

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.04.002

· 研究快报 ·

肺腺癌 PET/CT 代谢指标与免疫细胞标志物表达水平的相关性

吕欣阳^{1a,2}, 王扬^{1b,2}, 任秀宝^{1a,1b,2} (1. 天津医科大学肿瘤医院 a. 生物技术研究室; b. 生物治疗科; 2. 国家肿瘤临床医学研究中心 天津市“肿瘤防治”重点实验室 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心 天津市肿瘤免疫与生物治疗重点实验室, 天津 300060)

[摘要] **目的:** 分析肺腺癌¹⁸F-FDG PET/CT 代谢指标与免疫细胞标志物表达水平的相关性, 探讨其在肺腺癌治疗及判断预后中的作用。**方法:** 回顾性分析 2008 年 4 月至 2014 年 8 月在天津医科大学肿瘤医院收治并接受 PET/CT 检查的 85 例肺腺癌患者的临床资料, 应用免疫组织化学法检测癌组织中 CD3、CD8、CD68、CD163、CD11c、Foxp3、PD-1 和 PD-L1 的表达水平, 采用 Pearson 相关性检验 PET/CT 各指标[肿瘤原发灶最大摄取标准值(SUVmax)、标准摄取值峰值(SUVpeak)和平均标准摄取值(SUVmean)]与 CD68⁺ 肿瘤相关巨噬细胞(CD68⁺ TAM)和肿瘤代谢指标[肿瘤代谢体积(MTV)、糖酵解总量(TLG)]的相关性, Kaplan-Meier 法分析肿瘤代谢与免疫指标和患者生存的相关性。**结果:** SUVmax、SUVpeak 和 SUVmean 与 CD68⁺ TAM 的表达水平在肺腺癌患者中呈负相关 ($r=-0.253$ 、 -0.265 、 -0.263 , 均 $P<0.05$), 与 PD-1⁺ TIL 表达水平呈正相关 ($r=0.427$ 、 0.402 、 0.395 , 均 $P<0.01$)。MTV、TLG 与 Foxp3⁺ Treg、PD-1⁺ TIL 表达水平呈正相关 ($r=0.313$ 、 0.307 、 0.29 、 0.407 , 均 $P<0.01$)。Kaplan-Meier 法生存分析发现, SUVmax、SUVmean、CD11c⁺ DC、PD-L1⁺ 细胞和 TLG 水平与患者预后 (PFS 或 OS) 显著相关 (均 $P<0.05$)。**结论:** 肿瘤原发灶代谢状态与肿瘤浸润免疫细胞标志物表达显著相关, 该两项中的部分指标与患者预后显著相关, 提示¹⁸F-FDG PET/CT 检测指标反映的肿瘤代谢和微环境免疫状态对肺腺癌患者预后判断及免疫治疗具有重要的参考价值。

[关键词] PET/CT; 肺腺癌; 肿瘤微环境; 免疫组织化学; 标准摄取值; 预后

[中图分类号] R734.2; R730.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)04-0351-08

Correlation of PET/CT metabolic makers with expression of immune cell markers in patients with lung adenocarcinoma

LYU Xinyang^{1a,2}, WANG Yang^{1b,2}, REN Xiubao^{1a,1b,2} (1a. Department of Biotechnology; 1b. Department of Biotherapy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China; 2. National Clinical Research Center for Cancer; Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy; Tianjin's Clinical Research Center for Cancer; Key Laboratory of Cancer Immunology and Biotherapy, Tianjin 300060, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship between ¹⁸F-FDG PET/CT metabolic indicators and expression of immunocyte markers in lung adenocarcinoma patients, and to explore its significance in treatment and prognosis prediction for lung adenocarcinoma patients. **Methods:** The clinical data of 85 lung adenocarcinoma patients, who admitted to Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital and underwent PET/CT examination from April 2008 to August 2014, were retrospectively analyzed. The expression levels of CD3, CD8, CD68, CD163, CD11c, Foxp3, PD-1 and PD-L1 were determined by immunohistochemistry. Correlations among immune markers (CD68⁺TAM), PET/CT metabolic parameters (SUVmax, SUVpeak and SUVmean) and tumor metabolic indicators (MTV, TLG) were analyzed using Pearson correlation analysis. The relationships between tumor metabolism, immune indicators and patients' survival outcomes were analyzed using the Kaplan-Meier method. **Results:** There was a remarkably negative correlation between SUVmax, SUVpeak, SUVmean and expression level of CD68⁺TAMs ($r=-0.253$, -0.265 , -0.263 , all $P<0.05$) but positive correlation with PD-1⁺TILs ($r=0.427$, 0.402 , 0.395 , all $P<0.01$) in lung adenocarcinoma patients. MTV and TLG were positively associated with Foxp3⁺ Tregs and PD-1⁺ TILs ($r=0.313$, 0.307 , 0.29 , 0.407 , all $P<0.01$). Kaplan-Meier survival analysis showed that SUVmax, SUVmean, CD11c⁺DCs, PD-L1⁺ cells and TLG were all significantly associated with patients' prognosis (PFS or OS) (all $P<0.05$). **Conclusion:** Metabolism of tumor primary lesions is significantly correlated with tumor infiltrating immunocytes, and some of these indicators were associated with patients' prognosis, suggesting that tumor metabolism and microenvironment immune status reflected by ¹⁸F-FDG PET/CT indicators may have important reference value for the immunotherapy and prognosis prediction of lung adenocarcinoma patients.

[基金项目] 国家重点研发计划资助项目(No. 2018YFC131400); 天津市卫生行业重点攻关项目(No. 15KG145)。Project supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFC131400), and the Key Program of Tianjin Health Industry (No. 15KG145)

[作者简介] 吕欣阳(1993-), 男, 硕士, 主要从事肿瘤的生物治疗研究, E-mail: 670180199@qq.com

[通信作者] 任秀宝(REN Xiubao, corresponding author), 博士, 教授、主任医师, 博士生导师, 主要从事肿瘤的生物治疗研究, E-mail: renxiubao@tjmuch.com

[Key words] PET/CT; lung adenocarcinoma; tumor microenvironment; immunohistochemistry; standardized uptake value (SUV); prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(4): 351-358. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.04.002]

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率均位居恶性肿瘤之首^[1],非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占肺癌总数的80%~90%^[2-3],而肺腺癌是NSCLC的重要病理类型之一。研究^[4-6]表明,肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的免疫细胞浸润水平对患者预后判断具有重要的参考价值。肿瘤细胞通过选择性表达程序性死亡受体-配体1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)与淋巴细胞中PD-1结合具有调节TME、抑制T细胞的功能,使肿瘤细胞免受机体免疫系统的监视和清除^[7-8]。体外实验研究^[9]表明,PD-L1能调节糖酵解相关酶类,直接影响肿瘤部位的代谢。肿瘤细胞具有高代谢和高糖摄取率的特点,以保证肿瘤的快速增殖和生长。¹⁸F-脱氧葡萄糖(flurodeoxyglucose, FDG)正电子发射断层扫描/计算机体层摄影(PET/CT)能够反映TME的代谢水平,已被广泛应用于NSCLC的诊断、分期、疗效评价及预后评估^[10]。因此通过探索代谢指标与肿瘤相关免疫细胞浸润水平和免疫检查点的相关性,从而反映TME的免疫状态,以期寻找新的免疫阻断方法抑制肿瘤的生长。本研究初步分析了肺腺癌原发灶代谢指标包括最大标准摄取值(max of standardized uptake value, SUVmax)、标准摄取值峰值(peak of standardized uptake value, SUVpeak)、平均标准摄取值(mean of standardized uptake value, SUVmean)、肿瘤代谢体积(metabolic tumor volume, MTV)、糖酵解总量(tumor lesion glycolysis, TLG)与CD3⁺肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)、CD8⁺TIL、CD68⁺肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated material, TAM)、CD163⁺TAM、CD11c⁺DC、Foxp3⁺Treg、PD-1⁺TIL和PD-L1⁺肿瘤细胞表达水平的相关性及其临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集2008年4月至2014年8月在天津医科大学肿瘤医院行肺癌根治术的85例肺腺癌患者组织标本及临床资料。病例纳入标准:(1)病理组织确诊为肺腺癌;(2)未合并其他肿瘤;(3)PET/CT影像、病理蜡块及术后随访资料完整者。病例排除标准:(1)术前有治疗史者(如放疗、化疗及生物靶向治疗等);(2)据国际抗癌联盟(UICC)指定第8版分期指南属分期不明者;(3)同时性或异时性并发其他肿瘤者;(4)非因肿瘤死亡者(包括术后1个月内死亡患者);(5)终

末期肝肾功不全或糖尿病、高血压控制不佳者。

1.2 主要试剂

兔单克隆抗体CD11c(ab52632)购自美国Abcam公司,兔单克隆抗体CD3(MA5-14524)、鼠单克隆抗体CD68(MA5-13324)和CD163(MA5-11458)均购自美国Thermo Fisher公司,鼠单克隆抗体CD8(TA802376)购自北京中杉金桥生物技术有限公司,鼠抗人多克隆抗体Foxp3购自Abcam公司,PD-1和PD-L1抗体购自Proteintech公司,即用型免疫组化Elivision plus试剂盒(鼠/兔)、二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色剂均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 免疫组化法检测肺腺癌组织中CD3、CD8、CD68、CD163、CD11c、Foxp3、PD-1和PD-L1的表达

采用免疫组化法,将石蜡切片常规脱蜡水化,抗原修复后以3%的H₂O₂封闭内源性过氧化酶,加入稀释比例均为1:150的CD11c、CD3、CD163、CD8和CD68(1:500)、Foxp3(1:100)、PD-1(1:400)、PD-L1(1:200)一抗,于4℃孵育过夜。次日加入二抗(即用型免疫组化Elivision plus试剂),DAB显色,苏木精复染,脱水封片。以试剂公司提供的阳性照片作为阳性对照,以磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照。阳性细胞为细胞膜或细胞质内出现棕黄色颗粒,每例组织玻片随机选取5个高倍(×400)视野进行观察计数,取均值。取中位数作为cut-off值,并取cut-off值将患者分为高、低两组。将PD-L1阳性细胞数>5%(PD-L1⁺肿瘤细胞数/总肿瘤细胞数)定义为阳性,≤5%为阴性。

1.4 全身¹⁸F-FDG PET/CT检查

患者影像数据通过DiscoveryST4 PET/CT扫描仪(美国GE公司)获取。¹⁸F-FDG为pH值5~7、放射化学纯度≥95%的等渗溶液,由天津医科大学肿瘤医院分子影像及核医学诊疗科提供。检查前患者需禁食6h以上,且空腹血糖<6.8 mmol/L,经肘前静脉注射剂量为3.7~4.81 MBq/kg的显影剂,平静休息约60 min后行全身PET/CT显像,显影范围为颅底部至股骨中段,最后由2位以上经验丰富的核医学医师将所得图像行衰减校正及迭代法重建,在放射性核素浓聚灶部位设置感兴趣区(region of interest, ROI),通过计算机软件计算出该区的SUVmax等多个数据。

1.6 统计学处理

运用SPSS 20.0统计软件及Graphpad5.0进行统计和作图分析,总生存期(overall survival, OS)为患者手术切除至死亡或末次随访时间,生存分析采用Kaplan-Meier法及Cox比例风险回归模型;对于连续数

据,不同组间比较采用 t 检验或 Wilcoxon 检验;数据的相关性分析采用 Pearson 相关分析法。采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的一般资料

85 例患者的一般临床病理特征见表 1。其中,男性 38 例、女性 47 例,年龄 33~80 岁、中位年龄 62 岁。病例分期:I 期 22 例,II 期 19 例,III 期 40 例,IV 期 4 例。中位随访时间为 35 个月。

2.2 肿瘤代谢指标与肺腺癌患者临床病理特征有关联

利用中位数作为 cut-off 值,将 SUVmax、SUVpeak、SUVmean、MTV、TLG 分别分为高、低 2 组(表 1)。SUVmax 中位值为 8.5(2.3~25.1),其与淋巴结转移、肿瘤分期相关(均 $P < 0.05$)。SUVpeak 中位值为 6.87(1.73~32.94),其与肿瘤大小、淋巴结转移相关($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。SUVmean 中位值为 5.5(1.41~24.97),其与肿瘤大小相关($P < 0.01$)。MTV 中位值为 7.04(1.72~102),肿瘤直径越大、淋巴结转移阳性、肿瘤分期越晚的患者,其 MTV 值越高(均 $P < 0.01$)。TLG 中位值为 36.8(5.1~1 600.23),肿瘤直径越大、淋巴结转移阳性、肿瘤晚期,以及吸烟患者的 TLG 明显较高(均 $P < 0.01$)。

表 1 肺腺癌患者肿瘤代谢指标与临床病理特征有关联

Tab.1 Correlation among tumor metabolic indicators and clinicopathologic features in patients with lung adenocarcinoma

Clinicopathologic feature	N	SUVmax				SUVpeak				SUVmean			
		High	Low	χ^2	P	High	Low	χ^2	P	High	Low	χ^2	P
Gender													
Male	38	20	18	0.021	0.886	21	17	0.941	0.332	18	20	0.115	0.735
Female	47	24	23			21	26			24	23		
Age (t/a)													
≤ 60	42	23	19	0.299	0.585	20	22	0.107	0.744	20	22	0.107	0.744
> 60	43	21	22			22	21			22	21		
Tumor size (d/cm)													
≤ 3	54	37	17	16.645	< 0.001	17	37	19.043	< 0.001	20	34	9.071	0.003
> 3	31	7	24			25	6			22	9		
Lymphatic metastasis													
No	23	17	6	6.195	0.013	7	16	4.543	0.033	8	15	2.7	0.1
Yes	62	27	35			35	27			34	28		
TNM stage													
I	22	17	5	8.403	0.038	6	16	6.408	0.093	7	15	4.472	0.215
II	19	9	10			11	8			11	8		
III	40	17	23			22	18			21	19		
IV	4	1	3			3	1			3	1		
Smoking history													
No	53	28	25	0.064	0.8	23	30	2.038	0.153	24	29	0.96	0.327
Yes	32	16	16			19	13			18	14		
BMI													
< 25	42	19	23	1.416	0.234	22	20	0.293	0.588	24	18	1.985	0.159
≥ 25	43	25	18			20	23			18	25		
Clinicopathologic feature	N	MTV				TLG							
		High	Low	χ^2	P	High	Low	χ^2	P				
Gender													
Male	38	21	17	0.601	0.438	21	17	0.941	0.332				
Female	47	22	25			21	26						
Age (t/a)													
≤ 60	42	22	20	0.107	0.744	21	21	0.011	0.915				
> 60	43	21	22			21	22						
Tumor size (d/cm)													
≤ 3	54	16	38	26.019	< 0.001	15	39	27.723	< 0.001				
> 3	31	27	4			27	4						
Lymphatic metastasis													
No	23	6	17	7.573	0.006	5	18	9.66	0.002				
Yes	62	37	25			37	25						
TNM stage													
I	22	5	17	11.909	0.008	4	18	14.615	0.002				
II	19	11	8			12	7						
III	40	23	17			22	18						
IV	4	4	0			4	0						
Smoking history													
No	53	23	30	2.913	0.088	21	32	5.397	0.02				
Yes	32	20	12			21	11						
BMI													
< 25	42	22	20	0.107	0.744	22	20	0.293	0.588				
≥ 25	43	21	22			20	23						

BMI: Body mass index

2.3 肿瘤免疫指标与病理特征的相关性

免疫组化染色结果(图1)显示,CD68⁺TAM与淋巴结转移与分期相关,淋巴结转移和晚期患者,其CD68⁺TAM水平越高($r=11.385$ 、 12.671 ,均 $P<0.01$)。CD163⁺TAM与淋巴结转移阳性相关,淋巴结转移患者,其CD163⁺TAM表达越高($r=4.001$, $P<0.05$)。

CD3⁺TIL与肿瘤大小相关,肿瘤直径越大,CD3⁺TIL浸润越多($r=6.559$, $P<0.01$)。Foxp3⁺Treg与体质量指数(body mass index, BMI)相关, BMI高的肥胖患者,其Foxp3⁺Treg的浸润水平降低($r=4.253$, $P<0.05$)。PD-1⁺TIL与肿瘤大小相关,肿瘤直径越大,PD-1⁺TIL浸润水平越高($r=6.559$, $P<0.01$)。

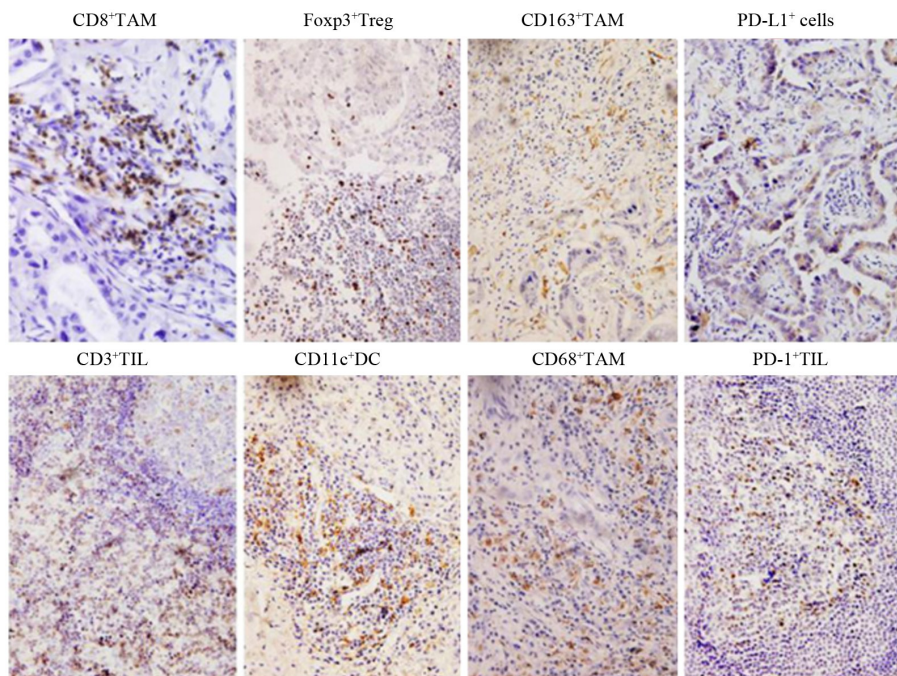


图1 肿瘤浸润免疫细胞在肺腺癌组织的表达(免疫组织化学染色,×400)

Fig.1 Expressions of tumor infiltrating immune cells in lung adenocarcinoma tissues (immunohistochemical staining,×400)

2.4 肿瘤代谢指标与免疫指标的相关性

分析肿瘤代谢指标与免疫指标之间相关性发现,肿瘤原发灶SUVmax、SUVpeak、SUVmean与CD68⁺TAM的表达水平在肺腺癌患者中均呈负相关($r=-0.253$ 、 -0.265 、 -0.263 ,均 $P<0.05$),而与PD-1⁺TIL表达水平呈正相关($r=0.427$ 、 0.402 、 0.395 ,均 $P<0.01$);SUVmax、

SUVpeak与Foxp3⁺Treg表达水平具有正相关性趋势,但差异无统计学意义($r=0.204$ 、 0.209 ,均 $P>0.05$;图2、3);SUVmax、SUVpeak、SUVmean与其他免疫指标均无相关性;MTV、TLG与Treg、PD-1⁺TIL表达水平呈正相关(MTV: $r=0.313$ 、 0.307 ,均 $P<0.01$;TLG: $r=0.29$ 、 0.407 ,均 $P<0.01$);其余免疫指标未发现相关性(图3)。

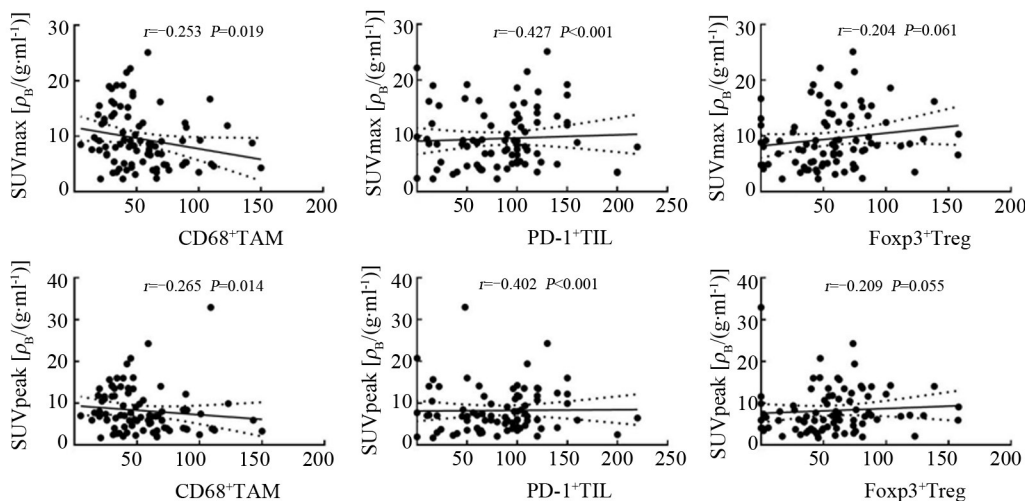


图2 SUVmax和SUVpeak与免疫指标的相关性

Fig.2 Correlation among SUVmax, SUVpeak and immune indexes

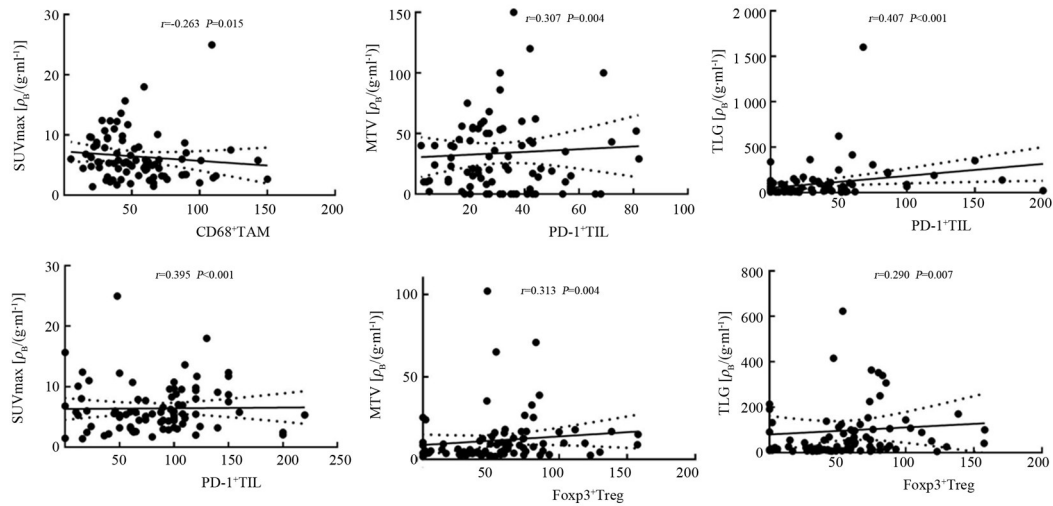


图3 SUVmean、MTV和TLG与免疫指标的相关性

Fig.3 Correlation among SUVmean, MTV, TLG and immune indexes

2.5 免疫指标之间的相关性

分析免疫指标之间的相关性,发现Foxp3⁺Treg与CD68⁺TAM呈负相关($r=-0.286, P<0.01$),Foxp3⁺Treg

与CD3⁺TIL呈正相关($r=0.465, P<0.01$),其余免疫指标间无明显相关性(表2)。

表2 TME中各免疫指标之间的相关性

Tab.2 Correlation among different immune indexes in TME

Cell	C68 ⁺ TAM	CD163 ⁺ TAM	CD11c ⁺ DC	CD3 ⁺ TIL	CD8 ⁺ TIL	Foxp3 ⁺ Treg	PD-1 ⁺ TIL	PD-L1 ⁺ cells
C68 ⁺ TAM	<i>r</i>							
	<i>P</i>							
CD163 ⁺ TAM	<i>r</i> -0.076							
	<i>P</i> 0.487							
CD11c ⁺ DC	<i>r</i> 0.164	-0.013						
	<i>P</i> 0.134	0.904						
CD3 ⁺ TIL	<i>r</i> -0.102	0.182	-0.105					
	<i>P</i> 0.352	0.096	0.341					
CD8 ⁺ TIL	<i>r</i> 0.120	-0.095	0.17	0.13				
	<i>P</i> 0.276	0.389	0.12	0.236				
Foxp3 ⁺ Treg	<i>r</i> -0.286	0.170	-0.084	0.465	0.162			
	<i>P</i> 0.008	0.119	0.447	<0.001	0.138			
PD-1 ⁺ TIL	<i>r</i> 0.077	-0.022	-0.005	-0.128	-0.039	-0.127		
	<i>P</i> 0.486	0.841	0.962	0.241	0.729	0.248		
PD-L1 ⁺ cells	<i>r</i> 0.05	0.066	-0.013	-0.131	-0.211	-0.205	0.172	
	<i>P</i> 0.648	0.549	0.907	0.234	0.053	0.06	0.116	

2.6 肿瘤代谢和免疫指标与患者预后的关联

Kaplan-Meier分析结果(图4,5)显示,肿瘤大小、淋巴结转移、TNM分期、SUVmax、SUVpeak、SUVmean、MTV、TLG与患者的PFS相关(均 $P<0.01$)。肿瘤大小、TNM分期、SUVmax、SUVmean、CD11c⁺DC、PD-L1⁺肿瘤细胞、TLG与OS相关($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

3 讨论

目前,针对特定基因突变的靶向药物的出现极

大地提高了肿瘤患者的预后。肺腺癌患者发生EGFR、ALK等基因突变的可能性明显高于肺鳞癌,表明不同病理类型其分子基因表达模式的不同。本研究对肺腺癌患者的组织标本进行了免疫组织化学染色,探讨肺腺癌患者中肿瘤代谢指标和免疫指标的相关性。恶性肿瘤细胞分裂与增殖异常活跃、代谢旺盛,摄取大量葡萄糖进行有氧糖酵解,以满足其高代谢和快速增殖的需求^[11]。PET/CT就是利用这一原理,通过放射性氟标记的葡萄糖类似物¹⁸F-FDG检测肿

瘤的代谢状态。¹⁸F-FDG PET/CT 融合图像能早期、快速、准确、全面发现病灶,因此可以作为肿瘤分期、疗效评估、辅助放疗的有效手段,其影像参数,包括

SUVmax、SUVmean、SUVpeak、MTV 和 TLG 等,对预测肿瘤患者的预后也具有价值^[12]。

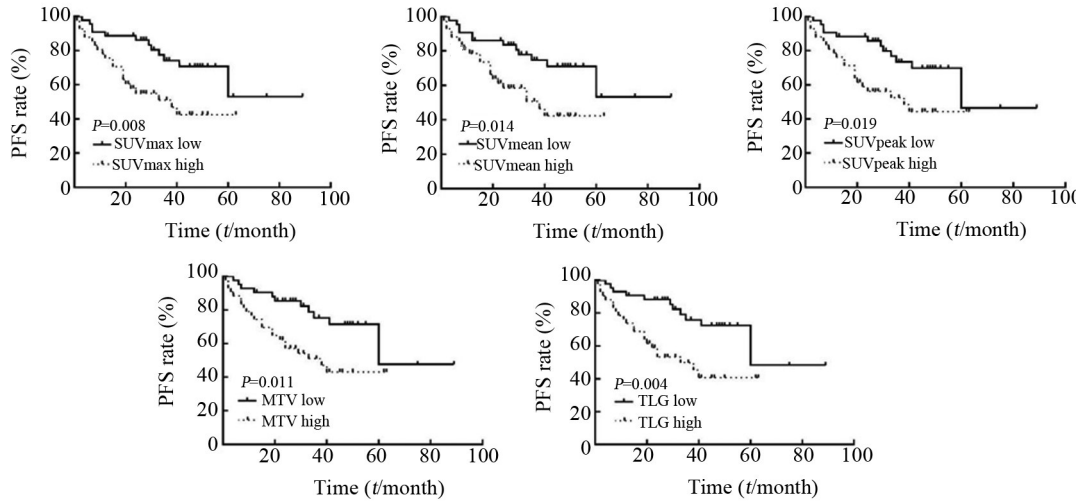


图4 肺腺癌代谢指标和免疫指标与患者PFS的关系

Fig.4 The relationship among metabolic index, immune index and PFS in lung adenocarcinoma patients

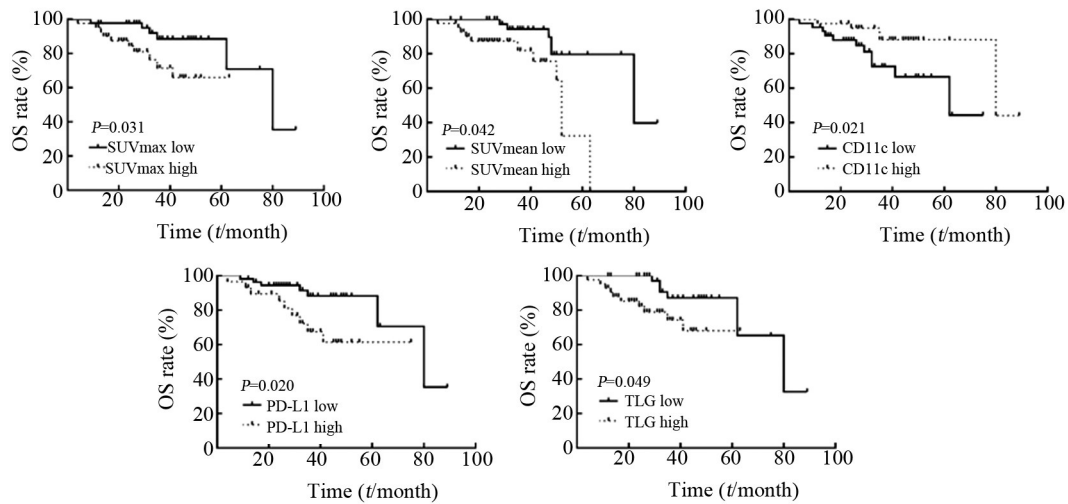


图5 肺腺癌代谢指标和免疫指标与患者OS的关系

Fig.5 The relationship among metabolic index, immune index and OS in lung adenocarcinoma patients

TME 是指肿瘤的发生、生长及转移所处的环境,其与肿瘤细胞所处的内外环境有着密切关系,影响肿瘤的生长、发展和患者预后。肿瘤免疫微环境(tumor immune microenvironment, TIM)中的细胞包括 T 细胞、B 细胞、DC、NK 细胞、髓系抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)、中性粒细胞和 TAM 等免疫细胞。

恶性肿瘤快速生长依赖于其自身具有逃避来自宿主免疫系统的监视和攻击,以及能够获得使其快速生长所需要的营养物质的能力^[13]。目前公认的肿瘤糖酵解是肿瘤的十大标志之一^[14]。本研究通过对

肿瘤原发灶代谢指标与免疫标志物的相关性分析,发现肿瘤代谢指标与部分免疫指标存在一定的相关性。提示¹⁸F-FDG 代谢指标与 TME 的免疫状态可能存在一定关系,这对患者采取及时有效的干预措施具有潜在的预测价值。

Treg 是体内一类具有独特免疫调节作用的 T 细胞亚群^[15]。Treg 可通过产生 TGF-β、IL-10 等抑制性细胞因子,竞争性结合 IL-2 抑制 T 细胞功能^[16];表达负性调控分子如细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4, CTLA-4)、免疫蛋白-3 (immunoprotein-3, TIM-3) 及 PD-L1 促进

局部效应T细胞功能障碍^[17-20];分泌颗粒酶和穿孔素,抑制NK细胞增殖,诱导抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)向免疫耐受方向发展,促进肿瘤血管生成^[20]。多项研究^[21-23]表明,在乳腺癌、肾癌、肺癌、前列腺癌、肝癌等多种恶性肿瘤患者外周血和TIL中Treg细胞数目都明显增高,并且与患者预后呈负相关。本研究发现,Treg与MTV、TLG呈正相关性,并与SUVmax、SUVpeak也出现正相关趋势,表明Treg浸润程度与肿瘤的负荷程度及恶性程度具有一定相关性,这也与以上研究结论一致。TAM也是TME中的一类重要的免疫细胞,其主要通过细胞表型趋化发挥不同的作用。M1型TAM发挥抗肿瘤作用,而M2型TAM发挥促肿瘤作用。在本研究发现,CD68⁺TAM与肿瘤代谢指标呈负相关,表明M1型TAM可能在肺腺癌TME中占主导地位,发挥抗肿瘤效应。

目前,TME及靶向治疗NSCLC已成为新的研究热点。有研究^[24-26]表明,针对PD-1/PD-L1轴的免疫检查点抑制剂治疗NSCLC较标准的二线化疗可以显著延长患者的生存时间。免疫检查点抑制剂在临床肿瘤免疫治疗历史上具有里程碑式的意义,PD-1抗体/PD-L1抗体其通过阻断PD-1/PD-L1通路显示出了令人鼓舞的抗肿瘤效果。PD-L1/PD-1信号通路激活可使TME中T细胞免疫效应降低,从而介导肿瘤免疫逃逸,促进肿瘤生长^[27]。PD-L1与PD-1结合促使PD-1的免疫受体酪氨酸转换基序结构域中的酪氨酸发生磷酸化,抑制下游AKT、ERK等通路的活化、抑制效应T细胞活性,使肿瘤细胞逃避机体免疫监视和杀伤^[28]。上述机制提示,PD-L1⁺肿瘤细胞容易获得免疫逃逸,避免免疫细胞杀伤,其生长迅速。这与本研究中PD-L1高表达患者的预后差的结论一致。研究^[9,29]发现,PD-L1可直接影响肿瘤细胞代谢活性,其通过影响AKT/mTOR通路,可直接降低糖酵解速率,表明PD-L1可作为肿瘤代谢的直接调节剂。同时,在TME中PD-L1可增强肿瘤细胞糖酵解速率、耗尽葡萄糖,使同环境中的免疫细胞处于“饥饿”状态,从而促进获得免疫逃逸、促进肿瘤生长^[30]。本研究发现,PD-1⁺TIL与SUVmax、SUVmean、SUVpeak、MTV和TLG肿瘤代谢指标均具有正相关性,PD-1⁺TIL浸润越多,其肿瘤糖酵解代谢水平越高、代谢速率越快,肿瘤进展越迅速。

综上所述,本研究结果表明肿瘤原发灶代谢状态与部分肿瘤浸润免疫细胞表达水平具有显著相关,提示¹⁸F-FDG PET/CT代谢指标可反映TME的免疫状态,对肺腺癌患者的预后判断及免疫检查点抑制剂的临床应用具有重要的参考价值。

[参考文献]

- [1] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [2] SAWABATAN, ASAMURA H, GOYA T, et al. Japanese Lung Cancer Registry Study: first prospective enrollment of a large number of surgical and nonsurgical cases in 2002[J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(9): 1369-1375. DOI:10.1097/JTO.0b013e3181e452b9.
- [3] GOLDSTRAW P, CHANSKY K, CROWLEY J, et al. The IASLC lung cancer staging project: proposals for revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM classification for lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(1): 39-51. DOI:10.1016/j.jtho.2015.09.009.
- [4] BREMNES R M, BUSUND L T, KILVÆR T L, et al. The role of tumor-infiltrating lymphocytes in development, progression, and prognosis of non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(6): 789-800. DOI:10.1016/j.jtho.2016.01.015.
- [5] WHITESIDE T L. Immune responses to cancer: are they potential biomarkers of prognosis? [J/OL]. *Front Oncol*, 2013, 3: 107[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3656353/>. DOI:10.3389/fonc.2013.00107.
- [6] REMARK R, BECKER C, GOMEZ J E, et al. The non-small cell lung cancer immune contexture. A major determinant of tumor characteristics and patient outcome[J/OL]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015, 191(4): 377-390[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5447326/>. DOI:10.1164/rccm.201409-1671PP.
- [7] DAI S Y, JIA R, ZHANG X, et al. The PD-1/PD-Ls pathway and autoimmune diseases[J]. *Cell Immunol*, 2014, 290(1): 72-79. DOI: 10.1016/j.cellimm.2014.05.006.
- [8] GAJEWSKI T F, WOO S R, ZHA Y Y, et al. Cancer immunotherapy strategies based on overcoming barriers within the tumor microenvironment[J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(2): 268-276. DOI: 10.1016/j.coi.2013.02.009.
- [9] CHANG C H, QIU J, O'SULLIVAN D, et al. Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression[J/OL]. *Cell*, 2015, 162(6): 1229-1241[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4864363/>. DOI:10.1016/j.cell.2015.08.016.
- [10] TAKEUCHI S, KHIEWVAN B, FOX P S, et al. Impact of initial PET/CT staging in terms of clinical stage, management plan, and prognosis in 592 patients with non-small-cell lung cancer[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2014, 41(5): 906-914. DOI: 10.1007/s00259-013-2672-8.
- [11] DONNELLY R P, FINLAY D K. Glucose, glycolysis and lymphocyte responses[J]. *Mol Immunol*, 2015, 68(2 Pt C): 513-519. DOI: 10.1016/j.molimm.2015.07.034.
- [12] 高涛涛,徐美青.食管鳞癌胃壁内转移患者PET/CT代谢参数与病理特征及预后的关系[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(5): 530-535. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2019.05.008.
- [13] VILLALBA M, RATHORE M G, LOPEZ-ROYUELA N, et al. From tumor cell metabolism to tumor immune escape[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(1): 106-113. DOI:10.1016/j.biocel.2012.04.024.
- [14] HANAHAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674. DOI:10.1016/j.cell.2011.02.013.

- [15] 张瑞萍, 徐冰心, 王社论, 等. 晚期非小细胞肺癌调节性T细胞与预后的关系[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(3): 521-524. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2013.03.22.
- [16] WEI T F, ZHANG J, QIN Y H, et al. Increased expression of immunosuppressive molecules on intratumoral and circulating regulatory T cells in non-small-cell lung cancer patients[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(7): 2190-2201[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4548330/>.
- [17] JAYARAMAN P, JACQUES M K, ZHU C, et al. TIM3 mediates T cell exhaustion during *Mycobacterium tuberculosis* infection[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2016, 12(3): e1005490[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4788425/>. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005490.
- [18] LIANG B T, WORKMAN C, LEE J, et al. Regulatory T cells inhibit dendritic cells by lymphocyte activation gene-3 engagement of MHC class II[J]. *J Immunol*, 2008, 180(9): 5916-5926. DOI: 10.4049/jimmunol.180.9.5916.
- [19] RABE H, NORDSTRÖM I, ANDERSSON K, et al. *Staphylococcus aureus* convert neonatal conventional CD4(+) T cells into FOXP3(+) CD25(+) CD127(low) T cells via the PD-1/PD-L1 axis[J/OL]. *Immunology*, 2014, 141(3): 467-481[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3930383/>. DOI:10.1111/imm.12209.
- [20] 王晓银, 王金岩. CD4⁺CD25⁺Treg 与肺癌的发生发展[J]. 解剖科学进展, 2016, 22(2): 214-219, 221. DOI: 10.16695/j.cnki.1006-2947.2016.02.028.
- [21] CHEN Y L, CHANG M C, CHEN C A, et al. Depletion of regulatory T lymphocytes reverses the imbalance between pro- and anti-tumor immunities via enhancing antigen-specific T cell immune responses [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47190[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3474819/>. DOI:10.1371/journal.pone.0047190.
- [22] FLAMMIGER A, WEISBACH L, HULAND H, et al. High tissue density of FOXP3⁺ T cells is associated with clinical outcome in prostate cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(6): 1273-1279. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.035.
- [23] LIU S Z, FOULKES W D, LEUNG S, et al. Prognostic significance of FOXP3⁺ tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer depends on estrogen receptor and human epidermal growth factor receptor-2 expression status and concurrent cytotoxic T-cell infiltration[J/OL]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(5): 432[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4303113/>. DOI:10.1186/s13058-014-0432-8.
- [24] BORGHAEI H, PAZ-ARES L, HORN L, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer[J/OL]. *N Engl J Med*, 2015, 373(17): 1627-1639[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5705936/>. DOI: 10.1056/NEJMoa1507643.
- [25] HERBST R S, BAAS P, KIM D W, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2016, 387(10027): 1540-1550. DOI:10.1016/S0140-6736(15)01281-7.
- [26] ANTONIA S, GOLDBERG S B, BALMANOUKIANA, et al. Safety and antitumour activity of durvalumab plus tremelimumab in non-small cell lung cancer: a multicentre, phase 1b study[J/OL]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(3): 299-308[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5500167/>. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00544-6.
- [27] PARDOLL D M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy[J/OL]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 252-264[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4856023/>. DOI:10.1038/nrc3239.
- [28] TAUBE J M, KLEIN A, BRAHMER J R, et al. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(19): 5064-5074. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-13-3271.
- [29] LAPLANTE M, SABATINI D M. mTOR signaling in growth control and disease[J/OL]. *Cell*, 2012, 149(2): 274-293[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3331679/>. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.017.
- [30] SPRANGER S, KOBLISH H K, HORTON B, et al. Mechanism of tumor rejection with doublets of CTLA-4, PD-1/PD-L1, or IDO blockade involves restored IL-2 production and proliferation of CD8(+) T cells directly within the tumor microenvironment[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2014, 2: 3[2019-12-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4019906/>. DOI:10.1186/2051-1426-2-3.

[收稿日期] 2019-12-13 [修回日期] 2020-03-10

[本文编辑] 党瑞山