

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.01.013  
文章编号: 1005-8982 (2022) 01-0069-06

临床研究·论著

## IDO1 和 IL-10 在喉鳞状细胞癌组织中的表达 及其与临床病理特征和预后的关系研究\*

彭丽娜, 武川军, 冯志星, 赵倩

(邯郸市中心医院 耳鼻喉科, 河北 邯郸 056001)

**摘要:** **目的** 探讨喉鳞状细胞癌(LSCC)组织中吲哚胺2, 3-双加氧酶1(IDO1)和白细胞介素-10(IL-10)的表达及其与临床病理特征和预后的关系。**方法** 选取2015年7月—2017年7月邯郸市中心医院行喉部肿瘤切除术治疗, 且术中病理确诊为LSCC的患者89例, 留取LSCC组织及癌旁组织标本各89份。比较LSCC组织及癌旁组织中IDO1、IL-10的表达情况, 以及LSCC患者不同临床病理特征间IDO1、IL-10表达的差异。绘制Kaplan-Meier生存曲线, 比较生存时间和生存率。采用Cox多因素风险回归模型分析LSCC患者预后的影响因素。**结果** LSCC组织中IDO1、IL-10表达阳性率与癌旁组织比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), LSCC组织高于癌旁组织。不同TNM分期、分化程度、淋巴结转移、远处转移的LSCC患者IDO1、IL-10表达阳性率比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 不同性别、年龄、肿瘤位置的LSCC患者IDO1、IL-10表达阳性率, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。IDO1、IL-10阳性患者的生存时间短于IDO1、IL-10阴性患者( $P < 0.05$ )。Cox多因素风险回归模型分析结果显示, TNM分期较高[RR=1.351(95% CI: 1.055, 1.730)]、分化程度较低[RR=0.734(95% CI: 0.562, 0.959)]、淋巴结转移[RR=1.448(95% CI: 1.095, 1.915)]、远处转移[RR=1.246(95% CI: 1.035, 1.500)]、IDO1阳性表达[RR=1.575(95% CI: 1.156, 2.146)]、IL-10阳性表达[RR=1.771(95% CI: 1.250, 2.508)]是LSCC患者预后的影响因素( $P < 0.05$ )。**结论** LSCC组织中IDO1、IL-10阳性表达率异常升高, 且与患者的临床病理特征及预后密切相关, 可能是导致LSCC病情加重、预后不佳的重要分子机制之一。

**关键词:** 喉鳞状细胞癌; IDO1; IL-10; 临床病理特征; 预后; 影响因素

**中图分类号:** R739.6

**文献标识码:** A

## Expression of IDO1 and IL-10 in laryngeal squamous cell carcinoma and their relationship with clinicopathological features and prognosis\*

Li-na Peng, Chuan-jun Wu, Zhi-xing Feng, Qian Zhao

(Department of Otorhinolaryngology, Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056001, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression of indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 (IDO1) and interleukin-10 (IL-10) in laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) and their relationship with clinicopathological features and prognosis. **Methods** From July 2015 to July 2017, 89 patients with laryngeal tumor resection and intraoperative pathological diagnosis of LSCC were selected, 89 specimens of tumor tissue and adjacent tissue were collected respectively. The expression of IDO1 and IL-10 in LSCC and paracancerous tissues were compared. The clinicopathological characteristics and survival time of patients with different expression of IDO1 and IL-10 in LSCC were compared. Cox multivariate risk regression model was used to analyze the prognostic factors of LSCC patients. **Results** Positive expression rates of IDO1 and IL-10 in LSCC tissues were compared with adjacent

收稿日期: 2021-06-11

\* 基金项目: 河北省邯郸市科学技术研究与发展计划项目(No: 1623208066ZC)

tissues, and the difference were statistically significant ( $P < 0.05$ ). In LSCC patients, the positive rates of IDO1 and IL-10 expression in patients with different TNM stages, differentiation, lymph node metastasis, and distant metastasis were statistically significant ( $P < 0.05$ ); there was no significant difference in the positive rates of IDO1 and IL-10 expression among patients with different gender, age and tumor location ( $P > 0.05$ ). Mean survival time of IDO1 positive and IL-10 positive patients were shorter than that of IDO1 negative, IL-10 negative patients ( $P < 0.05$ ). Cox multivariate risk regression model analysis results show that higher TNM stage [ $\hat{R}R = 1.351$ , (95% CI: 1.055, 1.730)], lower differentiation degree [ $\hat{R}R = 0.734$ , (95% CI: 0.562, 0.959)], lymph node metastasis [ $\hat{R}R = 1.448$ , 95% CI: 1.095, 1.915)], distant metastasis [ $\hat{R}R = 1.246$ , (95% CI: 1.035, 1.500)], IDO1 positive expression [ $\hat{R}R = 1.575$ , (95% CI: 1.156, 2.146)], and IL-10 positive expression [ $\hat{R}R = 1.771$ , (95% CI: 1.250, 2.508)] were the prognostic factors of LSCC patients ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The positive expression rate of IDO1 and IL-10 in LSCC tissue was increased abnormally, and it is closely related to the clinicopathological characteristics and prognosis of the patients, which may be one of the important molecular mechanisms leading to the aggravation and poor prognosis of LSCC.

**Keywords:** squamous cell carcinoma, laryngeal; IDO1; interleukin-10; clinicopathological characteristics; prognosis; influence factors

原发性喉癌以喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC)最为常见,患者以声嘶、咳嗽、呼吸困难为主要临床表现,早期确诊并根据个体化病情采取合理的治疗方案是提升患者5年生存率的最可靠方式<sup>[1-2]</sup>。肿瘤细胞迅速增殖、侵袭、迁移等是导致患者生存时间短、预后不良的重要因素,故寻找肿瘤恶性演进过程中扮演重要角色的分子是后续靶向治疗的基础,对早期明确肿瘤恶性程度及治疗方案的选择具有重要意义。吲哚胺2,3-双加氧酶1(indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO1)是肝外色氨酸沿犬尿氨酸途径分解代谢过程中的一种限速酶,已被证实在宫颈癌<sup>[3]</sup>、食管癌<sup>[4]</sup>等恶性肿瘤组织中呈异常高表达,并且参与肿瘤细胞的增殖、迁移等过程,与患者的不良预后密切相关。白细胞介素-10(Interleukin-10, IL-10)是肿瘤发生过程中重要的免疫抑制因子,IL-10在甲状腺癌<sup>[5]</sup>、胰腺癌<sup>[5]</sup>等肿瘤中高表达,参与肿瘤细胞周期调控、免疫逃逸、迁移等过程,与肿瘤的恶性程度和不良预后相关。目前关于IDO1、IL-10在喉鳞状细胞癌组织中的表达及其对疾病预后的影响研究不多,本次研究以此为切入点展开分析,旨在明确检测IDO1、IL-10表达在LSCC病情评估、预后判断中的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2015年7月—2017年7月邯郸市中心医院进行喉部肿瘤切除术治疗且术中病理确诊为

LSCC的患者89例作为研究对象。其中,男性48例,女性41例;年龄32~78岁,平均(59.38±8.21)岁;体质指数(BMI)为21~27 kg/m<sup>2</sup>,平均(24.03±2.17)kg/m<sup>2</sup>。术中留取患者的LSCC组织及癌旁组织标本各89份。本研究经医院医学伦理委员会审核批准,患者签署知情同意书。

### 1.2 纳入和排除标准

纳入标准:①符合LSCC诊断,首次确诊并接受治疗、既往无相关病史;②根治性手术前无放疗化疗等保守治疗;③合并喉部严重感染性疾病;④年龄18~80岁。排除标准:①复发性喉癌、喉腺癌;②合并其他原发恶性肿瘤疾病;③妊娠或者哺乳期女性;④拒绝接受随访者。

### 1.3 免疫组织化学法检测标本组织中IDO1、IL-10表达

所有标本组织均离体后2 h内放入4%甲醛中固定24 h,石蜡包埋,常规病理苏木精-伊红染色。常规石蜡切片,每张切片厚4 μm。免疫组织化学法检测标本组织中IDO1、IL-10的表达。免疫组织化学试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司,具体操作按试剂盒说明书步骤进行。一抗为鼠抗人单克隆抗体(浓度1:30),每次染色均使用PBS作为一抗的阴性对照。在高倍显微镜下观察可见,LSCC组织细胞中IDO1、IL-10分别定位于胞质、胞核,呈浅黄色及棕褐色颗粒染色。单个标本随机选取10个视野。染色面积计分标准如下:无着色为0分,<25%着色为1分,25%~50%着色为2分,>50%着色为3分;染色强度计分标准如下:不显色

为0分,浅棕黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。表达阳性情况以染色面积积分+染色强度积分进行判断,设0分为“-”,1~2分为“+”,3~4分为“++”,5~6分为“+++”。将“+”“++”“+++”均判定为阳性。

#### 1.4 随访

采用门诊或住院复查、电话回访等方式进行随访,随访终点为2019年9月1日或者患者死亡时间点,记录平均生存时间。

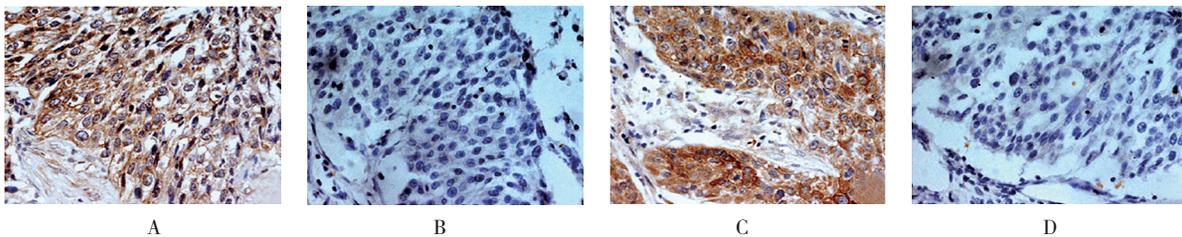
#### 1.5 统计学方法

数据分析采用SPSS 20.0统计软件。计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,比较用 $t$ 检验;计数资料以例(%)表示,比较用 $\chi^2$ 检验;绘制Kaplan-Meier生存曲线,比较用Log rank  $\chi^2$ 检验;采用Cox多因素风险回归模型分析预后的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 LSCC组织与癌旁组织中IDO1和IL-10表达阳性率的比较

LSCC组织中IDO1表达阳性率与癌旁组织比



A:LSCC组织中IDO1表达; B:癌旁组织中IDO1表达; C:LSCC组织中IL-10表达; D:癌旁组织中IL-10表达。

图1 LSCC组织及其癌旁组织中IDO1、IL-10表达 (HTC×400)

### 2.3 IDO1和IL-10表达与预后的关系

绘制Kaplan-Meier生存曲线并进行Log rank  $\chi^2$ 检验,与IDO1、IL-10阴性患者比较,IDO1、IL-10阳性患者的总生存时间明显缩短( $P < 0.05$ )。截至到随访时间,IDO1阳性组的术后总生存率为35.09%(20/57)、术后中位生存时间为24个月,IDO1阴性组的术后总生存率为46.88%(15/32)、术后中位生存时间为35个月。两组比较,差异均有统计学意义( $\chi^2=6.015, P=0.014$ )。IL-10阳性组的术后总生存率为32.81%(21/64)、术后中位生存时间为27个月,IL-10阴性组的术后总

生存率为48.00%(12/25)、术后中位生存时间为33个月。两组比较,差异均有统计学意义( $\chi^2=5.164, P=0.023$ )。见图2。

表1 LSCC组织与癌旁组织中IDO1和IL-10表达阳性率的比较 [n=89,例(%)]

组别	IDO1	IL-10
LSCC组织	57(64.04)	64(71.91)
癌旁组织	11(12.36)	9(10.11)
$\chi^2$ 值	50.354	70.248
$P$ 值	0.000	0.000

### 2.2 不同临床病理特征LSCC患者IDO1和IL-10表达阳性率的比较

不同TNM分期、分化程度、淋巴结转移、远处转移的LSCC患者IDO1、IL-10表达阳性率比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );不同性别、年龄、肿瘤位置的LSCC患者IDO1、IL-10表达阳性率,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表2。

建立Cox比例风险回归模型,以TNM分期、分化程度、淋巴结转移、远处转移、IDO1、IL-10为自变量,以预后状况为因变量,赋值1=死亡,0=生存, $t$ =生存期,其他各变量赋值见表3。采用逐步后选法,以进行自变量的选择和剔除,设定 $\alpha_{\text{入}}=0.05, \alpha_{\text{出}}=0.10$ 。Cox回归结果显示,TNM分期较高[RR=1.351(95% CI: 1.055, 1.730)]、分化程度较低[RR=

表 2 不同临床病理特征 LSCC 患者 IDO1 和 IL-10 表达阳性率的比较 例(%)

临床病理特征	IDO1		$\chi^2$ 值	P 值	IL-10		$\chi^2$ 值	P 值
	阳性(n=57)	阴性(n=32)			阳性(n=64)	阴性(n=25)		
<b>性别</b>								
男	30(52.63)	18(56.25)	0.002	0.964	33(51.56)	15(60.00)	0.091	0.763
女	27(47.37)	14(43.75)			31(48.44)	10(40.00)		
<b>年龄</b>								
≥ 60 岁	41(71.93)	22(68.75)	0.100	0.752	45(70.31)	18(72.00)	0.025	0.875
< 60 岁	16(28.07)	10(31.25)			19(29.69)	7(28.00)		
<b>肿瘤位置</b>								
声门型	19(33.33)	9(28.12)	1.133	0.769	21(32.81)	7(28.00)	1.145	0.766
声门上型	17(29.82)	12(37.50)			20(31.25)	6(24.00)		
声门下型	16(28.07)	7(21.88)			14(21.88)	7(28.00)		
跨声门型	5(8.77)	4(12.50)			9(14.06)	5(20.00)		
<b>TNM 分期</b>								
I、II 期	14(24.56)	15(46.88)	4.645	0.031	23(35.93)	16(64.00)	5.751	0.016
III、IV 期	43(75.44)	17(53.12)			41(64.07)	9(36.00)		
<b>分化程度</b>								
低分化	23(40.35)	5(15.63)	6.236	0.044	23(35.93)	5(20.00)	6.156	0.046
中分化	24(42.11)	17(53.12)			26(40.63)	15(60.00)		
高分化	10(17.54)	10(31.25)			15(23.44)	5(20.00)		
<b>淋巴结转移</b>								
有	34(59.65)	11(34.37)	5.237	0.022	37(57.81)	8(32.00)	4.792	0.029
无	23(40.35)	21(65.63)			27(42.19)	17(68.00)		
<b>远处转移</b>								
有	21(36.84)	5(15.63)	4.461	0.035	23(35.94)	3(12.00)	4.981	0.026
无	36(63.16)	27(84.37)			41(64.06)	22(88.00)		

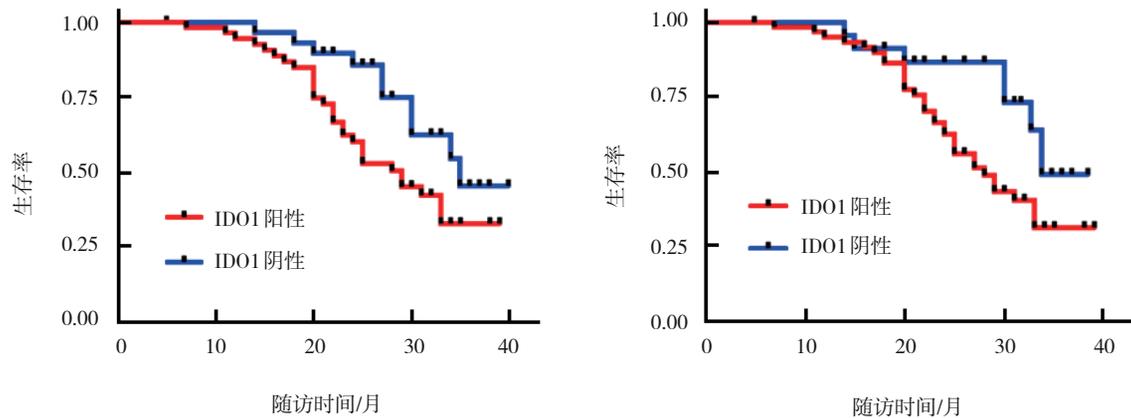


图 2 IDO1、IL-10 阳性表达与 IDO1、IL-10 阴性表达患者的生存曲线

0.734 (95% CI: 0.562, 0.959)]、淋巴结转移[RR=1.448 (95% CI: 1.095, 1.915)]、远处转移[RR=1.246 (95% CI: 1.035, 1.500)]、IDO1 阳性表达[RR=1.575 (95% CI: 1.156, 2.146)]、IL-10 阳性表达[RR=1.771 (95% CI: 1.250, 2.508)]是 LSCC 患者预后的影响因素 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 LSCC 患者预后影响因素的 Cox 多因素风险回归模型参数

自变量	赋值说明	$b$	$S_b$	Wald $\chi^2$	$P$ 值	$\hat{RR}$	95% CI	
							下限	上限
TNM 分期	0 = I、II 期, 1 = III、IV 期	0.301	0.126	5.691	0.017	1.351	1.055	1.730
分化程度	0 = 低分化, 1 = 中高分化	-0.309	0.136	5.150	0.023	0.734	0.562	0.959
淋巴结转移	0 = 否, 1 = 是	0.370	0.143	6.734	0.009	1.448	1.095	1.915
远处转移	0 = 否, 1 = 是	0.220	0.095	5.385	0.020	1.246	1.035	1.500
IDO1	0 = 阴性, 1 = 阳性	0.454	0.158	8.278	0.004	1.575	1.156	2.146
IL-10	0 = 阴性, 1 = 阳性	0.572	0.178	10.361	0.001	1.771	1.250	2.508

### 3 讨论

LSCC 恶性程度较高, 早期易出现侵袭、转移, 严重威胁患者生命安全<sup>[7]</sup>。有研究指出免疫逃逸在 LSCC 发生、发展中发挥重要作用, 故明确对机体免疫功能产生关键性影响作用的分子可能对日后的治疗具有重要意义<sup>[8]</sup>。IDO1 异常高表达可促使细胞中色氨酸耗竭, 使多种细胞失去正常功能, 并且抑制免疫细胞增殖, 对机体正常抗肿瘤免疫功能产生负面影响<sup>[9-10]</sup>。IL-10 也是一种重要的免疫抑制因子, 通过促进 Th2 细胞增殖、抑制 Th1 细胞增殖、抑制 APC 抗原递呈功能, 最终影响细胞毒性 T 淋巴细胞对肿瘤的认识<sup>[11-13]</sup>。关于 IDO1、IL-10 在 LSCC 组织中的表达已有初步报道<sup>[14-15]</sup>, 但关于上述分子对 LSCC 病情及预后的影响研究涉及不多。鉴于这一现状, 本研究以 LSCC 组织中 IDO1、IL-10 的表达为切入点, 发现 LSCC 组织中 IDO1、IL-10 的阳性表达率高于癌旁组织, 这一结果说明 IDO1、IL-10 的异常高表达参与了 LSCC 的发生、发展。

临床病理特征可从不同方面客观反映患者病情严重程度, 故衡量蛋白表达情况与病理特征的相关性可间接说明该蛋白对病情严重程度的影响<sup>[16-17]</sup>。文中根据肿瘤组织中 IDO1、IL-10 的表达阳性与否对入组患者进行二次分组, 通过比较其性别、年龄、肿瘤位置、TNM 分期、分化程度、淋巴结转移、远处转移等因素后发现: TNM 分期高、分化程度低、合并淋巴结转移及远处转移的患者 IDO1、IL-10 阳性表达率更高,

说明高表达的 IDO1、IL-10 是 LSCC 恶性程度高的重要标志, 与既往研究所述 IDO1、IL-10 在肿瘤进展中发挥的作用吻合。IDO1、IL-10 表达增加后可对机体免疫系统造成不同程度抑制, 促使肿瘤细胞发生免疫逃逸, 并加速病情进展, 这可能是高表达 IDO1、IL-10 的 LSCC 患者病理特征不理想的核心原因之一。

本研究对入组患者进行术后长期随访并发现, IDO1、IL-10 阳性表达者生存时间较短, 说明 IDO1、IL-10 高表达对 LSCC 患者的远期生存具有负面作用。使用 Cox 多因素风险回归模型探讨对 LSCC 患者生存时间产生直接影响的因素, 发现较高的 TNM 分期、较低的分化程度、淋巴结转移、远处转移、IDO1 阳性表达、IL-10 阳性表达均是缩短患者生存时间的危险因素。该结果推测与 IDO1、IL-10 高表达后促进 LSCC 病情进展相关。IDO1、IL-10 表达阳性与 LSCC 恶性程度以及患者的不良预后相关, 提示可以将 IDO1、IL-10 应用到 LSCC 的临床诊断和预后评估当中, 并且早期联合检测有助于预测 LSCC 的预后风险, 从而为临床制订针对性干预方案提供参考。

综上所述, LSCC 组织中 IDO1、IL-10 表达阳性率较癌旁组织异常升高, 且阳性表达患者的 TNM 肿瘤分期较高、分化程度较低、合并淋巴结转移及远处转移的比例较高, 同时是导致患者远期生存时间缩短的危险因素之一。IDO1、IL-10 表达可能是影响 LSCC 发生、发展的重要分子之一, 干扰其表达对疾病病情及预后的影响研究有望在日后进一步展开。

## 参 考 文 献 :

- [1] LIU T, WANG W, XU Y C, et al. Long noncoding RNA NEAT1 functions as an oncogene in human laryngocarcinoma by targeting miR-29a-3p[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(14): 6234-6241.
- [2] XU S, GUO J, ZHANG W. lncRNA PCAT19 promotes the proliferation of laryngocarcinoma cells via modulation of the miR-182/PDK4 axis[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 12810-12821.
- [3] 程媛, 李小平, 张琪, 等. 吡啶胺 2,3-双加氧酶-1 在宫颈癌中的表达及对增殖及侵袭的影响[J]. *实用妇产科杂志*, 2018, 34(6): 434-438.
- [4] 刘裕琳, 张震, 曹玲, 等. 食管癌组织中 IDO1 的表达及犬尿酸对间皮素 CAR-T 细胞功能的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54(3): 344-348.
- [5] CUNHA L L, MORARI E C, NONOGAKI S, et al. Interleukin 10 expression is related to aggressiveness and poor prognosis of patients with thyroid cancer[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66(2): 141-148.
- [6] FENG L Y, QI Q, WANG P, et al. Serum levels of IL-6, IL-8, and IL-10 are indicators of prognosis in pancreatic cancer[J]. *J Int Med Res*, 2018, 46(12): 5228-5236.
- [7] BILUSIC M, HEERY C R, COLLINS J M, et al. Phase I trial of HuMax-IL8 (BMS-986253), an anti-IL-8 monoclonal antibody, in patients with metastatic or unresectable solid tumors[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 240.
- [8] KOURELIS T V, VILLASBOAS J C, JESSEN E, et al. Mass cytometry dissects T cell heterogeneity in the immune tumor microenvironment of common dysproteinemias at diagnosis and after first line therapies[J]. *Blood Cancer J*, 2019, 9(9): 72.
- [9] 张国楠, 朱熠, 黄建鸣. 对靶向 MyD88、IDO1 和 AHR 为中心的免疫抑制信号通路和卵巢上皮性癌免疫治疗的思考[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(7): 448-451.
- [10] HUANG H, JIANG C T, SHEN S, et al. Nanoenabled reversal of IDO1-mediated immunosuppression synergizes with immunogenic chemotherapy for improved cancer therapy[J]. *Nano Lett*, 2019, 19(8): 5356-5365.
- [11] 何亚运, 罗泊涛, 陆元志. 肿瘤微环境中免疫抑制性细胞和细胞因子在抗肿瘤免疫反应中的作用研究进展[J]. *山东医药*, 2019, 59(6): 88-92.
- [12] BUSSE M, CAMPE K J, NOWAK D, et al. IL-10 producing B cells rescue mouse fetuses from inflammation-driven fetal death and are able to modulate T cell immune responses[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9335.
- [13] 余巧, 盛宏申, 郭晓静, 等. 分泌性中耳炎患者外周血 Th1Th2 细胞及 T 淋巴细胞亚群水平的表达及临床意义[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(6): 1103-1107.
- [14] 彭丽娜. IDO 和 BIN1 在喉鳞状细胞癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2017, 23(3): 202-205.
- [15] ERKUL E, YILMAZ I, GUNGOR A, et al. MicroRNA-21 in laryngeal squamous cell carcinoma: Diagnostic and prognostic features[J]. *Laryngoscope*, 2017, 127(2): E62-E66.
- [16] 陈漫漫, 伏晓, 滕尧树, 等. Slug 与头颈部鳞状细胞癌临床病理特征的关系及用于预后判断价值的研究进展[J]. *浙江医学*, 2017, 39(18): 1617-1620.
- [17] MEZI S, CHIAPPETTA C, CARLETTI R, et al. Clinical significance of epithelial-to-mesenchymal transition in laryngeal carcinoma: its role in the different subsites[J]. *Head Neck*, 2017, 39(9): 1806-1818.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 彭丽娜, 武川军, 冯志星, 等. IDO1 和 IL-10 在喉鳞状细胞癌组织中的表达及其与临床病理特征和预后的关系研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(1): 69-74.

Cite this article as: PENG L N, WU C J, FENG Z X, et al. Expression of IDO1 and IL-10 in laryngeal squamous cell carcinoma and their relationship with clinicopathological features and prognosis[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(1): 69-74.