

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.022

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.022>

## 急性放射性口腔黏膜炎患者血液中 T 细胞亚群的变化

刘珊, 陆叶, 沈红梅

(云南省中西医结合肿瘤临床研究中心, 云南省肿瘤医院, 昆明医科大学第三附属医院中西医结合科, 昆明 650118)

**[摘要]** **目的:** 探索鼻咽癌患者在放疗期间放射性口腔炎的严重程度、体力状况以及T细胞亚群的水平。**方法:** 选择2015年12月至2016年12月于云南省肿瘤医院住院治疗、病理确诊为鼻咽鳞状细胞癌、首次接受根治性放疗的患者48例(脱落4例), 比较患者在放疗前、放疗第4周以及放疗后3个时期放射性口腔炎严重程度、体力状况及血液中T细胞亚群的水平。**结果:** 随着放疗剂量的增加, 患者放射性口腔炎严重程度呈上升趋势, KPS评分呈下降趋势, 外周血中T细胞亚群水平呈下降趋势, 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论:** 放射线的计量累积可以使放射性口腔黏膜炎的严重程度逐渐加重, 患者生活质量下降并破坏机体的免疫功能。

**[关键词]** 急性放射性口腔黏膜炎; T细胞亚群; 放疗

## Change of T cell subset in acute radiation oral mucosa

LIU Shan, LU Ye, SHEN Hongmei

(Department of Integratd Traditional Chinese and Western Medicine, Yunnan Provincial Integrated Chinese and Western Medicine Treatment Research Center, Tumor Hospital of Yunnan Province, the Third Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650118, China)

**Abstract** **Objective:** To explore the severity of acute radiation oral mucosa, KPS score, and the level of T cell subset in the saliva in patients with nasopharyngeal carcinoma. **Methods:** Forty-eight patients (4 dropped out), pathologically diagnosed as nasopharyngeal carcinoma, who underwent radiotherapy for the first time with (according to the TNM staging, M staging is M0) in our hospital from December 2015 to December 2016 were enrolled in the study. The severity of acute radiation oral mucosa, KPS score and the level of T cell subset in the saliva in patients were compared among early, middle and late stage of radiotherapy. **Results:** With the increasing of radiation dose, the severity of acute radiation oral mucosa increased, the KPS score decreased, and the level of T cell subset decreased, the differences were all statistically significant ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Radiation accumulation can increase the severity of acute radiation oral mucosa inflammation, decrease patients' quality of life, and destroy the patients' immune function.

**Keywords** acute radiation oral mucosa; T cell subset; radiotherapy

收稿日期 (Date of reception): 2017-10-23

通信作者 (Corresponding author): 沈红梅, Email: lilydfz@126.com

基金项目 (Foundation item): 云南省医疗卫生单位内设研究机构科研项目 (2014NS036, 2017NS182); 云南省教育厅科学研究基金 (2016ZDX061)。This work was supported by the Internal Research Institute Program of Medical and Health Organization in Yunnan Province (2014NS036, 2017NS182) and the Research Foundation of Yunnan Educational Committee (2016ZDX061), China.

中国的肿瘤发病率逐年升高<sup>[1-2]</sup>, 接受放疗的患者也逐年增多。肿瘤在放疗期间可发生再增殖, 其疗程的延长可使肿瘤局部控制率明显下降<sup>[3]</sup>。因此, 探明放射性口腔炎发生机制, 将为防治口腔黏膜的放射性损伤、确保放疗计划的顺利完成、避免放疗疗程延长提供理论依据, 对提高头颈部肿瘤的局部控制率有着重要的临床意义。本研究旨在探索急性放射性口腔黏膜炎与患者T细胞亚群的相关性, 为寻找急性放射性口腔黏膜炎的有效干预措施提供实验基础, 从而提高放疗患者总体生活质量。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选择2015年12月至2016年12月云南省肿瘤医院住院治疗、病例确诊为鼻咽鳞状细胞癌(根据临床TNM分期, M分期为M0)、首次接受根治性放疗的患者48例。

纳入标准: 1)病理确诊为鼻咽鳞状细胞癌, 根据临床TNM分期, M分期为M0; 2)首次拟接受根治性放疗的患者, 放疗的总剂量为70~74 Gy, 每天2 Gy, 每周5次, 7~8周完成; 3)一般情况良好, KPS评分 $\geq 60$ ; 4)年龄18~75岁; 5)预计生存期在8周以上; 6)无智力及精神障碍, 语言表达能力正常, 对自身的一般状况有判断能力, 且能合作评价生活质量内容等; 外周血象WBC  $\geq 3.5 \times 10^9/L$ , HGB  $\geq 100$  g/L, PLT  $\geq 100 \times 10^9/L$ ; 7)了解并同意接受本治疗方案, 自愿参加本研究, 签署知情同意书, 依从性好。

排除标准: 1)非鳞癌的其他病理类型鼻咽癌患者; 2)合并鼻咽癌以外的原发性恶性肿瘤的患者; 3)合并心血管、脑血管、肝、肾、造血系统等严重原发性疾病; 4)合并活动性结核及其他严

重的感染性疾病者。

剔除标准: 1)患者发现严重不良事件、严重并发症或特殊生理变化, 不宜继续接受实验者; 2)未按临床研究方案规定治疗者; 3)资料不全者; 4)失访者; 5)实验中自行退出者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 放疗方法选择

48例患者均接受放疗, 放疗方式根据患者具体情况选择, 每周5次, 每次2 Gy, 放疗总剂量DT(Gy)为70~74 Gy, 7~8周完成。

#### 1.2.2 患者身体状况判定

在放疗前、放疗第4周以及放疗后, 由临床医师根据中华人民共和国卫生部GBZ162-2004中华人民共和国国家职业卫生标准——放射性口腔炎诊断标准(表1), 观察并分度记录放射性口腔炎出现的情况; 以KPS体力状况评分为标准, 对患者身体状况进行判定。

#### 1.2.3 T细胞亚群的测定

分别在放疗前、放疗第4周以及放疗后, 清晨空腹抽取静脉血, 用流式细胞仪及CBA试剂盒检测48例患者外周血中T细胞亚群CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, NK细胞的水平。具体操作如下: 1)血液采集方法。取空腹外周血2 mL, 置于离心机以45 000 r/min离心10 min, 取上清液置-20 °C冰箱中冻存备用。2)采用美国Beckman公司的流式细胞仪进行检测。在每支试管中加入10  $\mu$ L异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的荧光单克隆抗体(CD45-FITC/CD4-RDI/CD8-ECD), 加入EDTA-K2抽取的静脉血100  $\mu$ L后混匀, 室温下避光孵育20 min, 加入红细胞裂解液500  $\mu$ L裂解红细胞, 室温下避光反应15 min, 在各试管中加入PBS缓冲液500  $\mu$ L混匀, 室温下避光放置10 min后上流式细胞仪检测并分析数据。

表1 急性放射性口腔炎分度标准

Table 1 Diagnostic criteria of acute radiation oral mucosa

类别	I度	II度	III度	IV度
症状	轻度疼痛	中度疼痛, 能进流质	重度疼痛, 吞咽困难	重度疼痛, 不能进食
体征	黏膜充血、红斑	片状黏膜炎, 炎性分泌物、水肿或溃疡	黏膜融合的纤维性黏膜炎、水肿、溃疡	黏膜溃疡、出血、坏死

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件进行分析, 计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 两组间比较采用 $t$ 检验, 不同剂量组间比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用LSD- $t$ 法; 计数资料以例(%)表示, 组间比较采用 $\chi^2$ 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 纳入对象的基本情况

2015年12月至2016年12月收集云南省肿瘤医院首次行根治性放疗的鼻咽癌患者48例, 病例脱落4例, 剩余44例患者完成本实验。患者均有明确的病理诊断, KPS评分 $\geq 60$ 分, 无精神智力障碍, 无鼻咽癌以外的原发恶性肿瘤, 无心脑血管、肝、肾等器质性疾病。患者年龄( $49.9\pm 9.94$ )岁, 其中男33例, 女11例。病理类型中鳞状细胞癌有2例, 非角化性癌42例。临床分期参照2010年AJCC第7版《鼻咽癌分期系统》为标准。高血压病患者4例, 糖尿病患者1例。40例患者接受调强放疗, 4例行螺旋断层放疗(Tomotherapy system, TOMO)治疗。平均放疗剂量和次数为( $69.19\pm 2.10$ ) Gy/32 F。

### 2.2 不同放疗时期放射性口腔炎发生情况分度比较

在放疗中期, 放射性口腔炎严重程度达到I度和II度的分别有4例(9.09%)和14例(31.82%), 而达到III度和IV度的分别有23例(52.27%)和3例(6.82%); 在放疗后, 放射性口腔炎严重程度达到I度和II度的分别有0例(0%)和4例(9.09%), 而达到III度和IV度的分别有15例(34.09%)和25(56.82%)。结果显示: 随着放疗剂量的增加, 放射性口腔炎的总体发生率越来越高, 并且重度(III, IV度)口腔炎的发生率也越来越高。放疗前后差异有统计学意义( $\chi^2=64.732$ ,  $P<0.01$ )。

### 2.3 不同放疗时期, 患者 KPS 评分的比较

在放疗中期, 31例(70.45%)患者KPS评分减少, 13例(29.55%)患者KPS评分稳定; 在放疗后, 39例(88.64%)患者KPS评分减少, 5例(11.36%)患者KPS评分稳定, 差异均有统计学意义( $\chi^2=4.47$ ,  $P=0.034$ )。

### 2.4 不同放疗剂量时, 血液中 T 细胞亚群 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, NK 细胞的水平的变化

随着放疗剂量的增加, 患者外周血中CD4<sup>+</sup>/

CD8<sup>+</sup>, NK水平呈下降趋势, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ , 表2)。

表2 不同放疗剂量时, 外周血中T细胞亚群细胞的水平  
Table 2 Level of T cell subset in peripheral blood at different stage of radiotherapy

组别	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	NK细胞
放疗前	1.31 ± 0.34	18.38 ± 4.33
放疗中	1.07 ± 0.26	14.06 ± 3.50
放疗后	0.81 ± 0.31	11.61 ± 2.78
F	14.662	15.977
P	<0.01	<0.01

## 3 讨论

急性放射性口腔黏膜炎<sup>[4]</sup>指口腔黏膜受到放射线电离辐射(X线、 $\gamma$ 中子及电子束辐射等)超过该器官阈剂量6个月内所引起的口腔黏膜损伤。临床上主要见于头颈部恶性肿瘤使用放射线治疗的患者, 尤见于以放疗为主要治疗手段的无远处转移的鼻咽癌患者<sup>[5]</sup>。研究<sup>[6]</sup>报道: 头颈部肿瘤疗程的延长会降低其局部控制率, 因此, 防治口腔黏膜的放射性损伤、确保放疗计划的顺利完成及避免放疗疗程延长对提高头颈部肿瘤的局部控制率有着重要的临床意义。本研究显示: 随着放疗剂量增加, 患者III, IV度口腔黏膜反应的发生率增加, 口腔黏膜反应的程度加重。同样, 随着放疗剂量的增加, 患者的KPS评分逐渐降低, 体力状况逐渐下降。因此, 探明放射性口腔炎发生机制, 将为研究放射性口腔炎的治疗方法提供理论基础。

早在90年代, T淋巴细胞及其亚群的失调与肿瘤的关系就已经普遍受到重视。T淋巴细胞亚群为机体免疫系统中具有识别抗原、辅助、活化、抑制以及杀伤肿瘤细胞的一大细胞群<sup>[7-8]</sup>。正常情况下CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>处在一个相对稳定平衡状态, 维持机体的免疫功能, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>下降提示机体免疫功能紊乱, 机体抗肿瘤能力下降<sup>[9]</sup>。NK细胞在免疫监视、免疫调节、杀伤靶细胞等方面同样起着重要的作用<sup>[10]</sup>, 鼻咽癌患者外周血NK细胞的活性明显低于正常人, 其活性与鼻咽癌患者的预后有着密切相关性, NK细胞活性越低, 患者预后越差。放疗可损害机体的免疫功能引起T淋巴细胞亚

群的重新分布,使NK细胞的活性下降,从而导致机体免疫功能紊乱<sup>[11]</sup>,造成免疫损伤<sup>[12]</sup>,进而促进口腔炎症的发生。本研究也证实:随着放疗剂量的增加,患者外周血中CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>和NK细胞水平逐渐下降,提示放射性口腔炎患者机体免疫功能紊乱,机体抗肿瘤能力下降。通过石佛汤<sup>[13]</sup>、清肺养胃方<sup>[14]</sup>以及康莱特<sup>[15]</sup>等药物可通过调节患者免疫而达到防治急性放射性口腔黏膜炎的目的,结合本研究结果,提示若适时应用提高免疫功能药物,可能对放射性口腔炎的恢复以及对患者预后、生存期的延长具有重要意义。

综上所述,随着放疗剂量增加,患者中重度口腔黏膜反应的发生率增加,口腔黏膜反应的程度加重,体力状况逐渐下降。急性放射性口腔炎的产生与患者机体免疫功能紊乱相关,通过对这些变化的深入研究,有助于阐明急性放射性口腔炎的产生机制,为寻找合理干预措施提供理论依据,为放射性口腔炎治疗方法的研究提供理论基础。

## 参考文献

- Hong W, Dong E. The past, present and future of breast cancer research in China[J]. *Cancer Lett*, 2014, 351(1): 1-5.
- Chen W, Zheng R, Zhang S, et al. Report of cancer incidence and mortality in China, 2010[J]. *Ann Transl Med*, 2014, 2(7): 61.
- Chakrabarti S, Mishra A, Agarwal JP, et al. Acute toxicities of adjuvant treatment in patients of oral squamous cell carcinoma with and without submucous fibrosis: a retrospective audit[J]. *J Cancer Res Ther*, 2016, 12(2): 932-937.
- Chaitanya B, Pai KM, Yathiraj PH, et al. Rebamipide gargle in preventive management of chemo-radiotherapy induced oral mucositis[J]. *Oral Oncol*, 2017, 72: 179-182.
- 方霖, 苟福胜. 三维适形放疗对鼻咽癌放疗后颞颌关节损伤的临床观察[J]. *实用癌症杂志*, 2014, 29(7): 766-767.  
FANG Lin, GOU Fusheng. Clinical Observation of Three-dimensional Conformal Radiotherapy for Temporomandibular Joint Injury of Nasopharyngeal Carcinoma after Radiotherapy[J]. *The Practical Journal of Cancer*, 2014, 29(7): 766-767.
- Li K, Yang L, Hu QY, et al. Oral mucosa dose parameters predicting grade  $\geq 3$  acute toxicity in locally advanced nasopharyngeal carcinoma patients treated with concurrent intensity-modulated radiation therapy and chemotherapy: an independent validation study comparing oral cavity versus mucosal surface contouring techniques[J]. *Transl Oncol*, 2017, 10(5): 752-759.
- Lechner A, Schlößer H, Rothschild SI, et al. Characterization of tumor-associated T-lymphocyte subsets and immune checkpoint molecules in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(27): 44418-44433.
- Krishnadas DK, Wang Y, Sundaram K, et al. Expansion of cancer germline antigen-specific cytotoxic T lymphocytes for immunotherapy[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 1010428317701309.
- Zhou H, Liu T, Wang Z. Analysis of non-small cell lung cancer microenvironment indicates preponderance of T cell exhaustion marker expression[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 360(2): 205-209.
- Lowry LE, Zehring WA. Potentiation of natural killer cells for cancer immunotherapy: a review of literature[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1061.
- Liu H, Li B, Jia X, et al. Radiation-induced decrease of CD8+ dendritic cells contributes to Th1/Th2 shift[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 46: 178-185.
- Farah CS, Hong S, Wanasangsakul S, et al. Irradiation-induced oral candidiasis in an experimental murine model[J]. *Oral Microbiol Immunol*, 2001, 16(6): 358-363.
- 李志明. 石佛汤对急性放射性口腔炎微循环状态、免疫功能及炎症细胞因子的影响[J]. *中国中医急症*, 2017, 26(3): 545-547.  
LI Zhiming. The effects of shifo decoction on microcirculation status, immune function and inflammatory cytokines in acute radioactive stomatitis[J]. *Chinese Medical Emergency*, 2017, 26(3): 545-547.
- 马新英, 张鑫, 支艳, 等. 清肺养胃方防治急性放射性口腔炎及口干症临床观察[J]. *中国中医药信息杂志*, 2012, 19(4): 65-66.  
MA Xinying, ZHANG Xin, ZHI Yan, et al. Clinical observation on the prevention and treatment of acute radioactive stomatitis and stomatosis[J]. *Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2012, 19(4): 65-66.
- 任浙平, 李先明, 吴超权, 等. 康莱特联合放射治疗老年鼻咽癌的临床观察[J]. *中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志*, 2005, 13(6): 319-321.  
REN Zheping, LI Xianming, WU Chaoquan, et al. The therapeutic effects of the combined therapy with kanglaite injection and radiotherapy on nasopharyngeal carcinoma amollg aged cases[J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2005, 13(6): 319-321.

本文引用: 刘珊, 陆叶, 沈红梅. 急性放射性口腔黏膜炎患者血液中T细胞亚群的变化[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(12): 2643-2646. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.022

Cite this article as: LIU Shan, LU Ye, SHEN Hongmei. Change of T cell subset in acute radiation oral mucosa[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(12): 2643-2646. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.12.022