

短篇报道 · Short Report

化疗联合乌苯美司对恶性肿瘤患者免疫功能的影响

夏俊贤, 朱美琴, 陈敬华, 许瑞莲, 田忠凯, 申维玺

暨南大学第二临床医学院深圳市人民医院肿瘤内科, 广东 深圳 518020

[摘要] 目的: 探讨化疗联合乌苯美司治疗对恶性肿瘤患者免疫功能的影响。方法: 采用 FCM 法分别对 150 例行化疗联合乌苯美司辅助治疗和 150 例单用化疗治疗的恶性肿瘤患者外周血中 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤(natural killer, NK) 细胞进行检测。结果: 化疗联合乌苯美司治疗组患者外周血中 CD3⁺、CD4⁺T 淋巴细胞和 NK 细胞(CD3⁻/CD16⁺CD56⁺) 所占的比例及 CD4⁺/CD8⁺ 的比值明显高于单用化疗(对照)组, 而 CD8⁺T 细胞所占比例则有所下降, 低于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 乌苯美司能够有效提高化疗后患者机体的免疫功能。

[关键词] 肿瘤; 抗肿瘤联合化疗方案; T 淋巴细胞; 乌苯美司

[中图分类号] R730.51

[文献标志码] B

[文章编号] 1000-7431 (2013) 04-0382-03

Clinical observation on change of immunological function after chemotherapy in combination with ubenimex for malignant tumors

XIA Jun-xian, ZHU Mei-qin, CHEN Jing-hua, XU Rui-lian, TIAN Zhong-kai, SHEN Wei-xi

Department of Medical Oncology, Shenzhen People's Hospital, Second Clinical Medical College, Jinan University, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China

[ABSTRACT] **Objective:** To explore the effect of chemotherapy in combination with ubenimex on immunological function of patients with malignant tumors. **Methods:** The changes of counts of T-lymphocyte subsets and NK (natural killer) cells in peripheral blood of patients with malignant tumors after chemotherapy alone ($n = 150$) or in combination with ubenimex ($n = 150$) were examined by FCM (flow metry). **Results:** The proportions of CD3⁺ and CD4⁺ T-lymphocyte subsets, NK cells (CD3⁻/CD16⁺CD56⁺) and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ in peripheral blood of patients with malignant tumors after chemotherapy in combination with ubenimex were significantly higher than those of patients receiving chemotherapy alone ($P < 0.05$). The proportion of CD8⁺ T-lymphocytes was obviously lower in patients receiving chemotherapy in combination with ubenimex than that in patients receiving chemotherapy alone ($P < 0.05$). **Conclusion:** Use of ubenimex may improve the immunological function of patients with malignant tumors after chemotherapy.

[KEY WORDS] Neoplasms; Antineoplastic combined chemotherapy protocols; T-lymphocytes; Ubenimex

[TUMOR, 2013, 33 (04): 382-384]

肿瘤免疫学研究表明, 肿瘤患者的细胞免疫与肿瘤的发生和发展密切相关, T 细胞亚群是构成机体自体免疫细胞免疫防御的重要因素。T 淋巴细胞有 2 个主要亚群: 辅助性 T 细胞(helper T cells, Th, 又称为 CD4⁺T 细胞) 和抑制性 T 细胞(suppressor T cells, Ts, 又称为 CD8⁺T 细胞), 机体内的免疫平衡主要由这 2 类细胞的相互作用来完成。CD4⁺T 细胞具有调节免疫反应的活性, 辅助 B 细胞产生抗体, 分泌细胞因子的作用; 而 CD8⁺T 细胞则具有免疫抑制和细胞毒性作用^[1]。CD4⁺T 细胞的下降

或 CD8⁺T 细胞升高均可使两者比例失调, 导致机体发生免疫功能缺陷。国内外很多研究指出, 多种肿瘤患者具有 T 细胞亚群状态的异常和比例失调, 其 CD4⁺/CD8⁺ 比值的降低与病变程度相关, 因此检测患者免疫指标有助于判断病情和指导治疗^[2]。自然杀伤(natural killer, NK) 细胞(CD3⁻/CD16⁺CD56⁺) 可以杀伤感染了病原体的自身细胞和肿瘤细胞, 是机体天然免疫的重要组成部分。恶性肿瘤的发生与患者机体免疫功能的下降关系密切, 且各种肿瘤治疗手段会损伤机体的免疫功能, 所以在化疗的同时应用免疫增强剂显得尤为重要。乌苯美司是从橄榄网状链霉菌的培养液中分离得到的一种氨基肽酶 N (CD13) 和亮氨酸氨基肽酶的抑制剂, 其可通

Correspondence to: XIA Jun-xian (夏俊贤)

E-mail: xjx1723@163.com

Received 2012-10-30 Accepted 2013-03-14

过增强宿主免疫功能、抑制肿瘤细胞生长及诱导肿瘤细胞凋亡等发挥抗肿瘤的作用^[3]。因此, 本研究通过对化疗联合乌苯美司辅助治疗的恶性肿瘤患者化疗前后外周血中T淋巴细胞亚群和NK细胞所占比例的分析, 以探讨乌苯美司在化疗辅助治疗中是否具有提高患者免疫功能的作用

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集2010年4月1日—2011年9月30日在本科室接受化疗的300例恶性肿瘤患者的临床资料, 并随访至2012年6月20日。所有患者均接受了至少2个周期的化疗, 其中150例患者在化疗前5 d开始予以乌苯美司辅助治疗(联合治疗组), 150例患者则接受单纯的化疗(对照组)。所有病例均经病理诊断为恶性肿瘤, 并按TNM进行临床分期。联合治疗组中, 男性52例, 女性98例; 年龄25~76岁, 中位年龄47.0岁。对照组中, 男性54例, 女性96例; 年龄27~77岁, 中位年龄47.5岁。2组患者共涉及17种不同类型的肿瘤, 其中乳腺癌120例、结肠癌40例、肺癌30例、直肠癌30例、胃癌25例、鼻咽癌20例、卵巢癌15例、宫颈癌8例、生殖细胞肿瘤2例、子宫内膜癌2例、淋巴瘤2例、十二指肠癌1例、阑尾癌1例、胆囊癌1例、腹膜间瘤1例、滑膜肉瘤1例和嗅神经细胞1例。2组患者在年龄、性别、肿瘤类型和肿瘤临床分期等方面差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 药物及用法 乌苯美司片(10 mg/片)购自国药集团四川抗制药有限公司。用法: 30 mg/d, 分3次口服, 连续服用。150例联合治疗组患者的疗程为1~8个月, 中位治疗时间为3个月。2组300例患者均同期接受化疗治疗。各种类型肿瘤的化疗方案均不同, 但所有化疗均依据美国国家癌症综合癌症网(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)公布的肿瘤学临床实践指南方案进行。

1.3 试剂和仪器 Cy标记的鼠抗人CD3单克隆抗体、Cy标记的鼠抗人CD4单克隆抗体、FITC标记的鼠抗人CD8单克隆抗体、PE标记的鼠抗人CD16单克隆抗体和PE标记的鼠抗人CD56单克隆抗体均为Pharmingen公司

产品。流式细胞仪(EPICSALTRA型)为美国贝克曼库尔特公司产品。

1.4 检测方法 采用直接免疫荧光标记全血溶血法, 检测肿瘤患者外周血中淋巴细胞表面抗原的表达情况, 具体步骤如下: 取荧光标记的单克隆抗体CD4、CD8、CD3及CD3+CD16+CD56各10 μL放入试管中, 分别加入外周全血100 μL, 室温避光孵育15 min, 并作同型对照; 加入溶血剂Optilyse C 500 mL, 混匀, 室温避光10 min进行溶血处理; 洗涤细胞, 常规低速离心5 min后弃上清液, 加入PBS 1 mL, 混匀, 重复洗涤1次; 加入PBS 1 mL重悬细胞, 混匀后制成单细胞悬液, 即可上流式细胞仪检测, 每个样品检测5 000个以上的细胞, 用软件分析计算淋巴细胞中各标记细胞所占的比例。

1.5 疗效评价 联合治疗组患者自第1个周期化疗前5 d始服用乌苯美司, 连续服用至多程化疗结束。在开始口服乌苯美司前1 d和结束1 d后, 分别抽取患者外周静脉血, 采用FCM法检测外周血中T细胞亚群和NK细胞所占的比例, 作为治疗前后免疫功能的比较。所有联合治疗组患者均至少行2个周期的化疗, 并在2011年9月30日前完成所有治疗。

1.6 统计学方法 采用SPSS 10.0软件进行分析。计数资料用百分数表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验进行比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫指标的比较 FCM法检测结果显示, 对照组患者治疗结束后, 外周血中CD3⁺、CD4⁺T细胞和NK(CD3⁻/CD16⁺CD56⁺)细胞所占的比例以及CD4⁺/CD8⁺的比值较治疗前均有所下降, 而CD8⁺细胞所占比例较治疗前有所升高; 联合治疗组患者治疗结束后, 外周血中CD3⁺、CD4⁺T细胞和NK(CD3⁻/CD16⁺CD56⁺)细胞所占的比例以及CD4⁺/CD8⁺的比值明显高于治疗前; 而CD8⁺T细胞所占比例则低于治疗前; 联合治疗组治疗前后患者以及联合治疗组治疗后与对照组治疗后外周血T淋巴细胞及NK细胞差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$, 表1)。

表1 联合治疗组与单用化疗组(对照)患者外周血中T淋巴细胞亚群和NK细胞所占比例的分析

Table 1 Analysis of the proportions of T-lymphocyte subsets and the NK (natural killer) cells in peripheral blood of patients with malignant tumors receiving chemotherapy in combination with ubenimex or chemotherapy alone.

[N=300, $\bar{x} \pm s/\%$]

Immune cells	Control group (n = 150)		Combination therapy group (n = 150)	
	Before chemotherapy	After chemotherapy	Before chemotherapy	After chemotherapy
T cell subsets/%				
CD3 ⁺	59.12±3.05	57.65±4.06**	58.10±6.41*	60.39±7.88
CD4 ⁺	30.65±6.01	29.18±7.18**	29.98±7.16*	33.15±7.12
CD8 ⁺	32.08±6.63	34.10±7.19**	33.96±6.14*	29.19±6.53
NK cells (CD3 ⁻ /CD16 ⁺ CD56 ⁺)/%	15.00±4.17	13.63±5.18**	12.36±4.18*	14.56±5.14
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ ratio	0.95±0.45	0.86±0.50**	0.88±0.14*	1.13±0.23

Control group: Treatment with chemotherapy alone; Combination therapy group: Treatment with ubenimex combined with chemotherapy; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs after chemotherapy in combination therapy group.

2.2 不良反应 联合治疗组中有 8 例患者服用乌苯美司后出现恶心但无呕吐, 后均自行缓解, 可继续服药; 1 例患者服用乌苯美司后出现皮疹, 遂停用该药。出现恶心、皮疹的患者均发生在初次服药的 1~3 d 内, 尚未同时联合化疗。其余患者在服药期间均未发生相关不良反应。

3 讨论

机体的抗肿瘤免疫作用是依靠机体的免疫监视作用完成的, 其中细胞免疫被认为是起主要作用的。在肿瘤形的成和发展过程中, 产生或分泌可溶性的免疫抑制因子可诱导 CD8⁺T 细胞的产生, 同时阻止 CD4⁺T 细胞的形成和成熟, 从而使 CD4⁺/CD8⁺ 比值下降以及 NK 细胞减少。然而患者在接受化疗的同时亦会导致机体的免疫功能下降, 因此, 如何提高患者的免疫功能, 这一问题即显得尤为重要。乌苯美司有干扰肿瘤细胞代谢, 直接抑制肿瘤细胞增殖, 并诱导肿瘤细胞凋亡, 促进宿主细胞免疫功能和增强抗癌作用的双重功能^[4], 其在抗肿瘤治疗中有以下 3 种作用: (1) 与免疫细胞结合, 抑制细胞表面的氨基肽酶, 从而影响宿主的免疫力; (2) 通过单核-巨噬细胞介导刺激骨髓红系及粒-单核系集落形成单位, 在与化疗合用时促进骨髓功能的恢复; (3) 直接诱导某些肿瘤细胞凋亡。临床研究显示, 乌苯美司在改善或稳定 Karnofsky 体能状况 (Karnofsky performance status, KPS) 及体质量方面有明显作用, 进而提高了晚期胃癌患者的生活质量^[5]。乌苯美司对鼻咽癌有辅助治疗作用, 能提高患者白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 的表达及 NK 细胞的活力, 改善患者免疫状态^[6]。肺鳞癌患者接受化疗的同时及化疗结束后, 每日加服乌苯美司 30 mg 并持续 6 个月, 可提高患者 OKT4/T8 比值、NK 细胞的活性以及 IL-2 的表达水平, 使淋巴细胞亚型比例趋向正常化, 降低血清可溶性 IL-2 受体的表达水平, 并对化疗后淋巴细胞恢复正常水平可能有辅助作用。

本研究结果显示, 单用化疗组患者化疗后外周血中 CD4⁺T 细胞所占比例明显下降, 而 CD8⁺T 细胞所占

比例升高, CD4⁺/CD8⁺ 比值下降。联合乌苯美司治疗后, 其中 CD3⁺和 CD4⁺T 细胞所占比例都有所升高, 而 CD8⁺T 细胞所占比例下降, CD4⁺/CD8⁺ 比值升高; 且 NK 细胞所占比例为 14.56%, 较治疗前的 12.36% 有所提高。提示乌苯美司可以辅助增强化疗患者的免疫力。患者服用乌苯美司后大多未发现不良反应, 仅极少数患者出现发热、躯干及四肢有小出血点, 均程度轻, 可自行缓解^[7]。本研究中共仅有 1 例患者出现药物性皮疹而退出研究, 8 例患者出现轻度消化系统不良反应, 但仍可继续服药, 其余患者均未出现用药相关不良反应。综上所述, 乌苯美司作为一种氨基肽酶抑制剂, 其在多种恶性肿瘤的辅助治疗中具有增加宿主免疫应答的作用。

[参考文献]

- [1] 陈慰峰. 医学免疫学[M]. 北京: 人民出版社, 2004:94-96
- [2] 杨家启, 杨波, 祁岩超. 细胞免疫治疗后肿瘤患者外周血淋巴细胞绝对数值变化的研究[J]. 中外医疗, 2008, 27(6):37-38.
- [3] 林茂芳, 钱习军. 乌苯美司下调 c-myc 表达与其增强全反式维甲酸诱导 NB4 细胞分化作用关系的实验研究[J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23:1527-1530.
- [4] 俞绍鑫, 马鸿飞. 乌苯美司在实体肿瘤的应用研究进展[J]. 国外医学: 肿瘤学分册, 2002, 29(2):153-155.
- [5] 方勇, 潘宏铭, 曹厚军, 等. 乌苯美司抑制胃癌术后复发转移临床观察[J]. 癌症进展杂志, 2007, 5(4):339-401.
- [6] 唐新生, 徐晓薇, 段恒英, 等. 乌苯美司对放射治疗鼻咽癌的辅助治疗[J]. 现代医药卫生, 2002, 18(4):277-278.
- [7] 张淑慧, 孙颖光, 马杰, 等. 乌苯美司片剂、胶囊剂在中国健康人体药动学及生物等效性研究[J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(3):210-213.

[本文编辑] 林琳