

[文章编号] 1000-2200(2016)11-1452-03

· 临床医学 ·

晚期恶性肿瘤患者化疗前后 外周血 T 淋巴细胞亚群监测及临床意义

王 勇

[摘要] **目的:**探讨晚期恶性肿瘤患者化疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群($CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$)数值的变化及临床意义。**方法:**收集 50 例晚期恶性肿瘤患者,根据病种及临床分期进行标准方案化疗;采集患者首次化疗前和 2 个周期化疗后外周血标本,通过流式细胞仪检测 T 淋巴结细胞亚群在化疗前后的数值及比值,分析 T 淋巴细胞亚群水平变化。**结果:**50 例晚期恶性肿瘤患者 2 个周期化疗后外周血 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ T 淋巴细胞数目均显著低于首次化疗前($P < 0.01$)。 $CD3^+CD8^+$ T 淋巴细胞数目在 2 个周期化疗后均高于首次化疗前($P < 0.01$); $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ 细胞比值在 2 个周期后均明显降低($P < 0.01$)。**结论:**晚期恶性肿瘤患者可以通过监测外周血中 T 淋巴细胞亚群数目评估患者免疫功能状态,并指导治疗及判断预后。

[关键词] T 淋巴细胞亚群;化疗;免疫力

[中图分类号] R 446.63 [文献标志码] A DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2016.11.014

The monitoring of the peripheral blood T lymphocyte subsets change and its clinical significance in advanced cancer patients before and after chemotherapy

WANG Yong

(Department of Hematology and Oncology, The First People's Hospital of Huainan, Huainan Anhui 232007, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the number change of the peripheral blood T lymphocyte subsets (including $CD3^+$, $CD3^+CD4^+$ and $CD3^+CD8^+$) and its clinical significance in advanced malignant tumor patients before and after chemotherapy. **Methods:** The standard chemotherapy in 50 advanced malignant tumor patients were implemented according to the disease kind and clinical stage. The peripheral blood was collected before chemotherapy and after 2 cycles of chemotherapy. The number and ratio of T lymph node cell subsets were detected using flow cytometry, the relationship between the level change of T lymph node cell subsets was analyzed. **Results:** The number of $CD3^+$ and $CD3^+CD4^+$ T lymphocyte after 2 cycles of chemotherapy were significantly lower than that before chemotherapy in advanced malignant tumor patients ($P < 0.01$). The number of $CD3^+CD8^+$ T lymphocyte after 2 cycles of chemotherapy were higher than that before chemotherapy ($P < 0.01$). The ratio of $CD3^+CD4^+$ to $CD3^+CD8^+$ cells after 2 cycles of chemotherapy decreased significantly ($P < 0.01$). **Conclusions:** Monitoring the number of peripheral blood T lymphocyte subsets in advanced malignant tumor patients can assess the immune function, guide treatment and predict prognosis.

[Key words] T lymphocyte subset; chemotherapy; immunity

在肿瘤的发生发展过程中,免疫系统起着至关重要的作用。EHRlich 早在 1900 年就提出了免疫监视理论,认为免疫系统的一项重要功能是从人体上检测和消除肿瘤细胞^[1]。也就是说对于免疫功能不全、接受器官移植以及获得性免疫缺陷患者更容易得某些特定类型的肿瘤^[2-3]。细胞免疫在机体免疫系统对抗肿瘤的发生发展中起主要作用,其中以 T 细胞亚群 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 两类 T 细胞占主要作用^[4]。 $CD4^+$ 为辅助性 T 淋巴细胞,在免疫监视方面发挥重要作用,能辅助 B 细胞产生抗体,产生白

细胞素 II 激活自然杀伤细胞,从而发挥强大的杀肿瘤细胞作用; $CD8^+$ 为抑制性 T 淋巴细胞,可对靶细胞发生细胞介导细胞毒作用,抑制免疫反应,两者在正常情况下保持一定平衡比例,维持着机体正常的免疫功能^[5]。

化疗是一种治疗恶性肿瘤的方式,其药物大多数为非特异性的细胞毒药物,对人体免疫力亦有杀伤功能。T 淋巴细胞亚群是人细胞免疫的主要成分,能够对人体的免疫力有所反应,本文对肿瘤患者化疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群进行监测,并分析其与免疫力的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 12 月至 2016 年 4 月

[收稿日期] 2016-04-26

[作者单位] 安徽省淮南市第一人民医院 肿瘤血液科,232007

[作者简介] 王 勇(1975-),男,主治医师。

我科收治的晚期恶性肿瘤患者 50 例,所有患者均经组织病理学诊断,根据第 7 版 AJCC 分期标准为 IV 期患者;既往未接受过化疗、放疗、手术和生物免疫治疗;化疗前血常规、肝肾功能及心电图基本正常;体力状况评分 0~2 分;预计生存时间 >3 个月;排除严重感染性疾病、严重心肝肾功能障碍;排除长期服用或化疗前服用免疫抑制剂者及其他免疫系统疾病;所有患者签署知情同意书,50 例患者一般资料见表 1。

表 1 50 例患者一般资料

病理因素	<i>n</i>	百分比/%
年龄/岁		
≤50	15	30.00
>50	35	70.00
性别		
男	28	56.00
女	22	44.00
肿瘤种类		
胃癌	10	20.00
肺癌	13	26.00
乳腺癌	15	30.00
结直肠癌	4	8.00
非霍奇金淋巴瘤	6	12.00
肝癌	2	4.00

1.2 实验材料和方法

1.2.1 材料和设备 CD3、CD4、CD8 单克隆抗体,购自美国 BD 公司;FACS 红细胞裂解液,购自美国 BD 公司;FASCalibur 流式细胞仪,美国 BD 公司。

1.2.2 标本采集 采集所有患者第 1 次化疗前和 2 个周期化疗后外周血标本。清晨空腹状态下,取外周血 2 mL,EDTA 抗凝处理,6 h 内进行 T 淋巴细胞亚群检测。

1.2.3 流式细胞技术 从采集的 2 mL 外周血标本中选取 100 μL 至流式检测管中,加入适当体积的相应抗体及同型对照抗体充分混匀,置于室温下避光孵育 30 min;加入流式细胞裂解液 2 mL 充分振荡,室温避光溶血 20 min,1 500 r/min 离心 5 min,弃上清液;加入 PBS 缓冲液 1 mL,振荡混匀洗涤 2 次;加 PBS 0.5 mL 混匀后上机检测。使用 CELL Quest 程序软件,在直方图中框出淋巴细胞群,再分别计数 10 000 个淋巴细胞,标记出细胞百分率,整个操作过程由我院实验室专人操作。

1.3 统计学方法 采用配对 *t* 检验。

2 结果

结果显示,所有入组恶性肿瘤患者外周血中 CD3⁺T 淋巴细胞在 2 个周期化疗后数目明显下降 ($P < 0.01$),CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞数目亦明显下降 ($P < 0.01$),而 CD3⁺CD8⁺T 淋巴细胞数目显著上升 ($P < 0.01$),CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 比值在 2 个周期化疗后显著降低 ($P < 0.01$) (见表 2)。T 淋巴细胞亚群图见图 1。亚组分析显示:胃癌、肺癌及乳腺癌患者在 2 个周期化疗后 CD3⁺T 淋巴细胞均较化疗前下降 ($P < 0.01$);CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞数目在 2 个周期化疗后均下降 ($P < 0.01$),而 CD3⁺CD8⁺T 淋巴细胞数目在 2 个周期化疗后均上升 ($P < 0.01$) (见表 3)。结直肠癌、非霍奇金淋巴瘤及肝癌因选取病例数较少未做进一步分析。

表 2 恶性肿瘤患者化疗前后外周血中 CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺ 检测结果比较 ($n = 50; \bar{x} \pm s$)

分组	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺
化疗前	67.396 ± 12.233	13.519 ± 1.912	22.820 ± 11.821	1.954 ± 1.380
化疗后	57.854 ± 17.916	13.144 ± 1.859	27.300 ± 11.895	1.528 ± 0.975
$\bar{d} \pm s_d$	-9.542 ± 3.075	-0.375 ± 2.878	4.480 ± 2.058	-0.426 ± 0.201
<i>t</i>	21.94	0.92	15.39	14.99
<i>P</i>	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01

表 3 3 种不同类型肿瘤患者化疗前后外周血中 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺ 和 CD3⁺CD8⁺ 检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

肿瘤类型	分组	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺
胃癌 ($n = 10$)	化疗前	61.300 ± 14.893	52.500 ± 8.972	23.600 ± 5.275
	化疗后	47.100 ± 17.817	44.600 ± 9.407	31.500 ± 7.427
	$\bar{d} \pm s_d$	-14.200 ± 4.556	-7.900 ± 2.479	7.900 ± 2.987
	<i>t</i>	9.86	10.08	7.46
	<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01
肺癌 ($n = 13$)	化疗前	44.000 ± 11.277	39.846 ± 9.625	35.769 ± 9.731
	化疗后	35.077 ± 5.993	29.615 ± 6.653	42.846 ± 7.537
	$\bar{d} \pm s_d$	-8.923 ± 2.472	-10.231 ± 3.298	7.077 ± 2.211
	<i>t</i>	13.02	11.19	11.54
	<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01
乳腺癌 ($n = 15$)	化疗前	38.533 ± 12.141	39.800 ± 12.225	35.467 ± 8.323
	化疗后	28.333 ± 7.178	24.800 ± 7.302	45.800 ± 8.922
	$\bar{d} \pm s_d$	-10.200 ± 3.700	-15.000 ± 4.045	10.333 ± 3.081
	<i>t</i>	10.68	14.36	12.99
	<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01

3 讨论

肿瘤细胞与免疫细胞在肿瘤的发生发展中相互作用和影响^[6]。在人体中,一个完整的免疫系统是必要的,以防止肿瘤的发生及发展,而这个过程便称为免疫监视,在这个系统中,先天性和适应性免疫系统密切合作,特别是T细胞发挥重要的角色来检测和消除肿瘤细胞^[7]。近年来,随着分子生物学和免疫学的发展,研究结果显示,免疫细胞在肿瘤组织中相互作用^[8]。外周血淋巴细胞亚群测定成为诊断恶性肿瘤发生、发展的重要检测指标^[9-10]。

T淋巴细胞是机体免疫系统内功能最重要的一大细胞群,在正常机体内各个T淋巴细胞亚群相互使用,维持着机体正常的免疫功能。CD4⁺T淋巴细胞对抗体的生成、巨噬细胞及细胞毒T淋巴细胞的活化有辅助和放大效应,在免疫应答中处于中心地位^[11]。

本研究结果显示:在肿瘤患者中,外周血中CD3⁺T淋巴细胞数目在化疗后下降明显($P < 0.01$)。究其原因可能为,入组患者中大多数使用的化疗药物为细胞毒类药物,由于此种药物选择性差和毒性强,对免疫系统有一定的损伤和抑制作用^[12],而CD3⁺CD4⁺T淋巴细胞(辅助/诱导T淋巴细胞亚群)在化疗后出现下降,CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞(抑制性T淋巴细胞亚群)在化疗后上升($P < 0.01$),说明肿瘤患者化疗后免疫功能处于抑制状态,机体对识别和杀伤突变细胞能力下降,随时间推移,药物在体内代谢后,机体免疫功能逐渐恢复,外周血T淋巴细胞亚群数目可逐渐恢复正常,这与汪虹等^[13]研究结果相似。CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺比值降低亦说明化疗后具有杀伤功能的T淋巴细胞数目减少,而抑制功能的T淋巴细胞数目增加,这与GUERTIN等^[14]研究结果相似。2012年,KROEMER等^[15]在肿瘤小鼠模型中发现抗代谢药物吉西他滨可增强CD8⁺的活性。有学者认为化疗虽消除了CD3⁺CD4⁺T淋巴细胞,但同时CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞数目增加,有利于诱导自身反应性T细胞的生成并参与肿瘤免疫应答反应^[16]。目前已经研究证实影响患者免疫功能的化疗药物有:紫杉醇、多柔比星及顺铂,这些药物可增加化疗杀伤的敏感性,使免疫力损伤加重^[17]。因此,测定恶性肿

瘤患者外周血中T淋巴细胞亚群数目变化对临床确定治疗方案及疗效观察具有一定意义。

[参 考 文 献]

- [1] EHRlich P. Über den jetzigen Stand der Karzinomforschung [J]. Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde, 1909, 5: 273.
- [2] PENN I. Post-transplant malignancy: the role of immunosuppression [J]. Drug Saf, 2000, 23(2): 101.
- [3] BOWER M, PALMIERI C, DHILLON T. AIDS-related malignancies: changing epidemiology and the impact of highly active antiretroviral therapy [J]. Curr Opin Infect Dis, 2006, 19(1): 14.
- [4] 吕昌龙, 李殿俊, 李一. 医学免疫学[M]. 6版. 北京: 高等教育出版社, 2007: 192.
- [5] YOSHIMURA K, LAIRD LS, CHIACY, *et al.* Live attenuated *Listeria Monocytogenes* effectively treats hepatic colorectal cancer Metastases and is strongly enhanced by depletion of regulatory T cells [J]. Cancer Res, 2007, 67(20): 10058.
- [6] SAHINGUR SE, YEUDALL WA. Chemokine function in periodontal disease and oral cavity cancer [J]. Front Immunol, 2015, 6: 214.
- [7] TÖPFER K, KEMPE S, MÜLLER N, *et al.* Tumor evasion from T Cell surveillance [J]. J Biomed Biotechnol, 2011, 2011: 918471.
- [8] COS ESCUIN JS. Diagnosis and treatment of neuroendocrine lung tumors [J]. Arch Bronconeumol, 2014, 50(9): 392.
- [9] LIU J, HAU E, LINKS M, *et al.* Adenoid cystic carcinoma of the lung: response to tamoxifen after chemoradiation [J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2016, 12(2): e352.
- [10] JOZWIK M, OKUNGBOWA OE, LIPSKA A, *et al.* Surface antigen expression on peripheral blood monocytes in women with gynecologic malignancies [J]. BMC Cancer, 2015, 15(1): 129.
- [11] WING K, FEHÉRVÁRI Z, SAKAGUCHI S. Emerging possibilities in the development and function of regulatory T cells [J]. Int Immunol, 2006, 18(7): 991.
- [12] 刘洋. 肿瘤免疫治疗和化疗的协同效应及其作用机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21(1): 98.
- [13] 汪虹, 李菊湘. T淋巴细胞亚群在恶性肿瘤患者外周血中的变化 [J]. 检验医学与临床, 2010, 7(13): 1361.
- [14] GUERTIN DA, SABATINI DM. An expanding role for mTOR in cancer [J]. Trends Mol Med, 2005, 11(8): 353.
- [15] KROEMER G, GZLLUZZI L, KEPP O, *et al.* Immunogenic cell death in cancer therapy [J]. Annu Rev Immunol, 2012, 31(1): 51.
- [16] MURANSKI P, BONI A, WRZESINSKI C, *et al.* Increased intensity lympho depletion and adoptive immunotherapy: How far we can go? [J]. Nat Clin Pract Oncol, 2006, 13(12): 668.
- [17] RAMAKRISHNAN R, HUANG C, CHO HI, *et al.* Autophagy induced by conventional chemotherapy mediates tumor cell sensitivity to immuno-therapy [J]. Cancer Res, 2012, 72(21): 5483.

(本文编辑 刘璐)