

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.04.12

◆ 论著 ◆

热化疗对口腔鳞癌患者细胞活力及癌胚抗原相关细胞黏附分子1表达的影响

张楠¹, 申震¹, 张开智²

(1. 西安交通大学第一附属医院, 陕西 西安 710061; 2. 商洛市中心医院口腔科, 陕西 商洛 726000)

【摘要】目的: 探究热化疗对口腔鳞癌患者细胞活力及癌胚抗原相关细胞黏附分子1(CEACAM1)表达的影响。方法: 选取120例口腔鳞癌患者作为研究对象并设为实验组, 另选取同期收治的健康体检者120名设为对照组。采用热化疗方案对口腔鳞癌进行治疗, 检测并比较两组化疗前后白细胞介素2(IL-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)等炎症细胞因子水平, 以及CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺等T细胞亚群表达, 分析两组CEACAM1表达和细胞活力情况。结果: 实验组III期化疗后IL-2和TNF- α 水平高于IV期, 但低于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。实验组III期化疗后CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺高于IV期, 但低于对照组, CD8⁺低于IV期, 但高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验组III期化疗后CEACAM-1 mRNA相对表达量和CEACAM-1蛋白阳性表达率均低于IV期, 但高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验组III期化疗后细胞活力低于IV期, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 高于对照组但差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论: 热化疗应用在口腔鳞癌患者中, 能够提高IL-2和TNF- α 水平, 增强机体免疫力, 抑制细胞活力和CEACAM1表达, 从而稳定患者的病情。

【关键词】 口腔鳞癌; 热化疗; 炎症因子; 免疫功能; 细胞活力; CEACAM1

【中图分类号】 R739.8; R363.2 **【文献标志码】** A

Effects of thermo chemotherapy on cell viability and expression of carcino-embryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 in patients with oral squamous cell carcinoma

ZHANG Nan¹, SHEN Zhen¹, ZHANG Kai-zhi²

(1. The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061; 2. Department of Stomatology, Shangluo Central Hospital, Shangluo 726000, Shaanxi, China)

【Abstract】 Objective: To explore the effects of thermal chemotherapy on cell viability and expression of carcinoembryonic (CEACAM1) in patients with oral squamous cell carcinoma. **Methods:** 120 patients with oral squamous cell carcinoma were selected as the study subjects and treated as the experimental group, while 120 healthy patients admitted to our hospital during the same period were selected as the control group. Oral squamous cell carcinoma was treated with thermochemotherapy. Inflammatory cytokines such as interleukin 2 (IL-2) and tumor necrosis factor matrix (TNF- α) before and after chemotherapy were detected and compared, as well as the expression of CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ and other T cell subsets, to analyze the expression and cell activity of CEACAM1 in the two groups. **Results:** The level of IL-2 and TNF- α in the experimental group after stage III chemotherapy was higher than that in stage IV, but lower than that in the control group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). After stage III chemotherapy, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in the experimental group were higher than stage IV, but lower than that in the control group. CD8⁺ was lower than stage IV, but higher than that in the control group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The relative expression of CEACAM-1 mRNA and positive expression rate of CEACAM 1 protein in the experimental group after stage III chemotherapy were both lower than that in stage IV, but higher than that in the control group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). After stage III chemotherapy, the cell activity of the experimental group was lower than that of stage IV, with a statistically significant difference ($P < 0.05$), which was higher than that of the control group, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion:** The application of thermal chemotherapy in oral squamous cell carcinoma patients can improve the level of IL-2 and TNF- α , enhance the body immunity, inhibit the cell activity and CEACAM1 expression, so as to stabilize the patients' condition.

【Key words】 Oral squamous cell carcinoma; Heat chemotherapy; Inflammatory factors; Immune function; Cellular activity;

CEACAM1

口腔癌是临床头颈部较为常见的恶性肿瘤,具有较高的发生率,好发于中老年群体中,男性略高于女性^[1]。鳞癌是其常见的病理分型,指的是发生于鳞状上皮细胞的口腔癌,黏膜发生变异^[2]。诱发口腔鳞癌的因素比较多,常见的如长期嗜好烟酒、营养不良、炎症、异物长期刺激等,发病后病灶部位会出现肿块或者结节,伴有白色、平滑式鳞状斑块状出现,严重时伴有不明显因流血,出现吞咽困难症状,会严重降低患者的健康水平,影响日常生活和工作,进而降低生存质量,威胁生命安全^[3]。化疗是口腔鳞癌的重要治疗手段,对患者病情的稳定和症状的改善有较为明显的作用。热化疗是一种新型的化疗方式,随着口腔科疾病治疗水平的不断提高,其在口腔癌的治疗中逐渐被应用,效果获得了高度的认可。研究^[4]发现,口腔鳞癌患者普遍机体免疫力下降,肿瘤细胞活力增加的现象,癌胚抗原相关细胞黏附分子1(CEACAM1)的表达也异常明显。报道^[5]显示,白细胞介素2(IL-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)等炎性细胞因子水平,以及CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺等T细胞亚群表达与细胞活力之间的关系密切,参与了细胞活力的变化过程。热化疗作为新型的口腔鳞癌化疗方式之一,对患者肿瘤细胞活力及CEACAM1表达的影响如何,临床并无太多报道,其仍旧有较大的探究价值。为此,本研究以120例口腔鳞癌患者为研究对象,针对热化疗的治疗价值展开分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2015年11月至2019年10月在西安交通大学第一附属医院接受治疗的口腔鳞癌患者120例进行研究并设为实验组。其中男性78例,女性42例;年龄48~78岁,平均(63.12±5.47)岁;病程2~8年,平均(4.13±0.75)年。具体发病部位方面:唇部81例,颜面部39例;病理组织学诊断方面:低分化34例,中分化70例,高分化16例;TNM分期方面:III期95例,IV期25例。另纳入同期在本院接受体检显示正常的120名体检者设为对照组,其中男性72例,女性48例;年龄36~75岁,平均(62.03±5.28)岁。

纳入标准:(1)口腔鳞癌患者经细胞学、组织学以及CT等检查确诊;(2)口腔鳞癌均为首次化疗患者;(3)口腔鳞癌均为TNM分期III-IV期患者;(4)所有研究对象精神和认知正常,可配合完成调查研究;(5)经医院伦理委员会批准研究。排除标

准:(1)口腔鳞癌患者为复发或者淋巴细胞转移者;(2)合并严重心、肝、肾等器官功能障碍者;(3)伴有其它恶性肿瘤者;(4)妊娠期或哺乳期者;(5)一般资料不完善者。

1.2 方法

在实施化疗之前,全面进行常规检查。全部口腔鳞癌患者均采用标准的卡铂(辰欣药业股份有限公司)+平阳霉素(吉林敖东药业集团延吉股份有限公司)+甲氨蝶呤(悦康药业集团股份有限公司)的化疗方案:化疗第1天静脉滴注卡铂100 mg/m²、甲氨蝶呤114mg/m²;第2、4、6天,静脉滴注平阳霉素8 mg/m²;第8天,静脉滴注甲氨蝶呤100 mg/m²。

利用915 MHz微波热疗机(成都锦江电机厂),在化疗静脉滴注12 h内进行胸部热疗,加温温度42℃,加温持续时间30 min,每隔1 d热疗1次,10次为1个疗程。注意事项:热化疗前对照射区域的皮肤进行清洁,指导将大小便排空,身上附带金属物品全部摘除,密切观察治疗情况,出现异常情况时立即禁止。

1.3 观察指标

(1)检测和比较各炎性细胞因子:包括白细胞介素2(IL-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。于清晨空腹状态下,抽取研究对象静脉血5 mL,经抗凝和离心处理后,保存于-30℃的冰箱中及时送检。采用ELISA法进行检测,试剂盒均统一购自Sigma公司,检测时严格按照试剂盒说明实施操作。(2)检测和比较各T细胞亚群因子表达:包括CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺,采用贝克曼CytoFLEX流式细胞仪进行检测,要求严格控制好检测的质量。(3)检测和比较组CEACAM-1表达情况:包括CEACAM-1 mRNA相对表达量和CEACAM-1蛋白阳性表达率。采用ELISA法检测表达量,试剂盒购自Uscn Life Science公司。采用免疫组化SP法检测表达率,CEACAM-1阳性染色主要集中于细胞质中,细胞质中出现明显棕色或棕黄色颗粒且染色程度>25%的细胞为CEACAM-1阳性细胞,计算两组阳性表达率。阳性表达率=阳性细胞数/总细胞数×100%。实验重复3次,取平均值。(4)检测和比较细胞活力:采用MTT法检测,将各组细胞以每孔1×10⁵接种于96孔板中,每组3个复孔,37℃培养48 h,每孔加入20 μL MTT(5 g/L)。37℃恒温箱培养4 h,弃去上清,加入100 μL DMSO,37℃摇床中孵育30 min,酶标仪检测细胞在570 nm的吸光度(A)值,实验重复3次,取平均值。

1.4 统计学分析

数据分析使用 SPSS 21.0 统计软件包,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,计数资料采用%表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组各炎性细胞因子水平的比较

与对照组相比,实验组患者 IL-2 和 TNF- α 水平更低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验组 III 期和 IV 期化疗前相比,IL-2 和 TNF- α 水平差异无统计学意义($P > 0.05$);实验组 III 期和 IV 期化疗后 IL-2 和 TNF- α 水平均高于化疗前,且实验组 III 期高于 IV 期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组各炎性细胞因子水平的比较($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

组别	IL-2	TNF- α
对照组($n=120$)	16.59 \pm 5.87	14.92 \pm 5.17
实验组 III 期($n=95$)		
化疗前	4.10 \pm 2.03 *	3.05 \pm 1.98 *
化疗后	10.02 \pm 3.65 ** Δ	8.75 \pm 2.86 ** Δ
实验组 IV 期($n=25$)		
化疗前	4.31 \pm 2.14 *	3.19 \pm 2.05 *
化疗后	7.52 \pm 3.06 ** Δ	6.07 \pm 2.71 ** Δ

* $P < 0.05$, 与对照组比较;# $P < 0.05$, 与化疗前比较; $\Delta P < 0.05$, III 期同 IV 期化疗后比较。

2.2 两组 T 细胞亚群表达的比较分析

与对照组相比,实验组患者 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 表达更低,CD8⁺ 表达更高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验组 III 期和 IV 期化疗前相比,CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 差异无统计学意义($P > 0.05$);实验组 III 期和 IV 期化疗后 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 均较化疗前改善,且 III 期 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 表达高于 IV 期,CD8⁺ 表达低于 IV 期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组 T 细胞亚群表达的比较分析($\bar{x} \pm s$)

组别	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	36.42 \pm 11.27	14.92 \pm 5.17	2.19 \pm 0.32
实验组 III 期($n=95$)			
化疗前	18.23 \pm 5.47 *	35.54 \pm 10.24 *	0.46 \pm 0.14 *
化疗后	27.45 \pm 8.51 ** Δ	26.07 \pm 7.91 ** Δ	0.94 \pm 0.26 ** Δ
实验组 IV 期($n=25$)			
化疗前	17.42 \pm 5.40 *	36.52 \pm 10.36 *	0.43 \pm 0.13 *
化疗后	22.31 \pm 6.98 ** Δ	31.05 \pm 9.14 ** Δ	0.75 \pm 0.20 ** Δ

* $P < 0.05$, 与对照组比较;# $P < 0.05$, 与化疗前比较; $\Delta P < 0.05$, III 期同 IV 期化疗后比较。

2.3 两组 CEACAM-1 表达情况的对比

与对照组相比,实验组患者 CEACAM-1 mRNA 相对表达量和 CEACAM-1 蛋白阳性表达率更高,差

异有统计学意义($P < 0.05$)。实验组 III 期和 IV 期化疗前相比,CEACAM-1 mRNA 相对表达量和 CEACAM-1 蛋白阳性表达率差异无统计学意义($P > 0.05$);实验组 III 期和 IV 期化疗后 CEACAM-1 mRNA 相对表达量和 CEACAM-1 蛋白阳性表达率均较化疗前下降,且 III 期低于 IV 期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组 CEACAM-1 表达情况的对比($\bar{x} \pm s$, %)

组别	CEACAM-1 mRNA 相对表达量	CEACAM-1 蛋白阳性表达率
对照组	0.21 \pm 0.06	23.64 \pm 6.52
实验组 III 期($n=95$)		
化疗前	0.87 \pm 0.18 *	76.41 \pm 16.32 *
化疗后	0.46 \pm 0.12 ** Δ	61.75 \pm 11.86 ** Δ
实验组 IV 期($n=25$)		
化疗前	0.90 \pm 0.19 *	78.49 \pm 17.15 *
化疗后	0.68 \pm 0.16 ** Δ	70.30 \pm 13.96 ** Δ

* $P < 0.05$, 与对照组比较;# $P < 0.05$, 与化疗前比较; $\Delta P < 0.05$, III 期同 IV 期化疗后比较。

2.4 两组细胞活力变化情况比较分析

与对照组相比,实验组细胞活力更高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。实验组 III 期和 IV 期化疗前细胞活力相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);实验组 III 期和 IV 期化疗后细胞活力均低于化疗前,且 III 期低于 IV 期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 两组细胞活力变化情况比较分析

组别	细胞活力
对照组	0.49 \pm 0.13
实验组 III 期($n=95$)	
化疗前	0.96 \pm 0.24
化疗后	0.52 \pm 0.15
实验组 IV 期($n=25$)	
化疗前	0.98 \pm 0.25
化疗后	0.74 \pm 0.20 ** Δ

* $P < 0.05$, 与化疗前比较;# $P < 0.05$, 与 III 期化疗后比较。

3 讨论

热化疗是肿瘤疾病一种全新的疗法,指的是将化疗和热疗联合应用的形式,其原理通过物理能量加热化疗药物,借助产生的热效应加速肿瘤组织温度上升,利用正常组织和肿瘤细胞在对温度耐受能力方面存在一定的差异这一因素,以此达到既能使肿瘤细胞凋亡又不损伤正常组织的治疗目的^[5]。目前,热化疗在口腔鳞癌的治疗中已被广泛应用,其

效果受到了高度的认可。

研究^[6]表明,肿瘤患者会发现免疫反应,细胞之间相互作用有许多因子参与,与炎性细胞因子之间有着密切的联系,其中 IL-2 和 TNF- α 是较为常见的两个因子。IL-2 是由 TH1 细胞分泌,可促进 T 细胞和诱导 NK 细胞增殖分化,能与细胞膜上的 1L-2R 结合,增强细胞毒性和杀伤活性,辅助 T 细胞发挥抗癌作用^[7]。TNF- α 对肿瘤细胞的抑制作用和杀伤作用,已得到了临床研究实践的证实,对 NK 细胞活性的增强效果明显,并且可有效增强肿瘤细胞抗原性,是现阶段研究发现的对肿瘤产生直接杀伤作用最为强烈的生物活性因子之一^[8]。本研究结果显示,实验组化疗后的 IL-2 和 TNF- α 水平高于化疗前 ($P < 0.05$),充分说明了热化疗的应用,的确可以提升 IL-2 和 TNF- α 水平,进而更好地发挥 IL-2 和 TNF- α 的作用,实现抗肿瘤的目标。分析实验组 III 期和 IV 期患者的 IL-2 和 TNF- α 水平发现,化疗后实验组 III 期高于 IV 期 ($P < 0.05$),这在一定程度上说明了热化疗的效果可能受到 TNM 分期的影响,可以假设为严重程度越高热化疗的效果受到的影响越大。肿瘤患者免疫功能会出现不同程度的下降,其中对 T 细胞和 NK 细胞功能作用的抑制是其重要的因素之一^[9]。既往研究^[10]发现,IL-2 和 TNF- α 均能够在一定程度上促进 T 细胞和诱导 NK 细胞的增殖分化,间接地达到增强机体免疫功能的目的是。本研究结果显示,实验组化疗后 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 表达均较化疗前明显改善 ($P < 0.05$),表明了热化疗方案的应用,能够有效调节机体免疫应答,维护免疫系统的平衡和稳定,对机体免疫力的增强作用显著。分析原因,主要是因为常规基础上配合热疗,能够增强肿瘤细胞的通透性,利于抗癌药物更好地发挥抗癌作用,并且化疗后可产生生物效应,降低肿瘤负荷,使肿瘤产生的免疫抑制因子减少,减轻免疫功能抑制^[11]。但是实验组化疗后的 IL-2 和 TNF- α 低于对照组,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 表达低于对照组,CD8⁺ 表达高于对照组 ($P < 0.05$),说明了尽管热化疗的应用,可以提高机体 IL-2 和 TNF- α 水平,增强机体免疫功能,然而同健康正常的人群相比,仍旧有一定的差距,而这也反映了肿瘤患者在机体正常功能方面的不足和局限,结合实验组 III 期 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 表达高于 IV 期,CD8⁺ 表达低于 IV 期,说明热化疗的局限在 TNM 分期 IV 期患者中的表现更加明显,表明热化疗对机体免疫力的作用

会受到 TNM 分期的影响,但由于该方面的研究报道并不多见,其仍旧有待进一步探究。

CEACAM1 是癌胚抗原家族中不可缺少的一员,对肿瘤细胞的增殖、凋亡和分化起着重要的调控作用,并且能够介导肿瘤细胞的黏附,在血管和淋巴管新生等病理过程中也发挥着重要的功效^[12]。国外研究^[13]表明,在绝大部分的恶性肿瘤中,如胃癌、乳腺癌、子宫癌、胰腺癌等,CEACAM1 均存在着高表达的现象,而其表达的变化对病情的变化也有重要的指导价值。本研究结果显示,实验组化疗前的 CEACAM-1 mRNA 相对表达量和 CEACAM-1 蛋白阳性表达率均保持在较高水平,而化疗后均下降且低于化疗前 ($P < 0.05$),提示了热化疗的应用,能够抑制 CEACAM1 的表达,使其水平下降,进而更好地调控肿瘤细胞的增殖和凋亡。但是与对照组相比,实验组化疗后的 CEACAM-1 mRNA 相对表达量和 CEACAM-1 蛋白阳性表达率均更高 ($P < 0.05$),进一步分析不同 TNM 分期患者发现,实验组 III 期化疗后均低于 IV 期 ($P < 0.05$),表明了口腔鳞癌患者经治疗后 CEACAM-1 仍旧存在高表达,且 TNM 分期越高,高表达现象也就越严重,而这也作为诊断检查口腔癌和判定病情变化的敏感指标之一。恶性肿瘤患者疾病的发生和发展过程中,细胞活力的变化扮演着非常重要的角色^[14]。研究^[15]发现,细胞活力增强,恶性肿瘤的进展速度越快,恶化程度越明显。因此,在采取相应治疗措施的过程中,应加强对细胞活力的抑制,使其逐渐趋于正常,并向正常人群靠拢。本研究结果显示,实验组化疗后的细胞活力低于化疗前 ($P < 0.05$),且与对照组相比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),这既提示了热化疗方案可降低细胞活力的同时,还能将细胞活力抑制在与正常健康人体相差无几的状态,充分表明了热化疗的作用,而这与化疗药物产生有机互补作用,增加患者对化疗的敏感性,更有效地杀伤恶性肿瘤细胞有着密切关系。但是,分析不同 TNM 分期患者发现,III 期患者化疗后细胞活力明显低于 IV 期 ($P < 0.05$),提示了热化疗对于细胞活力的抑制作用,可能受到肿瘤分期的影响。

综上所述,口腔鳞癌的治疗方案中,采用热化疗的方案效果明显,可提升机体 IL-2 和 TNF- α 水平,增强机体免疫功能,抑制 CEACAM1 表达和细胞活力,达到治疗的目的。

(下转第 611 页)