

## 三阴乳腺癌患者血清维生素D水平 与T细胞免疫功能关系的研究\*

周颖<sup>1</sup>, 常瑜<sup>1</sup>, 王一<sup>2</sup>

(1. 唐山市丰润区人民医院科教科, 河北唐山 063000;

2. 唐山市人民医院肿瘤外科, 河北唐山 063000)

**摘要:**目的 探讨三阴乳腺癌(TNBC)患者血清维生素D(VitD)水平与T细胞免疫功能的关系。方法 选取2015年11月~2017年11月在唐山市丰润区人民医院诊治的153例T细胞免疫功能低下( $CD^+4/CD8^+ < 1.4$ ) TNBC患者为观察组, 选择153例T细胞免疫功能正常( $CD^+4/CD8^+ \geq 1.4$ )的TNBC患者为对照组。采用自行设计的调查表收集患者病历资料信息, 采用ELISA法测定血清VitD水平。应用Logistic回归模型分析VitD与TNBC患者T细胞免疫功能的关系, 受试者工作特征曲线(ROC)评价VitD对TNBC患者T细胞免疫功能低下诊断的灵敏度和特异度。结果 观察组血清VitD(ng/ml)水平显著低于对照组( $24.38 \pm 9.72$  vs  $31.12 \pm 14.42$ ), 差异有统计学意义( $t=2.52, P=0.00$ )。观察组血清VitD缺乏比例高于对照组( $62.7\%$  vs  $39.2\%$ ,  $\chi^2=16.02, P=0.00$ )。Logistic回归分析显示, 血清VitD水平降低是TNBC患者T细胞免疫功能低下的独立危险因素[OR(95%CI)=2.472(1.488~4.051)]。血清VitD ROC判断T细胞免疫功能低下的AUC(95%CI)为0.828(0.764~0.922), 灵敏度和特异度分别为92.4%和63.8%。结论 血清VitD水平降低与TNBC患者T细胞免疫功能低下发生有关, 血清VitD有望作为早期判断TNBC患者T细胞免疫功能的指标。

**关键词:**三阴乳腺癌; 维生素D; 免疫功能

中图分类号: R737.9; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2018)04-047-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.04.012

## Relationship between Serum Vitamin D and T Cell Immunodeficiency in Patients with Triple-Negative Breast Cancer

ZHOU Ying<sup>1</sup>, CHANG Yu<sup>1</sup>, WANG Yi<sup>2</sup>

(1. Science and Education, Fengrun District People's Hospital of Tangshan, Hebei Tangshan,

063000, China; 2. Tumors Surgery, Tangshan People's Hospital, Hebei Tangshan 063000, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the relationship between serum vitamin D (VitD) level and T Cell immune function in patients with triple-negative breast cancer (TNBC). **Methods** 153 cases TNBC patients with T Cell immunodeficiency ( $CD^+4/CD8^+ < 1.4$ , observation group) and 153 cases TNBC patients with T Cell normal immune function ( $CD^+4/CD8^+ \geq 1.4$ , control group) were selected. Self-designed questionnaire was used to collect clinical data and ELISA method was used to detect serum VitD level. The relationship between VitD level and T Cell immune function were analyzed by logistic regression model. The sensitivity and the specificity of VitD level in the diagnosis of immunodeficiency in TNBC patients were evaluated by receiver operating characteristic curve (ROC). **Results** The level of VitD (ng/ml) in observation group was significantly lower than that in the control group ( $24.38 \pm 9.72$  vs  $31.12 \pm 14.42$ ,  $t=2.52, P=0.00$ ). The rate of VitD deficiency in the observation group was higher than that in control group ( $62.7\%$  vs  $39.2\%$ ,  $\chi^2=16.02, P=0.00$ ). Logistic regression showed that VitD deficiency was risk factor for immunodeficiency in TNBC patients [OR(95%CI)=2.472(1.488~4.051)]. The area under the curve (AUC) of serum VitD ROC (95%CI) was 0.828 (0.764~0.922), sensitivity and specificity were 92.4% and 63.8%. **Conclusion** The decrease of serum VitD level is associated with immunodeficiency in patients with TNBC, and serum VitD will be expected to be a biological marker for early diagnosis of immunodeficiency in TNBC patients.

**Keywords:** triple-negative breast cancer; vitamin D; immune function

乳腺癌是影响我国女性健康最常见的恶性肿瘤, 且呈逐年上升和年轻化的趋势。雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progester-

one receptor, PR)和人表皮生长受体(human epidermal growth receptor, Her-2)缺乏的乳腺癌称为三阴乳腺癌(triple-negative breast cancer, TN-

\* 基金项目: 河北省卫计委医学重点项目基金资助(20150973)。

作者简介: 周颖(1981—), 女, 大学本科, 主管护师, 主要研究方向: 肿瘤学, E-mail: 18333883633@163.com。

BC), TNBC 具有组织学分级恶性程度高、肿块较大、复发率高等临床特征<sup>[1]</sup>, 一直是临床医务工作者关注的重点。免疫机能紊乱与恶性肿瘤发生的关系已得到公认, 乳腺癌患者尤其是 TNBC 患者 T 细胞免疫功能普遍降低, 是影响 TNBC 治疗和预后的关键<sup>[2,3]</sup>。维生素 D(vitamin D, VitD) 与乳腺癌关系密切, 乳腺癌患者尤其是 TNBC 患者血清 VitD 水平越低, 患者新辅助化疗的敏感性和预后越差<sup>[4]</sup>。TNBC 患者血清 VitD 水平与 T 细胞免疫功能之间是否存在一定关系, 未见报道。本研究通过病例对照研究方法观察二者之间的关系, 旨在为 TNBC 患者 T 细胞免疫功能状态的早期判断提供依据。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 11 月~2017 年 11 月唐山市丰润区人民医院诊治的伴有 T 细胞免疫功能低下( $CD4^+/CD8^+ < 1.4$ ) 的 TNBC 患者 153 例为观察组, 女性, 年龄 36~58 岁; 选取同期诊治的 T 细胞免疫功能正常( $CD4^+/CD8^+ \geq 1.4$ ) 的 TNBC 患者 153 例为对照组, 女性, 年龄 37~57 岁。纳入标准: ①首诊乳腺癌患者, 病理诊断为原发性乳腺癌; ②经免疫组化方法或结合荧光原位杂交法确定 ER, PR 和 Her-2 受体表达阴性; ③肿瘤分期无远处转移者; ④非妊娠/哺乳期女性; ⑤其他恶性肿瘤病史; 无心、肝、肾功能严重损害; ⑥有完整病理资料; ⑦签署知情同意书。排除标准: ①病理资料不完整, 或由于各种原因未按要求进行相关评测者; ②乳腺癌晚期者、意识不清者。

## 1.2 方法

1.2.1 主要试剂和仪器: 血清 VitD 试剂盒购自上海晶抗生物工程有限公司。流式细胞仪, 型号 FACSCalibur, 2008 年购自美国 Becton Dickinson 公司。

1.2.2 血清 VitD 检测: 患者在确诊后尚未进行进一步治疗前, 清晨采集空腹静脉血 5 ml, 按试剂盒说明, 采用酶联免疫吸附测定法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)测定血清 VitD 水平, 以血清 VitD  $< 20$  ng/ml 定义为 VitD 缺乏。

1.2.3 T 细胞免疫功能检测: 清晨采集的空腹静脉血 5 ml, 送流式细胞室, 应用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群( $CD4^+$ ,  $CD8^+$ )以评测患者的 T 细胞免疫功能。流式细胞仪的氩离子激光器激发光源为 15 mW, 波长 488 nm。本文以  $CD4^+/CD8^+ < 1.4$  定义为 T 细胞免疫功能低下。

1.3 统计学分析 用 SPSS 19.0 for windows 统计软件处理, 计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表

示, 计数资料以率表示, 组间比较采用  $t$  检验和  $\chi^2$  检验; 应用 Logistic 回归模型分析 VitD 与 TNBC 患者免疫功能的关系, 受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评价 VitD 对 TNBC 患者免疫功能低下诊断的灵敏度和特异度,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 观察组和对照组临床病理资料分布情况比较

见表 1。观察组肿瘤大小为 T3/4, 淋巴结为 N1/2, 临床分期为 IIB~IIIA 的比例显著高于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。两组间年龄、体重指数(body mass index, BMI), 并发慢性疾病等情况, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 1 观察组和对照组临床病理资料分布情况比较[n(%)]

| 类别       | 对照组              | 观察组              | $t/\chi^2$        | P    |
|----------|------------------|------------------|-------------------|------|
| 年龄(岁)    | 47.16 $\pm$ 9.42 | 48.56 $\pm$ 9.70 | 1.65 <sup>①</sup> | 0.20 |
| 肿瘤大小     |                  |                  |                   |      |
| T2       | 115(75.2)        | 92(60.1)         | 7.23              | 0.01 |
| T3/4     | 38(24.8)         | 61(39.9)         |                   |      |
| 淋巴结      |                  |                  |                   |      |
| N0       | 109(71.2)        | 79(51.6)         | 11.60             | 0.00 |
| N1/2     | 44(28.8)         | 74(48.4)         |                   |      |
| TNM 分期   |                  |                  |                   |      |
| IIA      | 137(89.5)        | 96(62.7)         | 28.78             | 0.00 |
| IIB-IIIA | 16(10.5)         | 57(37.3)         |                   |      |
| BMI      |                  |                  |                   |      |
| 消瘦       | 47(30.7)         | 45(29.4)         | 0.02              | 0.90 |
| 正常及以上    | 106(69.3)        | 108(70.6)        |                   |      |
| 是否并发性疾病  |                  |                  |                   |      |
| 否        | 48(31.4)         | 54(35.2)         | 0.37              | 0.54 |
| 是        | 105(68.6)        | 99(64.8)         |                   |      |

注: ①为  $t$  检验; 并发性疾病是指是否并发糖尿病、慢性肺部疾病、心脏疾病以及慢性肝肾疾病。

2.2 观察组和对照组血清 VitD 水平及 VitD 缺乏情况比较 观察组和对照组血清 VitD(ng/ml) 水平分别为  $24.38 \pm 9.72$  和  $31.12 \pm 14.42$ , 两组间比较, 差异有统计学意义( $t = 2.52$ ,  $P = 0.00$ )。观察组 VitD 缺乏 96 例, 占 62.7%, 对照组 VitD 缺乏 60 例, 占 39.2%, 两组比较, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 16.02$ ,  $P = 0.00$ )。

2.3 Logistic 回归分析 VitD 与 TNBC 患者 T 细胞免疫功能的关系 见表 2。以免疫功能是否低下为因变量, 将 VitD 水平以及肿瘤大小、淋巴结转移、TNM 分期情况为自变量代入多因素 logistic 回归方程, 结果显示 VitD 缺乏是 TNBC 患者 T 细胞免疫功能低下的独立危险因素[OR(95%CI) = 2.472(1.488~4.051)]。

表2 多元 logistic 回归分析 VitD 与 TNBC 患者 T 细胞免疫功能的关系

| 因素      | 观察组  | 对照组     | $\beta$ | SE    | Wald  | P     | OR    | 95%CI |       |
|---------|------|---------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| VitD 水平 | 缺乏   | 正常      | 0.867   | 0.276 | 9.956 | 0.002 | 2.472 | 1.488 | 4.051 |
| 瘤体      | T3/4 | T2      | 1.003   | 0.733 | 9.367 | 0.000 | 3.893 | 1.374 | 6.594 |
| TNM 分期  | IIIA | IIA~IIB | 0.766   | 0.235 | 9.762 | 0.003 | 2.046 | 1.315 | 3.280 |
| 常量      |      |         | -3.968  | 1.586 | 6.331 | 0.011 | 0.019 | ——    | ——    |

2.4 VitD 水平对 TNBC 患者 T 细胞免疫功能低下诊断价值 血清 VitD 水平诊断免疫功能低下的 ROC 曲线下面积为 0.828(0.764~0.922),与 0.5(无效假设)相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。血清 VitD 水平诊断 TNBC 患者免疫功能低下最佳截值为 22.1 ng/ml,其诊断 TNBC 患者 T 细胞免疫功能低下的灵敏度和特异度分别为 92.4%和 63.8%。

3 讨论 VitD 属于固醇类化合物,除典型的钙磷调节作用外, VitD 还具有抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡、分化等生物学效应。已有研究证实 VitD 参与乳腺癌发生、发展及预后<sup>[5,6]</sup>。机体免疫功能低下是恶性肿瘤发生的病理机制之一,乳腺癌患者尤其是 TNBC 患者 T 细胞免疫抑制状态更为明显,使机体在识别肿瘤抗原、抑制和杀伤肿瘤细胞的能力减弱,而乳腺癌的发展亦会抑制机体的免疫功能<sup>[7]</sup>。然而, TNBC 患者血清 VitD 水平与 T 细胞免疫功能之间的关系目前尚不清楚。T 细胞是乳腺癌最主要的免疫效应细胞,通过分泌细胞因子的途径参与机体细胞免疫和体液免疫,诱导多方面抗肿瘤免疫应答<sup>[8]</sup>。CD4<sup>+</sup> T 细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞是 T 细胞中的两个亚群,分别代表辅助性 T 细胞和细胞毒性 T 细胞,二者比值保持一定范围内使机体的细胞免疫功能处于正常状态,当 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值显著低下时,临床上考虑免疫功能低下。本研究结果显示观察组 VitD 水平显著低于对照组,两组间 VitD 缺乏的人数比例也存在明显差异,说明 VitD 水平与 TNBC 患者 CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T 细胞的变化有关,即患者 VitD 水平低下时更易出现 T 细胞免疫功能低下。

王洪源等<sup>[9]</sup>研究认为免疫功能受损人群 VitD 水平降低,而补充 VitD 水平可显著提高机体血清 CD3<sup>+</sup>%, CD4<sup>+</sup>%, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平。黄利华等<sup>[10]</sup>通过动物实验研究,证实随 VitD 剂量的增加, CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞数量和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 逐渐增加。本研究 Logistic 分析结果显示进一步 VitD 缺乏是 TNBC 患者免疫功能低下的危险因素。分析原因认为,作为神经内分泌-免疫调节激素, VitD 主要通过 T 细胞内的 VitD 受体相互作用,从而诱导 T 细胞增殖<sup>[11]</sup>;此外 VitD 亦调节

免疫球蛋白的分泌,进而促进 T 细胞分化<sup>[12]</sup>,因而当机体缺乏 VitD 时, CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 阳性率降低, T 细胞免疫机能易紊乱<sup>[13]</sup>。本研究应用 ROC 曲线结果显示,血清 VitD 水平预测 T 细胞免疫功能低下的 ROC 曲线下面积为 0.828,灵敏度和特异度分别为 92.4%和 63.8%,说明 VitD 水平有可能作为 TNBC 患者预测 T 细胞免疫功能低下的一项指标。既往王维杰等<sup>[14]</sup>通过对 365 例早期肺癌患者的观察,证实了患者 VitD 水平与免疫功能相关性,指出 VitD 在肺癌免疫功能方面有一定的临床应用价值,可作为 T 细胞免疫功能低下治疗的新靶点。

本研究多因素 Logistic 分析还发现瘤体(T3/4)和临床分期(TNM IIIA)等可增加 TNBC 患者 T 细胞免疫功能低下的风险,和相关报道结果一致<sup>[15]</sup>。文献报道乳腺癌患者体内 VitD 水平也受瘤体、临床分期、病理分型等影响<sup>[16]</sup>。这也从侧面提示 TNBC 患者 VitD 水平与 T 细胞免疫功能的内在联系,二者共同参与 TNBC 发生、发展的病理进程。

综上所述,本研究发现血清 VitD 水平降低与 TNBC 患者 T 细胞免疫功能低下发生有关,血清 VitD 有望作为早期判断 TNBC 患者 T 细胞免疫功能的指标。本研究为回顾性研究、样本量较少,其结果可能存在一定偏差,需要大样本前瞻性研究进一步证实。

#### 参考文献:

- [1] 李子良,蔡铭泉,吴丹.三阴乳腺癌患者新辅助化疗疗效及预后评价[J].中国肿瘤临床与康复,2017,24(1):43-45.  
Li ZL, Cai MQ, Wu D. Efficacy and prognosis of neo-adjuvant chemotherapy in patients with triple negative breast cancer[J]. Chinese Journal of Clinical Oncology and Rehabilitation, 2017, 24 (1): 43-45.
- [2] 高翠红,肖凤艳,高庆双,等.乳腺癌患者的免疫功能分析[J].实用预防医学,2015,22(2):242-244.  
Gao CH, Xiao FY, Gao QS, et al. Analysis of immune function in breast cancer patients[J]. Practical Preventive Medicine, 2015, 22(2): 242-244.
- [3] 唐凤娟,许三鹏,王国平,等. Wnt5a 和 Wnt11 在肺癌中的表达及意义[J].临床与实验病理学杂志,2017,33(10):1082-1086.

- Tang FJ, Xu SP, Wang GP, et al. Expression of Wnt5a and Wnt11 in lung cancer and their significance [J]. Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2017, 33(10):1082-1086.
- [4] 王 一, 廖宏伟, 宋 扬, 等. 三阴性乳腺癌患者新辅助化疗过程中血清维生素 D、维生素 B12、叶酸水平变化与化疗效果的关系[J]. 山东医药, 2017, 57(27): 96-98.
- Wang Yi, Liao HW, Song Y, et al. The relationship between serum vitamin D, vitamin B12, folic acid level and the effect of chemotherapy in three patients with negative breast cancer [J]. Shandong Medicine Journal, 2017, 57(27):96-98.
- [5] 何建明, 朱少芳, 黄 伟, 等. 25-羟基维生素 D、血钙、钙感受器及 E-钙粘蛋白与乳腺癌发生风险的病例对照研究[J]. 广东医学, 2014, 35(2):213-216.
- He JM, Zhu SF, Huang W, et al. A case-control study of 25-hydroxyvitamin D, blood calcium, calcium sensitive receptors, E-cadherin and the risk of breast cancer [J]. Guangdong Medicine Journal, 2014, 35(2):213-216.
- [6] 李冰燕, 童 建, 张增利. 1, 25 二羟基维生素 D<sub>3</sub> 对乳腺癌细胞放射敏感性的影响[J]. 肿瘤, 2007, 27(8): 620-622, 627.
- Li BY, Tong J, Zhang ZL. Effect of 1, 25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> on the sensitivities of breast cancer cells to ionizing radiation [J]. Tumor, 2007, 27(8): 620-622, 627.
- [7] 朱小丽, 苏国新, 马红芳, 等. 大株红景天注射液对三阴性乳腺癌患者生活质量及免疫功能的影响[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(11):2690-2692.
- Zhu XL, Su GX, Ma HF, et al. The influence of Sofren injection on the quality of life and immune function of triple negative breast cancer patients [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2017, 28(11):2690-2692.
- [8] 杨 辉, 江 皓. 新辅助 TAC 化疗对早期乳腺癌患者疗效、细胞免疫功能和 Ki-67 的影响[J]. 中华全科医学, 2017, 15(4):555-557, 671.
- Yang H, Jiang H. Influence of neoadjuvant chemotherapy of TAC on curative effect, cellular immunity and Ki-67 expression in early breast cancer patients [J]. Chinese Journal of General Practice, 2017, 15(4): 555-557, 671.
- [9] 王洪源, 钱俊峰. 老年支气管哮喘患者免疫功能、炎症因子和 25-羟基维生素 D<sub>3</sub> 的水平[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(2):367-369.
- Wang HY, Qian JF. Immune function, inflammatory factors and 25-hydroxyl vitamin D<sub>3</sub> levels in elderly patients with bronchial asthma [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2018, 38(2):367-369.
- [10] 黄利华, 胡庆兰, 李伟明, 等. 孕乳期补充维生素 D 对仔鼠免疫球蛋白及 T 细胞的影响[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(16):3919-3921.
- Huang LH, Hu QL, Li WM, et al. Effects of vitamin D supplementation during pregnancy and lactation on immunoglobulin and T cells in offspring rats [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2017, 32(16):3919-3921.
- [11] 牛福勇, 李福荣. 维生素 D 在来曲唑干预绝经后雌激素受体阳性乳腺癌患者中的作用及临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(7):1165-1168.
- Niu FY, Li FR. Clinical effect of vitamin D in estrogen receptor-positive breast cancer patients treated with letrozole [J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2017, 21(7):1165-1168.
- [12] 刘艳平, 张丽萍. 早期补充维生素 D 对早产儿感染性疾病的 IL-2、IL-4 及免疫球蛋白的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(4):422-425.
- Liu YP, Zhang LP. The effect of early vitamin D supplementation on IL-2, IL-4 and immunoglobulin in premature infants with infectious diseases [J]. Int J Lab Med, 2018, 39(4):422-425.
- [13] 朱慧花, 赵 琳. 维生素 D 与免疫功能的研究[J]. 医学综述, 2013, 19(5):820-822.
- Zhu HH, Zhao L. The research on Vitamin D and immunity [J]. Medical Review, 2013, 19(5): 820-822.
- [14] 王维杰, 张光辉, 励新健, 等. 肺癌患者术前血清维生素 D 水平与免疫功能及术后合并肺炎发生率的相关性研究[J]. 浙江临床医学, 2018, 20(2):239-240, 243.
- Wang WJ, Zhang GH, Li XJ, et al. Correlation of serum vitamin D levels with immune function and the incidence of pneumonia after operation in patients with lung cancer [J]. Zhejiang Clinical Medicine, 2018, 20(2):239-240, 243.
- [15] 崔 明, 王 杉, 叶颖江, 等. 肿瘤负荷对大肠癌患者外周血 T 细胞分化的影响[J]. 中华医学杂志, 2007, 87(1):16-19.
- Cui M, Wang S, Ye YJ, et al. Effect of tumor burden on differentiation of T lymphocytes in the peripheral blood of patients with colorectal cancer [J]. National Medical Journal of China, 2007, 87(1):16-19.
- [16] 王 一, 廖宏伟, 宋 扬. 三阴性乳腺癌患者血清 Vit D 水平与瘤组织 Ki-67, p53 蛋白表达变化及其相关性[J]. 山东医药, 2018, 58(11):83-85.
- Wang Y, Liao HW, Song Y. The relationship between serum vitamin D and Ki-67, p53 in three patients with negative breast cancer [J]. Shandong Medicine, 2018, 58(11):83-85.