

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.01.014

PD-1/PD-L1、TIM-3 表达与食管癌
临床病理特征及预后的关系*刘凯¹,刘燕²,黄莉¹,刘凯^{1△}

(新疆医科大学附属肿瘤医院:1.头颈综合放射治疗科;2.胸腹放射治疗科,乌鲁木齐 830011)

[摘要] **目的** 探讨 PD-1/PD-L1、TIM-3 表达与食管癌临床病理特征及预后的关系。**方法** 收集 2008 年 1 月 1 日至 2012 年 12 月 31 日该院收治的行根治性手术治疗的 104 例食管癌患者术后病理标本,采用免疫组织化学法检测 PD-1、PD-L1、TIM-3 表达,对比癌组织、癌旁组织相关蛋白表达情况,分析其与临床病理特征的关系,并采用 Kaplan-Meier 与 Cox 回归模型分析相关因素与无进展生存期(PFS)的关系。**结果** 与癌旁组织比较,癌组织 PD-1、PD-L1、TIM-3 阳性表达例数均明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。PD-1、PD-L1、TIM-3 表达与性别、年龄、族别、吸烟史、饮酒史无关,病理 TNM 分期越高癌组织三者表达水平越高,且 PD-1 表达水平可能与病变部位有关,肿瘤浸润程度越深、伴淋巴结转移者 PD-L1、TIM-3 表达水平越高,TIM-3 可能与肿瘤分化程度有关。随访至 2014 年 12 月 31 日,PD-1、TIM-3 对患者中位 PFS 有影响,PD-L1 对患者中位 PFS 无影响,PD-1、TIM-3 高表达可能是患者不良预后的独立影响因素。**结论** 癌组织 PD-1、TIM-3 表达可能影响患者预后。

[关键词] 食管肿瘤;PD-1/PD-L1;TIM-3;预后**[中图分类号]** R735.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)01-0065-05

Relationship between PD-1/PD-L1 and TIM-3 expressions with clinicopathological characteristics and prognosis of esophageal cancer*

LIU Kai¹, LIU Yan², HUANG Li¹, LIU Kai^{1△}

(1. Department of Head and Neck Comprehensive Radiotherapy; 2 Department of Thoracic and Abdominal Radiotherapy, Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the relationship between PD-1/PD-L1 and TIM-3 expressions with clinicopathological characteristics and prognosis of esophageal cancer. **Methods** The postoperative pathological samples in 104 patients with esophageal cancer radical surgery in this hospital from January 1, 2008 to December 31, 2012 were collected. The PD-1 and PD expressions were detected by immunohistochemistry. The related protein expressions were compared between the cancer tissues and paracancerous tissues. Their correlation with the clinicopathologic characteristics was analyzed. The Kaplan-Meier and Cox regression model were adopted to analyze the relationship between the related factors and progress free survival (PFS). **Results** Compared with paracancerous tissues, the number of cases of PD-1, PD-L1 and TIM-3 positive expression in cancer tissue were significantly increased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The PD-1, PD-L1 and TIM-3 expressions had no relation with the gender, age, nationality, smoking history and drinking history. The higher the pathological TNM stage, the higher the expression level of the three in the cancer tissue, moreover the PD-1 expression level could be related to the location of the lesion. The deeper the tumor infiltration, the higher the PD-L1 and TIM-3 expression levels in the patients with lymph node metastasis, TIM-3 could be related to the degree of tumor differentiation. The follow-up lasted until December 31, 2014, PD-1 and TIM-3 had the influence on the patient's median PFS, moreover the high PD-L1 and TIM-3 expression could be the independent influencing factors of poor prognosis in the patients with esophageal cancer.

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2017D01C389)。 作者简介:刘凯(1989—),主治医师,在读博士研究生,主要从事肿瘤放射治疗基础与临床研究。 △ 通信作者, E-mail: 59787129@qq.com。

Conclusion The PD-1 and TIM-3 expressions in cancer tissue may affect the prognosis of the patients.

[Key words] esophageal cancer; PD-1/PD-L1; TIM-3; prognosis

食管癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一。2020 年全球癌症报告显示,全球食管癌发病率居恶性肿瘤第 8 位,死亡率居恶性肿瘤第 6 位,食管鳞癌占所有食管癌的 87.0%,且超过一半的病例发生在中国^[1]。中国是食管癌高发国家之一,尽管目前食管癌的综合治疗有了很大进步,但患者的预后仍较差,高复发及远处转移风险是影响患者预后的主要原因^[2]。一些重要的免疫检查点如 PD-1/PD-L1 信号通路、TIM-3 已被证实在多种恶性肿瘤组织中异常表达,并与肿瘤进展、转移及预后密切相关,有可能成为肿瘤免疫学治疗的新基准^[3-6],但其在食管癌方面的文献报道较少见。本研究分析了 PD-1/PD-L1、TIM-3 在癌组织、食管癌旁正常组织表达的生物学意义及其与患者一般临床病理特征和预后的关系,评价其在预测食管癌患者预后中的临床应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2008 年 1 月 1 日至 2012 年 12 月 31 日本院收治的行根治性手术治疗的 104 例食管癌患者术后病理标本(包括癌组织和距离切缘大于 5 cm 的癌旁正常组织)作为研究对象。纳入标准:(1)符合 2009 年第 7 版美国联合癌症分类委员会/国际抗癌联盟诊断标准;(2)经病理检查确诊为食管鳞状细胞癌;(3)临床相关资料完整及石蜡标本保存完整;(4)相关检查排除多发性癌;(5)行食管癌根治术;(6)对本研究知情同意。排除标准:(1)曾进行过新辅助治疗;(2)初次确诊时即有转移;(3)合并第二恶性肿瘤。本研究通过医院医学伦理部门批准。

1.2 方法

应用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结(streptomyces avidin peroxidase link, SP)法进行免疫组织化学染色,检测癌组织及癌旁正常组织 PD-1/PD-L1、TIM-3 的表达。切片由 2 名有工作经验的病理科医师双盲独立观察结果,取二者均值纳入统计。

1.3 随访

采用定期复查、信件、电话随访等方式与患者或家属进行沟通随访。以患者病理诊断报告确诊为食

管鳞状细胞癌的当月为随访初始月,以患者死亡为终末事件,随访截止日期为 2014 年 12 月 31 日。104 例患者获随访 6~71 个月,中位随访 24 个月,失访 0 例,随访率为 100%。无进展生存期(progression-free survival, PFS)指患者从接受治疗开始至观察到疾病进展或发生因任何原因死亡之间的这段时间。

1.4 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以例数或百分率表示,采用独立样本 t 检验、 χ^2 检验、秩和检验等;采用 Kaplan-Meier 法分析计算中位 PFS,并用 Log-Rank 法进行生存分析,再采用 Cox 回归模型进行多因素分析。计算优势比(odds ratio, OR)及 95% 可信区间(95% confidence interval, 95% CI)。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PD-1、PD-L1、TIM-3 表达情况

癌组织 PD-1、PD-L1、TIM-3 表达阳性例数均明显高于癌旁正常组织,见表 1。

表 1 癌组织和癌旁正常组织 PD-1、PD-L1、TIM-3 表达比较(n)

项目	癌组织	癌旁正常组织	χ^2	P
PD-1 表达			18.937	0.00 01
阳性	39	12		
阴性	65	92		
PD-L1 表达			17.694	0.00 01
阳性	46	18		
阴性	58	86		
TIM-3 表达			86.527	0.00 01
阳性	88	21		
阴性	16	83		

2.2 PD-1、PD-L1、TIM-3 表达与临床病理特征的关系

肿瘤浸润程度越深、伴淋巴结转移者 PD-L1、TIM-3 表达水平越高, TIM-3 也可能与肿瘤分化程度有关,见表 2。

表 2 PD-1、PD-L1、TIM-3 表达与临床病理特征的关系(n)

项目	n	PD-1 表达		χ^2/t	P	PD-L1 表达		χ^2/t	P	TIM-3 表达		χ^2/t	P
		阴性	阳性			阴性	阳性			阴性	阳性		
性别				1.051	0.305			0.034	0.854			1.506	0.22
男	60	40	20			33	27			7	53		

续表 2 PD-1、PD-L1、TIM-3 表达与临床病理特征的关系 (n)

项目	n	PD-1 表达		χ^2/t	P	PD-L1 表达		χ^2/t	P	TIM-3 表达		χ^2/t	P
		阴性	阳性			阴性	阳性			阴性	阳性		
女	44	25	19			25	19			9	35		
年龄				0.646	0.422			0.04	0.841			0.634	0.426
≤60 岁	35	20	15			20	15			4	31		
>60 岁	69	45	24			38	31			12	57		
族别				0.173	0.677			0.016	0.901			1.448	0.229
少数民族	64	41	23			36	28			12	52		
汉族	40	24	16			22	18			4	36		
吸烟史				2.059	0.218			0.034	0.854			0.179	0.672
有	44	31	13			25	19			6	38		
无	60	34	26			33	27			10	50		
饮酒史				0.041	0.839			0.156	0.693			1.182	0.277
有	52	32	20			28	24			6	46		
无	52	33	19			30	22			10	42		
分化程度				0.132	0.895			0.398	0.691			2.544	0.011
高	14	10	4			10	4			6	8		
中	59	35	24			41	18			13	46		
低	31	20	11			13	18			2	29		
病变最大径				0.126	0.723			17.008	<0.001			4.372	0.037
≤3 cm	53	34	19			40	13			12	41		
>3 cm	51	31	20			18	33			4	47		
淋巴结转移				1.625	0.199			7.919	0.005			8.831	0.003
有	61	35	26			27	34			4	57		
无	43	30	13			31	12			12	31		
TNM 分期				2.277	0.023			2.41	0.016			2.600	0.009
I 期	22	20	2			15	7			7	15		
II 期	46	25	21			27	19			7	39		
III 期	36	20	16			16	20			2	34		
病变部位				9.481	0.009			3.415	0.181			2.572	0.276
胸上段	18	16	2			13	5			5	13		
胸中段	54	27	27			26	28			7	47		
胸下段	32	22	10			19	13			4	28		

2.3 生存和预后影响因素分析

104 例患者中位 PFS 为 10.95 个月,其中随访满 6、12、18 个月 PFS 患者分别占 80.8%、42.3%、3.8%。PD-1、TIM-3 对患者中位 PFS 有影响,PD-L1 对患者中位 PFS 无影响;肿瘤 TNM 分期、分化程度、病变部位对患者中位 PFS 有影响,其余项指标对患者中位 PFS 无影响,见图 1~3。将有意义的影响因素纳入模型进行多因素分析,仅 PD-1、TIM-3 高表达,肿瘤分化程度是患者不良预后的独立因素,差异有统计学意义($P < 0.05$)。PD-1、TIM-3 高表达的食管鳞癌根治性术后患者中位 PFS 均低于 PD-1 阴性患者

($OR = 1.744, 2.316$),肿瘤高、中分化程度的食管鳞癌根治性术后患者中位 PFS 高于低分化程度患者($OR = 2.183$),见表 3。

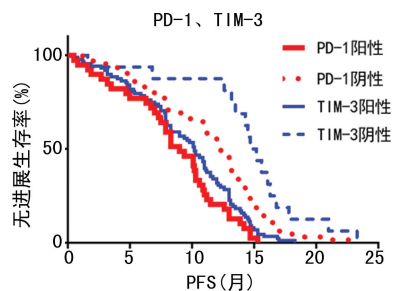


图 1 PD-1、TIM-3 表达对 PFS 的影响

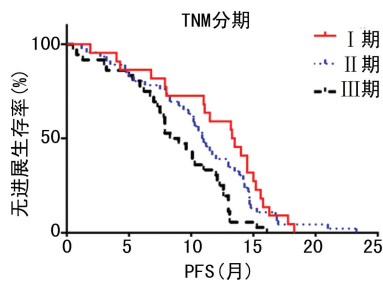


图2 肿瘤 TNM 分期对 PFS 的影响

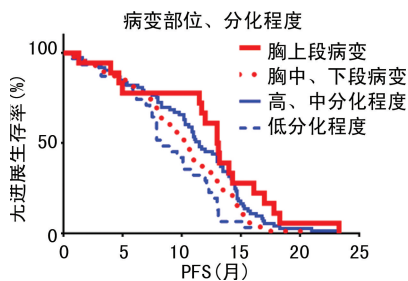


图3 肿瘤病变部位及分化程度对 PFS 的影响

表3 影响食管鳞癌患者 PFS 的多因素分析

项目	B	SE	χ^2	P	OR	95%CI
PD-1	0.556	0.242	5.287	0.021	1.744	1.086~2.801
TIM-3	0.840	0.324	6.715	0.010	2.316	1.227~4.372
TNM 分期	-0.131	0.309	0.179	0.673	0.877	0.479~1.609
分化程度	0.781	0.254	9.418	0.002	2.183	1.326~3.595
病变部位	0.351	0.315	1.245	0.265	1.421	0.767~2.633

3 讨论

由于 PD-1/PD-L1 通路在肿瘤免疫逃逸机制中具有重要作用,因此,目前对 PD-1/PD-L1 通路的免疫治疗成为研究热点。本研究结果显示,与癌旁组织比较,癌组织 PD-1、PD-L1 表达阳性例数均较高。国内有部分学者比较了食管癌组织和癌旁正常组织 PD-1、PD-L1 的表达情况,发现癌组织 PD-1、PD-L1 表达阳性率远高于癌旁正常组织,说明 PD-1/PD-L1 表达可能与肿瘤的发生有关^[7-8]。本研究进一步分析了 PD-1/PD-L1 表达与患者临床病理因素的关系,结果显示,不同部位肿瘤组织 PD-1 表达阳性例数比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且 PD-1 表达与肿瘤分期相关,I 期食管癌患者 PD-1 阳性表达率相对较低,而研究未发现 PD-L1 的阳性表达与肿瘤部位相关,但随患者 TNM 分期程度增加、病变大于 3 cm 及发生淋巴结转移者 PD-L1 表达逐渐升高,与多项研究结果类似^[8-10],提示 PD-L1 表达与肿瘤浸润深度有关。PD-1、PD-L1 可能会促进肿瘤的进展,并且结合 2 种蛋白的阳性表达情况,食管癌组织细胞膜、细胞核、细胞质均有 PD-L1 表达,且表达水平与肿瘤浸润深度显著相关,而 PD-1 蛋白多局限于肿瘤浸润性淋

巴细胞表达^[7],推测 PD-L1 与食管肿瘤浸润深度的相关性更密切,而 PD-1 相关性可能不明显。

本研究对患者进行了随访,并分析了 PD-1/PD-L1 对患者 PFS 的影响,结果显示,PD-1 表达阳性患者 PFS 较阴性患者缩短(PD-1 阳性 9 个月,PD-1 阴性 12.3 个月)。多因素分析结果显示,PD-1 表达是 PFS 的独立影响因素,PD-1 高表达的食管鳞癌根治性术后患者中位 PFS 低于 PD-1 阴性患者,而 PD-L1 与 PFS 的相关性不明显。目前,PD-1/PD-L1 表达与患者预后的关系尚存有争议。有研究者表明,PD-1、PD-L1 高表达与食管癌患者预后不良相关,然而有许多研究却发现,PD-L1 高表达是患者预后良好的因素^[11-12];但也有学者认为,肿瘤细胞 PD-L1 表达情况对患者预后无影响^[13]。由于对食管癌的相关研究有限,本研究样本量较少,未来需扩大样本量进一步研究。

已证实 TIM-3 是抗肿瘤免疫的负性调控分子,大量研究证实,TIM-3 不仅表达于多种肿瘤相关免疫细胞,并对细胞因子分泌具有重要的调节作用,而且直接表达于多种肿瘤细胞和组织^[14]。本研究结果显示,食管癌组织 TIM-3 呈高表达,TIM-3 表达强度与肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度、淋巴结转移、TNM 分期均具有明显的相关性,肿瘤高分化程度的患者 TIM-3 表达较中、低分化程度患者低,且随浸润程度越深、伴淋巴结转移和 TNM 分期越晚癌组织 TIM-3 表达水平逐步增高。本研究对 TIM-3 蛋白表达情况与患者 PFS 进行生存分析结果显示,TIM-3 表达阳性患者 PFS 较阴性患者缩短(TIM-3 阳性 10.2 个月,TIM-3 阴性 14.7 个月);多因素分析结果显示,TIM-3 表达是 PFS 的独立预后因素,TIM-3 高表达的食管鳞癌根治性术后患者中位 PFS 低于 TIM-3 阴性患者。提示 TIM-3 在一定程度上反映了肿瘤生长状态,并可能参与了食管癌的发生和发展。与以往 TIM-3 在其他肿瘤组织中的研究结果相仿。YUAN 等^[14]发现,TIM-3 在肾透明细胞癌组织表达水平明显高于癌旁组织,且 TIM-3 表达与患者预后呈负相关,提示其可作为影响患者预后的一个独立因素。但 TIM-3 在各种恶性肿瘤中的表达程度略不相同,部分表达也受其他外在因素的影响,且目前为止,TIM-3 在食管癌中的研究尚少见,因此,仍需进一步探究。

目前,免疫治疗已成为肿瘤治疗新的研究热点,本研究大多数食管癌患者肿瘤组织 PD-1/PD-L1、TIM-3 表达阳性率较高,且表达效果与患者临床病理特征及预后存在一定相关性,这一结果为食管癌免疫治疗提供了参考依据。根据 2021 年美国临床肿瘤学会食管癌诊疗最新进展的多项 II 期临床试验结果显示,对可切除的食管鳞癌患者采用新辅助放化疗联合免

疫治疗,完全缓解率达 24.0%~43.0%,免疫抑制剂参与食管癌新辅助治疗及辅助治疗的前景令人期待,但其能否成为标准治疗方案仍需Ⅲ期临床试验的研究数据;且免疫治疗联合化疗可为晚期食管癌患者带来良好的近期疗效和生存获益,免疫治疗已成为晚期食管鳞癌治疗的新选择。

参考文献

- [1] WILD C P, WEIDERPASS E, STEWART B W. World cancer report: Cancer research for cancer prevention[M]. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2020:323-324.
- [2] YANG L, JIN H, XIE X L, et al. Endoscopic resections for superficial esophageal squamous cell epithelial neoplasia: focus on histological discrepancies between biopsy and resected specimens[J]. BMC Gastroenterol, 2021, 21(1): 114.
- [3] KUMAR P, SAINI S, PRABHAKAR B S. Cancer immunotherapy with check point inhibitor can cause autoimmune adverse events due to loss of Treg homeostasis[J]. Semin Cancer Biol, 2020, 64(1):29-35.
- [4] THEIVANTHIRAN B, EVNS K S, DEVITO N C, et al. A tumor-intrinsic PD-L1/NLRP3 inflammasome signaling pathway drives resistance to anti-PD-1 immunotherapy[J]. J Clin Invest, 2020, 130(5):2570-2586.
- [5] KIM R, KEAM B, KWON D, et al. Programmed death ligand-1 expression and its prognostic role in esophageal squamous cell carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22:8389-8397.
- [6] 金昊, 沈兆坤, 许大伟. TIM-3 对食管癌细胞侵袭转移的作用机制及周期分布生物学分析[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(1):55-57.
- [7] ZHANG W, WANG P, PANG Q. Immune checkpoint inhibitors for esophageal squamous cell carcinoma: a narrative review[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(18):1193.
- [8] ZHANG Q, ZHOU K, LIANG W, et al. Prognostic and clinicopathological significance of PD-1 expression in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. J Int Med Res, 2020, 48(10): 300060520962675.
- [9] SAEKI H, SOHDA M, SAKAI M, et al. Role of surgery in multidisciplinary treatment strategies for locally advanced esophageal squamous cell carcinoma[J]. Ann Gastroenterol Surg, 2020, 4(5):490-497.
- [10] DAVERN M, DONLON N E, POWER R, et al. The tumour immune microenvironment in oesophageal cancer[J]. Br J Cancer, 2021, 125(4):479-494.
- [11] HATOGAI K, KITANO S, FUJII S, et al. Comprehensive immunohistochemical analysis of tumor microenvironment immune status in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2016, 7(30):47252-47264.
- [12] BABA Y, NOMOTO D, OKADOME K, et al. Tumor immune microenvironment and immune checkpoint inhibitors in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Sci, 2020, 111(9): 3132-3141.
- [13] RONG L, LIU Y, HUI Z, et al. PD-L1 expression and its clinicopathological correlation in advanced esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population[J]. Diagn Pathol, 2019, 14(1):6.
- [14] YUAN J, JIANG B, ZHAO H, et al. Prognostic implication of TIM-3 in clear cell renal cell carcinoma[J]. Neoplasma, 2014, 61(1):35-40.

(收稿日期:2021-05-11 修回日期:2021-09-12)