

- [8] Hellmann MD, Chaft JE, William WN, et al. Pathological response after neoadjuvant chemotherapy in resectable non-small-cell lung cancers: proposal for the use of major pathological response as a surrogate endpoint[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15: e42 - e50.
- [9] Vallières E. More questions about neoadjuvant chemotherapy in lung cancer[J]. *Oncology (Williston Park)*, 2009, 23: 892 - 896.
- [10] Kim ES, Lee JJ, He G, et al. Tissue Platinum concentration and tumor response in non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30: 3337 - 3344.
- [11] Schallier D, Neyns B, Fontaine C, et al. A novel triplet regimen with paclitaxel, carboplatin and gemcitabine (PACCAGE) as induction chemotherapy for locally advanced unresectable non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. *Lung Cancer*, 2007, 56: 247 - 254.
- [12] Betticher DC, Hsu Schmitz SF, Tötsch M, et al. Mediastinal lymph node clearance after docetaxel - cisplatin neoadjuvant chemotherapy is prognostic of survival in patients with stage IIIA pN2 non-small-cell lung cancer: a multicenter phase II trial[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21: 1752 - 1759.
- [13] Liao WY, Chen JH, Wu M, et al. Neoadjuvant chemotherapy with docetaxel - cisplatin in patients with stage III N2 non-small-cell lung cancer[J]. *Clin Lung Cancer*, 2013, 14: 418 - 424.
- [14] Jakobsen JN, Santoni - Rugiu E, Sorensen JB. Longitudinal assessment of TUBB3 expression in non-small cell lung cancer patients[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2014, 73: 43 - 51.
- [15] William WN, Pataer A, Kalhor N, et al. Computed tomography RECIST assessment of histopathologic response and prediction of survival in patients with resectable non-small-cell lung cancer after neoadjuvant chemotherapy[J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8: 222 - 228.
- [16] Kappers I, Van Sandick JW, Burgers SA, et al. Surgery after induction chemotherapy in stage IIIA - N2 non-small cell lung cancer: why pneumonectomy should be avoided[J]. *Lung Cancer*, 2010, 68: 222 - 227.
- [17] So T, Osaki T, Nakata S, et al. Carinal resection after induction bronchial arterial infusion for locally advanced non-small cell lung cancer[J]. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004, 52: 143 - 147.
- [18] Davidov MI, Polotzky BE, Marenich AF, et al. Gemcitabine combined with cisplatin as neoadjuvant chemotherapy in stage IB - IIIA non-small cell lung cancer[J]. *Anticancer Drugs*, 2011, 22: 569 - 575.
- [19] Ceylan KC, Kaya SO, Samancilar O, et al. The effects of neoadjuvant chemotherapy on pulmonary structures: a quantitative analysis[J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2012, 60: 111 - 115.
- [20] 闫东, 周纯武, 刘德忠, 等. 中心型非小细胞肺癌支气管动脉灌注疗效分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2011, 33: 302 - 304.
- [21] 姚珂, 向明章, 闵家新, 等. III期非小细胞肺癌术前新辅助化疗的随机对照临床试验[J]. *中国肿瘤临床*, 2004, 31: 611 - 613.
- [22] Koshy M, Fedewa SA, Malik R, et al. Improved survival associated with neoadjuvant chemoradiation in patients with clinical stage IIIa (N2) non-small-cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8: 915 - 922.

(收稿日期:2014-07-20)

(本文编辑:俞瑞纲)

·临床研究 Clinical research·

肝动脉化疗栓塞术对原发性肝癌患者 T 淋巴细胞亚群的影响

王立静, 苗同国, 宁更献, 张建集, 蔡丽芬

【摘要】目的 探讨肝动脉化疗栓塞术(TACE)前后原发性肝癌(PHC)患者 T 细胞亚群的变化。**方法** 采用流式细胞术(FCM)检测 PHC 患者 TACE 术前 1 d 与术后 1、2、3 和 4 周外周血 CD3、CD4、CD8 T 细胞及 CD4/CD8、CD4CD25/CD4 的比值变化。**结果** PHC 患者术前外周血 T 细胞亚群 CD3、CD4、CD4/CD8 比值显著低于健康对照组, CD8 则明显高于健康对照组($P < 0.05$);治疗 1 周后外周血 T 细胞亚群

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2015.02.019

作者单位: 050000 河北 石家庄市第五医院重症医学科(王立静、张建集、蔡丽芬),介入科(苗同国),肝病科(宁更献)

通信作者: 苗同国 E-mail: oncology@139.com

指标较治疗前明显下降($P < 0.05$),而 4 周后外周血 T 细胞亚群 CD3、CD4、CD8 及 CD4/CD8 比值较治疗前显著增高($P < 0.05$)。PLC 患者外周血中 CD4CD25/CD4 T 细胞的比例显著高于健康对照组,与术前比较,术后 1、2 周外周血 CD4CD25/CD4 T 细胞的比例明显升高,术后 4 周外周血 CD4CD25/CD4 T 细胞的比例显著下降。**结论** TACE 可以改善 PHC 患者的免疫状况。

【关键词】 原发性肝癌;肝动脉化疗栓塞术;T 细胞亚群;细胞免疫功能

中图分类号:R735.7 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2015)-02-0165-04

The influence of TACE on T lymphocyte subsets in patients with primary liver cancer WANG Li-jing, MIAO Tong-guo, NING Geng-xian, ZHANG Jian-ji, CAI Li-fen. Intensive Care Unit, Fifth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang, Hebei Province 050000, China

Corresponding author: MIAO Tong-guo, E-mail: oncology@139.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the changes of T lymphocyte subsets in patients with primary hepatocellular carcinoma (HCC) after transcatheter arterial chemoembolization (TACE). **Methods** A total of 40 patients with pathologically-proved HCC (study group) were enrolled in this study. Other 40 healthy volunteers were randomly collected and used as control group. Peripheral blood CD3, CD4 and CD8 T cells as well as CD4/CD8, CD4CD25/CD4 ratio were determined one day before TACE and one, 2, 3 and 4 weeks after TACE were determined in all patients by using flow cytometry assay. The results were statistically analyzed. **Results** The preoperative peripheral T lymphocyte subsets CD3, CD4 T cells and CD4/CD8 ratio in the study group were significantly lower than those in the control group, while CD8 T cells in the study group were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). One week after treatment, the indexes of peripheral T lymphocyte subsets in the study group were obviously decreased when compared with the preoperative data ($P < 0.05$), and 4 weeks after the treatment the peripheral T lymphocyte subsets, including CD3, CD4 and CD8 T cells as well as CD4/CD8 ratio, were significantly increased when compared with the preoperative data ($P < 0.05$). The peripheral CD4CD25/CD4 ratio in the study group was much higher than that in the control group. In the study group, the peripheral CD4CD25/CD4 ratio determined at one and 2 weeks after the treatment was strikingly increased when compared with preoperative data; and four weeks after the treatment, the peripheral CD4CD25/CD4 ratio was dramatically decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** TACE can improve the immune status of HCC patients. (J Intervent Radiol, 2015, 24: 165-168)

【Key words】 primary hepatocellular carcinoma; transcatheter arterial chemoembolization; T lymphocyte subsets; cellular immune function

原发性肝癌(primary hepatic carcinomas, PHC)是原发于肝脏的恶性上皮细胞肿瘤,主要包括肝细胞癌、肝内胆管癌以及肝细胞和肝内胆管混合癌,是临床常见恶性肿瘤,病死率高,占我国恶性肿瘤死亡率第 2 位。PHC 起病隐匿、发展快,一经发现多为中晚期,失去手术机会。肝动脉栓塞化疗(TACE)适应证较广,与传统的手术切除相比具有创伤小,费用低的优势,已成为中晚期肝癌的主要治疗手段。其基本的治疗原理是栓塞肿瘤供血动脉致肿瘤坏死。研究证实,肝癌的发生进展及预后与肿瘤局部微环境和全身免疫功能状态密切相关,肝癌组织坏死后释放的肿瘤抗原可诱导抗肿瘤特异性 T 淋巴细胞免疫反应^[1-2]。

作为一种微创治疗手段,TACE 在临床上的治疗效果为医患所接受。本研究通过检测肝癌患者在

TACE 后不同治疗时段外周血 CD3、CD4、CD8、CD4/CD8 的变化及调节性 T 淋巴细胞 CD4CD25 在 CD4 T 细胞中的百分比,来观察 TACE 对患者机体免疫功能的影响。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取我院 2011 年 1 月—2013 年 1 月经临床或肝穿刺病理证实为肝癌的患者 40 例。其中男 32 例,女 8 例,平均年龄(52.8 ± 15.2)岁。所有患者均有乙型肝炎病史,肝功能 Child-Pugh 分级 A 级 8 例, B 级 30 例, C 级 2 例,治疗前均在接受核苷类药物抗病毒治疗。以年龄性别为匹配条件,随机选择 40 例正常体检志愿者作为对照组。两组研究对象久居当地,在饮食、嗜好、民族、气候环境等方面基线

一致。所有研究对象均无糖尿病、类风湿、甲状腺功能亢进等自身免疫性疾病史,入组前后均未进行过免疫治疗。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 全部患者均符合 TACE 治疗适应证,并行 TACE 治疗,采用 Seldinger 技术,经皮股动脉穿刺,导管选择至肿瘤供血动脉行 DSA 造影。根据肿瘤血供情况进行栓塞。治疗方案为 5-氟尿嘧啶 750~1 000 mg,顺铂 40~80 mg,丝裂霉素 20 mg,联合超液化碘油 5~15 ml 进行栓塞。

1.2.2 流式细胞计 (FCM) 检测 CD3、CD4、CD8、CD4CD25 以及 CD4/CD8、CD4CD25/CD4 比值 抽取健康志愿者和 PLC 患者术前 1 d 血样进行检测,作为比较基线;并分别于术后 1、2、3 和 4 周抽取 PLC 患者血样。用淋巴细胞分离液密度梯度离心法分离外周血中有核细胞,外周血中有核细胞染色

标记 30 min,溶血 10 min,300 g 离心 5 min,弃上清液,PBS 洗 2 次,随后上机检测,并采用 Cellquest 软件进行样品测定分析。

1.3 统计学分析

采用 SPSS16.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验进行统计学分析,检测水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 肝癌患者与健康对照组 T 细胞亚群水平对比

肝癌患者外周血中 CD3、CD4、CD8、CD4/CD8 的表达分别为 50.16 ± 6.31 、 27.12 ± 3.36 、 27.36 ± 5.64 、 1.16 ± 0.27 ,与健康对照组相比,均存在统计学差异 ($P < 0.05$)。其中,肝癌患者 CD4 T 细胞较健康对照组明显下降,而 CD8 T 细胞则呈明显升高,CD4/CD8 较健康对照组也呈明显下降。见表 1。

表 1 肝癌患者与健康对照组 T 细胞亚群水平对比

($\bar{x} \pm s$)

组别	CD3	CD4	CD8	CD4/CD8	CD4CD25/CD4
肝癌组	50.16 ± 6.31^a	27.12 ± 3.36^a	27.36 ± 5.64^a	1.16 ± 0.27^a	9.15 ± 3.63^b
健康对照组	61.35 ± 3.07	32.54 ± 5.56	21.87 ± 2.75	1.85 ± 0.15	6.20 ± 2.25

注:^a表示与对照组比较, $P < 0.05$;^b表示与对照组比较, $P > 0.05$

2.2 TACE 治疗前后肝癌患者外周血 T 细胞亚群的变化

TACE 治疗 1 周后外周血 T 细胞亚群 CD3、CD4 及 CD4/CD8 较治疗前明显下降 ($P < 0.05$),治疗 4 周后外周血 T 细胞亚群 CD3、CD4 及 CD4/CD8

较治疗 1 周后有明显改善 ($P < 0.01$),较治疗前也有显著改善 ($P < 0.05$)。治疗后 2 周 CD3、CD4 及 CD4/CD8 水平略低于治疗前,治疗 3 周后 CD3、CD4 及 CD4/CD8 稍高于治疗前,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 TACE 治疗原发性肝癌前后外周血 T 细胞亚群及 CD4CD25 调节性 T 细胞的变化

($\bar{x} \pm s$)

组别	CD3	CD4	CD8	CD4/CD8	CD4CD25/CD4
术前	50.16 ± 6.31	27.12 ± 3.36	27.36 ± 5.64	1.16 ± 0.27	9.15 ± 3.63
术后 1 周	46.55 ± 3.94^a	22.65 ± 2.35^a	28.48 ± 6.21	0.85 ± 0.16^a	11.65 ± 5.12
术后 2 周	49.13 ± 2.43	25.43 ± 3.16	26.37 ± 5.45	0.98 ± 0.32	10.26 ± 6.64
术后 3 周	52.36 ± 4.64	26.46 ± 2.53	26.69 ± 5.13	1.20 ± 0.15	8.60 ± 5.73
术后 4 周	54.35 ± 3.43^b	30.50 ± 4.12^b	25.83 ± 3.90	1.36 ± 0.22^b	7.21 ± 3.42^b

注:^a表示与术前比较, $P < 0.05$;^b表示治疗后 4 周与治疗后 1 周比较, $P < 0.01$

2.3 TACE 治疗前后肝癌患者外周血 CD4CD25 调节性 T 细胞比例变化

肝癌患者 TACE 术前外周血中 CD4CD25/CD4 为 (9.15 ± 3.63),相对高于健康对照组,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$);术后 1、2 周明显升高,分别为 (11.65 ± 5.12)、(10.26 ± 6.64),与治疗前比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$);术后 3 周基本接近治疗前水平,为 (8.60 ± 5.73),与术前比较差异无统计学意义;术后 4 周 CD4CD25 T 细胞占 CD4 T 细胞的比例为 (7.21 ± 3.42),较治疗前明显降低 ($P < 0.05$)。见表 1、2。

3 讨论

PHC 是我国常见恶性肿瘤之一,具有较高的发病率和病死率。针对 PHC 的基础和临床研究一直是肿瘤学科研究的重点和热点。加强对机体免疫状态的监测,对于肝癌患者病情评估、临床诊疗方案的制定、完善肝癌治疗模式和提高疗效具有重要作用^[3]。机体免疫功能与肿瘤的发生、发展及转归关系密切,其中 T 细胞在机体抗肿瘤的免疫调节中起着举足轻重的作用^[4]。

CD3 细胞代表成熟的 T 淋巴细胞,是细胞免疫

中主要的活性细胞,可分为 CD4 和 CD8 T 细胞 2 个亚群。临床上通过检测 CD4、CD8 等 T 细胞数值以及 CD4/CD8 细胞比值来判断机体免疫平衡的状态。在正常情况下,淋巴细胞亚群中 CD4 细胞和 CD8 细胞处于一个相对稳定平衡状态,维持机体免疫功能。但在癌症患者,机体免疫力常遭到不同程度的破坏,呈现出 CD4/CD8 细胞比值下降^[5],抗肿瘤作用减弱,有利于肿瘤的发生、发展。本研究显示与健康对照组相比肝癌患者存在细胞免疫功能紊乱,表现为外周血 CD3、CD4、CD4/CD8 水平明显降低,CD8 比例明显升高,提示肝癌患者的细胞免疫功能处于明显抑制状态。TACE 治疗 1 周后 CD3、CD4、CD4/CD8 比值较术前降低,CD8 高于术前,说明 TACE 治疗在短时间内加重了患者原有的免疫抑制状态。可能因为大部分肝癌患者已到了中晚期,肿瘤体积较大,介入栓塞范围较大,对肝组织产生了一定的损害,且短期内应用大剂量化疗药物进一步加重了原有的免疫抑制状态。TACE 治疗 2、3、4 周后,在未给予免疫增强剂情况下,患者免疫功能恢复明显好于治疗 1 周后,较治疗前也有明显改善。这可能是由于 TACE 直接杀伤肿瘤细胞,减轻甚至清除肿瘤负荷,致使肿瘤细胞分泌的免疫抑制因子减少,使得肿瘤导致的免疫抑制得到缓解,促进了机体免疫功能的恢复。并为是否可再次行 TACE 治疗提供了证据。

CD4CD25Treg 细胞是近年发现的非常最重要的免疫负调节细胞^[6]。该类细胞高水平表达 CD25 分子,在免疫应答的负调节及维持自身免疫耐受中发挥着重要作用,可通过抑制 CD4CD25、CD8CD25T 细胞、NK 细胞的增殖及 IL-2 的分泌功能,抑制 CD8 记忆性 T 细胞的反应力,降低抗原提呈效率^[7-8]。另有研究提示,肝癌患者 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞比例明显高于正常人群,而淋巴细胞总数偏低,同样提示肝癌患者存在不同程度的免疫抑制^[9-10]。本组 40 例肝癌患者外周血中 CD4CD25/CD4 相对高于健康组,但差异无统计学意义,未能取得与其他研究相似的结果,样本数量偏少也许是造成这一差别的原因。术后 1、2 周 CD4CD25/CD4 较前升高,呈现出明显的免疫抑制状态,术后 4 周免疫功能逐渐恢复,较

治疗前显著降低。可见 TACE 治疗对机体免疫功能呈现先抑后扬的态势,提醒我们在为肝癌患者行 TACE 治疗期间,动态检测细胞免疫功能很有必要,有利于我们抓住最好的治疗时机和 TACE 治疗次数,最大的保持机体最佳的免疫状态,增加机体耐受性,提高疗效。

[参考文献]

- [1] Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, et al. Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2011, 53: 1206 - 1216.
- [2] Fu JL, Xu DP, Liu ZW, et al. Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132: 2328 - 2339.
- [3] O'Beirne JP, Harrison PM. The role of the immune system in the control of hepatocellular carcinoma[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004, 16: 1257 - 1260.
- [4] 王志利, 张跃伟, 徐丹凤. 射频消融治疗肝癌后机体免疫功能变化的研究进展[J]. *当代医学*, 2012, 18: 24 - 25.
- [5] Cho Y, Miyamoto M, Kato K, et al. CD4⁺ and CD8⁺ T cells cooperate to improve prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2003, 63: 1555 - 1559.
- [6] Chen X, Du Y, Huang ZM. CD4⁺ CD25⁺ Treg derived from hepatocellular carcinoma mice inhibits tumor immunity[J]. *Immunol Lett*, 2012, 148: 83 - 89.
- [7] Almeida AR, Ciernik IF, Sallusto F, et al. CD4⁺ CD25⁺ Treg regulate the contribution of CD8⁺ T-cell subsets in repopulation of the lymphopenic environment[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40: 3478 - 3488.
- [8] Menally A, Hill GR, Sparwasser T, et al. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells control CD8⁺ T-cell effector differentiation by modulating IL-2 homeostasis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 7529 - 7534.
- [9] 陈中, 倪家连, 刘鲁岳, 等. 肝癌微环境中 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞与 T 细胞免疫的关系[J]. *临床肝胆病杂志*, 2008: 38 - 40.
- [10] Zhao F, Korangy F, Greten TF. Cellular immune suppressor mechanisms in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Dig Dis*, 2012, 30: 477 - 482.

(收稿日期:2014-08-12)

(本文编辑:俞瑞纲)