

射频消融治疗对原发性肝癌患者 T 细胞免疫功能的影响^{*}

苗同国 王立静 马立伟 陈午盛 邵明亮 段玉松 穆永旭^{**①}

(石家庄市第五医院介入科, 石家庄 050021)

【摘要】 目的 探讨射频消融(radio frequency ablation, RFA)前后原发性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)患者 T 细胞亚群的变化。 **方法** 采用流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测 2011 年 1 月~2013 年 6 月 40 例 PHC 患者 RFA 术前 24 h 与术后 1 周、4 周时外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞的变化;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 Th1 型细胞因子(IL-2、IFN- γ 、TNF- α)含量。选择 40 例健康志愿者作为对照组。 **结果** 术前肝癌患者外周血 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺明显低于健康对照组, CD8⁺、Treg 细胞明显高于健康对照组($P < 0.01$);肝癌患者 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 明显低于健康对照组($P < 0.01$)。术后 1 周,肝癌患者 CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺与术前相比均无统计学意义($P > 0.05$),术后 4 周 CD3⁺、CD4⁺明显升高, CD8⁺明显降低($P < 0.05$);Treg 细胞术后 1 周、4 周与术前比较均明显降低($P < 0.01$)。RFA 治疗 1 周、4 周 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 较治疗前均明显升高($P < 0.01$)。 **结论** 射频消融可以改善肝癌患者短期内的 T 淋巴细胞功能,促进 Th1 型细胞因子分泌,从而对原发性肝癌患者的免疫状况产生有益的影响。

【关键词】 原发性肝癌; 射频消融; T 细胞亚群; Th1 型细胞因子; 细胞免疫功能

文献标识:A 文章编号:1009-6604(2016)06-0538-04

doi:10.3969/j.issn.1009-6604.2016.06.017

Influence of Radio Frequency Ablation on T Lymphocyte Subsets in Patients with Primary Liver Cancer Miao Tongguo, Wang Lijing, Ma Liwei, et al. Department of Interventional Radiology, Fifth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050021, China
Corresponding author: Mu Yongxu, E-mail: myx6738@sohu.com

【Abstract】 Objective To investigate changes of T lymphocyte subsets in patients with primary hepatocellular carcinoma (PHC) after radio frequency ablation (RFA). **Methods** A total of 40 patients with pathologically-proved PHC (study group) were enrolled in our study during the period from January 2011 to June 2013. Peripheral blood CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T cells as well as CD4⁺/CD8⁺, CD4⁺ CD25⁺ Treg cells were determined 24 h before RFA and at 1 and 4 weeks after RFA in all the patients by using flow cytometry assay. Serum Th1 type cytokines (IL-2, IFN- γ , TNF- α) were analyzed by ELISA assay. Another 40 healthy volunteers were collected and used as the control group. **Results** As compared to the control group, the CD3⁺, CD4⁺ T cells, CD4⁺/CD8⁺, IL-2, IFN- γ and TNF- α in the study group were significantly lower while CD8⁺ T cells and CD4⁺ CD25⁺ Treg cells were higher ($P < 0.01$) 24 h before RFA. As compared to 24 h before RFA, the peripheral T lymphocyte subsets CD3⁺, CD8⁺ T cells and CD4⁺/CD8⁺ at 1 week after RFA had no statistically changes in the study group ($P > 0.05$), while after 4 weeks CD3⁺, CD4⁺ T cells were significantly increased and CD8⁺ T cells significantly decreased ($P < 0.05$). The Treg cells were obviously reduced at 1 week and 4 weeks after RFA ($P < 0.01$). Additionally, serum IL-2, IFN- γ and TNF- α levels in the study group raised significantly after 1 week and 4 weeks ($P < 0.01$). **Conclusion** RFA can improve immune functions of T lymphocytes and promote secretion of Th1 type cytokines, which benefits the immune functions against primary hepatocellular carcinoma.

【Key Words】 Primary hepatocellular carcinoma; Radio frequency ablation; T lymphocyte subsets; Th1 type cytokines; Cellular immune function

* 基金项目:河北省卫生厅科研基金项目(ZD20140284)

** 通讯作者, E-mail: myx6738@sohu.com

① (包头医学院第一附属医院介入科, 包头 014010)

2.2 RFA 治疗前后肝癌患者外周血 T 细胞亚群的变化

见表 2。与术前比较,术后 1 周肝癌患者 CD3⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 无统计学意义 ($P >$

0.05);术后 4 周,CD3⁺、CD4⁺ 明显升高,CD8⁺ 明显降低 ($P < 0.05$);Treg 细胞术后 1 周、4 周与术前比较均明显降低 ($P < 0.01$)。

表 2 RFA 治疗前后肝癌患者外周血 T 细胞亚群的变化 ($n = 40, \bar{x} \pm s$)

时间	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	Treg
术前 24 h①	56.05 ± 9.32	28.12 ± 3.36	26.04 ± 3.25	1.17 ± 0.35	10.20 ± 2.15
术后 1 周②	54.35 ± 3.43	26.65 ± 2.35	25.43 ± 3.16	1.16 ± 0.51	8.41 ± 1.53
术后 4 周③	59.78 ± 5.26	33.71 ± 2.81	22.17 ± 4.20	1.27 ± 0.13	7.18 ± 1.26
t_{1-2}, P 值	1.083, 0.282	2.267, 0.026	0.857, 0.397	0.102, 0.919	4.290, 0.000
t_{1-3}, P 值	-2.204, 0.030	-8.070, 0.000	4.609, 0.000	-1.694, 0.094	7.665, 0.000

2.3 RFA 治疗前后肝癌患者血清 Th1 型细胞因子含量比较

见表 3。治疗 1 周和 4 周后肝癌患者 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 含量较术前明显升高 ($P < 0.01$)。

癌远端组织。研究^[10,11]显示肝癌患者 Treg 细胞比例明显高于正常人群,而淋巴细胞总数偏低,同样提示肝癌患者存在不同程度的免疫抑制。因此,通过测定这些淋巴细胞亚群数目可从侧面反映肿瘤患者免疫状态。

本研究结果显示,与健康对照组相比,肝癌患者存在细胞免疫功能紊乱,表现为外周血 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平明显降低,Treg 细胞明显升高,提示肝癌患者的细胞免疫功能稳态处于明显抑制水平。40 例原发性肝癌患者射频消融治疗 4 周后,T 细胞亚群及 Treg 细胞产生了明显和积极的变化,与治疗前相比,均有显著性差异,一定程度上说明射频消融治疗可以在短时间内使机体细胞免疫功能有所改善,在抗肿瘤治疗中对肝癌患者是有益的。

癌变过程中,CD4⁺ T 细胞被激活并向 4 种方向发生极化,即 Th1、Th2、Th17 和 Treg 细胞。多数研究^[12-14]认为机体的抗肿瘤作用以 Th1 介导的细胞免疫为主,其与抗肿瘤免疫效果有关,而 Treg 细胞则发挥相反的抑制作用,特别是在肿瘤晚期,Treg 细胞在肿瘤局部富集,加速肿瘤的进展。因此,对于肿瘤的预防和治疗,原则上应优先考虑应用多种手段促进 Th1 细胞极化和功能激活。RFA 治疗后可以导致 Th1 型细胞因子明显增多,促进 Th0 向 Th1 偏移,从而增强机体抗肿瘤细胞免疫功能。本研究结果显示 RFA 后 1 周 Th1 型细胞因子分泌明显增多,说明 RFA 可以在短期内激活 Th1 型免疫,并持续至术后 4 周。

本研究结果显示,RFA 在改善肿瘤患者的免疫抑制状态上发挥了积极有益的作用,不但促进 Th1 型细胞因子的表达,进而促进细胞毒性 T 细胞的分化和杀伤作用,而且抑制 Treg 细胞导致的免疫抑制状态,以产生有效的抗肿瘤免疫。(下转第 543 页)

表 3 RFA 治疗前后肝癌患者血清 Th1 型细胞因子含量比较 ($n = 40, \bar{x} \pm s$)

时间	IL-2	IFN- γ	TNF- α
术前 24 h①	86.14 ± 7.53	38.62 ± 6.28	62.35 ± 7.21
术后 1 周②	96.52 ± 3.27	51.05 ± 3.70	74.04 ± 6.89
术后 4 周③	100.39 ± 11.94	53.73 ± 5.26	78.38 ± 5.85
t_{1-2}, P 值	-7.977, 0.000	-10.785, 0.000	-7.414, 0.000
t_{1-3}, P 值	-6.385, 0.000	-11.666, 0.000	-10.919, 0.000

3 讨论

针对 PHC 的基础和临床研究一直是肿瘤学科研究的重点和热点。加强对机体免疫状态的监测,对于肝癌患者病情评估、临床诊疗方案的制定、完善肝癌治疗模式和提高疗效具有重要作用^[4]。机体免疫功能与肿瘤的发生、发展及转归关系密切,其中 T 细胞在机体抗肿瘤的免疫调节中起着举足轻重的作用^[5]。

CD3⁺ 细胞代表成熟的 T 淋巴细胞,是细胞免疫中主要的活性细胞。可分为 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞 2 个亚群。在正常情况下,淋巴细胞亚群中 CD4⁺ 细胞和 CD8⁺ 细胞处于一个相对稳定平衡状态,维持机体免疫功能。但在癌症患者,机体免疫力常遭到不同程度的破坏,表现为 CD4⁺/CD8⁺ 比值下降^[6],抗肿瘤作用减弱,以致有利于肿瘤的发生、发展。Treg 细胞是近年发现的非常重要的免疫负调节性细胞^[7],能抑制抗肿瘤效应细胞的活化和增殖,与肿瘤免疫逃逸有关^[8]。Yang 等^[9]分析 25 例肝细胞肝癌的肝组织,观察到癌旁组织的 Treg 细胞比例高于

参考文献

1 Lencioni R, Cioni D, Donati F, et al. Combination of interventional therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepato-gastroenterology*, 2001, 48(37): 8 – 14.

2 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011 版). 临床肝胆病杂志, 2011, 27(11): 1141 – 1159.

3 郑加生, 徐克, 腾皋军, 等. 经皮肝脏肿瘤射频消融治疗操作规范专家共识. 中华放射学杂志, 2012, 46(7): 581 – 585.

4 O' Beirne JP, Harrison PM. The role of the immune system in the control of hepatocellular carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2004, 16(12): 1257 – 1260.

5 王志利, 张跃伟, 徐丹凤. 射频消融治疗肝癌后机体免疫功能变化的研究进展. 当代医学, 2012, 18(14): 24 – 25.

6 Cho Y, Miyamoto M, Kato K, et al. CD4⁺ and CD8⁺ T cells cooperate to improve prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res*, 2003, 63(7): 1555 – 1559.

7 Chen X, Du Y, Huang Z. CD4⁺ CD25⁺ Treg derived from hepatocellular carcinoma mice inhibit tumor immunity. *Immunol Lett*, 2012, 148(1): 83 – 89.

8 Delhem N, Carpentier A, Morales O, et al. Regulatory T-cells and hepatocellular carcinoma: implication of the regulatory T

lymphocytes in the control of the immune response. *Bull Cancer*, 2008, 95(12): 1219 – 1225.

9 Yang XH, Yamagiwa S, Ichida T, et al. Increase of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T-cells in the liver of patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2006, 45(2): 254 – 262.

10 陈中, 晏建军, 黄亮, 等. 肝癌微环境中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞与 T 细胞免疫的关系. 临床肝胆病杂志, 2008, 24(1): 38 – 40.

11 Zhao F, Korangy F, Greten TF. Cellular immune suppressor mechanisms in patients with hepatocellular carcinoma. *Dig Dis*, 2012, 30(5): 477 – 482.

12 Yan-bin Wang, Wei-Guo Xu, He-liang Liu, 等. Effects of Radiofrequency Ablation on Lymphocyte Subsets and Tpe1/ Tpe2 T Cell Subpopulations in Patients with Hepatocellular Carcinoma. 中国癌症研究(英文版), 2009, 21(4): 310 – 317.

13 Armeanu S, Krusch M, Baltz KM, et al. Direct and natural killer cell-mediated antitumor effects of low-dose bortezomib in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(11): 3520 – 3528.

14 李刚, 寸英丽, 杨丽春. 肝癌患者射频消融后血清 Th1、Th2 型细胞因子的变化. 肝胆胰外科杂志, 2010, 22(2): 94 – 96.

(收稿日期: 2015 – 12 – 22)

(修回日期: 2016 – 03 – 22)

(责任编辑: 王惠群)