

肝癌患者肝局部细胞免疫状态与预后的关系

陈 昱, 罗殿中, 冯震博, 郭 芳

陈昱, 罗殿中, 冯震博, 郭芳, 广西医科大学病理教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

陈昱, 男, 1977-04-12 生, 湖南省湘潭市人, 瑶族, 2004 年广西医科大学博士, 助教, 住院医师, 主要从事病理教学, 科研以及临床病理诊断工作. 主要从事肝脏疾病的免疫功能状态的研究.

广西自然科学基金资助项目(桂科回), No. 0342021

项目负责人: 罗殿中, 530021, 广西壮族自治区南宁市, 广西医科大学病理教研室. Dianzhongluo@yahoo.com

电话: 0771-5356534

收稿日期: 2004-12-07 接受日期: 2004-12-28

Hepatic local cellular immune status and prognosis of hepatocellular carcinoma

Gang Chen, Dian-Zhong Luo, Zhen-Bo Feng, Fang Guo

Gang Chen, Dian-Zhong Luo, Zhen-Bo Feng, Fang Guo, Department of Pathology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by Guangxi Science and Technology Department Fund, No. 0342021

Correspondence to: Dian-Zhong Luo, Department of Pathology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. dianzhongluo@yahoo.com

Received: 2004-12-07 Accepted: 2004-12-28

Abstract

AIM: To investigate the local cellular immune status in the tissues of liver cirrhosis (LC) and hepatocellular carcinoma (HCC) and its relationship with the prognosis of the patients.

METHODS: Surgical specimens from 60 cases of HCC, 62 cases of LC, and 23 normal liver tissues were stained of CD₃, CD₅₇, CD₂₀, CD₆₈ and GrB with streptavidin-horse-radish peroxidase detection system to assess the number and the distribution of hepatic local immunocytes.

RESULTS: The numbers of T lymphocytes (60.5±18.9), B lymphocytes (40.3±29.9) and NK cells (6.8±5.1) in the liver of HCC patients were significantly higher than those in the liver of LC patients (53.0±18.7, $t = 2.21$, $P = 0.029 < 0.05$; 21.5±18.2, $t = 4.19$, $P = 0.000 < 0.01$; 4.2±2.9, $t = 3.53$, $P = 0.001 < 0.01$, respectively) and normal controls (45.4±11.7, $t = 3.57$, $P = 0.001 < 0.01$; 8.1±5.9, $t = 7.97$, $P = 0.000 < 0.01$; 4.8±2.3, $t = 2.54$, $P = 0.013 < 0.05$, respectively); while the number of macrophages (M_φ) (24.6±13.4) was significantly lower than that in the liver of LC patients (41.0±13.5, $t = 6.74$, $P = 0.000 < 0.01$) and normal controls (40.3±8.9, $t = 6.17$, $P = 0.000 < 0.01$). The numbers of T and B lymphocytes in the liver of LC patients were signifi-

cantly higher than those in normal controls (T cells: 53.0±18.7 vs 45.4±11.7, $t = 2.23$, $P = 0.029 < 0.05$; B cells: 21.5±18.2 vs 8.1±5.9, $t = 5.14$, $P = 0.000 < 0.01$). GrB positive cells in the liver mostly consisted of CD₅₇ positive cells and a few CD₃ positive cells. The numbers of NK cells, B lymphocytes and GrB positive cells in the cancerous tissues of stages I and II were significantly higher than that of stages III and IV (8.3±5.3 vs 5.3±4.5, $t = 5.38$, $P = 0.024 < 0.05$; 49.1±29.8 vs 31.0±27.5, $t = 2.44$, $P = 0.018 < 0.05$; 6.8±5.3 vs 4.1±3.2, $t = 2.32$, $P = 0.024 < 0.05$, respectively). The numbers of T lymphocytes, NK cells, M_φ and GrB positive cells in HCC with metastasis in 15 months were significantly lower than those without metastasis (53.1±16.0 vs 65.5±21.1, $t = 2.41$, $P = 0.02 < 0.05$; 2.9±3.1 vs 9.4±4.5, $t = 6.33$, $P = 0.000 < 0.01$; 20.9±11.3 vs 30.1±14.4, $t = 2.62$, $P = 0.012 < 0.05$; 2.5±1.6 vs 7.0±4.3, $t = 5.02$, $P = 0.000 < 0.01$, respectively). The numbers of T lymphocytes, NK cells, B lymphocytes and GrB positive cells decreased gradually with the progressing of disease in the HCC patients.

CONCLUSION: The numbers of T lymphocytes, NK cells, B lymphocytes, M_φ and GrB positive cells might be important markers to assess the hepatic local immune status and useful factors to predict the prognosis of HCC patients.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Cellular immunity; Prognosis

Chen G, Luo DZ, Feng ZB, Guo F. Hepatic local cellular immune status and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(4):489-494

摘要

目的: 探讨原发性肝细胞癌(HCC)、肝硬化(LC)患者的肝局部细胞免疫状态及与预后的关系。

方法: HCC 60 例, LC 62 例, 正常肝组织 23 例, 以免疫组化 SP 法进行 CD₃, CD₅₇, CD₂₀, CD₆₈, GrB 染色, 对阳性细胞数进行定量分析, 以了解病灶局部免疫细胞的数量和分布情况并与临床资料进行相关分析。

结果: HCC 患者肝脏局部组织中的 T 淋巴细胞(60.5±18.9)、B 淋巴细胞(40.3±29.9)和 NK 细胞数量(6.8±5.1)明显多于 LC(分别为 53.0±18.7, $t = 2.21$, $P = 0.029 < 0.05$; 21.5±18.2, $t = 4.19$, $P = 0.000 < 0.01$; 4.2±2.9, $t = 3.53$, $P = 0.001 < 0.01$)和正常肝组织(分别为 45.4±11.7,

$t = 3.57, P = 0.001 < 0.01; 8.1 \pm 5.9, t = 7.97, P = 0.000 < 0.01; 4.8 \pm 2.3, t = 2.54, P = 0.013 < 0.05$; 而巨噬细胞($M\phi$)数量(24.6 ± 13.4)明显少于LC($41.0 \pm 13.5, t = 6.74, P = 0.000 < 0.01$)和正常肝组织($40.3 \pm 8.9, t = 6.17, P = 0.000 < 0.01$). LC组织中T淋巴细胞和B淋巴细胞数量明显多于正常肝组织(分别为 53.0 ± 18.7 vs $45.4 \pm 11.7, t = 2.23, P = 0.029 < 0.05; 21.5 \pm 18.2$ vs $8.1 \pm 5.9, t = 5.14, P = 0.000 < 0.01$). 在肝脏GrB阳性细胞中, 大部分为CD₅₇阳性细胞, 少量为CD₃阳性细胞. HCC中临床TNM分期I, II期NK细胞, B淋巴细胞, GrB阳性细胞数量高于III, IV期(分别为 8.3 ± 5.3 vs $5.3 \pm 4.5, t = 5.38, P = 0.024 < 0.05; 49.1 \pm 29.8$ vs $31.0 \pm 27.5, t = 2.44, P = 0.018 < 0.05; 6.8 \pm 5.3$ vs $4.1 \pm 3.2, t = 2.32, P = 0.024 < 0.05$). 15 mo内有转移复发的癌组织中T淋巴细胞、NK细胞、 $M\phi$ 和GrB阳性细胞计数明显低于无转移复发组(分别为 53.1 ± 16.0 vs $65.5 \pm 21.1, t = 2.41, P = 0.02 < 0.05; 2.9 \pm 3.1$ vs $9.4 \pm 4.5, t = 6.33, P = 0.000 < 0.01; 20.9 \pm 11.3$ vs $30.1 \pm 14.4, t = 2.62, P = 0.012 < 0.05; 2.5 \pm 1.6$ vs $7.0 \pm 4.3, t = 5.02, P = 0.000 < 0.01$). 随着HCC患者的病情恶化, T淋巴细胞、NK细胞、B淋巴细胞、GrB阳性细胞逐渐减少.

结论: T淋巴细胞、NK细胞、B淋巴细胞、 $M\phi$ 和GrB阳性细胞是反映机体抗肿瘤特异性细胞免疫状态及判断患者预后的重要指标.

关键词: 肝癌; 细胞免疫; 预后

陈罡, 罗殿中, 冯震博, 郭芳. 肝癌患者肝局部细胞免疫状态与预后的关系. 世界华人消化杂志 2005;13(4):489-494
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/489.asp>

0 引言

原发性肝细胞癌(HCC)是我国高发的恶性肿瘤之一, 其发生发展的机制至今尚未十分明了, 据认为与宿主的免疫状态有关. 病灶局部的免疫状态因为取材难, 研究极少^[1], 而将免疫状况与患者预后进行对比的研究未见报道. 用免疫组织化学染色法观察了HCC, 肝硬化(LC)组织中CD₃, CD₅₇, CD₂₀, CD₆₈, GrB的表达, 以此评价局部组织的免疫状态, 并分析他们与HCC分化和预后的关系如下.

1 材料和方法

1.1 材料 病理学检查证实HCC标本60例, 男57例, 女3例, 年龄23-73(平均 46.9 ± 11.8)岁. AFP阳性38例, 阴性22例. 术后均继续给予以化疗为主的综合治疗. HCC按照WHO标准分为高分化(G1级)3例, 中分化(G2级)38例, 低分化(G3级)19例. HCC按国际TNM分期分为: I期3例, II期28例, III期11例, IV期18例. 追踪15 mo, 由病理学和临床决定有转移复发25例,

无转移复发29例, 失访6例. 取材时癌旁组织为距癌结节2 cm以上的肝组织, 其中伴LC46例, 无LC14例. 单纯性LC组62例, 其中男47例, 女15例, 年龄15-74(平均 43.0 ± 12.0)岁. 正常肝组织23例, 取自肝血管瘤标本中的周围正常肝组织, 男10例, 女13例, 年龄26-67(平均 44.5 ± 11.8)岁. 免疫组化SP试剂盒, 一抗鼠抗人CD₃, CD₅₇, CD₂₀, CD₆₈mAb(即用型)均为美国Maxim公司产品, 一抗鼠抗人GrB mAb为北京中杉金桥生物技术公司产品.

1.2 方法 每例标本分别进行(1)常规切片HE染色复查诊断; (2)用于免疫组化染色的标本按SP法处理, 光镜观察. 并以已知淋巴结阳性切片为CD₃, CD₅₇, CD₂₀, GrB阳性对照, 以正常肝组织切片为CD₆₈阳性对照; 以PBS代替一抗为阴性对照. CD₃, CD₅₇, CD₂₀以细胞膜及细胞质内出现棕黄色信号为阳性细胞, CD₆₈以细胞质内出现棕黄色信号为阳性细胞. GrB以细胞质内出现棕黄色颗粒状信号为阳性细胞. 随机观察至少10个高倍镜(10×40)视野, 算出一个高倍镜视野中细胞平均数.

统计学处理 应用SPSS 11.0统计软件对数据进行t检验及秩和检验, 以 $P < 0.05$ 判为差异有显著性意义.

2 结果

CD₃⁺细胞呈圆或椭圆形. 正常肝组织中, CD₃⁺细胞散在分布于肝小叶的肝窦中, 汇管区稍密集; 单纯性LC中CD₃⁺细胞主要密集分布在增生的纤维组织及汇管区中, 肝细胞间的肝窦中也有少量分布; 癌与癌旁组织中CD₃⁺细胞亦是密集在间质纤维组织中, 部分散布在癌旁的肝窦及癌组织的血窦中. CD₅₇⁺细胞圆或椭圆, 散在分布于肝小叶、肝窦、肝癌血窦和周围间质中, 没有明显的密集趋势. CD₂₀⁺细胞呈圆或椭圆形, 每张切片中均有不同程度的分布, 正常肝组织中, 散在分布于汇管区中; 在单纯性LC中主要密集分布在增生的纤维组织及汇管区中, 呈灶状; 癌与癌旁组织中的CD₂₀⁺细胞亦是呈灶状密集在间质纤维组织中, 部分位于汇管区. 肝细胞间肝窦中偶有单个细胞的分布. CD₆₈⁺细胞包括肝脏中的Kupffer细胞(KC)和浸润的巨噬细胞($M\phi$). 其中位于非癌组织肝窦和癌组织血窦处, 呈星形或者纺锤形的为KC; 而类圆形或者卵圆形, 胞质较丰富的为浸润的 $M\phi$, 位于血管中. GrB⁺细胞无密集趋势, 均为散在分布于正常肝窦, 癌组织血窦, 周围增生的纤维组织及汇管区中. 棕黄色阳性颗粒可环绕细胞成圆形或者半圆形. CD₃⁺细胞平均数在癌旁组织最高, 癌组织次之, LC组织第3, 正常肝组织最低, 各组相比差异均有显著性($P < 0.05$); CD₅₇⁺细胞在各种组织中的计数由高到低为: 癌组织, 癌旁组织, 正常肝组织, LC组织, 其中癌组织中

CD₅₇⁺细胞数量高于LC和正常肝($P<0.05$),癌旁CD₅₇⁺细胞数量高于LC($P<0.01$).CD₂₀⁺细胞在各组中的数量从高到低分别为:癌组织、癌旁组织、LC组织、正常肝组织.除了癌旁组织的CD₂₀⁺细胞数量与LC相比无显著性差异以外,其余各组相比均有显著性差异($P<0.01$).CD₆₈⁺细胞从高到低为:癌旁组织,LC组织,正常肝组织,癌组织,其中癌旁组织、LC组织,正常肝组织高于癌组织($P<0.01$),但癌旁组织,LC组织,正常肝组织之间没有显著性差异.GrB⁺细胞由高到低为:癌旁组织、癌组织、正常肝组织、LC组织,除了正常肝组织与LC组织对比无显著性差异外,其余各组相比均为有显著性差异($P<0.05$,表1).

2.1 各种细胞与组织学分级,临床TNM分期的关系 组织学分级与癌组织中的CD₃⁺细胞、CD₅₇⁺细胞、CD₂₀⁺细胞、GrB⁺细胞分布无明显关系;癌组织中CD₆₈⁺细胞数量I级高于II级和III级($P<0.05$,表1).肝癌组织CD₃⁺细胞平均数在肿瘤临床分期的III,IV期高于I,II期,癌旁组织III,IV期高于I,II期,但差异均无显著意义.癌组织中CD₅₇⁺细胞在临床TNM分期I,II期数量高于III,IV期($P<0.05$);癌旁组织中I,II期数量与III,IV期相比无显著性差异.CD₂₀⁺细胞分

布与临床TNM分期的关系:HCC中I,II期高于III,IV期($P<0.05$);在癌旁组织中I,II期数量高于III,IV期($P<0.05$).癌组织中和癌旁组织中临床分期与CD₆₈⁺细胞分布无明显关系.GrB⁺细胞在癌组织中临床TNM分期I,II期数量高于III,IV期($P<0.05$);癌旁组织中I,II期数量与III,IV期相比无显著性差异(表2).

2.2 各种细胞与转移复发的关系 15 mo内有转移复发的癌组织中随机CD₃⁺计数少于无转移复发组($P<0.05$),癌旁组织转移组CD₃⁺计数小于无转移组,但差异无显著性.癌组织及癌旁组织中15 mo内转移复发组CD₅₇⁺细胞均明显低于无转移复发组($P<0.01$).HCC中15 mo内转移复发组CD₂₀⁺细胞的数量小于无转移复发组;癌旁组织中15 mo内转移复发组小于无转移复发组,但无显著性差异.癌组织中15 mo内转移复发组CD₆₈⁺细胞少于无转移复发组($P<0.05$).癌旁组织中15 mo内转移复发组CD₆₈⁺细胞高于无转移复发组,但无显著性差异.HCC中15 mo内转移复发组GrB⁺细胞明显低于无转移复发组($P<0.01$);癌旁组织中15 mo内转移复发组GrB⁺细胞亦低于无转移复发组,但无显著性差异(表2).而且部分阳性细胞间也有相关性(表3).

表1 不同肝组织中各种阳性细胞的数量(mean±SD, n/HP)

组织	n	CD ₃ ⁺ 细胞	CD ₅₇ ⁺ 细胞	CD ₂₀ ⁺ 细胞	CD ₆₈ ⁺ 细胞	GrB ⁺ 细胞
HCC	60	60.5 ± 18.9	6.8 ± 5.1	40.3 ± 29.9	24.6 ± 13.4	5.5 ± 4.6
I级	3	65.9 ± 19.7	3.7 ± 1.2	36.9 ± 5.7	43.5 ± 5.1	3.8 ± 4.1
II级	38	59.9 ± 17.6	7.4 ± 2.4	41.8 ± 31.1	25.4 ± 11.8	5.9 ± 4.8
III级	19	61.0 ± 19.1	6.2 ± 2.9	39.0 ± 29.9	20.1 ± 14.6	4.8 ± 4.3
癌旁组织	60	80.2 ± 23.5	6.2 ± 4.1	28.0 ± 27.2	43.5 ± 12.9	6.7 ± 3.9
LC组织	62	53.0 ± 18.7	4.2 ± 2.9	21.5 ± 18.2	41.0 ± 13.5	3.5 ± 2.3
正常肝组织	23	45.4 ± 11.7	4.8 ± 2.3	8.1 ± 5.9	40.3 ± 8.9	3.6 ± 2.4

表2 各种阳性细胞数量与HCC临床TNM分期,转移复发的关系(mean±SD, n/HP)

临床资料	n	癌中CD ₃ ⁺	癌旁CD ₃ ⁺	癌中CD ₅₇ ⁺	癌旁CD ₅₇ ⁺	癌中CD ₂₀ ⁺	癌旁CD ₂₀ ⁺	癌中CD ₂₀ ⁺	癌旁CD ₂₀ ⁺	癌中GrB ⁺	癌旁GrB ⁺
分期I, II	31	58.6 ± 15.4	76.2 ± 24.2	8.3 ± 5.3	6.2 ± 4.1	49.1 ± 29.8	35.3 ± 30.6	24.7 ± 14.0	40.5 ± 6.9	6.8 ± 5.3	6.0 ± 3.7
分期III, IV	29	62.5 ± 22.2	84.5 ± 22.3	5.3 ± 4.5	6.3 ± 4.2	31.0 ± 27.5	20.2 ± 20.8	24.5 ± 12.8	46.8 ± 16.6	4.1 ± 3.2	7.4 ± 4.1
有转移复发	25	53.1 ± 16.0	75.7 ± 25.6	2.9 ± 3.1	4.2 ± 2.8	31.4 ± 26.2	22.9 ± 23.4	20.9 ± 11.3	46.6 ± 18.1	2.5 ± 1.6	5.4 ± 4.0
无转移复发	29	65.5 ± 21.1	81.4 ± 23.2	9.4 ± 4.5	7.5 ± 4.5	46.2 ± 32.4	29.9 ± 30.6	30.1 ± 14.4	41.1 ± 5.3	7.0 ± 4.3	7.4 ± 3.6

表3 几种阳性细胞的相关性分析

组织	CD ₃ ⁺ 与GrB ⁺ 细胞		CD ₅₇ ⁺ 与GrB ⁺ 细胞		CD ₅₇ ⁺ 与CD ₆₈ ⁺ 细胞	
	r	P	r	P	r	P
HCC	0.318	<0.05	0.673	<0.01	0.344	<0.01
癌旁	0.312	<0.05	0.508	<0.01	-0.091	0.489
LC	0.14	0.279	0.492	<0.01	-0.015	0.907
正常肝	-0.093	0.673	0.742	<0.01	0.013	0.952

3 讨论

B细胞是产生抗体的主要细胞^[2-4]. KC具有吞噬、代谢、产生细胞因子及抗肿瘤免疫等多种功能,在宿主防御机制及维持机体内环境平衡方面有重要作用^[5-9]. 肝自然杀伤(nature killer, NK)细胞通过以下三个步骤攻击肿瘤或被病毒感染的细胞:(1)识别和黏附靶细胞;(2)激活细胞和实施“致命打击”(lethal hit, 针对靶细胞),包括依赖穿孔素/颗粒酶来传递杀伤因子或通过Fas配体(FasL)诱导表面有Fas表达的靶细胞进入凋亡;(3)溶解靶细胞及靶细胞死亡^[10-12]. 此外,肝脏NK细胞还能分泌大量的细胞因子,发挥抗肿瘤作用^[13-14]. 肿瘤局部免疫以特异性的细胞免疫为主导,其效应细胞为活化的CTL和NK细胞,可通过穿孔素/颗粒酶介导的细胞毒途径和FAS/FASL介导的细胞凋亡途径发挥作用^[12, 15-19]. GrB是介导凋亡的主要效应分子,是颗粒酶家族中最有效的致凋亡成员^[20-22],能迅速引起靶DNA断裂.他们伴随着细胞毒细胞的活化而产生,因而,颗粒酶的表达已经成为细胞毒细胞活化的标志^[11, 23],因此GrB⁺细胞密度可直接地反映肿瘤局部免疫状态,较外周血免疫指标能更准确地反映宿主的局部抗肿瘤免疫反应水平.杀伤细胞识别靶细胞后,排放其特有的杀伤颗粒,诱导靶细胞凋亡^[24-25].本研究也表明在HCC组织和癌旁组织中,GrB⁺细胞和CD3⁺细胞成正相关.在HCC组织、癌旁组织、LC组织和正常肝组织中,GrB⁺细胞与CD57⁺细胞都成正相关.正常肝脏内NK细胞约为肝内淋巴细胞总数的35%^[26-27],与本实验的血管瘤旁正常肝组织的淋巴细胞构成比例不甚符合.我们选取的标本为血管瘤旁的肝组织,可能良性肿瘤的免疫状态与完全正常时的状态仍然有偏差.但作为局部组织特异性细胞免疫状态的观察指标,肝细胞癌中CD3⁺, CD57⁺细胞数量明显多于LC组及正常肝组织,GrB的表达数量在癌旁组织中高于HCC,LC和正常肝组织;HCC中的GrB⁺细胞数量也高于LC和正常肝组织.说明在肿瘤组织中,活化的CTL和NK细胞数量明显的增多,局部细胞免疫状态良好,这可能与肿瘤抗原的刺激有关^[28].癌旁组织中GrB⁺细胞数量高于癌组织可能是因为癌组织中伴有一些坏死,从而影响了GrB的表达.在HCC组织中,B细胞受抗原或有丝分裂原刺激后,可引起分裂增生,故肝癌组织的B细胞数量明显高于LC组及正常肝组织组.同时肿瘤中心组织肿瘤细胞抗原性较强,因此肿瘤周围组织B细胞明显低于肿瘤实质组织.癌组织的M ϕ 数量少于正常肝组织、LC组织和癌旁组织,说明M ϕ 在免疫功能方面也发挥了重要的作用.LC组织中仅T细胞和B细胞数量明显高于正常肝组织,NK细胞,GrB⁺细胞和M ϕ 都无明显差别,提示在局部细胞免疫功能

状态方面二者情况差别不大,其中与缺少肿瘤抗原的刺激关系密切.

在各种组织中,NK细胞数量都明显低于M ϕ ,但他们之间有一定的关系.有研究表明,NK前体细胞在肝脏的归巢、分化和活化依赖于肝窦内功能正常KC的存在^[29-30].KC分泌的IL-1等细胞因子可作为淋巴细胞趋化因子样作用使肝脏NK细胞向肿瘤局部集中;KC与肝窦内皮细胞相互作用及表达于内皮细胞表面的黏附分子可促进NK前体细胞与内皮细胞间的黏附作用;KC分泌的TNF- α 及IFN- β 能促进NK前体细胞的分化和活化.同时活化的NK细胞还能分泌大量的细胞因子,发挥抗肿瘤作用,调节巨噬细胞的功能.正如本结果所显示的HCC组织中M ϕ 和NK细胞的数量呈线性正相关.证明M ϕ 和NK细胞在抗肿瘤中存在协同作用^[30].

组织学分级与HCC和癌旁组织中的T淋巴细胞、NK细胞、B淋巴细胞和GrB⁺细胞分布无明显关系,提示淋巴细胞与肿瘤的分化程度没有明显关系.随着组织分化程度的降低,HCC中KC细胞数量减少.但在高分化的HCC组织中,癌组织中的KC数和形态与非癌组织基本相同.我们认为,可能是因为高分化的HCC组织的正常肝小叶结构仍然大致正常,仍然具有与正常肝窦相类似的血窦结构,能够维持类似于正常肝窦的内环境,故KC的数量和形态与正常肝组织,LC组织和癌旁组织很相似.同时LC组织和癌旁肝组织结构与正常肝组织相差不大,故他们的KC数量和形态的差别不大.而随着HCC分化程度的降低,在形态上明显的不同于正常肝组织,破坏了正常肝窦的内环境,影响KC的生存,或许是KC数量减少的原因.而随着HCC分化程度的降低,纺锤形或者星形的KC减少,呈类圆形或者卵圆形的胞质丰富的阳性细胞增多,这些巨噬细胞可能是KC吞噬了肿瘤细胞,或者是细胞碎片,导致了形态上的变异.同时这些阳性细胞也可能不是KC,而是游走的M ϕ ,但是二者尚不能严格的区分,目前,M ϕ 向HCC中游走的机制尚不清楚.HCC中NK细胞和GrB⁺细胞临床TNM分期I,II期数量高于III,IV期.提示NK细胞和GrB⁺细胞与预后有较强的相关性,可以作为判断HCC患者预后的指标,同时,在HCC的细胞恶性转化过程中,GrB可能有一定的影响,并且在肿瘤的进展过程中发挥作用.我们推测随着HCC的临床进展,一些对肿瘤免疫敏感的亚克隆已被杀灭,剩余的亚克隆可能对CTL和NK细胞介导的细胞毒攻击有一定的抵抗作用,甚至可耐受凋亡信号的攻击而具有较强的生存能力,而逃逸免疫监视.这有利于HCC的发生和发展,与通过FAS/FASL介导的免疫逃逸反击的机制相似,可能是肿瘤主动逃逸免疫应答的另一分子机制^[31].HCC组织和癌

旁组织中, I, II期B细胞数量均明显高于III, IV期($P<0.05$), 说明随着肿瘤的演进, 机体的体液免疫状态会变差. 早期HCC的肿瘤免疫可能以体液免疫为主, 而晚期则以细胞免疫为主. HCC中15 mo内有转移组的T淋巴细胞、NK细胞、GrB⁺细胞数少均于无转移组($P<0.01$). 说明转移复发组的细胞免疫状态要差于无转移复发组. NK细胞、T淋巴细胞有杀伤肿瘤细胞和抑制肝癌细胞转移的功能, 免疫细胞的减少, 有可能是提示肿瘤转移的一个危险因素. HCC和癌旁组织中15 mo内转移复发组B细胞均小于无转移复发组, 但均无显著性差异, 提示B细胞对HCC转移复发的影响不大, 转移复发的HCC的免疫状态可能主要由细胞免疫决定. 癌组织中15 mo内转移复发组M₀少于无转移复发组, 有显著性差异, 说明M₀在转移复发中也有一定的作用^[32].

总之, 临床上随着HCC患者的病情恶化, T淋巴细胞、NK细胞、B淋巴细胞、GrB⁺细胞逐渐减少. T淋巴细胞、NK细胞、B淋巴细胞、巨噬细胞和GrB⁺细胞可成为反映机体抗肿瘤特异性细胞免疫状态及判断患者预后的重要指标.

4 参考文献

- Zhang J, Dong B, Liang P, Yu X, Su L, Yu D, Ji X, Yu G. Significance of changes in local immunity in patients with hepatocellular carcinoma after percutaneous microwave coagulation therapy. *Chin Med J (Engl)* 2002;115:1367-1371
- Uchida J, Lee Y, Hasegawa M, Liang Y, Bradney A, Oliver JA, Bowen K, Steeber DA, Haas KM, Poe JC, Tedder TF. Mouse CD20 expression and function. *Int Immunol* 2004;16:119-129
- Hong K, Presta LG, Lu Y, Penn A, Adams C, Chuntharapai A, Yang J, Wong WL, Meng YG. Simple quantitative live cell and anti-idiotypic antibody based ELISA for humanized antibody directed to cell surface protein CD20. *J Immunol Methods* 2004;294:189-197
- Uchida J, Hamaguchi Y, Oliver JA, Ravetch JV, Poe JC, Haas KM, Tedder TF. The innate mononuclear phagocyte network depletes B lymphocytes through Fc receptor-dependent mechanisms during anti-CD20 antibody immunotherapy. *J Exp Med* 2004;199:1659-1669
- Wyllie S, Seu P, Gao FQ, Gros P, Goss JA. Disruption of the Nramp1(also known as Slc11a1)gene in Kupffer cells attenuates early-phase, warm ischemia-reperfusion injury in the mouse liver. *J Leukoc Biol* 2002;72:885-897
- Ding H, Peng R, Reed E, Li QQ. Effects of Kupffer cell inhibition on liver function and hepatocellular activity in mice. *Int J Mol Med* 2003;12:549-557
- Xidakis C, Kolios G, Valatas V, Notas G, Mouzas I, Kouroumalis E. Effect of octreotide on apoptosis-related proteins in rat Kupffer cells: a possible anti-tumour mechanism. *Anticancer Res* 2004;24:833-841
- Naito M, Hasegawa G, Ebe Y, Yamamoto T. Differentiation and function of Kupffer cells. *Med Electron Microsc* 2004;37:16-28
- Gomes LF, Lorente S, Simon-Giavarotti KA, Areco KN, Araujo-Peres C, Videla LA. Tri-iodothyronine differentially induces Kupffer cell ED1/ED2 subpopulations. *Mol Aspects Med* 2004;25:183-190
- Luo D, Vermijlen D, Vanderkerken K, Kuppen PJ, Seynaeve C, Eddouks M, Baekeland M, Wisse E. Involvement of LFA-1 in hepatic NK cell(pit cell)-mediated cytolysis and apoptosis of colon carcinoma cells. *J Hepatol* 1999;31:110-116
- Luo DZ, Vermijlen D, Ahishali B, Triantis V, Vanderkerken K, Kuppen PJ, Wisse E. Participation of CD45, NKR-P1A and ANK61 antigen in rat hepatic NK cell(pit cell)mediated target cell cytotoxicity. *World J Gastroenterol* 2000;6:546-552
- Luo D, Vermijlen D, Kuppen PJ, Wisse E. MHC class I expression protects rat colon carcinoma cells from hepatic natural killer cell-mediated apoptosis and cytolysis, by blocking the perforin/granzyme pathway. *Comp Hepatol* 2002;1:2
- Vermijlen D, Luo D, Kruhoffer M, Orntoft TF, Kuppen PJ, Wisse E. Is the presence of interleukin-2 receptor alpha in the serum of colorectal liver metastases patients derived from hepatic natural killer cells? *Cancer Immunol Immunother* 2002;51:291-292
- Vermijlen D, Seynaeve C, Luo D, Kruhoffer M, Eizirik DL, Orntoft TF, Wisse E. High-density oligonucleotide array analysis reveals extensive differences between freshly isolated blood and hepatic natural killer cells. *Eur J Immunol* 2004;34:2529-2540
- Vermijlen D, Luo D, Robaye B, Seynaeve C, Baekeland M, Wisse E. Pit cells(Hepatic natural killer cells)of the rat induce apoptosis in colon carcinoma cells by the perforin/granzyme pathway. *Hepatology* 1999;29:51-56
- Pinkoski MJ, Heibei JA, Barry M, Bleackley RC. Nuclear translocation of granzyme B in target cell apoptosis. *Cell Death Differ* 2000;7:17-24
- Lee JY, Chae DW, Kim SM, Nam ES, Jang MK, Lee JH, Kim HY, Yoo JY. Expression of FasL and perforin/granzyme B mRNA in chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2004;11:130-135
- Vermijlen D, Luo D, Froelich CJ, Medema JP, Kummer JA, Willems E, Braet F, Wisse E. Pit cells exclusively kill P815 tumor cells by the perforin/granzyme pathway. *Comp Hepatol* 2004;14(3 Suppl 1):58
- Vermijlen D, Luo D, Froelich CJ, Medema JP, Kummer JA, Willems E, Braet F, Wisse E. Hepatic natural killer cells exclusively kill splenic/blood natural killer-resistant tumor cells by the perforin/granzyme pathway. *J Leukoc Biol* 2002;72:668-676
- Wowk ME, Trapani JA. Cytotoxic activity of the lymphocyte toxin granzyme B. *Microbes Infect* 2004;6:752-758
- Luo D, Vanderkerken K, Chen MC, Vermijlen D, Asosingh K, Willems E, Triantis V, Eizirik DL, Kuppen PJ, Wisse E. Rat hepatic natural killer cells(pit cells)express mRNA and protein similar to in vitro interleukin-2 activated spleen natural killer cells. *Cell Immunol* 2001;210:41-48
- Andrade F, Bull HG, Thornberry NA, Ketner GW, Casciola-Rosen LA, Rosen A. Adenovirus L4-100K assembly protein is a granzyme B substrate that potentially inhibits granzyme B-mediated cell death. *Immunity* 2001;14:751-761
- Barry M, Heibei JA, Pinkoski MJ, Lee SF, Moyer RW, Green DR, Bleackley RC. Granzyme B short-circuits the need for caspase 8 activity during granule-mediated cytotoxic T-lymphocyte killing by directly cleaving Bid. *Mol Cell Biol* 2000;20:3781-3794
- Vermijlen D, Froelich CJ, Luo D, Suarez-Huerta N, Robaye B, Wisse E. Perforin and granzyme B induce apoptosis in FasL-resistant colon carcinoma cells. *Cancer Immunol Immunother* 2001;50:212-217
- Trapani JA. Granzymes: a family of lymphocyte granule serine proteases. *Genome Biol* 2001;2:3014
- Lees RK, Ferrero I, MacDonald HR. Tissue-specific segregation of TCRgamma delta+ NKT cells according to phenotype TCR repertoire and activation status:parallels with TCR alphabeta+NKT cells. *Eur J Immunol* 2001;31:2901-2909
- Nakatani K, Kaneda K, Seki S, Nakajima Y. Pit cells as liver-associated natural killer cells:morphology and function. *Med Electron Microsc* 2004;37:29-36
- Yakirevich E, Lefel O, Sova Y, Stein A, Cohen O, Izhak OB, Resnick MB. Activated status of tumour-infiltrating lymphocytes and apoptosis in testicular seminoma. *J Pathol* 2002;

- 196:67-75
- 29 Seki S, Habu Y, Kawamura T, Takeda K, Dobashi H, Ohkawa T, Hiraide H. The liver as a crucial organ in the first line of host defense: the roles of Kupffer cells, natural killer(NK) cells and NK1. 1 Ag+ T cells in T helper 1 immune responses. *Immunol Rev* 2000;174:35-46
- 30 Luo DZ, Vermijlen D, Ahishali B, Triantis V, Plakoutsi G, Braet F, Vanderkerken K, Wisse E. On the cell biology of pit cells, the liver-specific NK cells. *World J Gastroenterol* 2000;6:1-11
- 31 Sun J, Bird CH, Thia KY, Matthews AY, Trapani JA, Bird PI. Granzyme B encoded by the commonly occurring human RAH allele retains pro-apoptotic activity. *J Biol Chem* 2004;279:16907-16911
- 32 Higashi N, Ishii H, Fujiwara T, Morimoto-Tomita M, Irimura T. Redistribution of fibroblasts and macrophages as micrometastases develop into established liver metastases. *Clin Exp Metastasis* 2002;19:631-638

编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

第六届全国胃肠动力学学术研讨会征文通知

本刊讯 为提高国内胃肠动力障碍性疾病临床和基础研究水平, 吸取国外最新研究成果, 加强对外交流与合作, 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组定于2005-11月上旬在武汉召开全国第六届胃肠动力学学术会议, 届时将邀请国内外胃肠动力学专家就本学科的基础和临床研究进展作专题演讲, 并进行广泛的学术交流。现将征文有关事项通知如下:

1 征文内容

(1)胃肠动力障碍性疾病的基础和临床研究;(2)胃肠功能性疾病的基础和临床研究;(3)胃肠神经系统功能与胃肠动力学基础研究;(4)胃肠动力学检测方法的临床应用。

2 征文要求

(1)论文摘要不得超过800字, 电脑打印(附软盘), 格式为: 题目, 作者, 单位, 邮编, 目的, 方法, 结果和结论, 联系电话及E-mail地址;(2)已在全国公开发表的论文不予受理。

3 投稿地址

武汉市解放大道1277号协和医院消化科 刘劲松 收(邮编: 430022), 电话: 027-85726381; 2 武汉市丁字桥路100号湖北省医学会 林勇 胡丽萍收(邮编: 430064), 电话: 027-87893467

4 截稿日期

2005-07-30

5 会议具体地点

另行通知。会议信息, 论文投稿, 表格下载请登陆网站:<http://hubeiyiyuan.go.nease.net>。

中华医学会消化病学分会

消化病学分会胃肠动力学组