

晚期胃癌患者化疗中胸腺肽 α 1 治疗疗效的临床研究

王维民 周炎[△] 汤月华 顾贤成 张国强

(江苏大学附属宜兴医院 江苏 宜兴 214200)

摘要 目的 探讨应用流式细胞仪(FCM)检测胃癌患者外周血免疫指标,以评价胸腺肽 α 1 联合化疗对胃癌患者免疫功能的影响。方法 70 例胃癌患者随机分为用药组和对照组。用药组 35 例采用胸腺肽 α 1+ 化疗,对照组 35 例单用化疗,两组化疗方案相同。胸腺肽 α 1 每次 1.6mg,每周 2 次,连续 4 周(共 8 针)。28 天为一疗程,共用 2 个疗程。采用 FCM 检测两组患者化疗前后外周血 CD4、CD8、CD3+CD4+、CD3+CD8+ 免疫指标。结果 用药组 CD4、CD8、CD3+CD4+、CD4 / CD8 均高于化疗前和对照组化疗后水平,均具有统计学意义(P<0.05)。结论 胸腺肽 α 1 配合化疗能提高患者的免疫功能,用 FCM 检测外周血免疫指标为临床观察肿瘤患者的免疫状态提供有效的依据。

关键词 :胃癌 胸腺肽 α 1 T 淋巴细胞 流式细胞仪

中图分类号 :R735.2 文献标识码 :A 文章编号 :1673-6273(2011)24-4920-03

The Clinical Study of Thymosinα 1 Therapeutic Effect of Chemotherapy in Advanced Gastric Cancer

WANG Wei-min, ZHOU Yan[△], TANG Yue-hua, GU Xian-cheng, ZHANG Guo-qiang

(Jiangsu University Yixing Hospital, Yixing, Jiangsu, 214200)

ABSTRACT Objective: Detecting peripheral blood immune parameters in patients with gastric cancer by Flow cytometry (FCM) to evaluate the immune function in gastric cancer patients by the thymosinα 1 combination chemotherapy. **Methods:** 70 patients with gastric cancer were randomly divided into treatment and control groups. Treatment group of 35 cases deploy thymosin α 1 combination chemotherapy, 35 patients in control group receive chemotherapy alone, two groups of chemotherapy schedule are identical. Thymosin α 1 1.6mg every time, 2 times per week, continuing 4 weeks (total 8 pin). 28 days for a course, keeping on 2 courses. By FCM, Two groups were detected CD4, CD8, CD3 + CD4 +, CD3 + CD8 + in patients with peripheral blood before and after chemotherapy. **Results:** The level of CD4, CD8, CD3 + CD4 +, CD4/CD8 in the treatment group were higher than those before chemotherapy and the control group after chemotherapy, There were statistically significant (P < 0.05). **Conclusion:** Thymosin α 1 with chemotherapy can improve immune function in patients, to detect peripheral blood immune parameters by FCM provide an effective basis for clinical observation of the immune status of cancer patients.

Key words: Gastric cancer; Thymosin α 1; T lymphocyte; Flow cytometry

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)24-4920-03

二十世纪 70 年代, Burnet 提出 "免疫监视" 理论, 认为机体的免疫系统能够通过免疫监视功能识别并清除癌变的异常细胞^[1]。当人体免疫监视功能失调时, 会诱发肿瘤。机体免疫功能降低在恶性肿瘤的发生和发展过程中起重要作用。

免疫功能可影响肿瘤生长, 肿瘤亦可抑制机体免疫功能, 并通过多种机制逃避宿主的免疫攻击, 若能增强肿瘤患者免疫功能, 必然有利于肿瘤控制。目前, 以免疫治疗为主体的肿瘤生物治疗已被公认为继手术、放疗和化疗后肿瘤治疗的第四模式^[2]。因此, 在肿瘤治疗中辅以免疫调节剂, 保护机体的免疫功能已成为临床治疗的常规方案^[3]。

肿瘤患者 T 细胞数量减少和功能改变及 T 细胞亚群比例失调, 导致 T 细胞功能不全和抑制, 是肿瘤细胞无限增殖的重

要因素之一。本研究对晚期胃癌患者在化疗同时给予胸腺肽 α 1 治疗, 采用流式细胞仪检测了患者治疗前后外周血 T 淋巴细胞免疫分型的变化情况, 以初步探讨晚期胃癌患者的免疫功能状态变化, 指导免疫治疗。

1 资料和方法

1.1 研究对象和分组

晚期胃癌患者 70 例, 为江苏大学附属宜兴医院 2007 年 5 月~2010 年 10 月收治的患者, 均经病理学检查证实。将 70 例患者分为对照组和用药组, 对照组 35 例, 中位年龄 49 岁; 用药组 35 例, 中位年龄为 52 岁。两组患者年龄、性别、病理类型及临床分期比较, 差异无显著性, 具有可比性, 一般 KPS 评分 >80。

35 例患者均采用 FP 方案化疗, 具体 5-Fu+ 奥沙利铂。剂量均按患者体表面积计算, 5-Fu 250mg/m²、奥沙利铂 85mg/m²。5-Fu 选用小泵维持 14d, 奥沙利铂为 d1、8 使用。用药组从化疗当天开始使用胸腺肽 α 1, 具体: 胸腺肽 α 1(1.6mg)以 1ml 注

作者简介: 王维民(1979-) 男, 主治医师, 硕士研究生, 中西医结合治疗恶性肿瘤, E-mail: staff1178@yxph.com, 电话: 13912562920
△通讯作者: 周炎(1967-) 男, 主任医师, 本科, 肿瘤化疗, E-mail: staff260@yxph.com
(收稿日期: 2011-06-09 接受日期: 2011-07-15)

射用水溶解后立即皮下注射。每次 1.6mg,每周 2 次,两次相隔 3-4 天,连续 4 周(共 8 针)。28 天为一疗程,共用 2 个疗程。全部患者均行 2 个疗程化疗,化疗周期均为 28 d。于化疗前一天和化疗 2 周期后分别采集肘静脉血,送检 T 细胞亚群。

1.2 实验方法

1.2.1 试剂及药物 CD4 单抗、CD8 单抗、CD3+CD4+ 单抗、CD3+CD8+ 单抗均为小鼠抗人单克隆抗体,与同型对照、红细胞裂解液(Optilyse C)均为法国 Immunotech 公司出品。5-Fu 奥沙利铂由江苏豪森公司出品。胸腺肽 α 1 由成都地奥九泓制药厂出品。

1.2.2 标本采集及处理 取患者静脉血 2 mL 以 EDTA-K2 抗凝。取两只试管,标记 A、B。A 管中加入单克隆抗体 CD4- 异硫氰酸荧光素(FITC) / CD8- 藻红脲(PE), CD3-FITC, CD4-FITC, CD8-FITC, APC 20 μ L, 分别加入到 FALCON 管底部。各加入全血 100 μ L, 轻轻混匀后置室温避光染色 15min, 然后加入 2.0 mL 红细胞裂解液,室温避光 15 min。待红细胞完全溶解后以 1500 r / min 离心 5 min。弃上清液,以生理盐水同样离心条件

洗涤 2 次,收集沉淀细胞,加 1% 多聚甲醛 0.5 mL 悬浮细胞,用流式细胞仪检测。用 Cell Quest 软件(BD 公司)获取 10000 个细胞的数据进行分析。

1.2.3 淋巴细胞免疫分型检测 用 Becton-Dick-inson 公司生产的 FACS Calibur 型式细胞仪测定。

1.3 统计学

采用 t 检验,应用 SPSS 11.0 统计软件包进行数据处理。

2 结果

胸腺肽 α 1 对晚期胃癌患者化疗期间 T 细胞亚群表达的影响,见表 1。表 1 显示,用药组化疗后 CD4 阳性百分率明显高于本组化疗前($P < 0.05$)和对照组化疗后($P < 0.01$)水平,CD8、CD3+CD8+ 阳性百分率低于本组化疗前水平,但无统计学意义。CD4 / CD8 比值明显高于本组化疗前水平($P < 0.001$),也明显高于对照组化疗后水平($P < 0.05$)。CD3+CD4+ 阳性百分率用药组化疗后分别高于本组化疗前及对照组化疗后水平($P < 0.05$)。

表 1 胸腺肽对 NHL 化疗患者外周血 CD4、CD8、CD4 / CD8、CD25 和 CD56 表达的影响($\bar{x} \pm s$)%

Table 1 The CD4, CD8, CD4/CD8, CD25 and CD56 expression in the peripheral blood of NHL patients ($\bar{x} \pm s$)%

组别		CD4	CD8	CD4 / CD8	CD3+CD4+	CD3+CD8+
用药组	化疗前	37.45 \pm 6.32	25.06 \pm 9.34	1.42 \pm 0.32	35.89 \pm 6.98	27.33 \pm 7.73
	化疗后	45.83 \pm 8.16	22.75 \pm 7.31	2.32 \pm 0.43	39.07 \pm 9.43	25.87 \pm 6.35
对照组	化疗前	39.83 \pm 9.55	23.74 \pm 8.27	1.39 \pm 0.37	34.35 \pm 7.02	28.04 \pm 6.79
	化疗后	38.09 \pm 8.73	21.64 \pm 8.18	1.33 \pm 0.55	34.17 \pm 8.11	28.69 \pm 8.05

注 组别 Group ;用药组 Treatment group 对照组 Control group ;
化疗前 Before chemotherapy 化疗后 After chemotherapy

3 讨论

近年来,随着分子生物学、分子免疫学研究的进展,人们对肿瘤发生的病因、发生机制、机体对肿瘤的免疫及肿瘤对宿主的影响等一系列研究越来越深入。当宿主免疫功能低下或受抑制时,肿瘤发病率增高,而在肿瘤进行性生长时,肿瘤患者的功能受到抑制,两者互为因果,双方各因素的消长对肿瘤的发展起着重要的作用^[4]。

T 细胞亚群是机体免疫系统内功能最重要的一大细胞群。现已证实,T 细胞介导的细胞免疫反应在杀伤肿瘤细胞、控制肿瘤生长中起重要作用^[5]。T 细胞有两个亚群,分别表达 CD4 和 CD8 分子。T 淋巴细胞 CD4 / CD8 比值是反映机体免疫紊乱的敏感指标,当免疫功能受抑制时,CD4 下降,CD8 上升,CD4 / CD8 比值减少,而 CD8 比例上升的原因可能是肿瘤组织释放的可溶性物质经血液循环进入胸腺后诱导 T 细胞,有利于抑制细胞分化,因此抑制活性相应增高^[6]。CD3 分子构成 TCR / CD3 复合体,为 T 细胞的特异性表面分子,再根据 T 细胞表面表达 CD4 或 CD8 分子,又分为 T 辅助 / 诱导细胞亚群(CD3+CD4+)和 T 抑制 / 细胞毒亚群(CD3+ CD8+)。

胸腺肽(又名胸腺素、胸腺五肽)是胸腺组织分泌的具有生理活性的一组多肽。临床上常用的胸腺肽是从小牛胸腺发现并提纯的有非特异性免疫效应的小分子多肽^[7]。胸腺肽主要活性

成份是由 28 个氨基酸组成的胸腺肽 α 1(T α 1),能促进体内细胞因子的分泌,增强淋巴细胞功能,促进胸腺内干细胞向 T 淋巴细胞转化^[8]。近年来在消化系统肿瘤的治疗中取得较好的效果^[9]。胸腺肽 α 1 通过增加淋巴细胞细胞毒性或者 CD4+ 表达率而起到抗肿瘤作用,这很有可能成为胃肠道肿瘤的免疫辅助用药^[10]。另外研究显示,胸腺肽能通过刺激外周血液淋巴细胞分裂原来促进 T 淋巴细胞的成熟,增加抗原或丝裂原激活后 T 细胞分泌的干扰素 α 、干扰素 γ 以及白介素 2、白介素 3 等淋巴因子水平,同时增加 T 细胞表面淋巴因子受体水平,增强异体和自体的人类混合淋巴细胞反应,从而增强机体的免疫功能^[11-13]。

胸腺肽 α 1 治疗肿瘤,一方面是由于提高了 T 细胞抗肿瘤的能力,另一方面是提高了机体因放、化疗药物而造成的免疫力低下^[14]。Garaci 等^[15]综述了胸腺肽 α 1 联合疗法治疗非小细胞肺癌和恶性黑色素瘤的研究,认为 T α 1 联合治疗的生存率明显高于对照组,对瘤体不大者的疗效更显著。本实验研究资料显示,晚期胃癌患者化疗加大剂量胸腺肽 α 1 治疗 2 周期后,外周血中 T 细胞亚群发生明显变化,用药组化疗后 CD4 / CD8 比值及 CD4、CD3+CD4+ 阳性百分率均明显高于化疗前及对照组化疗后水平,故大剂量胸腺肽可在短期内提高晚期胃癌化疗患者的免疫功能,值得临床进一步推广。

参考文献(References)

- [1] Shearer GM, Clerici M, Schuler BS, et al. How human immunodeficiency virus ravages the immune system [J]. *Curr Op in Immunol*, 1992, 4 (4) : 463
- [2] 陈复兴. 肿瘤的细胞免疫治疗[J]. *国外医学:免疫学分册*, 2004, 27 (4) :197-202
Chen fuxin. Tumor immunotherapy [J]. *Foreign Medical Sciences: Volume Immunology*, 2004,27 (4) :197-202
- [3] Zhang Y, Chen H, Li YM, et al. Thymosin alpha1 and ulinastatin-based immunomodulatory strategy for sepsis arising from intra-abdominal infection due to carbapenem-resistant bacteria[J]. *J Infect Dis*, 2008, 198(5):723-730
- [4] 陈慰峰, 主编. 医学免疫学[M]. 人民卫生出版社, 2004, 8(4) 223
Chen Weifeng, editor. *Medical Immunology* [M]. People's Medical Publishing House, 2004,8 (4): 223
- [5] Yasuhiko N, Hua W, Kayo M, et al [J]. *Leu-kocBiol*, 2003,73:621-629
- [6] Vermorken JB, Claossen AM, Van Tinteren H, et al. Active specific immunotherapy for stage II and stage III human colon cancer: a randomised trial[J]. *Lancet*, 1999, 353(9150):345-350
- [7] Maio M, Mackiewicz A, Testori A, et al. Large randomized study of thymosin alpha 1, interferon alfa, or both in combination with dacarbazine in patients with metastatic melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28 (10):1780-1787
- [8] Hiram M, Takahashi F, Takahashi K, et al. Osteopontin overproduced by tumor cells acts as a potent angiogenic factor contributing to tumor growth [J]. *Cancer Lett*, 2003, 198(1):107-117
- [9] Zhang J, Takahashi K, Takahashi F, et al. Differential osteopontin expression in lung cancer [J]. *Cancer Lett*, 2001, 17(2):215-222
- [10] Ma YL, Zheng Z, Li BD et al. The anti-tumor efforts of thymosin alpha1 on tumor lysate-pulsed dendritic cells in colon cancer in vitro and in vivo [J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2007, 23(11): 1046-1049
- [11] Pica F, Fraschetti M, Matteucci C, et al. High dose thymosin alpha1 enhance the anti-tumor efficacy of combination. Chemo-immunotherapy for murine B16 melanoma [J]. *Anticancer Res*, 1998, 18(5) : 3571 - 3576
- [12] Favalli C, Jezzi T, Mastino A, et al. Modulation of natural killer activity by thymosin alpha 1 interferon [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1985; 20(3): 189-192
- [13] Leichtling KD, Serrate SA, Sztien MB, et al. T α 1 acts the expression of high affinity interleukin22 receptors on normal human lymphocytes[J]. *Int J Immunopharmacol*, 1990, 12 (1) : 19
- [14] Beuth J, Schierholz JM, Mayer G1. Thymosin alpha-1 application augments immune response and downregulates tumor weight and organ colonization in BALB/c2 mice[J]. *Cancer Lett*, 2000, 159(1) :9
- [15] Garaci E, Pica F, Rasi G, et al. Thymosin alpha 1 in the treatment of cancer: from basic research to clinical application [J]. *Int Immunopharmacol*, 2000, 22(12) :1067