维普资讯 http://www.cqvip.com

34-36
第22卷 第1期 重庆医科大学学报 Vol.22 No.1
1997 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1997

卵巢癌患者全身及肿瘤局部细胞免疫功能的测定

临床学院妇产科 何 晨 叶之美 卞度宏

提 要 本文运用噻唑蓝比色法，间接免疫荧光法测定了31引例晚期卵巢癌患者的外周血淋巴细胞(PBL)、腹水淋巴细胞(EAL)及肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)的NK活性和细胞亚群，并对常规手术、化疗对肿瘤患者免疫功能的影响进行初步探讨。结果：卵巢癌患者的PBL NK活性明显低于正常和良性肿瘤组，其中CD_3^+、CD_4^+及B细胞较少，CD_4^+/CD_8^+比值较低；而TIL的NK活性较PBL更为低下，其CD_4^+/CD_8^+严重失衡。推测：卵巢癌患者机体免疫功能全面受抑，尤以局部明显；传统手术、化疗辅以增强免疫的支持治疗有望改善患者预后。

关键词 卵巢肿瘤；免疫学
中图分类号 R737.31；R446.63

肿瘤的发生发展与机体的免疫功能密切相关，其中细胞免疫，特别是其中T细胞和NK细胞在机体抗肿瘤免疫中起着重要作用。本文运用间接免疫荧光法及噻唑蓝比色法对晚期卵巢癌患者全身及肿瘤局部免疫状况进行观测，并探讨手术及化疗对患者免疫功能的影响。

1 材料和方法

1.1 标本来源

1.1.1 1992～1993年本院收治的Ⅲ～Ⅳ期卵巢癌患者31例，其中初发组(初治者)15例，已手术并行周期化疗者16例(化疗组)。患者分别于手术前后，或化疗前后72小时取外周血共40份；初治组取腹水11份，手术切除的新鲜肿瘤组织6份。任选同期入院的妇科良性肿瘤患者26例作为良性肿瘤对照组。

1.1.2 健康女性献血员16例作为正常组。

1.1.3 肿瘤细胞株K_{562}由校病生肿瘤研究室传代培养。

1.2 主要试剂

1.2.1 RPMI 1640(Gibco公司产品)

1.2.2 MTT (Fluka公司产品)

1.2.3 T细胞试剂盒(武汉生物制品研究所)

1.3 方法

1.3.1 运用淋巴细胞分离液梯度离心分离外周血淋巴细胞(PBL)和腹水淋巴细胞(EAL)。

1.3.2 运用Whiteside实验室方法[1]分离肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。

1.3.3 参照Mosman[3]、Honsen[2]等方法测定NK活性。其中效靶比为10:1，MTT浓度为5μg/ml，活性计算公式为：

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

1.3.4 T亚群测定参照药盒说明，分别测出PBL、EAL及TIL中OKT_3^+、OKT_4^+、OKT_8^+、Tac^+及B细胞数分别相当于CD_3^+、CD_4^+、CD_8^+、CD_{16}^+及B)。

2 结果

2.1 卵巢癌患者PBL的NK活性及表型分析

初治组15例患者术前PBL的NK活性为12.04±12.76%显著低于良性肿瘤组(22.16±12.4%)及正常对照组(32.74±8.73%)；与良性肿瘤患者相比，卵巢癌患者PBL中CD_3^+、CD_4^+、B及CD_4^+/CD_8^+比值均显著低下($P<0.05$)

2.2 卵巢癌患者PBL、EAL及TIL的表型与NK活性比较(表1)

从癌组织中分离到的TIL与癌性腹水中分离到的EAL相比，两者NK活性及细胞表型均无明显差异($P>0.05$)；与PBL相比，TIL与EAL中B细胞数均明显减少($P<0.01$)；CD_3^+、CD_4^+/CD_8^+比值降低($P<0.05$)，TIL的NK活性也明显低于PBL($P<0.05$)。

2.3 手术对卵巢癌患者免疫功能的影响

15例初治患者均行全子宫＋双附件及大网膜切除术或肿瘤减灭术。手术前后三天分别测定患

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 卵巢癌PBL、EAL、TIL的NK活性与表型比较

	例数	NK活性(%)	CD_3^+(%)	CD_4^+(%)	CD_8^+(%)	B(%)	CD_{16}^+(%)	CD_4^+/CD_8^+
TIL	6	4.13±6.58$^{\Delta}$	51.60±12.80$^{\Delta}$	32.60±8.82	32.60±12.68	1.20±1.10$^{\Delta}$	1.06±2.74$^{\Delta\bigcirc}$	1.04±0.21$^{\Delta}$
EAL	11	6.28±9.13	54.20±3.45$^{\Delta}$	32.72±8.58	30.72±10.20$^{\Delta}$	2.91±3.42$^{\Delta}$	3.54±2.11	1.09±0.21$^{\Delta}$
PBL	15	12.04±0.76	57.50±2.81	37.81±2.34	30.06±1.88	9.25±2.59	3.50±1.53	1.265±0.10

注:$^{\Delta}$与PBL相比 $P<0.01$;$^{\Delta}$与PBL相比$P<0.05$;○与EAL相比$P<0.05$

表2 单次化疗对卵巢癌患者免疫功能的影响

	例数	NK活性(%)	CD_3^+(%)	CD_4^+(%)	CD_8^+(%)	B(%)	CD_{16}^+(%)	CD_4^+/CD_8^+
化疗前	25	16.19±17.69	58.27±2.12	37.40±2.95	31.67±1.88	11.13±1.77	3.20±1.27	1.18±0.10
化疗后	20	8.63±11.12	51.00±2.80	35.50±1.57	30.67±1.61	10.25±2.22	2.08±1.73	1.18±0.06
*P*值		$P>0.05$	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05

者PBL的NK活性与表型，结果未发现明显变化($P>0.05$).

2.4 化疗对卵巢癌患者免疫功能的影响

化疗组16例均为术后接受含顺铂联合化疗6个疗程以上者。与初治组相比，化疗组B细胞、CD_8^+细胞明显增多，CD_4^+/CD_8^+比值降低($P<0.05$)，但两组NK活性未见明显差异。

注射抗癌药物72小时后，患者PBL中CD_3^+、CD_4^+及B细胞均较用药前明显降低($P<0.05$)，但NK活性无明变化。详见表2。

3 讨论

3.1 卵巢癌患者的免疫功能

在细胞介导的肿瘤免疫应答中，主要参与的效应细胞是细胞毒性T细胞及NK细胞。前者的抗癌活性受主要组织相容性复合物(MHC)限制，且要在肿瘤生长到一定时间后才能发挥作用；后者在体内抵抗突变的肿瘤细胞中起重要作用，是抵抗肿瘤生长的第一线防御力量.

本组晚期卵巢癌患者PBL的NK活性较正常妇女及妇科良性肿瘤患者低下，CD_3^+、CD_4^+及CD_4^+/CD_8^+比值也明显低于良性肿瘤患者，提示晚期卵巢癌患者T细胞数量不足，亚群比严重失调，机体免疫细胞的抗瘤活性明显减低。发生上述变化的原因可能是肿瘤细胞产生某种体液或可溶性因子，诱导产生抑制性T细胞，阻止辅性性T细胞的形成和成熟，进而抑制辅助T细胞功能。

TIL和EAL抗癌活性可反映肿瘤所在部位的免疫功能。本组卵巢癌患者的TIL和EAL与PBL相比其中T、B细胞明显缺乏，CD_4^+/CD_8^+比值更低下，NK活性也降低。可见，晚期卵巢癌患者肿瘤局部的免疫功能较全身低下更严重。由此推测：在肿瘤发生初期，癌细胞数量少，免疫抑制作用亦小，主要在肿瘤局部发挥作用；当癌细胞逃脱机体免疫监视后，肿瘤得以继续生长，其免疫抑制作用显著增强，进一步抑制外周血淋巴细胞的免疫功能，最终致肿瘤扩散和转移。

3.2 手术及化疗对机体免疫功能的影响

卵巢癌患者的免疫功能受自身肿瘤，营养状况及所接受的治疗的制约。手术切除大块瘤体可

维普资讯 http://www.cqvip.com

有效抑制，削减肿瘤细胞产生的免疫抑制因子，激发和促进机体抗肿瘤免疫应答。本组试验未发现手术前后免疫功能的变化，与抽血时间、手术创伤、失血等非特异抑制机体免疫功能的因素有关。

化疗药物多具细胞毒性，在杀灭肿瘤细胞的同时必将造成免疫活性细胞的损耗。本组患者注射抗癌药后PBL中CD_3^+，CD_4^+明显减少，CD_4^+/CD_8^+比值下降与Onsurd报道一致；接受多疗程化疗的患者PBL中CD_3^+、CD_4^+与未化疗者无差异，但CD_8^+细胞增多，CD_4^+/CD_8^+严重倒置，可见多次重复打击使机体内CD_8^+细胞(包括抑制T细胞)明显增多，以致免疫应答网络中有重要作用的CD_4^+/CD_8^+比例失衡，影响抗肿瘤免疫反应的有效发挥，机体仍处于严重的免疫抑制状况。因此，常规手术、化疗的间歇予以积极支持，解除免疫抑制才有望改善卵巢癌患者的预后。

参考文献

1.Whiteide TL, et al. J Immunol Methods 198 6;90:221
2.Mosman T,J Immunol Methods;1983;65:55
3.Hansen MB,et al. J Immunol Methods 1989;19;243
4.Robb RJ,et al. J Immunol 1987;139:855
5.Kumar A,et al. J Immunol 1987;138;1485
6.Onsurd M,et al. Gynecol Oncol 1986;23:323

(收稿日期 1996—05—24)

The study on body's and local cellular immune activity in ovarian carcinonma

He Wei,et al
Department of Gynecol.Obstetric,The college of clinical Maicine

The nature killer (NK)activity and the subset of lymphocytes isolated from peripheral blood(PBL),ascitic fluid (EAL)and fresh tumor tissue(TIL)were studied on 31 cases of advanced ovarian carcinoma(AOC),using MTT, ID—IF methods.The AOC showed lower NK activity,fewer CD_3^+, CD_4^+/CD_8^++ratio in PBL,compared with normal women and women with benign tumor.Both TIL and EAL contained much fewer CD_3^+, CD_4^+ and B lymphocytes than PBL.The NK activity of TIL was significently decreeased.The CD_3^+, CD_4^+ and B ymphocytes decreased after chemtherapy too.These suggest that the immunocompetence is impaired in AOC,especially in the tumor—surrounding area,It can be further suppressed by chemotherapy.So immunotherapy should be combined with operation and chemotherapy in the treatment of AOC.

KEY WORDS Ovarian Carcinoma;Immune Activity