表明^[15],PD-L1、PD-1 能够广泛表达在多种肿瘤组织中,但 PD-L1、PD-1 在结直肠癌患者中的表达及与预后的相关性尚待商榷。本研究结果显示,PD-L1、PD-1 高表达患者总生存期和无进展生存期表达率与 PD-L1、PD-1 中度表达和低表达患者比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。T4 期结直肠癌组织及周围转移淋巴结患者中检测到分别有 54 例 PD-L1 和 PD-1 表达;淋巴结转移、远处转移、组织学分级对 PD-L1、PD-1 表达存在影响。文献^[16]与本研究结果一致,PD-L1 的表达能够作为肿瘤预后的重要指标。本研究结果初步证实了 PD-L1、PD-1 可能成为结直肠癌治疗的关键靶点。PD-L1 不仅能够作为 PD-1 的配体在肿瘤环境中发挥作用,还能够传递负性信号,阻止肿瘤细胞凋亡并抵抗细胞毒性 T 细胞介导的细胞溶解。同时,PD-L1 还具有诱导 T 细胞耗竭及相关的抗原提呈细胞功能的缺失,聚集调节性 T 细胞的作用^[17]。有研究显示 PD-1、PD-L1 通路不仅能够调节肿瘤免疫,同时在肿瘤发生、生长、转移过程中也发挥着不可或缺的作用。最近,有学者通过研究 PD-1 在黑色素瘤细胞表面的表达情况发现,这些黑色素瘤细胞能够通过激活雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路来促进自身增殖^[18]。

综上所述,PD-L1、PD-1 表达在结直肠癌中上调,与淋巴结转移有关,可作为转移、侵袭性结直肠癌的

新型生物标志物发挥其重要作用。

参考文献

[1] 张愉涵,陈宏达,卢明,等. 结直肠癌筛查和早期诊断生物标志物研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(1): 142-148.

[2] 贾元吉. 全直肠系膜切除术治疗直肠癌的有效性分析[J]. 黑龙江医药, 2020, 33(1):152-154.

[3] 王晖,陆品相,张德祥,等. 早期结直肠癌及癌前病变患者经内镜治疗或手术治疗的疗效[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(10):1639-1643.

[4] 丁焯,戴璐,向雅婷,等. 程序性死亡蛋白 1(PD-1)及其配体 PD-L1 在脓毒症免疫细胞功能障碍中的作用及其应用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2020, 36(9):79-84.

[5] 张永平,胡绍燕. 程序性细胞死亡-1 及其配体在儿童恶性血液病中的应用[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2019, 34(3):175-178.

[6] 孔祥兴,李军. 非转移性结直肠癌预后预测体系的研究进展与挑战[J]. 肿瘤防治研究, 2020, 47(12):21-26.

[7] 王辉,秦秀森. 结直肠癌腹膜转移的诊治策略与挑战[J]. 中华胃肠外科杂志, 2021, 24(3):208-213.

[8] 张琳焯,姜慧杰,李勇. 评估结直肠癌靶向治疗及免疫治疗后反应的影像学进展[J]. 中华放射学杂志, 2020, 54(11):1137-1140.

[9] 何亚运,罗泊涛,陆元志. 肿瘤微环境中免疫抑制性细胞和细胞因子在抗肿瘤免疫反应中的作用研究进展[J]. 山东医药, 2019, 59(6):88-92.

[10] 周杰,李敬东,权刚,等. 转录因子 YY1 上调 PD-L1 表达

促进胆囊癌免疫逃逸的作用研究[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10):36-42.

[11] 宋晓旭,赵光辉,齐卫卫,等. PD-L1 介导胃癌免疫逃逸及其抑制剂在胃癌治疗中作用的研究进展[J]. 癌症进展, 2019, 17(23):31-34.

[12] 潘思宇,王志鑫,周瀛,等. PD-1/PD-L1 信号通路在肝脏疾病中的功能及作用机制[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(3):672-676.

[13] 刘盼,马敏婷,魏素菊. 逆转 T 细胞耗竭在肿瘤免疫治疗中研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(5):133-136.

[14] 田浩,康晓艳,朱海波,等. PD-1/PD-L1 在小细胞肺癌中的临床研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2019, 46(1):44-48.

[15] 景琼,吴金平,王光亚. miR-34a, PD-1, PD-L1 在膀胱癌中的表达及其与预后的相关性分析[J]. 医学综述, 2019, 25(20):187-192.

[16] CHEN L, HUANG X, ZHANG W, et al. Correlation of PD-L1 and SOCS3 Co-expression with the prognosis of hepatocellular carcinoma patients[J]. J Cancer, 2020, 11(18):5440-5448.

[17] 陈婷,林万尊,郑伟丽,等. 聚肌胞对活化早期 T 细胞 PD-1 表达的诱导及对黑色素瘤生长的抑制作用[J]. 肿瘤防治研究, 2019, 46(3):222-226.

[18] 闫璐,邱贤文,王穗海,等. lncRNA UCA1 靶向调控 p21 对黑色素瘤细胞增殖,侵袭的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2019, 48(2):40-45.

(收稿日期:2021-06-02 修回日期:2021-11-29)

(上接第 75 页)

参考文献

[1] 左飞杰,周小花,任艳,等. 醛固酮瘤及特发性醛固酮增多症合并阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的临床特征分析[J]. 四川大学学报(医学版), 2020, 51(3):298-303.

[2] 郑刚. 原发性醛固酮增多症与心血管疾病相关性研究的最新进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2020, 22(10):1102-1103.

[3] 提拉柯孜·图尔荪,骆秦,李南方. 原发性醛固酮增多症患者腹主动脉钙化与血浆醛固酮水平的相关性分析[J]. 新疆医科大学学报, 2020, 43(8):1048-1051.

[4] 崔淑娴,赫连曼,赵海鹰. 高血压合并焦虑抑郁病人血压变异性与血浆肾素活性、醛固酮水平的关系[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(7):1134-1136.

[5] 黄盼,杨淑珺,陈欢,等. 血浆醛固酮/肾素浓度比值在筛查原发性醛固酮增多症患者中的诊断价值[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2020, 41(3):400-404.

[6] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南 2010[J]. 中华心血管病杂志, 2011, 39(7):579-616.

[7] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会. 非 ST 段抬高急性冠状动脉综合征诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(5):353-367.

[8] 魏明慧,薛明明. 高血压性心肌肥厚相关信号通路的研究进展[J]. 中国心血管病研究, 2020, 18(5):460-464.

[9] 唐念,钟萍,郑丽君. 原发性高血压患者心肌微循环损伤的平板运动超声心动图相关数据[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2020, 19(6):439-442.

[10] 马红妹,常德玉,侯幸赞,等. 1 例高血压伴低血钾患者降压药物对醛固酮肾素活性比值的影响分析及应对策略[J]. 中国药师, 2020, 23(4):680-681.

[11] 徐茵,程云鹏,刘佳,等. 原发性高血压患者醛固酮与肾素活性比值和夜间血压及靶器官损害的关系[J]. 中华高血压杂志, 2020, 28(7):624-629.

[12] 孙春金,曹梦灵,关宏铜,等. 肾素-血管紧张素-醛固酮系统在高血压和心力衰竭疾病的相关研究进展[J]. 中国心血管病研究, 2020, 18(5):446-450.

[13] 朱韵,杨盼,葛志祥,等. 高血压患者心电图 SD 波在诊断左心室肥厚中的价值[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(2):123-127.

[14] 韦玉华,谢成琴,葛北海,等. 高血压合并抑郁症患者血浆肾素-血管紧张素 II-醛固酮及心率变异性水平变化的分析[J]. 中国医药导报, 2020, 17(20):62-65.

[15] 余信强,张苏川. 原发性高血压病人早期肾损伤影响因素的临床研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2019, 44(2):167-170.

[16] 王洪岐,于海涵,潘宇,等. 原发性高血压患者醛固酮与肾素比值与夜间血压的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22):2813-2816.

(收稿日期:2021-04-29 修回日期:2021-11-01)