

食管黏液表皮样癌中 PD-L1 的表达及其预后价值

孙雪梅, 刘 尧, 刘月平

(河北医科大学第四医院, 河北 石家庄 050011)

摘要: [目的] 分析食管黏液表皮样癌(mucoepidermoid carcinoma, MEC)患者的临床病理特征, 并探讨 PD-L1 表达对预后的影响。[方法] 收集河北医科大学第四医院 2003 年 1 月至 2017 年 12 月术后病理确诊为食管 MEC 患者 39 例, 采用免疫组化染色法测定 PD-L1 表达, 综合阳性分数 (CPS) ≥ 10 判读为 PD-L1 阳性。[结果] 食管 MEC 患者的 PD-L1 阳性率为 33.3%(13/39), 中位生存期为 16 个月。PD-L1 表达与年龄、性别、临床分期、淋巴结转移等病理特征无关 ($P>0.05$)。Kaplan-Meier 单因素分析显示淋巴结转移 ($\chi^2=9.541, P=0.002$)、临床分期 ($\chi^2=5.381, P=0.020$)、PD-L1 表达 ($\chi^2=7.023, P=0.008$) 对患者预后有影响。Cox 多因素分析显示淋巴结转移 (HR=4.510, 95%CI: 1.669~12.185, $P=0.003$)、PD-L1 表达 (HR=3.130, 95%CI: 1.366~7.172, $P=0.007$) 是食管 MEC 患者预后的独立影响因素, 淋巴结转移、PD-L1 阳性的患者预后更差。[结论] PD-L1 表达是食管 MEC 患者预后评估的生物学指标。

关键词: 食管肿瘤; 黏液表皮样癌; PD-L1; 预后

中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2022)10-0855-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.10.B009

Expression of PD-L1 in Esophageal Mucoepidermoid Carcinoma and Its Relation with Prognostic of Patients

SUN Xue-mei, LIU Yao, LIU Yue-ping

(The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract: [Objective] To investigate the expression of PD-L1 in esophageal mucoepidermoid carcinoma(MEC) and its relation with the prognosis of patients. [Methods] Thirty-nine patients with esophageal MEC who underwent radical surgical resection in the Fourth Hospital of Hebei Medical University from January 2003 to December 2017 were enrolled in the study. The expression of PD-L1 was detected by immunohistochemical stain, the composite positive score(CPS) ≥ 10 was defined as PD-L1 positive. [Results] The positive rate of PD-L1 was 33.3%(13/39). The median survival time of PD-L1 positive patients was 16 months. There was no significant difference in age, gender, clinical stage, lymph node metastasis between patients with positive and negative PD-L1 expression ($P>0.05$). Univariate regression analysis showed that lymph node metastasis ($\chi^2=9.541, P=0.002$), clinical stage ($\chi^2=5.381, P=0.020$) and PD-L1 expression ($\chi^2=7.023, P=0.008$) were significantly associated with the prognosis of patients ($P<0.05$). Cox multivariate regression analysis showed that lymph node metastasis (HR=4.510, 95%CI: 1.669~12.185, $P=0.003$) and PD-L1 expression (HR=3.130, 95%CI: 1.366~7.172, $P=0.007$) were independent risk factors for poorer prognosis of patients with esophageal MEC. [Conclusion] The expression of PD-L1 can affect the prognosis of esophageal MEC and may be used as a biological indicator to evaluate the prognosis of patients.

Subject words: esophageal neoplasms; mucoepidermoid carcinoma; PD-L1; prognosis

黏液表皮样癌(mucoepidermoid carcinoma, MEC)是常见于涎腺、泪腺、支气管等部位的恶性肿瘤, 食管 MEC 十分罕见^[1], 占有原发性食管癌病例的 0.05%~2.20%^[2], 手术切除为其主要治疗方法,

基金项目: 河北省医学科学课题计划(20210717)

通信作者: 刘月平, E-mail: annama@163.com

收稿日期: 2022-07-11; 修回日期: 2022-08-07

但预后较差。程序性死亡受体 1(programmed death-1, PD-1)及其配体(programmed death-1 ligand, PD-L1)是目前肿瘤靶向治疗的研究热点之一。PD-L1 属于 B7 家族, 并且表达于多种实体肿瘤^[3], PD-1 与 PD-L1 结合后可以抑制 T 细胞的活化并诱导其凋亡, 减低 T 细胞对肿瘤的免疫反应, 促进肿瘤细胞的生长^[4]。

在食管癌中,PD-L1 表达尤为重要,多项临床试验证明食管癌 PD-L1 阳性患者在应用 PD-1/PD-L1 抑制剂后可延长生存期^[5-7]。本文通过回顾性分析 39 例食管 MEC 患者的临床及病理资料,分析食管 MEC 中 PD-L1 的表达对预后的影响。

1 资料与方法

1.1 病例资料

收集 2003 年 1 月至 2017 年 12 月在河北医科大学第四医院行根治性手术切除并经病理确诊为原发性食管 MEC 患者 39 例,且均有完整的临床资料。本研究经医院伦理委员会审批通过。TNM 分期按照国际抗癌联盟(UICC)第 8 版食管癌分期标准。男性 31 例,女性 8 例,男女比例为 4:1,发病年龄 46~78 岁,中位年龄 62 岁。食管 MEC 发病部位以胸中段最常见,为 32 例;胸下段 6 例,胸上段 1 例。治疗方式:单纯手术 18 例,综合性治疗(术前化疗、术后放疗、术后化疗、术后放化疗)21 例(Table 1)。

术后以电话或复诊的方式随访,随访终点为死亡、失访或生存至截止日期,随访期间的失访者为删失值。截止日期为 2018 年 6 月,共死亡 29 例。

1.2 试剂及仪器

鼠抗人 DAKO 抗 PD-L1 (22C3)抗体多克隆抗体购自默沙东公司,AB-PAS 染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。DAKO 自动 Link-48 平台购自安捷伦科技有限公司,抗原修复液(pH=8.0)购自北京中杉金桥生物技术有限公司,二甲苯购自北京化学试剂厂。

1.3 方法

标本均常规固定、脱水、透明、石蜡包埋;将蜡块固定于切片机上,切成 4 μm 薄片,45℃水中展片、贴片,56℃恒温箱中烤片,常规 HE 染色。PD-L1 22C3 染色在 DAKO 自动 Link-48 平台上进行,以胎盘为外部对照,验证 PD-L1 染色反应是否充分。

1.4 根据综合阳性分数进行 PD-L1 阳性结果判读

综合阳性分数(combined positive score,CPS)是指除非小细胞肺癌外其他样本组织(食管癌、胃癌、尿路上皮癌、宫颈癌、头颈部肿瘤等)中全部符合要求的阳性染色细胞占比分数,包括膜染色的肿瘤细胞、淋巴细胞和巨噬细胞,但应排除全部坏死细胞、

Table 1 Clinical data of 39 cases with esophageal mucoepidermoid carcinoma

Variable		N (%)
Gender	Male	31 (79.5)
	Female	8 (20.5)
Age (years old)	≤62	21 (53.8)
	>62	18 (46.2)
Tumor location	Upper thoracic segment	1 (2.6)
	The mid-thoracic portion	32 (82.1)
	Lower thoracic segment	6 (15.4)
General type	Ulcerative type	11 (28.2)
	Fungating type	2 (5.1)
	Medullary type	20 (51.3)
	Constrictive type	2 (5.1)
	Indeterminate type	4 (10.3)
Length of the tumor (cm)	≤3	23 (59.0)
	>3	16 (41.0)
Infiltrating depth	T ₁	1 (2.6)
	T ₂	4 (10.3)
	T ₃	29 (74.4)
	T ₄	5 (12.8)
Clinical stage	I	4 (10.3)
	II	19 (48.7)
	III	13 (33.3)
	IV	3 (7.7)
Lymph node metastasis	No	25 (64.1)
	Yes	14 (35.9)
Treatment	Surgery alone	18 (46.2)
	Comprehensive treatment	21 (53.8)
PD-L1 expression	Negative	26 (66.7)
	Positive	13 (33.3)

间质细胞、原位癌以及其他免疫细胞(包括但不限于中性粒细胞、嗜酸性细胞、浆细胞)等染色。

CPS=PD-L1 染色阳性细胞数(肿瘤细胞、淋巴细胞和巨噬细胞)/总活肿瘤细胞数×100。

PD-L1 阴性:CPS<10;PD-L1 阳性:CPS≥10^[5]。

1.5 统计学处理

数据采用 SPSS 25.0 统计学软件进行分析。Kaplan-Meier 法计算生存率,并绘制生存曲线,差异比较使用 Log-rank 检验,并采用 Cox 回归模型进行多因素分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食管 MEC 的组织学特征

食管 MEC 由表皮样细胞、中间细胞和黏液细胞组成,三种细胞混合存在(Figure 1)。表皮样细胞呈铺砖样排列及巢状、条索状排列。黏液细胞构成腺腔及囊样腔隙,囊内可见脱落的上皮细胞及黏液,其分泌

的黏液阿利新蓝(AB)染色呈阳性(Figure 2),中间细胞形态介于两种细胞形态之间。

2.2 食管 MEC 的病理特征

经手术确诊为食管 MEC 39 例患者中,大体类型髓质型 20 例,溃疡型 11 例,蕈伞型 2 例,缩窄型 2 例,其他类型 4 例。肿瘤最大径 ≤ 3 cm 23 例, >3 cm 16 例。肿瘤侵犯黏膜及黏膜下层 1 例,侵犯肌层 4 例,侵犯纤维膜 29 例,侵犯周围软组织 5 例。TNM 分期:Ⅰ期 4 例,Ⅱ期 19 例,Ⅲ期 13 例,Ⅳ期 3 例。全组患者淋巴结转移率为 35.9%(14/39)。免疫组化 PD-L1 阳性 13 例(Figure 3),PD-L1 阴性 26 例(Figure 3),阳性表达率为 33.3%(13/39)(Table 1)。

2.3 PD-L1 表达与临床病理特征的关系

食管 MEC 中 PD-L1 表达与性别、年龄、大体类型、淋巴结转移、肿瘤最大径、浸润深度和临床分期均无关($P>0.05$)(Table 2)。

2.4 食管 MEC 预后的影响因素

截至 2018 年 6 月随访结束,共死亡 29 例。Kaplan-Meier 单因素分析显示:1、3、5 年总生存率分别为 70.2%、32.9% 和 14.6%。PD-L1 阳性患者中位生存期为 16 个月,PD-L1 阴性患者为 25 个月($\chi^2=7.023, P=0.008$)(Figure 4A)。有淋巴结转移、临床分期Ⅲ~Ⅳ期患者预后比无淋巴结转移、临床分期Ⅰ~Ⅱ期患者预后更差,差异有统计学意义($\chi^2=9.541, P=0.002; \chi^2=5.381, P=0.020$)(Figure 4B~4C)。性别、年龄、肿瘤位置、大体

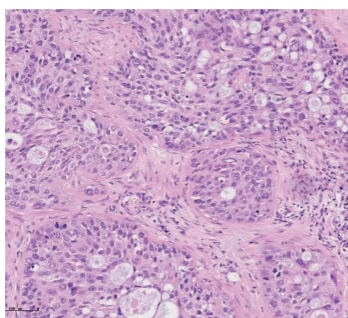


Figure 1 Esophageal MEC was composed of epidermal like cells, intermediate cells and mucous cells (HE×200)

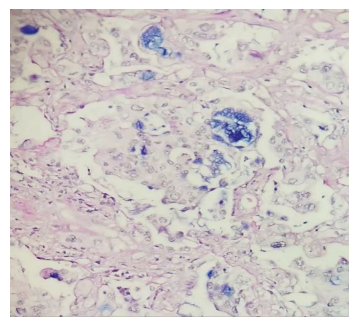
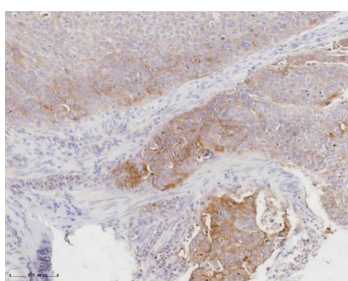
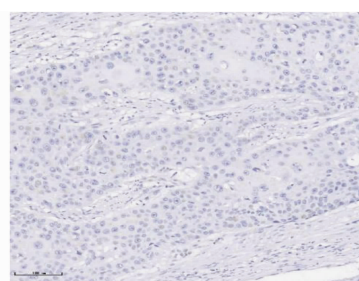


Figure 2 Positive of special staining AB (IHC×200)



A: Positive staining of PD-L1(IHC×200)



B: Negative staining of PD-L1(IHC×200)

Figure 3 PD-L1 expression of esophageal mucoepidermoid carcinoma by immunohistochemistry

类型、肿瘤最大径、治疗方式则不影响食管 MEC 的预后($P>0.05$)。

Cox 回归模型多因素分析显示,淋巴结转移($HR=4.510, 95\%CI: 1.669 \sim 12.185, P=0.003$)、PD-L1 表达($HR=3.130, 95\%CI: 1.366 \sim 7.172, P=0.007$)为食管 MEC 预后的独立影响因素。淋巴结转移、PD-L1 阳性的患者预后更差(Table 3)。

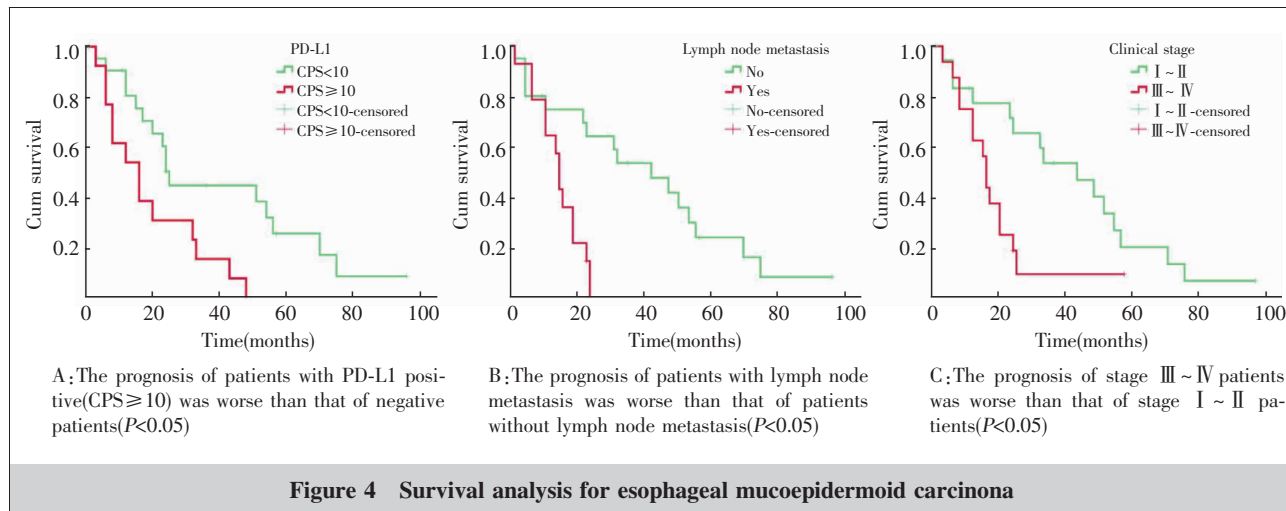


Table 2 The relationship between clinicopathological features and PD-L1 expression[n(%)]

Variable	PD-L1 expression		χ^2	P
	Negative	Positive		
Gender				
Male	21(80.8)	10(76.9)	0.790	1.000
Female	5(19.2)	3(23.1)		
Age(years old)				
≤ 62	12(46.2)	9(6.9)	1.857	0.307
>62	14(53.8)	4(3.1)		
General type				
Ulcerative type	8(30.8)	3(23.1)	2.914	0.654
Fungating type	1(3.8)	1(7.7)		
Medullary type	14(53.8)	7(53.8)		
Constrictive type	1(3.8)	2(15.4)		
Indeterminate type	2(7.7)	0		
Tumor location				
Upper thoracic segment	0	1(7.7)	2.440	0.317
The mid-thoracic portion	21(80.8)	11(84.6)		
Lower thoracic segment	5(19.2)	1(7.7)		
Lymph node metastasis				
No	17(65.4)	8(61.5)	0.056	1.000
Yes	9(34.6)	5(38.5)		
Length of the tumor(cm)				
≤ 3	16(61.5)	7(53.8)	0.212	0.736
>3	10(38.5)	6(46.2)		
Clinical stage				
I	2(7.7)	2(15.4)	1.480	0.852
II	14(53.8)	5(38.5)		
III	8(30.8)	5(38.5)		
IV	2(7.7)	1(7.7)		

Table 3 Cox multivariate survival analysis for esophageal mucoepidermoid carcinoma

Variable	B	SE	P	HR	95%CI
Lymph node metastasis	1.506	0.507	0.003	4.510	1.669~12.185
PD-L1 expression	1.141	0.423	0.007	3.130	1.366~7.172

3 讨 论

MEC 是食管癌的一种罕见病理类型,其起源目前尚不清楚,通常认为起源于食管腺体或其导管上皮^[8]。大多数病例报道显示原发性涎腺 MEC 为低度恶性,然而,食管 MEC 在临床上常常表现为病情进展快、局部淋巴结转移早、淋巴结转移率高等特点^[9]。大部分学者认为其预后较差,局部复发率和远处转移率较高^[10-11]。本研究中患者生存率较低,3 年生存率为 38%。淋巴结转移率为 36%(14/39),有淋巴结转移者的预后明显低于无淋巴结转移者($\chi^2=9.541$, $P=0.002$)。Wang 等^[2]对食管 MEC 预后影响因素的研究表明淋巴结转移是预测预后的独立因素 ($P<$

0.05),与本研究结果基本一致。

手术切除是食管 MEC 患者主要的治疗方法^[10],并且不能从放疗中获益^[2]。食管 MEC 的治疗方法比较局限,寻找新的治疗方法对提高患者生存率至关重要。但关于食管 MEC 预后的标志物研究较少。Wu 等^[12]的研究表明,高 PD-L1 表达是食管鳞状细胞癌患者的不良预后因素。一项 Meta 分析中也显示,高表达 PD-L1 食管癌患者预后更差^[13]。另一项研究中同样表明食管鳞状细胞癌标本 PD-L1 阳性组的患者总生存期较差^[14]。本研究将 PD-L1 作为切入点,分析发现 PD-L1 阳性食管 MEC 患者生存期更短($\chi^2=7.023$, $P=0.008$),所以可以通过检测肿瘤 PD-L1 的表达预测患者预后。在一项 533 例食管癌(包括鳞状细胞癌、腺癌、神经内分泌癌等)的研究中,PD-L1 阳性表达与淋巴结转移(59.2% , $P=0.021$)和静脉/淋巴浸润呈正相关(66.3% , $P=0.029$)^[15]。但本研究中纳入的 39 例 MEC 患者属于小样本研究,需要进一步验证。

免疫治疗方面,在一项随机、开放的 CheckMate-649 试验中,无论 CPS 是否达到截断值,纳武利尤单抗改善了食管胃腺癌患者的总生存期,并被批准联合一线化疗治疗食管胃腺癌^[7]。一项安慰剂对照、双盲、随机Ⅲ期临床试验证实,在 PD-L1 阳性的食管鳞状细胞癌和腺癌患者中均观察到使用帕博利珠单抗有生存获益,但 CPS <10 患者的获益较 CPS ≥ 10 的患者差^[16]。研究表明抗 PD-L1 治疗在食管鳞状细胞癌及腺癌中均取得很好的疗效。

综上所述,食管 MEC 是一种罕见的食管恶性肿瘤,淋巴结转移、临床分期和 PD-L1 表达能够影响患者预后。多项研究表明 PD-L1 的表达可作为食管癌预后的生物标志物。本研究中虽然证实 PD-L1 的表达能够影响食管 MEC 的预后,但尚缺乏免疫治疗相关的临床数据,仍需进一步验证。PD-L1 有望成为 MEC 的有效生物标志物和免疫治疗靶点,从而提高患者生存期。

参考文献:

参考文献:

[1] Shin SY,Chae MK,Kwak MS,et al. Mucoepidermoid car-

- cinoma of the esophagus[J]. Korean J Gastroenterol, 2019, 74(3): 159–162.
- [2] Wang X, Chen YP, Chen SB. Esophageal mucoepidermoid carcinoma: a review of 58 cases[J]. Front Oncol, 2022, 12: 836352.
- [3] 国家病理质控中心, 中华医学会病理学分会, 中国临床肿瘤学会肿瘤病理专家委员会. 实体肿瘤 PD-L1 免疫组织化学检测专家共识 (2021 版)[J]. 中华病理学杂志, 2021, 50(7): 9.
Pathology Quality Control Center, Chinese Society of Pathology Committee of Chinese Society of Clinical. Consensus on the immunohistochemical tests of PD-L1 in solid tumors (2021 version)[J]. Chinese Journal of Pathology, 2021, 50(7): 9.
- [4] Yuan Y, Adam A, Zhao C, et al. Recent advancements in the mechanisms underlying resistance to PD-1/PD-L1 blockade immunotherapy[J]. Cancers(Basel), 2021, 13(4): 663.
- [5] Kojima T, Shah MA, Muro K, et al. Randomized phase III KEYNOTE-181 study of pembrolizumab versus chemotherapy in advanced esophageal cancer[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(35): 4138–4148.
- [6] Sun JM, Shen L, Shah MA, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for first-line treatment of advanced oesophageal cancer(KEYNOTE-590): a randomised, placebo-controlled, phase 3 study[J]. Lancet, 2021, 398(10302): 759–771.
- [7] Janjigian YY, Kawazoe A, Yañez P, et al. The KEYNOTE-811 trial of dual PD-1 and HER2 blockade in HER2-positive gastric cancer[J]. Nature, 2021, 600(7890): 727–730.
- [8] Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Triantafyllou A, et al. Salivary mucoepidermoid carcinoma revisited[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2015, 272(4): 799–819.
- [9] 王娟, 黄炳臣, 吴雪铭, 等. 食管原发性黏液表皮样癌一例报道并文献复习[J]. 右江医学, 2020, 48(10): 796–798.
- Wang J, Huang BC, Wu XM, et al. Primary mucoepidermoid carcinoma of the esophagus: a case report and literature review [J]. Youjiang Medical Journal, 2020, 48(10): 796–798.
- [10] Zheng C, Chen X, Zhang F, et al. Surgery combined with radio-chemotherapy for esophageal mucoepidermoid carcinoma: a case report[J]. Medicine, 2018, 97(24): e11165.
- [11] Mewa Kinoo S, Maharaj K, Singh B, et al. Primary esophageal sclerosing mucoepidermoid carcinoma with “tissue eosinophilia” [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20 (22): 7055–7060.
- [12] Wu B, Gao J, Ma M, et al. Prognostic factor analysis for patient outcome of PD-L1 expression in thoracic oesophageal squamous cell carcinoma[J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2021, 33(4): 564–571.
- [13] Yu W, Guo Y. Prognostic significance of programmed death ligand-1 immunohistochemical expression in esophageal cancer: a meta-analysis of the literature[J]. Medicine, 2018, 97(30): e11614.
- [14] Shiraishi T, Toyozumi T, Sakata H, et al. Soluble PD-L1 concentration is proportional to the expression of PD-L1 in tissue and is associated with a poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Oncology, 2022, 100(1): 39–47.
- [15] Huang Z, Jin Y, Cai X, et al. Association of the programmed death ligand-1 combined positive score in tumors and clinicopathological features in esophageal cancer [J]. Thorac Cancer, 2022, 13(4): 523–532.
- [16] Kato K, Shah M A, Enzinger P, et al. KEYNOTE-590: phase III study of first-line chemotherapy with or without pembrolizumab for advanced esophageal cancer[J]. Future Oncol, 2019, 15(10): 1057–1066.