

DOI:10. 3971/j. issn. 1000-8578. 2010. 08. 019

晚期大肠癌患者化疗前后 T 淋巴细胞亚群检测的临床价值

萧剑军¹, 彭杰文¹, 贺景焕¹, 江小梅¹, 何洁冰²

Effects of Chemotherapy on T-lymphocyte Subgroups in Patients with Advanced Colorectal Cancer

XIAO Jian-jun¹, PENG Jie-wen¹, HE Jing-huan¹, JIANG Xiao-mei¹, HE Jie-bing²

1. Department of Oncology Chemotherapy, Zhongshan People's Hospital, Zhongshan 528403, China; 2. Zhongshan Cancer Research Institute

Abstract: Objective To explore T-lymphocyte subgroups immune function of advanced colorectal cancer patients and its clinical significance. **Methods** The change of T-lymphocyte subgroups was measured with flow cytometry before and after treatment in the patients with advanced colorectal cancer compared with the healthy control group. **Results** The 84 cases of advanced colorectal cancer in patients with T-lymphocyte subgroups compared with 35 cases of normal control group, CD4⁺, CD8⁺ CD28⁺, CD28⁺ were significantly lower than the control group ($P<0.01$), CD8⁺ CD28⁻ was higher than control group ($P<0.01$), CD3⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ ratio were no significant difference compared with the control group ($P>0.05$). The 69 cases were respected chemotherapy, clinical benefit of 39 cases, after chemotherapy, CD3⁺ were higher than that in pre-treatment ($P<0.05$), CD8⁺, CD8⁺ CD28⁻ were significantly lower ($P<0.01$), CD4⁺, CD8⁺ CD28⁺, CD28⁺, CD4⁺/CD8⁺ ratio were significantly higher ($P<0.01$); clinical ineffective of 30 cases, after chemotherapy, CD8⁺, CD8⁺ CD28⁻ were significantly higher than that in pre-treatment ($P<0.01$), CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ ratio were significantly lower ($P<0.01$), CD28⁺ were lower ($P<0.05$), CD3⁺, CD8⁺ CD28⁺ were lower, but no significant difference ($P>0.05$). **Conclusion** The immunity was suppressed in the patients with advanced colorectal cancer and immunity of the patients can be improved by effective chemotherapy. So clinical observation to the T-lymphocyte subgroups expression, in particular the joint detection CD8⁺ CD28⁺, CD8⁺ CD28⁻, CD28⁺ T cells to assess advanced colorectal cancer cells in patients with immune function and disease is more positive clinical significance.

Key words: Gastrointestinal cancer; Flow cytometry; T-lymphocyte subgroups

摘要:目的 探讨晚期大肠癌患者 T 淋巴细胞亚群免疫功能状态及临床意义。**方法** 采用流式细胞术检测晚期大肠癌患者化疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群的变化,并与体检健康者作比较。**结果** 实验组 84 例晚期大肠癌患者化疗前外周血 T 淋巴细胞亚群与 35 例正常对照组比较,CD4⁺、CD8⁺ CD28⁺、CD28⁺ 明显低于对照组 ($P<0.01$), CD8⁺ CD28⁻ 高于对照组 ($P<0.01$), CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比值与对照组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。对于 69 例接受化疗的患者,临床获益 39 例,化疗后 CD3⁺ 较化疗前升高 ($P<0.05$), CD8⁺、CD8⁺ CD28⁻ 较前明显降低 ($P<0.01$), CD4⁺、CD8⁺ CD28⁺、CD28⁺、CD4⁺/CD8⁺ 较前明显升高 ($P<0.01$); 临床进展 30 例,化疗后 CD8⁺、CD8⁺ CD28⁻ 较化疗前明显升高 ($P<0.01$), CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 较前明显降低 ($P<0.01$), CD28⁺ 较前降低 ($P<0.05$), CD3⁺、CD8⁺ CD28⁺ 较前有所下降,但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** 晚期大肠癌患者免疫功能低下,有效的化疗能提高患者的 T 淋巴细胞免疫功能,临床上检测患者外周血 T 淋巴细胞亚群,特别是联合检测 CD8⁺ CD28⁺、CD8⁺ CD28⁻、CD28⁺ T 细胞对评估晚期大肠癌患者的细胞免疫功能及病情具有更积极的临床价值。

收稿日期:2009-06-18;**修回日期:**2010-02-23
作者单位:1. 528403 广东中山,中山大学附属中山
医院化疗科;2. 中山市肿瘤研究所
作者简介:萧剑军(1969-),男,学士,副主任医师,
主要从事恶性肿瘤化学治疗的研究

关键词:晚期大肠癌;流式细胞术;T 淋
巴细胞亚群
中图分类号:R735.3 **文献标识码:**A
文章编号:1000-8578(2010)08-0931-04

0 引言

近年随着临床肿瘤免疫学研究的不断深入,现已明确机体抗肿瘤反应以细胞免疫为主,而 T 淋巴细胞是细胞免疫中的主要效应细胞,它通过功能各异的淋巴细胞亚群来完成复杂的免疫调控机能。既往一直以 CD3⁺、CD4⁺ 降低,CD8⁺ 升高,CD4⁺/CD8⁺ 比值下降或倒置来衡量恶性肿瘤患者机体免疫状态,隋军等^[1]认为 CD4⁺ T 和 CD8⁺ T 细胞各自包含功能各异的细胞亚群,所以 CD4⁺/CD8⁺ 比值不可能全面反映患者的免疫状态。我们在临床诊治中发现晚期大肠癌患者检测上述指标也是不够的。因此,本文通过采用流式细胞术检测 CD4⁺、CD8⁺、CD8⁺ CD28⁺、CD8⁺ CD28⁻、CD28⁺ 等指标,以探讨在晚期大肠癌中化疗疗效与 T 淋巴细胞亚群功能的相关性及临床意义。

1 资料和方法

1.1 研究对象

实验组为 2000 年 4 月—2008 年 12 月在我院就诊经病理学确诊的复发转移晚期大肠癌患者 84 例,其中女 33 例,男 51 例,年龄为 31~72 岁,中位年龄为 55 岁;结肠癌 55 例,直肠癌 29 例;组织学类型:管状腺癌 52 例,乳头状腺癌 9 例,黏液腺癌 17 例,印戒细胞癌 6 例。对照组为体检健康者 35 例,其中女 12 例,男 23 例,年龄 28~69 岁,中位年龄 50 岁。

1.2 化疗方案

对以往曾接受化疗的患者,交替采用 FOL-FOX6、FOLFIRI、XELOX、CapIRI 等方案化疗。

1.3 疗效评价标准

采用 WHO 关于实体瘤近期客观疗效评价标准进行评定,其中:完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(SD)、进展(PD),临床获益(CR+PR+SD)。

1.4 试剂与仪器

仪器为美国公司的 COULTER EPICS XL 型

流式细胞分析仪,COULTER Q-PRED 免疫溶血仪;试剂为贝克曼库尔特公司提供的 IOTEST 试剂;CD3-FITC/CD4-PE,CD8-PE/CD28⁻ FITC。

1.5 检测方法

实验组和对照组均空腹抽晨血 1ml(EDTA-K2)抗凝,4h 内处理标本。

1.6 统计学方法

所有数据均采用 SPSS11.0 进行统计学分析。

2 结果

2.1 实验组晚期大肠癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群与健康对照组比较 见表 1。

2.2 外周血 T 淋巴细胞亚群治疗前后比较

对于 69 例接受化疗的患者,临床获益(CR+PR+SD)39 例(56.5%),进展(PD)30 例(43.5%)。临床获益和临床进展的患者化疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群的比较见表 2。

3 讨论

大量免疫学资料证实,CD3⁺ 为总 T 淋巴细胞,按细胞表面标志和功能不同,可分为 CD4⁺ 和 CD8⁺ 两大亚群。CD4⁺ 为辅助性 T 淋巴细胞,具有协助体液免疫及细胞免疫的功能,它不仅可以分泌大量的细胞因子来活化、增殖以及提高 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞杀伤肿瘤细胞的能力,而且 CD4⁺ T 细胞在肿瘤免疫中具有免疫记忆和直接杀伤肿瘤细胞的功能^[2-3];CD8⁺ T 细胞根据 CD28 的表达与否分为细胞毒性 T 细胞(CD8⁺ CD28⁺, CTL)和抑制性 T 细胞(CD8⁺ CD28⁻, Ts)。CTL 是体内杀伤肿瘤细胞的主要功能性细胞之一,当该细胞与肿瘤接触时,通过排粒作用释放穿孔素和颗粒酶等细胞毒性物质,溶解靶细胞^[4-6],同时还可能通过释放一些细胞因子诱导靶细胞的凋亡^[7]。CD8⁺ CD28⁻ T 细胞可抑制抗体产生及同种异体抗原所诱导的细胞增殖效应^[2,8]。

表 1 84 例晚期大肠癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群与 35 例健康对照组比较(%, $\bar{x}\pm s$)

Table 1 The 84 cases of advanced colorectal cancer in patients comparison of T-lymphocyte subgroups compared with 35 cases of normal control group(%, $\bar{x}\pm s$)

Group	Cases	CD8 ⁺	CD4 ⁺	CD3 ⁺	CD8 ⁺ CD28 ⁺	CD8 ⁺ CD28 ⁻	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD28 ⁺
Test	84	27.0±8.2	33.7±8.0	62.8±10.5	10.7±3.5	16.3±7.6	1.4.0±0.63	45.0±11.0
Control	35	27.5±5.7	37.9±6.4	64.9±8.9	16.9±4.5	10.5±4.2	1.43±0.35	58.5±9.7
P		>0.05	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01	>0.05	<0.01

表 2 69 例接受化疗的患者临床获益与临床进展外周血 T 淋巴细胞亚群治疗前后比较(%, $\bar{x}\pm s$)

Table 2 The 69 cases receipted chemotherapy,clinical benefit and clinical ineffective of T-lymphocyte subgroups were compared with before and after chemotherapy(%, $\bar{x}\pm s$)

Curative effect	Cases	Group	CD8 ⁺	CD4 ⁺	CD3 ⁺	CD8 ⁺ CD28 ⁺	CD8 ⁺ CD28 ⁻	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD28 ⁺
Effective	39	Before treatment	27.2±8.6	33.7±7.8	62.3±10.7	10.6±3.4	16.75±7.4	1.40±0.64	43.7±9.9
		After treatment	24.9±7.6	37.6±7.8	64.4±9.8	12.0±3.9	13.0±6.0	1.64±0.71	51.4±1.5
		P	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Ineffective	30	Before treatment	27.7±7.3	33.6±8.0	64.5±11.1	11.1±3.5	16.5±8.0	1.30±0.42	46.4±12.6
		After treatment	30.8±9.4	30.1±9.8	63.5±11.7	10.8±3.6	20.0±9.2	1.06±0.45	42.6±12.7
		P	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01	<0.05

从表 1 中可以看到,晚期大肠癌患者免疫功能较正常人明显低下,此与沈立松^[9]、吴映娥^[10]的研究结果相一致,分析原因可能是本研究组均为复发、转移大肠癌患者,恶性肿瘤在形成、发展过程中,产生和分泌大量的免疫抑制因子,从而抑制免疫细胞的活性,引起体内 CD4⁺ T 淋巴细胞的形成障碍,导致 CD4⁺ T 细胞较对照组明显低下;CD8⁺ CD28⁻ T 细胞具有短的端粒,分化能力比 CD8⁺ CD28⁺ 细胞低,是一种终末细胞,是由于抗原的慢性刺激而由 CD8⁺ CD28⁺ 细胞分化而来^[11-12]。晚期大肠癌的慢性刺激,导致 CD8⁺ CD28⁺ 细胞的过度消耗,进而引起 CD8⁺ CD28⁻ T 细胞的逐渐升高,因此出现 CD8⁺ CD28⁺ 细胞明显低下,CD8⁺ CD28⁻ 细胞明显升高,两者相互影响从而引起 CD8⁺ T 细胞总数维持相对稳定或偏低状态,而 CD4⁺ T 细胞的减少不足以引起 CD3⁺ T 细胞及 CD4⁺ /CD8⁺ 比值在统计学上的变化,因此晚期大肠癌患者 CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺ /CD8⁺ 比值与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

有研究表明,胃肠道肿瘤患者的免疫抑制是肿瘤源性的,即与肿瘤细胞分泌的可溶性免疫抑制因子有关,肿瘤切除后,肿瘤细胞分泌的抑制因子减少,机体的免疫功能得到改善,宿主的抗肿瘤免疫逐渐增强^[13]。本实验组中临床获益的患者 39 例(56.5%)。有效的化疗,使患者的肿瘤负荷缩小,肿瘤对机体免疫功能的抑制作用减弱,因此 CD4⁺ T 细胞生成增多,CD8⁺ CD28⁺ T 细胞向 CD8⁺ CD28⁻ 转化的数量减少,引起 CD4⁺、CD8⁺ CD28⁺ T 细胞较化疗前明显升高,CD8⁺ CD28⁻ 细胞的来源减少,导致其数量较化疗前明显下降,因 CD8⁺ CD28⁻ T 细胞

的减少比 CD8⁺ CD28⁺ T 细胞的增多明显,从而带动 CD8⁺ T 细胞数量也明显下降($P<0.01$),而 CD4⁺ T 细胞的增多较 CD8⁺ T 细胞的下降更明显,导致 CD3⁺ T 细胞总体数量的升高,CD4⁺ /CD8⁺ 的比值也出现了差异($P<0.05$, $P<0.01$),根据上述分析,有效的抗肿瘤治疗后,机体的 T 淋巴细胞免疫功能得以恢复,疾病的进展得到有效的控制。化疗无效的患者 30 例(43.5%),肿瘤负荷继续增大,肿瘤细胞产生和分泌大量的免疫抑制因子,从而抑制免疫细胞的活性,导致 CD4⁺ T 细胞的形成障碍,加上化疗对骨髓的抑制作用,使淋巴细胞的生成障碍,最终导致细胞免疫功能进一步下降,CD4⁺ T 细胞的免疫活性进一步被削弱,CD8⁺ CD28⁺ T 细胞的进一步耗竭,引起 CD8⁺ CD28⁻ T 细胞进一步升高($P<0.01$),CD8⁺ CD28⁻ T 细胞的升高比 CD8⁺ CD28⁺ T 细胞的降低明显,从而引起 CD8⁺ T 细胞较前明显升高,CD3⁺ 总 T 细胞也因 CD4⁺ 较 CD8⁺ T 细胞的变化明显而较前有所下降,CD4⁺、CD8⁺ CD28⁺ T 细胞的减少,T 细胞的杀伤功能降低,不足以发挥有效的抗肿瘤作用,使肿瘤细胞得以逃避机体对其的杀伤,导致肿瘤更易扩散和转移,病情恶化。

因此,临床上不能单凭 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的高低来判断其细胞免疫功能的状态,还要具体分析 CD8⁺ T 细胞亚群中 CD8⁺ CD28⁺ 和 CD8⁺ CD28⁻ 的含量,由 CD8⁺ CD28⁺ 细胞增高引起的 CD8⁺ T 细胞升高,机体免疫功能恢复,对肿瘤细胞的杀伤能力增强,病情好转;相反,CD8⁺ CD28⁻ 细胞增高,机体免疫功能受到抑制,肿瘤细胞得以逃避免疫细胞对其的杀伤作用,肿瘤进一步扩散和转移,病情恶化。临

床上作 CD8⁺、CD8⁺ CD28⁺、CD8⁺ CD28⁻ 淋巴细胞亚群的检测,能更好地反映肿瘤患者 T 淋巴细胞的免疫功能,特别在肿瘤治疗中,对上述指标的动态监测,对抗肿瘤疗效和预后的评价有一定的临床应用价值,值得临床推广应用。

参考文献:

[1] 隋军,任艳鑫,宋鑫,等.鼻咽癌组织与外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞检测及临床意义[J]. 肿瘤防治研究,2009,36(5): 400-404.

[2] 巴德年.当代免疫学技术与应用[M].北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998:9-23.

[3] 黄辉,俞红,林云路. CD4⁺ T 细胞的抗瘤作用[J]. 国外医学免疫学分册,2000,23(1):51-53.

[4] Raitakari M, Brown RD, Sze D, et al. T-cell expansions in patients with multiple myeloma have a phenotype of cytotoxic T cell[J]. Br J Haematol,2000,110(1):203-209.

[5] 王惠军,刘晓光,金秀国,等.胃癌患者肿瘤浸润淋巴细胞 CD28 表达的检测及临床意义[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(1):58-60.

[6] 韩琳,裴毅. 肿瘤患者 CD8⁺ T 细胞中 CD28 表达的研究进展[J]. 现代生物医学进展,2007,7(9):1402-1404.

[7] 葛宁灵,叶胜龙. 杀伤性 T 淋巴细胞抗肿瘤研究现状[J]. 国外医学肿瘤分册,1999,26(3):134-136.

[8] Cortesini R, LeMaout J, Ciubotariu R, et al. CD8⁺ CD28⁻ T suppressor cells and the induction of antigen specific, antigen presenting cell mediated suppression of Th reactivity[J]. Immunol Rev,2001,182:201-206.

[9] 沈立松,董平,吴政宏,等. 胃肠道癌患者外周血 CD8⁺ T 细胞功能相关标志物的检测及意义[J]. 上海医学检验杂志,2003,18(4):193-196.

[10] 吴映娥,蔡应木,李康生. 恶性肿瘤患者外周血 T 细胞亚群的检测及其临床意义[J]. 中国校医,2007,21(2):209-211.

[11] 裴宇容,杨春莉,陈炼波,等. 原发性肝癌患者 CD8⁺ CD28⁺ 和 CD8⁺ CD28⁻ 细胞亚群的分析[J]. 第一军医大学学报,2002,22(1):72-73.

[12] Dalod M, Sinet M, Deschenmin JC, et al. Altered ex vivo balance between CD28⁺ and CD28⁻ cells with in HIV-specific CD8⁺ T cell of HIV-seropositive patient[J]. Eur J Immunol, 1999,29(1):38-44.

[13] 滕腾,施靖华,赵荣华,等. 胃癌患者手术前后外周血淋巴细胞表型 CD8⁺ CD28⁺ 的变化及其临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2001,16(6):575-577.

[编辑:杨 卉;校对:周永红]

• 简讯 •

《肿瘤防治研究》杂志征订征稿启事

《肿瘤防治研究》杂志创刊于 1973 年,是我国第一本独立的全国性肿瘤专业高级学术刊物。中华人民共和国卫生部主管,中国抗癌协会、湖北省肿瘤医院主办。杂志是中文核心期刊、中国科技论文统计源期刊、湖北省优秀医学期刊、中国抗癌协会系列刊物。被美国 CA、CSA、Ulrich PD、波兰 IC、英国 CABI、Global Health、日本 JST 及国内所有大型数据库收录。

主要栏目有:专题论坛、基础研究、临床研究、临床诊断、临床应用、流行病学、研究简报、技术交流、论著摘要、综述、短篇个案、简讯等。它是我国肿瘤防治研究领域一面镜子和窗口。

随着独立网站的建成和开通以及 DOI 中文注册工作的开展,《肿瘤防治研究》杂志的网络化水平、传播手段和传播效率踏上了一个新台阶,广大关心本刊发展的作者、读者朋友和审稿专家的服务手段及能力又有了新的提高。

新的一年,希望广大朋友们能一如既往地给予本刊以热忱的关注:将优秀稿件投往《肿瘤防治研究》以支持我国学术期刊的发展,订阅《肿瘤防治研究》以关注我国肿瘤防治研究事业取得的进步。同时,编辑部将进一步加强自身的建设,努力提升自己的办刊能力,紧紧围绕内容为主、快速反应的要旨,竭尽全力打造精品期刊,以回报朋友们的支持与厚爱。

邮发代号:38-70; 国外代号:MO6482; 定价:8.00 元/册; 出版周期:月刊

中国标准连续出版物号:ISSN 1000-8578 CN 42-1241/R

投稿网站: <http://www.zlfzyj.com> E-mail: zlfzyj@263.net.cn

电话/传真:0086-27-87670126

通信地址:武汉市武昌卓刀泉南路 116 号《肿瘤防治研究》编辑部 邮政编码:430079