

肝癌患者肝移植前外周血免疫表型分析

邓小红^{1,2}, 张倩倩^{1,2,3}, 蔡燕^{1,2}, 欧阳涓⁴, 陈茂根^{1,2}, 唐秀鑫^{1,2}, 何晓顺^{1,2}, 黄俊琪^{1,2}
(中山大学1. 附属第一医院器官移植科; 2. 附属第一医院广东省器官捐献与移植免疫重点实验室//广东省器官移植国际科技合作基地; 3. 中山医学院免疫学研究所; 4. 附属第一医院检验科, 广东广州 510080)

摘要:【目的】探讨肝癌患者肝移植前外周血免疫细胞表型的特征。【方法】通过多色流式细胞术对6例准备接受肝移植的肝癌患者及6例健康对照组外周血中T细胞、B细胞、单核细胞亚群、树突状细胞(DC)及NK细胞进行免疫表型分析。【结果】与健康对照组比较,肝癌肝移植受者组患者外周血CD4⁺PD-1⁺T细胞、调节T细胞(CD4⁺CD25⁺CD39⁺)、B细胞、浆母细胞(CD27^{high}CD38^{high}IgD⁻IgM⁻)、经典型单核细胞(CD14^{high}CD16⁻)及未成熟NK细胞(CD3⁻CD56^{high})均升高,差异具有统计学意义($P<0.05$);边缘区B细胞(CD27⁺IgD⁺)、非类型转换B细胞(CD27⁺CD38^{dim}IgM⁺)、中间型单核细胞(CD14^{high}CD16⁺)及NK细胞(CD3⁻CD56⁺)比例降低,差异具有统计学意义($P<0.05$);其余细胞比例未见明显差异。【结论】等待肝移植的肝癌患者外周血免疫细胞的表型与健康人有差异,对监测患者移植后的免疫状态及指导免疫抑制剂的使用有重要作用。

关键词:肝癌;肝移植;免疫细胞亚群;多色流式细胞术

中图分类号:R392.4 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2018)02-0178-08

Detection of Immune Cell Subsets of Peripheral Blood in Hepatocellular Carcinoma before Liver Transplantation

DENG Xiao-hong^{1,2}, ZHANG Qian-qian^{1,2,3}, CAI Yan^{1,2}, OUYANG Juan⁴, CHEN Mao-gen^{1,2},
TANG Xiu-xin^{1,2}, HE Xiao-shun^{1,2}, HUANG Jun-qi^{1,2}

(1. Department of Transplantation of the First Affiliated Hospital, 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Organ Donation and Transplant Immunology//Guangdong Provincial International Cooperation Base of Science and Technology, 3. Institute of Immunology, Zhongshan School of Medicine; 4. Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital; Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Corresponding to: HUANG Jun-qi, E-mail: hjqlab@163.com; huangjq@mail.sysu.edu.cn

Abstract: 【Objective】 To investigate the characteristics of immunophenotypes in hepatocellular carcinoma (HCC) before liver transplantation. 【Methods】 The immunophenotypes of T⁻, B⁻ cells, monocytes, dendritic cells (DC) and NK-cells in peripheral blood from 6 HCC patient who were ready to have liver transplantation and 6 healthy volunteers were analyzed by multicolor flow cytometry. 【Results】 In the patients, the proportions of CD4⁺PD-1⁺T cells, Treg cell (CD4⁺CD25⁺CD39⁺T cells), CD19⁺B cells, Plasmablasts (CD27^{high}CD38^{high}IgD⁻IgM⁻), classical monocytes (CD14^{high}CD16⁻) and mature NK-cells (CD3⁻CD56^{high}) were all higher than those in the healthy controls (all $P<0.05$). However, marginal zone B cell (CD27⁺IgD⁺), Non-switched B cells (CD27⁺CD38^{dim}IgM⁺), intermediate monocytes (CD14^{high}

收稿日期:2017-10-23

基金项目:国家自然科学基金(31370870);广东省自然科学基金(S2013020013000);广东省科技计划项目(2013A020229003);广州市科技计划项目(201604020083);广东省器官捐献与移植免疫重点实验室建设项目(2013A061401007);广东省器官移植国际合作基地建设项目(2015B050501002)

作者简介:邓小红,硕士研究生,研究方向:免疫学,E-mail: deng_xh7@163.com;黄俊琪,通信作者,教授,研究方向:免疫学,E-mail: hjqlab@163.com; huangjq@mail.sysu.edu.cn

CD16⁺) and immature NK-cells (CD3⁻CD56⁺) were lower than those in the healthy controls (all $P < 0.05$). And there wasn't any obvious difference in quantity being observed among other cell types. 【Conclusion】 There was difference in the immunophenotypes of immune cells in peripheral blood between HCC patients before liver transplantation and healthy people. And this finding exerts important effects on monitoring the immune status of the patients after liver transplantation and guiding the administrations of immunosuppressors.

Key words: liver cancer; liver transplantation; immunophenotyping; multi-color flow cytometry

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(2): 178-185; 226]

肝移植是目前治疗中晚期肝癌最直接,最有效的方法之一,移植术后患者的肝功能可迅速恢复从而极大地改善其远期预后^[1]。然而移植物排斥反应及移植术后的新发肿瘤仍严重制约患者的预后^[2-3]。目前免疫抑制剂的使用可有效减少移植物排斥反应的发生,但现有的免疫抑制剂选择性差,易诱发感染及肿瘤等不良反应,从而使肝移植患者远期可预期生存寿命低于正常健康人^[4]。因此,全面监测移植受体的免疫状态有助于移植病人的精准治疗,指导免疫抑制剂的使用,从而减少排斥反应、机会性感染及新生肿瘤等的发生。本文利用多色流式细胞术对肝癌患者肝移植前外周血的T细胞亚群、B细胞亚群、NK细胞、单核细胞亚群及树突状细胞亚群免疫细胞亚群进行分析,全面评估患者免疫状态,为移植术后免疫监测提供基础对照,并为改善患者预后及其免疫疗法提供前期基础。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

收集2016年10月至2017年2月在中山大学附属第一医院器官移植科住院的等待移植的肝癌患者外周血样品($n=6$)男性,平均年龄为(54.6±9.5)岁。纳入的患者均未合并其他恶性肿瘤及免疫性疾病,过去两周内未发生感染,近一个月未受过免疫接种,未使用对免疫系统有影响的药物如抗组胺药。另取健康对照组($n=6$)男性,平均年龄(53.4±6.9)岁。所有参与者均知情同意且获中山大学附属第一医院伦理委员会批准后取血。

1.2 仪器和主要试剂

流式细胞仪(CytoFLEX S; Beckman Coulter); DuraClone IM 表型检测基本管(B53309; Beckman

Coulter)、DuraClone IM TCRs管(B53340; Beckman Coulter)、DuraClone IM T细胞亚群管(B53328; Beckman Coulter)、DuraClone IM Treg管(B53346; Beckman Coulter)、DuraClone IM B细胞管(B53318; Beckman Coulter)、DuraClone IM 树突状细胞管(B53351; Beckman Coulter)、红细胞裂解液(A09777; Beckman Coulter)、IOTest 3 固定液(8546859; Beckman Coulter)、PerFix-nc Kit(B31168; Beckman Coulter)。

1.3 实验方法

通过静脉穿刺采集研究对象的外周血2 mL, EDTA抗凝。①取300 μL全血加入至10 mL PBS中,300×g离心10 min, PBS洗一遍,弃上清,300 μL 1× PBS重悬并取100 μL悬液加到B细胞管中,混匀并室温避光孵育15 min。②各取100 μL全血加入至基础管、T细胞管、DC管、TCRs管1中,混匀并室温避光孵育15 min。③各管均加2 mL红细胞裂解液裂解红细胞,避光室温裂解15 min。裂解后用PBS离心洗涤2遍,每次200×g, 5 min。④弃上清,其中TCRs管1加5 μL Buffer 1震荡混匀,室温避光孵育15 min。再加400 μL Buffer 2震荡混匀,转移至TCRs管2震荡混匀,避光孵育1 h室温; PBS离心洗涤2遍,每次200×g, 5 min。⑤300 μL PBS重悬上机检测。⑥流式分析软件采用CytExpert。

1.4 统计学处理

采用SPSS 23.0软件对结果进行统计分析。计量资料符合正态分布的采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,不符合正态分布的采用中位数(M)±四分位间距(QR)描述。本实验主要是比较肝癌组与健康对照组之间免疫细胞亚群的比例进行比较,若方差齐且服从正态分布采用配对 t 检验;否则,采用配对资料的符号秩和检验。所有的统计学检验均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

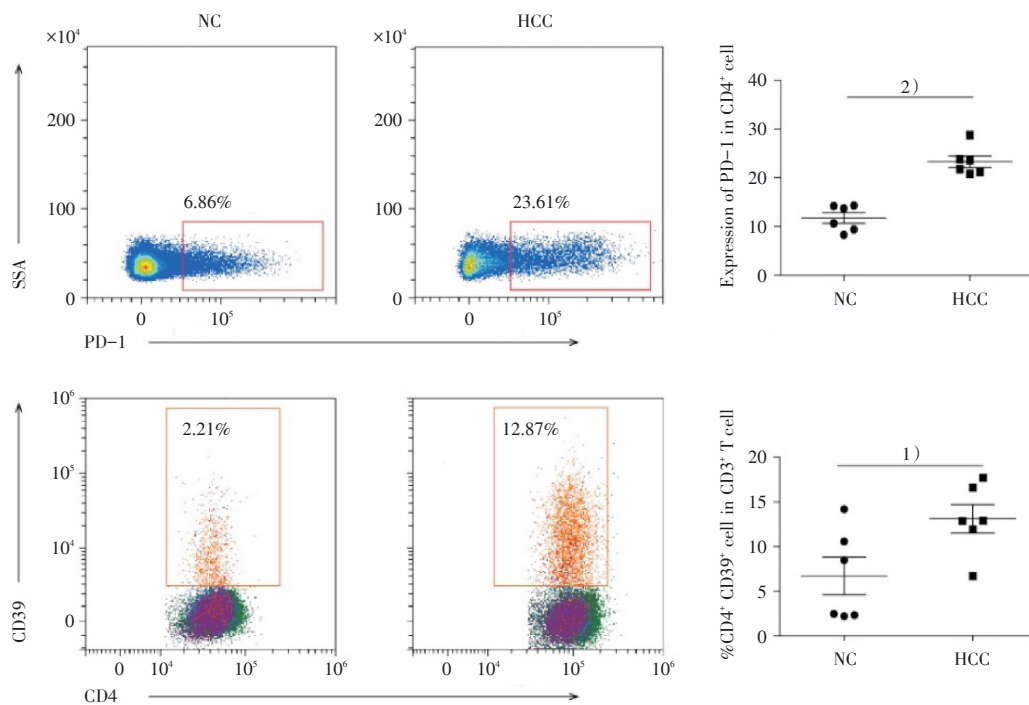
2 结果

2.1 肝癌组与对照组外周血T淋巴细胞亚群的百分率比较

与健康对照组比较,肝癌组患者外周血CD4⁺PD-1⁺T细胞、调节T细胞(CD4⁺CD25⁺CD39⁺)均升高,且差异有统计学意义(图1);其余细胞亚群均无统计学差异(表1)。

2.2 肝癌组与对照组外周血B淋巴细胞亚群的百分率比较

与健康对照组相比,等待移植的肝癌患者血清中CD19⁺B淋巴细胞、转换B细胞(CD27⁻CD38^{high}IgM⁺CD24⁺)及浆母细胞(CD27^{high}CD38^{high}IgD⁻IgM⁻)水平升高;边缘区B细胞(CD27⁺IgD⁺)与非类型转换B细胞(CD27⁺CD38^{dim}IgM⁺)含量下降,差异均有统计学意义,其余B细胞亚群差异无统计学意义(图2,表2)。



In the patients, the proportions of CD4⁺PD-1⁺T cells, CD4⁺CD39⁺T cells were higher than those in the healthy controls. 1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$

图1 待移植的肝癌组与对照组外周血T淋巴细胞亚群的百分率比较

Fig.1 Comparison of T lymphocyte subsets in peripheral blood in liver transplant recipients and healthy controls

2.3 肝癌组与对照组外周血树突状细胞亚群的百分率比较

两组比较树突状细胞、浆细胞样树突细胞pDC、髓系树突细胞mDC、CD16⁺mDCs、MDC1、MDC2差异无统计学意义(表3)。

2.4 肝癌组与对照组外周血单核细胞亚群的百分率比较

与健康对照组(NC)相比,等待移植的肝癌患者(HCC)外周血中经典型单核细胞CD14^{high}CD16⁻细胞上升,而中间型单核细胞CD14^{high}CD16⁺呈

现下降,且差异均有统计学意义(表4,图3);单核细胞总数及非经典型单核细胞数差异无统计学意义。

2.5 肝癌组与对照组外周血NK细胞亚群的百分率比较

与健康对照组(NC)相比,等待移植的肝癌患者(HCC)外周血中,NK细胞(CD3⁻CD56⁺)降低、未成熟NK细胞(CD3⁻CD56^{high})升高,差异有统计学意义(表5,图4)。

表1 待移植的肝癌组与对照组外周血T淋巴细胞亚群及表面分子水平的比较

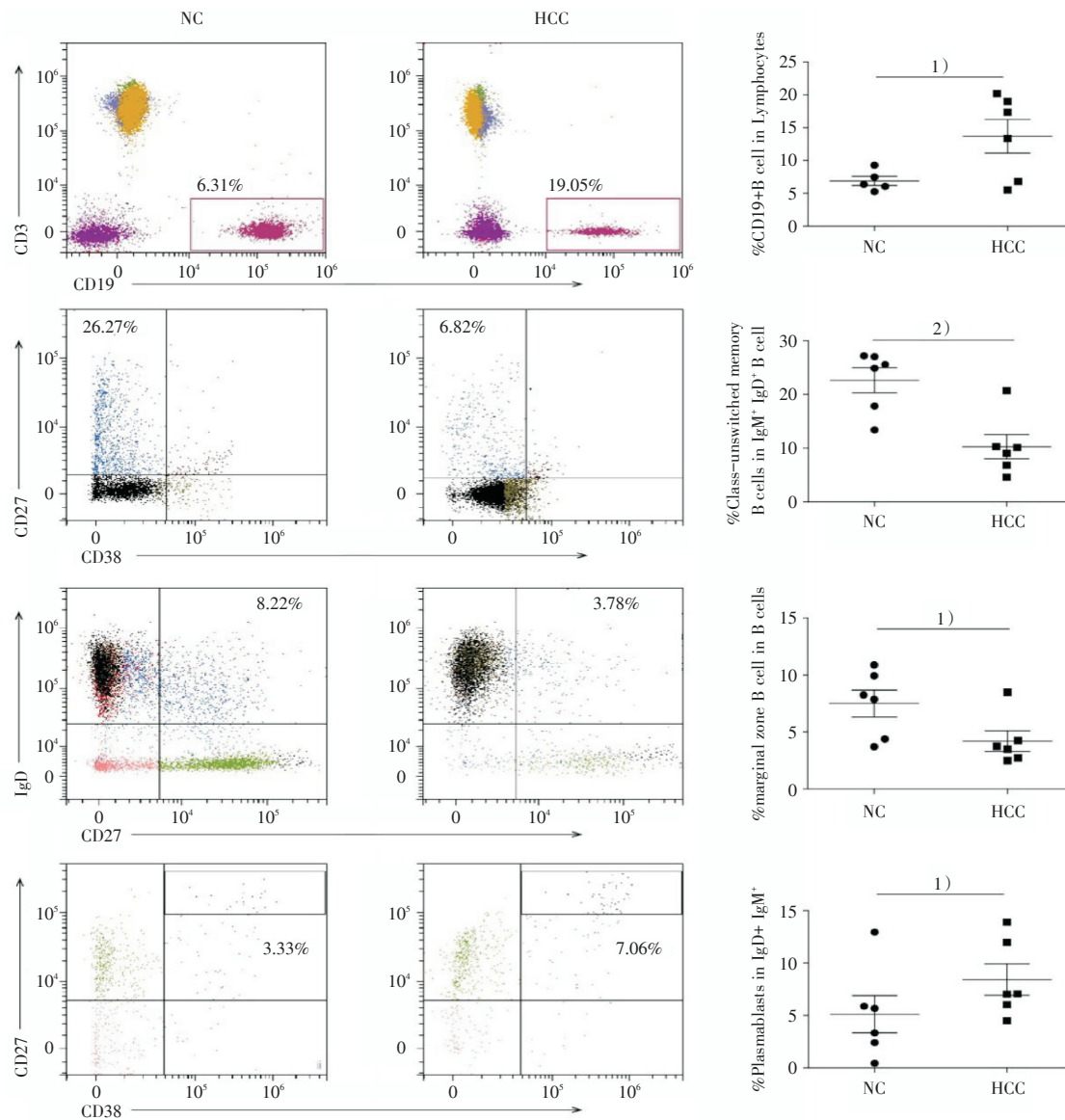
Table 1 Comparison of T lymphocyte subsets and surface molecule expression in peripheral blood in liver transplant recipients and healthy controls (n=6)

Description	Phenotype	Denominator	Liver transplant recipients	Healthy controls	t	P
CD4 ⁺ T Cells	CD3 ⁺ CD4 ⁺	T cells	48.74±4.03	60.42±3.89	2.085	0.064
Naive CD4 ⁺ T Cells	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CCR7 ⁺ CD45RA ⁺	CD4 ⁺ cells	25.62±5.97	21.82±2.31	0.594	0.566
Central memory CD4 ⁺ T cells	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CCR7 ⁺ CD45RA ⁻	CD4 ⁺ cells	52.99±3.62	56.80±2.14	0.905	0.387
Effector memory CD4 ⁺ T cells	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CCR7 ⁻ CD45RA ⁻	CD4 ⁺ cells	19.60±2.94	20.90±3.05	0.308	0.764
Effector CD4 ⁺ T cells	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CCR7 ⁻ CD45RA ⁺	CD4 ⁺ cells	1.79±0.97	0.49±0.22	1.307	0.220
Differentiated/senescent CD4 ⁺ T cells	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD27 ⁻ CD28 ⁺	CD4 ⁺ cells	82.75±1.76	79.02±3.63	0.923	0.378
Differentiated/senescent CD4 ⁺ T cells	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD57 ⁺	CD4 ⁺ cells	7.07±1.27	7.45±2.82	0.123	0.905
PD-1 ⁺ Tcell	CD3 ⁺ CD4 ⁺ PD-1 ⁺ Tcell	CD4 ⁺ cells	23.32±1.20	11.77±1.08	7.163	0.000
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺	CD4 ⁺ cells	9.22±1.27	5.19±0.48	3.184	0.011
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD39 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD39 ⁺	CD4 ⁺ cells	13.12±1.59	6.71±2.09	2.435	0.035
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RA ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RA ⁺	CD4 ⁺ cells	18.48±5.09	19.57±2.47	0.191	0.852
CD3 ⁺ CD4 ⁺ FoxP3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ FoxP3 ⁺	CD4 ⁺ cells	30.92±17.03	0.58±0.21	1.782	0.105
CD3 ⁺ CD4 ⁺ FoxP3 ⁺ Helios ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ FoxP3 ⁺ Helios ⁺	CD4 ⁺ cells	6.39±4.19	0.46±0.22	1.413	0.188
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Helios ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ Helios ⁺	CD4 ⁺ cells	0.53±0.13	1.34±0.37	2.066	0.066
HLA-DR ⁺ T Cells	HLA-DR ⁺ CD3 ⁺	T cells	42.75±4.50	32.57±4.83	1.543	0.154
CD8 ⁺ T Cells	CD8 ⁺ TCells	T cells	44.76±3.25	34.07±4.07	2.051	0.067
TCR γδ ⁺ T Cells	TCRγδ ⁺ CD3 ⁺	T cells	5.92±2.66	4.78±0.54	0.420	0.683
TCRγδ ⁺ Vδ1 ⁺ T Cells	TCRγδ ⁺ Vδ1 ⁺ CD3 ⁺	TCRγδ ⁺ T Cells	59.92±14.40	76.19±8.94	0.960	0.360
TCR γδ ⁺ Vδ2 ⁺ T Cells	TCRγδ ⁺ Vδ2 ⁺ CD3 ⁺	TCRγδ ⁺ T Cells	17.74±7.44	16.82±6.24	0.095	0.926
TCR αβ ⁺ T Cells	TCRαβ ⁺ CD3 ⁺	T cells	90.15±3.69	94.87±0.51	1.268	0.234
TCR αβ ⁺ CD8 ⁺ T Cells	TCRαβ ⁺ CD3 ⁺ CD8 ⁺	TCRαβ ⁺ T Cells	43.75±4.24	34.37±4.10	1.590	0.143
TCR αβ ⁺ CD4 ⁺ T Cells	TCRαβ ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺	TCRαβ ⁺ T Cells	52.93±4.27	63.67±3.99	1.837	0.096

表2 待移植的肝癌组与对照组外周血B淋巴细胞亚群及表面分子水平的比较

Table 2 Comparison of B lymphocyte subsets and surface molecule expression in peripheral blood in liver transplant recipients and healthy controls (n=6)

Description	Phenotype	Denominator	Liver transplant recipients	Healthy controls	t	P
B cell	CD19 ⁺ CD3 ⁻	Lymphocytes	13.70±2.57	6.89±0.69	2.339	0.044
Naive B cell	CD19 ⁺ CD27 ⁺ IgD ⁺	B cells	72.38±5.56	63.09±3.91	1.311	0.222
Marginal zone B cell	CD19 ⁺ CD27 ⁺ IgD ⁺	B cells	3.33±0.33	7.50±1.19	3.101	0.013
CD 21 ^{low}	CD19 ⁺ CD38 ^{low} CD21 ^{low}	B cells	3.65±0.93	5.33±0.76	1.421	0.189
Class-switched memory B cell	CD19 ⁺ CD27 ⁺ CD38 ^{dim} IgD ⁻ IgM ⁻	B cells	62.99±4.46	62.32±4.30	0.107	0.917
Non-switched B cells	CD19 ⁺ CD27 ⁺ CD38 ^{dim} IgM ⁺	B cells	8.16±1.09	22.65±2.33	5.260	0.000
Transition B cell	CD19 ⁺ CD27 ⁻ CD38 ^{high} IgM ⁺ CD24 ⁺	B cells	15.03±2.18	9.10±1.08	1.323	0.215
Plasmablasts	CD19 ⁺ CD27 ^{high} CD38 ^{high} IgD ⁻ IgM ⁻	B cells	8.42±1.50	3.55±1.02	2.566	0.030



In the patients, the proportions of CD19+B cells and Plasmablasts were higher than those in the healthy controls; marginal zone B cell and Non-switched B cells were lower than those in the healthy controls. 1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$

图2 待移植的肝癌组与对照组外周血B淋巴细胞亚群的百分率比较

Fig.2 Comparison of T lymphocyte subsets in peripheral blood in liver transplant recipients and healthy controls

表3 待移植的肝癌组与对照组外周血树突状细胞亚群的百分率比较

Table 3 Comparison of dendritic cells subsets in peripheral blood in liver transplant recipients and healthy controls (n=6)

Description	Phenotype	Denominator	Liver transplant recipients	Healthy controls	t	P
Dendritic cells	Lin ⁻ HLA-DR ⁺	Leucocytes	13.16±2.28	17.13±0.10	1.596	0.142
Plasmacytoid dendritic cells	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁻ CD123 ⁺ BDCA2 ⁺	Leucocytes	2.15±0.66	2.86±0.52	0.846	0.417
Myeloid dendritic cells	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺	Leucocytes	8.67±1.87	12.44±1.80	1.453	0.177
CD16 ⁺ mDCs	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD16 ⁺ BDCA3 ⁻	mDCs	66.66±10.57	73.40±2.93	0.615	0.552
MDC1	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD16 ⁻ BDCA3 ⁻	mDCs	23.07±10.24	17.75±3.33	0.493	0.632
MDC2	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD16 ⁻ BDCA3 ⁺	mDCs	0.795±0.43	0.522±0.17	0.590	0.568

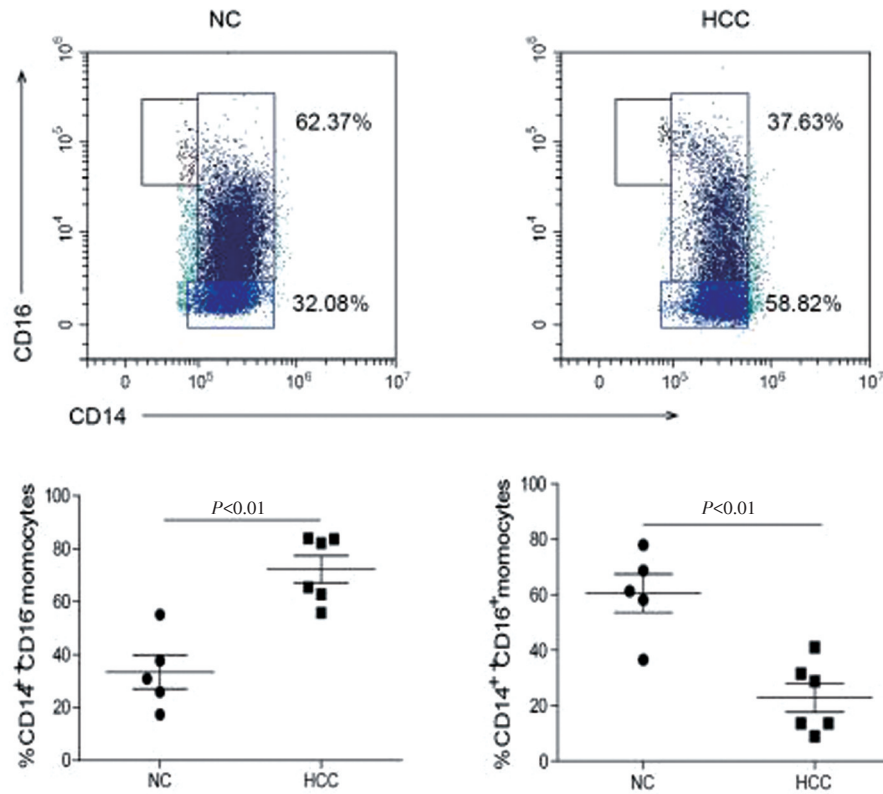


图3 待移植的肝癌组与对照组外周血单核细胞亚群的百分率比较

Fig.3 Comparison of monocytes subsets in peripheral blood in two groups by flow cytometer

表4 待移植的肝癌组与对照组外周血单核细胞亚群的百分率比较

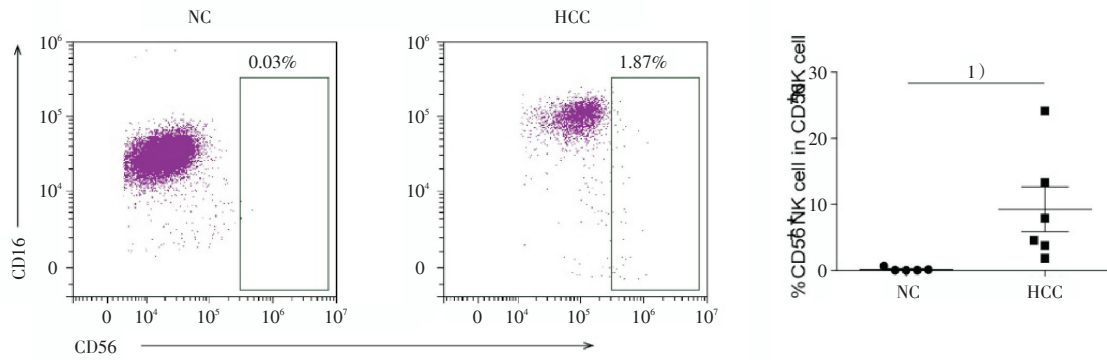
Table 4 Comparison of monocytes subsets in peripheral blood in liver transplant recipients and healthy controls (n=6)

Description	Phenotype	Denominator	Liver transplant recipients	Healthy controls	t	P
Dendritic cells	Lin ⁻ HLA-DR ⁺	Leucocytes	13.16±2.28	17.13±0.10	1.596	0.142
Plasmacytoid dendritic cells	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁻ CD123 ⁺ BDCA2 ⁺	Leucocytes	2.15±0.66	2.86±0.52	0.846	0.417
Myeloid dendritic cells	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺	Leucocytes	8.67±1.87	12.44±1.80	1.453	0.177
CD16 ⁺ mDCs	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD16 ⁺ BDCA3 ⁻	mDCs	66.66±10.57	73.40±2.93	0.615	0.552
MDC1	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD16 ⁻ BDCA3 ⁻	mDCs	23.07±10.24	17.75±3.33	0.493	0.632
MDC2	Lin ⁻ HLA-DR ⁺ CD11c ⁺ CD16 ⁻ BDCA3 ⁺	mDCs	0.795±0.43	0.522±0.17	0.590	0.568

3 讨论

大量文献显示,肝癌的发生发展与机体免疫状态密切相关^[5-6]。目前,ONE Study已推出标准化的抗体组合试剂,可检测多种免疫细胞^[7]。我们利用该组合监测肝移植患者移植前的整体免疫状态。

在T细胞组合中我们发现与健康对照组比较,肝癌组患者外周血程序性死亡蛋白1+(programmed death 1, PD-1)T细胞及Treg细胞升高,结果与国内外报道相一致。众所周知,PD-1是免疫球蛋白超家族成员之一,在多种细胞中表达,包括T淋巴细胞,PD-1与其配体结合介导免疫抑制作用,是肿瘤细胞逃避免疫细胞识别与杀伤的重要方式^[8]。调节性T细胞(Treg细胞)是一群可



1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$

图4 待移植的肝癌组与对照组外周血NK细胞亚群的百分率比较

Fig.4 Comparison of NK-cells subsets in peripheral blood in two groups by flow cytometer

表5 待移植的肝癌组与对照组外周血NK细胞亚群的百分率比较

Table 5 Comparison of NK-cells subsets in peripheral blood in liver transplant recipients and healthy controls ($n=6$)

Description	Phenotype	Denominator	Liver transplant recipients	Healthy controls	t	P
All monocytes	CD14 ⁺	Leucocytes	7.29±1.67	8.38±0.66	0.562	0.588
Classical monocytes	CD14 ^{high} CD16 ⁻	Monocytes	72.31±5.08	33.39±6.37	4.844	0.001
Intermediate monocytes	CD14 ^{high} CD16 ⁺	Monocytes	22.92±5.17	60.52±6.90	4.448	0.002
Nonclassical monocytes	CD14 ⁺ CD16 ^{high}	Monocytes	1.19±0.38	1.29±0.37	0.193	0.851

通过抑制其它免疫效应细胞的激活和增殖的免疫负调控T细胞亚群,它们的升高与肿瘤的免疫逃逸及诱导移植免疫耐受密切相关^[9]。

B淋巴细胞是最重要的适应性免疫细胞之一,主要介导体液免疫。目前大量研究报道,B细胞可通过多种方式影响移植物的存活^[10]。早期B细胞可通过抗原的提呈、细胞因子的分泌及共刺激分子的高表达等来影响T淋巴细胞的分化来介导排斥反应;晚期成熟的B细胞则通过产生大量特异性抗体介导排斥反应;另外,记忆性B细胞可通过活化T细胞介导排斥反应^[11]。本实验结果显示,转换B细胞(CD27⁻CD38^{high} IgM⁺CD24⁺)含量上升,具有免疫调控作用,参与肿瘤的发生发展及移植后的排斥反应。浆母细胞(CD19⁺CD27^{high} CD38^{high} IgD⁻ IgM⁻)可分化发育为浆细胞,产生大量特异性抗体介导排斥反应,等待移植的肝癌患者浆母细胞水平升高,可能与之后移植排斥反应有关;边缘区B细胞(CD19⁺ CD27⁺ IgD⁺)由脾脏产生,主要负责制造抗体来抵御疾病,非类型转换

B细胞(CD19⁺CD27⁺CD38^{dim} IgM⁺)相当于边缘区B细胞,当年龄大于65岁时,该细胞含量下降,可增加感染的风险^[12]。

DC在外周血中数量不足单个核细胞的1%,但它具有强大的抗原提呈能力,可有效刺激初始T细胞的活化和增值,对机体免疫应答的启动非常重要,在肿瘤及移植排斥反应的发生发展中均起重要作用^[13]。根据来源及表面标志不同可将DC分为髓样DC(myeloid dendritic cells, MDC)和浆细胞样DC(plasmacytoid dendritic cells, pDC)。MDC又可分为CD1c⁺mDCs(MDC1)、CD141⁺mDCs(MDC2),和CD16⁺mDCs。其中MDC1主要诱导胞外抗原免疫,MDC2可介导CD8⁺T细胞免疫应答,CD16⁺mDCs则与炎症有关;pDC未成熟时可产生大量的干扰素-I。有文献报道,在肝癌外周血中pDC及MDC的比例较正常人减少^[14],本实验结果中各DC亚群差异均无统计学差异可能与样本量小有关。

单核细胞是机体血液中重要的天然免疫细

胞,主要通过吞噬作用参与机体免疫应答。根据表面分子CD14及CD16的表达量,单核细胞可分为分为经典型($CD14^{high}CD16^{-}$)、中间型($CD14^{high}CD16^{+}$)和非经典型($CD14^{+}CD16^{high}$)单核细胞。一般认为经典型单核细胞可分化为中间型($CD14^{high}CD16^{+}$)和非经典型($CD14^{+}CD16^{high}$)单核细胞。实验研究结果显示,等待肝移植的肝癌患者的,经典型单核细胞($CD14^{high}CD16^{-}$)升高、中间型单核细胞($CD14^{high}CD16^{+}$)降低。

NK细胞是一类重要的固有免疫细胞,在外周血中约占淋巴细胞总数的10%,占肝脏中淋巴细胞总数的50%^[15],根据CD56的表达可粗略分为CD56^{dim}和CD56^{bright} NK细胞^[16]。目前认为CD56^{dim} NK细胞主要存在外周血中,主要发挥细胞毒作用,CD56^{bright} NK细胞主要存在于组织中^[17],主要发挥产细胞因子及调节功能,CD56^{dim} NK细胞^[18],它们在机体移植排斥反应及肿瘤的发生发展中起重要作用。目前主流观点认为CD56^{bright} NK细胞是CD56^{dim} NK细胞的前体^[18],也有学者认为它们的来源不同。本实验结果显示等待移植的肝癌患

者外周血中NK细胞的总比例比健康对照相比明显降低,差异有统计学意义,其中CD56^{bright}细胞的频率增加,CD56^{dim}细胞的频率下降,说明主要是CD56^{dim}细胞数目的降低引起总NK细胞的降低,即可能成熟NK细胞数量下降。这可能与机体自身的病理状态有关,但具体的机制仍需进一步研究。

总之,通过分析患者的免疫细胞亚群的比例,可以了解肝癌患者全面系统的免疫状态,对肝癌患者早期诊断有指导作用,对肝癌的治疗和预后也有一定的临床指导意义。例如:在移植前先改善患者的免疫状态,可能改善其移植效果;监测患者的免疫状态,可个体化用药,从而延长其生存时间及提高生存质量。然而,本文仍存在一定的局限性,例如,不同的族群的CD值范围不同^[19],本文样本量不够大不具有广泛性;其次,CD值范围与患者术后的指标联系的不够密切。因此,今后应加大样本量对本结果进行验证及补充,并对患者进行随访,将术后各指标与CD分子相结合进行分析。

参考文献

- [1] 郑树森,俞军,张武. 肝移植在中国的发展现状[J]. 临床肝胆病杂志, 2014, 30(1): 2-4.
Zheng SS, Yu J, Zhang W. Current development of liver transplantation in China [J]. J Clin Hepatol, 2014, 30(1): 2-4.
- [2] 陈规划,姜楠. 肝移植免疫耐受的研究热点和思考[J]. 器官移植, 2017, 8(1): 1-4.
Chen GH, Jiang N. Immune tolerance of liver transplantation: hot research issues and deep reflections [J]. Organ Transpl, 2017, 8(1): 1-4.
- [3] 王利英,郑树森. 肝癌肝移植术后受体预后相关因素的研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2016, 22(2): 145-151.
Wang LY, Zheng SS. Advances on the research of predicting the prognosis of hepatocellular carcinoma recipients after liver transplantation [J]. J Chin Oncol, 2016, 22(2): 145-151.
- [4] Geissler EK. Post-transplantation malignancies: Here today, gone tomorrow? [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2015, 12(12): 705-717.
- [5] Qin S, Ma S, Huang X, et al. Th22 cells are associated with hepatocellular carcinoma development and progression [J]. Chin J Cancer Res, 2014, 26(2): 135-141.
- [6] Makarova-Rusher OV, Medina-Echeverez J, Duffy AG, et al. The yin and yang of evasion and immune activation in HCC [J]. J Hepatol, 2015, 62(6): 1420-1429.
- [7] Streitz M, Miloud T, Kapinsky M, et al. Standardization of whole blood immune phenotype monitoring for clinical trials: panels and methods from the ONE study [J]. Transplant Res, 2013, 2(1): 17-23.
- [8] Bousiotis VA. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway [J]. N Engl J Med, 2016, 375(18): 1767-1778.
- [9] Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance [J]. Cell, 2008, 133(5): 775-787.
- [10] Kirk AD, Turgeon NA, Iwakoshi NN. B cells and transplantation tolerance [J]. Nat Rev Nephrol, 2010, 6(10): 584-593.

(下转第226页 to page 226)