

· 研究原著 ·

文章编号: 1000-2790(2000)03-0354-03

卵巢癌患者手术前后 L-2, sL-2R 及 m L-2R 水平改变的临床意义

王 健¹, 马翠玲², 辛晓燕¹, 刘玉峰², 孙 忱³, 金伯泉³(第四军医大学: ¹ 西京医院妇产科, ² 西京医院皮肤科, ³ 基础部免疫学教研室, 陕西 西安 710033)

关键词: 卵巢肿瘤; 白细胞介素 2; 受体

中图分类号: R737.31 文献标识码: A

摘要: 目的 探讨卵巢癌患者的细胞免疫状态以及 L-2, 血清游离白细胞介素-2 受体(sL-2R), 外周血单个核细胞(PBMC)膜结合型白细胞介素-2 受体(m L-2R)与临床的关系 方法 ³H-TdR 参入法测 31 例卵巢癌患者 L-2 产生水平, ELISA 法检测血清 sL-2R 水平, APAAP 免疫组化检测外周血单个核细胞膜结合型 L-2R 表达细胞(CD25⁺ 细胞)。结果 31 例卵巢恶性肿瘤患者术前及术后 7 d, L-2 产生能力降低, sL-2R 水平增高, 与术后第 6 疗程化疗结束后 4 wk 相比有显著差异($P < 0.01$); 术前临床 III~IV 期患者 L-2 活性低于 I~II 期患者, sL-2R 水平明显高于 I~II 期患者($P < 0.05$); CD25⁺ 细胞均为个别阳性, 各组间无差异; 术后复发的 5 例患者血清 sL-2R 持续增高 结论 对 L-2 及 sL-2R 的定期检测, 有助于观察卵巢恶性肿瘤患者病情变化, 为其预后判断提供重要参考

The clinical significance of the alteration of L-2, sL-2R and m L-2R levels in patients with ovarian cancer before and after operation

WANG Jian¹, MA Cui-Ling², XIN Xiao-Yan¹, LIU Yu-Feng², SUN Chen³, JIN Bo-Quan³¹Department of Obstetrics and Gynecology,²Department of Dermatology, Xijing Hospital,³Department of Immunology, Faculty of Preclinical Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China**Keywords:** ovarian neoplasms; interleukin-2; receptor

收稿日期: 1999-11-30; 修回日期: 2000-01-03

基金项目: 陕西省科研基金课题(98K12-G19)

作者简介: 王 健(1962-), 男(汉族), 安徽省庐江县人, 副教授, 副主任医师, 硕士 Tel (029) 3373861 Email wangjian@fmmu.edu.cn

Abstract: **AM** To unveil the immunological state of patients with ovarian cancer and the relationship between L-2, L-2R and the clinical manifestation **METHODS** 31 patients with ovarian cancer were examined for L-2 production by ³H-TdR incorporation assay, sL-2R by ELISA and expression of CD25 by APAAP immunohistochemistry. **RESULTS** Compared with those of patients six months after operation who had received regular chemotherapy, L-2 production by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) was significantly lower and the serum sL-2R levels were significantly increased among patients 7 days before and after operation ($P < 0.01$). In comparison with those of patients with ovarian cancer of stage I~II, PBMC L-2 production was significantly decreased and serum sL-2R levels were significantly higher in the advanced cases (stage III~IV) before operation ($P < 0.05$). These differences disappeared after patients received operative therapy. Very few CD25⁺ cells were observed in all patients. There was a persistently high serum level of sL-2R in the 5 relapsed patients. **CONCLUSION** The progress of cancer may be associated with the L-2 production and serum level of the sL-2R. The result indicates that L-2 and sL-2R can be used to assess the progress of cancer and are helpful markers in predicting the prognosis

0 引言

我们对 31 例卵巢恶性肿瘤患者手术前后, 外周血单个核细胞(PBMC)产生白细胞介素 2(L-2)的能力, PBMC 膜结合型 L-2R (CD25 抗原)表达细胞及其血清可溶性 L-2R 水平进行了动态观察, 以了解患者手术前后免疫功能的变化和探讨 L-2 及其受体水平在指导治疗和判断预后等方面的价值

1 对象和方法

1.1 对象 1992-01/1994-12 在我院住院及门诊随访的卵巢恶性肿瘤患者 37 例, 平均年龄 51(24~70)岁, 均经手术和病理确诊, 其中浆液性癌 13 例, 粘液性癌 8 例, 子宫内膜样癌 9 例, 其他上皮性癌 7 例 根据术中探查并按 FIGO 临床分期, I, II, III, IV 期

的患者,分别为5,7,15和10例 I, II期组织学分级1~4级分别为:2,4,5和1例 III, IV期组织学分级:1~4级分别为1,4,15和5例 全部患者术前无化疗及免疫制剂治疗史,无感染或其他肿瘤等严重合并症 手术方式相同,手术范围:全子宫双附件、阑尾、大网膜切除术及盆腹腔淋巴结清扫术,无肉眼下残留癌灶 术后均进行了6个疗程的化疗,化疗方案、药物、用药途径及剂量相同 分别于术前、术后7d、第6疗程化疗结束后4wk及术后6mo 取血测试

1.2 主要试剂与仪器 L-2依赖的CTLL细胞株、sL-2R和APAAP试剂盒(本校免疫学教研室);PHA(美国Wellcome公司);L-2(上海第二军医大学药物研究所, $1 \times 10^9 \text{ IU} \cdot \text{L}^{-1}$);鼠抗人PBM C的CD25抗原mAb(澳大利亚MVS);FJ-2105自动液体闪烁计数器(日本)。

1.3 方法

1.3.1 L-2活性及sL-2R水平测定 受检者外周血4mL,常规分离PBM C, $1 \times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$ 细胞加PHA $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,置24孔培养板48h,收集上清待测;CTLL细胞 $1 \times 10^8 \cdot \text{L}^{-1}$ 加入96孔平底培养板中,加入不同稀释度标准品L-2(1:4~1:256共10个稀释度)和待测样品,培养24h,每孔加 $^3\text{H-TdR}$ 50 μL (18.5 kBq)继续培养6h,细胞收集仪收获,液闪仪中测 β 射线cpm值,以不同稀释度标准品L-2所获得的cpm值绘制标准曲线,即纵轴采用概率坐标,以最大cpm值为100%,横坐标为标准品稀释倍数,计算待测样品的cpm值占最大cpm值的百分比,根据标准曲线计算出待测样品的L-2活性单位^[1]。采用双抗体夹心ELISA法按文献[2]检测sL-2R水平。

1.3.2 PBM C膜结合型受体(CD25细胞)表达 按常规分离PBM C,自制制片机制备抗原片,4 $^\circ\text{C}$ 保存,1wk内染色 APAAP染色主要步骤:丙酮-福尔马林固定液固定30s;滴加稀释的鼠抗人PBM C单抗或正常鼠血清,孵育30min;兔抗鼠IgG孵育30min; APAAP复合物孵育30min;重复叠加兔抗鼠IgG和APAAP复合物2次;底物显色液显色10~15min。高倍镜下计数200个细胞,计算阳性细胞比例

统计学分析:用t及t'检验

2 结果

2.1 手术前后7d及术后6mo L-2活性、sL-2R水平观察 31例卵巢恶性肿瘤患者术后7d免疫功能较差,L产生能力降低,sL-2R水平增高,与术后第6疗程化疗结束后4wk相比有显著差异($P <$

0.01),但与术前并无统计学差异(Tab 1)。

表1 手术前后L-2、sL-2R水平的比较

Tab 1 Self-comparison of L-2, sL-2R levels in patients between pre- and post operation

($n = 31, \bar{x} \pm s, 1 \times 10^3 \text{ IU} \cdot \text{L}^{-1}$)

Time	L-2	sL-2R
Pre-operation	3.9 \pm 0.8 ^b	142.6 \pm 22.8 ^b
7 d after operation	2.8 \pm 0.6 ^b	156.3 \pm 29.2 ^b
6 mo after operation and chemotherapy	9.9 \pm 6.5	92.5 \pm 45.3

^b $P < 0.01$ vs for six months after operation and chemotherapy.

2.2 手术前后临床I, II/III, IV期患者L-2活性、sL-2R水平对比 术前临床I~II期与III~IV期相比,III~IV期患者L-2活性为 2.93 ± 0.52 低于I~II期患者 4.35 ± 0.72 ; sL-2R水平(152.43 \pm 23.34)明显高于I~II期患者(125.63 \pm 26.13) ($P < 0.05$)。术后各项指标间无统计学差异 术后1a内复发5例患者,发生于术后第9月2例,第11月1例,第12月2例;其中I~II期1例,III~IV期4例 术后L-2产生水平持续下降,sL-2R居高不下。为进一步了解复发患者免疫功能的改变情况,我们还对5例复发患者进行了血清sL-2R水平动态监测,自发现复发以后每3~6mo 1次检查sL-2R水平变化,发现6名患者血清sL-2R维持在高水平,其中3例术后18mo死亡,2例29mo死亡,1例31mo死亡

2.3 手术前后PBM C CD25⁺细胞检测 CD25⁺细胞均为个别阳性,各组间无差异,CD25⁺细胞比例与sL-2R变化无关

3 讨论

L-2主要是T淋巴细胞产生的一种免疫调节因子,有广谱的免疫增强活性 现已经证明L-2有多种生物学功能,其中非常重要的一点就是可以诱导细胞毒性T淋巴细胞(CTL)、自然杀伤细胞(NK)和淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)等多种杀伤细胞分化和效应的功能,并诱导杀伤细胞产生IFN γ , TNF- α L-2还可诱导外周血单个核细胞(PBM C),肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)成为LAK,从而具有抗肿瘤作用^[3,4]。L-2主要由T细胞或T细胞系产生,卵巢恶性肿瘤患者L-2产生水平降低的原因可能是由于肿瘤对机体细胞免疫功能的抑制所致

L-2及其受体是反应卵巢恶性肿瘤患者细胞免

疫功能变化的良好指标^[5], 我们研究发现卵巢恶性肿瘤患者细胞免疫功能与临床分期明显相关, 晚期患者细胞免疫功能受损严重, 但手术和化疗可以消除肿瘤病灶对机体免疫功能的抑制, 成功的手术、合理的化疗有利于术后的恢复, 对晚期患者仍应争取手术机会。卵巢恶性肿瘤患者术后免疫功能曾一度降低, 可能与手术打击有关, 免疫功能有一个从降低到逐渐恢复的过程, 术后 7 d 是化疗第 1 疗程初期, 提示术后首次化疗应适度, 注意保护机体免疫力。

CD 25 是活化 T 淋巴细胞的标志, 是 m L-2R α 链, CD 25⁺ 细胞增多可能与肿瘤的消除和免疫损伤有关。s L-2R 是 m L-2R α 链的脱落物, 增高的 s L-2R 是 m L-2R α 链的主要廓清方式^[6]。s L-2R 可能与 m L-2R 竞争结合 L-2, 从而是一种免疫抑制物质。我们研究结果, 恶性卵巢肿瘤患者 CD 25⁺ 细胞比例并不增多, 与 s L-2R 水平变化不一致, 说明其增高的 s L-2R 可能不是来源于 PBM C 中的 CD 25⁺ 细胞, 我们同意 Barton 等^[7]的看法, 认为恶性卵巢肿瘤患者血清中增高的 s L-2R 主要来源于肿瘤浸润细胞中的 CD 25⁺ T L。

s L-2R 变化与 L 活性改变的结果一致, 是反映机体细胞免疫功能变化的良好指标^[8], s L-2R 持续增高提示患者细胞免疫力低下, 有肿瘤复发的可能, 应对患者密切随访。由于检测 s L-2R 的 EL ISA 夹心法取材容易, 方法简单, 客观性好, 对 s L-2R 的动态检测, 可望有助于观察卵巢恶性肿瘤患者病情变化, 为其预后判断提供重要参考^[9, 10]。

参考文献:

[1] 马翠玲, 刘玉峰, 金伯泉 *et al*. 尖锐湿疣患者白介素 2 产生水平

及淋巴细胞增殖反应的实验观察[J]. 第四军医大学学报, 1995; 16(2): 108- 110

- [2] 孙 忱, 朱 勇, 金伯泉 *et al*. 一种检测可溶性白细胞介素 2 受体夹心法 EL ISA 的初步应用[J]. 中国免疫学杂志, 1991; (7): 359.
- [3] Chen CK, Wu MY, Chao Kh *et al*. T lymphocytes and cytokine production in ascitic fluid of ovarian malignancies [J]. *J Formos Med Assoc*, 1999; 98(1): 24- 30
- [4] Lotzova E, Savary CA, Freedman RS *et al*. Recombinant L-2-activated NK cells mediate LAK activity against ovarian cancer [J]. *Int J Cancer*, 1988; 42(2): 225- 231.
- [5] Maccio A, Lai P, Santona MC *et al*. High serum levels of soluble L-2 receptor, cytokines, and C reactive protein correlate with impairment of T cell response in patients with advanced epithelial ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 1998; 69(3): 248- 252
- [6] Rubin LA, Nelson DL. The soluble interleukin-2 receptor: Biology, function, and clinical application [J]. *Ann Intern Med*, 1990; 113(8): 619- 627.
- [7] Barton DP, Blanchard DK, Wells AF *et al*. Expression of interleukin-2 receptor alpha (L-2R alpha) mRNA and protein in advanced epithelial ovarian cancer [J]. *Anticancer Res*, 1994; 14(3A): 761- 772
- [8] Atpsoy E, Cayirli C, Er H *et al*. The levels of plasma interleukin-2 and soluble interleukin-2R in Behcet's disease: A marker of disease activity [J]. *J Dermatol*, 1998; 25(8): 513- 516
- [9] Pavlidis NA, Bairaktari E, Kalef-Ezra *et al*. Serum soluble interleukin-2 receptors in epithelial ovarian cancer patients [J]. *J Int J Biol Markers*, 1995; 10(2): 75- 80
- [10] Barton DP, Blanchard DK, Michelin-Norris B *et al*. High serum and ascitic soluble interleukin-2 receptor alpha levels in advanced epithelial ovarian cancer [J]. *Blood*, 1993; 81(2): 424- 429.

编辑 王 睿

· 文 摘 · 脑脊液胆碱酯酶测定对血管性痴呆诊断价值的探讨

[苗建亭, 游国雄, 王者晋 *et al*. *J Apoplexy and Nervous Diseases*, 1999; 16(6): 364- 365]

为探讨脑脊液胆碱酯酶(ChE)含量与事件相关电位(ERP_s)的 P₃ 成分的相关性及其对血管性痴呆(VD)的诊断价值, 采用 ChE 动力学法测定 VD 患者 CSF 中 ChE 活性含量, 应用 Oddball 序列测定 ERP_s 内源性成分 P₃ 的潜伏期(PL), 并进行相关分析。结果 VD 组 CSF 中 ChE 含量较两对照组显著减少, ERP_s 的 P₃ 的 PL 明显延长, 且二者间呈显著正相关。认为 CSF 中 ChE 含量可反应痴呆患者的认知功能, 可作为诊断痴呆的重要客观生化参考指标 (井晓梅 王 睿)