

免疫治疗方案对甲状腺癌术后患者的疗效及免疫功能的影响

闫军 李亮 陈曦 (新疆医科大学第二附属医院普外科 新疆 乌鲁木齐 830028)

【摘要】 目的 探讨树突状细胞-细胞因子诱导杀伤细胞(DC-CIK)生物免疫疗法对甲状腺癌患者的疗效及术后免疫功能的影响。方法 2013年6月至2015年7月将84例甲状腺癌患者随机分为对照组($n=42$)及观察组($n=42$),两组均行甲状腺肿瘤切除术。对照组术后行CMF[环磷酰胺(CTX)+甲氨蝶呤(MTX)+氟尿嘧啶(5-FU)]化疗方案辅助治疗,观察组术后应用DC-CIK治疗。对比分析两组患者治疗效果、术后免疫功能、炎症因子及血管内皮细胞因子(VEGF)水平的变化。结果 观察组近期总有效率85.71%高于对照组的59.52%,组间比较有统计学差异($P<0.05$)。观察组治疗后 $CD4^+Th17$ 细胞比率低于对照组, $Th17/Treg$ 、 $CD4^+CD^{+25}Treg$ 细胞的比率则高于对照组($P<0.05$)。观察组患者术后白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤细胞坏死因子- α (TNF- α)及VEGF水平显著低于对照组($P<0.05$)。结论 DC-CIK生物免疫疗法能有效改善甲状腺癌患者术后免疫功能,降低患者炎症因子水平,提高患者治疗效果。

【关键词】 甲状腺癌 免疫疗法 免疫功能 炎症因子 血管内皮细胞因子

The impact of immune therapy on the post-operative efficacy and immune function in thyroid cancer patients. YAN Jun, LI Liang, CHEN Xi. Department of General Surgery, The Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang 830028, China.

【Abstract】 Objective To investigate the influence of dendritic cell-cytokine induced killer cells (DC-CIK) biological immunotherapy on the post operative effect and immune function in the thyroid cancer patients. **Methods** Eighty-four cases of thyroid cancer were randomly divided into control group ($n=42$) and observation group ($n=42$) from June 2013 to July 2015. Two groups were underwent with thyroid tumor resection, postoperative group CMF [cyclophosphamide (CTX) + methotrexate (MTX) + fluorouracil (5-FU)] chemotherapy adjuvant therapy, postoperative observation group were treated with DC-CIK. The therapeutic effect, after immunization function, changes in inflammatory cytokines and vascular endothelial growth factor (VEGF) of two groups were compared. **Results** The recent overall response rate of observation group (85.71%) were higher than that of control group (59.52%) ($P<0.05$). The levels of $CD4^+Th17$ cell ratio of observation group was lower than that of the control group after treatment. The levels of $Th17/Treg$, $CD4^+CD^{+25}Treg$ cells ratio of observation group were higher than those of control group ($P<0.05$). The levels of interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and VEGF of observation group were significantly lower than those of the control group ($P<0.05$). **Conclusion** DC-CIK immune therapy can effectively improve the immune function of postoperative patients with thyroid cancer, reduce inflammatory factors in patients, improve patient outcomes.

【Key words】 Thyroid cancer; Immunotherapy; Immune function; Inflammatory factor; Vascular endothelial growth factor

甲状腺癌是临床上最常见的甲状腺恶性肿瘤,近年患病率呈上升趋势。甲状腺癌早期预后良好,而晚期甲状腺癌恶性程度较高,患者预后较差。有研究指出^[1],机体免疫功能下降,尤其是细胞免疫功能下降是诱发甲状腺癌发病的重要因素之一。血管内皮生长因子(VEGF)是血管内皮细胞特异性肝素结合生长因子,其水平与甲状腺癌细胞侵袭、转移有密切的关系^[2]。外科手术是治疗早期甲状腺癌最有效的方法,但围手术期创伤会破坏机体免疫功能,促使机体炎症因子释放,加重机体炎症反应,进而影响患者预后^[3]。近年随着免疫分子及细胞生物学的发展,树突状细胞-细胞因子诱导杀伤细胞(DC-CIK)生物免疫疗法成为治疗肿瘤的重要辅助手段^[4]。本研究将探讨DC-CIK生物免疫疗法对甲状腺癌患者疗效及术后免疫功能的影响,旨在为甲状腺癌患者手术后的有效治疗提供指导。

1 资料与方法

1.1 临床资料 2013年6月至2015年7月将84例甲状腺癌患者为研究对象,纳入标准:①患者卡氏评分(KPS) ≥ 70 分;②均经CT及病理组织学共同确诊;③

患者TNM分期为I~III期,符合手术治疗指征,无远处病灶转移;④患者均签署手术意向书。排除标准:①对手术不耐受者;②心、肝、肾功能衰竭者;③预计生存期限 < 6 个月。根据随机数字表将患者分为观察组及对照组各42例。对照组:男性12例,女性30例;年龄24~56岁,平均年龄(38.6 ± 3.7)岁;病程3~18个月,平均病程(8.32 ± 2.56)个月;滤泡癌14例,乳头癌28例,单侧癌20例,双侧癌22例。观察组:男性18例,女性24例;年龄25~58岁,平均年龄(39.3 ± 3.9)岁;病程3~18个月,平均病程(7.96 ± 1.96)个月;滤泡癌12例,乳头癌30例,单侧癌18例,双侧癌24例。两组患者临床资料比较无统计学差异($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法 患者均行患侧甲状腺切除术治疗,对照组行CMF[环磷酰胺(CTX)+甲氨蝶呤(MTX)+氟尿嘧啶(5-FU)]化疗方案治疗,CTX 50 mg/m²静脉注射第1、8天,MTX 50 mg/m²静脉注射第1、8天,5-FU 500 mg/m²静脉注射第1、8天,上述3药中,先注射MTX 6 h后再注射CTX和5-FU,以取得药物协同作用。每7~10 d给药1次,每用药2~3次,28 d为一个

周期,共6个周期。观察组在对照组基础上应用DC-CIK生物免疫治疗:制备CD细胞:抽取患者静脉血,采用离心机分离单核细胞,应用Ficoll淋巴细胞分离液将淋巴细胞洗涤并分离,采用BIN无血清培养基制备细胞分离液,并置于恒温箱内孵育2h。移取细胞液后加入1000 U/L GM-CSF和500 U/L 白介素4(IL-4),继续培养2~3d后更换1次培养液,第6天后加入500 U/ml的肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。分离淋巴细胞后加入含有10%的AB型人血清PMI-1640培养液及1000 U/L重组人干扰素(INF- γ),孵育24h后培养液更换为含1000 ng/ml的小鼠抗人CD3单克隆抗体及含有IL-1、IL-2的RPMI-1640培养液,培养2d后更换为含有IL-2的完全培养液,培养至第7天后按DC:CIK细胞1:5的比例混合,制备DC-CIK细胞悬浮液,并以 5×10^6 个/L的DC-CIK细胞回输体内,4次为1疗程,持续对患者治疗3~8个流程。

1.3 疗效评价 患者出院后1个月内采用参照WHO肿瘤化疗疗效的评价标准^[5],分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(SD)和进展(PD),以CR+PR计算有效率。

1.4 观察指标 ①免疫功能测定:两组于清晨空腹抽取静脉血5ml,加肝素钠抗凝,以3000 r/min的离心速度离心10min后,留取悬浮液。加入淋巴细胞分离液,应用密度梯度离心法将单核细胞分离,采用RPM1640将细胞浓度调整为 2×10^6 /ml,分别加入鼠抗人CD4单抗及鼠抗人CD25单抗,4℃避光放置20min。室温下采用固定液处理15min,并离心留取沉淀物,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤2次后行细胞浆染色,染色后采用美国贝

克曼公司提供的Beckm Epics流式细胞仪检测。②炎症因子:治疗前及治疗结束后空腹抽取患者静脉血5ml,以3000 r/min离心20min,留取血浆并置于-20℃中保存待测。应用ELISA法测定血清IL-1、IL-6、TNF- α 及VEGF水平。IL-1试剂盒由上海酶联生物技术有限公司提供,IL-6试剂盒由上海开放生物技术有限公司提供,TNF- α 试剂盒由上海一研生物技术有限公司提供,VEGF试剂盒由上海书吉生物技术有限公司提供,操作过程严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.5 统计学方法 采用SPSS 17.0统计软件包进行处理分析,计量资料采用均数标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间计量资料采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组近期疗效分析 观察组近期总有效率85.71%高于对照组的59.52%,组间比较有统计学差异($\chi^2 = 7.227, P < 0.05$)。见表1。

表1 两组近期疗效分析 [例(%)]

组别	例数	CR	PR	NC	PD	RR
观察组	42	25(59.52)	11(26.19)	5(11.90)	1(2.38)	36(85.71)
对照组	42	15(35.71)	10(23.81)	10(23.81)	7(16.67)	25(59.52)

2.2 两组治疗前后T细胞水平对比 治疗前两组T细胞水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后两组CD4⁺Th17细胞比率有明显降低,Th17/Treg、CD4⁺CD25⁺Treg细胞的比率有明显升高($P < 0.05$)。组间比较观察组治疗后CD4⁺Th17细胞比率低于对照组,Th17/Treg、CD4⁺CD25⁺Treg细胞的比率则高于对照组($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组治疗前后T细胞水平对比 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	CD4 ⁺ Th17				CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg				Th17/Treg			
		治疗前	治疗后	t 值	P 值	治疗前	治疗后	t 值	P 值	治疗前	治疗后	t 值	P 值
观察组	42	2.41 $\pm$ 0.82	1.08 $\pm$ 0.59	8.532	0.000	4.75 $\pm$ 0.68	10.69 $\pm$ 0.92	33.649	0.000	12.98 $\pm$ 3.12	32.98 $\pm$ 4.12	25.078	0.000
对照组	42	2.39 $\pm$ 0.84	1.79 $\pm$ 0.42	4.140	0.000	4.73 $\pm$ 0.71	7.28 $\pm$ 0.87	14.716	0.000	12.58 $\pm$ 3.07	27.25 $\pm$ 3.48	20.487	0.000
t 值		0.110	6.353			0.132	14.453			0.592	6.885		
P 值		0.923	0.000			0.895	0.000			0.555	0.000		

2.3 两组患者治疗前后血清炎症因子及VEGF水平比较 治疗前两组血清炎症因子及VEGF水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后两组IL-1、IL-6、

TNF- α 及VEGF水平有明显降低($P < 0.05$)。且观察组患者术后IL-1、IL-6、TNF- α 及VEGF水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组患者治疗前后血清炎症因子及VEGF水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-1(μ g/ml)				IL-6(μ g/ml)			
		治疗前	治疗后	t 值	P 值	治疗前	治疗后	t 值	P 值
观察组	42	198.36 $\pm$ 12.78	102.85 $\pm$ 4.85	45.282	0.000	812.25 $\pm$ 28.25	189.25 $\pm$ 30.45	97.204	0.000
对照组	42	197.86 $\pm$ 11.96	158.96 $\pm$ 12.36	14.658	0.000	809.63 $\pm$ 30.22	418.25 $\pm$ 50.69	42.979	0.000
t 值		0.185	27.387			0.410	25.097		
P 值		0.854	0.000			0.685	0.000		

续表 3 两组患者治疗前后血清炎症因子及 VEGF 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TNF- α (ng/ml)				VEGF(μ g/ml)			
		治疗前	治疗后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	治疗前	治疗后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
观察组	42	8.12 $\pm$ 0.85	2.98 $\pm$ 0.15	38.593	0.000	225.25 $\pm$ 32.25	156.36 $\pm$ 28.25	10.413	0.000
对照组	42	8.09 $\pm$ 0.79	4.98 $\pm$ 0.36	23.439	0.000	220.96 $\pm$ 34.78	188.96 $\pm$ 30.25	4.499	0.000
<i>t</i> 值		0.167	33.234			0.586	5.104		
<i>P</i> 值		0.867	0.000			0.559	0.000		

3 讨论

化疗联合手术是目前治疗肿瘤常用的手段之一,化疗会破坏患者自身免疫功能,导致患者出现不良反应,影响患者治疗效果。手术作为患者围手术期应激反应源可影响机体神经内分泌反应,增强丘脑下部-垂体前叶-肾上腺皮质轴及促使交感神经系统兴奋,从而刺激糖皮质激素及儿茶酚胺释放到血液中,抑制机体免疫水平,并促使机体产生炎症因子,加重机体炎症反应^[6]。围手术期积极提高患者免疫功能,减轻患者炎症反应对改善甲状腺癌患者预后具有重要的意义。随着细胞生物学及免疫学的发展,DC-DIK 生物免疫治疗肿瘤作为新型的辅助治疗手段,目前获得广泛的关注^[7-8]。

本研究结果发现,观察组患者临床总有效率显著高于对照组,表明术后对甲状腺癌患者应用 DC-DIK 生物免疫治疗能获得显著的效果,与既往相关研究一致^[9]。另外,观察组患者经治疗后,外周血 CD4⁺Th17 细胞比率低于对照组,Th17/Treg、CD4⁺CD⁺25⁺Treg 细胞的比率则高于对照组,患者机体免疫功能较之前得到显著改善^[10]。这一结果表明 DC-DIK 生物免疫治疗能有效改善机体免疫功能。其可能作用机制为 DC 细胞与 CIK 细胞经共同培养后可活化 Th17/Treg 细胞群,可促使 IL-2、INF- γ 表达及分泌^[11]。另外 DC 细胞可分泌多种细胞因子并可促进 CIK 细胞成熟进而获得更具杀伤性质活性更强的 DC-DIK 细胞。当 DC-DIK 细胞回输到体内后,Th17/Treg、CD4⁺CD⁺25⁺Treg 细胞可特异性清除体内肿瘤细胞,进而提高治疗效果^[12]。此外,成熟的 DC 细胞可通过活化 NK 细胞及诱导 T 细胞分化而发挥免疫调节作用,进而增强患者免疫功能。

本研究结果显示,观察组术后 IL-1、IL-6、TNF- α 水平显著低于对照组,表明 DC-DIK 免疫治疗能有效抑制患者炎症因子释放,有利于减轻患者围手术期炎症反应,促进患者术后康复。VEGF 可通过增加血管通透性,促进血管内皮细胞趋化及有丝分裂,从而促进新生血管形成,是促血管形成因子,癌细胞的生成及转移需要依赖新生血管为其提供营养,因此 VEGF 水平升高与癌症患者病情发生及进展具有密切的关系^[13]。本研

究中观察组 VEGF 水平显著低于对照组,从而表明 DC-DIK 免疫治疗可通过调节机体免疫功能进而抑制 VEGF 生成及分泌,抑制血管内皮生长,进而阻断肿瘤生长及转移时所需的血供,从而抑制肿瘤生长。

4 结论

综上所述,DC-DIK 生物免疫疗法能有效改善甲状腺癌患者术后免疫功能,降低患者炎症因子,提高患者治疗效果。

参考文献

- [1] 于颖娟. 甲状腺癌的诊断与治疗进展[J]. 中国现代医生, 2012, 50(18): 18-19.
- [2] 董慧蕾, 李振东, 李树春, 等. 老年甲状腺癌的临床特点及预后分析[J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(6): 1169-1172.
- [3] 孙宇, 赵裕新, 徐光明, 等. 甲状腺癌 128 例诊治体会[J]. 中国现代普通外科进展, 2013, 16(2): 159-160.
- [4] 郭欣, 吴志宇, 陈春悠, 等. 免疫负调控分子肿瘤坏死因子诱导蛋白 8 样蛋白 2 在甲状腺癌中的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(3): 601-604.
- [5] Ito F, Furukawa N, Nakai T. Evaluation of TOP2A as a predictive marker for endometrial cancer with taxane-containing adjuvant chemotherapy[J]. Int J Gynecol Cancer, 2015, 19(2): 78-80.
- [6] Avenia N, Vannucci J, Monacelli M, et al. Thyroid cancer invading the airway: diagnosis and management[J]. Int J Surg, 2015, 8(2): 76-80.
- [7] 于金明, 滕菲菲. 放疗与免疫治疗联合应用的相关机制及研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 52(9): 547-550.
- [8] 郑婷, 寇晓霞, 袁振刚, 等. DC-DIK 细胞联合化疗治疗广泛期小细胞肺癌的临床疗效[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2016, 23(3): 403-407.
- [9] 叶萍萍, 王豪勋, 马军, 等. 肿瘤患者树突状细胞联合细胞因子诱导杀伤细胞免疫治疗后血清免疫学变化及临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(10): 2539-2541.
- [10] 赵红霞, 艾辉胜. 肿瘤过继性细胞免疫治疗进展[J]. 国际免疫学杂志, 2012, 35(3): 201-204.
- [11] 朱征, 杨敏, 潘虹, 等. CIK 细胞免疫治疗对肿瘤患者血清 LDH、ADA 水平的影响[J]. 检验医学, 2014, 29(8): 860-862.
- [12] de Castroneves LA, Negrao MV, de Freitas RM, et al. Sorafenib for the treatment of progressive metastatic medullary thyroid cancer: efficacy and safety analysis[J]. Thyroid, 2016, 26(3): 414-419.
- [13] 任军, 黄红艳. 靶向免疫检查点的肿瘤免疫治疗现状与趋势[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 52(7): 415-419.

(收稿日期: 2016-08-17)