

# 多西紫杉醇联合表柔比星新辅助化疗 对肝癌患者调节性T细胞的影响

沈丰<sup>1</sup>, 孙少华<sup>1</sup>, 周文波<sup>1</sup>, 陈琴华<sup>2</sup> (1.湖北医药学院附属东风医院 肝胆外科, 湖北 十堰 442000; 2.湖北医药学院, 湖北 十堰 442000)

**摘要:** 目的 探讨多西紫杉醇联合表柔比星新辅助化疗对肝癌调节性T细胞的影响。方法 选择2011年8月至2014年2月在湖北医药学院附属东风医院接受治疗的120例肝癌患者, 根据随机抽签原则分为治疗组与对照组各60例, 两组都顺利完成肝癌根治术, 术后治疗组给予多西紫杉醇联合表柔比星化疗, 对照组给予奥沙利铂联合卡培他滨化疗, 观察化疗总有效率、不良反应发生情况, 并对机体免疫功能进行检测。结果 化疗后两组CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞数显著降低 ( $P = 0.000$ ), 治疗组化疗后的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞数明显低于对照组 ( $P = 0.000$ )。化疗后两组的CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>与CD3<sup>+</sup>值都明显下降, 治疗组化疗后CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>与CD3<sup>+</sup>值显著高于对照组 ( $P = 0.000$ )。化疗期间两组的不良反应多为恶心呕吐、白细胞下降与血小板减少, 治疗组不良反应发生率显著低于对照组 ( $P = 0.000$ )。化疗后, 治疗组的总有效率为80.0%, 显著高于对照组的50.0% ( $P = 0.000$ )。结论 多西紫杉醇联合表柔比星新辅助化疗肝癌能有效提高抗癌效果, 降低不良反应的发生, 其作用与恢复淋巴细胞与调节性T细胞活性有关。

**关键词:** 多西紫杉醇; 表柔比星; 新辅助化疗; 肝癌; 调节性T细胞

## Effects of docetaxel and epirubicin neoadjuvant chemotherapy on regulatory T cells of patients with liver cancer

SHEN Feng<sup>1</sup>, SUN Shao-hua<sup>1</sup>, ZHOU Wen-bo<sup>1</sup>, CHEN Qin-hua<sup>2</sup> (1.Department of Hepatobiliary Surgery, Dongfeng Hospital Affiliated to Hubei Medical College, Shiyan, 442000, Hubei Province, China; 2.Hubei Medical College, Shiyan 442000, Hubei Province, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of docetaxel and epirubicin neoadjuvant chemotherapy on regulatory T cells of patients with liver cancer. **Methods** Total of 120 patients with liver cancer in Dongfeng Hospital of Hubei Medical College from August 2011 to December 2014 were selected and randomly divided into treatment group and control group according to the draw principles, 60 cases in each group. All patients completed liver resection successfully. The treatment group were given postoperative docetaxel plus doxorubicin chemotherapy and the control group were given postoperative oxaliplatin platinum plus capecitabine chemotherapy. Total efficiency and adverse events of chemotherapy were observed and the immune functions were detected. **Results** After chemotherapy, the number of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg cells decreased significantly in the two groups ( $P = 0.000$ ), and the number of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg cells in the treatment group was significantly lower than that of the control group ( $P = 0.000$ ). The CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> and CD3<sup>+</sup> values decreased significantly after chemotherapy in both groups, and the treatment group was significantly higher than that of the control group ( $P = 0.000$ ). The adverse reactions in the two groups during chemotherapy were nausea, vomiting, leukopenia and thrombocytopenia, and incidence of the adverse reactions in the treatment group were significantly lower than that of the control group ( $P = 0.000$ ). After chemotherapy, the total efficiency of the treatment group (80.0%) was significantly higher than that of the control group (50.0%) ( $P = 0.000$ ). **Conclusion** Docetaxel plus epirubicin for adjuvant chemotherapy of liver cancer can improve the anti-tumor effect, and reduce the incidence of adverse reactions, which plays a role of restoring regulatory T lymphocytes and cell activity.

**Key words:** Docetaxel; Epirubicin; Neoadjuvant chemotherapy; Liver cancer; Regulatory T cells

肝癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一,致残率与病死率均较高<sup>[1]</sup>。目前治疗肝癌的首选方法是手术,辅助以化疗,但由于肝癌的早期诊断率低,术后5年生存率仅约20%,多数肝癌患者仅通过手术难以达到治愈目的,还需要接受化疗等综合治疗<sup>[2,3]</sup>。而当前在肝癌的化疗中,传统方法多选择奥沙利铂联合卡培他滨化疗,但是存在疗效不高与不良反应多等缺点<sup>[4,5]</sup>。随着药物技术的发展,多西紫杉醇、表柔比星得到了广泛应用。由于对免疫学研究地更加深入,肿瘤与免疫的关系也愈发得到重视。机体的免疫功能以及状态关系着肿瘤发展的各个阶段<sup>[6]</sup>。目前,对机体细胞免疫的检测即是通过常规检测T细胞亚群,肿瘤患者的免疫状态一般较弱,降低了CD4/CD8比值<sup>[7]</sup>。而化疗药物虽然能够杀死癌细胞,但其仍为毒性药物,机体中正常的分化细胞、增殖细胞也会被损害,同时受肿瘤细胞的作用,会进一步抑制免疫功能,主要表现为显著降低的NK活性、T细胞总数、CD4/CD8比值<sup>[8]</sup>。现代研究显示,肿瘤的形成是在致癌因素作用下导致肿瘤抗原的免疫耐受,从而出现肿瘤的免疫逃逸。在免疫逃逸过程中,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞起重要作用。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞在外周CD4<sup>+</sup>T细胞中的比例为10%,胸腺产生CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞后向外周输出,通过主动调节作用对能够在正常机体内存在的自身反应性T细胞的增殖和活化作用有所抑制,同时对抑制性细胞自身抗原肽进行识别,从而发挥免疫抑制作用<sup>[9,10]</sup>。本文具体探讨了多西紫杉醇联合表柔比星新辅助化疗对肝癌调节性T细胞的影响,希望从免疫学机制分析多西紫杉醇联合表柔比星新辅助化疗的应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 选择2011年8月至2014年2月在湖北医药学院附属东风医院接受治疗的120例肝癌患者,纳入标准:病理确诊为肝癌;预计存活期大于6个月;年龄40~80岁;顺利完成肝癌根治术;知情同意。排除标准:合并糖尿病、甲状腺功能亢进、甲状腺功能减退等疾病。根据随机抽签原则分为治疗组与对照组各60例,治疗组中男32例,女28例;年龄45~78岁,平均年龄(66.44±2.13)岁;疾病类型:高分化癌45例,中分化癌10例,低分化癌5例;病理分期:I期49例,II期10例,III期1例。对照组中男31例,女29例;年龄44~79岁,平均年龄(66.43±2.56)岁;疾病类型:高分化癌46例,中分化癌10例,低分化癌4例;病理分期:I期49

例,II期11例。将两组其他因素包括年龄、病理分期、性别以及疾病类型进行对比,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**1.2 治疗方法** 对照组在治疗中联合应用奥沙利铂和卡培他滨,第1天,静脉注射奥沙利铂130 mg/m<sup>2</sup>,第1~14天,口服卡培他滨1000 mg/(m<sup>2</sup>·d),每3周为1个周期。治疗组:给予多西紫杉醇联合表柔比星进行治疗,表柔比星75 g/m<sup>2</sup>、多西紫杉醇75 mg/m<sup>2</sup>静脉注射,每3周为1个周期。均连续治疗6个周期。

**1.3 观察指标** 血液学指标:所有患者在化疗前后早晨空腹外周静脉采血3 ml,以EDTA-K2抗凝,分置2个试管中,置于4℃,于8小时内制备样品,一管用于检测外周血T细胞亚群,另一管进行调节性T细胞检测。在未使用其他免疫药物、升白细胞药物前,采集所有血液样本,化疗期间内均未发生过急性感染。选择流式细胞术进行外周血中CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>T细胞比例计算与CD3<sup>+</sup>含量的检测以及患者外周血中NK细胞与CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞含量的测定。所有实验均重复3次以保证系统稳定性,流式细胞仪为美国Beckman Coulter公司生产的EPICSALTRA型。

对治疗效果的判断参照实体肿瘤疗效评价标准<sup>[3]</sup>,评判标准分为进展(PD)、完全缓解(CR)、稳定(SD)以及部分缓解(PR),完全缓解和部分缓解之和为总有效率。

通过WHO抗癌药物不良反应来分析所有不良反应,主要为恶心呕吐、白细胞下降、血小板减少与血红蛋白减少。

**1.4 统计方法** 分析数据使用SPSS 18.0软件,使用 $\bar{x}\pm s$ 表示计量数据,通过 $t$ 检验进行组间比较;卡方分析进行计数资料对比,配对等级资料运用秩和检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 疗效对比** 通过化疗,治疗组的总有效率为80.0%,对照组的总有效率为50.0%,治疗组显著高于对照组( $\chi^2=6.398$ ,  $P=0.000$ ),见表1。

**2.2 不良反应对比** 化疗期间两组的不良反应多为恶心呕吐、白细胞下降与血小板减少,治疗组总体不良反应率低于对照组( $P=0.000$ ),见表2。

**2.3 外周血T淋巴细胞亚群变化对比** 化疗后两组的CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>与CD3<sup>+</sup>值都明显下降,治疗组化疗后的CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>与CD3<sup>+</sup>值显著高于对照组( $t$ 值分别为4.983、8.334,  $P$ 值分别为0.014、0.000),见表3。

**2.4 调节性T细胞变化对比** 化疗前后NK细胞在

组内与组间差异都无统计学意义，治疗后两组CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞数明显降低，治疗组化疗后的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞数显著低于对照组（ $P = 0.000$ ），见表4。

### 3 讨论

现如今，人口的老龄化已经成为一个突出的社会问题，恶性肿瘤正逐渐成为威胁人类健康的一个重要因素，其中，肺、胃、肝脏、结肠和乳腺肿瘤病死率较高，而肝癌的预后差，病死率高<sup>[11]</sup>。对于早期局限的肝癌，手术治疗必不可少，但是手术只对于看得见的肿瘤进行切除，不能清除血液以及淋巴中的癌细胞，为此多需要在术后配合化学治疗<sup>[12]</sup>。但多数患者无法忍受化学治疗会杀死正常细胞，对于机体免疫功能有一定的创伤，且不良反应较多。在术后新辅助化疗方法中，奥沙利铂联合卡培他滨化疗应用较多，虽能有效提高生存率，但对于患者仍然有一定的免疫损伤<sup>[13]</sup>。

多西紫杉醇是一种半合成的紫杉类化合物，它可与游离的微管蛋白结合，使其数量显著减少，形成稳定的非功能性微管束，从而抑制细胞的有丝分裂和增殖；而表柔比星干扰DNA转录过程，无法形

成mRNA，从而能够抵抗肿瘤<sup>[14]</sup>。本研究中治疗组的总有效率为80.0%，对照组的总有效率为50.0%，治疗组有效率显著高于对照组高（ $P < 0.05$ ），表明两者联合使用能更有效发挥抗肿瘤作用。

生物免疫系统受到外来抗原刺激产生的免疫反应和自身抵抗抗原免疫时间决定了其平衡性。肝癌术后患者化疗前后外周血中T淋巴细胞亚群比例的改变通过流式细胞仪进行检测，结果表明化疗后两组的CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>与CD3<sup>+</sup>值显著下降，治疗组化疗后的CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>与CD3<sup>+</sup>值显著高于对照组（ $P < 0.05$ ），表明多西紫杉醇联合表柔比星化疗可更有效地促进淋巴细胞恢复。其机制可能在于RNA和DNA的合成会受到表柔比星的抑制，不同于多西紫杉醇，因此可协同作用发挥疗效。

调节性T细胞是各种肿瘤免疫耐受机制中具有重要作用的细胞，包括抑制耐受、肿瘤免疫、免疫抑制过敏反应的T细胞。机体内的调节性T细胞会随着年龄的增长而提高，因此，老年人比青年人发病率更高<sup>[15]</sup>。研究显示肿瘤的生长受到调节性T细胞介导的肿瘤免疫耐受作用，肿瘤发生发展与之密切相关，同时在抗肿瘤免疫反应中发挥重要作用的

表 1 120 例肝癌患者化疗后疗效对比

组别	例数	完全缓解 [例 (%)]	部分缓解 [例 (%)]	稳定 [例 (%)]	进展 [例 (%)]	总有效率 (%)
治疗组	60	30 (50.00)	18 (30.00)	8 (13.33)	4 (6.67)	80.0
对照组	60	10 (16.67)	20 (33.33)	18 (30.00)	12 (20.00)	50.0
$\chi^2$ 值	-	-	-	-	-	6.398
$P$ 值	-	-	-	-	-	0.000

注：总有效率 = 完全缓解率 + 部分缓解率

表 2 120 例肝癌患者化疗期间不良反应发生情况对比 [例 (%)]

组别	例数	恶心呕吐	白细胞下降	血小板减少	血红蛋白减少
治疗组	60	12 (20.0)	21 (35.0)	14 (23.3)	9 (15.0)
对照组	60	22 (36.7)	34 (56.7)	22 (36.7)	13 (21.7)
$U$ 值	-	10.345			
$P$ 值	-	0.000			

表 3 120 例肝癌患者化疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群变化对比 (%， $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>		CD3 <sup>+</sup>	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组	60	1.22 ± 0.55	1.10 ± 0.45	65.55 ± 12.80	62.84 ± 11.09
对照组	60	1.23 ± 0.34	0.99 ± 0.35	65.98 ± 13.90	54.38 ± 11.91
$t$ 值	-	0.009	4.983	0.392	8.334
$P$ 值	-	0.782	0.014	0.453	0.000

表 4 120 例肝癌患者化疗前后外周血调节性 T 细胞变化对比 ( $\bar{x} \pm s$ , %)

组别	例数 (n)	NK 细胞		CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> 调节性 T 细胞	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
治疗组	60	18.33 ± 5.39	17.99 ± 6.44	6.98 ± 4.22	4.44 ± 2.11
对照组	60	18.48 ± 6.39	18.09 ± 6.30	6.90 ± 4.28	7.30 ± 3.09
$t$ 值	-	0.393	0.443	0.211	9.234
$P$ 值	-	0.452	0.345	0.513	0.000

还有人体固有免疫<sup>[16]</sup>。化疗前后NK细胞在组内与组间差异都无统计学意义,说明化疗并未抑制机体的免疫反应。在动物实验中,小鼠体内注射化疗药物环磷酰胺后,降低了调节性T细胞绝对数量及其占CD4<sup>+</sup> T细胞的比例,而增加了凋亡细胞数量;在放化疗中,调节性T细胞亚群更加敏感,在淋巴细胞减少时,调节性T细胞在数量上也最低,占淋巴细胞亚群的比例最小,从而降低了对免疫应答抑制的作用<sup>[17]</sup>。多西紫杉醇是一种半合成的紫杉醇类,能够破坏有丝分裂和细胞增殖,还具有抗肿瘤血管生成的作用。表柔比星为蒽环类抗癌药,可以阻止核酸合成,从而达到抗癌效果<sup>[18]</sup>。本文化疗后两组CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞数明显降低( $P < 0.05$ ),治疗组化疗后的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞数明显低于对照组( $P < 0.05$ )。同时化疗期间两组患者的不良反应多为恶心呕吐、白细胞下降与血小板减少,但治疗组的不良反应发生率低于对照组( $P < 0.05$ ),表明联合二者进行化疗能有效抑制调节性T细胞比例下降和功能下调,从而使抑制免疫应答的因素增加,促进免疫恢复,有效降低不良反应的发生。总之,多西紫杉醇联合表柔比星新辅助化疗肝癌能有效提高抗癌效果,降低不良反应的发生,其作用与恢复淋巴细胞与调节性T细胞活性有关。

#### 参考文献

- [1] 曲韬,唐裕福.微波消融治疗对肝癌小鼠调节性T细胞的影响[J].现代肿瘤医学,2014,22:523-526.
- [2] 林马明,丁兆生.调节性T细胞与肝细胞癌免疫的研究进展[J].中国民康医学,2014,26:71-73.
- [3] Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors (RECIST guidelines)[J]. J Natl Cancer Inst, 2009,92:205-216.
- [4] Knolle PA, Thimme R. Hepatic immune regulation and its involvement in viral hepatitis infection[J]. Gastroenterology,2014,146:1193-1207.
- [5] 查本俊,陈国忠,吴志云,等.急性等容血液稀释联合低中心静脉压对肝癌患者调节性T细胞及自然杀伤细胞的影响[J].国际麻醉学与复苏杂志,2014,35:717-723.
- [6] Williams SK, Donaldson E, Van der Kleij T, et al. Quantification of hepatic FOXP3<sup>+</sup> T-lymphocytes in HIV/hepatitis C coinfection[J]. J Viral Hepat,2014,21:251-259.
- [7] 侯丽. Th17细胞与肝脏疾病的研究进展[J].遵义医学院学报,2013,36:85-88.
- [8] 李敏如,肖峰,易述红,等.不同原发病的肝移植患者围术期调节性T细胞的变化[J].中山大学学报(医学科学版),2013,34:558-562.
- [9] enner EK, Boguniewicz J, Tucker RM, et al. High-dose IgG therapy mitigates bile duct-targeted 7inflammation and obstruction in a mouse model of biliary atresia[J]. Pediatr Res,2014,76:72-80.
- [10] 李敏如,汪根树,汪国营,等.慢性重型肝炎和肝细胞肝癌患者肝移植围术期T淋巴细胞亚群及其功能的变化[J/CD].中华肝脏外科手术学电子杂志,2013,2:153-158.
- [11] Billerbeck E, Labitt RN, Vega K, et al. Insufficient interleukin-12 signalling favours differentiation of human CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells into GATA-3<sup>+</sup> and GATA-3<sup>+</sup> T-bet<sup>+</sup> subsets in humanized mice[J]. Immunology,2014,143:202-218.
- [12] 王纁,王国兵,文飞球,等.儿童急性B淋巴细胞白血病CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>Foxp3<sup>+</sup>调节性T细胞亚群改变及意义[J].中华微生物学和免疫学杂志,2014,3:194-199.
- [13] Vudattu NK, Waldron-Lynch F, Truman LA, et al. Humanized mice as a model for aberrant responses in human T cell immunotherapy[J]. J Immunol,2014,193:587-596.
- [14] 史业辉,周立艳,魏枫,等.肿瘤疫苗联合节拍化疗对小鼠乳腺癌作用的研究[J].中国肿瘤临床,2014,8:489-492.
- [15] Chen YF, Wang SH, Chang SJ, et al. Zhankuic acid A as a novel JAK2 inhibitor for the treatment of concanavalin A-induced hepatitis[J]. Biochem Pharmacol,2014,91:217-230.
- [16] 高鹏,王雪野,肖中平,等. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>调节性T细胞在多发骨髓瘤患者外周血的表达[J].中国老年学杂志,2014,20:5673-5674.
- [17] Oh da Y, Walenta E, Akiyama TE, et al. A Gpr120-selective agonist improves insulin resistance and chronic inflammation in obese mice[J]. Nat Med,2014,20:942-947.
- [18] 孙来林,马金栋,王煥信,等.肺癌患者外周血Foxp3检测及临床意义[J].中国实用医刊,2013,40:28-29.

收稿日期: 2015-06-15