

# 前列腺癌肿瘤微环境树突状细胞与 T 细胞免疫的关系

丘少鹏, 陈辉熔, 邓春华, 赵良运

(中山医科大学附属第一医院泌尿外科, 广东 广州 510080)

**摘要:**【目的】了解前列腺癌组织树突状细胞与肿瘤微环境 T 细胞免疫的关系。【方法】对 22 例前列腺癌组织和周围正常前列腺组织用 S100、CD3、CD21 和 CD14 mAb 分别作 SP 免疫组化染色, 光镜下对阳性细胞计数并计算细胞指数, 对癌组织 S100<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup> 细胞指数行相关性分析。【结果】前列腺癌组织和正常组织可观察到 S100<sup>+</sup> DCs 和 CD3<sup>+</sup> T 细胞分布, 而 CD21<sup>+</sup> B 细胞和 CD14<sup>+</sup> 单核/巨噬细胞均少见。癌组织中 S100<sup>+</sup> DCs 指数和 CD3<sup>+</sup> T 细胞指数均明显少于周围正常组织 ( $P < 0.05$ ), 癌组织 S100<sup>+</sup> DCs 指数与 CD3<sup>+</sup> T 细胞指数呈正相关 ( $r = 0.86, P < 0.05$ )。【结论】DCs 是前列腺癌肿瘤微环境中的主要抗原提呈细胞, 癌组织 DCs 数量减少可能与前列腺癌肿瘤微环境 T 细胞免疫功能低下有关。

**关键词:** 前列腺癌; 树突细胞; 抗原; CD3; 神经组织蛋白质 S100

中图分类号: R737.250 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2002)02-0127-02

**The Relationship Between Dendritic Cells and T Lymphocytes Immunity in Tumor Microenvironment of Human Prostate Cancer** QIU Shao-peng, CHEN Hui-rong, DENG Chun-hua, ZHAO Liang-yun. (Department of Urology, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

**Abstract** 【Objective】To investigate the relationship between dendritic cells and T lymphocytes immunity in tumor microenvironment of human prostate cancer. 【Methods】S100<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD21<sup>+</sup>, and CD14<sup>+</sup> cells were determined by immunohistochemical staining (SP method) in 22 cases of prostate cancer and adjacent normal prostate tissue. The amount of positive cells were counted using microscope and the cell index were calculated. 【Results】S100<sup>+</sup> DCs and CD3<sup>+</sup> T lymphocytes were detected, while CD14<sup>+</sup> B lymphocytes and CD21<sup>+</sup> monocytes/macrophages were rarely detected. The cell index of S100<sup>+</sup> DCs and CD3<sup>+</sup> T lymphocyte were less in cancer than in adjacent normal prostate tissue, respectively ( $P < 0.05$ ). There was a significant positive correlation between the cell index of S100<sup>+</sup> DCs and CD3<sup>+</sup> T lymphocyte in cancer ( $r = 0.86, P < 0.05$ ). 【Conclusion】DCs is the main antigen presenting cells in tumor microenvironment of prostate cancer, and the decrease of DCs number in cancer is related to the decrease of T lymphocyte immunity in tumor microenvironment of prostate cancer.

**Key words:** prostate neoplasms; dendritic cells; antigens; CD3; nerve tissue proteins S100

随着肿瘤免疫学的深入研究, 提出了“肿瘤微环境”(tumor microenvironment)的概念, 肿瘤微环境存在着导致免疫不应答或免疫应答低下的多种因素, 研究肿瘤微环境免疫状态比外周血免疫状态能更准确地反映宿主的抗肿瘤免疫反应。树突状细胞(dendritic cells, DCs)是目前已知功能最强的抗原提呈细胞(antigen present cell, APC), 能诱导针对肿瘤相关抗原的特异性 T 淋巴细胞反应, 因此研究肿瘤浸润树突状细胞对了解肿瘤免疫逃避机制具有重要意义<sup>[1]</sup>。DCs 疫苗是目前肿瘤免疫治疗的热点, 治疗激素非依赖性前列腺癌的研究也已进入了临床 II 期实验阶段<sup>[2]</sup>, 但有关前列腺癌肿瘤微环境 DCs 的数量、功能的研究鲜见报道, 本文旨在研究 DCs 在前列腺癌肿瘤微环境 T 细胞免疫中的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

中山医科大学第一附属医院 1998~2001 年经直肠前列腺癌穿刺和前列腺癌根治手术标本 22 例, 均确诊为前列腺癌。按 Gleason 分级, 1 级 2 例, 2 级 6 例, 3 级 6 例, 4 级 7 例, 5 级 1 例。正常对照为同一病例不包括癌组织在内的周围正常前列腺组织。

### 1.2 方法

石蜡标本连续 4 μm 切片, 分别 HE 染色和免疫组化染色。HE 染色后全部重新确定诊断。DCs 能表达 S100 蛋白, 而单核/巨噬细胞内不表达 S100 蛋白, S100 蛋白可作为 DCs 的特异性标志物, 国内外开展较多的是用免疫组化的方法对肿瘤浸润树突状细胞进行研究<sup>[3]</sup>。免疫组化染色采用

SP法,兔抗人S100、CD3<sup>+</sup>、CD21<sup>+</sup>、CD14<sup>+</sup> mAb和SP试剂盒购自迈新公司。用磷酸盐缓冲溶液(PBS)代替一抗作空白对照,扁桃体组织作阳性对照。

### 1.3 结果判定

S100<sup>+</sup> DCs染色位于细胞质内,胞浆呈分枝状突起,形似树突状。CD3<sup>+</sup> T细胞、CD21<sup>+</sup> B细胞和CD14<sup>+</sup>单核/巨噬细胞染色位于细胞膜,阳性结果为棕黄色。400倍光镜下连续观察10个视野,并对每个视野进行阳性细胞计数,每高倍视野面积为0.25 mm<sup>2</sup>,阳性细胞指数以单位面积下的细胞计数表示( $n / \text{mm}^{-2}$ )。观察范围不包括淋巴结和淋巴滤泡样结构。

### 1.4 统计学处理

数据以均数及标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,前列腺癌组织和周围正常前列腺组织各阳性细胞指数比较采用 $t$ 检验,前列腺癌组织S100<sup>+</sup> DCs指数和CD3<sup>+</sup> T细胞指数作Pearson相关分析。

## 2 结果

### 2.1 S100<sup>+</sup> DCs分布特征

前列腺癌组织中S100<sup>+</sup> DCs散在分布于癌细胞和相邻的间质中,Gleason 4和5级癌组织DCs分布明显减少(图1)。随Gleason分级越高DCs分布呈减少的趋势,但因病例数不多而未作统计学分析。周围正常前列腺组织S100<sup>+</sup> DCs分布于腺体和间质中(图2)。前列腺癌组织S100<sup>+</sup> DCs指数明显少于周围正常前列腺组织,统计学分析差异具有显著意义( $P < 0.05$ )(表1)。

表1 前列腺癌和周围正常前列腺组织CD3<sup>+</sup>和S100<sup>+</sup>细胞指数( $n / \text{mm}^{-2}$ )

Table 1 The cell index of CD3<sup>+</sup> and S100<sup>+</sup> in prostate cancer and adjacent normal prostate tissue

Positive cell	Prostate cancer	Adjacent normal tissue	$P$
CD3 <sup>+</sup>	14.01 ± 4.76	43.02 ± 6.20	< 0.05
S100 <sup>+</sup>	20.89 ± 6.06	43.11 ± 6.13	< 0.05

### 2.2 CD3<sup>+</sup>、CD21<sup>+</sup>和CD14<sup>+</sup>细胞分布特征

前列腺癌组织中CD3<sup>+</sup> T细胞分布于癌细胞之间和周边间质,周围正常前列腺组织CD3<sup>+</sup> T细胞主要分布于间质中。CD21<sup>+</sup> B细胞和CD14<sup>+</sup>单核/巨噬细胞在癌组织及周围正常组织中分布很少。前列腺癌组织CD3<sup>+</sup> T细胞指数明显少于周围正常前列腺组织,统计学分析差异具有显著意义( $P < 0.05$ )(表1)。前列腺癌组织中CD3<sup>+</sup> T细

胞指数与S100<sup>+</sup> DCs指数显著正相关( $r = 0.86$ ,  $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 DCs是前列腺癌肿瘤微环境中的主要APC

免疫反应的产生首先是APC捕获抗原,经其加工处理后将抗原信息传递给T、B淋巴细胞,从而引发一系列特异性免疫应答。APC包括DCs、单核/巨噬细胞、B细胞等,其中DCs功能最强。DCs能显著刺激处女型或初始型T细胞增殖,DCs是机体免疫反应的始动者。B细胞可识别肿瘤相关抗原并产生抗体,与体液免疫有关。单核/巨噬细胞和B细胞仅能刺激已活化的或记忆性T细胞<sup>[1]</sup>。本研究发现,无论在前列腺癌组织还是在周围正常前列腺组织中均很少见到CD21<sup>+</sup> B细胞和CD14<sup>+</sup>单核/巨噬细胞分布,表明B细胞和单核/巨噬细胞这两种APC在前列腺癌肿瘤微环境中提呈肿瘤相关抗原的作用不大。尽管癌组织中DCs数量减少,前列腺癌组织和周围正常组织中均有DCs分布,表明前列腺癌组织中肿瘤相关抗原的提呈主要由DCs来完成,DCs的数量或功能与前列腺癌肿瘤微环境免疫状态密切相关。

### 3.2 癌组织DCs数量减少与前列腺癌肿瘤微环境T细胞免疫功能低下有关

Elsasser-Beile等<sup>[4]</sup>研究发现在前列腺癌组织中可检测到高水平表达IFN- $\gamma$  mRNA的活化CD3<sup>+</sup>细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL),而在正常对照前列腺组织中和外周血淋巴细胞中特异性活化CTL明显较少,前列腺癌和正常前列腺组织中炎性活化的肿瘤浸润淋巴细胞差异不显著,提示前列腺癌肿瘤微环境T细胞抗肿瘤免疫与癌组织CD3<sup>+</sup> T细胞有关。本研究显示前列腺癌组织CD3<sup>+</sup> T细胞明显少于正常组织,表明前列腺癌肿瘤微环境T细胞抗肿瘤免疫功能低下。

由于前列腺癌组织S100<sup>+</sup> DCs明显少于正常前列腺组织,同时癌组织DCs分布与T细胞分布显著正相关,因此DCs减少可能与前列腺癌肿瘤微环境T细胞免疫功能低下有关。Troy等<sup>[5]</sup>也证实前列腺癌组织DCs(CD45<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>, Lin<sup>-</sup>)明显少于正常组织,同时发现激活状态的DCs(CD83<sup>+</sup>或CMRF<sup>+</sup>)仅占0.6%,认为前列腺癌肿瘤微环境中DCs不仅数量减少而且有功能缺陷。癌组织DCs数量减少与肿瘤的抗原性低下和前列腺癌细

(下转第131页 to page 131)

上腺皮质激素已广泛应用于系统性红斑狼疮或类风湿关节炎合并妊娠,未见致畸报道<sup>[7]</sup>。环磷酰胺有致畸作用,孕妇不宜使用。硫唑嘌呤则比较安全,单用激素不能控制病情时可考虑使用<sup>[8]</sup>。我们的患者多数经激素或/和环磷酰胺(中止妊娠后用)治疗后好转,维持较好肾功能。

孕期发病的狼疮肾炎病变较重,发病时间与妊娠越接近,病情越重。肾脏病理损害较严重的患者,多为IV型狼疮肾炎。患者病情重、预后差还与因担心药物对胎儿有影响而不敢积极治疗有关。鉴于激素加环磷酰胺联合治疗能明显提供患者的生存率<sup>[9]</sup>,因此,对于孕期发病的狼疮肾炎,若病情较重,宜尽早终止妊娠,有条件应行肾活检,并根据病理类型给予积极治疗。

#### 参考文献:

[1] 叶任高,汪涛. 系统性红斑狼疮. 见:叶任高,沈清瑞. 肾脏病诊断与治疗学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994. 271~282.

[2] Khamashta M A, Ruiz-Irastorza G, Hughes G R, *et al.* Systemic lupus erythematosus flares during pregnancy[J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 1997, 23(1): 15.

[3] Le Huong D, Wechsler B, Vauthier-Brouzes D, *et al.* Outcome of planned pregnancies in systemic lupus erythematosus: a prospective study on 62 pregnancies[J]. *Br J Rheumatol*, 1997, 36(7): 772.

[4] McNeil H P, Chesteman C N, Krilis S A. Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies[J]. *Adv Immunol*, 1991, 49(1): 193.

[5] Urowitz M B, Gladman D D, Farewell V T, *et al.* Lupus and pregnancy studies[J]. *Arthritis Rheum*, 1993, 36(10): 1392.

[6] Hayslett J P. Maternal and fetal complications in pregnant women with systemic lupus erythematosus[J]. *Am J Kidney Dis*, 1991, 17(2): 123.

[7] Ramsey-Goldman R, Schilling E. Immunosuppressive drug use during pregnancy[J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 1997, 23(1): 149.

[8] Amenti V T, Ahlswede K M, Ahlswede B A, *et al.* National transplantation pregnancy registry-outcomes of 154 pregnancies in cyclosporin-treated female kidney transplant recipients[J]. *Transplantation*, 1994, 57(4): 502.

[9] 孙林,叶任高,杨念生,等. 35年狼疮性肾炎临床与基础研究[J]. *中山医科大学学报*, 1999, 20(3): 161.

(编辑 黄小延)

(上接第128页 from page 128)

胞诱导DCs凋亡等有关<sup>[6,7]</sup>,也有人认为前列腺癌细胞不仅可以杀灭成熟DCs,而且能抑制DCs的分化和成熟<sup>[8]</sup>。

### 3.3 癌组织DCs与前列腺癌分级和预后的关系

有研究表明DCs在多种肿瘤中都有分布,而且其浸润程度与淋巴结转移、腹腔内脏器转移、肿瘤的浸润程度及复发、预后均有密切关系,肿瘤浸润DCs可作为判断肿瘤预后的一项指标<sup>[3,9]</sup>。有关癌组织DCs与前列腺癌分级的关系由于本研究病例数较少而未做统计学分析,但发现在Gleason 4和5级癌组织DCs分布明显减少,提示癌组织DCs可能有助于肿瘤的分级和判断预后。Bigotti等<sup>[9]</sup>对38例前列腺癌进行了研究,认为S100<sup>+</sup>LCs可作为前列腺癌预后的指标之一。但Troy等<sup>[3]</sup>的15例病例研究中,癌组织总DCs和活性DCs数量都与前列腺癌的分级无明显相关性。癌组织浸润DCs与前列腺癌分级、临床分期和预后的关系需更多病例的进一步研究。

(本文图1,2见封4. Fig. 1, Fig. 2 shown in back cover)

#### 参考文献:

[1] 曹雪涛. 树突状细胞的基础和临床研究进展[J]. *中国免疫学*

杂志, 1998, 14(3): 161.

[2] Salgaller M L, Thurnher M, Bartsch G, *et al.* Report from the international union against cancer (UICC) tumor biology committee: UICC workshop on the use of dendritic cells in cancer clinical trials[J]. *Cancer*, 1999, 86(12): 2674.

[3] 龚选举,阎玉虎,吴建平. 肺癌组织中肿瘤浸润树突状细胞对预后的影响[J]. *中华肿瘤杂志*, 2000, 22(3): 135.

[4] Elsasser-Beile U, Przytulski B, Gierschner D, *et al.* Comparison of the activation status of tumor infiltrating and peripheral lymphocytes of patients with adenocarcinomas and benign hyperplasia of the prostate[J]. *Prostate*, 2000, 45(1): 1.

[5] Troy A, Davidson P, Atkinson C, *et al.* Phenotypic characterization of the dendritic cell infiltration in prostate cancer[J]. *J Urol*, 1998, 160(7): 214.

[6] Bigotti G, Coli A, Castagnola D. Distribution of Langerhans cells and HLA class II molecules in prostatic carcinomas of different histopathological grade[J]. *Prostate*, 1991, 19(1): 73.

[7] Pirtskhakishvili G, Shurin G, Gambotto A, *et al.* Transduction of dendritic cells with Bcl-xL increases their resistance to prostate cancer-induced apoptosis and antitumor effect in mice[J]. *J Immunol*, 2000, 165(4): 1956.

[8] Aakmian M, Pirtskhakishvili G, Nunez A, *et al.* Human prostate cancer regulates generation and maturation of monocyte-derived dendritic cells[J]. *Prostate*, 2001, 46(1): 68.

[9] Ishigami S, Aikou T, Natsugoe S, *et al.* Prognostic value of HLA-DR expression and dendritic cell infiltration in gastric cancer[J]. *Oncology*, 1998, 55(1): 65.

(编辑 张敏瑞)

### 前列腺癌肿瘤微环境树突状细胞与 T 细胞免疫的关系 (正文见第 127 页)

The Relationship Between Dendritic Cells and T Lymphocytes Immunity in Tumor Microenvironment of Human Prostate Cancer (Text in page 127)

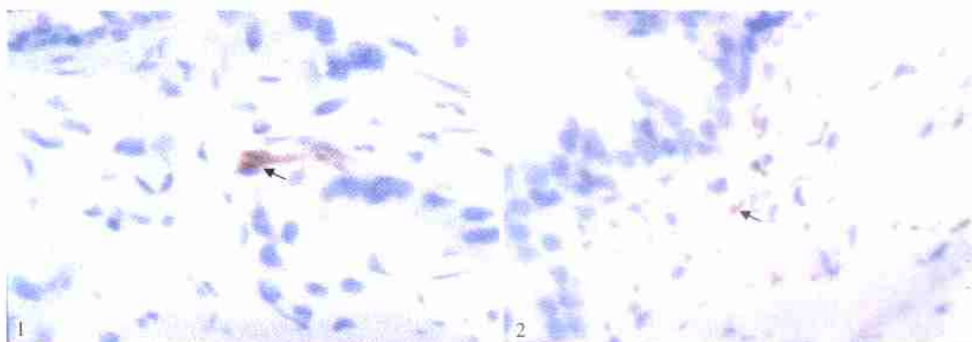


图 1 Gleason 4 级前列腺癌组织 S100<sup>+</sup>DCs

图 2 正常前列腺组织 S100<sup>+</sup>DCs

Fig. 1 S100<sup>+</sup>DCs in Gleason 4 prostate cancer S100<sup>+</sup>DCs were detected less in Gleason 4 prostate cancer (SP 10 × 40)

Fig. 2 S100<sup>+</sup>DCs in adjacent normal prostate tissue S100<sup>+</sup>DCs were detected more in adjacent normal prostate tissue (SP 10 × 40)

### 垂直型球帽状精密附着体在牙列缺损修复中的应用 (正文见第 140 页)

Application of Vertical Easy Ball Precision Attachments in Removable Partial Dentures (Text in page 140)



图 1 烤瓷联冠附垂直型球帽状精密附着体的金属球部

图 2 上前牙垂直型球帽状精密附着体钢托义齿

Fig. 1 Two combined PCs with two metal balls of VEBPAs

Fig. 2 Upper anterior removable partial denture retained by two sets of VEBPAs