

· 论著 ·

DOI:10.16689/j.cnki.cn11-9349/r.2024.04.016

结肠癌患者肿瘤浸润淋巴细胞表型与临床病理特征和肠道菌群的关系研究

黄超, 方兴刚, 陈璐 (十堰市太和医院(湖北医药学院附属医院)中西医结合科, 湖北 十堰 442000)

摘要: **目的** 探究结肠癌患者肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)表型与临床病理特征和肠道菌群的关系。**方法** 选取2017年6月至2023年2月湖北省十堰市太和医院收治的76例结肠癌患者为结肠癌组,并选择同期体检的76例健康人为对照组。检测两组受试者TIL表型表达水平,荧光定量PCR检测肠道菌群,收集结肠癌患者临床病理资料。采用Spearman分析TIL表型与肠道菌群的相关性。**结果** 与对照组相比,结肠癌组CD4⁺T细胞水平显著升高[(28.05±5.48)%比(32.49±6.13)%],CD3⁺T细胞、CD8⁺T细胞水平显著降低[(60.47±6.53)%比(53.17±6.37)%]、[(30.69±6.38)%比(24.85±6.42)%]($P<0.05$)。根据结肠癌患者CD3⁺T细胞(52.62%)、CD8⁺T细胞(25.87%)、CD4⁺T细胞(31.94%)的中位值,将其分为CD3⁺T细胞高表达38例,CD3⁺T细胞低表达38例,CD8⁺T细胞高表达38例,CD8⁺T细胞低表达38例,CD4⁺T细胞高表达38例,CD4⁺T细胞低表达38例。有淋巴结转移、肿瘤分化程度越高、TNM分期越高,在CD3⁺T细胞、CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞高表达、低表达患者间差异有统计学意义($\chi^2=5.330、4.659、6.786; \chi^2=7.962、10.483、4.343; \chi^2=11.120、7.280、13.300; P<0.05$)。与对照组相比,结肠癌组脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌数量显著增加[(6.58±0.83)lgN/g比(8.59±1.36)lgN/g]、[(7.36±1.04)lgN/g比(9.73±1.25)lgN/g]、[(7.21±1.08)lgN/g比(9.28±1.74)lgN/g],乳酸杆菌、双歧杆菌数量显著下降[(8.85±1.46)lgN/g比(6.34±1.22)lgN/g]、[(8.94±1.09)lgN/g比(6.17±1.32)lgN/g]($P<0.05$)。Spearman相关分析结果显示,结肠癌患者脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌与CD3⁺、CD8⁺T细胞占比呈负相关($r=-0.482、-0.459、-0.532, P<0.05; r=-0.438、-0.472、-0.508, P<0.05$),乳酸杆菌、双歧杆菌与CD3⁺、CD8⁺T细胞占比呈正相关($r=0.581、0.507, P<0.05; r=0.536、0.467, P<0.05$),脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌与CD4⁺T细胞占比呈正相关($r=0.483、0.495、0.461, P<0.05$),乳酸杆菌、双歧杆菌与CD4⁺T细胞占比呈负相关($r=-0.563、-0.579, P<0.05$)。**结论** 结肠癌患者TIL中表型CD3⁺T细胞、CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞与临床病理特征和肠道菌群存在一定关系。

关键词: 结肠癌;肿瘤浸润淋巴细胞;临床病理特征;肠道菌群;免疫;CD3⁺T细胞;CD4⁺T细胞;CD8⁺T细胞

Study on the relationship between phenotype of tumor-infiltrating lymphocytes and clinicopathological characteristics and gut microbiota in patients with colon cancer

Huang Chao, Fang Xinggang, Chen Lu

Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Taihe Hospital (Affiliated Hospital of Hubei University of Medicine), Shiyan 442000, Hubei, China

Abstract: Objective To explore the relationship between the phenotype of tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) and clinicopathological characteristics and gut microbiota in patients with colon cancer. **Method** From June 2017 to February 2023, 76 colon cancer patients admitted to Taihe Hospital were collected as the colon cancer group, and 76 healthy individuals who underwent physical examinations during the same period were collected as the control group. The TIL phenotype expression levels of two groups were detected, fluorescent quantitative PCR was applied to detect gut microbiota, and the clinical and pathological data of colon cancer patients were collected. Spearman was applied to analyze the correlation between TIL phenotype and gut microbiota. **Result** Compared with the control group, the level of CD4⁺T cell in the colon cancer group was obviously increased[(28.05±5.48)% vs (32.49±6.13)%], while the levels of CD3⁺T cell and CD8⁺T cell were obviously reduced [(60.47±6.53)% vs (53.17±6.37)%], [(30.69±6.38)% vs (24.85±6.42)%] ($P<0.05$). According to the median values of CD3⁺T cell (52.62%), CD8⁺T cell (25.87%) and CD4⁺T cell (31.94%), colon cancer patients were divided into 38 cases with high expression of CD3⁺T cell, 38 cases with low expression of CD3⁺T cell, 38 cases with high expression of CD8⁺T cell, 38 cases with low expression of CD8⁺T cell, 38

基金项目: 2022年度湖北省教育厅科学研究计划指导性项目(B2022131)

通信作者: 方兴刚, 电子邮箱: 957336859@qq.com

cases with high expression of CD4⁺ T cell and 38 cases with low expression of CD4⁺ T cell. There were lymph node metastasis, the higher the degree of tumor differentiation, the higher the TNM stage, and the difference between high and low expression of CD3⁺ T cell, CD8⁺ T cell and CD4⁺ T cell was statistically significant ($\chi^2=5.330, 4.659, 6.786; \chi^2=7.962, 10.483, 4.343; \chi^2=11.120, 7.280, 13.300, P<0.05$). Compared with the control group, the numbers of *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* and *Enterococcus* in the colon cancer group increased obviously [(6.58±0.83) lgN/g vs (8.59±1.36) lgN/g], [(7.36±1.04) lgN/g vs (9.73±1.25) lgN/g], [(7.21±1.08) lgN/g vs (9.28±1.74) lgN/g], while the numbers of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* decreased obviously [(8.85±1.46) lgN/g vs (6.34±1.22) lgN/g], [(8.94±1.09) lgN/g vs (6.17±1.32) lgN/g] ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* and *Enterococcus* were negatively correlated with the proportion of CD3⁺ T cell and CD8⁺ T cell in colon cancer patients ($r=-0.482, -0.459, -0.532; r=-0.438, -0.472, -0.508, P<0.05$), *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* were positively correlated with the proportion of CD3⁺ T cell and CD8⁺ T cell ($r=0.581, 0.507; r=0.536, 0.467, P<0.05$), *Bacteroides flimsii*, *Escherichia coli* and *Enterococcus* were positively correlated with the proportion of CD4⁺ T cell ($r=0.483, 0.495, 0.461, P<0.05$), and *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* were negatively correlated with the proportion of CD4⁺ T cell ($r=-0.563, -0.579, P<0.05$). **Conclusion** The phenotypes of CD3⁺ T cell, CD8⁺ T cell and CD4⁺ T cell in TIL of colon cancer patients have certain relationship to the clinicopathological characteristics and gut microbiota.

Key words: Colon cancer; Tumor-infiltrating lymphocytes; Clinical pathological characteristics; Gut microbiota; Immunity; CD3⁺ T cell; CD4⁺ T cell; CD8⁺ T cell

结肠癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一,是全球第三大最常见的肿瘤疾病,也是所有肿瘤中第二大死亡原因^[1-2]。近年来,结肠癌患者经手术切除、标准化疗和放疗,生存期得到显著延长,特别是对于在疾病早期阶段检测到的肿瘤患者。尽管有筛查计划和预防策略,但结肠癌早期无明显症状,15%~25%的患者在诊断时即为晚期肿瘤阶段,常规治疗方法对结直肠癌患者的中位生存期改善较低^[3-4]。因此,寻找有助于预测结肠癌患者预后的生物标志物,对及早管理并减轻全球日益增长的结直肠癌负担,至关重要。免疫系统影响着结肠癌的发展和进展,肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)在免疫疗法杀死肿瘤的过程中起着重要作用^[5-6]。TIL 包括 T 细胞、B 细胞和自然杀伤(natural killer, NK)细胞,是宿主抗肿瘤免疫应答的代表成分之一,在肿瘤相关免疫应答中起着双向调节作用,不仅可以通过抑制肿瘤生长,还可以促进肿瘤进展^[7-8]。已有研究表明,TIL 是放化疗后肿瘤消退等级良好的重要预测指标,TIL 和特定的 TIL 亚群可作为结肠癌的预后生物标志物^[9-10]。肠道菌群改变可诱发异常免疫反应,导致结直肠组织形成特殊的免疫微环境,并产生致癌代谢物,诱导宿主细胞 DNA 损伤和基因突变,影响肿瘤发展^[11]。肠道微生物群失调会增加恶性肿瘤的易感性,在结肠癌中,粪便和组织微生物群与结肠癌的肿瘤 T 细胞浸润和肠系膜淋巴结受累有关^[12]。本研究通过探讨结肠癌患者 TIL 表型与临床病理特征和肠道菌群的关系,以期为其治疗和预后提供新方向。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 6 月至 2023 年 2 月湖北省十堰市太和医院收治的 76 例结肠癌患者为结肠癌组,男性 40 例,女性 36 例,年龄 18~70 岁,平均年龄(43.05±4.69)岁,并选择同期体检的 76 例健康人为对照组,男性 45 例,女性 31 例,年龄 18~72 岁,平均年龄(43.27±4.82)岁。两组一般资料无显著差异($P>0.05$)。结肠癌组纳入标准:①经肠镜检查 and 病理学诊断为结肠癌;②术前未接受抗肿瘤治疗;③患者的临床资料完整。结肠癌组排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②合并严重的肝、心、肺、肾功能异常者;③合并其他肠道炎症者;④免疫系统疾病者。对照组纳入标准:①临床资料完整;②健康无疾病;③肠道菌群状态正常。对照组排除标准:依从性差。本研究经湖北省十堰市太和医院伦理委员会批准通过(批件号:TH2017-041042)。

1.2 研究方法

1.2.1 免疫细胞检测方法 收集所有受试者入院或体检当天空腹静脉血 3 ml,加入抗凝剂混匀。采用 Histopaque-1077(美国 Sigma-Aldrich)密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)。将各 PBMC 用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)洗涤后重悬于 100 μ l 流式染色缓冲液,加入荧光素标记的细胞表面抗体 CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺(美国 BD Bioscience),4℃孵育 30 min。用流式细胞仪染色缓冲液洗涤细胞两次,设定淋巴细胞门。利用 BD Accuri™ C6 Plus 流式细胞仪(美国

Becton Dickinson 公司)分析淋巴细胞的比例,统计分析淋巴细胞各亚群的百分比。

1.2.2 粪便样本采集和 DNA 提取 采集受试者粪便样本,置于-80℃保存。使用 Maxwell RSC Blood DNA 试剂盒(美国 Promega Corporation 公司)从样品中提取基因组 DNA,在 1%琼脂糖凝胶上检测 DNA 浓度和纯度,无菌水将 DNA 稀释至 1 ng/μl。将样品中脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌进行实时定量荧光 PCR,引物序列见表 1。记录各 PCR 标准品溶解曲线荧光数据,以溶解曲线计算各菌株数量。

1.2.3 结肠癌患者临床资料收集 收集结肠癌患者临床病理资料:年龄、性别、肿瘤位置、淋巴结转移、肿瘤大小、肿瘤分化程度、TNM 分期。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件分析数据,计数资料用频数或率或构成比(%)表示,采用 χ^2 检验;以($\bar{x} \pm s$)表示计量资料,两组间行 t 检验。采用 Spearman 分析 TIL 表型与肠道菌群的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 qRT-PCR 引物序列

样品	序列(5'-3')
脆弱拟杆菌	F:5'-TGCTTAAGCCCGAACACCAA-3'
	R:5'-TTTTGGCATGTTCCTCCCGT-3'
大肠埃希菌	F:5'-CGCACCATTCCGAAGCAAAA-3'
	R:5'-CCACCGGACTCACACCATAC-3'
肠球菌	F:5'-GCCGAACCCGCCTTTAAAAAT-3'
	R:5'-ATTACAGCAGATGGCGAAGCA-3'
乳酸杆菌	F:5'-ATCCGCTTGACAGAGACTGC-3'
	R:5'-ATCCGGTAATGCCGCTCAAT-3'
双歧杆菌	F:5'-AGCAGTAGGGAATCTTCCA-3'
	R:5'-CACCGCTACACATGGAG-3'

2 结果

2.1 结肠癌患者癌组织 TIL 表型表达水平 两组间 CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺T 细胞表达水平差异有统计学意义,与对照组相比,结肠癌组 CD4⁺T 细胞水平显著升高,CD3⁺、CD8⁺T 细胞水平显著降低($P < 0.05$),见表 2。

表 2 结肠癌患者的各种瘤浸润淋巴细胞表型表达水平比较(% , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD3 ⁺ T 细胞	CD8 ⁺ T 细胞	CD4 ⁺ T 细胞
对照组	76	60.47±6.53	30.69±6.38	28.05±5.48
结肠癌组	76	53.17±6.37	24.85±6.42	32.49±6.13
t 值	-	6.976	5.625	4.708
P 值	-	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 肿瘤浸润淋巴细胞表型与临床病理特征的关系 根据结肠癌患者 CD3⁺T 细胞(52.62)、CD8⁺T 细胞(25.87)、CD4⁺T 细胞(31.94)的表达水平的中位值,将其分为 CD3⁺T 细胞高表达($n = 38$ 例)、CD3⁺T 细胞低表达($n = 38$ 例)、CD8⁺T 细胞高表达($n = 38$ 例)、CD8⁺T 细胞低表达($n = 38$ 例)、CD4⁺T 细胞高表达($n = 38$ 例)、CD4⁺T 细胞低表达($n = 38$

例)^[13]。结果显示,有淋巴结转移、肿瘤分化程度越高、TNM 分期越高,在 CD3⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞高表达、低表达患者间差异有统计学意义($P < 0.05$)。CD3⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞高表达、低表达之间,不同年龄、不同性别、不同肿瘤位置、不同肿瘤大小差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 CD3⁺T 细胞与临床病理特征的关系[例(%)]

临床病理特征	例数	CD3 ⁺ T 细胞				CD4 ⁺ T 细胞				CD8 ⁺ T 细胞			
		高表达 ($n = 38$)	低表达 ($n = 38$)	χ^2 值	P 值	高表达 ($n = 38$)	低表达 ($n = 38$)	χ^2 值	P 值	高表达 ($n = 38$)	低表达 ($n = 38$)	χ^2 值	P 值
年龄				0.852	0.356			1.916	0.166			0.213	0.645
<43 岁	34	19(55.88)	15(44.12)			14(41.18)	20(58.82)			18(52.94)	16(47.06)		
≥43 岁	42	19(45.24)	23(54.76)			24(57.14)	18(42.86)			20(47.62)	22(52.38)		
性别				0.211	0.464			1.900	0.168			0.844	0.358
男	40	21(52.50)	19(47.50)			23(57.50)	17(42.50)			18(45.00)	22(55.00)		
女	36	17(47.22)	19(52.78)			15(41.67)	21(58.33)			20(55.56)	16(44.44)		
肿瘤位置				0.053	0.818			0.474	0.491			2.581	0.108
左结肠	39	19(48.72)	20(51.28)			18(46.15)	21(54.05)			16(41.03)	23(58.97)		
右结肠	37	19(51.35)	18(48.65)			20(53.85)	17(45.95)			22(59.46)	15(40.54)		
淋巴结转移				5.330	0.021			7.962	0.005			11.120	0.001

续表 3

临床病理特征	例数	CD3 ⁺ T 细胞				CD4 ⁺ T 细胞				CD8 ⁺ T 细胞			
		高表达 (n=38)	低表达 (n=38)	χ^2 值	P 值	高表达 (n=38)	低表达 (n=38)	χ^2 值	P 值	高表达 (n=38)	低表达 (n=38)	χ^2 值	P 值
有	21	6(28.57)	15(71.43)			16(76.19)	5(23.81)			4(19.05)	17(80.95)		
无	55	32(58.18)	23(41.82)			22(40.00)	33(60.00)			34(61.82)	21(38.18)		
肿瘤分化程度				4.659	0.031			10.483	0.001			7.280	0.007
高中分化	58	33(56.90)	25(43.10)			23(39.66)	35(60.34)			34(58.62)	24(41.38)		
低分化	18	5(27.78)	13(72.22)			15(83.33)	3(16.67)			4(22.22)	14(77.78)		
肿瘤大小				1.998	0.157			0.474	0.491			1.317	0.251
<4 cm	39	20(51.28)	19(48.72)			18(46.15)	21(53.85)			22(56.41)	17(43.59)		
≥4 cm	37	18(48.65)	19(51.35)			20(54.05)	17(45.95)			16(43.24)	21(56.76)		
TNM 分期				6.786	0.009			4.343	0.037			13.300	<0.001
I、II 期	56	33(58.93)	23(41.07)			24(42.86)	32(57.14)			35(62.50)	21(37.50)		
III、IV 期	20	5(25.00)	15(75.00)			14(70.00)	6(30.00)			3(15.00)	17(85.00)		

2.3 结肠癌患者粪便中肠道菌群表达水平 两组间脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌数量差异有统计学意义。与对照组相比,结肠癌组脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌数量显著增加,乳酸杆菌、双歧杆菌数量显著下降($P<0.05$),见表 4。

2.4 肿瘤浸润淋巴细胞表型与肠道菌群的关系 Spearman 相关分析结果显示,结肠癌患者脆弱拟杆

菌、大肠埃希菌、肠球菌与 CD3⁺、CD8⁺ T 细胞占比呈负相关,乳酸杆菌、双歧杆菌与 CD3⁺、CD8⁺ T 细胞占比呈正相关($P<0.05$),脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌与 CD4⁺ T 细胞占比呈正相关,与乳酸杆菌、双歧杆菌与 CD4⁺ T 细胞占比呈负相关($P<0.05$)。见表 5。

表 4 结肠癌患者粪便中肠道菌群数量变化($\bar{x}\pm s$,lgN/g)

项目	对照组(n=76)	结肠癌组(n=76)	t 值	P 值
脆弱拟杆菌	6.58±0.83	8.59±1.36	10.998	<0.001
大肠埃希菌	7.36±1.04	9.73±1.25	12.766	<0.001
肠球菌	7.21±1.08	9.28±1.74	8.812	<0.001
乳酸杆菌	8.85±1.46	6.34±1.22	11.501	<0.001
双歧杆菌	8.94±1.09	6.17±1.32	14.106	<0.001

表 5 结直肠癌患者的肿瘤浸润淋巴细胞表型与肠道菌群的关系

T 细胞	脆弱拟杆菌		大肠埃希菌		肠球菌		乳酸杆菌		双歧杆菌	
	r	P 值	r	P 值	r	P 值	r	P 值	r	P 值
CD3 ⁺ T 细胞	-0.482	<0.001	-0.459	<0.001	-0.532	<0.001	0.581	<0.001	0.507	<0.001
CD4 ⁺ T 细胞	0.483	<0.001	0.495	<0.001	0.461	<0.001	-0.563	<0.001	-0.579	<0.001
CD8 ⁺ T 细胞	-0.438	<0.001	-0.472	<0.001	-0.508	<0.001	0.536	<0.001	0.467	<0.001

3 讨论

结肠癌通常被认为是一种涉及饮食、炎症、遗传改变和环境的多因素疾病,其发病率和死亡率逐年上升,且预后较差。尽管在结肠癌早期检测、治疗和管理方面取得了持续进展,降低发病率和死亡率,但仍有 30%~50% 的患者在治疗后 2 年内出现复发或转移^[14-15]。结肠癌患者的预后预测主要依靠 TNM 分期系统、组织病理学标准、分子标志物和肿瘤细胞分化。由于癌变的发生、发展是一个多基因、多步骤的复杂过程,部分结肠癌患者往往缺乏

特定症状,筛查延迟,大多数在诊断时已经处于疾病的中晚期^[16-17]。因此,除了目前决定疾病预后和患者生存的临床和病理因素外,深入研究结肠癌的具体发病机制对早期诊断、治疗指导和预后具有重要意义。

TIL 是参与肿瘤免疫的免疫细胞的核心成分,可以通过破坏癌细胞来抑制肿瘤生长,也可以选择合适的微环境来存活肿瘤或通过在肿瘤微环境中创造模拟肿瘤生长的条件来加速肿瘤进展,具有双向调节作用,已成为评估各种恶性肿瘤(包括

结肠、卵巢、肺、膀胱、乳腺等) 免疫反应性的工具,且是多种肿瘤预后的独立标志物^[18-19]。结肠癌 TIL 与肿瘤的发生密切相关,已有研究表明,多种肿瘤浸润免疫细胞的组合可预测结肠癌的临床结果^[20-21]。TIL 由具有不同功能的各种淋巴细胞组成,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞是最常见的淋巴细胞,据报道,在结肠癌患者中,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的密度与患者的存活率有关^[22-23]。其中 CD3⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞是肿瘤中重要的免疫细胞,CD3⁺ 代表总 T 细胞,是 T 细胞常见的表面抗原,决定抗肿瘤免疫反应的作用,CD8⁺ T 细胞是毒性 T 淋巴细胞,在抵御许多感染性病原体的保护性免疫中起着至关重要的作用,并且可以通过释放穿孔素和颗粒酶来清除恶性细胞,促进肿瘤细胞的死亡,在抗癌免疫中起核心作用^[24-25]。已有研究表明,高 CD3⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞浸润与结肠癌患者无病生存改善有关^[26-27]。CD4⁺ T 细胞分泌具有免疫调节作用的细胞因子,可诱导肿瘤中的细胞溶解 T 细胞反应,肿瘤微环境中 CD4⁺ T 细胞的功能,即免疫反应激活或免疫抑制,可能因肿瘤类型而异,研究发现,与正常结肠组织相比,CD4⁺ T 细胞在结肠癌中的含量显著更高,可作为结肠癌进展和治疗反应的潜在生物标志物^[28-29]。本研究发现,结肠癌组 TIL 表型 CD4⁺ T 细胞水平显著升高,CD3⁺、CD8⁺ T 细胞水平显著降低,表明结肠癌导致免疫功能障碍,引起外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞水平的改变。CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞水平还与淋巴结转移、肿瘤分化程度、TNM 分期相关,可能是 T 淋巴细胞水平的改变,造成免疫逃逸的发生,导致免疫防御和监测功能下降,易发生感染进而影响患者预后。

肠道菌群通过产生致癌毒素和代谢物,引起肠道生态失调和改变免疫应答,且肠道菌群还能影响治疗效果,通过对抗肿瘤化合物的代谢能力及其调节宿主免疫和炎症反应的能力参与治疗,在结肠癌的形成和发展中起重要作用^[30-31]。多种病原细菌参与促进结肠癌的发生、发展,已有研究发现,结肠癌患者中脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌等水平升高,可能是肠道菌群失调导致全身炎症、免疫失调,进而影响结肠癌发生^[32-33]。部分益生菌如乳酸杆菌和双歧杆菌,也是肠道微生物组的成员,能够缓解肠道炎症,调节免疫防御功能,对抗细菌病原体,参与结肠癌的进展^[34]。研究发现,结肠癌患者中乳酸杆菌和双歧杆菌丰度降低,提高益生菌水平

可通过抑制炎症和血管生成来抑制结肠癌病灶生长,增强肠道屏障的功能^[35]。本研究发现,结肠癌患者中脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌数量显著增加,乳酸杆菌、双歧杆菌数量显著下降,表明结肠癌引发肠道菌群紊乱,病原细菌增加,益生菌下降,引发炎症反应,促进肿瘤发展。进一步研究发现,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞与脆弱拟杆菌、大肠埃希菌、肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌均存在相关性,表明结肠癌患者 TIL 表型水平变化,引起肠道菌群紊乱,影响黏膜免疫细胞的运输或与肿瘤相关微生物组的相互干扰来影响 T 细胞向肿瘤的募集,促进肿瘤的炎症和免疫逃逸。

综上所述,结肠癌患者中 TIL 表型 CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺ T 细胞水平与临床病理特征和肠道菌群关系密切。本研究仅初步探讨结肠癌 TIL 表型对临床病理特征和肠道菌群的影响,但 TIL 表型与肠道菌群的具体作用机制,还需进一步探讨。

参考文献

- [1] BENSON A B, VENOOK A P, AL-HAWARY M M, et al. Colon cancer, version 2. 2021, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2021, 19(3): 329-359.
- [2] 郑雷, 于宏伟, 金丹雯, 等. 老年结肠癌患者癌组织中 COX-2、FOXA1 和 Cx43 蛋白表达及与病理特征的关系[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(2): 291-293.
- [3] 韩栓柱, 徐毅, 白鸿太, 等. 不同入路腹腔镜手术对右半结肠癌患者肠屏障功能和红细胞免疫的影响[J]. 中国医科大学学报, 2024, 53(3): 230-234.
- [4] VERKUIJL S J, JONKER J E, TRZPIS M, et al. Functional outcomes of surgery for colon cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Surg Oncol, 2021, 47(5): 960-969.
- [5] NAZEMALHOSSEINI-MOJARAD E, MOHAMMADPOUR S, TORSHIZI ESAFAHANI A, et al. Intratumoral infiltrating lymphocytes correlate with improved survival in colorectal cancer patients: Independent of oncogenetic features[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(4): 4768-4777.
- [6] 袁思敏, 李长天. 肿瘤浸润淋巴细胞与结直肠癌患者预后关系的研究进展[J]. 癌症进展, 2023, 21(13): 1408-1412, 1423.
- [7] ALBRECHT H C, GUSTAVUS D, SCHWANEMANN J, et al. Generation of colon cancer - derived tumor - infiltrating T cells (TILs) for adoptive cell therapy[J]. Cytotherapy, 2023, 25(5): 537-547.
- [8] 龙美玲, 陈倩文, 刘璐, 等. 肿瘤浸润淋巴细胞与结直肠癌预后关系的研究进展[J]. 广东医学, 2020, 41(1): 102-107.
- [9] KONG J C, GUERRA G R, PHAM T, et al. Prognostic impact of tumor-infiltrating lymphocytes in primary and metastatic colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Dis Colon Rectum, 2019, 62(4): 498-508.
- [10] IDOS G E, KWOK J, BONTHALA N, et al. The prognostic implications of tumor infiltrating lymphocytes in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Sci Rep, 2020, 10

- (1): 3360.
- [11] 史佳杰, 张熙, 程萌, 等. 肠道菌群对乳腺癌组织中肿瘤浸润淋巴细胞浸润程度的影响[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(38): 3164-3167.
- [12] LUU K, YE J Y, LAGISHETTY V, et al. Fecal and tissue microbiota are associated with tumor T-cell infiltration and mesenteric lymph node involvement in colorectal cancer[J]. *Nutrients*, 2023, 15(2): 316.
- [13] 吴金秀, 姚国相, 姚礼. 胆囊癌组织浸润淋巴细胞表型与其临床病理特征及预后关系分析[J]. 医药论坛杂志, 2022, 43(16): 83-86.
- [14] ROBERTI M P, RAUBER C, KROEMER G, et al. Impact of the ileal microbiota on colon cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt 2): 955-966.
- [15] 胡丽霞, 汪超. 贝伐珠单抗联合卡培他滨维持对晚期结肠癌患者预后的影响[J]. 河北医学, 2024, 30(1): 158-163.
- [16] 宗旭芳, 崔磊, 党胜春, 等. 术前血小板分布宽度联合系统性炎症指数对结肠癌术后复发转移的预测价值[J]. 新疆医科大学学报, 2024, 47(1): 73-77, 85.
- [17] 王少芬, 刘树青, 曾玲玲, 等. 结肠癌组织中 PADI3、CDK5RAP3 及 PDCD4 的表达及其与临床病理特征和预后关系的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2024, 23(1): 61-65.
- [18] ALBRECHT H C, GUSTAVUS D, SCHWANEMANN J, et al. Generation of colon cancer - derived tumor - infiltrating T cells (TILs) for adoptive cell therapy. *Cytotherapy* [J]. 2023, 25(5): 537-547.
- [19] TAY C, TANAKA A, SAKAGUCHI S. Tumor-infiltrating regulatory T cells as targets of cancer immunotherapy[J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 450-465.
- [20] PAIJENS S T, VLEDDER A, DE BRUYN M, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in the immunotherapy era[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(4): 842-859.
- [21] 韩文峰, 党文呈, 李诗鹏, 等. 肿瘤浸润淋巴细胞及程序性细胞死亡配体 1 表达在 II ~ III 期结肠癌根治术后肿瘤转移中的预测价值[J]. 中华实验外科杂志, 2023, 40(3): 439-442.
- [22] CHAN L F, SADAHIRO S, SUZUKI T, et al. Tissue-infiltrating lymphocytes as a predictive factor for recurrence in patients with curatively resected colon cancer: a propensity score matching analysis[J]. *Oncology*, 2020, 98(10): 680-688.
- [23] 于浩然, 周军, 夏庆欣. 肿瘤浸润淋巴细胞在胆管癌中的作用[J]. 临床与病理杂志, 2023, 43(9): 1698-1705.
- [24] RAPOPORT B L, NAYLER S, MLECNIK B, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes (tils) in early breast cancer patients: high cd3, cd8, and immunoscore are associated with a pathological complete response[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(10): 2525.
- [25] 万雪帅, 谢小兵, 赵海涛, 等. 肿瘤浸润淋巴细胞治疗胆道癌研究进展[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(5): 1030-1036.
- [26] ZHAO Y, GE X, HE J, et al. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer differs by anatomical subsite: a systematic review and meta-analysis[J]. *World J Surg Oncol*, 2019, 17(1): 85.
- [27] FRANCINI E, OU F S, LAZZI S, et al. The prognostic value of CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes for stage II colon cancer according to use of adjuvant chemotherapy: a large single-institution cohort study[J]. *Transl Oncol*, 2021, 14(2): 100973.
- [28] 王晓迎, 由继君, 张永大, 等. 结直肠癌中肿瘤浸润性淋巴细胞与微卫星不稳定的相关性分析及预后价值评估[J]. 解剖科学进展, 2022, 28(1): 96-99.
- [29] LIM Y, CHOI S, OH H J, et al. Artificial intelligence-powered spatial analysis of tumor-infiltrating lymphocytes for prediction of prognosis in resected colon cancer[J]. *NPJ Precis Oncol*, 2023, 20, 7(1): 124.
- [30] 赵佳颖, 章如意, 郑怡, 等. 肠道微生态与结直肠癌及其免疫治疗相关的研究进展[J]. 结直肠肛门外科, 2022, 28(3): 233-238.
- [31] 刘佳, 信学礼, 宋默. 基于 logistic 模型分析直肠癌术后吻合口漏的危险因素及肠道菌群临床变化研究[J]. 中国临床医生杂志, 2021, 49(2): 198-201.
- [32] TORTORA S C, BODIWALA V M, QUINN A, et al. Microbiome and colorectal carcinogenesis: linked mechanisms and racial differences[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2022, 14(2): 375-395.
- [33] 陈雪薇, 雷倩, 李一荣. 超重结肠癌患者肠道菌群特征及其与血清生化指标的相关性[J]. 重庆医学, 2023, 52(21): 3208-3213.
- [34] PAL P, SHASTRY R P. Exploring the complex role of gut microbiome in the development of precision medicine strategies for targeting microbial imbalance-induced colon cancer[J]. *Folia Microbiol (Praha)*, 2023, 68(5): 691-701.
- [35] CHATTOPADHYAY I, DHAR R, PETHUSAMY K, et al. Exploring the role of gut microbiome in colon cancer[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2021, 193(6): 1780-1799.

收稿日期: 2024-03-06

本文编辑: 王丹