

外周血 CD4 和 CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放试验用于消化道肿瘤患者免疫功能评估研究

王曦晗^{1,2}, 秦瑶^{2,3}, 张沁仪^{2,3}, 张宏斌^{1,2} (1. 南方医科大学第一临床医学院, 广州 510515; 2. 中国人民解放军南部战区总医院基础医学实验室, 广州 510010; 3. 广东医科大学公共卫生学院, 广东东莞 523520)

摘要: **目的** 探讨 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放试验对消化道肿瘤患者细胞免疫功能评估的意义。**方法** 收集 2023 ~ 2024 年南部战区总医院肿瘤科及放疗科 51 例消化道肿瘤患者作为研究组, 2018 ~ 2020 年间该院体检中心 51 例健康体检者作为对照组, 进行白细胞、淋巴细胞、CD4, CD8 T 淋巴细胞计数, 检测植物血凝素 (PHA) 刺激前后 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平。**结果** 研究组淋巴细胞计数 $[1.45(1.12, 1.75) \times 10^9/L]$ 及 CD8 T 淋巴细胞计数 $[357.00(232.13, 451.35) \text{ 个}/\mu\text{L}]$ 低于对照组 $[2.04(1.74, 2.27) \times 10^9/L, 454.36(368.00, 566.10) \text{ 个}/\mu\text{L}]$, 差异具有统计学意义 ($Z = -4.719, -3.209$, 均 $P < 0.05$)。PHA 刺激后研究组 CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放水平低于对照组 ($Z = -2.181$); 研究组 PHA 刺激前、后 CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平均低于对照组 ($Z = -3.314, -3.462$), 差异具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。研究组 CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放值与 CD4 T 淋巴细胞计数无相关性 ($r = 0.617, P = 0.093$); 对照组 CD4 T 淋巴细胞释放值与 CD4 T 淋巴细胞计数存在正相关 ($r = 0.276, P = 0.049$)。研究组 CD8 T 淋巴细胞释放值与 CD8 T 淋巴细胞计数无相关性 ($r = 0.033, P = 0.816$), 对照组淋巴细胞释放值与 CD8 T 淋巴细胞计数存在正相关 ($r = 0.278, P = 0.048$)。**结论** CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放试验可作为一种细胞免疫动态功能评价的方法, 与静态细胞计数结合可更全面地对消化道肿瘤患者细胞免疫功能进行评估。

关键词: 免疫功能; 消化道肿瘤; CD4 T 淋巴细胞; CD8 T 淋巴细胞; ATP 释放试验

中图分类号: R735; R730.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2025) 03-145-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2025.03.027

Study on Peripheral Blood CD4 and CD8 T-lymphocyte ATP Release Assays for the Assessment of Immune Function in Patients with Gastrointestinal Tumors

WANG Xihan^{1,2}, QIN Yao^{2,3}, ZHANG Qinyi^{2,3}, ZHANG Hongbin^{1,2} (1. the First School of Clinical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Department of Basic Medical Research, General Hospital of Southern Theater Command of PLA, Guangzhou 510010, China; 3. School of Public Health, Guangdong Medical University, Guangdong Dongguan 523520, China)

Abstract: **Objective** To investigate the significance of CD4 and CD8 T lymphocyte ATP release assays for the assessment of cellular immune function in patients with digestive tract tumors. **Methods** 51 digestive tract tumor patients from the Department of Oncology and Department of Radiotherapy of the General Hospital of Southern Theater Command of PLA during 2023~2024 as a study group, and 51 healthy medical checkups were collected from the Physical Examination Center of that Hospital during 2018~2020 as a control group, and the counts of leukocytes, lymphocytes, CD4 T lymphocyte, and CD8 T lymphocyte were conducted to detect the release of ATP from CD4, CD8 T lymphocyte before and after the stimulation of PHA Levels of ATP release from CD4 and CD8 T lymphocytes before and after PHA stimulation. **Results** Lymphocyte counts $[1.45(1.12, 1.75) \times 10^9/L]$ and CD8 T lymphocyte counts $[357.00(232.13, 451.35) \text{ 个}/\mu\text{L}]$ in the research group was lower than in the control group $[2.04(1.24, 2.27) \times 10^9/L, 454.36(368.00, 566.10) \text{ 个}/\mu\text{L}]$, and the differences were statistically significant ($Z = -4.719, -3.209$, all $P < 0.05$). After PHA stimulation, the ATP release level of CD4 T lymphocytes in the research group was lower than that in the control group ($Z = -2.181, P < 0.05$), and the level of ATP release level of CD8 T lymphocytes in the research group before and after PHA stimulation were lower than those in the control group ($Z = -3.314, -3.462$, all $P < 0.05$). There was no correlation between CD4 T lymphocyte ATP release values and CD4 T lymphocyte counts in the research group ($r = 0.617, P = 0.093$), and there was a positive correlation between CD4 T lymphocyte ATP release values and CD4 T lymphocyte counts in the control group ($r = 0.276, P = 0.049$). There was no significant correlation between the ATP release values of CD8 T lymphocytes

基金项目: 2024 年度市校 (院) 企联合资助项目 (编号: 2024A03J0692)。

作者简介: 王曦晗 (1999-), 女, 硕士研究生在读, 研究方向: 免疫检测, E-mail: wangxihan111@163.com。

通讯作者: 张宏斌, E-mail: zhangwater@hotmail.com。

and lymphatic counts in the research group ($r=0.033$, $P=0.816$), and a positive correlation between the ATP release values of CD8 T lymphocytes and lymphatic counts in the control group ($r=0.278$, $P=0.048$). **Conclusion** The CD4 and CD8 T lymphocyte ATP release assay can be used as a method to evaluate the dynamic function of cellular immunity, and in combination with static cell counting can provide a more comprehensive assessment of cellular immunity in patients with gastrointestinal tumors.

Keywords: immune function; gastrointestinal tumors; CD4 T lymphocyte; CD8 T lymphocyte; ATP release assay

2020年全球癌症统计报告显示^[1],食管癌、胃癌、肝癌、结直肠癌均位于新发与死亡癌症前十位,占新发病例的18.5%,新增死亡人数的22.4%。而2020年发布的数据显示,中国新发癌症病例中消化道肿瘤占38.8%^[2]。消化道肿瘤是原发于消化道的一类肿瘤的总称,常见的有食管癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、胆囊癌、结直肠癌。在消化道肿瘤的发生及进展过程中,免疫系统紊乱在各个环节中均起到重要作用^[3],对于消化道肿瘤患者进行免疫功能监测,有助于临床对患者进行积极干预,以期改善患者预后情况。临床上多使用T细胞亚群监测患者免疫功能,为临床医生提供治疗参考^[4],但由于同样数量的细胞免疫反应能力有差别,这种静态计数指标往往不能准确反映真实的免疫功能。而CD4 T淋巴细胞ATP释放试验是一种细胞免疫应答功能检测方法,是一种通过植物血凝素(phytohaemagglutinin, PHA)刺激后CD4 T淋巴细胞内ATP含量检测的细胞刺激-应答功能检测方法,从而监测机体免疫功能状态,基于这个方法学开发的ImmunKnow检测试剂盒获得了美国食品及药品管理局(FDA)注册,并用于评估实体器官移植人群使用免疫抑制剂导致感染或器官移植后发生排斥反应的可能性^[5],而对于该试验用于肿瘤患者免疫功能评估方面的研究仍有所欠缺。本研究通过健康人群与接受治疗前后的消化道肿瘤患者CD4, CD8 T淋巴细胞ATP释放水平的比较,从而实现静态和动态免疫功能指标相结合的综合评估,为临床免疫功能评估提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2023~2024年南部战区总医院肿瘤科及放疗科51例消化道肿瘤患者作为研究组,2018~2020年间该院体检中心51例健康体检者作为对照组。健康人群排除标准:根据病史调查和体检结果排除肿瘤、自身免疫性疾病、人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、巨细胞病毒(CMV)、人类爱泼斯坦-疱疹病毒(EBV)感染等,排除肝、肾功能异常者。研究组入组标准:①年龄18~85岁,男女不限;②经病理学、影像学或细胞学确诊的恶性肿瘤患者;③根据实体瘤疗效评价标准1.1版(Response Evaluation Criteria in Solid Tumours 1.1,

RECIST 1.1);受试者必须具有至少1条既往未曾接受过放疗或其他局部区域性治疗,可测量的病灶受试者的美国东部肿瘤协作组(ECOG)状态必须为0或1。排除标准:①接受过除手术外其他方式治疗患者;②并发其他未控制的肿瘤患者;③妊娠或哺乳期女性;④并发有其他自身免疫性疾病患者。对照组男性29例,女性22例,年龄21~77(39.35)岁;研究组男性32例,女性19例,年龄17~85(60.37岁)。本研究通过伦理委员会批准,研究对象均签署知情同意书(伦理批号:NZLLKZ2024006, NZLLKZ2024044)。

1.2 仪器与试剂 CD4 T淋巴细胞ATP释放试验试剂盒,CD8 T淋巴细胞ATP释放试验试剂盒(广州市雷德生物科技有限公司,REF 1413-42, REF 1414-42);检测仪器为发光分析仪JR-1(威高公司);外周血细胞计数与分类仪(迈瑞BC-5120型);流式细胞仪为BD FACS Canto;CD4/CD8/CD3检测试剂盒(安捷伦)。

1.3 方法

1.3.1 样本采集:采集对照组及研究组患者清晨空腹静脉血2~3ml,肝素钠抗凝。

1.3.2 CD4, CD8 T淋巴细胞ATP释放试验:每个样本设置一个未刺激孔,一个刺激孔。未刺激孔每孔加入样本稀释液25 μ l,刺激孔每孔加入刺激剂PHA 25 μ l。全血用样本稀释液1:3稀释,250 μ l全血加750 μ l样本稀释液颠倒混匀,分别加100 μ l/孔到无菌96孔细胞培养板。细胞培养板放置微孔板振荡器600r/min振荡2min后,放入37℃恒温恒湿培养箱孵育15~18h。孵育结束取出细胞培养板,每孔加入CD4, CD8抗体耦合磁珠30 μ l,移液器充分混匀后,放在微孔板振荡器600r/min振荡20min,从振荡器上取下细胞培养板,放在磁力架上2min,利用磁场将磁珠结合CD4, CD8 T淋巴细胞吸附在微孔一侧,移去红细胞与其他未被吸附细胞,加洗涤液洗涤3次,用80 μ l样本稀释液重悬每孔细胞。标准品最高浓度为800ng/ml,2倍梯度稀释,获得5个浓度,第六点为样本稀释液(0ng/ml);质控品设为高值与低值两个浓度,各做两孔。标准品梯度与质控品,每个浓度吸取80 μ l,加入到细胞培养板空白孔处;细胞重悬孔与标准品、质控品孔加入由反应液I, II和荧光素酶、底物四种试剂按一定比例配合成的

工作液 80 μ l/孔,混匀后吸取 140 μ l 到反应微孔板,20min 内上发光分析仪读值。读值根据标准曲线换算得到每孔的浓度,高低值质控品浓度用于每日临床检测的室内质控监测。

1.3.3 白细胞、淋巴细胞计数:采用迈瑞 BC-5120 型血细胞计数仪进行计数与分类,具体操作严格按照操作说明进行。

1.3.4 CD4, CD8T 淋巴细胞在淋巴细胞亚群的表达:50 μ l 全血加 CD4/CD8/CD3 混合荧光标记抗体试剂 20 μ l,漩渦震荡 5s,避光室温孵育 15min,加入溶血剂 450 μ l,漩渦震荡 5s,避光室孵育 15min。全血质控品操作如同样本。BD DIVA 操作软件分析流式数据,获得淋巴细胞亚群,并进行 CD4, CD8 T 淋巴细胞亚群分析。

表 1 对照组与研究组淋巴细胞、CD4, CD8 T 淋巴细胞计数及 CD4/CD8 比较 [M (P₂₅, P₇₅)]

项 目	对照组	研究组	Z 值	P 值
淋巴细胞计数 (×10 ⁹ /L)	2.04 (1.74, 2.27)	1.45 (1.12, 1.75)	-4.719	< 0.000
CD4 T 淋巴细胞计数 (个/ μ l)	573.50 (451.08, 675.96)	547.75 (332.80, 669.90)	-1.409	0.159
CD8 T 淋巴细胞计数 (个/ μ l)	454.36 (368.00, 566.10)	357.00 (232.13, 451.35)	-3.209	0.001
CD4/CD8 比值	1.27 (0.96, 1.65)	1.48 (1.07, 2.40)	-1.837	0.066

2.2 对照组与研究组经 PHA 刺激前后 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平比较 见表 2。经 Wilcoxon 符号秩和检验,PHA 刺激前研究组与对照组 CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放水平比较,差异无统计学意义(P

表 2 对照组与研究组经 PHA 刺激前后 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平比较 [M (P₂₅, P₇₅), ng/ml]

项 目		对照组	研究组	Z 值	P 值
CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放	刺激前	111.43 (87.52, 129.86)	110.00 (74.00, 155.00)	-0.152	0.88
	刺激后	270.64 (88.28, 132.96)	185.0 (115.00, 352.00)	-2.181	0.02
CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放	刺激前	112.07 (88.28, 132.96)	89.00 (52.00, 111.00)	-3.314	0.001
	刺激后	203.61 (145.84, 289.30)	146.00 (81.00, 229.00)	-3.462	0.001

2.3 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平与淋巴细胞、CD4, CD8 T 淋巴细胞计数、CD4/CD8 的关系 见表 3。经 Spearman 相关性检验,研究组 CD4 T 淋巴细胞计数与 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放值无相关性 ($P>0.05$); 对照组 CD4 T 淋巴细胞计数与 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放值呈正相关性 ($P<0.05$), 研究组 CD8 T 淋巴细胞计数与 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放值无显著相关性(均 $P>0.05$); 对照组 CD8 T 淋巴细胞计数与 CD4 T 淋

表 3 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平与 CD4, CD8 T 淋巴细胞计数及 CD4/CD8 的相关性

类 别		CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放		CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放	
		r	P	r	P
CD4 T 淋巴细胞计数	对照组	0.276	0.049	0.353	0.011
	研究组	0.617	0.093	0.056	0.698
CD8 T 淋巴细胞计数	对照组	0.286	0.042	0.258	0.068
	研究组	0.090	0.053	0.033	0.816
淋巴细胞计数	对照组	0.068	0.637	0.278	0.048
	研究组	0.143	0.315	0.059	0.618
CD4/CD8	对照组	-0.037	0.795	0.029	0.839
	研究组	0.116	0.418	-0.060	0.678

1.4 统计学分析 采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计学分析。正态性分布用 Shapiro-Wilk 正态性检验,非正态分布数据采用中位数及四分位间距 [M (P₂₅, P₇₅)] 表示,非正态分布数据分析采用 Wilcoxon 符号秩和检验,相关性采用 Spearman 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组与研究组淋巴细胞、CD4, CD8 T 淋巴细胞计数及 CD4/CD8 比较 见表 1。经 Wilcoxon 符号秩和检验,对照组与研究组 CD4 T 淋巴细胞计数及 CD4/CD8 比较,差异无统计学意义(均 $P>0.05$); 研究组淋巴细胞计数及 CD8 T 淋巴细胞计数低于对照组,差异具有统计学意义(均 $P<0.05$)。

> 0.05)。PHA 刺激后研究组 CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放水平低于对照组; PHA 刺激前、后研究组 CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平均低于对照组,差异具有统计学意义(均 $P<0.05$)。

巴细胞 ATP 释放值呈正相关 ($P<0.05$), 与 CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放值无显著相关性 ($P>0.05$)。对照组及研究组淋巴细胞计数与 CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放值无相关性(均 $P>0.05$)。对照组淋巴细胞计数与 CD8 T 淋巴细胞释放值呈正相关性 ($P<0.05$), 研究组淋巴细胞计数与 CD8 T 淋巴细胞释放值无显著相关性 ($P>0.05$)。研究组及对照组 CD4/CD8 与 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放值相关性不显著(均 $P>0.05$)。

3 讨论

肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocyte, TIL) 是存在于肿瘤、间质内并以淋巴细胞为主的一群异质性免疫细胞, 主要包含 T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞等。TIL 在多种肿瘤的发生、发展中均起到重要作用^[6-8], CD4, CD8 T 淋巴细胞是其中具有代表性的辅助性 T 淋巴细胞, 有抗肿瘤免疫功能, CD8 T 淋巴细胞介导细胞免疫反应, 是机体抗肿瘤免疫应答的基础, 而 CD4 T 淋巴细胞具有辅助免疫功能。在临床诊疗过程中, 常以 CD4/CD8 比值或是 CD4, CD8 T 淋巴细胞计数作为评估肿瘤患者免疫功能的依据^[9-11]。而本研究结果表明, 对照组与研究组 CD4 T 淋巴细胞计数及 CD4/CD8 比值差异无统计学意义, 静态指标仅反映免疫细胞静态分类计数, 并不能反映免疫细胞功能情况。而消化道肿瘤患者免疫功能情况与其预后情况高度相关^[12], 临床上迫切需要一种准确、易于操作的免疫功能检测方法进行肿瘤患者的免疫细胞功能评估。本研究采用雷德生物的 AIMdex CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放试验试剂盒来评估患者免疫功能状态, 以 PHA 作为 T 细胞刺激剂, 对全血进行 15 ~ 18h 刺激, 检测 CD4, CD8 T 淋巴细胞活化前后的 ATP 释放情况, 分析 CD4, CD8 T 淋巴细胞的免疫功能状态, 结合常规细胞亚群计数综合评估免疫功能, 为临床提供更精准的免疫评估。

本研究表明, PHA 刺激后对照组与研究组的 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平差异具有统计学意义, 且研究组 ATP 释放水平低于对照组, 提示同样细胞计数时, 研究组免疫细胞的动态反应能力显著下降。而研究组 CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放值与 CD4 T 淋巴细胞计数不存在显著相关性, 对照组 CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放值与 CD4 T 淋巴细胞计数之间相关性显著, 研究组 CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放值与淋巴细胞计数无显著相关性, 对照组 CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放值与淋巴细胞计数之间相关性显著, 提示健康人群静态细胞计数与刺激后动态反应功能显著相关具有一定的替代性, 但研究组无显著相关性, 可能是药物、疾病等应激刺激条件下, 虽然细胞数量可较快速的恢复, 但细胞的功能却不能同步恢复到正常, 应该作为独立的评价指标和静态指标相结合进行综合评价。PHA 刺激 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放值反映的是机体免疫细胞对刺激的应答功能, 而外周血免疫细胞百分比、计数反映机体免疫的基础状态, 由于肿瘤发生发展过程中免疫细胞功能改变从而为肿瘤生长创造所需的微环境, 研究组与对照组的 CD4 T 淋巴细胞 ATP 释放值与 CD4 T 淋巴细胞计数及 CD8 T 淋巴细胞 ATP

释放值与淋巴细胞计数之间的相关性存在组间差异, 而通过对肿瘤患者全血进行 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放试验, 可进一步帮助临床判断肿瘤患者免疫功能, 联合免疫细胞计数可从多维度评估患者病情, 从而为临床诊疗提供帮助。相较于健康人, 消化道肿瘤患者 CD4, CD8 T 淋巴细胞免疫功能较为活跃, 而肿瘤生长过程中, CD4 T 淋巴细胞识别由主要组织相容性复合体 II 类 (MHC II) 呈递的抗原而增殖活化, 也可直接杀伤肿瘤细胞^[13]; 而 CD8 T 淋巴细胞则在活化后分泌溶解癌症细胞的酶和细胞因子, 其在癌症早期的高表达与多种肿瘤的良好预后相关^[14-15]。通过对消化道肿瘤患者的 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平进行监测, 有助于判断肿瘤发生发展过程中免疫细胞功能渐进性障碍, 了解 T 淋巴细胞亚群功能情况, 从而更好地指导临床诊疗操作。CD4/CD8 是临床判断患者免疫功能状态的常用指标, 而对照组与研究组 CD4/CD8 比值差异无统计学意义, 推断由于其仅与 CD4, CD8 T 淋巴细胞计数相关, 并不能判断免疫细胞功能状态, 且 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平与 CD4/CD8 比值无明显相关性, 进一步说明 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放水平独立于免疫细胞静态计数, 可反映免疫细胞功能状态。目前临床上多采用静态细胞计数及 CD4/CD8 比值评估肿瘤患者免疫功能, 而当患者进行放化疗后, 由于多数化疗药物产生的副作用而使用升白细胞类药物, 患者免疫细胞计数达到正常水平, 而其免疫细胞功能未达正常水平, 单纯的使用静态细胞计数及 CD4/CD8 比值不能客观地反映肿瘤患者免疫功能情况, 通过静态计数结合 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放试验, 可更准确全面地反映消化道肿瘤患者的免疫功能情况, 从而帮助临床进行相关治疗方案的调整及评估患者预后情况。

综上所述, CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放试验可作为反映免疫细胞应答功能的指标。但由于本研究为单中心、短时间研究, 样本量有限, 未来仍需进一步扩大样本量加以验证。而多数研究表明, 消化道肿瘤患者在进行放化疗及免疫治疗过程中出现免疫功能下降^[16-18], 且“低反应性免疫应答”CD8 T 淋巴细胞在多种肿瘤中得到证实^[19-20], 影响患者生存率, 本课题组拟进一步对消化道肿瘤患者进行随访, 评估在治疗过程中消化道肿瘤患者进行的免疫功能变化, 为该商品的临床应用及临床应用新的伴随诊断方法提供新的依据。

本研究表明 CD4, CD8 T 淋巴细胞 ATP 释放试验可作为反映肿瘤患者免疫细胞应答功能的指标, 结合临床现有的静态计数指标可为临床提供更

为精准、操作简便的免疫应答功能评估方法,在临床上为肿瘤患者的临床干预及治疗提供参考。

参考文献:

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA-A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] QIU Haibo, CAO Sumei, XU Ruihua, et al. Cancer incidence, mortality, and burden in China: a time-trend analysis and comparison with the United States and United Kingdom based on the global epidemiological data released in 2020 [J]. Cancer Commun(London, England), 2021, 41(10):1037-1048.
- [3] RUSSOTTO V, MYATRA S N, LAFFEY J G, et al. Intubation practices and adverse peri-intubation events in critically ill patients from 29 countries[J]. the Journal of the American Medical Association, 2021, 325(12): 1164-1172.
- [4] LOPEZ G, PESCIA C, GALLI C, et al. Granular cell tumor of the neurohypophysis presenting as a third ventricle mass[J]. Neuropathology, 2023, 43(6): 472-478.
- [5] QIN Tian, GU Xiangqian, JEONG S S, et al. Impact of EBV infection and immune function assay for lymphoproliferative disorder in pediatric patients after liver transplantation: a single-center experience[J]. Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International, 2020, 19(1): 3-11.
- [6] HUDSON W H, WIELAND A. Technology meets TILs: deciphering T cell function in the -omics era[J]. Cancer Cell, 2023, 41(1): 41-57.
- [7] MA Peng, SUN Weili. Integrated single-cell and bulk sequencing analyses with experimental validation identify the prognostic and immunological implications of CD226 in pan-cancer[J]. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 2023, 149(16): 14597-14617.
- [8] 杨培培, 昌丽莎, 朱静, 等. 肿瘤浸润淋巴细胞与 lncRNA 在肿瘤发展中作用的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(6): 1097-1102.
- [9] YANG Peipei, CHANG Lisha, ZHU Jing, et al. Research progress of tumor infiltrating lymphocytes and long non-coding RNA in tumor development[J]. Journal of Modern Oncology, 2022, 30(6): 1097-1102.
- [10] ALWOSAIBAI K, AALMRI S, MASHHOUR M, et al. PD-L1 is highly expressed in ovarian cancer and associated with cancer stem cells populations expressing CD44 and other stem cell markers[J]. BMC Cancer, 2023, 23(1): 13.
- [11] ZHANG Tao, ZHOU Xin, ZHANG Xiaofei, et al. Discordance of PD-L1 expression in primary and metastatic ovarian high-grade serous carcinoma and its correlation with CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and patient prognosis[J]. Virchows Archiv, 2023, 482(4): 755-766.
- [12] 郑荣, 何三军, 朱宏才, 等. 食道癌患者血清 CYFRA21-1, CA19-9 和 β -hCG 水平联合检测的诊断价值及与 T 淋巴细胞亚群表达的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(1): 51-53, 91.
- [13] ZHENG Rong, HE Sanjun, ZHU Hongcai, et al. Diagnostic value of CYFRA21-1, CA19-9 and β -hCG in patients with esophageal cancer and its correlation with T lymphocyte subsets [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(1): 51-53, 91.
- [14] 于晓洁, 丘木水, 宋佳星. CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞在结直肠癌诊治中的临床应用 [J]. 检验医学与临床, 2021, 18(18): 2758-2762.
- [15] YU Xiaojie, QIU Mushui, SONG Jiaxing. Clinical application of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes in the diagnosis and treatment of colorectal cancer[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2021, 18(18): 2758-2762.
- [16] WANG Boyu, HU Shaojie, FU Xiangning, et al. CD4⁺ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunity and Immunotherapy [J]. Advanced Biology(Weinh), 2023, 7(4): e2200169.
- [17] OKADOME K, BABA Y, YAGI T, et al. Prognostic nutritional index, tumor-infiltrating lymphocytes, and prognosis in patients with esophageal cancer[J]. Annals of Surgery, 2020, 271(4): 693-700.
- [18] YIN Chengzeng, OKUGAWA Y, YAMAMOTO A, et al. Prognostic significance of CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and CD66b⁺ tumor-associated neutrophils in the invasive margins of stages I-III colorectal cancer [J]. Oncology Letters, 2022, 24(1): 212.
- [19] LIU Le, BAI Yuping, XIANG Lin, et al. Interaction between gut microbiota and tumour chemotherapy[J]. Clinical and Translational Oncology, 2022, 24(12): 2330-2341.
- [20] MARTÍN-RUIZ A, FIUZA-LUCES C, MARTÍNEZ-MARTÍNEZ E, et al. Effects of anti-PD-1 immunotherapy on tumor regression: insights from a patient-derived xenograft model [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 7078.
- [21] WONG Chichun, YU Jun. Gut microbiota in colorectal cancer development and therapy[J]. Nature Reviews Clinical Oncology, 2023, 20(7): 429-452.
- [22] BARSCH M, SALIÉ H, SCHLAAK A E, et al. T-cell exhaustion and residency dynamics inform clinical outcomes in hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Hepatology, 2022, 77(2): 397-409.
- [23] TARIQ H, ZAHRA U. Fibrin-associated diffuse large B-cell lymphoma with aberrant CD4 expression[J]. Blood, 2022, 139(4): 635.

收稿日期: 2024-04-23

修回日期: 2024-11-29

(上接第 122 页)

- LING Jinwei. Application and accuracy analysis of holter electrocardiogram and routine electrocardiogram in diagnosing patients with arrhythmia of coronary heart disease[J]. Doctor, 2023, 8(5): 132-134.
- [15] LI Fang, LI Shanshan, CHEN Hui, et al. MiR-320 accelerates chronic heart failure with cardiac fibrosis through activation of the IL6/STAT3 axis[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(18): 22516-22527.
 - [16] LI Qingju, XU Yinchuan, LV Kaiqi, et al. Small extracellular vesicles containing miR-486-5p promote angiogenesis after myocardial infarction in mice and

nonhuman primates[J]. Science Translational Medicine, 2021, 13(584): eabb0202.

- [17] CHENG Xiaolei, JIAN Dongdong, XING Junyue, et al. Circulating cardiac microRNAs safeguard against dilated cardiomyopathy[J]. Clinical and Translational Medicine, 2023, 13(5): e1258.
- [18] GUO Liping, LI Ke, MA Yan, et al. MicroRNA-322-5p targeting Smurf 2 regulates the TGF- β /Smad pathway to protect cardiac function and inhibit myocardial infarction[J]. Human Cell, 2024, 37(4): 972-985.

收稿日期: 2024-05-14

修回日期: 2024-07-17