

文章编号: 1001-098X(2005)03-0115-03

·论 著·

结直肠癌患者免疫状况与肿瘤分期的关系

董晖¹ 王朝杰²

摘要 目的: 研究结直肠癌患者免疫状况及其与肿瘤分期的关系。方法: 用放免法和酶免法分析 60 例结直肠癌患者外周血中 T 淋巴细胞亚群、自然杀伤(NK)细胞活性、可溶性白细胞介素-2 受体(sIL-2R)和血管内皮生长因子(VEGF)水平, 比较各项指标与结直肠癌 Dukes' 分期的关系。结果: 结直肠癌患者抑制性细胞毒性 T 细胞(CD₈⁺)、sIL-2R 和 VEGF 水平明显高于对照组, 成熟 T 细胞总数(CD₃⁺)、辅助性诱导性 T 细胞 / 抑制性细胞毒性 T 细胞(CD₄⁺ / CD₈⁺)及 NK 细胞活性明显低于对照组; 随着结直肠癌 Dukes' 分期的增高, CD₃⁺、CD₄⁺ / CD₈⁺ 及 NK 细胞活性逐渐降低, sIL-2R 逐渐增高。结论: 结直肠癌患者的细胞免疫功能与肿瘤分期有关, 其恶性程度越高, 免疫功能越低, 预后越差。

关键词 肠肿瘤; T 淋巴细胞亚群; 自然杀伤细胞; 可溶性白细胞介素-2 受体; 肿瘤分期

中图分类号 R817.5 文献标识码 A

A study immunity condition and its Dukes' classification to tumor in patients with colorectal cancer

DONG Hui¹ WANG Chao-jie²

(¹Department of Laboratory, ²Department of Pathology, Guangdong Province People Hospital, Guangzhou 518001, China)

Abstract Objective: To study the immune functions in patients with colorectal cancer and the relationship with turn or stages. **Methods:** The levels of T-cell subgroup, natural killer(NK) cell activity, vascular endothelial growth factor(VEGF) and soluble interleukin-2 receptor(sIL-2R) were investigated in 60 patients with colorectal cancer by radioimmunoassay(RIA) and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). **Results:** In colorectal cancer, the blood CD₃⁺ and CD₄⁺ levels, the ratio of CD₄⁺ / CD₈⁺ and the NK cell activity were lower than that of control group, but the levels of CD₈⁺, VEGF and sIL-2R were higher than in control group, which changed with Dukes' classification. **Conclusion:** The cytoimmunity functions in patents with colorectal cancer related with Dukes' classification its malignant degree were more high, and the immunity function were more low, prognosis were more bad in patents with colorectal cancer.

Key Words intestinal neoplasms; T-lymphocytes; natural killer cell; vascular endothelial growth factor; soluble interleukin-2 receptor; Dukes' classification

结直肠癌是严重危害人类健康的恶性肿瘤之一, 在我国结直肠癌的发病率有逐年增高的趋势。国外学者^[1,2] 报道, 肿瘤的发生发展与肿瘤宿主的免疫状态密切相关。我们通过检测结直肠癌患者外周血中 T 淋巴细胞亚群、自然杀伤(natural killer, NK) 细胞活性及可溶性白细胞介素-2 受体(soluble interleukin-2 receptor, sIL-2R)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平, 研究结直肠癌患者的免疫状况及其与肿瘤分级的关系。

作者单位: 510081, 广州, 广东省人民医院¹ 检验科, ² 病理科

1 材料和方法

1.1 临床病例

共检测结直肠癌患者 60 例(男 38 例, 女 22 例), 年龄 31~78 岁, 平均(58±12)岁; 其中结肠癌 31 例, 直肠癌 29 例。所有病例检测前均未经化疗或其他治疗, 均经手术及病理证实为腺癌, 其中 Dukes A 期 14 例、B 期 18 例、C 期 16 例、D 期 12 例。20 名健康人群作为正常对照(男 12 名, 女 8 名), 年龄 18~49 岁, 平均(59±11)岁, 体检均正常。

1.2 测定方法

(1) T 细胞亚群的检测: 采用单抗致敏红细胞

花环法。

(2) sIL-2R 的检测：采用放免双抗体夹心法。

(3) VEGF 检测：采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验。

(4) NK 细胞活性的检测：取外周静脉血 2ml，肝素抗凝，用淋巴细胞分离液梯度离心获得淋巴细胞；将靶细胞 K562 调至 2×10^5 /ml，外周血淋巴细胞调至 2×10^6 /ml，用 96 孔细胞培养板，每孔加入分离的外周血淋巴细胞液 100 μ l 及 K562 细胞 100 μ l，使靶效比为 5:1~10:1，同时设置靶效对照培养。用含 15% 小牛血清的 RPMI 1640 全培养液在 37℃、5%CO₂ 无菌培养 24h 后加入 5mg/L 的甲基噻唑基四唑溶液 10 μ l，继续培养 4h。终止培养后加入十二烷基硫酸钠破膜液 50 μ l，30min 后用酶标仪以 570nm 波长测出每孔 A 值，并按以下公式计算 NK 细胞活性：NK 活性=[1-582(E/T-E)/(T-CL)] \times 100%，式中，E 为效应细胞，T 为靶细胞，CL 为培养液对照孔。试剂盒分别购自天津市协和医药科技有限公司和美国 G.B 公司，检测操作过程按照说明书进行。

1.3 统计学处理

所有数据均采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示，结果比较采用方差分析及 t 检验。

2 结果

临床分期各组的 T 细胞亚群、VEGF、NK 细胞和 sIL-2R 结果比较见表 1。结直肠癌临床 Dukes' 分期 A~D 各组患者 T 细胞亚群、NK 细胞活性均低于对照组 ($t=2.137, t=2.245, t=2.347, t=2.340, P$ 值均 <0.05)；VEGF 和 sIL-2R 水平均高于对照组 (VEGF: $t=2.187, t=2.297, t=2.397, t=$

$2.988, P$ 值均 $<0.05 \sim <0.01$ ；sIL-2R: $t=2.297, t=2.347, t=2.384, t=2.991, P$ 值均 $<0.05 \sim <0.01$)；结直肠癌临床分期 Dukes C、D 组 sIL-2R 水平均高于 Dukes A 组 ($t=2.214, t=2.191, P$ 值均 <0.05)。

3 讨论

T 细胞的免疫调节作用主要由 CD₄⁺、CD₈⁺ 完成，CD₄⁺ 协调 B 细胞分化产生抗体，CD₈⁺ 则抑制抗体的合成、分泌及 T 细胞的增殖，两者的稳态维持着机体正常的免疫应答^[3]。本研究结果显示，结直肠癌患者外周血 T 细胞中 CD₈⁺ 高于对照组，而 CD₄⁺ 则低于对照组，使结直肠癌患者的 CD₄⁺/CD₈⁺ 明显低于对照组，进一步说明结直肠癌患者术前细胞免疫功能低下。本研究还提示结直肠癌患者中，随着 Dukes 分期的增高，CD₄⁺ 及 CD₄⁺/CD₈⁺ 逐渐减少，而 CD₈⁺ 逐渐增加，说明细胞免疫功能越差，越易发生淋巴结及远处转移，预后越差。如上所述，尽管 T 淋巴细胞介导的细胞免疫被认为在人类抗肿瘤发生的免疫监视功能中起主要作用，但实验发现在原发性免疫缺陷综合征患者中恶性肿瘤发病率并没有增加。

据文献^[4] 报道，NK 细胞在人体抗肿瘤免疫中起重要作用：Chediak-Higashi 综合征患者 NK 细胞极低，而其他免疫功能正常，易患淋巴组织肿瘤；接受免疫抑制治疗的患者，NK 细胞活性降低，恶性肿瘤发病率增加。本研究结果显示，结直肠癌患者术前 NK 细胞活性明显低于对照组，且随着结直肠癌 Dukes' 分期的增高，NK 细胞活性逐级降低，提示结直肠癌发生过程中存在 NK 细胞功能的抑制，继而促进肿瘤的发展。文献推测肿瘤患者 NK 细胞活性的降低可能与以下因素有关：在杀伤肿瘤

表 1 结直肠癌 Dukes' 分期各组 T 细胞亚群、VEGF、NK 细胞和 sIL-2R 结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	Dukes' 分期				
	Dukes A 组	Dukes B 组	Dukes C 组	Dukes D 组	对照组
CD ₃ ⁺ (%)	59.11 \pm 4.38 ^b	58.11 \pm 5.38 ^b	52.57 \pm 7.15 ^b	49.03 \pm 4.61 ^b	70.54 \pm 2.83
CD ₄ ⁺ (%)	46.00 \pm 2.29	44.00 \pm 2.23 ^b	41.00 \pm 2.95 ^b	40.41 \pm 3.05 ^b	49.16 \pm 1.74
CD ₈ ⁺ (%)	31.76 \pm 2.10 ^b	32.76 \pm 2.13 ^b	36.57 \pm 1.31 ^b	37.59 \pm 1.97 ^b	22.34 \pm 2.42
CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺	1.30 \pm 0.10 ^b	1.36 \pm 0.12 ^b	1.12 \pm 0.16 ^b	1.08 \pm 0.21 ^c	2.18 \pm 0.19
VEGF (ng·L ⁻¹)	265.2 \pm 113.2 ^b	396.5 \pm 108.4 ^{cd}	634.7 \pm 212.5 ^{cd}	988.6 \pm 321.3 ^{cd}	168.4 \pm 105.0
NK (%)	45.28 \pm 4.26 ^b	43.26 \pm 4.36 ^b	40.10 \pm 2.77 ^b	38.62 \pm 5.41 ^c	65.26 \pm 4.51
sIL-2R (U·ml ⁻¹)	124.64 \pm 4.09 ^b	134.64 \pm 4.89	151.00 \pm 6.30 ^{cd}	176.39 \pm 8.83 ^{cd}	89.57 \pm 11.16

注：与对照组比较，^b 为 $P < 0.05$ ，^c 为 $P < 0.01$ ；与 Dukes A 组比较，^d 为 $P < 0.05$ ，^e 为 $P < 0.01$

细胞的过程中消耗大量NK细胞;肿瘤细胞分泌某种抑制或封闭因子使NK细胞活性降低;NK细胞在血液循环中再分布等。

本研究显示结直肠癌患者术前外周血中sIL-2R显著升高,这与文献报道的其他肿瘤的结果一致。崔明等^[4]认为,恶性肿瘤患者sIL-2R的升高可能是肿瘤诱导的免疫反应激活T淋巴细胞,使膜白细胞介素-2受体(membrane IL-2, mIL-2R)高度表达,同时释放sIL-2R进入血液循环。本研究还显示,结直肠癌的sIL-2R升高与肿瘤的Dukes'分期有关,DukesB、C、D期的sIL-2R水平逐渐增高,这与刘长安等^[5]的报告完全符合。现在认为,sIL-2R升高可以增加与IL-2的结合,加速IL-2的廓清,使活化的T淋巴细胞恢复成休止细胞;sIL-2R与mIL-2R竞争结合IL-2,抑制T细胞增殖,同时抑制淋巴细胞浸润肿瘤组织;血清中sIL-2R增高说明大量IL-2R从膜上脱落,使活化的淋巴细胞处于衰竭状态;血清中sIL-2R水平升高常伴有CD₄⁺/CD₈⁺比值降低及NK细胞活性降低,影响B细胞功能和血中免疫球蛋白E浓度,导致机体免疫功能严重降低,使肿瘤逃脱宿主的免疫反应^[5,6]。可见,本研究所揭示的结直肠癌患者术前外周血中T细胞亚群、NK细胞活性及sIL-2R的变化是相互联系、相互制约的,究竟哪一个是始动因素,尚待进一步研究。

Evelyhe D等^[7]研究表明,血清中的VEGF可来源于肿瘤细胞的表达和分泌,而血液细胞(单核细胞、血小板)则可能起储存和运输VEGF至循环中的作用。肿瘤细胞分泌的VEGF进入血液中的可

能机制为VEGF随穿过血管壁的血细胞进入血液,VEGF使血管通透性增加,从而扩散到血液中。本研究结果显示,结直肠癌患者血清VEGF水平较正常对照组显著升高,表明血清VEGF的检测对结直肠癌的早期诊断、病情进展的判断及疗效观察有一定参考价值。

4 结论

结直肠癌患者的细胞免疫功能与肿瘤分期有关,其恶性程度越高,免疫功能越低,预后越差。

参 考 文 献

- 1 Lissni P, Brivio F, Ferranle R, et al. Circulating immature and mature dendritic cells in relation to lymphocyte subsets in patients with gastrointestinal tract cancer[J]. *Int J Biol Markers*, 2002, 12(1):22-25.
- 2 Decensi A, Costa A. Recent advances in cancer chemoprevention with emphasis on breast and cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2002, 3(6): 694-709.
- 3 卫洪波, 王吉甫, 陈规划. 维甲酸对大肠癌患者淋巴细胞亚群及集落形成的影响[J]. *癌症*, 2003, 22(2): 202-203.
- 4 崔明, 杨彦, 王相田. 围手术期输血对大肠癌患者外周血T淋巴细胞亚群分布及预后的影响[J]. *临床外科杂志*, 2003, 1(2): 47-48.
- 5 刘长安, 孙武, 邵玉霞. 大肠癌患者外周血T细胞亚群和NK细胞活性检测的临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2001, 6(5): 476-478.
- 6 沙文. 西米丁对大肠癌患者免疫状态的调节[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2003, 38(1): 67-68.
- 7 Evelyhe D, Patrivia H, Ande V, et al. Tumor angiogenesis and tissue factor expression during hepatocellular mouse mode[J]. *J Hepatol*, 2003, 38(6): 793-802.

(收稿日期: 2005-04-03)

欢迎订阅《中国药理学通报》

《中国药理学通报》是国家级核心期刊和权威的文献源期刊, 主要刊登药理学研究论文。多次荣获国家及华东地区优秀科技期刊奖, 2003、2005年两获国家期刊奖百种重点期刊奖; 被国家权威机构认定为医学类、药学类核心期刊, 并被几乎所有国内相关检索性期刊及数十种国外著名检索期刊收录、利用。连续9年名列美国《CA千种表》, 1997年摘引量曾名列美国《CA千种表》收录的中国医药期刊第1名。本刊1999、2002、2004年分别获国家自然科学基金和中国科协资助基础性和高科技期刊专项资金资助。

医师用药要懂药理, 药师药研人员更要懂药理。中国药理学通报, 医师药师都需要。

《中国药理学通报》为月刊, 大16开128页, 彩色铜版纸印刷, 每期定价15.00元(零售: 20元/期), 全年180.00元。邮发代号: 26-52, 请及时向当地邮局订阅, 漏订读者请直接汇款至本刊编辑部(零售价: 每期20元), 免收邮费。地址: 安徽省合肥市安徽医科大学校内《中国药理学通报》编辑部, 邮编: 230032, 联系人: 吴慧、程西望、武明静。电话: 0551-5161221、5161222, 电子信箱: cpb@ahmu.edu.cn。