

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.24.002

NKT 细胞在宫颈癌外周血中的水平研究*

涂云霞,叶婷婷,罗琳,刘荣芳,陈格,华金仁,潘玫[△]
江西省妇幼保健院肿瘤科,江西南昌 330006

摘要:目的 探讨自然杀伤 T 细胞(NKT 细胞)在宫颈癌患者中的水平变化。方法 选取 2017 年 1 月至 2018 年 12 月于该院就诊的 100 例女性宫颈癌患者为宫颈癌组,同期随机选取在该院进行常规体检的健康女性 100 例为对照组。比较两组 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞水平差异;比较不同病理类型、临床分期宫颈癌患者 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞水平差异。结果 与对照组比较,宫颈癌组 NKT 细胞水平降低($P<0.05$);与宫颈腺癌、腺鳞癌患者比较,宫颈鳞癌患者 NKT 细胞水平升高($P<0.05$);与临床分期 I~II 期宫颈癌患者比较,III~IV 期宫颈癌患者 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞水平降低,CD8⁺T 细胞水平升高($P<0.05$)。结论 宫颈癌患者 NKT 细胞水平与宫颈癌的病理类型和临床分期有关。

关键词:自然杀伤 T 细胞; 宫颈癌; 病理类型
中图分类号:R737.33 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2022)24-3318-03

Study on the level of NKT cells in peripheral blood of cervical cancer*

TU Yunxia, YE Tingting, LUO Lin, LIU Rongfang, CHEN Ge, HUA Jinren, PAN Mei[△]
Department of Oncology, Jiangxi Maternal and Child Health Hospital, Nanchang, Jiangxi 330006, China

Abstract: **Objective** To investigate the changes of the levels of natural killer T cells (NKT cells) in patients with cervical cancer. **Methods** A total of female cervical cancer patients who attended the hospital from January 2017 to December 2018 were selected as the cervical cancer group, and 100 healthy women who underwent routine physical examination at the hospital during the same period were randomly selected as the control group. The differences in the levels of NKT cells, CD4⁺T cells and CD8⁺T cells between the two groups were compared, the differences in the levels of NKT cells, CD4⁺T cells and CD8⁺T cells in patients with different pathological types and clinical stages of cervical cancer were compared. **Results** Compared with the control group, the level of NKT cells was decreased in the cervical cancer group ($P<0.05$). Compared with patients with cervical adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma, the level of NKT cells was increased in patients with cervical squamous carcinoma ($P<0.05$). Compared with patients with clinical stages I—II of cervical cancer, the levels of NKT cells and CD4⁺T cells were decreased, and the level of CD8⁺T cells was increased in patients with stages III—IV of cervical cancer ($P<0.05$). **Conclusion** The level of NKT cells in patients with cervical cancer is associated with the pathological type and clinical stage of cervical cancer.

Key words: natural killer T cells; cervical cancer; pathological type

宫颈癌的发病率和死亡率均较高,相关研究显示,2018 年全球新增宫颈癌病例 57.0 万例,死亡 31.1 万例,分别占有女性癌症发病和死亡的 6.6% 和 7.5%^[1]。宫颈癌的局部侵袭、淋巴结及远处转移是其预后不良的主要原因^[2],免疫监测是肿瘤细胞远处侵袭转移的重要前提^[3]。在肿瘤细胞的免疫监测中,T 细胞和 B 细胞的获得性免疫固然重要,但是自然杀伤 T 细胞(NKT 细胞)也发挥了重要作用。NKT 细胞是 T 细胞的一个亚群,它既表达 NK 细胞受体,又表达 T 细胞受体,兼具 NK 细胞和 T 细胞的特性,因此也被称为 CD3⁺CD56⁺NKT 样细胞^[4]。依

据 CD4、CD8 的表达情况,NKT 细胞又可分为 CD8⁺NKT、CD4⁺NKT、CD4⁻CD8⁻T 细胞(DN 细胞)这 3 个亚群,这些细胞在经抗原活化后不仅可以直接对肿瘤进行杀伤,也可通过激活免疫系统间接实现杀伤肿瘤的目的^[5]。

NKT 细胞最初在非霍奇金淋巴瘤、白血病、肺癌、乳腺癌中得到初步研究,其研究结果证实在这类肿瘤的发生发展中 NKT 细胞具有重要的地位,然而目前 NKT 细胞在宫颈癌中的研究较少^[6-7]。本研究以宫颈癌患者及健康体检女性作为研究对象,比较二者 NKT 细胞的差异等,并根据宫颈癌病理类型及分

* 基金项目:江西省卫生健康委科技计划项目(20203607)。
作者简介:涂云霞,女,副主任医师,主要从事肿瘤学相关研究。
[△] 通信作者,E-mail:drpanmei@163.com。

期的不同,比较 NKT 细胞差异,分析 NKT 细胞与宫颈癌发生、病理类型及分期的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2018 年 12 月于本院就诊的 100 例女性宫颈癌患者为宫颈癌组。宫颈癌组平均年龄(44.1±5.1)岁;临床分期Ⅰ~Ⅱ期 62 例,Ⅲ~Ⅳ期 38 例;鳞癌 78 例、腺癌 15 例、腺鳞癌 7 例;肿瘤最大径<4 cm 75 例,肿瘤最大径≥4 cm 25 例;有淋巴结转移 34 例,无淋巴结转移 66 例。同期随机选取在本院进行常规体检的健康女性 100 例为对照组,平均年龄(45.1±4.6)岁。宫颈癌患者纳入标准:(1)未经手术、放化疗等任何抗肿瘤治疗者;(2)有明确的宫颈癌病理诊断报告者;(3)有完整的诊断且记录详细者。排除标准:(1)病历信息不全、记录不全者;(2)严重感染者;(3)自身免疫性疾病者。

1.2 方法 本研究所有的血标本均采用 PAXgene 采血管收集,在收集每一份血标本前确保采血管均处于常温保存状态。采血时保持采血管低于患者手臂,采血时间大于 10 s,血液收集后,翻转采血管 8~10

次,使血液充分混合均匀。血样于室温下放置 2 h 后存于-20℃冰箱中过夜,次日放置于-80℃冰箱中保存。先后分离外周血单个核细胞,通过流式细胞仪及免疫组化技术进行 NKT 细胞的检测。

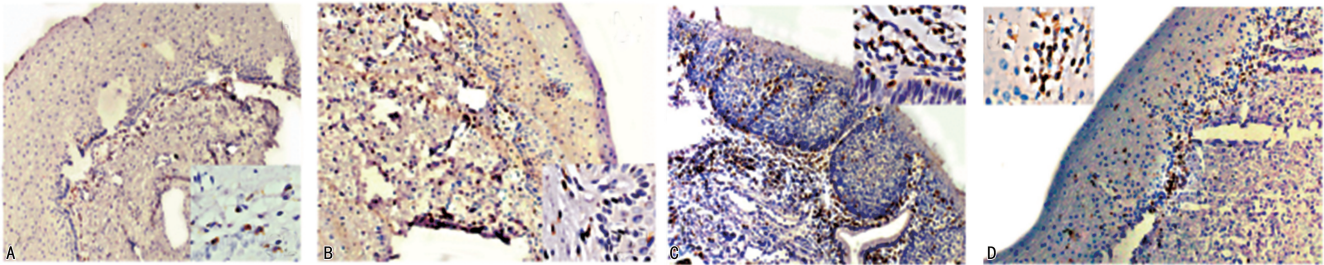
1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件对数据进行处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验或方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组外周血中 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞水平比较 宫颈癌组的 NKT 细胞水平明显低于对照组($P < 0.05$),见表 1、图 1。

表 1 两组外周血中 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞水平比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	NKT 细胞	CD4 ⁺ T 细胞	CD8 ⁺ T 细胞
宫颈癌组	100	8.55±1.29	16.57±3.34	58.98±6.78
对照组	100	13.41±2.23	18.43±4.04	57.64±6.54
<i>t</i>		18.865	1.644	0.361
<i>P</i>		<0.001	>0.05	>0.05



注:A 为对照组 CD4⁺T 细胞免疫组化图;B 为宫颈癌组 CD4⁺T 细胞免疫组化图;C 为对照组 NKT 细胞免疫组化图;D 为宫颈癌组 NKT 细胞免疫组化图。

图 1 两组外周血中 CD4⁺T 细胞、NKT 细胞免疫组化图

2.2 不同病理类型宫颈癌患者 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞水平比较 与宫颈腺癌、宫颈腺鳞癌患者比较,宫颈鳞癌患者 NKT 细胞水平升高($P < 0.05$),但不同病理类型宫颈癌患者 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 不同病理类型宫颈癌患者 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞水平比较($\bar{x} \pm s, \%$)

病理类型	<i>n</i>	NKT 细胞	CD4 ⁺ T 细胞	CD8 ⁺ T 细胞
鳞癌	78	10.12±1.56 ^{ab}	38.58±4.67	77.23±6.54
腺癌	15	7.13±1.23	39.43±3.87	77.64±7.28
腺鳞癌	7	5.09±0.98	39.09±3.05	79.67±6.01
<i>F</i>		55.918	0.249	0.443
<i>P</i>		<0.001	>0.05	>0.05

注:与宫颈腺癌患者比较,^a $P < 0.05$;与宫颈腺鳞癌患者比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 不同临床分期宫颈癌患者外周血中 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞水平比较 与临床分期

Ⅰ~Ⅱ期宫颈癌患者比较,Ⅲ~Ⅳ期宫颈癌患者 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞水平降低,CD8⁺T 细胞水平升高($P < 0.05$),见表 3。

表 3 不同临床分期宫颈癌患者外周血中 NKT 细胞、CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞水平比较($\bar{x} \pm s, \%$)

临床分期	<i>n</i>	NKT 细胞	CD4 ⁺ T 细胞	CD8 ⁺ T 细胞
Ⅰ~Ⅱ期	62	9.10±1.16	31.38±2.44	70.13±5.57
Ⅲ~Ⅳ期	38	6.07±0.98	29.63±3.09	78.76±6.38
<i>t</i>		4.670	3.010	3.450
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

3 讨论

宫颈癌目前已是全球范围内较常见的妇科恶性肿瘤,每年约有 529 800 例新发病例,其中发展中国家的病例约占 85%^[8]。高危型人乳头瘤病毒的持续感染是宫颈癌发病的主要致病因素。

研究表明,肿瘤患者肿瘤微环境中淋巴细胞的亚群和分型与肿瘤的进展和预后有关,但是目前临床深

入研究较少^[9]。外周血淋巴细胞具有标本采集方便、能够评估肿瘤微环境中淋巴细胞分布的特点,因此一般会采用评估外周血中淋巴细胞分布的方法来预测患者的免疫功能、肿瘤微环境状态及患者的预后情况^[10-13]。本研究通过流式细胞仪检测宫颈癌患者外周血淋巴细胞亚群分布,分析其与患者病理类型、分期、预后的关系,为宫颈癌的诊断和治疗提供初步的理论基础。

研究表明 NKT 细胞为恶性肿瘤的免疫治疗提供了新的诊疗思路与方向^[5]。NKT 细胞是共表达 T 细胞抗原受体(TCR)和 NK 细胞标志物的细胞组^[14-15],也就是说,NKT 细胞共享 NK 细胞和 T 细胞特征并具有先天性和获得性免疫功能。一旦 TCR 结扎,可激活 NKT 细胞分泌细胞毒性酶和细胞因子以杀死靶细胞^[16]。

研究表明高水平的 NKT 细胞与肺癌、结直肠癌患者的存活率升高有关^[5]。NKT 细胞一旦被激活,不但可表达 NK 细胞的一些功能,还拥有一些不同于传统 T 细胞的功能,因此 NKT 细胞在免疫应答中发挥着潜在效应细胞和调控细胞的作用。有研究表明,NKT 细胞尽管在外周循环体系中数目有限,但其在人体内外都表达出较强的抗肿瘤效应,NKT 细胞水平在结直肠癌中升高,但在宫颈癌等其他恶性肿瘤中 NKT 细胞水平降低^[9-13]。因此探究 NKT 细胞水平是否与肿瘤的发生、发展具有直接的联系十分重要。

本研究发现宫颈癌组 NKT 细胞水平明显低于对照组($P < 0.05$),但 $CD4^+$ T 细胞、 $CD8^+$ T 细胞水平在两组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与宫颈癌腺癌、宫颈腺鳞癌患者比较,宫颈鳞癌患者 NKT 细胞水平升高($P < 0.05$),但不同病理类型宫颈癌患者 $CD4^+$ T 细胞、 $CD8^+$ T 细胞水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与临床分期 I ~ II 期患者比较,III ~ IV 期患者 NKT 细胞、 $CD4^+$ T 细胞水平降低, $CD8^+$ T 细胞水平升高($P < 0.05$)。以上结果表明 NKT 细胞水平与宫颈癌的病理类型和临床分期有关, $CD4^+$ T 细胞、 $CD8^+$ T 细胞水平仅与宫颈癌临床分期有关。本课题组下一步将在细胞因子水平进一步研究 NKT 细胞在宫颈癌发生、发展中的作用,同时在已有的基础上进一步对参与课题研究的患者进行密切的临床随访研究,动态检测其外周血中 NKT 细胞表达的变化趋势,为评估临床预后提供参考依据。

参考文献

[1] ARBYN M, WEIDERPASS E, BRUNI L, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis [J]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(2): e191-e203.

[2] MCEWEN-SMITH R M, SALIO M, CERUNDOLO V. The regulatory role of invariant NKT cells in tumor immunity[J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(5): 425-435.

[3] ROBERTSON F C, BERZOFKY J A, TERABE M. NKT cell networks in the regulation of tumor immunity[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 543.

[4] FAN X, RUDENSKY A Y. Hallmarks of tissue-resident lymphocytes[J]. *Cell*, 2016, 164(6): 1198-1211.

[5] KRONENBERG M, GAPIN L. The unconventional lifestyle of NKT cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(8): 557-568.

[6] PILONES K A, ARYANKALAYIL J, DEMARIA S. Invariant NKT cells as novel targets for immunotherapy in solid tumors[J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 720803.

[7] ALTMAN J B, BENAVIDES A D, DAS R, et al. Antitumor responses of invariant natural killer T cells[J]. *J Immunol Res*, 2015, 2015: 652875.

[8] GIRARDI E, MARICIC I, WANG J, et al. Type II natural killer T cells use features of both innate-like and conventional T cells to recognize sulfatide self antigens[J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(9): 851-856.

[9] PATEL O, PELLICCI D G, GRAS S, et al. Recognition of CD1d-sulfatide mediated by a type II natural killer T cell antigen receptor[J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(9): 857-863.

[10] ARRENERG P, HALDER R, DAI Y, et al. Oligoclonality and innatelike features in the TCR repertoire of type II NKT cells reactive to a beta-linked self-glycolipid[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(24): 10984-10989.

[11] KADRI N, KORPOS E, GUPTA S, et al. $CD4^+$ type II NKT cells mediate ICOS and programmed death-1-dependent regulation of type 1 diabetes [J]. *J Immunol*, 2012, 188(7): 3138-3149.

[12] TATITURI R V, WATTS G F, BHOWRUTH V, et al. Recognition of microbial and mammalian phospholipid antigens by NKT cells with diverse TCRs[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(5): 1827-1832.

[13] ZEISSIG S, BLUMBERG R S. Primary immunodeficiency associated with defects in CD1 and CD1-restricted T cells [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1250: 14-24.

[14] GODFREY D I, ULDRICH A P, MCCLUSKEY J, et al. The burgeoning family of unconventional T cells[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(11): 1114-1123.

[15] COHEN N R, BRENNAN P J, SHAYZ T, et al. Shared and distinct transcriptional programs underlie the hybrid nature of iNKT cells[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(1): 90-99.

[16] KOHLGRUBER A C, DONADO C A, LAMARCHE N M, et al. Activation strategies for invariant natural killer T cells[J]. *Immunogenetics*, 2016, 68(8): 649-663.