

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.12.009

原发性肝癌患者免疫细胞变化及其与 HBV-DNA、HBeAg 和肿瘤大小的关系*

王姜琳,杨慧健,于修文,姚娟,陶苗苗,王懿倩,史萍,孙杰[△]

(上海健康医学院附属嘉定区中心医院检验科,上海 201800)

摘要:目的 探讨原发性肝癌患者机体免疫细胞变化及其与乙型肝炎病毒核酸(HBV-DNA)、乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)和肿瘤大小的关系,为原发性肝癌发病免疫机制的研究提供依据。**方法** 选择 2017 年 7 月至 2018 年 12 月该院消化科住院的原发性肝癌患者 120 例为 HCC 组,选择同期 82 例健康体检者为对照组。比较两组研究对象外周血 T 淋巴细胞亚群水平,并比较不同 HBV-DNA 载量、HBeAg 表达及不同肿瘤大小的原发性肝癌患者 T 淋巴细胞亚群情况。**结果** HCC 组患者 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 低于对照组,CD8⁺T 淋巴细胞高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同 HBV-DNA 表达水平者、不同 HBeAg 表达患者 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);大肝癌组 CD4⁺/CD8⁺ 低于小肝癌组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 原发性肝癌患者 T 淋巴细胞亚群的检测能较好地反映患者的细胞免疫水平。

关键词:原发性肝癌; T 淋巴细胞; 乙型肝炎; 细胞免疫

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)12-1659-03

Changes of immune cells in patients with primary hepatocellular carcinoma and their relationship with HBV-DNA, HBeAg and tumor size*

WANG Jianglin, YANG Huijian, YU Xiuwen, YAO Juan, TAO Miaomiao, WANG Yiqian, SHI Ping, SUN Jie[△]

(Department of Clinical Laboratory, Jiading Central Hospital Affiliated of Shanghai University of Medicine and Science, Shanghai 201800, China)

Abstract: Objective To study the changes of immune cells in patients with primary hepatocellular carcinoma (PHC) and their relationship with HBV-DNA, HBeAg and tumor size, so as to provide clinical data for the study of immunological mechanism of PHC. **Methods** A total of 120 patients with PHC (HCC group) and 82 healthy people (control group) from July 2017 to December 2018 were collected. T lymphocyte subsets between the two groups were compared. The expression of HBV-DNA, HBeAg and T lymphocyte subsets in patients with primary hepatocellular carcinoma at different stages were compared. **Results** The levels of CD3⁺T cells, CD4⁺T cells, CD8⁺T cells and CD4⁺/CD8⁺ cells of HCC group were significantly lower than that of control group ($P<0.05$). The levels of CD3⁺T cells, CD4⁺T cells, CD8⁺T cells and CD4⁺/CD8⁺ had no significant difference in patients with different HBeAg expression levels and HBV-DNA levels ($P>0.05$). The level of CD4⁺/CD8⁺ of large hepatocellular carcinoma group was significantly lower than that of small hepatocellular carcinoma group ($P<0.05$). **Conclusion** The detection of T lymphocyte subsets could reflect the cellular immune level of PHC patients.

Key words: primary liver cancer; T lymphocyte subsets; hepatitis B; cellular immunity

原发性肝癌(HCC)在恶性肿瘤发病率中高居第 4 位,仅次于肺癌、胃癌及结直肠癌^[1]。其病因及发病机制尚未完全明确,目前认为与肝硬化、病毒性肝炎、黄曲霉素等化学致癌物质和环境因素有关^[2]。近年来,细胞免疫功能紊乱在肿瘤发生、发展的作用引起

越来越多的关注。本研究回顾性分析 2017 年 7 月至 2018 年 12 月本院 120 例 HCC 患者的临床资料,探讨 HCC 患者机体免疫细胞变化及其与乙型肝炎病毒核酸(HBV-DNA)、乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)和肿瘤大小的关系,旨在为 HCC 发病的免疫机制研究提供依

* 基金项目:上海市卫生和计划生育委员会计划项目(20184Y0087);上海市嘉定区中心医院中青年骨干基金项目(ZQN201609)。

作者简介:王姜琳,女,主管技师,主要从事免疫及病原微生物分子诊断方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: jzx117117@163.com。

据。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 7 月至 2018 年 12 月本院消化科住院的 HCC 患者 120 例为 HCC 组,其中男 84 例,女 36 例;年龄 38~72 岁,平均(58.6±7.4)岁。HCC 诊断参考 2001 年中国抗癌协会肝癌专业委员会颁布的《原发性肝癌的临床诊断与分期标准》^[3],均有病理诊断支持。纳入标准:(1)均有乙型肝炎病毒感染史,就诊时乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性;(2)行根治性肝癌切除术,术前未行射频介入、消融、放疗和化疗。排除肝功能 Child-Pugh 分级 C 级肝细胞癌、转移性肝癌、严重感染及免疫功能缺陷患者。选择同期 82 例健康体检者为对照组,其中男 60 例,女 22 例;年龄 32~71 岁,平均(56.4±7.9)岁。两组年龄、性别构成比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理会批准通过,研究对象签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 T 淋巴细胞亚群检测 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞采用流式细胞术检测,仪器为流式细胞仪 FACSCanto II (美国 BD 公司),试剂盒购自美国 BD 公司,并计算 CD4⁺/CD8⁺。受试者于术前 1 周取乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝静脉血 2 mL,对照组研究对象体检当日取血。

1.2.2 HBV-DNA 的检测 取促凝血 3 mL,离心分离血清,采用荧光定量 PCR 法检测 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞的 HBV-DNA。荧光定量 PCR 仪为 LightCycler480,试剂为上海之江生物有限公司产品。

1.2.3 HBeAg 的检测 采用酶联免疫吸附法对 HBeAg 进行检测,试剂使用罗氏诊断公司产品。严格按试剂说明书设置仪器最佳反应参数。

1.3 观察指标 比较 HCC 组与对照组 T 淋巴细胞亚群水平;比较 HCC 患者中 HBV-DNA<1×10³ copy/mL 与 HBV-DNA≥1×10³ copy/mL 患者 T 淋巴细胞亚群水平;比较 HBeAg(+)患者与 HBeAg(-)患者 T 淋巴细胞亚群水平;比较不同肿瘤大小 T 淋巴细胞亚群水平,以单发肝癌直径<5 cm 患者为小肝癌组,单发肝癌直径≥5 cm 为大肝癌组。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计学软件对数据进行分析。计量资料采用采 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC 组与对照组 T 淋巴细胞亚群检测情况 结果显示,HCC 组 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 低于对照组,CD8⁺T 淋巴细胞高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 不同 HBV-DNA 表达水平患者 T 淋巴细胞亚群比较 结果显示,不同 HBV-DNA 表达水平患者 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 HCC 组与对照组 T 淋巴细胞亚群比较($\bar{x}\pm s$)					
组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	82	72.14±8.64	39.26±5.68	28.15±5.34	1.71±0.38
HCC 组	120	63.92±8.41	26.91±6.17	30.43±6.14	0.99±0.35
<i>t</i>		45.305	14.423	2.730	13.865
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000

2.3 HBeAg(+)患者与 HBeAg(-)患者 T 淋巴细胞亚群水平比较 结果显示,HBeAg(+)患者与 HBeAg(-)患者 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 2 不同 HBV-DNA 表达水平患者 T 淋巴细胞亚群比较($\bar{x}\pm s$)					
组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
HBV-DNA<1×10 ³ copy/mL 组	44	62.85±7.82	25.77±4.96	29.45±5.85	0.98±0.31
HBV-DNA≥1×10 ³ copy/mL 组	76	64.36±7.51	27.12±5.55	30.99±5.75	1.02±0.28
<i>t</i>		1.046	1.334	1.465	0.725
<i>P</i>		0.298	0.185	0.163	0.470

表 3 HBeAg(+)患者与 HBeAg(-)患者 T 淋巴细胞亚群比较($\bar{x}\pm s$)					
组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
HBeAg(+)组	47	64.36±7.12	27.36±5.77	31.15±5.98	0.97±0.28
HBeAg(-)组	73	61.88±7.43	26.18±5.86	30.02±5.45	1.03±0.23
<i>t</i>		1.814	1.083	1.067	1.280
<i>P</i>		0.072	0.281	0.288	0.203

2.4 不同肿瘤大小患者 T 淋巴细胞亚群水平 结果显示,HCC 患者中大肝癌组与小肝癌组 CD3⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞水平差异均无统计学意义($P>0.05$),大肝癌组 CD4⁺/CD8⁺ 低于小肝癌组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 4 大肝癌组与小肝癌组 T 淋巴细胞亚群水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
大肝癌组	51	63.83±7.04	26.47±5.31	32.02±5.45	0.91±0.23
小肝癌组	69	61.55±7.76	27.58±5.41	30.13±5.24	1.10±0.25
<i>t</i>		1.654	1.120	1.920	4.256
<i>P</i>		0.100	0.165	0.057	0.000

3 讨 论

HCC 为临床最为常见的恶性肿瘤。其发病隐匿,早期诊断困难,就诊患者多处于疾病中晚期,手术效果欠理想。有研究显示,HCC 的 5 年手术生存率尚不足 50%^[4]。肿瘤的发生与机体的免疫监视功能紊乱关系密切,正常机体通过免疫系统能有效识别“非己”抗原、损伤细胞及肿瘤细胞,细胞免疫尤其 T 淋巴细胞免疫在这一免疫过程中发挥了重要的作用。然而机体的免疫监视也存在一定的局限性,肿瘤细胞也可分泌抑制性细胞因子,从而抑制机体的免疫应答,导致肿瘤的发生、发展。肿瘤的发生、发展与机体的免疫抑制互为因果^[5]。有研究显示,在 HCC 患者中普遍存在免疫功能失衡状态,对 HCC 患者的免疫调节治疗也成为临床肝癌综合治疗的一种重要手段,并取得了良好的疗效^[6]。

机体的抗肿瘤免疫以细胞免疫为主,其中 T 淋巴细胞亚群为机体细胞免疫的重要组成部分,T 淋巴细胞的表面标志为 CD3⁺,CD3⁺ T 淋巴细胞可反映外周循环中 T 淋巴细胞总量,CD4⁺ T 淋巴细胞为辅助性 T 细胞,也是机体抗肿瘤免疫应答过程中主要的效应细胞,在机体的抗肿瘤免疫应答中其可提高树突细胞(DC)诱导细胞毒性 T 淋巴细胞的能力并结合 DC 细胞共刺激分子 CD40 而活化,从而辅助免疫 CD8⁺ T 淋巴细胞应答,启动特异性细胞免疫对肿瘤细胞的杀伤^[7]。CD8⁺ T 淋巴细胞为抑制性 T 细胞,其中 CD4⁺/CD8⁺ 反映了机体免疫的一种动态平衡,T 淋巴细胞亚群的检测一定程度反映了机体的免疫系统功能状态^[8]。本研究结果显示,在 HCC 患者中,CD3⁺ T 淋巴细胞、CD4⁺ T 淋巴细胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 出现降低,CD8⁺ T 淋巴细胞出现升高,提示 HCC 患者免疫功能低下及免疫受抑状态^[9]。T 淋巴细胞亚群的变化为反映机体细胞免疫水平的重要指标,T 淋巴细胞的功能紊乱将影响机体对肿瘤的清除,促进肿瘤的发生与转移^[10]。

本研究所选择 HCC 患者均有 HBV 感染史,慢性

炎症的长期存在致使大量的杀伤性 T 细胞被消耗,机体的免疫抑制状态为常态^[11]。但本研究结果显示,不同 HBV-DNA 病毒载量及不同 HBeAg 表达的 HCC 患者比较,其 T 淋巴细胞亚群水平差异均无统计学意义($P>0.05$)。而大肝癌患者 CD4⁺/CD8⁺ 下降更为明显,可能为 HBV 感染后炎症反应为慢性长期的过程,T 淋巴细胞亚群的改变也为较为缓慢,而与 HBV 及 HBeAg 状态关系不大,而肿瘤直径与机体的细胞免疫功能状态是否存在一定的联系,有待进一步深入研究。

综上所述,HCC 患者 T 淋巴细胞亚群的检测能较好地反映患者的细胞免疫水平。

参考文献

[1] 李婷,时代强. HBV 感染型原发性肝癌肿瘤微环境 T 淋巴细胞亚群的表达[J]. 预防医学,2018,30(4):387-388.

[2] 柏涛,龚凤云,胡旭东,等. 超声引导下经皮微波消融治疗原发性肝癌患者疗效分析[J]. 实用肝脏病杂志,2018,21(1):84-87.

[3] 王全晖,张元浩,袁守信,等. 腹腔镜下肝部分切除术治疗原发性肝癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群和血清细胞因子水平的变化[J]. 实用肝脏病杂志,2018,21(5):753-756.

[4] 焦勤书,曾宝珠,华蟾素片联合¹²⁵I 粒子植入术治疗晚期原发性肝癌疗效及对相关血液生化指标的影响[J]. 现代肿瘤医学,2018,26(10):1565-1569.

[5] 郑操,张荣胜,潘勇,等. 金龙胶囊与介入治疗原发性肝癌的疗效及对 T 淋巴细胞亚群、肿瘤免疫因子的影响[J]. 现代消化及介入诊疗,2018,23(4):506-509.

[6] IWAKURA Y,ISHIGAME H,SAIJO S,et al. Functional specialization of interleukin-17 family members[J]. Immunity,2011,34(2):149-162.

[7] 王明全,周军. 全麻加胸椎旁阻滞对原发性肝癌患者术后机体免疫及肿瘤标志物影响观察[J]. 中华肿瘤防治杂志,2018,25(16):1174-1177.

[8] JIANG R,TAN Z,DENG L,et al. Interleukin-22 promotes human hepatocellular carcinoma by activation of STAT3[J]. Hepatology,2011,54(3):900-909.

[9] 张长,黄希田,毛文忠,等. 胸腺肽序贯拉米夫定治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎的长期疗效及安全性[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2017,11(1):51-55.

[10] 叶玲玲,武勇强,黄园鹭. 两种麻醉方法对原发性肝癌围术期免疫学指标影响的检验分析[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(19):2685-2687.

[11] 赵勇,魏国,胡礼冲,等. 肝动脉化疗栓塞术对原发性肝癌合并 HIV/AIDS 患者 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 成都医学院学报,2017,12(6):727-731.