

临床研究

局部注射 IL-2 联合化疗对口腔鳞癌浸润淋巴细胞的影响

唐恩溢 胡勤刚 周炳荣 杨旭东

【摘要】 目的 评价 IL-2 局部注射联合化疗对口腔鳞癌局部免疫反应的影响。方法 34 例 T3、T4 期口腔鳞癌患者随机分成 2 组接受术前治疗,其中 23 例行免疫化疗(IL-2 局部注射合并 PVP 化疗),11 例行单纯化疗。比较 2 组患者治疗前后肿瘤浸润 T 淋巴细胞亚群和 B 淋巴细胞的变化。结果 免疫化疗组治疗前后 CD4⁺, CD8⁺, CD20⁺ 相对值分别为 36.96, 35.65, 28.65 和 56.61, 38.52, 38.70。治疗后 CD4⁺, CD20⁺ 细胞数较治疗前明显增加 ($P < 0.01$)。单纯化疗组治疗前后 CD4⁺, CD8⁺, CD20⁺ 细胞数均无显著差异 ($P > 0.05$)。结论 IL-2 局部注射联合化疗对增强口腔鳞癌患者局部免疫功能具有重要意义。

【关键词】 免疫化疗; 口腔鳞癌; 淋巴细胞

Effect of Local Immunotherapy of Interleukin 2 (IL-2) in Combination with Chemotherapy upon Intratumoral Lymphocytes in Oral Squamous Cell Carcinomas

TANG Enyi, HU Qingang, ZHOU Bingrong, et al. (Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Affiliated Stomatology Hospital, Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the effect of locoregional immunotherapy of interleukin 2 (IL-2) in combination with chemotherapy upon intratumoral lymphocytes in oral squamous cell carcinomas. **Methods** Thirty-four patients with stage T3 or T4 oral squamous cell carcinoma were randomly divided into two groups, and treated with two therapies. 23 cases of them received immunochemotherapy and 11 cases received PVP chemotherapy. Changes of T lymphocyte subsets and B cells at tumor site in the two groups were compared before and after therapy. **Results** The relative numbers of CD4⁺, CD8⁺, CD20⁺ before and after treatment in immunochemotherapy were respectively 36.96, 35.65, 28.65 and 56.61, 38.52, 38.70. The numbers of CD4⁺, CD20⁺ increased significantly after immunochemotherapy. However, in chemotherapy group, there was no significant difference in numbers of CD4⁺, CD8⁺ and CD20⁺ cells between pre and post treatment. **Conclusion** Immunochemotherapy for oral squamous cell carcinomas may play an important role in increasing local immunity.

【Key words】 immunochemotherapy; oral squamous cell carcinoma; lymphocyte

口腔癌患者的细胞免疫功能早期就受损害,再加上手术、放疗及化疗等,又会导致机体免疫功能的进一步下降。有研究显示,在化疗的同时,局部应用生物反应调节剂(BRM)不仅可提高机体的免疫功能,还可减少化疗药物对机体的损害,起到互补杀瘤的作用¹。本研究采用 IL-2 局部注射联合化疗治疗 34 例 T3、T4 期口腔鳞癌患者,观察治疗前后患者 T 淋巴细胞亚群和 B 细胞的变化,并与单纯诱导化疗进行对照,评价免疫化疗对肿瘤局部免疫的影响,为临床应

用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象及分组

选择 1999 年 5 月~2002 年 5 月在南京大学医学院口腔医院住院治疗的 34 例口腔鳞癌患者为研究对象。其中男性 21 例,女性 13 例,年龄 36~73 岁;舌癌 13 例,颊癌 14 例,口底癌 7 例。纳入患者要求:经病理证实为初发的 T3、T4 期口腔鳞癌患者;均经临床及实验室常规检查,无化疗禁忌症。34 例患者随机分成免疫化疗组和单纯化疗组。免疫化疗组 23 例行免疫化疗,单纯化疗组 11 例行单纯化疗。

1.2 治疗方案

免疫化疗组:采用顺铂(CDDP) 90 mg/m² + 长春新碱(VCR) 1.14 mg/m² + 平阳霉素(PYM) 80 mg/m² 化疗,同时将 rIL-2 2000 u + 0.5 ml 生理盐水分 4 点行瘤内、瘤周注射,每日 1

本课题为南京市市级医学科技发展专项资金资助项目(编号 ZK0818)

作者单位:210008 南京大学医学院附属口腔医院 南京市口腔医院口腔颌面外科

次,共 10 次。单纯化疗组:只采用顺铂(CDDP) 90 mg/m² + 长春新碱(VCR) 1.14 mg/m² + 平阳霉素(PYM) 80 mg/m²,每日 1 次,共 10 次。CDDP 静脉滴注时均行水化利尿。

1.3 肿瘤取材

两组患者治疗前,均在原发灶局部分别切取 1.0 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 的组织块;治疗结束后第 3 周,行手术治疗,在手术切除的标本中切取同样大小的组织块。所有组织块均中性福尔马林固定,常规包埋后备用。

1.4 试剂

鼠抗人的 CD4⁺、CD8⁺、CD20⁺ 单克隆抗体(北京中山生物技术公司),免疫组化 SP 染色试剂盒(北京中山生物技术公司)。

1.5 免疫组化 SP 染色

石蜡切片,常规脱蜡至水;3%过氧化氢孵育 5 min;蒸馏水冲洗,PBS 浸泡 5 min;滴加封闭用正常血清工作液,室温孵育 10 min;加一抗,37 孵育 2 h;PBS 冲洗 3 次;加二抗,37 孵育 15 min;PBS 冲洗 3 次;加辣根酶标记链霉卵白素,37 孵育 15 min;PBS 冲洗 3 次;DAB 显色,冲洗,复染,封片。

1.6 SP 免疫组化阳性细胞计数

在癌巢周围间质随机选 5 个高倍视野(×400)采用图像分析系统对免疫化疗组和单纯化疗组治疗前后 CD4⁺、CD8⁺、CD20⁺ 阳性细胞进行计数(阳性细胞呈棕黄色),取均值代表细胞相对值;SPSS 统计软件作 *t* 检验。

2 结 果

2.1 治疗前后肿瘤组织内 T 淋巴细胞亚群的检测结果

两组患者治疗前后肿瘤组织内 T 淋巴细胞亚群的检测结果,见表 1。从表 1 可见,免疫化疗组治疗后 CD4⁺ 细胞数较治疗前明显增加,两者间有极显著性差异($P < 0.01$) (图 1、2),治疗后 CD8⁺ 细胞数较治疗前有所增加,但无显著性差异($P > 0.05$);而单纯化疗组,治疗前 CD4⁺、CD8⁺ 与治疗后相比均无显著性差异($P > 0.05$)。

表 1 两组患者治疗前后 T 淋巴细胞亚群的细胞相对值 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab 1 The relative numbers of T lymphocyte subsets before and after treatment($\bar{x} \pm s, \%$)

| 组别 | 例数 | 治疗前 | | 治疗后 | |
|-------|----|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | CD4 ⁺ | CD8 ⁺ | CD4 ⁺ | CD8 ⁺ |
| 免疫化疗组 | 23 | 36.96 ± 7.88 | 35.65 ± 11.93 | 56.61 ± 13.69** | 38.52 ± 12.57* |
| 单纯化疗组 | 11 | 36.91 ± 11.48 | 37.00 ± 14.59 | 37.64 ± 11.97* | 35.09 ± 15.16* |

注: ** $T = 5.968 P < 0.01$ * $T = 0.794 P > 0.05$

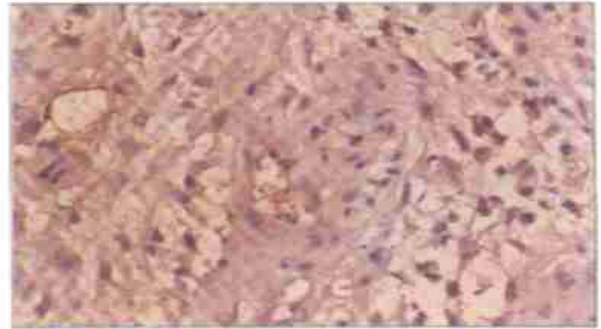


图 1 治疗前肿瘤组织中 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺ 的表达 免疫组化 SP 法 ×400

Fig 1 Expression of T lymphocyte subsets CD4⁺ before treatment immunohistochemistry SP method ×400

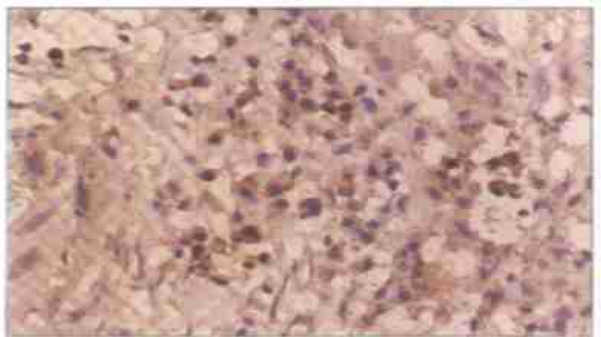


图 2 免疫化疗后肿瘤组织中 CD4⁺ 细胞数明显增加 免疫组化 SP 法 ×400

Fig 2 The numbers of CD4⁺ increased significantly after immunotherapy immunohistochemistry SP method ×400

2.2 治疗前后肿瘤组织内 B 淋巴细胞 CD20⁺ 的检测 结果

两组患者治疗前后肿瘤组织内 B 淋巴细胞 CD20⁺ 的检测 结果,见表 2。从表 2 可见,免疫化疗组 治疗后 CD20⁺ 细胞数较治疗前明显增加,两者间有 极显著性差异($P < 0.01$) (图 3、4);而单纯化疗组 治疗后 CD20⁺ 细胞数与治疗前相比无显著性差异($P > 0.05$)。

表 2 两组患者治疗前后 CD20⁺ 细胞的相对值 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab 2 The relative numbers of CD20⁺ before and after treatment($\bar{x} \pm s, \%$)

| 组别 | 例数 | 治疗前 CD20 ⁺ | 治疗后 CD20 ⁺ |
|-------|----|-----------------------|-----------------------|
| 免疫化疗组 | 23 | 28.65 ± 10.06 | 38.70 ± 8.92** |
| 单纯化疗组 | 11 | 30.55 ± 6.80 | 27.55 ± 6.20* |

注: ** $T = 3.581 P < 0.01$ * $T = 1.081 P > 0.05$

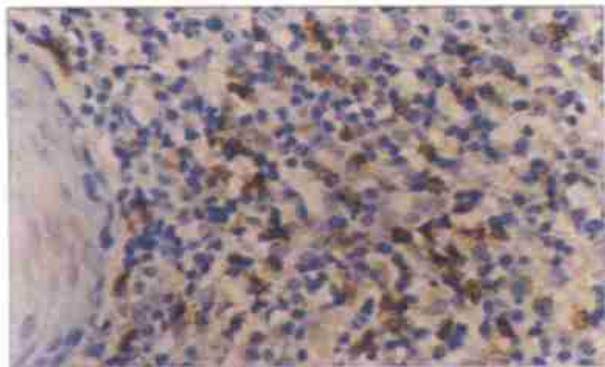


图 3 治疗前肿瘤组织中 B 淋巴细胞 CD20⁺ 的表达 免疫组化 SP 法 ×400

Fig 3 Expression of CD20⁺ before treatment immunohistochemistry SP method ×400

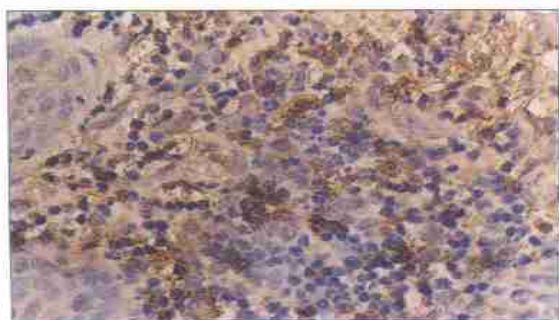


图 4 免疫化疗后肿瘤组织中 CD20⁺ 细胞数明显增加 免疫组化 SP 法 ×400

Fig 4 The numbers of CD20⁺ increased significantly after immunotherapy immunohistochemistry SP method ×400

3 讨 论

肿瘤的发生发展与宿主的免疫水平密切相关,尤其是细胞免疫在机体免疫监视和抗肿瘤免疫中起重要的作用,而 T 淋巴细胞起着中心调控作用。T 淋巴细胞数目减少,功能障碍或其亚群比例失调,就必然导致宿主抗肿瘤免疫功能下降。有研究证实,肿瘤局部淋巴细胞特别是 T 淋巴细胞的浸润程度与肿瘤的分化和分期呈负相关,与患者的预后相关^{2,3}。CD4⁺ (辅助诱导性 T 细胞) 和 CD8⁺ (抑制细胞毒 T 细胞)

是 T 淋巴细胞两大亚群,其数量、比例的相对变化,能够反映机体的细胞免疫功能状态。以往的研究表明,口腔鳞癌患者的 CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ 比例都有不同程度的下降。本研究中,免疫化疗组 CD4⁺ 细胞数较治疗前明显增加 ($P < 0.01$), CD8⁺ 细胞数有所增加 ($P > 0.05$),内源性 T 细胞对自体肿瘤有较高的特异性杀伤活性。由此可见:免疫化疗后,患者的 T 细胞被激活,机体的细胞免疫功能明显增强。

IL-2 除了具有促进 T 细胞增殖的功能外,还能刺激 B 细胞增殖,并使 B 细胞分化为产生免疫球蛋白的细胞。本研究中,免疫化疗组较单纯化疗组 B 细胞数明显增加 ($P < 0.01$),表明免疫化疗后, B 细胞被诱导增殖,增殖的 B 细胞有可能进一步分化为产生抗体的细胞,增强机体的体液免疫功能。

IL-2 作为生物反应调节剂较早应用于恶性肿瘤的治疗,单纯 IL-2 免疫治疗,其治疗效果受到机体肿瘤细胞数量的限制⁴。笔者将 IL-2 免疫治疗与化疗联合应用(化疗药物宜选择抑制免疫反应较轻的药物),二者可产生协同杀瘤作用。本研究中,单纯化疗组患者使用化疗药物后 CD4⁺、CD8⁺ 以及 B 细胞 CD20⁺ 变化不明显 ($P > 0.05$),表明所采用 PVP 方案对患者局部免疫反应影响较小。

参考文献

- 1 胡勤刚,邱蔚六,沈言备,等. 免疫化疗对口腔鳞癌浸润 T 淋巴细胞及其亚群的影响. 上海口腔医学, 1997, 6(3): 148-150
- 2 陆东辉,汪说之,苏倩倩. 单克隆抗体对口腔鳞状细胞癌浸润的 T 淋巴细胞及其亚群免疫组化研究. 中华口腔医学杂志, 1992, 27(1): 24-36
- 3 Pastrnak A, Jansa P. Tumor-infiltrating cells and their possible prognostic significance. Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med, 1989, 124: 7-71
- 4 陆昌语,王济民,殷德民,等. 链球菌-722 免疫治疗口腔鳞状细胞癌. 中华口腔医学杂志, 1990, 25(4): 213-215

(2003-01-22 收稿, 2003-09-02 修回)

(本文编辑 邓本姿)

《华西口腔医学杂志》被 MEDLINE 数据库收录

MEDLINE 数据库是美国国立医学图书馆 MEDLARS 系统中规模最大、权威性最高的著名医学文献数据库。内容涉及医学、护理学、牙科学、兽医学、卫生保健和基础医学,收录了全世界 70 多个国家和地区的 4000 余种生物医学期刊。《华西口腔医学杂志》是目前被 MEDLINE 数据库收录的少数中文口腔医学专业期刊之一。