维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2001 年第 10 卷第 3 期
Chin J Regional Anat & Operative Surg, 2001, Vol. 10, No. 3

化疗对卵巢癌患者免疫功能的影响

何 畏* 叶之美** 卞度宏** 史常旭*

【摘 要】 目的 研究化疗对卵巢癌患者细胞免疫功能的影响及其临床意义。方法 应用间接免疫荧光法、MTT 比色法、ELISA 检测围手术期卵巢癌患者外周血淋巴细胞(PBL)T 淋巴细胞亚群、自然杀伤(NK)活性及血清可溶性白介素 2 受体(rIL-2R)。结果 卵巢癌患者 PBL 中 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$ 均明显低于良性肿瘤组，而 Tac^+ 明显升高；化疗后患者 $CD3^+$、$CD4^+$ 明显降低，而 rIL-2R、NK 活性无明显改变。结论 化疗可使卵巢癌患者细胞免疫功能明显受抑，且恢复困难，需选择适当免疫治疗以提高机体自身抗瘤活性。

【关键词】 卵巢肿瘤；化疗；细胞免疫

Effects of chemotherapy on the immune status in patients with malignant ovarian tumor *He Wei, Ye Zhimei, Bian Dahong, et al. Department of Obstetrics and Gynecology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038*

【**Abstract**】 **Objective** To evaluate the effect of cisplatin-based chemotherapy on the immunity of patient with malignant ovarian tumor (MOT). **Methods** T-lymphocyte subsets, natural killer (NK) activity and the levels of soluble interleukin-2 receptors (rIL-2R) were measured in 25 patients with MOT and 20 benign controls (BC) by sandwich ELISA, indirect immunofluorescence and MTT colorimetry. **Results** The numbers of $CD3^+$, $CD4^+$, and $CD4^+/CD8^+$ in the patients were lower than those in the control significantly, but Tac^+ increased markedly ($P<0.05$). The $CD3^+$, $CD4^+$ decreased remarkably after chemotherapy, while the NK activity and rIL-2R with no significant changes. **Conclusion** The immune status of MOT is depressed during the course of chemotherapy, and is very difficult to improve it. Therfore suitable immunotherapy is needed.

【**Key words**】 Malignant ovarian tumor; Chemotherapy; Cellular immunity

化疗是卵巢癌最常用的治疗手段之一。随着含铂类的化疗药应用于临床后，卵巢癌患者的带瘤存活率明显上升。然而化疗的作用是双向的，在杀伤肿瘤细胞的同时，不可避免的对正常组织、细胞有损害，尤其是造血细胞。究竟化疗对肿瘤患者免疫功能的影响如何？在化疗间隙期应怎样修复？迄今为止报道甚少。为更好地服务和指导临床工作，本文以上皮性卵巢癌为研究对象，对单次、多次化疗后卵巢癌患者细胞免疫功能的变化作一探讨。

材料与方法

1. 临床资料：收集重庆医科大学临床学院 1993～1995 年入院行化疗的上皮性卵巢癌患者 25 例(化疗组)，平均年龄 45.5 岁。患者均已行手术治疗(全子宫双附件切除术＋大网膜部分切除术＋/－阑尾切除术或肿瘤减体术)，并经病理证实其诊断。化疗方案为顺铂加环磷酰胺(CP)，剂量为顺铂 50～70mg/m^2，环磷酰胺 800mg。于化疗前后 72h 内抽取静脉血 5ml 备检。另取同期入院的妇科良性肿瘤患者(子宫肌瘤和卵巢囊肿)26 例作为对照组，平均年龄 39.2 岁。

2. 细胞株：K_{562} 由重庆医科大学病理生理教研室提供。

3. 主要试剂：T 细胞亚群检测试剂盒(武汉生物制品研究所)，可溶性白介素-2 受体试剂盒(白求恩医科大学)，淋巴细胞分离液(上海第二试剂厂)，MTT(Fluka 公司)。

4. 方法

(1)外周血单个核细胞(PBMCs)的分离：取肝素抗凝之外周血 3ml 加 Hanks 液稀释一倍后，加入等量淋巴细胞分离液，以 2000r/min 离心 20min，取两液面交界处云雾状细胞层经生理盐水洗涤两次后，供 T 细胞亚群和 NK 活性测定。

(2)T 淋巴细胞亚群测定：以间接免疫荧光法，按试剂盒说明操作。

(3)可溶性白介素 2 受体测定：以夹心 ELISA 法，按试剂盒说明操作。

(4)NK 活性测定：在 96 孔培养板上加入 100μl PBL(效应细胞)、K_{562}(靶细胞)和 10:1 效靶比例混合的

* 作者单位：400038 重庆市第三军医大学西南医院妇产科
** 重庆医科大学临床学院妇产科

维普资讯 http://www.cqvip.com

PBL 与 K_{562} 细胞；每组设三个平行孔，于 37℃、5% CO_2 孵箱中培养 20～24h，1000r/min 离心 10min，弃上清，分别加入 RPMI1640 培养液 200μl 和 5mg/ml MTT20μl，继续培养 4h 后，2000r/min 离心 10min 后弃上清，加入 DMSO200μl，在震荡器上震荡 5min，测 OD_{570} 值，按下列公式计算活性：

$$NK\text{活性} = \left(1 - \frac{\text{效靶混合孔 OD}}{\text{效应细胞 OD} + \text{靶细胞 OD}}\right) \times 100\%$$

5. 统计学处理：数据结果采用均数 ± 标准差表示，用 SAS 软件行 t 检验及方差检验。

结　果

1. 化疗对卵巢癌患者外周血淋巴细胞 T 细胞亚群的影响：如表 1 显示：与良性肿瘤患者相比，化疗前患者 PBL 中 $CD3^+$，$CD4^+$ 及 $CD4^+/CD8^+$ 均明显低下，Tac^+（$IL\text{-}2R^+$）明显升高（$P < 0.05$）；化疗前后患者 PBL 中 B、$CD3^+$、$CD4^+$ 细胞数均明显减少（$P < 0.05$）。

2. 化疗对 NK 活性及血清 rIL-2R 的影响：化疗前后，患者血清 rIL-2R（u/ml）水平分别为 743.42 ± 278.3 和 725.00 ± 183.71；NK 活性（%）分别为 16.19 ± 17.71 和 8.63 ± 11.12，经检验未发现显著性意义。

表 1　化疗前后卵巢癌患者 PBL 中 T 细胞亚群的变化

分组	例数	$CD3^+$（%）	$CD4^+$（%）	$CD8^+$（%）	$CD4^+/CD8^+$	Tac^+（%）	B（%）
化疗组							
化疗前	25	58.27 ± 2.12*	37.40 ± 2.95*	31.67 ± 1.88	1.18 ± 0.10*	3.20 ± 1.27*	11.13 ± 1.77
化疗后		56.00 ± 2.80▲	35.50 ± 1.57▲	30.67 ± 1.61	1.18 ± 0.06	2.08 ± 1.13	10.25 ± 2.22▲
良性肿瘤	25	60.966 ± 2.25	39.52 ± 1.31	29.30 ± 2.12	1.36 ± 0.09	0.87 ± 0.87	11.61 ± 1.62

注：*与良性肿瘤相比 $P < 0.01$，▲与化疗前比较 $P < 0.05$

讨　论

在卵巢癌治疗中，化疗发挥着越来越重要的作用，尤其是铂类药物的应用使卵巢癌患者的带瘤存活时间明显延长。目前大多数医院已将 CP 方案作为上皮性卵巢癌化疗的首选。本文正是以 CP 方案为代表研究了化疗对细胞免疫功能的影响。实验发现与良性肿瘤患者相比，化疗前患者 PBL 中 $CD3^+$、$CD4^+$ 及 $CD4^+/CD8^+$ 均明显低下，Tac^+（$IL\text{-}2R^+$）明显升高；单次疗程可使患者 PBL 中 B、$CD3^+$、$CD4^+$ 细胞数均明显减少。提示 CP 方案对免疫系统的影响以 T 细胞为主（其中 $CD8^+$ 细胞的耐受性相对较强），B 细胞较弱（可恢复），结果与 Vahrson 等报道类似[1]；经多次化疗后的堆积效应致使机体的细胞免疫功能严重失调。

rIL-2R 是细胞膜上白介素 2 受体（IL-2R）胞外段脱落形成的。活化的 T、B、NK 细胞以及肿瘤细胞均可产生。rIL-2R 可竞争抑制膜受体（mIL-2R 与体内 IL-2 的结合，从而削弱 IL-2 的作用，降低 T、NK、B 细胞的活性[2]。对卵巢癌的研究已证实它是一种意义的抑制因子[3,4]。由于卵巢癌患者血清中的 rIL-2R 主要来源于肿瘤，而与 PBL 中的 Tac^+ 细胞数关系不大（待发表），而实验显示化疗并不能降低血清 rIL-2R 水平，说明单纯化疗并不能有效地大块消减肿瘤和提高机体免疫力。另外，单次化疗后患者的 NK 活性无明显变化与 Garzetti 等[5]发现在化疗可使 NK 活性明显降低下同，这种差异可能与选择病例中患者期别不同所致。

因此，化疗对卵巢癌患者的免疫功能有明显的抑制效应，且这种抑制状态下易纠正，这将不利于机体长期抗肿瘤的需要[6]。为此国内外已开始选择多种免疫治疗手段用以增强细胞免疫力。Garzetti 研究了细胞保护剂氨磷叮以对抗化疗对健康组织造成的损害，以及其对天然免疫功能的影响[5]。认为预先应用氨磷叮可减轻化疗对 NK 活性的影响；Sandmaier 选择 40 例晚期卵巢癌和乳腺癌接受高剂量化疗加干细胞移植，并在移植 30～150d 后使用 STn-KLH 疫苗，结果部分患者 CA125 下降，NK 活性显著升高[7]。故如何使支持治疗与常规治疗方案相结合将是今后进一步改进卵巢癌治疗方案时需要思考的问题。

参 考 文 献

1. Vahrson H, Li L, Pralle H. Immunologic studies in patients with ovarian carcinoma during radio-chemotherapy. I. Studies of lymphocyte subpopulations. Strahlenther Onkol, 1991, [67(11):643-650.

2. Rubin LA, Nelson DL. The soluble interleukin-2 receptors: biolo-

维普资讯 http://www.cqvip.com

gy, function, and clinical application. Ann Inter Med, 1990, 113: 619.

3. Barton DP, Blanchard DK, Wells AF. Expression of interleukin-2 receptor alpha (IL-2R alpha) mRNA and protein in advanced epithelial ovarian cancer. Anticancer Res, 1994, 14(3A): 761 - 772.

4 Chen CK, Wu MY, Chao KH, et al. T lymphocytes and cytokine production in ascitic fluid of ovarian malignancies. J Formos Med Assoc, 1999, 98(1): 24.

5. Garzetti GG, Ciavattini A, Muzzioli M, et al. Cisplatin-based polychemotherapy reduces the natural cytotoxicity of peripheral blood mononuclear cells in patients with advanced ovarian carcinoma and their in vitro responsiveness to interleukin-12 incubation. Cancer, 1999, 85(10): 2226 - 2231.

6. Klimp AH, De Vries EG, Scherphof GL. Chemo-immunotherapy of ovarian cancer in a murine tumour model. Anticancer Res, 2000, 20(4): 2585 - 2592.

7. Sandmaier BM, Oparin DV, Holmberg LA, et al. Evidence of a cellular immune response against sialyl-Tn in breast and ovarian cancer patients after high-dose chemotherapy, stem cell rescue, and immunization with Theratope STn-KLH cancer vaccine. J Immunother, 1999, 22(1): 54 - 66.

(收稿:2001-03-16)

·个案与短篇·

社会因素剖宫产者心理状态分析

祝美洲* 王丽华* 陈 敏*

近20年来,世界各地剖宫产率均不断上升,剖宫产确实在一定程度上改善母儿的预后。但无恰当指征的剖宫产,并不能降低围产儿死亡率。目前,社会因素剖宫产不断增加,在部分基层医院,已构成剖宫产的首要指征。本文对100例社会因素剖宫产者进行心理状态调查,掌握此类产妇心理状态,旨在为减少社会因素剖宫产率提供理论依据。

一、资料与方法

我院1998年1月1日12月31日间住院分娩总数为1805例,施行剖宫产者615例,剖宫产率为34.07%,社会因素剖宫产139例,占剖宫产的22.60%。本文随机选择社会因素剖宫产者100例,由专人进行心理调查。被调查组年龄为(25±2.1)岁,孕次1~4次,平均孕次1.2次。随机选反同期入院顺产产妇60例。比较两组年龄及孕次,无显著差异。

二、结果

100例被调查者中,认为剖宫产较阴道分娩安全者91例,占91%;认为部宫产儿聪明者83例,占有83%;惧怕分娩疼痛者62例,占62%;担心发生难产者51例,占51%;家属坚决要求剖宫产者11例,占11%;B超检查提示脐带绕颈要求手术者8例,占8%;B超检查知道胎儿性别且"择时"剖宫产者4例,占4%;担心阴道分娩影响日后性生活者1例,占有1%;了解剖宫产在某些情况下可对新生儿有不利影响者1例,占1%。

三、讨论

1.文献报道,世界各地剖宫产率均不断上升,国外达20%,国内达30%。我院1992年剖宫产率为34.07%,与国内水平相接近。目前剖宫产率升高的原因是多方面的,但社会因素剖宫产确实占了剖宫产的较大比例,高达22.60%。故减少社会因素剖宫产,对降低剖宫产率有重大意义。

2.近年来,剖宫产率及剖宫产指征都发生了较大的变迁,几乎每一个产科医生都清楚:"不恰当的剖宫产弊大于利"。但产妇及家属对剖宫产的利弊了解甚少,一些产妇认为剖宫产安全,新生儿聪明,甚至对分娩有惧怕心理。个别人认为阴道分娩可导致阴道松驰,会影响性生活。由此也说明,目前产前教育工作还有待提高。各级保健单位应切实抓好产前教育工作,每一名产妇都对分娩这一生理过程有正确的认识。同时,也应了解剖宫产的利与弊。

3.我国提倡一对夫妇一个孩,胎儿珍贵程度达到空前的地步,产妇及家属不愿胎儿冒丝毫的危险。医生也顾虑发生意外,产生医疗纠纷,这也是造成社会因素剖宫产率上升的原因之一。在此,作者呼吁,每一名产科工作者,要从实际出发,认真负责,确实掌握手术指征。同时,各级领导也要确实为基层医务人员做好后盾。不能怕医疗纠纷而盲目施术。孰不知,剖宫产最大的禁忌症就是无指征的剖宫产。

4.B超的发展,使产前诊断水平有了很大的提高,除非某些特殊情况,B超诊断胎儿性别应受到限制。

5.目前,医疗市场竞争比较激烈,医院尽全力满足患者的要求。在分娩方式上,也充分尊重产妇及家属的意见。但产科医生应正确引导,帮助产妇选择适宜的分娩方式。即使为社会因素剖宫产术,也应准备充分,杜绝为"择良时"而匆匆手术,确保医疗安全。

(收稿:2001-04-02)

* 作者单位:114032 辽宁省鞍山市鞍钢立山医院妇科