

## 免疫细胞浸润与肺癌关系研究进展

刘成武 综述 刘伦旭 审校

**摘要** 肺癌发病率高、死亡率高。而对于肺癌患者来说,其自身免疫系统在与肿瘤对抗过程中起着至关重要的作用,其中免疫细胞尤其是浸润于癌组织中的几种免疫细胞:肿瘤浸润淋巴细胞(TILS)、肿瘤相关巨噬细胞(TAMS)、肿瘤浸润树突状细胞(TIDC)、肿瘤浸润NK细胞(TINK)扮演着重要角色。大量研究表明肿瘤浸润的各种免疫细胞与肺癌患者预后相关,并在抗肿瘤、肿瘤的免疫监视或免疫逃逸、促进肿瘤的发生发展和演进等各方面发挥着重要的作用。

**关键词** 肺癌 肿瘤免疫 免疫细胞

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2010.22.015

### Review of the Progress on the Relationship between Infiltration of Immune Cells and Lung Cancer

LIU Chengwu, LIU Lunxu

Corresponding author: LIU Lunxu, E-mail: lunxu\_liu@yahoo.com.cn

Department of Cardiothoracic Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

**Abstract** Lung cancer has high morbidity and mortality rates. For patients with lung cancer the immune system's struggle with the cancer inevitably plays a crucial role in which several major immune cells, especially those infiltrating the cancer tissue such as tumor infiltrating lymphocytes (TILS), tumor associated macrophages (TAMS), tumor infiltrating dendritic cells (TIDC), and tumor infiltrating NK cells (TINK), play an important role. A large number of studies have shown that the presence of tumor infiltrating immune cells is related to the prognosis of patients with lung cancer. These cells participate in anti-tumor activities, immune surveillance and possibly immune system destruction of the tumor.

**Keywords** Lung neoplasm; Tumor immunity; Immune cells

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,有多种组织类型和不同生物学特性,在被发现并诊断时通常已有淋巴或血行转移,总体论预后很差。肺癌中75%~80%为非小细胞肺癌(NSCLC),总体五年生存率只有10%~15%。为改善其不良预后,对新的早期诊断及更有效的治疗方法的探索从未停歇。大量研究表明免疫细胞在肺癌组织中的浸润与肺癌的演进和预后有重要关系。有关研究可能为肺癌的免疫治疗开启新的大门。现将其综述如下。

#### 1 淋巴细胞浸润与肺癌的关系

在实体肿瘤中,肿瘤浸润淋巴细胞(Tumor infiltrating lymphocytes, TILS)在抗肿瘤免疫监视中扮演重要角色。在成人中,主要涉及三种T细胞亚型:CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、调节性T细胞(Treg cells)。CD8<sup>+</sup>(细胞毒性T细胞)是介导抗肿瘤反应的主要亚型,通过直接识别肿瘤MHC I类分子提呈的抗原肽杀伤肿瘤细胞。CD4<sup>+</sup>T细胞也能向肿瘤组织迁移,但功能具有两面性:某些CD4<sup>+</sup>T细胞会阻碍CD8<sup>+</sup>T细胞的抗肿瘤效应从而间接促进肿瘤生长,而另一些则促进

CD8<sup>+</sup>T细胞的活化。第三种亚型是被称之为Treg细胞的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T调节细胞,它能减弱机体的抗肿瘤T细胞的免疫效应从而为肿瘤生长提供条件和抑制机体的系统免疫监视。肿瘤浸润淋巴细胞还按其分布位置不同而分为三类:1)浸润于癌巢中的淋巴细胞,2)分布于肿瘤间质的淋巴细胞,3)分布于肿瘤组织与正常组织交接处的淋巴细胞。而目前研究的重点更加倾向浸润于癌巢中的淋巴细胞。尽管在许多人类实体肿瘤中发现TILS浸润对于肿瘤的良好预后具有重要影响,包括结直肠癌、食管癌、前列腺癌、肾细胞癌、胰腺癌等,但是在NSCLC中肿瘤浸润淋巴细胞的作用却存在争议。

TILS在肺癌组织中并不少见,Ruffini等<sup>[1]</sup>最近的研究表明接近25%的肺癌癌巢中有淋巴细胞浸润,其中神经内分泌肿瘤、细支气管肺癌、腺鳞癌中的TILS少见,腺癌、鳞癌、大细胞癌中的TILS出现几率没有明显差别。研究还表明在分化较差的肿瘤和有微血管浸润的肿瘤中TILS的存在几率更高。Mori等<sup>[2]</sup>的研究也发现癌巢中CD8<sup>+</sup>T细胞的数量与肿瘤的组织

类型(大细胞癌和鳞癌均多于腺癌)和分化程度(未分化癌多于已分化癌)相关。这表明随着肿瘤分化和生物行为恶性程度的增高免疫细胞反应就越显著。同样的结果在另外的两个肺癌研究和其他人体实体肿瘤中也被证实,包括:结直肠癌、肾细胞癌和食管癌。这些研究显示不同的组织类型有不同的免疫原性,在NSCLC中分化较差的或者鳞癌中可能比其他类型的肿瘤表达更多的肿瘤相关抗原。

TILS与肺癌预后的关系:在多种实体肿瘤中发现TILS(主要为CD8+T细胞)的存在是肿瘤的良好预后指标,多数学者认为大量的TILS浸润通常预示着强烈的免疫反应。但在NSCLC中,TILS对预后的影响仍没一致结论。Mori等<sup>[2]</sup>发现CD8+TILS的数量与生存率没有统计学相关性,其它多项研究也得出了相同的结论。但Hiraoka等<sup>[3]</sup>最近对109例手术后的NSCLC患者癌组织中浸润的CD8+TILS和CD4+TILS分析后认为:不管是CD8+TILS还是CD4+TILS,都预示着良好预后。Ikeda等<sup>[4]</sup>的研究也表明在鳞癌中CD8+TILS的存在与良好的预后有重要关系。Ruffini等<sup>[1]</sup>的研究还发现TILS浸润是早期鳞癌患者长期生存的重要因素,随着随访时间的延长这种影响越明显,特别是在随访时间超过4~6年后。有趣的是在对结直肠癌的研究中也得到相似的结论:即随着随访时间的延长,TILS对于改善预后的作用即越发显著。有学者因此推测,TILS除了有抗原发肿瘤的作用还可能对肿瘤的微转移灶有免疫监视作用。

在NSCLC的TILS中还存在一种被称之为调节性T细胞的Treg细胞。Woo等<sup>[5]</sup>首次报道在NSCLC的TILS中含有较多的Treg细胞,这些细胞能分泌TGF- $\beta$ ,可能与肿瘤的进展有关。Petersen等<sup>[6]</sup>研究了Treg细胞和TILS之间的关系后指出,Treg细胞可能和I期NSCLC手术切除后的复发有关。他们发现随着Treg细胞所占总TILS的比例升高,肿瘤的复发率也随之升高,Treg细胞可能抑制其它T细胞的抗肿瘤免疫作用。

因此多数的研究者认为可能存在多种因素影响TILS的抗肿瘤效应,比如:足够多的TILS共刺激效应的缺乏,肿瘤细胞表面MHC I类抗原表达的下调,某些免疫抑制因子如TGF- $\beta$ 的分泌,肿瘤源性的FasL、PD-1、RCAS1表达,以及作为T细胞发挥功能的中心环节的IL-2通路的障碍<sup>[7]</sup>。

## 2 巨噬细胞浸润与肺癌的关系

巨噬细胞在肿瘤中的浸润在很早之前就已证实,这部分巨噬细胞又被称为肿瘤相关巨噬细胞(Tumor associated macrophages, TAMS),但其所发挥的作用却一直处于争论中。一些研究表明巨噬细胞在乳

腺癌、前列腺癌、膀胱癌中的浸润和肿瘤的不良预后有关。而另外一些研究表明巨噬细胞在前列腺癌和结肠癌中的浸润则与良好预后有关。而巨噬细胞在NSCLC中浸润与肿瘤的关系亦处于争论中。

Chen等<sup>[8]</sup>报道TAMS与NSCLC不良预后有关。Johnson和Toomey等<sup>[9,10]</sup>的研究指出TAMS的数目与肿瘤预后没有明显关系。但是上述两个研究在分析时均把癌巢和癌基质中的TAMS看为一个整体来计数。Welsh等<sup>[11]</sup>则对浸润TAMS进行了显微解剖定位后得出结论认为癌巢中的TAMS浸润与良好预后相关,而基质中的TAMS浸润则与不良预后有关。国内学者余南彬等<sup>[12]</sup>的研究报告也指出癌巢中TAMS越多以及癌巢/癌间质TAMS比值越大肺癌患者生存率越高,而癌间质TAMS越多则患者生存率越低,癌巢TAMS、癌间质TAMS、癌巢/癌间质TAMS比值均可作为患者预后的独立预测指标。Kim等<sup>[13]</sup>最近的研究也指出癌巢中TAMS的浸润密度与肿瘤的良好预后有直接关系,而基质中TAMS的浸润则有恰好相反的作用,同时癌巢与基质中TAMS密度之比越高,患者预后越好。这样的结论与Welsh、刘伦旭等的结论一致,同时也与胃癌中的研究结论一致。因此总结之前的研究结论可以看出,癌巢中TAMS的浸润与肿瘤良好预后有关,而基质中TAMS的浸润则可能与肿瘤的不良预后相关。

巨噬细胞在组织重塑,炎症反应和抗肿瘤免疫反应等过程中起到重要作用。根据Mantovani等的“巨噬细胞平衡理论”以及一些临床前研究显示,肿瘤相关巨噬细胞可能存在两种具有不同功能的极性类型:M1型即经典活化的巨噬细胞,M2型即替代活化的巨噬细胞。M1型能分泌NO、活性氧中介物等杀伤分子,以及多种炎症因子(IL-1、IL-6、IL-12和TNF等)和趋化因子CCL2、CCL3、CXC趋化因子配体9(CXCL9,又名MIG)和CXCL10(又名IP-10)等,还能表达大量的MHC II和B7分子,可以递呈抗原,参与Th1型免疫应答,杀伤感染病原体 and 肿瘤细胞。相反,M2型在凋亡细胞,免疫复合物以及抗炎因子如IL-4、IL-13、IL-10等的诱导作用下极化形成,具有促进血管生成、组织修复与重建的作用。而癌组织中TAMS表现出何种活化状态,其在癌巢、癌间质中的分布及其对癌的影响又如何? Sica等<sup>[14]</sup>的报告中指出浸润于肿瘤组织中的巨噬细胞由肿瘤和T细胞分泌的细胞因子诱导而表现为M2型巨噬细胞,参与肿瘤的演进、进展。TAMS与卵巢癌、乳腺癌和其他一些恶性肿瘤中的血管密度有关,并且和癌细胞的VEGF、表皮生长因子受体(EGFR)表达有关。将肺癌细胞与巨噬细胞共培养可以促进IL-8、VEGF的表

达从而增强癌细胞的侵袭性,此外还能加快基质的降解。TAMS表现出的这些功能多是由M2型所体现的。并且TAMS可以释放多种生长因子、蛋白溶解酶、细胞因子和炎性介质,而这些因子是血管新生所需的重要因子。而Ohri等<sup>[15]</sup>则认为在具有良好预后的NSCLC患者癌巢中浸润巨噬细胞主要为M1型,并且与不良预后者相比其数量显著增多。良好预后的NSCLC患者癌巢中浸润M2型亦有所增多,只是其增多程度不及M1型显著。这样的结果也进一步支持癌巢中巨噬细胞浸润与良好预后的相关性可能和其细胞毒作用相关的假说。

从生物学角度来讲,巨噬细胞要发挥抗肿瘤作用就必须与肿瘤上皮细胞直接作用。其机制可能为直接的细胞毒作用:抗肿瘤因子如TNF- $\alpha$ 等的释放、细胞毒T细胞的募集。但癌组织中TAMS的不同活化状态及分布,以及其发生不同活化、产生不同分布背后机制现在仍旧没有统一的意见,需要更深入的研究。

### 3 树突状细胞浸润与肺癌的关系

树突状细胞(DC)是目前已知最强大的专职抗原递呈细胞,能够激活静止T细胞,在抗肿瘤免疫应答中处于中心环节。其通过摄取、加工并向初始T细胞提呈抗原,诱导抗原特异性细胞毒淋巴细胞(CTL)的产生,参与抗肿瘤免疫应答反应的诱导和维持,是机体免疫监视功能的重要组成部分。在机体内DC的状态分为三种:成熟、半成熟、未成熟。CD1a是未成熟DC的表面标志,而CD83则是目前发现的人类成熟DC一个最为特异性的表面分子。

浸润到肿瘤局部的DC称为TIDC(tumor infiltrating dendritic cell),在肺癌组织中可以检测到TIDC,然而这群细胞并非都发挥出有效的免疫监视和抗肿瘤效应,随着研究的进一步深入,发现其抗肿瘤效应与其是否成熟密切相关,成熟TIDC可以诱导T细胞的活化和增殖,而未成熟TIDC则有可能参与肿瘤的免疫逃逸。Katsenelson等<sup>[16]</sup>发现CD1a+和CD83+DC存在于绝大多数肺癌中,而在支气管类癌组织中则无上述分子表达的树突状细胞;未成熟DC主要位于癌巢中,而成熟DC位于肿瘤周边并且与T细胞形成DC-T细胞簇集。几乎全部的报道都提示肿瘤浸润DC的数量越多患者的预后越好<sup>[17]</sup>。Inoshima等<sup>[18]</sup>的研究还表明VEGF的表达与DC浸润的数量呈负相关关系,同时DC及VEGF可作为肺癌患者预后的独立因素,低密度DC浸润同时伴有高密度VEGF的肺癌患者预后更差。同时研究者们还发现在转移灶中,低的TIDC浸润密度常同时伴有低密度的肿瘤浸润淋巴细胞,这一现象提示,在肿瘤微环境中处于抗肿瘤

免疫中心环节的两种细胞(DC和效应T细胞)的消长有着某种联系,TIDC是否可以通过某种方式募集T细胞向肿瘤组织迁移还有待于进一步研究,更多的学者认为TIDC和TILS的浸润情况可作为肿瘤预后的独立因素。大量的实验研究表明,TIDC浸润数量特别是成熟DC数量与患者病情预后存在一定相关性。但是需要特别指出的是,目前检测DC的标志物较多,而DC的异质性也影响了检测结果的可靠性。

### 4 自然杀伤细胞(NK cells)浸润与肺癌的关系

NK细胞在抗肿瘤过程中所起的作用也存在争议。从一些实验研究和人体研究发现,NK细胞似乎在控制肿瘤转移方面发挥了更大作用,而其对于肿瘤本身的抑制作用要显得微弱得多。而其它一些观点则认为肿瘤中NK细胞不需要T细胞辅助的活化过程直接识别肿瘤细胞并直接杀伤肿瘤细胞,并且NK细胞可以识别某些逃脱T细胞杀伤的肿瘤细胞。目前NK细胞在体外杀伤肿瘤细胞的能力已得到许多研究的证实,但有关其向肿瘤迁移以及体内的抗肿瘤作用研究却很少。之前有研究发现在结直肠癌和胃癌中肿瘤浸润NK细胞数量与其预后相关。在肺癌中Villegas等<sup>[19]</sup>报道肺鳞癌中浸润CD57+NK细胞与其良好预后有关,可以作为预后因素,是第一个认为肿瘤浸润NK细胞与肺癌预后有关的研究。Takanami等<sup>[20]</sup>对150例肺腺癌的组织研究后认为:NK细胞浸润可能和肿瘤演进的调节有关,并且其数量是一个可靠的预后指标尤其是在I期患者中(但却不是独立预后因素)。该研究表明绝大多数的NK细胞分布在肿瘤基质中,尤其在肿瘤与基质交界面居多。另外,Carrega等<sup>[21]</sup>的研究亦显示NSCLC中有NK细胞浸润,并且有特殊的细胞表型,也能分泌大量的细胞因子,但其直接杀伤肿瘤细胞的能力却很低下。

浸润NK细胞也表达正常的活化受体,但穿孔素水平却很低,其直接杀伤靶细胞的能力也是下降的,但其分泌细胞因子的能力与其它来源的NK细胞无异。但是NSCLC-NK细胞较低的溶细胞作用活性并不意味着其在抗肿瘤过程中完全没有意义,因为其分泌的细胞因子可能与抑制癌细胞的生长有关。NK细胞在癌组织中的分布很特别:仅存在于肿瘤内纤维隔附近和基质细胞与癌细胞交界处,而并不与癌细胞直接接触。这可能是血管外的基质蛋白起到一种屏障作用从而阻止了浸润NK细胞和癌细胞的直接接触。也可能是基质淋巴细胞创造的微环境以利于NK细胞的锚定和浸润。

因此总的来看肺癌中肿瘤浸润NK细胞可能与肿瘤预后相关,尤其在早期肺癌中这种相关性更加

明显。但其可能并非通过直接与肿瘤接触而直接杀伤肿瘤细胞,而是与其它免疫细胞协同发挥重要的免疫调节作用。

## 5 小结

通过对现有研究的总结,可以发现绝大多数学者的研究认为肿瘤浸润的免疫细胞(主要包括淋巴细胞、巨噬细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞)与NSCLC的预后有关,但各自发挥作用的具体机制还有待于进一步阐明。深入了解肿瘤浸润免疫细胞的作用及其作用机制必将对肺癌的免疫治疗产生深远的影响。可喜的是在深入研究其机制的同时,对于免疫细胞的治疗作用的研究亦从未停止,已经取得显著进展的便是基于树突状细胞的肺癌免疫治疗。有关自然杀伤细胞的治疗研究亦在进行当中。相信不久的将来肺癌免疫治疗将成为继手术治疗、化疗、放疗等治疗方法之后又一重要治疗手段。

## 参考文献

- 1 Ruffini E, Asioli S, Filosso PL, et al. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in lung neoplasms[J]. *Ann Thorac Surg*, 2009, 87(2): 365-372.
- 2 Mori M, Ohtani H, Naito Y, et al. Infiltration of CD8+ T cells in non-small cell lung cancer is associated with dedifferentiation of cancer cells, but not with prognosis[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2000, 191(2): 113-118.
- 3 Hiraoka K, Miyamoto M, Cho Y, et al. Concurrent infiltration by CD8+ T cells and CD4+ T cells is a favourable prognostic factor in non-small-cell lung carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2006, 94(2): 275-280.
- 4 Ikeda S, Funakoshi N, Inagaki M, et al. Clinicopathologic roles of tumor-infiltrating lymphocytes and CD8-positive lymphocytes in lung cancer imprint smears in squamous cell carcinoma and adenocarcinomas[J]. *Acta Cytol*, 2006, 50(4): 423-429.
- 5 Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, et al. Regulatory CD4(+)CD25(+)T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(12): 4766-4772.
- 6 Petersen RP, Campa MM, Sperlazza J, et al. Tumor infiltrating Foxp3+ regulatory T-cells are associated with recurrence in pathologic stage I NSCLC patients[J]. *Cancer*, 2006, 107(12): 2866-2872.
- 7 Yu P, Fu YX. Tumor-infiltrating T lymphocytes: friends or foes [J]? *Lab Invest*, 2006, 86(3): 231-245.
- 8 Chen JJ, Lin YC, Yao PL, et al. Tumor-associated macrophages: the double-edged sword in cancer progression[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(5): 953-964.
- 9 Johnson SK, Kerr KM, Chapman AD, et al. Immune cell infiltrates and prognosis in primary carcinoma of the lung[J]. *Lung Cancer*, 2000, 27(1): 27-35.
- 10 Toomey D, Smyth G, Condrón C, et al. Infiltrating immune cells, but not tumour cells, express FasL in non-small cell lung cancer: no association with prognosis identified in 3-year follow-up[J]. *Int J Cancer*, 2003, 103(3): 408-412.
- 11 Welsh TJ, Green RH, Richardson D, et al. Macrophage and mast-cell invasion of tumor cell islets confers a marked survival advantage in non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(35): 8959-8967.
- 12 余南彬,蒲强,刘伦旭,等. 肿瘤相关巨噬细胞分布及其对肺癌患者预后的影响[J]. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2009, 16(1): 43-47.
- 13 Kim DW, Min HS, Lee KH, et al. High tumour islet macrophage infiltration correlates with improved patient survival but not with EGFR mutations, gene copy number or protein expression in resected non-small cell lung cancer[J]. *Br J Cancer*, 2008, 98(6): 1118-1124.
- 14 Sica A, Schioppa T, Mantovani A, et al. Tumour-associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumour progression: potential targets of anti-cancer therapy[J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(6): 717-727.
- 15 Ohri CM, Shikotra A, Green RH, et al. Macrophages within NSCLC tumour islets are predominantly of a cytotoxic M1 phenotype associated with extended survival[J]. *Eur Respir J*, 2009, 33(1): 118-126.
- 16 Katsenelson NS, Shurin GV, Bykovskaia SN, et al. Human small cell lung carcinoma and carcinoid tumor regulate dendritic cell maturation and function[J]. *Mod Pathol*, 2001, 14(1): 40-45.
- 17 王琪,林苹. 肿瘤浸润性树突状细胞的研究进展[J]. *中国癌症杂志*, 2005, 15(2): 185-188.
- 18 Inoshima N, Nakanishi Y, Minami T, et al. The influence of dendritic cell infiltration and vascular endothelial growth factor expression on the prognosis of non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(11): 3480-3486.
- 19 Villegas FR, Coca S, Villarrubia VG, et al. Prognostic significance of tumor infiltrating natural killer cells subset CD57 in patients with squamous cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2002, 35(1): 23-28.
- 20 Takanami I, Takeuchi K, Giga M. The prognostic value of natural killer cell infiltration in resected pulmonary adenocarcinoma[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001, 121(6): 1058-1063.
- 21 Carrega P, Morandi B, Costa R, et al. Natural killer cells infiltrating human nonsmall-cell lung cancer are enriched in CD56 bright CD16(-) cells and display an impaired capability to kill tumor cells [J]. *Cancer*, 2008, 112(4): 863-875.

(2009-12-18收稿)

(2010-05-31修回)

(贾树明校对)