

## ·临床研究 Clinical research·

## 薏苡仁三酰甘油联合化疗栓塞对中晚期肝癌患者免疫功能的影响

商红叶, 杨 茂, 郭 卉

**【摘要】 目的** 分析薏苡仁三酰甘油联合肝动脉化疗栓塞(TACE)对中晚期原发性肝癌(HCC)患者 AFP、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节 T(Treg)细胞、细胞免疫功能的影响及临床意义。**方法** 回顾 50 例中晚期 HCC 患者(经影像学检查显示无远处转移)资料,依据治疗方式分为两组:薏苡仁三酰甘油联合 TACE 治疗 25 例为研究组,单纯 TACE 治疗 25 例为对照组,研究组患者在 TACE 同时经肝动脉灌注薏苡仁三酰甘油 100 ml,术后应用薏苡仁三酰甘油静滴 5 d,每日 200 ml。分别于治疗前 1 周、治疗后 1 个月取外周血,检测 AFP、T 淋巴细胞亚群(CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、Treg)水平变化;术后 1 个月采用增强 CT、MRI 或 PET-CT 评价肿瘤坏死程度。**结果** 两组治疗后 AFP 均下降,差异具有统计学意义( $P<0.01$ ),研究组肿瘤坏死率( $57.7\pm 8.2\%$ )较对照组( $56.8\pm 8.5\%$ )略高,但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。研究组 Treg 细胞比例由( $8.27\pm 6.65\%$ )下降至( $4.22\pm 1.59\%$ ),二者差异具有统计学意义( $P<0.01$ );CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>细胞比例及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>分别由( $55.78\pm 13.66\%$ )、( $43.98\pm 14.00\%$ )、 $1.22\pm 0.64$  上升至( $62.29\pm 10.78\%$ )、( $51.82\pm 16.32\%$ )、 $1.54\pm 0.80$  ( $P<0.05$ ),CD8<sup>+</sup>由( $45.71\pm 12.94\%$ )下降至( $39.70\pm 12.41\%$ ) ( $P<0.05$ )。对照组治疗前后比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 薏苡仁三酰甘油联合 TACE 治疗中晚期肝癌可以降低 Treg 细胞比例,可能在一定程度上影响患者细胞免疫状态,有可能降低 HCC 患者 TACE 术后复发的机会。

**【关键词】** 原发性肝细胞癌; 往动脉注入栓塞; 薏苡仁三酰甘油; T 淋巴细胞亚群; CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节 T 细胞(Treg 细胞)

中图分类号:R735.7 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2015)-09-0807-04

**Influence of coix seed triglyceride combined with transcatheter arterial chemoembolization therapy on the immune function in patients with advanced primary hepatocellular carcinoma** SHANG Hong-ye, YANG Mao, GUO Hui. Department of Hepatobiliary Diseases, First Affiliated Hospital, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Corresponding author: GUO Hui, E-mail: guohui3105@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the influence of coix seed triglyceride combined with transcatheter arterial chemoembolization (TACE) therapy on AFP, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T (Treg) cells and cellular immune function in patients with advanced primary hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A total of 50 patients with inoperable HCC, whose imaging examination showed no distant metastasis, were divided into the study group ( $n=25$ ) and the control group ( $n=25$ ). Coix seed triglyceride together with TACE was employed for the patients of the study group, while only TACE was adopted for the patients of the control group. For the patients of the study group, transcatheter hepatic artery infusion of 100 ml coix seed triglyceride was carried out during the performance of TACE, and postoperative intravenous drip of coix seed triglyceride (200 ml/d) was used for 5 days. The peripheral blood samples were collected one week before and one month after the treatment to detect the changes of AFP and T lymphocyte subsets (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> and Treg) levels. One month after the treatment, enhanced CT, MRI or PET-CT was performed to evaluate the necrosis degree of the tumor. **Results** After the treatment, AFP levels was decreased in both groups, when compared the preoperative data the differences were statistically significant

( $P<0.01$ ); the tumor necrosis rate of the study group was  $(57.7\pm 8.2)\%$ , which was slightly higher than  $(57.7\pm 8.2)\%$  of the control group, however, the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ). In the study group, the percentage of Treg cells decreased from preoperative  $(8.27\pm 6.65)\%$  to postoperative  $(4.22\pm 1.59)\%$ , the difference was statistically significant ( $P<0.01$ ). The percentages of  $CD3^+$  and  $CD4^+$  and the ratio of  $CD4^+/CD8^+$  increased from preoperative  $(55.78\pm 13.66)\%$ ,  $(43.98\pm 14.00)\%$  and  $1.22\pm 0.64$  to postoperative  $(62.29\pm 10.78)\%$  ( $P<0.01$ ),  $(51.82\pm 16.32)\%$  ( $P<0.05$ ) and  $1.54\pm 0.80$  ( $P<0.05$ ) respectively, while the percentage of  $CD8^+$  decreased from preoperative  $(45.71\pm 12.94)\%$  to postoperative  $(39.70\pm 12.41)\%$  ( $P<0.05$ ). In the control group, no statistically significant differences in the above mentioned indexes existed between preoperative data and postoperative ones ( $P>0.05$ ). **Conclusion** In treating advanced primary HCC, coix seed triglyceride combined with TACE can reduce the percentage of Treg cells, thus, influence the patient's cellular immune status and possibly decrease the recurrence rate of HCC after TACE therapy. (J Intervent Radiol, 2015, 24: 807-810)

**[Key words]** hepatocellular carcinoma; transcatheter arterial chemoembolization; coix seed triglyceride; T lymphocyte subset;  $CD4^+$   $CD25^+$  Treg cell

肝细胞癌(HCC)是最常见的恶性肿瘤之一,其发病率在恶性肿瘤中位居全球第6位,死亡率位居第3。中国占新发肝癌55%,每年因肝癌死亡人数超过30万人<sup>[1-2]</sup>。手术被认为是HCC的可治愈性手段,但由于HCC发病隐匿、病程进展迅速,患者就诊时往往已处于中晚期,仅有30%~40%患者有机会进行手术切除。按照巴塞罗那分期系统(BCLC),不能手术切除的中晚期HCC患者(BCLC B期及C期)主要的治疗手段为局部介入治疗,如经皮肝动脉化疗栓塞(TACE)是HCC非手术治疗的首选标准治疗,可以显著提高患者的2年生存率<sup>[3]</sup>。但HCC是异质性很高的肿瘤,单纯TACE往往难以确保栓塞完全,特别是对于直径大于5 cm的HCC,术后仍有相当部分癌灶残存,并且TACE是一种局部治疗,对于伴有微血管侵犯或门脉侵犯者不能有效地预防术后的复发,局部治疗术后造成的缺氧环境,诱导血管内皮生长因子(VEGF)的产生增加,促进新生血管的形成,会导致介入术后的转移复发,越来越多的学者认识到对HCC采用综合介入治疗的必要性和重要性。薏苡仁三酰甘油具多种抗恶性肿瘤作用机制,其可抑制炎症因子分泌,阻止癌性恶液质发生发展,诱发细胞凋亡,抑制细胞生长,抑制肿瘤血管生成,逆转肿瘤细胞的化疗多药耐药。另外更重要的是薏苡仁三酰甘油在一定程度激活机体抗肿瘤免疫反应<sup>[4-5]</sup>。

本文通过研究薏苡仁三酰甘油联合TACE治疗前后肝癌患者外周血T淋巴细胞亚群变化,尤其Treg细胞亚群变化,初步探讨联合治疗对肝癌患者细胞免疫状态的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 临床资料 收集天津中医药大学第一附属医院从2008年1月至2013年12月期间收治的HCC 50例,男38例,女12例。中位年龄57岁(35岁~77岁)。

纳入标准:经穿刺活检病理诊断或者有计算机断层扫描(CT)、磁共振(MRI)及造影(DSA)等HCC影像学证据,且血清甲胎蛋白(AFP)高水平表达( $>200$  ng/mL);治疗前CT或MRI检测肿块最大直径为4~15 cm,平均6.5 cm,无远处转移,肝内病灶总数不超过3个;肝功能为Child-Pugh A或B级;年龄在18周岁或以上;美国东部肿瘤协作组行为状态分级ECOG评分 $<2$ 分。

排除标准:合并免疫系统或感染性疾病;治疗前60 d接受过放化疗或影响免疫功能药物。

1.1.2 仪器和主要试剂 东芝数字减影机(DEP22000A型);FACS Aria™流式细胞仪(美国BD公司产品);流式细胞抗体包括:  $CD4^+$ PerCP 单克隆抗体、 $CD25^+$ FITC 单克隆抗体、 $CD127$ -PE 单克隆抗体、ThriTESTCD3-FITC/ $CD16^+$   $CD56$ -PE/ $CD45$ -PerCP 单克隆抗体、ThriT2ESTCD4-FITC/ $CD8$ -PE/ $CD3$ -PerCP 单克隆抗体(均为美国BD公司产品)。

### 1.2 方法

1.2.1 TACE 采用Seldinger技术,经皮股动脉穿刺,导管选择至肿瘤供血动脉行数字减影血管造影,根据肿瘤血供情况进行栓塞。所有患者进行TACE治疗。TACE治疗方案为5-FU 750~1 000 mg、DDP 40~80 mg、MMC 20 mg或EADM 40~60 mg加

超液化碘油 5~20 ml。

1.2.2 TACE 联合薏苡仁三酰甘油治疗 患者均先行 TACE 治疗,术中经肝动脉灌注薏苡仁三酰甘油 100 ml,术后应用薏苡仁三酰甘油静滴,每日 200 ml,连续 5 d。

1.2.3 免疫指标的检测 检测治疗前 1 周及治疗后 1 个月患者外周血 T 淋巴细胞亚群(CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、Treg 细胞)水平变化。

1.2.4 随访 研究组与对照组 1 个月后复查血浆 AFP 及腹部 CT、MRI 或 PET-CT,评价肿瘤标志物变化,根据 Cavalieri 方法计算肿瘤坏死率。

### 1.3 统计学方法

利用 SPSS 19.0 软件包处理本文所有数据,连续性变量资料采用平均数±标准差表示,采用均数间 *t* 检验进行比较,治疗前后比较采用配对资料 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者资料和分组

本研究共入组 50 例中晚期大肝癌患者,初诊肝癌 26 例,4 例肝癌切除术后复发;27 例乙肝,3 例丙肝,余无肝炎基础;治疗前 AFP≤400 ng/ml 的 21 例,AFP>400 ng/ml 的 29 例;ECOG 评分 0 分 26 例,1 分 24 例;Child-pugh 分级 A 级 32 例,B 级 18 例。

接受薏苡仁三酰甘油联合 TACE 25 例作为研究组,接受单纯 TACE 25 例为对照组。

### 2.2 近期疗效

2.2.1 血清 AFP 下降情况 两组治疗后 AFP 均有所下降,差异有统计学意义(*P*<0.05)。详见表 1。

表 1 两组治疗前后血清 AFP 变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

时间	研究组	对照组
治疗前	2 225.8±687.0	1 934.9±559.2
治疗后	900.1±334.9	1 018.0±318.7
<i>t</i> 值	2.653	2.382
<i>P</i> 值	<i>P</i> <0.05	<i>P</i> <0.05

2.2.2 肿瘤坏死率比较 研究组肿瘤坏死率(53.9±12.4)%、对照组肿瘤坏死率为(32.8±7.1)%,二者差异具有统计学意义(*t*=7.836,*P*<0.01)。详见表 2。

表 2 研究组与对照组治疗后肿瘤坏死率比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	肿瘤坏死率	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
研究组	25	57.7±8.2	0.864	<i>P</i> >0.05
对照组	25	56.8±8.5		

### 2.3 T 淋巴细胞亚群比例变化

研究组治疗后 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>细胞的比例和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值上升,CD8<sup>+</sup>和 Treg 细胞比例下降,均具有统计学意义(*P*<0.05)。对照组治疗后 Treg 细胞、CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>细胞比例及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>略有下降,CD8<sup>+</sup>下降,差异均无统计学意义(*P*>0.05)。详见表 3。

表 3 两组治疗前后 T 淋巴细胞亚群比例变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	CD3 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> (%)	CD8 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	Treg(%)
研究组					
治疗前	55.78±13.66	43.98±14.00	45.71±12.94	1.22±0.64	8.27±6.65
治疗后	62.29±10.78	51.82±16.32	39.70±12.41	1.54±0.80	4.22±1.59
<i>t</i> 值	2.860	2.454	2.442	2.579	2.907
<i>P</i> 值	<0.01	<0.05	<0.05	<0.05	<0.01
对照组					
治疗前	50.96±8.91	46.43±14.35	44.85±13.09	1.22±0.71	8.02±2.73
治疗后	51.12±5.67	49.42±14.60	41.49±11.99	1.40±0.71	6.92±2.41
<i>t</i> 值	0.923	1.181	1.551	1.564	1.951
<i>P</i> 值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

### 2.4 不良反应

两组患者术后均有不同程度的疼痛、发热等反应,对症处理后逐渐缓解。术后均予抗炎、保肝治疗,均无感染、肝肾功能损害加重。

## 3 讨论

研究不能切除的肝癌的综合治疗方法,提高肝癌特别是中晚期肝癌的治疗效果是当今亟待解决的重要问题。TACE 是 BCLC 分期治疗系统推荐的重要问题。TACE 是 BCLC B 期肝癌首选的治疗方案。TACE 是建立在高

级别循证医学证据的基础上的,它能使患者获得确切的生存受益<sup>[6]</sup>。TACE 已成为国内外公认的中晚期原发性肝癌的主要疗法之一,但单纯 TACE 治疗肝癌病灶完全坏死率低,且 TACE 造成的局部缺氧环境可能促进肿瘤血管的再生。而一旦癌细胞残存会具有或产生更强的增殖和侵袭能力,常导致单纯 TACE 治疗较大肝癌术后的复发转移<sup>[7]</sup>。近年来化疗新药的层出不穷,手术治疗及放化疗在原发灶控制方面发展迅速,但在预防肿瘤复发转移方面尚无新突破。而肿瘤患者机体免疫状态及中草药有效组分

抗肿瘤作用已经得到了越来越多人的重视<sup>[8-9]</sup>。薏苡仁三酰甘油是我国自行开发研制的中药抗肿瘤新药,它是从薏苡仁中提取的天然有效抗癌活性物质——薏苡仁三酰甘油,以先进的工艺研制而成的脂肪乳剂<sup>[10]</sup>。经药理学研究表明,它可使癌细胞停滞于 G2/M 期,阻滞癌细胞分裂,抑制癌细胞增殖,并诱导癌细胞凋亡,同时具有调整机体免疫功能的作用,对肝癌等癌症均有较好疗效<sup>[4-5,11]</sup>。本组研究结果表明 TACE 联合薏苡仁三酰甘油治疗肝癌近期疗效满意。

我国 HCC 的病因主要是乙型病毒性肝炎,该类患者均存在不同程度的免疫功能缺陷<sup>[12-13]</sup>,表现为 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>比例降低,CD8<sup>+</sup>比例增高,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值下降。CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>Treg 细胞是一种免疫抑制细胞,它具有免疫抑制等特征<sup>[14]</sup>。研究表明<sup>[15-16]</sup>,HCC 患者 Treg 细胞比例的升高,对机体的抗肿瘤免疫反应起负向调节作用,其比例增加提示预后不良。通过各种途径降低 Treg 细胞比例或者下调其活性可显著改善机体抗肿瘤免疫状态,有助于降低肿瘤的复发和转移<sup>[17]</sup>。本组结果显示:研究组 Treg 细胞比例下降,具有统计学意义( $P<0.01$ ),同时 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>细胞比例和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值上升,CD8<sup>+</sup>细胞比例下降,均具有统计学意义( $P<0.05$ ),说明薏苡仁三酰甘油有助于提高和改善细胞免疫功能,增强了机体抗肿瘤能力。

总之,薏苡仁三酰甘油联合 TACE 治疗中晚期原发性肝癌是一种安全、有效的方法,其有效率优于单纯 TACE,并可以在短时期内改善患者细胞免疫抑制状态。有效降低肿瘤负荷基础上辅以免疫治疗是否有助于提高疗效,有待于进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61: 69-90.
- [2] Maluccio M, Covey A. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62: 394-399.
- [3] Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008[J]. J Hepatol, 2008, 48: S20-S37.
- [4] 许 锋, 谢 敏, 包善华, 等. 康莱特注射液对胰腺癌手术和介入化疗后免疫功能的评价[J]. 中华临床医师杂志·电子版, 2012, 6: 132-134.
- [5] 杨晓玲. 康莱特注射液对晚期恶性肿瘤患者生活质量及免疫功能影响的临床观察[J]. 山西中医, 2013, 29: 20-21.
- [6] Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival[J]. Hepatology, 2003, 37: 429-442.
- [7] 刘 松, 孟冉冉, 张跃伟. 经肝动脉化疗栓塞与树突状细胞治疗肝癌对机体免疫功能的影响[J]. 介入放射学杂志, 2014, 23: 181-184.
- [8] 包三裕, 张 洪. 康莱特注射液作用机理及临床应用研究[J]. 长春中医药大学学报, 2011, 27: 139-140.
- [9] 韩聚强, 范公忍, 任永强, 等. 不同微创介入治疗原发性肝癌对机体 T 细胞免疫功能的影响[J]. 介入放射学杂志, 2014, 23: 218-221.
- [10] 姚庆华, 郭 勇. 薏苡仁甘油三酯(康莱特)治疗晚期恶性肿瘤患者机制研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39: 1151-1154.
- [11] 武晋荣, 赵和平. 康莱特对小鼠肝癌细胞 Hepa1-6 增殖和凋亡的影响[J]. 中国医药导报, 2010, 7: 18-20.
- [12] 郭 志, 邢文阁, 刘 方, 等. 氩氦冷冻在原发巨块型肝癌介入治疗中的临床应用[J]. 中华放射学杂志, 2005, 39: 198-203.
- [13] Ladhams A, Schmidt C, Sing G, et al. Treatment of non-resectable hepatocellular carcinoma with autologous tumor-pulsed dendritic cells[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2002, 17: 889-896.
- [14] Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, et al. Stimulation of CD25<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance[J]. Nat Immunol, 2002, 3: 135-142.
- [15] Ormandy LA, Hillemann T, Wedemeyer H, et al. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 2005, 65: 2457-2464.
- [16] Kobayashi N, Hiraoka N, Yamagami W, et al. FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells affect the development and progression of hepatocarcinogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13: 902-911.
- [17] Imai H, Saio M, Nonaka K, et al. Depletion of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells enhances interleukin-2-induced antitumor immunity in a mouse model of colon adenocarcinoma[J]. Cancer Sci, 2007, 98: 416-423.

(收稿日期:2014-12-24)

(本文编辑:俞瑞纲)