

## 临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002286

## 基于流式细胞技术分析固有淋巴细胞亚群失衡与非小细胞肺癌的关系

韦锦涛, 徐元宏

(安徽医科大学第一附属医院检验科, 合肥 230000)

**【摘要】目的:**探讨固有淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)亚群与非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)发生发展及预后的关系。**方法:**选取 2012 年 1 月至 2014 年 1 月安徽医科大学第一附属医院收治的 70 例均经病理学诊断为 NSCLC 的患者为 NSCLC 组, 选择同期来本院的性别比、年龄相匹配的 70 例健康体检者为对照。采用流式细胞技术检测 2 组 ILCs 亚群比例, 采用酶联免疫吸附法检测 ILCs 亚群相关细胞因子水平, 收集患者临床资料与随访资料, 分析 ILC 第一亚群(innate lymphoid cell type 1, ILC1)、ILC 第二亚群(innate lymphoid cell type 2, ILC2)、ILC 第三亚群(innate lymphoid cell type 3, ILC3)与 NSCLC 临床特征、预后的关系。**结果:**与对照组相比, NSCLC 组 ILC1 及干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )水平分别为  $(8.61 \pm 3.78)\%$  和  $(27.24 \pm 12.85) \text{ ng/L}$ , 明显降低 ( $P < 0.05$ ), ILC2、ILC3、白细胞介素-5(interleukin-5, IL-5)和白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)水平分别为  $(1.29 \pm 0.64)\%$ 、 $(3.64 \pm 1.93)\%$ 、 $(22.70 \pm 9.94) \text{ ng/L}$  和  $(8.10 \pm 2.09) \text{ ng/L}$ , 明显升高 ( $P < 0.05$ )。ILC1 与 IFN- $\gamma$  呈明显正相关 ( $r=0.780, P < 0.05$ ), ILC2 与 IL-5 呈明显正相关 ( $r=0.704, P < 0.05$ ), ILC3 与 IL-17 呈明显正相关 ( $r=0.654, P < 0.05$ ); ILC1、ILC2 及 ILC3 水平均与淋巴结转移及 TNM 分期有关 ( $P < 0.05$ )。无淋巴结转移、TNM 分期较低, ILC1 水平  $\geq 8.98\%$ , ILC2 水平  $< 1.37\%$  的患者总生存期(overall survival, OS)明显较长 ( $P < 0.05$ )。ILC1  $\geq 8.98\%$  的患者中位生存时间为 49 个月, ILC1  $< 8.98\%$  的患者中位生存时间为 38 个月, 2 组生存曲线有明显差异 ( $P < 0.05$ )。ILC2  $\geq 1.37\%$  的患者中位生存时间为 34 个月, ILC2  $< 1.37\%$  的患者中位生存时间为 46 个月, 2 组生存曲线有明显差异 ( $P < 0.05$ )。多因素分析结果显示, 淋巴结转移, TNM III、IV 分期, ILC2  $\geq 1.37\%$  是 OS 的独立危险因素 ( $P < 0.05$ ), ILC1  $\geq 8.98\%$  是 OS 的独立保护因素 ( $P < 0.05$ )。**结论:** NSCLC 患者表现为 ILCs 亚群失衡, ILC2、ILC3 亚群具有明显优势, 检测 ILC1、ILC2 亚群水平可在一定程度上评估患者疾病发展与预后情况。

**【关键词】**流式细胞技术; 固有淋巴细胞亚群; 非小细胞肺癌; 总生存期

**【中图分类号】**R392.9

**【文献标志码】**A

**【收稿日期】**2019-04-08

## Analysis of relationship between innate lymphocyte subsets imbalance and NSCLC based on flow cytometry technology

Wei Jintao, Xu Yuanhong

(Department of Clinical laboratory, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University)

**【Abstract】Objective:** To explore the relationship between the innate lymphoid cells (ILCs) and the occurrence, development and prognosis of non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** 70 patients diagnosed as NSCLC from January 2012 to January 2014 in the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University were enrolled as NSCLC group. 70 healthy examiners with matching gender ratio and age in the hospital for physical examination at the same time period were selected as control group. Flow cytometry was used to detect the proportion of ILCs subsets in the two groups. The levels of ILCs-related cytokines were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The clinical data and follow-up data were collected, and the relationship between ILC1, ILC2 and ILC3 and clinical features and prognosis of NSCLC was analyzed. **Results:** Compared with control group, the levels of ILC1 and IFN- $\gamma$  with  $(8.61 \pm 3.78)\%$  and  $(27.24 \pm 12.85) \text{ ng/L}$  in NSCLC group decreased ( $P < 0.05$ ), while the levels of ILC2, ILC3, IL-5 and IL-17 with  $(1.29 \pm 0.64)\%$ ,  $(3.64 \pm 1.93)\%$ ,  $(22.70 \pm 9.94) \text{ ng/L}$  and  $(8.10 \pm 2.09) \text{ ng/L}$  increased ( $P < 0.05$ ). ILC1 was positively correlated with IFN- $\gamma$  ( $r=0.780, P < 0.05$ ), ILC2 was positively correlated with IL-5 ( $r=0.704, P < 0.05$ ), and ILC3 was positively correlated with IL-17 ( $r=0.654, P < 0.05$ ). The levels of ILC1, ILC2 and ILC3 were associated with lymph node metastasis and TNM staging ( $P < 0.05$ ). The overall survival (OS) was significantly longer among patients with no lymph node metastasis, low TNM stage, ILC1 level  $\geq 8.98\%$  and ILC2 level  $< 1.37\%$  ( $P < 0.05$ ). The median survival time was 49 months in patients with ILC1  $\geq 8.98\%$ , and 38 months in patients with ILC1  $< 8.98\%$ , and there were

**作者简介:** 韦锦涛, Email: 250195740@qq.com,

研究方向: 流式、临检、生化研究。

**通信作者:** 徐元宏, Email: xyhong1964@163.com。

**优先出版:** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190917.1111.036.html>

(2019-09-18)

significant differences in the survival curves between the two groups ( $P<0.05$ ). The median survival time was 34 months in patients with  $ILC2\geq 1.37\%$  and 46 months in patients with  $ILC2<1.37\%$ , and there were significant differences in the survival curves between the two groups ( $P<0.05$ ). Multivariate analysis showed that lymph node metastasis, TNM stage III, IV and  $ILC2\geq 1.37\%$  were independent risk factors for OS ( $P<0.05$ ), and  $ILC1\geq 8.98\%$  was an independent protective factor for OS ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** NSCLC patients have an imbalance of ILCs, and ILC2 and ILC3 have obvious advantages. The detection of ILC1 and ILC2 can evaluate the development and prognosis of disease to a certain extent.

**[Key words]** flow cytometry; innate lymphocyte subsets; non-small cell lung cancer; overall survival

肺癌是临床上常见的恶性肿瘤,其中约 85% 为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)。大部分 NSCLC 患者确诊时已为晚期,治疗预后不佳,5 年生存率不足 10%<sup>[1-2]</sup>。NSCLC 的发生发展与机体免疫应答密切相关。免疫应答包括固有免疫应答和特异性免疫应答。国外有研究指出,固有淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)介导固有免疫应答,ILCs 在检测到受损上皮细胞发出的危险信号后,会激活、增殖并释放大量具有特定局部功能的细胞因子,此外还参与黏膜免疫监视、免疫调节。然而,当它们的功能失去控制时,ILCs 可以增强病理状态并诱发疾病<sup>[3]</sup>。ILCs 由共同淋巴祖细胞分化而来,根据功能和表型特征可分为 3 个功能亚群<sup>[4-5]</sup>。ILC1 激活后可释放肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 等细胞因子,具有肿瘤细胞杀伤作用。ILC2 激活后可释放白细胞介素(interleukin, IL)-5、IL-33 等细胞因子,具有炎症调节作用。ILC3 激活后可释放 IL-17、IL-22 等细胞因子,具有防御真菌、细菌感染的作用。本研究主要采用流式细胞术检测 NSCLC 患者外周血 ILCs 亚群比例变化,并分析患者临床及随访资料,旨在初步探讨 ILCs 亚群改变与 NSCLC 发生发展及预后的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2012 年 1 月至 2014 年 1 月安徽医科大学第一附属医院收治的 70 例经病理学诊断为 NSCLC 的患者,采集血液前均未行手术治疗或放化疗,近期使用免疫抑制剂、合并自身免疫性疾病或严重感染性疾病者除外。男性 41 例,女性 29 例,年龄 38~80 岁,平均  $(62.17\pm 9.23)$  岁, TNM 临床分期: I 期 11 例, II 期 7 例, III 期 20 例, IV 期 32 例。另选择同期来本院的性别比、年龄相匹配的 70 例健康体检者作为对照,对照组男性 43 例,女性 27 例,年龄 40~80 岁,平均  $(63.34\pm 9.07)$  岁。所有受试者均知情同意,本研究经本院伦

理委员会批准同意。

### 1.2 ILCs 亚群检测

无菌条件下采集受试者外周血 4~5 mL,进行抗凝处理,采用流式细胞术检测外周血 ILCs 亚群比例。向抗凝血液中加入细胞表面荧光标记抗体 CD45-PerCP-Cy5.5、CD3-PE-Cy7 和 CD335-FITC,轻轻混匀后低温避光静置 15 min,磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)洗涤 3 次,再加入溶血素(美国 BD 公司)2 mL,室温下作用 10 min,1 500 r/min 离心 10 min,弃上清,加入破膜剂 1 mL,室温下作用 30 min,1 500 r/min 离心 10 min,弃上清。加入内标荧光标记抗体 IFN- $\gamma$ -APC、IL5-PE 和 IL-17A-APC-Cy7,轻轻混匀后低温避光静置 30 min。PBS 洗涤 2、3 次后,采用 FACS Aria 流式细胞仪(美国 BD 公司)检测 ILC1、ILC2、ILC3 亚群比例。流式细胞术涉及抗体均购自美国 BD 公司。

### 1.3 ILCs 亚群相关细胞因子检测

采集受试者空腹静脉血 3~4 mL 于抗凝管中,3 000 r/min 离心 10 min,取上清。采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血浆中 IFN- $\gamma$ 、IL-5、IL-17 表达水平,ELISA 试剂盒均购自武汉华联科生物技术有限公司。

### 1.4 随访

对所有 NSCLC 患者进行随访,截止时间为 2019 年 1 月,随访方式均为电话随访,统计患者 OS。OS 为确诊之日到因 NSCLC 引起死亡的时间。

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,计量数据符合正态分布,采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,进行独立样本  $t$  检验。计数数据采用卡方检验。ILCs 亚群与相关细胞因子相关性分析采用 Pearson 分析。预后多因素分析采用 Cox 比例风险回归模型。生存分析采用 Kaplan Merier 分析,组间比较采用 Log-rank 检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

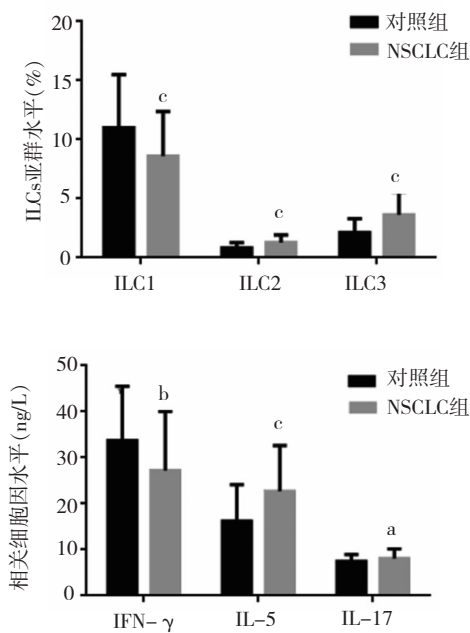
## 2 结果

### 2.1 NSCLC 组和对照组 ILCs 亚群及相关细胞因子水平比较

与对照组相比,NSCLC 组 ILC1 及 IFN- $\gamma$  水平降低,ILC2、ILC3、IL-5 和 IL-17 水平升高,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1 和图 1。

表 1 NSCLC 组和对照组 ILCs 亚群及相关细胞因子水平比较

| 组别             | ILC1 (%)         | ILC2 (%)        | ILC3 (%)        | IFN- $\gamma$ (ng/L) | IL-5 (ng/L)      | IL-17 (ng/L)    |
|----------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|
| NSCLC 组 (n=70) | 8.61 $\pm$ 3.78  | 1.29 $\pm$ 0.64 | 3.64 $\pm$ 1.93 | 27.24 $\pm$ 12.85    | 22.70 $\pm$ 9.94 | 8.10 $\pm$ 2.09 |
| 对照组 (n=70)     | 11.00 $\pm$ 4.50 | 0.82 $\pm$ 0.48 | 2.14 $\pm$ 1.16 | 33.71 $\pm$ 11.79    | 16.21 $\pm$ 7.95 | 7.42 $\pm$ 1.52 |
| t 值            | 3.402            | 4.915           | 5.573           | 3.104                | 4.266            | 2.201           |
| P 值            | 0.001            | 0.000           | 0.000           | 0.002                | 0.000            | 0.029           |



注: a,  $P < 0.05$ ; b,  $P < 0.01$ ; c,  $P < 0.001$

图 1 NSCLC 组和对照组 ILCs 亚群及相关细胞因子水平比较

## 2.2 ILCs 亚群与相关细胞因子关系

ILC1 与 IFN- $\gamma$  呈明显正相关 ( $P < 0.05$ ), ILC2 与 IL-5 呈明显正相关 ( $P < 0.05$ ), ILC3 与 IL-17 呈明显正相关 ( $P < 0.05$ ), 见表 2 和图 2。

表 2 ILCs 亚群与相关细胞因子关系

|     | ILC1 与 IFN- $\gamma$ | ILC2 与 IL-5 | ILC3 与 IL-17 |
|-----|----------------------|-------------|--------------|
| r 值 | 0.780                | 0.704       | 0.654        |
| P 值 | 0.000                | 0.000       | 0.000        |

## 2.3 ILCs 亚群与 NSCLC 患者临床特征关系

ILC1、ILC2 及 ILC3 水平均与淋巴结转移及 TNM 分期有关 ( $P < 0.05$ ), 与患者性别、年龄、吸烟史及病理类型无关 ( $P > 0.05$ ), 见表 3 和图 3。

## 2.4 影响 NSCLC 患者 OS 的单因素分析

OS 与淋巴结转移、TNM 分期、ILC1 和 ILC2 水平密切相关, 无淋巴结转移、TNM 分期较低、ILC1 水平  $\geq 8.98\%$ 、ILC2 水平  $< 1.37\%$  者 OS 明显较长 ( $P < 0.05$ ), 见表 4。ILC1  $\geq 8.98\%$  的患者中位生存时间为 49 个月, ILC1  $< 8.98\%$  的患者中位生存时间为 38 个月, 2 组生存曲线比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 如图 4 所示。ILC2  $\geq 1.37\%$  的患者中位生存时间为

34 个月, ILC2  $< 1.37\%$  的患者中位生存时间为 46 个月, 2 组生存曲线比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 如图 5 所示。

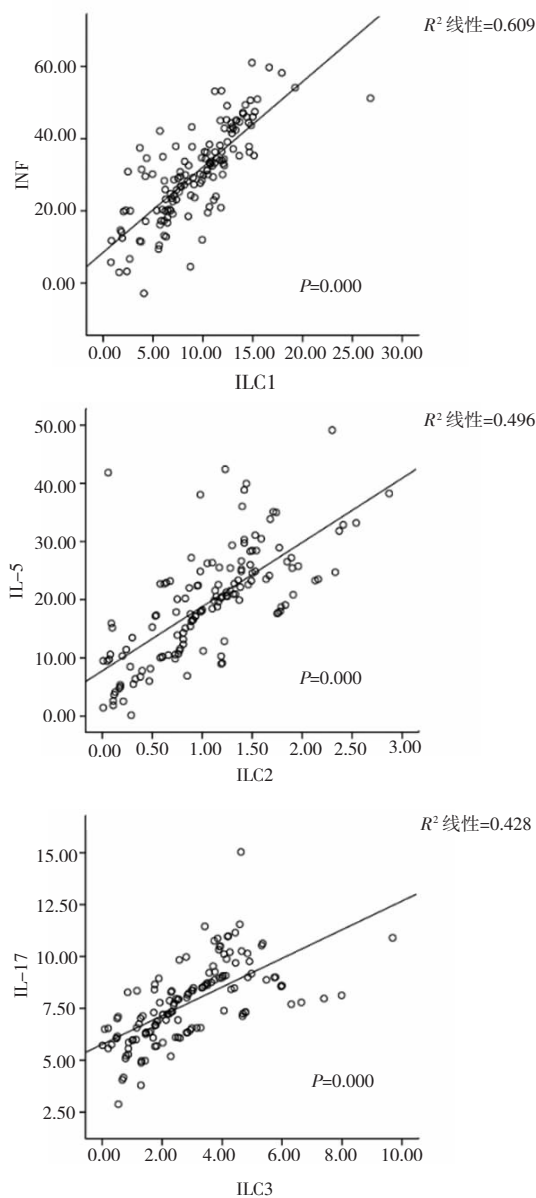


图 2 ILCs 亚群与相关细胞因子关系

## 2.5 影响 NSCLC 患者 OS 的多因素分析

将单因素分析有统计学意义的指标纳入 Cox 比例风险回归模型, 多因素分析结果显示, 淋巴结转移, TNM III、IV 分期, ILC2  $\geq 1.37\%$  是 OS 的独立危险因素 ( $P < 0.05$ ), ILC1  $\geq 8.98\%$  是 OS 的独立保护因素 ( $P < 0.05$ ), 见表 5。

表 3 ILCs 亚群与 NSCLC 患者临床特征关系

| 特征       |     | 例数 | ILC1 ( % )   | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 | ILC2 ( % )  | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 | ILC3 ( % )  | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|----------|-----|----|--------------|------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|------------|------------|
| 性别       | 男   | 41 | 8.58 ± 4.12  | 0.094      | 0.925      | 1.32 ± 0.82 | 0.259      | 0.797      | 3.61 ± 2.19 | 0.098      | 0.922      |
|          | 女   | 29 | 8.67 ± 3.69  |            |            | 1.27 ± 0.76 |            |            | 3.66 ± 1.98 |            |            |
| 年龄 ( 岁 ) | ≥65 | 31 | 8.72 ± 3.71  | 0.160      | 0.873      | 1.33 ± 0.72 | 0.380      | 0.705      | 3.59 ± 1.57 | 0.234      | 0.816      |
|          | <65 | 39 | 8.57 ± 4.02  |            |            | 1.26 ± 0.80 |            |            | 3.68 ± 1.62 |            |            |
| 吸烟史      | 是   | 40 | 8.54 ± 3.93  | 0.170      | 0.866      | 1.36 ± 0.79 | 0.656      | 0.514      | 3.58 ± 1.35 | 0.387      | 0.700      |
|          | 否   | 30 | 8.69 ± 3.24  |            |            | 1.24 ± 0.71 |            |            | 3.70 ± 1.19 |            |            |
| 淋巴结转移    | 是   | 56 | 7.88 ± 2.36  | 4.169      | 0.000      | 1.49 ± 0.42 | 6.592      | 0.000      | 3.96 ± 1.28 | 3.618      | 0.001      |
|          | 否   | 14 | 10.60 ± 1.17 |            |            | 0.73 ± 0.18 |            |            | 2.60 ± 1.16 |            |            |
| 病理类型     | 鳞癌  | 33 | 8.58 ± 3.27  | 0.078      | 0.938      | 1.22 ± 0.71 | 0.641      | 0.524      | 3.60 ± 1.79 | 0.140      | 0.889      |
|          | 腺癌  | 37 | 8.65 ± 4.16  |            |            | 1.34 ± 0.84 |            |            | 3.67 ± 2.32 |            |            |
| TNM分期    | I、Ⅱ | 18 | 10.05 ± 0.97 | 4.107      | 0.001      | 0.79 ± 0.24 | 6.348      | 0.000      | 2.88 ± 0.46 | 3.521      | 0.001      |
|          | Ⅲ、Ⅳ | 52 | 8.17 ± 1.85  |            |            | 1.60 ± 0.50 |            |            | 3.97 ± 1.28 |            |            |

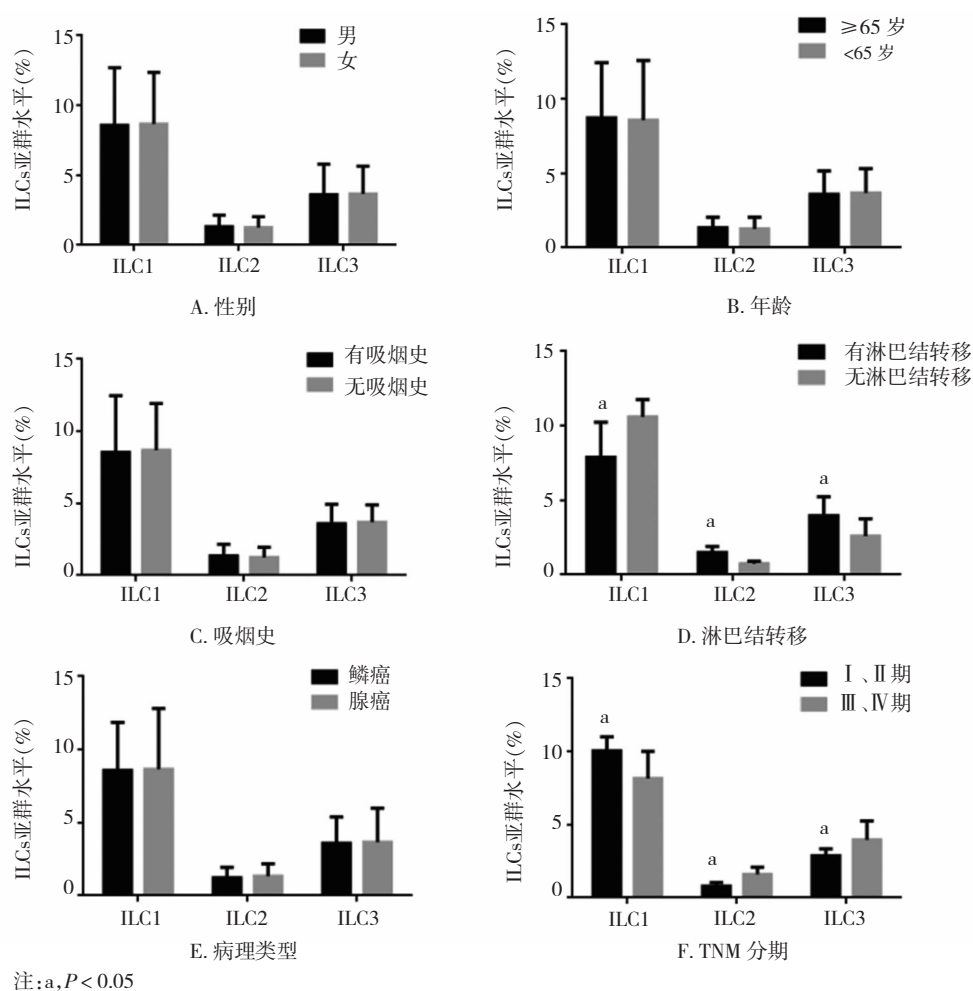


图 3 ILCs 亚群与 NSCLC 患者临床特征关系

### 3 讨论

NSCLC是一种发病率高、致死率高的常见呼吸系统恶性肿瘤,其发病机制尚未完全阐明,可能与抑癌基因活性减弱、促癌基因活性增强、肿瘤微环

境等因素相关<sup>[6]</sup>。在免疫学机制方面,人们认为NSCLC发生发展及预后与免疫功能失调密切相关。ILCs是近几年来新发现的免疫细胞群,其主要功能是参与黏膜相关淋巴组织发育,同时在皮肤、肺等黏膜屏障中起防御作用<sup>[7]</sup>。ILCs与病原体首次接触后可迅速被激活,并分泌相关细胞因子,进行病原

表 4 ILCs 亚群与 NSCLC 患者预后关系

| 特征       |        | 例数 | OS < 36 个月 (n=27) | OS ≥ 36 个月 (n=43) | $\chi^2$ 值 | P 值   |
|----------|--------|----|-------------------|-------------------|------------|-------|
| 性别       | 男      | 41 | 18                | 23                | 1.187      | 0.276 |
|          | 女      | 29 | 9                 | 20                |            |       |
| 年龄(岁)    | ≥65    | 31 | 14                | 17                | 1.020      | 0.313 |
|          | <65    | 39 | 13                | 26                |            |       |
| 吸烟史      | 是      | 40 | 18                | 22                | 1.628      | 0.202 |
|          | 否      | 30 | 9                 | 21                |            |       |
| 淋巴结转移    | 是      | 54 | 26                | 28                | 9.145      | 0.002 |
|          | 否      | 16 | 1                 | 15                |            |       |
| 病理类型     | 鳞癌     | 33 | 13                | 20                | 0.018      | 0.894 |
|          | 腺癌     | 37 | 14                | 23                |            |       |
| TNM分期    | I、II   | 18 | 2                 | 16                | 7.712      | 0.005 |
|          | III、IV | 52 | 25                | 27                |            |       |
| ILC1 (%) | ≥8.98  | 36 | 9                 | 27                | 5.762      | 0.016 |
|          | <8.98  | 34 | 18                | 16                |            |       |
| ILC2 (%) | ≥1.37  | 32 | 17                | 15                | 5.270      | 0.022 |
|          | <1.37  | 38 | 10                | 28                |            |       |
| ILC3 (%) | ≥3.07  | 37 | 18                | 19                | 3.364      | 0.067 |
|          | <3.07  | 33 | 9                 | 24                |            |       |

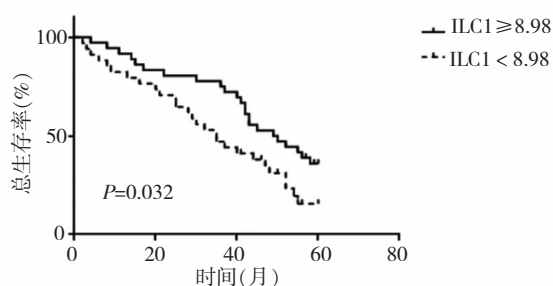


图 4 Kaplan Merier 生存曲线分析 ILC1 水平对预后的影响

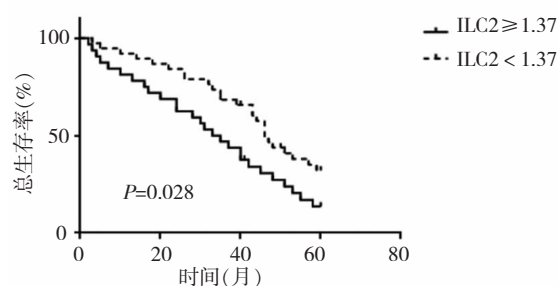


图 5 Kaplan Merier 生存曲线分析 ILC2 水平对预后的影响

表 5 NSCLC 患者 OS 的多因素 Cox 比例风险回归分析

| 指标           | B      | SE    | Wald $\chi^2$ | P     | RR    | 95%CI       |
|--------------|--------|-------|---------------|-------|-------|-------------|
| 淋巴结转移        | 1.187  | 0.383 | 9.605         | 0.002 | 3.277 | 1.547~6.943 |
| III、IV分期     | 1.226  | 0.385 | 10.141        | 0.002 | 3.408 | 1.602~7.247 |
| ILC1 ≥ 8.98% | -0.788 | 0.315 | 6.258         | 0.013 | 2.199 | 1.186~4.077 |
| ILC2 ≥ 1.37% | 0.672  | 0.279 | 5.801         | 0.016 | 1.958 | 1.133~3.383 |

体清除。有研究发现,ILCs 可影响机体免疫稳态,并参与肿瘤发生发展<sup>[8]</sup>。

ILCs 根据功能和表型特征可分为 3 个功能亚群。ILC1 属于第一亚群,其发育主要依赖 GATA 结合蛋白 3(GATA binding protein 3,GATA3)和 T 盒子转录因子(T box transcription factor,T-bet),激活后可释放 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  等细胞因子,可杀伤肿瘤细胞。ILC2 属于第二亚群,其发育主要依赖 GATA3 和维甲酸相关孤核受体  $\alpha$ (retinoid acid receptor related orphan receptor $\alpha$ ,ROR $\alpha$ ),激活后可释放 IL-5、IL-33 等细胞因子,在炎症调节中起重要作用。ILC3 属于第三亚群,其发育主要依赖 GATA3、维甲

酸相关孤核受体  $\gamma$ t(retinoid acid receptor related orphan receptor  $\gamma$ t,ROR $\gamma$ t),激活后可释放 IL-17、IL-22 等细胞因子,在防御真菌、细菌感染过程中起关键作用<sup>[9-11]</sup>。Carrega 等<sup>[12]</sup>研究发现,NCR-ILC3 在人类 NSCLC 组织中积累,可能有助于形成与肿瘤相关的保护性三级淋巴结构。Koh 等<sup>[13]</sup>最新研究显示,肺鳞癌肿瘤细胞通过产生 IL-23 将 ILC1 转化为 ILC3,从而促进 IL-17 介导的肿瘤细胞增殖,认为 ILC 的可塑性在肿瘤微环境调节中起到一定作用。本研究以体检健康者为对照,分析 NSCLC 患者外周血 ILC1、ILC2 及 ILC3 水平变化,探讨 ILCs 失衡与 NSCLC 的关系。结果显示,与对照组相比,NSCLC 组 ILC1

及 IFN- $\gamma$  水平明显降低, ILC2、ILC3、IL-5 和 IL-17 水平明显升高, 且 ILC1 与 IFN- $\gamma$  呈正相关, ILC2 与 IL-5 呈正相关, ILC3 与 IL-17 呈正相关, 提示 NSCLC 患者 ILC1 亚群水平及相关细胞因子 IFN- $\gamma$  降低, ILC2、ILC3 及相关细胞因子 IL-5 和 IL-17 水平平均升高, 机体 ILCs 亚群失衡, NSCLC 患者以 ILC2、ILC3 为优势亚群, 与 Yumin 等<sup>[14]</sup>相关研究结果相似。该研究认为肺癌患者中 ILC2 水平明显上调, 并以 Th2 表型为主, 可能会为肺癌免疫治疗提供新方法。有研究认为, ILCs 3 个亚群功能分别与 T 细胞群的 Th1、Th2 及 Th17 亚群相对应<sup>[15]</sup>。ILC1 分泌的 IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  可介导机体细胞免疫, 抑制恶性肿瘤生长, 而 ILC2 分泌的 IL-5 与 ILC3 分泌的 IL-17 与 ILC1 作用相反, 可促进恶性肿瘤发展<sup>[16]</sup>。

本研究分析 ILCs 亚群与 NSCLC 患者临床特征关系发现, ILCs 亚群失衡与 NSCLC 患者淋巴结转移及 TNM 分期有关, 提示 ILCs 亚群失衡可促进淋巴结转移及疾病发展。且经单因素、多因素分析发现, 除淋巴结转移、TNM 分期外, ILC1  $\geq 8.98\%$  和 ILC2  $\geq 1.37\%$  也是 NSCLC 预后独立相关因素。分析原因, ILC1 与 Th1 表型和功能相似, 推测与 Th1 抗肿瘤作用相似, 通过分泌大量 IFN- $\gamma$  抑制肿瘤细胞增殖, 杀死肿瘤细胞。另外, IFN- $\gamma$  还可促进主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) I 类和 II 类分子表达, 诱导相关细胞因子表达, 阻止恶性肿瘤进一步发展<sup>[17-18]</sup>。Xie 等<sup>[19]</sup>研究指出, 食管癌患者 ILC2 效应增强, 并且可使机体免疫反应向 Th2 型应答偏移, 抑制 Th1 型应答, 从而使肿瘤细胞发生免疫逃逸, 促进食管癌发生发展。笔者推测在 NSCLC 中, ILCs 亚群失衡与食管癌中相似。

本研究不足之处在于研究病例数较少, 且仅分析了以 IFN- $\gamma$  为代表的 ILC1、以 IL-5 为代表的 ILC2 和以 IL-17 为代表的 ILC3 分布情况, 分泌其他细胞因子的 ILCs 亚群可能在 NSCLC 发展中起不同作用, 尤其是 ILC2 亚群, 可分泌 IL-5、IL-13、IL-33 等多种相关细胞因子。目前 ILCs 亚群失衡与肿瘤关系的研究尚处于初步阶段, 具体机制仍需更多细胞实验与动物实验揭示。

## 参 考 文 献

- [1] Rafei H, El-Bahesh E, Finianos A, et al. Immune-based therapies for non-small cell lung cancer[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(2):377-387.
- [2] Yan X, Jiao SC, Zhang GQ, et al. Tumor-associated immune fac-

tors are associated with recurrence and metastasis in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Gene Ther*, 2017, 24(2):57-63.

- [3] Martinez-Gonzalez I, Mathä L, Steer C, et al. Allergen-experienced group 2 innate lymphoid cells acquire memory-like properties and enhance allergic lung inflammation[J]. *Immunity*, 2016, 45(1):198-208.
- [4] Cheng H, Jin C, Wu J, et al. Guards at the gate: physiological and pathological roles of tissue-resident innate lymphoid cells in the lung[J]. *Protein Cell*, 2017, 8(12):878-895.
- [5] Wojno ED, Monticelli LA, Tran SV, et al. The prostaglandin D2 receptor CTRH2 regulates accumulation of group 2 innate lymphoid cells in the inflamed lung[J]. *Mucosal Immunol*, 2015, 8(6):1313-1323.
- [6] 周俊豪, 陶 韬, 陈 虹, 等. 血管内皮钙黏蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其意义[J]. *重庆医科大学学报*, 2014, 38(1):17-21.
- [7] 黄 超, 田志刚. 呼吸道 II 型固有淋巴细胞与肺脏疾病研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(4):433-439.
- [8] Bergmann H, Roth S, Pechloff K, et al. Card9-dependent IL-1 $\beta$  regulates IL-22 production from group 3 innate lymphoid cells and promotes colitis-associated cancer[J]. *Eur J Immunol*, 2017, 47(8):1342-1353.
- [9] 安 磊, 郭钰琪, 王 丽, 等. 玉屏风散对低温环境下小鼠肺脏固有淋巴样细胞比例及功能的影响[J]. *山东医药*, 2017, 57(22):12-14.
- [10] 颜秋萍, 张梦洁, 田志强, 等. 固有淋巴细胞在肿瘤形成中的作用[J]. *免疫学杂志*, 2015, 31(7):628-632.
- [11] Gao Y, Souza-Fonseca-Guimaraes F, Bald T, et al. Tumor immunoevasion by the conversion of effector NK cells into type 1 innate lymphoid cells[J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(9):1004-1015.
- [12] Carrega P, Loiacono F, Di Carlo E, et al. NCR<sup>+</sup>ILC3 concentrate in human lung cancer and associate with intratumoral lymphoid structures[J]. *Nat Commun*, 2015, 6:8280.
- [13] Koh J, Kim HY, Lee Y, et al. IL-23-producing human lung cancer cells promote tumor growth via conversion of innate lymphoid cell 1 (ILC1) into ILC3[J]. *Clin Cancer Res*, 2019[Epub ahead of print]. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3458.
- [14] Yumin W, Yulan Y, Zhaoliang S, et al. Enhanced circulating ILC2s and MDSCs may contribute to ensure maintenance of Th2 predominant in patients with lung cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(6):4374-4381.
- [15] Salomé B, Jandus C. Innate lymphoid cells in antitumor immunity[J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 103(3):479-483.
- [16] Seehus CR, Kadavallore A, Torre B, et al. Alternative activation generates IL-10 producing type 2 innate lymphoid cells[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):1900-1012.
- [17] 陈 钢, 段静静, 苏 文, 等. 非小细胞肺癌患者外周血 Th1、Th2、Th17 淋巴细胞及其相关细胞因子表达及临床意义[J]. *心肺血管病杂志*, 2017, 36(9):728-731.
- [18] Califano D, Furuya Y, Roberts S, et al. IFN- $\gamma$  increases susceptibility to influenza A infection through suppression of group II innate lymphoid cells[J]. *Mucosal Immunol*, 2018, 11(1):209-219.
- [19] Xie J, Wang J, Cheng S, et al. Expression of immune checkpoints in T cells of esophageal cancer patients[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(39):63669-63678.

(责任编辑: 冉明会)