

肿瘤相关巨噬细胞与卵巢癌病人不良预后的 Meta 分析

郭 轶, 沈 燕, 李冰燕, 张增利

(苏州大学医学部公共卫生学院, 江苏苏州 215123)

摘要: 目的: 探究在卵巢癌病人中, 肿瘤相关巨噬细胞的阳性率与病人预后的关系。方法: 计算机检索 PubMed 与 MEDLINE 数据库中相关文章, 由 2 名研究员独立筛选和评价文献, 运用 Stata 11.0 软件对提取的数据进行 Meta 分析。结果: Meta 分析纳入的 8 篇文献, 包括来自北美及亚洲的 961 例病例。卵巢癌中高密度的肿瘤相关巨噬细胞与病人较差的预后有关[风险比 (hazard ratio, HR) 1.78, 95%CI (1.19, 2.66)]。亚组分析发现, 高密度的 M2 型肿瘤相关巨噬细胞可以引起病人总生存率下降[HR 2.17, 95%CI (1.58, 2.97)]。结论: Meta 分析发现, 肿瘤相关巨噬细胞、M2 型肿瘤相关巨噬细胞与卵巢癌的不良预后有关。

关键词: 肿瘤学; 肿瘤相关巨噬细胞; 卵巢癌; 肿瘤临床预后; 肿瘤微环境

中图分类号: R737.31 文献标识码: A 文章编号: 1674-2850(2017)23-2593-07

Tumor-associated macrophages associated with poor prognosis of ovarian cancer patients: Meta-analysis

GUO Yi, SHEN Yan, LI Bingyan, ZHANG Zengli

(School of Public Health, Medical College of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215123, China)

Abstract: Objective: To evaluate the association of tumor-associated macrophages (TAMs) positive percentage and prognosis in ovarian cancer patients. Methods: A systematic literature search was conducted via PubMed and MEDLINE database to identify eligible studies. Two reviewers independently screened and evaluated the included articles. Stata 11.0 software was used to analyze the data. Results: The Meta-analysis included 8 studies of 961 participants from North America and Asia. High generalized TAMs density was significantly associated with poor prognosis [hazard ratio (HR) 1.78, 95%CI (1.19, 2.66)]. Subgroup analysis revealed that high density of M2 TAMs was correlated with a poor prognosis for overall survival [HR 2.17, 95%CI (1.58, 2.97)]. Conclusion: Meta-analysis indicates that TAMs and M2 TAMs are predicative factors of prognosis in ovarian cancer patients.

Key words: oncology; tumor-associated macrophages; ovarian cancer; tumor clinical prognosis; tumor microenvironment

0 引言

卵巢癌是导致绝经后女性罹癌症死亡最主要的恶性肿瘤之一^[1-2]。超过70%的卵巢癌病人在发现时已存在癌细胞转移, 且5年生存率低于30%^[3-4]。传统的治疗方式包括手术和铂类药物的化疗, 但是传统的治疗方式存在复发的风险^[3]。2011年, HANAHAN等^[5]发表了一篇关于肿瘤相关巨噬细胞的文章, 提出

基金项目: 国家自然科学基金 (81372979)

作者简介: 郭轶 (1991—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向: 维生素 D 与肿瘤免疫

通信联系人: 张增利, 教授, 主要研究方向: 维生素 D 与职业病. E-mail: zhangzengli@suda.edu.cn

了肿瘤相关巨噬细胞在肿瘤发生、发展进程中具有重要作用。随后, 有研究者开始以肿瘤微环境为切入点, 试图发现治疗肿瘤的新方法, 也就是通常所说的免疫疗法^[3]。

作为肿瘤微环境的重要一员, 肿瘤相关巨噬细胞越来越受关注^[6]。以 CD68 为标志物的肿瘤相关巨噬细胞有多种作用, 包括促进血管生成、重建组织及抑制获得性免疫^[7]。根据极化标志物的不同, 肿瘤相关巨噬细胞可以分为 M1 型与 M2 型。以 CD86 为标志物的 M1 型巨噬细胞可以增强免疫、抑制肿瘤的进展^[8]。而以 CD163 或 CD206 为标志物的 M2 型巨噬细胞却被认为会促进肿瘤的发生、发展^[9]。

事实上, 肿瘤相关巨噬细胞已经在多种肿瘤的预后中发挥作用。许多研究发现肿瘤相关巨噬细胞的阳性率与肿瘤病人的不良预后呈正相关^[3]; 而一些研究又指出了相反的观点^[10]。WU 等^[11]指出, 高密度的肿瘤相关巨噬细胞与胃癌的不良预后呈正相关。MEI 等^[12]研究发现, 在非小细胞肺癌中不同密度的肿瘤相关巨噬细胞有着不同的生存率。然而, 仍有很多数据显示相反的结果^[13]。因此, 本文进行了 Meta 分析, 旨在探究肿瘤相关巨噬细胞的密度与卵巢癌病人预后的关系。

1 材料与方法

1.1 文献检索与纳入标准

使用关键词“卵巢癌”、“癌症”、“巨噬细胞”、“肿瘤相关巨噬细胞”, 在 PubMed 与 MEDLINE 数据库中检索截止日期为 2017 年 4 月的文章。对参考文献进行筛选, 将符合的参考文献纳入研究。两人 (SY、GY) 单独查看标题、摘要以确认是否符合研究。因为本文的 Meta 分析是基于以往的研究, 所以未要求伦理学研究。

Meta 分析的纳入标准包括: 1) 以卵巢癌为研究对象; 2) 在肿瘤组织中检测巨噬细胞的密度; 3) 有巨噬细胞密度与病人预后结果; 4) 有足够的数据进行 HR 与 95%CI 的计算。综述、评论等特殊形式的论文不纳入研究。如果存在同一个研究中有肿瘤相关巨噬细胞的不同标志物, 所有数据均纳入研究。

1.2 数据提取

提取的数据包括第一作者姓名、发表时间、研究地区、病例数、肿瘤相关巨噬细胞的标志物、确认肿瘤相关巨噬细胞密度的方法、预后情况。数据由两人单独提取。

1.3 质量评估

使用 Newcastle-Ottawa scale (NOS) 质量表评估纳入的文献。评估表包括病例的筛选、研究方法的统计、结局的评估。纳入文献的评分将在 0~9 分, 评分 ≥ 6 分的可被认为是高质量文献。

1.4 统计分析

用 HR 和 95%CI 评价肿瘤相关巨噬细胞密度与卵巢癌病人预后的相关性。大多数文献的 HR 与 95%CI 均已直接给出, 但是也有少数文献未直接给出 HR 与 95%CI, 需根据给出数据进行计算。合并 HR > 1 且 95%CI 不包括 1, 说明肿瘤相关巨噬细胞的密度与卵巢癌不良预后相关。

文献可能存在的异质用 Cochrane Q 与 I^2 检验^[14]。 $P < 0.10$ 与 $I^2 > 50\%$ 认为可能存在明显的异质性, 这种情况下需要使用随机效应模型, 反之则使用固定效应模型^[15-16]。

为寻找异质性的来源、评价每篇文献对结果的效应, 研究还进行了亚组分析。同时, 研究采用敏感性分析来检验结果的稳定性, 采用 Begg's 检验^[17]和 Egger's 检验^[18]来检测发表偏倚。数据分析均使用 Stata 11.0 软件进行。

2 结果

2.1 检索结果

从 PubMed 与 MEDLINE 数据库中检索到 257 篇文献，查看标题和摘要后排除 199 篇文献，查看全文后，又排除 15 篇数据不全和 35 篇重复的文献。随后，系统阅读了剩下的 8 篇文献，发表时间从 2009 年至 2016 年（如表 1 所示）。

表 1 纳入文献基本信息
Tab. 1 Basic information of including studies

文献	发表时间/年	研究地区	病例数/例	分级	标志物	方法	预后	HR	95%CI	NOS 评分/分
万挺等 ^[19]	2009	中国	67	III-IV	CD68	IHC	OS	3.81	(1.37, 10.63)	6
LE 等 ^[20]	2012	加拿大	199	I-IV	CD206	IHC	OS	2.08	(0.95, 4.56)	5
LAN 等 ^[10]	2013	中国	110	III-IV	CD68	IHC	PFS	0.66	(0.56, 1.45)	7
LAN 等 ^[10]	2013	中国	110	III-IV	CD163	IHC	PFS	2.68	(1.37, 3.79)	7
NO 等 ^[7]	2013	韩国	55	I-IV	CD163	IHC	DFS	2.50	(0.80, 8.00)	6
LAN 等 ^[21]	2013	中国	104	III-IV	CD163	IHC	PFS	1.73	(1.05, 2.93)	5
YIN 等 ^[22]	2016	美国	128	III	CD68	IHC	OS	2.59	(1.07, 6.25)	6
汪洪等 ^[23]	2016	中国	250	I-IV	CD68	IHC	OS	1.62	(0.94, 2.77)	6
黄福海等 ^[24]	2016	中国	48	NR	CD68	PCR	OS	0.73	(0.15, 3.82)	6

注：IHC 为免疫组化；OS 为总生存期；DFS 为无病生存期；PFS 为无进展生存期；NR 表示未说明

2.2 纳入文献信息

8 篇文献中，5 篇在中国进行研究，1 篇在加拿大，1 篇在韩国，1 篇在美国。时间从 2009 年至 2016 年。每篇文献的病例数从 48 例至 250 例不等，合并病例数为 961 例。在这些研究中，检测肿瘤相关巨噬细胞使用了不同的标志物，包括 CD68、CD163 和 CD206。因为文献^[10]使用了两种标志物，所以将该文献按不同标志物纳入 2 次。CD68 作为标志物的文献有 5 篇，使用 CD163 或 CD206 标记的 M2 型肿瘤相关巨噬细胞的文献分别为 3 篇和 1 篇。基础数据与文献质量总结于表 1 中。

参与病例的基本情况也需要考虑。本研究纳入了年龄为 25~81 岁的卵巢癌病人，除其中一篇文献纳入了恶性程度高的卵巢癌病人^[20]外，剩余文献纳入的均为研究期限内符合标准的所有卵巢癌病人。

2.3 肿瘤相关巨噬细胞与卵巢癌病人的预后

纳入的 8 篇文献中有 5 篇文献的结论为肿瘤相关巨噬细胞与卵巢癌病人的预后没有显著相关性，但是合并 HR 发现，高密度的肿瘤相关巨噬细胞可以引起卵巢癌病人的不良预后[HR 1.78, 95%CI (1.19, 2.66)，如图 1 所示]。因为 Meta 分析存在较大的异质性 ($I^2=64.8%$, $P<0.01$)，所以研究使用了随机效应模型。结果表明，当卵巢癌病人的肿瘤相关巨噬细胞密度越高时，病人的预后越差。

2.4 亚组分析

因为存在多种标志物且 Meta 分析的异质性明显，所以研究进行了亚组分析。将 M2 型巨噬细胞的标志物单独提出，分析后发现 M2 型巨噬细胞的密度与卵巢癌病人的预后存在显著关系[HR 2.17, 95%CI

(1.58, 2.97), $I^2=0.0\%$, $P=0.687$, 如图 2 所示]。结果表明, 卵巢癌病人的 M2 型肿瘤相关巨噬细胞密度越高, 病人的预后越差。

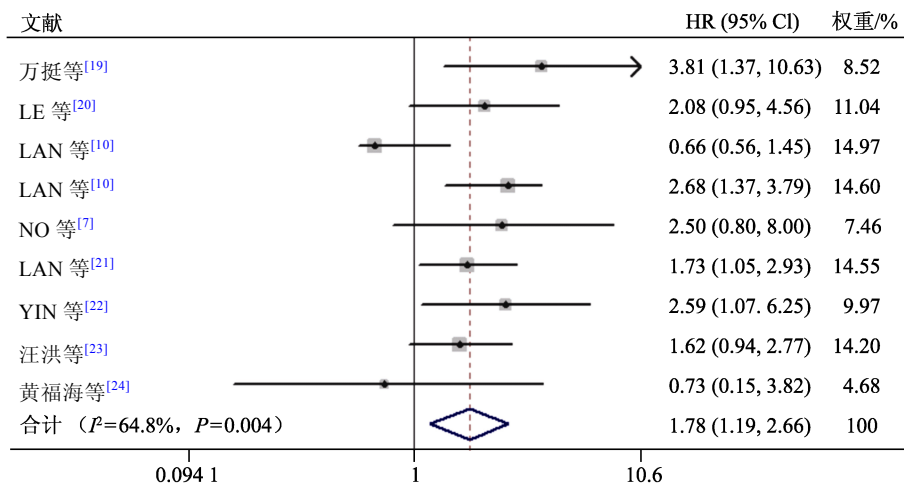


图 1 肿瘤相关巨噬细胞与卵巢癌病人预后的 Meta 分析森林图

Fig. 1 Meta analysis result of TAMs and prognosis of ovarian cancer patients

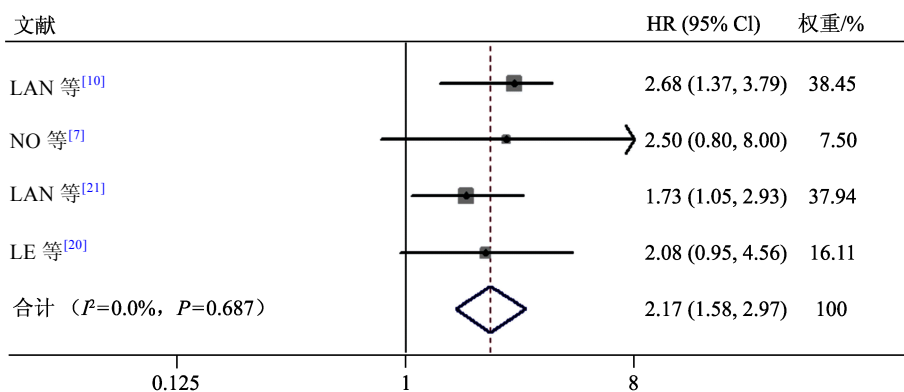


图 2 M2 型肿瘤相关巨噬细胞与卵巢癌病人预后的亚组分析森林图

Fig. 2 Sub-analysis result of M2 TAMs and prognosis of ovarian cancer patients

另外, 采用符合条件的 2 篇文献进行分析, 发现卵巢癌病人的分级越高, M2 型巨噬细胞的密度越高。I-IV 级病人的 HR (1.02) 低于 III-IV 级病人的 HR (1.80), 虽然 HR 有明显变化, 但是并没有统计学意义 (如表 2 所示)。

表 2 卵巢癌分级与 M2 型巨噬细胞密度的 HR

Tab. 2 HR of the M2 TAMs density and ovarian cancer grade

文献	分级	标志物	病例数/例	HR	95%CI
NO 等 ^[7]	I-IV	CD163	55	1.02	(0.65, 1.59)
LAN 等 ^[21]	III-IV	CD163	104	1.80	(0.85, 3.65)

2.5 敏感性分析

将每篇文献剔除后分析 I^2 的变化, 以便发现每一篇文献的异质性。研究发现, LAN 等^[10]的研究存在

明显低于其他研究的低敏感性，剔除后异质性明显降低。而黄福海等^[24]的研究方法虽然与其他研究不相同，但并不存在较大的敏感性。

2.6 发表偏倚

Begg's 检验和 Egger's 检验均用来检验发表偏倚，但是并没有发现明显的发表偏倚 [$P(\text{Begg})=0.677$, $P(\text{Egger})=0.458$]。

3 讨论与结论

研究发现，高密度的 M2 型肿瘤相关巨噬细胞可以引起卵巢癌病人的不良预后，并且 M2 型肿瘤相关巨噬细胞密度与卵巢癌分级也相关。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 是降解基底膜和细胞外基质的主要成分。XING 等^[25]研究发现肿瘤相关巨噬细胞可能会被肿瘤微环境影响，进而被卷入 MMP 相关的卵巢癌细胞侵袭过程。这个过程可能包括 MMP-2 蛋白介导远处转移、MMP-9 降解细胞外基质，从而破坏组织学屏障，促进细胞转移^[26]。REINARTZ 等^[27]研究发现，肿瘤相关巨噬细胞也可能通过 IL-6 与 IL-10 的分泌来影响免疫系统的功能，最终起到促进卵巢癌恶化的作用。

亚组分析发现，高密度的 M2 型巨噬细胞引起了卵巢癌病人的不良预后。众所周知，M1 型与 M2 型肿瘤相关巨噬细胞的作用分别是抑制与促进肿瘤进展^[26]。TSUBOKI 等^[28]与 POLLARD^[29]认为，M2 型肿瘤相关巨噬细胞与血管形成、肿瘤侵袭、肿瘤转移、免疫抑制均有关。从分子水平来看，M2 型肿瘤相关巨噬细胞可以通过直接或间接的方式，刺激卵巢癌细胞的 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 表达量上调。TLR1、TLR2 与 TLR6 是介导炎症反应的主要受体，TLR 活化后，进一步促进 MMP 的表达，也促进卵巢癌的生长与侵袭^[30]。

本研究仍存在多个不足之处。首先，因为有的文献缺乏调整后的 HR 数据，所以合并 HR 使用的有未调整的 HR。其次，研究的异质性较大，不可忽视，因此研究采用了随机效应模型。最后，因为基础文献缺乏针对 M1 型巨噬细胞与卵巢癌病人预后的数据，所以实验分析不够全面。

综上所述，研究发现高密度 M2 型肿瘤相关巨噬细胞会引起卵巢癌病人预后不良，但是这个结论还需要深入验证。

[参考文献] (References)

- [1] ZHANG M, HE Y, SUN X, et al. A high M1/M2 ratio of tumor-associated macrophages is associated with extended survival in ovarian cancer patients[J]. Journal of Ovarian Research, 2014, 7(1): 19.
- [2] HE Y, ZHANG M, WU X, et al. High MUC2 expression in ovarian cancer is inversely associated with the M1/M2 ratio of tumor-associated macrophages and patient survival time[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e79769.
- [3] ZHU Q, WU X, WU Y, et al. Interaction between Treg cells and tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment of epithelial ovarian cancer[J]. Oncology Reports, 2016, 36(6): 3472-3478.
- [4] KUEHN B M. The hunt continues for early ovarian cancer clues[J]. JAMA, 2017, 318(1): 14-16.
- [5] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [6] MANTOVANI A, ALLAVENA P. The interaction of anticancer therapies with tumor-associated macrophages[J]. Journal of Experimental Medicine, 2015, 212(4): 435-445.
- [7] NO J H, MOON J M, KIM K, et al. Prognostic significance of serum soluble CD163 level in patients with epithelial ovarian cancer[J]. Gynecologic & Obstetric Investigation, 2013, 75(4): 263-267.

- [8] POLLARD J W. Trophic macrophages in development and disease[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2009, 9(4): 259-270.
- [9] D'ALMEIDA S M, KAUFFENSTEIN G, ROY C, et al. The ecto-ATPase CD39 is involved in the acquisition of the immunoregulatory phenotype by M-CSF-macrophages and ovarian cancer tumor-associated macrophages: regulatory role of IL-27[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(7): e1178025.
- [10] LAN C, HUANG X, LIN S, et al. Expression of M2-polarized macrophages is associated with poor prognosis for advanced epithelial ovarian cancer[J]. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 2013, 12(3): 259-267.
- [11] WU M H, LEE W J, HUA K T, et al. Macrophage infiltration induces gastric cancer invasiveness by activating the β -catenin pathway[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0134122.
- [12] MEI J, XIAO Z, GUO C, et al. Prognostic impact of tumor-associated macrophage infiltration in non-small cell lung cancer: a systemic review and meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(23): 34217-34228.
- [13] BULDAKOV M, ZAVYALOVA M, KRAKHMAL N, et al. CD68⁺, but not stabilin-1⁺ tumor associated macrophages in gaps of ductal tumor structures negatively correlate with the lymphatic metastasis in human breast cancer[J]. *Immunobiology*, 2017, 222(1): 31-38.
- [14] ORSINI N, BOTTAI M, HIGGINS J, et al. HETEROGI: Stata module to quantify heterogeneity in a meta-analysis[CP/OL]. Boston: Boston College Department of Economics, 2005. <https://econpapers.repec.org/software/bocbocode/s449201.htm>.
- [15] OLIVEIRA A G. 13. Meta-analysis of clinical trials[M]. New York: John Wiley & Sons, Ltd., 2013.
- [16] DERSIMONIAN R, LAIRD N. Meta-analysis in clinical trials[J]. *Controlled Clinical Trials*, 1986, 7(3): 177-188.
- [17] BEGG C B, MAZUMDAR M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias[J]. *Biometrics*, 1994, 50(4): 1088.
- [18] EGGER M, SMITH G D, SCHNEIDER M, et al. Bias in Meta-analysis detected by a simple, graphical test[J]. *BMJ*, 1997, 315(7109): 629-634.
- [19] 万挺, 刘继红, 郑利民, 等. 肿瘤相关巨噬细胞在晚期上皮性卵巢癌组织中的浸润及其与预后的关系[J]. *癌症*, 2009, 28 (3): 323-327.
- WAN T, LIU J H, ZHENG L M, et al. Prognostic significance of tumor-associated macrophage infiltration in advanced epithelial ovarian carcinoma[J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2009, 28(3): 323-327. (in Chinese)
- [20] LE P C, MARINEAU A, BONZA P K, et al. BTN3A2 expression in epithelial ovarian cancer is associated with higher tumor infiltrating T cells and a better prognosis[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38541.
- [21] LAN C, HUANG X, LIN S, et al. High density of IL-17-producing cells is associated with improved prognosis for advanced epithelial ovarian cancer[J]. *Cell and Tissue Research*, 2013, 352(2): 351-359.
- [22] YIN M, LI X, TAN S, et al. Tumor-associated macrophages drive spheroid formation during early transcoelomic metastasis of ovarian cancer[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2016, 126(11): 4157-4173.
- [23] 汪洪, 邓凯贤, 郑玉华, 等. 卵巢癌组织与肿瘤相关巨噬细胞之间的关系及预后的影响[J]. *中国医药科学*, 2016, 6 (23): 220-222.
- WANG H, DENG K X, ZHENG Y H, et al. Relationship between ovarian cancer and tumor associated macrophages and its influence on prognosis[J]. *China Medicine and Pharmacy*, 2016, 6(23): 220-222. (in Chinese)
- [24] 黄福海, 潘丽英, 徐楚燕. 肿瘤相关巨噬细胞与卵巢癌组织之间的关系及预后的影响[J]. *中国医药科学*, 2016, 6 (5): 166-168.
- HUANG F H, PAN L Y, XU C Y. The correlation of tumor-associated macrophages with ovarian cancer tissue and its prognosis[J]. *China Medicine and Pharmacy*, 2016, 6(5): 166-168. (in Chinese)
- [25] XING K, ZHANG S, MENG W, et al. Tumor-associated macrophages promote invasion via Toll-like receptors signaling in patients with ovarian cancer[J]. *International Immunopharmacology*, 2016, 40: 184-195.
- [26] MAURO A, RUSSO V, DI M L, et al. M1 and M2 macrophage recruitment during tendon regeneration induced by amniotic

-
- epithelial cell allotransplantation in ovine[J]. *Research in Veterinary Science*, 2016, 105: 92-102.
- [27] REINARTZ S, SCHUMANN T, FINKERNAGEL F, et al. Mixed-polarization phenotype of ascites-associated macrophages in human ovarian carcinoma: correlation of CD163 expression, cytokine levels and early relapse[J]. *International Journal of Cancer*, 2014, 134(1): 32-42.
- [28] TSUBOKI J, FUJIWARA Y, HORLAD H, et al. Onionin A inhibits ovarian cancer progression by suppressing cancer cell proliferation and the protumour function of macrophages[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 29588.
- [29] POLLARD J W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2004, 4(1): 71-78.
- [30] PINTO A, MORELLO S, SORRENTINO R. Lung cancer and Toll-like receptors[J]. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 2011, 60(9): 1211-1220.