

- 顺铂同步化疗治疗Ⅲ期非小细胞肺癌的临床研究[J]. 实用癌症杂志, 2008, 23(6): 609-612.
- [2] ZATLOUKAL P, PETRUZELKA L, ZEMANOVA M, et al. Concurrent versus sequential chemoradiotherapy with cisplatin and vinorelbine in locally advanced non-small cell lung cancer: a randomized study[J]. Lung Cancer, 2004, 46(1): 87-98.
- [3] FOUMEL P, ROBINET G, THOMSAS P, et al. Randomized phase III trial of sequential chemoradiotherapy compared with concurrent chemoradiotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(25): 5859-5861.
- [4] 李玉亮, 王永正, 张福君. CT 引导下经皮穿刺植入<sup>125</sup>I 粒子治疗老年中心型肺癌近期疗效分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2007, 14(23): 1818-1820.
- [5] 崔亚利, 杨光, 王颖. CT 引导下经皮穿刺植入放射性<sup>125</sup>I 粒子治疗肺癌的临床评价[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2008, 42(4): 400-402.
- [6] 曹培国, 阳月新, 姚志平, 等. 亚高温局部热疗对恶性肿瘤患者免疫功能的影响[J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12(6): 450-452.
- [7] WESTERMANN A M, GROSEN E A, KATSCHINSKI D M, et al. A pilot study of whole body hyperthermia and carboplatin in platinum-resistant ovarian cancer[J]. Eur J Cancer, 2001, 37(9): 1111-1117.
- (收稿日期: 2009-08-10 编辑: 庄晓文)

## 索拉非尼治疗前后原发性肝癌患者外周血 T 淋巴细胞和 NK 细胞的变化及临床意义

彭大为, 黄仕思

海南省海口市人民医院肿瘤中心(570208)

**【摘要】 目的** 观察索拉非尼治疗对原发性肝癌患者免疫状况的影响。**方法** 采用流式细胞仪测定治疗前原发性肝癌患者与健康人外周血中 T 淋巴细胞(CD3<sup>+</sup>)及其亚群(CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>)和 NK 细胞(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)的差别,并将索拉非尼治疗前后原发性肝癌患者外周血淋巴细胞的水平进行对比分析。**结果** 治疗前原发性肝癌患者较健康人外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、NK 细胞下降( $P < 0.05$ ), CD8<sup>+</sup>则上升( $P < 0.05$ )。而索拉非尼治疗后原发性肝癌患者外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、NK 细胞有上升, CD8<sup>+</sup>则下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 原发性肝癌患者细胞免疫功能低下,索拉非尼为多靶点抗肿瘤药物,对原发性肝癌有效,在多环节阻断肿瘤信号传导的同时可以改善患者的免疫状况,索拉非尼治疗原发性肝癌从免疫学角度考虑有效可行,对原发性肝癌患者的免疫功能恢复起到了一定的作用。

**【关键词】** 索拉非尼; 原发性肝癌; 外周血 T 淋巴细胞; NK 细胞

原发性肝癌(PLC)的发生与发展与机体的免疫状态密切相关。一般认为,实体肿瘤的抗肿瘤免疫机制主要与细胞免疫有关。细胞免疫可分为特异性细胞免疫与非特异性的细胞免疫,前者主要涉及 T 淋巴细胞,后者涉及 NK 细胞、单核细胞和巨噬细胞。T 淋巴细胞和 NK 细胞是机体抵抗肿瘤细胞生长的第一道防线<sup>[1]</sup>。索拉非尼(Sorafenib)具有双重抗肿瘤效应,一方面,它可以通过抑制 RAF/MEK/ERK 信号传导通路,直接抑制肿瘤生长;另一方面,它又可通过抑制 VEGFR 和 PDGF 而阻断肿瘤新生血管的形成,间接抑制肿瘤细胞的生长。本研究采用流式细胞仪检测 21 例索拉非尼治疗前后的晚期原发性肝癌外周血 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞,以探讨索拉非尼治疗对原发性肝癌免疫功能的影响。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** (1)观察组:病例来源于 2007 年 1 月至 2009 年 5 月在海口市人民医院肿瘤中心住院的中晚期原发性肝癌患者,已失去手术、介入等治疗机会的患者 21 例,其中男 15 例,女 6 例,年龄 35~62 岁,中位年龄 49 岁。给予 8 周索拉非尼治疗,具体为索拉非尼

400 mg/次,2 次/d,连续服用 4 周。4 周后抽血检测外周血 T 淋巴细胞和 NK 细胞。(2)对照组:健康人 20 例,其中男 15 例,女 5 例,年龄 29~55 岁,中位年龄 46 岁。

**1.2 主要仪器与试剂** 流式细胞仪 FACSaliur(美国 BD 公司), CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD16<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup> 单克隆抗体均为美国 BD Pharmingen 产品。

**1.3 方法** 受试对象均在研究开始时和(或)8 周后分别抽取静脉血 2 mL,肝素抗凝。使用直接免疫荧光标记全血溶血法,流式细胞仪测定肿瘤患者外周血淋巴细胞亚群。取 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD16<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup> 各种荧光标记单克隆抗体 10 μL 放入试管中,分别加入血 50 μL,混匀、避光、室温放置 20 min,离心 1 000 r/min,5 min,弃去上清液。加 2 mL PBS 洗涤,离心 1 000 r/min,5 min,弃去上清液。加 1% 多聚甲醛 0.3 mL,上机检测。

**1.4 统计学方法** 用 SPSS 10.0 统计软件行  $t$  检验。

### 2 结果

**2.1 索拉非尼治疗前原发性肝癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞水平与对照组的比较** 与对照组

相比,原发性肝癌患者外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、NK 细胞明显下降,CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞上升,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值下降,经两样本 *t* 检验,以上各项指标的差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 治疗前原发性肝癌患者与健康对照组外周血淋巴细胞水平的比较  $\bar{x} \pm s$

组别	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	NK
对照组	67.18 ± 6.85	37.52 ± 4.95	27.22 ± 6.46	1.48 ± 0.46	22.83 ± 10.94
观察组	60.76 ± 10.22	31.23 ± 9.82	31.89 ± 9.06	1.03 ± 0.63	16.04 ± 5.61

2.2 索拉非尼治疗前后原发性肝癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞的比较 与治疗前相比,给予索拉非尼治疗后晚期原发性肝癌患者外周血中 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、NK 细胞均明显回升,经两样本 *t* 检验,以上各项指标的差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 原发性肝癌索拉非尼前后外周血淋巴细胞比较  $\bar{x} \pm s$

项目	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	NK
治疗前	60.76 ± 10.22	31.23 ± 9.82	31.89 ± 9.06	1.03 ± 0.63	16.04 ± 5.61
治疗后	76.24 ± 4.78	41.97 ± 6.19	23.59 ± 3.02	1.91 ± 0.46	23.29 ± 9.84

### 3 讨论

机体抗肿瘤免疫包括细胞免疫和体液免疫两个方面。抗肿瘤免疫效应一般以细胞免疫为主,淋巴细胞是细胞免疫的主体,特别是 T 淋巴细胞及其亚群。本研究发现原发性肝癌患者外周血中 T 淋巴细胞亚群比例失调,CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、NK 细胞减少,CD8<sup>+</sup> 上升,与国内外研究一致。

当 T 淋巴细胞亚群、B 淋巴细胞和 NK 细胞的数量发生变化时,可导致细胞免疫功能紊乱<sup>[2]</sup>。T 淋巴细胞是具有多功能的细胞群体,在免疫反应的调控中发挥着重要的作用。NK 细胞的主要特征是不需预先刺激就可直接溶解破坏肿瘤细胞和病毒感染细胞,通过分泌穿孔素、丝氨酸蛋白酶、硫酸软骨素蛋白聚酶等分子降解细胞膜、破坏靶细胞完整性而发挥溶细胞效应,在抗新生瘤、已形成肿瘤及转移瘤中均发挥重要作用,是机体抗肿瘤的第一道防线。主要表面标志是 CD16 和 CD56,CD16 表达于未成熟 NK 细胞表面,CD56 则在成熟 NK 细胞表面。

本研究显示,晚期原发性肝癌患者外周血 T 细胞、CD4<sup>+</sup> 细胞、NK 细胞绝对数值均低于正常人 CD8<sup>+</sup> 高于正常人( $P < 0.05$ ),说明晚期原发性肝癌患者细胞免疫受到抑制,降低了清除肿瘤细胞的能力。有文献认为,肿瘤形成发展过程中,产生或分泌可溶性免疫抑制因子,诱导 Ts 细胞产生的同时阻止 Th 细胞的形成和成熟<sup>[3]</sup>,并有认为,NK 细胞数目下降提示机体 NK 细胞作用受抑制,不能有效发挥杀伤肿瘤细胞的作用<sup>[4]</sup>。

近几年多项随机、双盲、平行对照的国际多中心 III 期临床研究表明,索拉非尼能够延缓 HCC 的进展,明显延长晚期患者生存期,已成为一种有效的选择和肯

定的治疗方法。欧盟 EMEA、美国 FDA 以及我国 SFDA 等相继批准了索拉非尼用于治疗不能手术切除的 HCC,索拉非尼成为晚期 HCC 患者的标准用药之一。

索拉非尼是第一个口服的多激酶抑制剂,靶向作用于肿瘤细胞以及肿瘤血管内丝氨酸/苏氨酸激酶受体和酪氨酸激酶受体。其具有阻断肿瘤血管生成和抑制肿瘤增殖的作用。临床前研究显示,索拉非尼能同时抑制多种存在于细胞内和细胞表面的激酶,包括 RAF 激酶、血管内皮生长因子受体-2 (VEGFR-2)、血管内皮生长因子受体-3 (VEGFR-3)、血小板衍生生长因子受体-β (PDGFR-β)、KIT 和 FLT-3。索拉非尼通过抑制 Raf21 和 B2Raf 丝氨酸和苏氨酸激酶的活性,从而抑制 RAS/RAF/MEK/ERK 信号传导通路,抑制肿瘤细胞的增殖。许多肿瘤的发生与 RAS/RAF/MEK/ERK 信号通路的异常相关。索拉非尼能够抑制 Raf21 及野生型和 V599E 突变的 B2Raf 的丝氨酸和苏氨酸激酶活性来阻断 RAS/RAF/MEK/ERK 信号通路,从而直接抑制肿瘤细胞增殖。索拉非尼也可抑制 FLT3 和 c2KIT 这两种受体酪氨酸激酶活性从而抑制肿瘤细胞的增殖。索拉非尼抑制肿瘤新生血管生成。肿瘤的生长依赖新生血管的形成,VEGFR 和 PDGFR 是最重要的促进血管形成的调节因子。索拉非尼对这两种受体的酪氨酸激酶活性有抑制作用,可以阻断肿瘤新生血管的形成和切断肿瘤细胞的营养供应,间接抑制肿瘤细胞的生长<sup>[5]</sup>。因此,索拉非尼具有抑制肿瘤细胞生长和血管生成的双重作用,从而达到了多靶点靶向治疗。

本研究显示,索拉非尼治疗可以逆转原发性肝癌的免疫状况,虽然具体机制尚不完全清楚,但患者机体免疫功能得到了改善。因此认为,在原发性肝癌的综合治疗策略中,尤其是晚期原发性肝癌,分子靶向药物索拉非尼治疗对患者免疫功能的改善起到了重要的作用,若条件允许,可予应用,以提高原发性肝癌治疗的总体疗效。

### 参考文献

- [1] ALGARRA I, GONZALEZ A, PEREZ M, et al. Effect of in vivo activation of natural killer (NK) cells by a tilorone analogue on the survival of mice injected intravenously with different experimental murine tumours[J]. Clin Exp Immunol, 1996, 103(3): 499-505.
- [2] COOPER M A, FEHNIGER T A, CALIGIURI M A. The biology of human natural killer cell subsets[J]. Trends Immunol, 2001, 22(11): 633-640.
- [3] 段秀梅, 谭岩, 方艳秋, 等. CIK 治疗后肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞变化研究[J]. 中国肿瘤临床, 2003, 30(7): 491-493.
- [4] 梁艳, 邓安梅, 仲人前. NK 细胞识别和杀伤机制研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2007, 23(3): 284-287.
- [5] WILHELM S M, CARTER C, TANG L, et al. BAY 43-29006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis[J]. Cancer Res, 2004, 64(19): 7099-7109.

(收稿日期:2009-09-09 编辑:张素文)