

高强度聚焦超声对中晚期前列腺癌患者去势治疗后机体免疫指标的影响

吴同胜¹ 谭卫林² 肖平¹ 付俊¹ 吴云²

1. 上海建工医院泌尿科, 上海 200083 ;
2. 上海建工医院高强度聚焦超声治疗室, 上海 200083

[摘要] **背景与目的:** 高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)可以有效治疗前列腺癌, 但肿瘤是一种全身性的疾病, 理想的肿瘤治疗方法是能够在不损伤正常组织的同时进行局部肿瘤切除, 还能够激活全身的抗肿瘤免疫反应。本研究旨在探讨HIFU治疗对去势治疗后中晚期前列腺癌患者机体免疫指标的影响。**方法:** 行去势治疗的中晚期前列腺癌患者40例, 随机分为2组, HIFU组为去势治疗后2周行HIFU治疗($n=20$), 对照组为单纯去势治疗($n=20$), 全部经直肠前列腺穿刺病理检查确诊, 均为晚期前列腺癌患者, 即前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA) >20 ng/mL。患者自愿接受HIFU治疗并签署知情同意书。HIFU组与对照组患者平均年龄(72.56 ± 12.38)岁、(75.23 ± 9.35)岁($P=0.4463$); 初始PSA为(105.22 ± 20.55)ng/mL、(100.53 ± 18.38)ng/mL($P=0.4515$)。分别取治疗前和治疗后2周前列腺癌患者外周血6 d, 检测T淋巴细胞亚群($CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$)和外周血Th细胞因子(IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-10)。**结果:** HIFU组患者治疗后 $CD4^+$ 百分比及 $CD4^+/CD8^+$ 比值明显升高; 细胞因子IFN- γ 、IL-2水平明显增高, 而IL-4、IL-10水平明显降低, 与治疗前相比差异有统计学意义($P<0.05$), Th1/Th2平衡向Th1漂移。而对照组患者治疗前、后各项免疫指标差异无统计学意义($P>0.05$)。HIFU组与对照组前、后各项免疫指标差值比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:** HIFU治疗可在近期内改善去势治疗后中晚期前列腺癌患者机体免疫功能。

[关键词] 高强度聚焦超声; 前列腺癌; 免疫学

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2014.12.007

中图分类号: R737.25 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2014)12-0920-05

High intensity focused ultrasound affect the body anti-tumor immune indexes of intermediate and advanced prostate cancer patients after castration WU Tong-sheng¹, TAN Wei-lin², XIAO Ping¹, FU Jun¹, WU Yun² (1. Department of Urology, Shanghai Jian-gong Hospital, Shanghai 200083, China; 2. High Intensity Focused Ultrasound Room, Shanghai Jian-gong Hospital, Shanghai 200083, China)

Correspondence to: TAN Wei-lin E-mail: weilin_tan@msn.com

[Abstract] **Background and purpose:** High intensity focused ultrasound (HIFU) can be effective in the treatment of prostate cancer, however cancer is a systemic disease, the treatment method is not only resect local tumor in no damage to normal tissue but also activate the body's anti-tumor immune response. This paper aimed to explore the effect of HIFU treatment on the body anti-tumor immunity of intermediate and advanced prostate cancer patients after castration. **Methods:** Forty patients with intermediate and advanced prostate cancer were randomly divided into 2 groups. Twenty were treated by HIFU after 2 weeks through castration and the other 20 had sole castration as control group, all patients diagnosed by transrectal prostate biopsy pathology and identified as advanced prostate cancer, prostate specific antigen (PSA) >20 ng/mL. Patients accepted the HIFU therapy and signed the informed consent. The average ages of HIFU and the control group patients were (72.56 ± 12.38) and (75.23 ± 9.35) years old ($P=0.4463$) and the mean levels of initial PSA were (105.22 ± 20.55)ng/mL and (100.53 ± 18.38)ng/mL ($P=0.4515$). We collected the venous blood before and after all treatment in the intervals of 2 weeks. Test items included T lymphocyte ($CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$) and Th cell factor (IFN- γ , IL-2, IL-4, IFN- IL-10). **Results:** In the HIFU-treated patients, the percentage of $CD4^+$ and $CD4^+/CD8^+$ ratio increased significantly after treatment; IFN- γ , IL-2 were significantly increased, while IL-4

and IL-10 were decreased significantly, the difference was statistically significant ($P<0.05$), Th1/Th2 balanced to Th1 drift. The control group had no significant difference in each index between before and after treatments ($P>0.05$). HIFU treatment group had significant difference in each index between before and after treatments ($P<0.05$). **Conclusion:** HIFU treatment can improve the body anti-tumor immunity of intermediate and advanced prostate cancer patients after castration.

[Key words] High intensity focused ultrasound; Prostate cancer; Immunology

高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是20世纪90年代兴起的一种旨在治疗实体肿瘤的无创外科技术,是目前治疗前列腺癌的有效方法之一,具有创伤小,手术直观等优点。前期研究证明HIFU可以有效治疗前列腺癌,治疗后前列腺体积缩小、PSA水平明显下降^[1]。肿瘤是一种全身性的疾病,理想的肿瘤治疗方法是能够在不损伤正常组织的同时进行局部肿瘤切除,还能够激活全身的抗肿瘤免疫反应。本研究对去势治疗后中晚期前列腺癌患者进行HIFU,观察治疗后患者近期内外周血T淋巴细胞亚群和Th细胞因子的变化,以探讨HIFU治疗对前列腺癌患者机体免疫指标的影响。

1 资料和方法

1.1 一般资料

行去势治疗的中晚期前列腺癌患者40例,其中手术去势26例,药物去势(诺雷德3.6 mg腹部皮下注射每个月1次)14例,随机分为2组,HIFU组为去势治疗后2周行HIFU治疗($n=20$),对照组为单纯去势治疗($n=20$),全部经直肠前列腺穿刺病理检查确诊,均为晚期前列腺癌患者,即前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA) >20 ng/mL。患者自愿接受HIFU治疗并签署知情同意书。40例患者治疗期间均未使用抗雄激素药物及免疫相关药物,无免疫系统疾病,无HIFU治疗禁忌证。HIFU组与对照组患者平均年龄(72.56 ± 12.38)岁、(75.23 ± 9.35)岁($P=0.446$);初始PSA为(105.22 ± 20.55)ng/mL、(100.53 ± 18.38)ng/mL($P=0.451$)。

1.2 治疗方法

治疗时无需麻醉。采用HIFU2001治疗机(购自上海交大新地实业公司),有效治疗深

度2~15 cm,治疗介质为脱气水,实测焦距3 mm \times 3 mm \times 7 mm,效应焦距6 mm \times 6 mm \times 10 mm,应用点累积方式形成治疗阵。治疗参数:治疗功率(1 300 \pm 15)%瓦,单次发射时间0.13 s,占空时间0.26 s,发射次数30次。实际治疗中的治疗点的划分和焦点的位移在自控状态由计算机自动划分进行。治疗范围包括整个前列腺及肿瘤浸润的邻近脏器并略超出边界0.5~1.0 cm。每例患者需根据前列腺及肿瘤大小进行4~6次HIFU治疗,每次治疗的间隔时间为2 d。患者取坐位,留置导尿管。

1.3 标本采集与保存

分别于去势治疗前1天及HIFU治疗完成后2周(对照组为去势治疗前1天及去势治疗后6周)采集外周静脉血6 mL,其中3 mL加抗凝剂肝素钠0.3 mL作为淋巴细胞亚群分类计数检测用;另取3 mL静脉血不加任何添加剂作为细胞因子检测用。血标本30 min内送免疫实验室检测。

1.4 检测指标及方法

外周血T淋巴细胞亚群(CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)计数采用流式细胞仪检测。CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺单抗;外周血血清细胞因子浓度(IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-10)采用酶联免疫吸附法检测,方法均按说明书进行。

1.5 统计学处理

应用SPSS 19.0统计软件分析数据,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,治疗前后的免疫指标之间采用配对设计的 t 检验,HIFU组与对照组间比较取治疗前后差值采用 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HIFU组及对照组治疗前后免疫指标变化

HIFU组患者治疗前、后免疫指标变化见表

1, 治疗后CD4⁺百分比及CD4⁺/CD8⁺比值明显升高, CD8⁺百分比明显降低; 细胞因子IFN- γ 、IL-2水平明显增高, 而IL-4、IL-10水平明显降低, 与治疗前相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。对照组患者治疗前、后免疫指标变化

见表2, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 HIFU组及对照组治疗前后免疫指标差值的比较

HIFU组较对照组治疗前、后各项免疫指标差值比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表3)。

表 1 HIFU组治疗前后免疫指标比较

Tab. 1 Compare of immune indexes before and after treatment in HIFU group

Immune indexes	Before treatment	After treatment	<i>t</i> value	<i>P</i> value
CD4 ⁺ (%)	38.38±6.78	40.28±8.60	-2.791	0.012
CD8 ⁺ (%)	36.70±9.42	34.09±7.32	2.324	0.031
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (%)	1.05±0.21	1.25±0.19	-2.795	0.013
IFN- γ (pg/mL)	92.70±10.57	96.49±8.72	-2.721	0.014
IL-2(pg/mL)	77.03±12.22	79.26±14.21	-2.621	0.017
IL-4(pg/mL)	85.33±12.84	74.86±21.76	2.799	0.011
IL-10(pg/mL)	74.56±16.93	65.24±19.55	2.786	0.012

表 2 对照组治疗前后免疫指标比较

Tab. 2 Compare of immune indexes before and after treatment in control group

Immune indexes	Before treatment	After treatment	<i>t</i> value	<i>P</i> value
CD4 ⁺ (%)	37.82±7.98	38.06±7.23	-0.640	0.530
CD8 ⁺ (%)	36.71±8.31	38.70±8.73	-1.802	0.087
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (%)	1.06±0.28	1.03±0.27	1.520	0.145
IFN- γ (pg/mL)	92.04±9.64	90.23±10.98	1.245	0.228
IL-2(pg/mL)	77.52±14.82	76.73±16.21	0.745	0.465
IL-4(pg/mL)	84.72±14.10	83.84±12.18	0.569	0.576
IL-10(pg/mL)	72.20±17.60	71.71±18.25	0.223	0.826

表 3 2组治疗前后免疫指标差值的比较

Tab. 3 Comparison of the contrast between pre- and Post-treatment in HIFU and control group

Immune indexes	HIFU group	Control group	<i>P</i> value
CD4 ⁺ (%)	-1.90±3.04	-0.24±1.70	0.040
CD8 ⁺ (%)	2.60±5.01	-1.99±1.10	0.006
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (%)	0.04±0.11	-0.12±0.12	0.000
IFN- γ (pg/mL)	-3.79±6.23	1.81±6.51	0.008
IL-2(pg/mL)	-2.23±3.81	0.79±4.75	0.032
IL-4(pg/mL)	10.48±16.74	0.88±6.93	0.023
IL-10(pg/mL)	9.33±14.97	0.49±9.835	0.033

3 讨 论

前列腺癌是男性常见恶性肿瘤之一, 在我国由于人口老龄化等原因, 发病率有明显增加的趋势。由于前列腺癌发病隐匿, 早期诊断困难, 大部分前列腺癌检出时已属于中晚期, 给治疗带来困难。内分泌治疗是中晚期前列腺

癌患者最主要的治疗措施, 但多数患者在经过12~24个月的缓解期后会再次出现PSA升高或新的病灶, 一般情况下, 如未继续治疗患者生存期很少超过12个月^[2]。在内分泌治疗的基础上联合局部治疗, 可以达到全身与局部治疗相结合的效果, 提高中晚期前列腺癌患者的疗效。HIFU作为一项新的肿瘤局部治疗手段, 已

应用于前列腺癌的治疗中, 由于其疗效确切、并发症少、能重复使用等优点, 已引起广泛关注。Blana等^[3]报道HIFU治疗146例前列腺癌患者(T₁₋₂N₀M₀), 93.4%无肿瘤残留, 87%患者PSA<1 ng/mL。有报道称HIFU治疗会激活机体的免疫系统, 产生肿瘤特异性免疫反应^[4]。相关研究也发现, 采用HIFU治疗后, 肿瘤患者血液中NK细胞、CD4⁺、CD4⁺与CD8⁺比例都有所增加^[5]。

机体的抗肿瘤免疫效应机制包括细胞免疫和体液免疫两个方面, 其中细胞免疫是抗肿瘤免疫的主力。在细胞免疫机制中起主要作用的效应细胞为T细胞, 根据T细胞表面标志及功能特点, 可分为CD4⁺和CD8⁺两大亚群。CD4存在于诱导/辅助性T细胞表面, 识别MHC-II, 并受MHC-II限制, 是辅助性T淋巴细胞的表面抗原, 识别由MHC-II类分子提呈的抗原肽。在体内, CD4⁺T细胞可直接对肿瘤产生细胞毒作用。CD4⁺T细胞对肿瘤的杀伤作用主要是通过IFN- γ 依赖的机制介导的。大部分的研究表明, CD4⁺T细胞介导肿瘤抑制是MHC-I非依赖性的, 然而, 也有一些证据表明, CD4⁺T细胞能够以MHC限制性的形式识别肿瘤细胞并且裂解它们^[6]。CD8存在于抑制性T细胞及杀伤性T细胞表面, 受MHC限制。根据CD28阳性或阴性可将CD8⁺细胞分为细胞毒性T细胞(CD8⁺CD28⁺)和抑制性T细胞(CD8⁺CD28⁻)。抑制性T细胞(suppressor T lymphocyte, Ts)对免疫应答有重要的负调节功能, 不仅对B细胞合成和分泌抗体有抑制作用, 而且对Th辅助作用、迟发型超敏反应以及Tc介导的细胞毒作用都有负调节作用。CD4⁺细胞与CD8⁺细胞之间存在相互诱导和制约的关系, 它们均对于调控免疫反应和维持免疫系统的稳定具有重要作用。肿瘤产生肿瘤免疫抑制因子可诱导产生CD8⁺亚群, 并激活其活性, 阻止CD4⁺亚群, 并抑制其功能。随着肿瘤过程的进展, T淋巴细胞亚群被抑制的作用逐渐加强。肿瘤患者免疫功能的削弱可能是肿瘤进展的结果。在正常情况下, CD4⁺/CD8⁺比例保

持一种动态平衡状态, 若机体T细胞亚群的数量或比例发生变化, 则提示机体细胞免疫功能失调, 削弱了机体抗肿瘤能力^[7-8]。平衡T细胞之间的数量关系, 如CD4⁺/CD8⁺, 对于中晚期恶性肿瘤的治疗和防止复发都非常重要。

CD4⁺T细胞分为Th1和Th2两个亚型, 且机体的Th1/Th2细胞处于一种平衡状态。Th1分泌IL-2、IFN- γ 和TNF, 并且增强巨噬细胞活化及迟发型变态反应, 刺激IgG2a类抗体的产生。Th1分泌的IL-2、IFN- γ 在机体的抗肿瘤免疫中发挥着重要作用, Th1型细胞占优势时机体处于良好的抗肿瘤状态。Th2细胞分泌IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13, 促使B细胞活化, 刺激IgG1、IgE类抗体的产生。当Th2类细胞因子如IL-4、IL-10等占优势时, 可能影响机体细胞免疫状态, 有利于肿瘤细胞的逃逸, 与肿瘤发生、发展有关。检测进展期肿瘤患者外周血淋巴细胞分泌细胞因子的情况, 会发现IL-2、IFN- γ 分泌降低, IL-10的分泌升高, 这表明肿瘤生长时, 促进Th2细胞过度产生IL-10和IL-4, 从而抑制Th1类细胞因子的合成, 下调MHC-II类分子的表达, 促进Th1/Th2平衡向Th2漂移^[9-10], 机体抗肿瘤免疫处于严重抑制状态。因而增强Th1细胞功能, 降低Th2细胞的功能, 从而去除这种抑制状态, 是肿瘤免疫治疗的手段之一。

本研究结果显示, HIFU组患者治疗后CD4⁺百分比及CD4⁺/CD8⁺比值明显升高; 细胞因子IFN- γ 、IL-2水平明显增高, 而IL-4、IL-10水平明显降低, 与治疗前相比差异有统计学意义($P<0.05$), Th1/Th2平衡向Th1漂移; 对照组患者治疗前、后各项免疫指标差异无统计学意义($P>0.05$)。HIFU治疗组与对照组治疗前、后各项免疫指标差值比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。说明中晚期前列腺癌患者经HIFU治疗后近期可以改善机体免疫功能, 其机制可能通过降低机体免疫抑制和分泌免疫促进因子等实现。但本组病例数少, 随访时间不长, 远期效果有待进一步观察。

[参 考 文 献]

- [1] 吴同胜, 谭卫林, 肖平, 等. 高能聚焦超声治疗激素非依赖性前列腺癌 [J]. 现代泌尿外科杂志, 2008, 13(5): 386-387.
- [2] OH U K, KANTOFF P W. Management of hormone refractory prostate cancer current standard and future prospects [J]. J Urol, 1998; 160: 1220-1229.
- [3] BLANA A, WALTER B, ROGENHOFER S, et al. High intensity focused ultrasound for the treatment of localized prostate cancer [J]. Urology, 2004, 63(2): 297-300.
- [4] KRAMER G, STEINER G E, GROBL M, et al. Response to sublethal heat treatment of prostatic tumor cells and of prostatic tumor infiltrating T-cells [J]. Prostate, 2004, 58(2): 109.
- [5] WANG X, SUN J Z. Preliminary study of high intensity focused ultrasound in treating patients with advanced pancreatic carcinoma [J]. Chin J Gen Surg, 2002, 17(3): 654-655.
- [6] GERLONI M, ZANETTI M. CD4 T cells in tumor immunity [J]. Springer Semin Immunopathol, 2005, 27: 37-48.
- [7] ZANETTI M, CASTIGLIONI P, INGULLI E. Principles of memory CD8 T cells generation in relation to protective immunity [J]. Adv Exp Med Biol, 2010, 684: 108-125.
- [8] MU J, JEYANATHAN M, SHALER C R, et al. Respiratory mucosal immunization with adenovirus gene transfer vector induces helper CD4 T cell-independent protective immunity [J]. Gene Med, 2010, 12: 693-704.
- [9] AHMADZADEH M, ROSENBERG S A. TGF-beta 1 attenuates the acquisition and expression of effector function by tumor antigen specific human memory CD8 T cells [J]. J Immunol, 2005, 174(9): 5215-5223.
- [9] 黄菁, 黄杰, 沈红梅, 等. Th1、Th2细胞因子失衡与肺癌 [J]. 中国肿瘤, 2012, 21(8): 46-50.

(收稿日期: 2014-04-22 修回日期: 2014-08-04)

《抗癌》杂志2015年征订启事

《抗癌》杂志于1988年创刊, 主管单位为上海市科学技术协会, 主办单位为上海市抗癌协会。《抗癌》杂志是供癌症患者及其家属阅读的公益性科普期刊, 树立了为科研服务的思想意识, 坚持以读者为导向, 架起读者和医院之间的桥梁。杂志刊号: CN31-1664/R ISSN 1008-3065。欢迎广大读者订阅。

杂志为季刊, 每期48页。本刊季末出版, 每期8元, 全年共32元整。征订方式请通过邮局汇款。

通讯地址: 上海市东安路270号6号楼3楼《抗癌》杂志社收。

邮 编: 200032

电 话: 021-64043766

传 真: 021-64043766

电子邮件: anti-cancer@163.com