

同步放化疗对脑胶质瘤患者外周血T淋巴细胞亚群的影响

康庄 李岩 张红梅 陈建新 康勋 李珊 李文斌

100050 首都医科大学附属北京天坛医院神经外科(神经肿瘤综合治疗病区)(康庄、康勋、李文斌);100038 首都医科大学附属北京世纪坛医院脑胶质瘤科(李岩、张红梅、陈建新、李珊)
通信作者:李文斌, Email: neuro777@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2018.09.003

【摘要】 **目的** 观察同步放化疗对胶质瘤患者外周血T淋巴细胞亚群的影响,为脑胶质瘤的治疗提供免疫学指标。**方法** 以2015年1月—2017年12月北京世纪坛医院脑胶质瘤科收治的脑胶质瘤患者150例为脑胶质瘤组,以同期在本院健康体检中心行体格检查的150例健康人群为对照组。采用流式细胞仪技术测定健康对照组和脑胶质瘤患者同步放化疗前后外周血T淋巴细胞亚群的含量。**结果** 结果显示治疗前胶质瘤患者外周血CD3⁺与健康对照组差异无统计学意义($P > 0.05$), CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺显著低于健康对照组, CD8⁺显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);脑胶质瘤患者同步放化疗前CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺明显高于放化疗后,差异有统计学意义($P < 0.05$);同步放化疗后CD8⁺较放化疗前明显上升,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 脑胶质瘤患者免疫功能下降,同步放化疗后免疫功能下降更加明显。外周血T淋巴细胞亚群检测可作为临床评估脑胶质瘤同步放化疗的免疫学参考指标。

【关键词】 神经胶质瘤; T淋巴细胞; 同步放化疗

基金项目: 国家高技术研究发展计划("863"计划)(2012AA02A508)

Effects of concurrent radiochemotherapy on peripheral blood T lymphocytes subsets in patients with glioma

Kang Zhuang, Li Yan, Zhang Hongmei, Chen Jianxin, Kang Xun, Li Shan, Li Wenbin

Department of Neurosurgery (Neuro-oncology), Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China(Kang Z, Kang X, Li WB); Glioma Department, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China(Li Y, Zhang HM, Chen JX, Li S)

Corresponding author: Li Wenbin, Email: neuro777@126.com

【Abstract】 **Objective** To observe the effects of concurrent radiochemotherapy on peripheral blood T lymphocyte subsets in patients with glioma, so as to provide immunological indicators for the treatment of glioma. **Methods** A total of 150 patients with glioma admitted to the glioma department of Beijing Shijitan Hospital from January 2015 to December 2017 were recruited into the glioma group, and the other 150 healthy people who undertook health examination in the health examination center were assigned into the control group. The content of T lymphocyte subsets in peripheral blood of healthy control group and glioma patients before and after concurrent chemoradiotherapy were determined by fluorescence-activated cell sorter (FACS). **Results** The results showed that there was no statistical significance in the difference of CD3⁺ in peripheral blood of patients between the two groups before treatment ($P > 0.05$). with glioma was not statistically significant ($P > 0.05$). The mean CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ were significantly lower than those in healthy controls. The mean CD8⁺ was significantly higher than the healthy control group. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). The mean CD3⁺, mean CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ of glioma patients before concurrent chemoradiotherapy were significantly higher than those after concurrent chemoradiotherapy, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The mean value of CD8⁺ was significantly increased after treatment, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions** The immune function of patients with glioma is decreased. The deflection in immune function after concurrent chemoradiotherapy is more obvious. Peripheral blood T lymphocyte subsets can be used as an immunological reference index for clinical evaluation of glioma concurrent chemoradiotherapy.

【Key words】 Glioma; T lymphocytes; Concurrent chemoradiotherapy

Fund program: National High Technology Research and Development Program ("863" Program) of China (2012AA02A508)

T淋巴细胞亚群介导的免疫系统反应对肿瘤的发展发挥着重要的作用^[1]。应用流式细胞仪技术能够快速、定量、多参数、成批量地分析检测T淋巴细胞亚群含量,为肿瘤免疫功能调节的研究提供客观、可靠的依据。脑胶质瘤是颅内最常见的原发性恶性肿瘤,手术切除结合术后放化疗是其主要的治疗方法,但患者的远期疗效往往较差^[2]。其原因与机体免疫功能失调密切相关,其中发挥主要作用的是细胞免疫功能。国内尚无文献报道脑胶质瘤患者同步放化疗前后机体免疫状态的变化,尤其是细胞免疫状态的变化。本文通过对健康对照和脑胶质瘤患者同步放化疗前后外周血T淋巴细胞亚群含量的测定,研究脑胶质瘤患者在同步放化疗期间免疫功能的变化,现报道如下。

资料与方法

1. 一般资料:以北京世纪坛医院脑胶质瘤科2015年1月—2017年12月住院收治150例脑胶质瘤患者为脑胶质瘤组,具有完整的临床资料,所有患者均经手术病理明确诊断:WHO II级35例(≥40岁患者28例,<40岁患者7例,均为肿瘤未完全切除),III级48例,IV级67例。男性81例,女性69例,年龄22~65岁,中位年龄42岁;以同期在北京世纪坛医院健康体检中心行体格检查的150名健康人群为对照组,男性78人,女性72人,年龄25~69岁,中位年龄44岁。脑胶质瘤组和健康对照在年龄、性别方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究采用的临床资料和数据均获得了患者的知情同意。本研究方案通过了首都医科大学附属北京天坛医院和北京世纪坛医院伦理委员会的审核并获得批准。

2. 治疗方法:脑胶质瘤患者给予三维适形放疗联合应用替莫唑胺同步化疗。首先通过头架、头枕、头部热塑膜固定头部,再通过增强CT薄层扫描(层厚3 mm),依据影像学资料设计肿瘤放疗靶区。并通过放射治疗计划系统行照射野设计及剂量评估后,给予4~5个照射野,以保证95%以上的处方剂

量可以将临床靶区包全。1次/d, 2.0 Gy/次, 5 d/周;临床靶区的照射剂量达到50 Gy/25 f后,调整照射野,将其缩小至肿瘤靶区外0.5~1 cm,再增加照射剂量,至肿瘤靶区照射总剂量达到60 Gy/(30~32)f后停止,共治疗6~7周。同步放疗期间采用替莫唑胺进行同步化疗,剂量75 mg/(m²·d)。

3. 外周血T淋巴细胞亚群检测:所有脑胶质瘤患者均于入院时和同步放化疗结束后第2天采晨起空腹静脉血5 ml,采用流式细胞仪技术(美国BD公司)检测患者外周血T淋巴细胞亚群:CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺以及CD4⁺/CD8⁺。健康对照组检测方法与其一致。

4. 统计学方法:应用SPSS 17.0软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验,组内治疗前后比较采用配对t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 健康对照组和脑胶质瘤患者治疗前外周血T淋巴细胞亚群的比较:见表1、图1(见本期封三)。胶质瘤患者同步放化疗前外周血CD3⁺与健康对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺显著低于健康对照组,CD8⁺显著高于健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2. 脑胶质瘤患者同步放化疗前后外周血T淋巴细胞亚群的比较:见表1、图1(见本期封三)。脑胶质瘤患者同步放化疗前CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺明显高于放化疗后,差异有统计学意义($P < 0.05$);同步放化疗后CD8⁺较放化疗前明显上升,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

讨 论

人体免疫系统是由细胞免疫和体液免疫共同构成。免疫功能失调是肿瘤发生、发展的一个重要因素。在抗肿瘤过程中细胞免疫发挥了主要作用,其功能主要是由T淋巴细胞亚群来完成,包括CD3⁺、CD4⁺以及CD8⁺等^[3]。抗肿瘤的作用是由T淋巴细胞亚群的数量和比例决定,当其发生异常时将导致

表1 脑胶质瘤患者和健康对照组外周血T淋巴细胞亚群比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
脑胶质瘤组	150				
治疗前		54.39 ± 13.43	31.49 ± 8.01	32.07 ± 7.37	1.33 ± 0.31
治疗后		31.54 ± 10.11	23.31 ± 7.64	40.31 ± 8.52	1.01 ± 0.43
健康对照组	150	55.84 ± 14.40	44.27 ± 9.87	25.40 ± 5.53	1.94 ± 0.53
t ₁ 值		2.032	2.976	2.932	2.953
P ₁ 值		0.106	<0.001	<0.001	<0.001
t ₂ 值		2.987	2.285	2.984	2.353
P ₂ 值		<0.001	0.015	<0.001	0.024

注:t₁、P₁为脑胶质瘤组治疗前与健康对照组组间比较;t₂、P₂为脑胶质瘤组治疗前后组内比较

机体免疫功能的失调。T淋巴细胞亚群的各项指标中CD4⁺/CD8⁺比值更具有指导意义。CD4⁺/CD8⁺比值通常情况下保持在相对稳定的状态,从而保证人体免疫系统的稳定。当人体免疫功能出现失调或紊乱时,其比值将会低于正常范围。

已有文献报道在肠道肿瘤、妇科肿瘤、呼吸系统肿瘤的发生、发展中存在T淋巴细胞亚群的功能失调^[4-5]。也有文献报道T淋巴细胞亚群的功能失调同样存在于脑胶质瘤患者的治疗过程中^[6]。由于中枢神经系统没有完整的免疫器官和淋巴管,并且缺乏免疫活性细胞,以及血脑屏障阻碍了抗原物质与免疫器官和活性物质的接触,因而,在正常情况下,中枢神经系统被认为是免疫“豁免”器官。但当血脑屏障被破坏时,淋巴细胞将进入中枢神经系统产生微弱和缓慢的免疫效应^[7]。“免疫逃逸”理论在脑胶质瘤的恶性进展过程中发挥了重要的作用。目前,多项研究表明胶质瘤患者的细胞免疫功能受到影响,尤其是T淋巴细胞免疫功能受显著抑制^[8-9]。在本项研究中脑胶质瘤患者与健康对照组比较,同步放化疗前CD3⁺均值虽然没有显著变化,但CD4⁺均值和CD4⁺/CD8⁺比值则明显下降,尤其是CD4⁺/CD8⁺比值的下降则更具指导意义。因此,以上结果提示脑胶质瘤患者相比健康对照组,其免疫系统出现了功能失调。但目前关于脑胶质瘤患者同步放化疗前后外周血T细胞亚群的变化研究鲜有报道,仍缺乏脑胶质瘤的免疫评估指标。

同步放化疗是脑胶质瘤治疗过程中不可或缺的重要手段^[10]。虽然同步放化疗过程中能够杀灭肿瘤细胞,但同时也对机体的正常免疫系统造成了影响。在本项研究中脑胶质瘤患者同步放化疗后CD3⁺、CD4⁺均值和CD4⁺/CD8⁺比值较同步放化疗前均明显下降,尤其是CD4⁺/CD8⁺比值的下降则更具指导意义。研究结果提示同步放化疗可能对淋巴细胞增殖功能产生抑制作用。其具体的发生机制目前尚不清楚,可能与脑胶质瘤破坏血脑屏障、侵袭生长的特点以及“免疫逃逸”相关联^[10]。因而,应在同步放化疗治疗中适当加强营养支持,或者给予免疫增强剂治疗等方法提高脑胶质瘤患者的疗效。本研究中脑胶质瘤患者均采用同步放化疗的治疗方案,放疗或者化疗的单独抑制作用或是两者共同作用使脑胶质瘤患者免疫功能下降尚不能明确。

总之,脑胶质瘤患者同步放化疗后T淋巴细胞亚群CD3⁺、CD4⁺水平和CD4⁺/CD8⁺比值均下降,这说明脑胶质瘤患者同步放化疗后可能出现免疫功能的降低。未来应开展进一步的研究,完善脑胶质瘤放化疗后的免疫治疗策略,促进患者康复。脑胶质瘤患者T淋巴细胞亚群变化与患者生存期及预后的相关性仍需进一步探索。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 研究构思与设计为康庄、李文斌,研究实施、资料收集为康庄、李岩、康勋、李珊,数据分析为康庄、康勋,论文撰写为康庄、李岩,论文修订为张红梅、陈建新,审校为李文斌

参 考 文 献

- [1] 刘焕兵,耿春艳,国维纳,等.免疫治疗在脑胶质瘤中的研究进展[J].国际免疫学杂志,2015,38(2):178-180. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2015.02.018.
Liu HB, Geng CY, Guo WN. The advances of immunotherapy for cerebral glioma [J]. Int J Immunol, 2015, 38(2): 178-180.
- [2] 陈萍萍,石松生,陈春美.胶质瘤患者围术期外周血T细胞亚群和自然杀伤细胞活性的变化及其临床意义[J].中华实验外科杂志,2014,31(11):2577-2579. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2014.11.072.
Chen PP, Shi SS, Chen CM. The change of peripheral blood T cell subsets and natural killer cell during perioperation in patients with gliomas and its clinical significance [J]. Chin J Exp Surg, 2014, 31(11): 2577-2579.
- [3] 宁军,龚浩.中晚期肿瘤患者T淋巴细胞和NK细胞检测的临床意义[J].中华全科医学,2007,5(7):587-588. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4152.2007.07.015.
Ning J, Gong H. Clinical significance of T lymphocyte and NK Cell detection in patients with advanced malignant tumor [J]. Chinese Journal of General Practice, 2007, 5(7): 587-588.
- [4] 鄢露丹,徐炜峰,熊逸群.恶性肿瘤患者淋巴细胞亚群的测定及与癌胚抗原的关系[J].实验与检验医学,2008,26(1):57-58. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1129.2008.01.024.
- [5] 齐红,刘玉侠,任林广,等.肺癌患者外周血淋巴细胞亚群与性别、年龄及临床分期的关系[J].中国实验诊断学,2012,16(11):2034-2037. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287.2012.11.025.
Qi H, Liu YX, Ren LG, et al. Study on relationship between the lymphocyte subsets and gender, age and the clinical stages of patients with lung cancer [J]. Chin J Lab Diagn, 2012, 16(11): 2034-2037.
- [6] Kobayashi E, Mizukoshi E, Kishi H, et al. A new cloning and expression system yields and validates TCRs from blood lymphocytes of patients with cancer within 10 days [J]. Nat Med, 2013, 19(11): 1542-1546. DOI: 10.1038/nm.3358.
- [7] Yang S, Karne NK, Goff SL, et al. A simple and effective method to generate lentiviral vectors for ex vivo gene delivery to mature human peripheral blood lymphocytes [J]. Hum Gene Ther Methods, 2012, 23(2): 73-83. DOI: 10.1089/hgtb.2011.199.
- [8] 马学华,张莹,滕雷,等.神经胶质瘤患者外周血淋巴细胞亚群检测的临床意义[J].国际检验医学杂志,2013,34(9):1080-1082. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.009.
Ma XH, Zhang X, Teng L, et al. Clinical significance of peripheral blood lymphocyte subsets detection in patients with glioma [J]. Int J Lab Med, 2013, 34(9): 1080-1082.
- [9] 马学华,张莹,滕雷,等.胶质瘤切除术对神经胶质瘤患者外周血淋巴细胞亚群及CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的影响[J].黑龙江医学,2013,37(4):241-244. DOI: 10.3969/j.issn.1004-5775.2013.04.001.
- [10] Chinot OL, Wick W, Mason W, et al. Bevacizumab plus radiotherapy temozolomide for newly diagnosed glioblastoma [J]. N Engl J Med, 2014, 370(8): 709-722. DOI: 10.1056/EJMoal308345.

(收稿日期:2018-07-26)

(本文编辑:戚红丹)