

[文章编号] 1000- 4718(2005)06- 1213- 03

# 中晚期肺癌患者手术前后细胞免疫功能变化

洪 丰, 熊 刚, 张瑞祥, 彭建明

(暨南大学附属第一医院胸心外科, 广东 广州 510632)

**[摘要]** 目的: 观察中、晚期肺癌患者手术前后细胞免疫功能的变化状况。方法: 选肺癌组(A组)、肺良性病变组(B组)和正常对照组(C组)各20例;以间接免疫荧光法测定C组、A组及B组术前、A组及B组术后第10d以及A组术后第17d的外周静脉血的T淋巴细胞亚群水平(CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>、CD<sub>8</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比值)。结果: A组术前CD<sub>3</sub><sup>+</sup>低于B组、CD<sub>8</sub><sup>+</sup>高于C组和B组、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比值低于C组和B组; A组术后第10、第17d CD<sub>3</sub><sup>+</sup>高于术前、CD<sub>8</sub><sup>+</sup>明显低于术前; CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比值A组术后第17d较术前增高。CD<sub>4</sub><sup>+</sup> A组比较C组、CD<sub>8</sub><sup>+</sup> A组术后第10d比较术后第17d、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> A组术后第10、第17d比较术前, 均无明显差别。结论: 中、晚期肺癌患者外科手术切除肿瘤后患者的免疫抑制有所解除, 免疫功能得到改善。从免疫学观点看, 中、晚期肺癌的手术治疗具有积极意义。

[关键词] 肺肿瘤; 手术; 免疫力; T淋巴细胞亚群

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Changes of cellular immunological function after surgical operation in patients with locally advanced lung cancer

HONG Feng, XIONG Gang, ZHANG Rui-xiang, PENG Jian-ming

(Department of Cardiothoracic Surgery, The First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To study the change of cellular immunological function in patients with locally advanced lung cancer before and after operations. **METHODS:** A lung cancer group of 20 cases with locally advanced lung cancer (group A), a benign disease group of 20 cases with lung benign disease (group B) and a normal group of 20 cases from healthy volunteers (group C) were set up. The levels of the peripheral blood T lymphocyte subsets (CD<sub>3</sub><sup>+</sup>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, CD<sub>8</sub><sup>+</sup>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> ratio) were detected in the group A before operation and on the 10th day and 17th day after operation by indirect immunofluorescence assay and contrasted with the group B and group C. **RESULTS:** The levels of T lymphocyte subsets in group A were abnormal before operation, CD<sub>3</sub><sup>+</sup>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> ratio were significantly lower than those in group B and group C ( $P < 0.05$ ), and CD<sub>8</sub><sup>+</sup> was significantly higher ( $P < 0.05$ ). CD<sub>3</sub><sup>+</sup> significantly increased ( $P < 0.05$ ) and CD<sub>8</sub><sup>+</sup> decreased ( $P < 0.05$ ) on 10th day and 17th day after operation. CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> ratio significantly increased on 17th day after operation ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference of the levels of T lymphocyte subsets between the 10th day and 17th day after operation. **CONCLUSIONS:** The patients with locally advanced lung cancer have a remarkable impairment of immunological function, which mainly show stronger immunosuppression and have some recovery after operation. In the view of immunology, the surgical resection for locally advanced lung cancer shows active significance.

[KEY WORDS] Lung neoplasms; Operation; Immunity; T lymphocyte subsets

肺癌已成为现今威胁人类健康的主要恶性肿瘤之一。中、晚期肺癌(locally advanced lung cancer)指国际TNM分期中的III期, 包括III<sub>A</sub>及III<sub>B</sub>。肺癌I期和II期首选手术治疗, 这已是普遍认同的方法, 而III期肺癌是否适合手术治疗, 目前尚有争议。由于肿瘤的发生、发展和预后与机体的免疫状况密切相关, 本研究主要观察手术前、后中、晚期肺癌患者的免疫功能的变化。

## 材 料 和 方 法

### 1 研究对象及分组

本实验选择在广州暨南大学附属第一医院住院的中晚期肺癌患者20例为肺癌组(A组), 其中男13例, 女7例, 年龄最大70岁, 最小46岁, 平均年龄(57.7±6.4)岁。按1997年国际抗癌联盟(UICC)的TNM分期方法, II期3例, III<sub>A</sub>期14例, III<sub>B</sub>期3例。其中鳞癌7例, 腺癌10例, 小细胞未分化癌3例。手

[收稿日期] 2004- 11- 17

[修回日期] 2004- 12- 30

Tel: 020- 85563883; E- mail: mrhfenghong@21cn.com

术方式分为根治性手术和减量性手术, A 组 13 例接受了根治性手术, 7 例接受了减量性手术。选择在同一医院接受手术治疗的肺良性疾病患者 20 例(B 组)为良性病变对照组。其中男 15 例, 女 5 例, 年龄最大 60 岁, 最小 24 岁, 平均年龄(46.1 ± 14.2) 岁。其中肺结核球 2 例, 肺囊肿 6 例, 支气管扩张症 4 例, 巨大肺大疱 8 例。手术方式分为肺叶切除术及肺楔形切除术。选择身体健康者 20 例(从广州市中心血站提供的志愿献血者的外周静脉血中提取标本)为正常对照组(C 组)。

## 2 实验方法

用一次性注射器从 upper 肢静脉采取标本, 每次抽取空腹静脉血 4 mL, 立即沿管壁缓慢注入肝素抗凝试管(含肝素 100 U/0.5 mL), 摇匀, 24 h 内检测。标本按研究方案从 C 组 A 组及 B 组术前、A 组及 B 组术后第 10 d 和 A 组术后第 17 d 的时间内抽取。以间接免疫荧光法(indirect immunofluorescent assay)测定外周血 T 淋巴细胞亚群水平(CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>)。

表 1 肺癌组、良性病变组及正常对照组外周血 T 淋巴细胞亚群测定

Tab 1 The levels of the peripheral blood T lymphocyte subsets in lung cancer group A, benign pulmonary disease group B and normal group C ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 20$ )

Group	CD3 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> (%)	CD8 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
Before OP				
A	41.65 ± 9.80*	39.48 ± 9.67	43.36 ± 9.40*	0.91 ± 0.04*
B	56.07 ± 4.85 <sup>△</sup>	31.14 ± 6.38	25.75 ± 2.30 <sup>△</sup>	1.20 ± 0.33 <sup>△</sup>
C	59.44 ± 6.68 <sup>△</sup>	40.59 ± 6.18*	32.24 ± 6.01 <sup>△*</sup>	1.27 ± 0.16 <sup>△</sup>
10 d after OP				
A	52.28 ± 12.30 <sup>△</sup>	38.36 ± 9.40	32.21 ± 6.98 <sup>△</sup>	1.18 ± 0.05
B	55.77 ± 4.72 <sup>△</sup>	32.18 ± 6.83	27.34 ± 4.33 <sup>△</sup>	1.21 ± 0.22 <sup>△</sup>
17 d after OP				
A	49.42 ± 11.63 <sup>△</sup>	34.98 ± 8.57	28.81 ± 6.24 <sup>△</sup>	1.21 ± 0.05 <sup>△</sup>

<sup>△</sup> $P < 0.05$  vs A group before OP; \*  $P < 0.05$  vs B group before OP. OP: operation.

## 讨 论

机体在抗肿瘤的免疫反应中, 既有细胞免疫反应, 又有体液免疫反应参与, 但一般认为以细胞免疫为主, T 淋巴细胞是抗肿瘤免疫的最重要细胞, 其水平变化可以反映机体免疫功能的状况<sup>[1,2]</sup>。本实验结果显示, A 组术前 CD3<sup>+</sup> (总 T 淋巴细胞) 降低、CD8<sup>+</sup> (抑制/杀伤性 T 淋巴细胞亚群) 增高、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值降低, 说明中晚期肺癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群异常, 患者免疫功能存在明显障碍。实验结果中我们还观察到中晚期肺癌患者 CD4<sup>+</sup> (辅助/诱导性 T 淋巴细胞亚群) 水平与正常对照组比较没有明显差

## 3 统计学处理

应用 SPSS 10.0 FOR WINDOWS 统计软件。采用单因素方差分析、配对样本  $t$  检验以及重复测量设计的方差分析, A 组组内两两比较采用 Bonferroni 法。

## 结 果

### 1 3 组外周血 T 淋巴细胞亚群水平测定结果(见表 1)

从表 1 可以看出:

(1) CD3<sup>+</sup>: A 组术前显著低于 C 组、B 组术前及 A 组、B 组术后( $P < 0.05$ );

(2) CD4<sup>+</sup>: A 组术前与 A 组术后、C 组及 B 组比较均无显著差异( $P > 0.05$ ); B 组术前显著低于 C 组( $P < 0.05$ );

(3) CD8<sup>+</sup>: A 组术前显著高于 C 组、B 组术前及 A 组、B 组术后( $P < 0.05$ ); B 组术前显著低于 C 组( $P < 0.05$ ); A 组术后第 10 d 与术后第 17 d 比较无显著差异( $P > 0.05$ );

(4) CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值: A 组术前显著低于 C 组、B 组术前及 A 组术后第 17 d( $P < 0.05$ )。

异( $P > 0.05$ ), 但 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值明显降低, 这主要是由 CD8<sup>+</sup> 的明显增高所致。由于在肿瘤免疫中, CD8<sup>+</sup> 中起免疫抑制作用的调节性 T 细胞的活性增加<sup>[3]</sup>, 因此, 我们认为, 术前中晚期肺癌患者免疫功能障碍主要表现为机体免疫抑制作用的增强, 能否去除引起免疫抑制的因素是恢复中晚期肺癌患者免疫平衡的关键。

本实验 A 组 20 例中晚期肺癌, 术后第 10 d 及第 17 d CD3<sup>+</sup> 细胞均较术前明显增加, CD8<sup>+</sup> 细胞明显减少, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值在术后第 17 d 也较术前明显增加。说明患者术后 T 淋巴细胞亚群的失衡状况获得

改善, 机体免疫平衡有所恢复。吴一龙等<sup>[4]</sup>报道, 肿瘤切除术后, 能有效地解除患者 T 淋巴细胞集落形成能力受抑制的情况, 这与本研究中晚期肺癌患者术后 CD<sub>3</sub><sup>+</sup> 细胞明显增高的结果相一致。我们注意到, 本组中晚期肺癌患者 CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 细胞手术前后变化不明显 ( $P < 0.05$ ), 而 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 术后明显减少, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值在术后明显增加。因此, 患者术后 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值增加主要是 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 细胞显著降低的结果。说明肿瘤切除术后, 免疫抑制细胞减少。患者术后免疫功能的恢复主要是机体免疫抑制的解除所致。提示外科手术切除肿瘤有效降低癌负荷后, 可以有效解除患者的免疫抑制, 恢复机体内在的免疫平衡, 改善患者的免疫功能。

随着免疫学, 内科学及移植学的发展, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞日益受到重视。近期的研究表明, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞不仅是细胞毒性效应 T 细胞, 而且也是具有免疫抑制作用的调节性 T 细胞。CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 调节性 T 细胞在生理条件下对机体自身稳态的维持, 以及在某些疾病和肿瘤等病理状态下都起着较为重要的作用<sup>[5]</sup>。Gilberto 等<sup>[6]</sup>的研究也证明 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞有 CD<sub>28</sub><sup>+</sup> 和 CD<sub>28</sub><sup>-</sup> 两个亚群, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> CD<sub>28</sub><sup>+</sup> 是具有细胞毒性的 T 淋巴细胞, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> CD<sub>28</sub><sup>-</sup> 则是具有免疫抑制作用的调节性 T 细胞。在肿瘤免疫中, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> CD<sub>28</sub><sup>+</sup> 与肿瘤直接接触, 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<sup>[7,8]</sup>, 同时它还可能通过释放一些细胞因子诱导靶细胞的凋亡<sup>[9]</sup>。然而, Hartmann 等<sup>[3]</sup>发现在实体瘤的患者中淋系树突状细胞 (PDCs) 浸润至肿瘤局部, 但肿瘤细胞却抑制 PDCs 分泌 IFN $\alpha$  的能力。由于缺乏 PDCs 的适度作用, 导致 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> CD<sub>28</sub><sup>-</sup> 调节性 T 细胞的活性增加, 这也是肿瘤免疫中 T 细胞介导的抗肿瘤作用减低的机制之一。

中晚期肺癌手术治疗的意義尚在探讨阶段。随着对肺癌围手术期处理的重视及外科技术水平的发展, 肺癌手术死亡率及并发症率明显减少, 中晚期肺癌获得手术治疗机会增加。扩大手术及减量性手术逐渐引起人们的重视。现代的肿瘤外科观念认为外科治疗成功与否不是取决于是否切除了患者体内所有的癌细胞, 而是取决于能否改善患者的抗肿瘤能力<sup>[10]</sup>。

有研究显示手术创伤对机体的免疫功能有一定的损害, 主要表现为 T 淋巴细胞亚群异常, CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>

及 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值明显下降, 但持续时间较短, 一般 1 周左右可明显恢复<sup>[11,12]</sup>。本实验发现原已存在严重免疫功能障碍的中晚期肺癌患者, 术后 10 d 其免疫功能明显改善, 并未显示进一步的损害。本研究的结果为中晚期肺癌的手术治疗提供了一定的免疫学依据。当然, 如手术治疗不能使肿瘤负荷有效减少, 或者预计患者的身体条件难于承受手术的创伤, 手术治疗应慎重考虑。

#### [参 考 文 献]

- [1] Nacon WR, Salhany KE. T- cell subset analysis of peripheral T- cell lymphomas by paraffin section immunohistology and correlation of CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> results with flow cytometry [J]. Am J Clin Pathol, 1998, 109(5): 610- 617.
- [2] Ginns LC, Goldenheim PD, Miller LG, et al. T- lymphocyte subsets in smoking and lung cancer: Analysis of monoclonal antibodies and flow cytometry [J]. Am Rev Respir Dis, 1982, 126(2): 265- 269.
- [3] Hartmann E, Wollenberg B, Rothenfusser S, et al. Identification and functional analysis of tumor infiltrating plasmacytoid dendritic cells in head and neck cancer [J]. Cancer Res, 2003, 63(19): 6478- 6487.
- [4] 吴一龙, 李扬秋, 戎铁华. 肺癌组织培养液和病人血清对自身 T 淋巴细胞集落形成能力的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 1993, 9(2): 174- 176.
- [5] 张 伟. CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞的调节性特性 [J]. 国外医学: 免疫学分册, 2004, 24(4): 193- 197.
- [6] Gilberto F, Nicole SF. CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T suppressor cells are back to the game: are they players in autoimmunity? [J]. Autoimmunity Reviews, 2002, 1(5): 279- 283.
- [7] 韩少荣, 汪森明. 双特异性抗体与 T 淋巴细胞抗肿瘤免疫 [J]. 国外医学: 肿瘤学分册, 1998, 25(5): 268- 271.
- [8] 杨 帆, 丁仁瑞. 肿瘤抗原肽及 CTL 杀伤机理的研究进展 [J]. 中国肿瘤, 1999, 8(5): 220- 222.
- [9] 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: 肿瘤学分册, 1999, 26(3): 134- 136.
- [10] Morton DL. Changing concepts of cancer surgery: surgery as immunotherapy [J]. Am J Surg, 1978, 135(3): 367- 371.
- [11] 刘荫华, 李 通, 王文治. 外科手术对外周血 T 淋巴细胞亚类的影响 [J]. 北京医科大学学报, 1996, 28(1): 65- 66.
- [10] 李求是, 杨贵贞. 手术应激介导免疫抑制效应及其可能机理的实验性研究 [J]. 中华实验外科杂志, 1985, 2(4): 163- 166.