

## 局限性肾透明细胞癌术后应用干扰素辅助治疗免疫功能分析

陈伟<sup>1△</sup>, 张金平<sup>2△</sup>, 王林辉<sup>1</sup>, 杨庆<sup>1</sup>, 刘冰<sup>1</sup>, 吴震杰<sup>1</sup>, 徐遵礼<sup>1</sup>, 孙颖浩<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学长海医院泌尿外科, 上海 200433
2. 解放军 401 医院泌尿外科, 青岛 266071

**[摘要]** **目的** 评价干扰素辅助治疗对局限性肾透明细胞癌患者术后免疫指标的影响及其临床意义。**方法** 对 35 例局限性肾透明细胞癌患者术后应用干扰素  $\alpha$ -2b 进行免疫辅助治疗, 6 MIU/次, 每周 3 次, 共持续 3 个月。免疫治疗前以及治疗开始后第 1、2、4、8、16 周抽取外周血, 检测细胞免疫相关指标  $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、 $CD16^+56^+$ 、 $CD19^+$  和体液免疫相关指标 IL-2、IL-6、IL-10、IL-8、TNF- $\alpha$ , 比较各免疫指标手术前后的变化。**结果** 免疫治疗 3 个月疗程结束后, 患者细胞免疫指标  $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$  与治疗前比较差异无统计学意义;  $CD16^+56^+$  在治疗开始后前两周升高, 第 2 周时与治疗前比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 但在第 16 周时较治疗前下降 ( $P < 0.01$ );  $CD19^+$  在治疗开始后第 1、2、4 周较治疗前降低 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 但在第 16 周时较治疗前升高 ( $P < 0.01$ )。体液免疫各项指标中, IL-8 水平在治疗开始后第 4 周时较治疗前降低 ( $P < 0.05$ ), TNF- $\alpha$  在治疗开始后第 8 周时较治疗前升高 ( $P < 0.01$ )。治疗结束后, 即第 16 周时, 所有体液免疫指标与治疗前比较差异均无统计学意义。**结论** 局限性肾透明细胞癌术后应用干扰素免疫辅助治疗 (6 MIU/次, 每周 3 次, 共持续 3 个月) 对于提高患者部分免疫指标水平效果不明显, 此免疫治疗方案对患者远期生存期的影响需要进一步随访观察。

**[关键词]** 肾肿瘤; 免疫疗法; 干扰素  $\alpha$ -2b; 免疫功能

**[中图分类号]** R 737.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)09-1028-04

## Immune function analysis after interferon treatment in post-surgery patients with localized clear cell renal cell carcinoma

CHEN Wei<sup>1△</sup>, ZHANG Jin-ping<sup>2△</sup>, WANG Lin-hui<sup>1</sup>, YANG Qing<sup>1</sup>, LIU Bing<sup>1</sup>, WU Zhen-jie<sup>1</sup>, XU Zun-li<sup>1</sup>, SUN Ying-hao<sup>1\*</sup>

1. Department of Urology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Department of Urology, No. 401 Hospital of PLA, Qingdao 266071, Shandong, China

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the influence of interferon adjuvant therapy on immune parameters in postoperative patients with localized clear cell renal cell carcinoma (LCCRCC) and explore the related clinical significance. **Methods** Thirty-five patients with LCCRCC were treated with interferon  $\alpha$ -2b hypodermic injection after surgery (6 MIU/time, three times per week for three months). Immune parameters, including  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD4^+/CD8^+$ ,  $CD16^+56^+$ ,  $CD19^+$ , IL-2, IL-6, IL-10, IL-8, and TNF- $\alpha$ , were determined before and at the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup>, and 16<sup>th</sup> week after therapy. And the results were compared before and after therapy. **Results** Three months after therapy, the levels of  $CD4^+$ ,  $CD8^+$  and  $CD4^+/CD8^+$  were not significantly different from those before therapy. The of  $CD16^+56^+$  was increased significantly during the first two weeks' of treatment ( $P < 0.05$ ) and was significantly declined at the end of therapy ( $P < 0.01$ ). Compared with that before therapy,  $CD19^+$  levels were decreased in the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 4<sup>th</sup> week after treatment (all  $P < 0.01$ ), and was significantly increased at the 16<sup>th</sup> week ( $P < 0.01$ ). The level of IL-8 was significantly decreased at the 4<sup>th</sup> week after therapy ( $P < 0.05$ ) and TNF- $\alpha$  level was increased at the 8<sup>th</sup> week after therapy ( $P < 0.01$ ); the levels of other humoral immune parameters were not significantly different from those before therapy. **Conclusion** Treatment with interferon  $\alpha$ -2b hypodermic injection (6 MIU/time, three times/week for three months) has a limited effect on promoting the immunity level of patients with LCCRCC, and its influence on the long-term survival patients also needs further study.

**[收稿日期]** 2012-03-15 **[接受日期]** 2012-05-07

**[基金项目]** 上海市市级医院新兴前沿科技联合攻关项目 (SHDC12010115), 上海市重点学科项目。Supported by the Municipal Hospital's Project for Emerging and Frontier Technology of Shanghai (SHDC12010115) and Project for the Key Discipline of Shanghai.

**[作者简介]** 陈伟, 博士生。E-mail: ifyoucanchen@126.com; 张金平, 副主任医师。E-mail: gxgg2005@163.com

△共同第一作者 (Co-first authors).

\* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-31161729, E-mail: sunyh@medmail.com.cn

[Key words] kidney neoplasms; immunotherapy; interferon alfa-2b; immune function

[Acad J Sec Mil Med Univ,2012,33(9):1028-1031]

肾细胞癌(肾癌)是泌尿系统常见肿瘤之一,其发病率逐年提高。手术是肾癌治疗的首选方法,但术后1~2年仍有20%~30%的患者出现远处转移<sup>[1-2]</sup>。肾癌病理分型中,肾透明细胞癌占60%~85%<sup>[3]</sup>。近年来,干扰素(interferon, IFN)在肾癌免疫辅助治疗中的作用受到广泛重视和深入研究。我院自2009年10月至2011年9月对35例局限性肾透明细胞癌(T1~T2期)患者术后常规使用IFN α-2b进行免疫辅助治疗,并分析了治疗前后部分免疫指标的变化情况。

1 资料和方法

1.1 一般资料 病理证实为肾透明细胞癌患者35例,术前均无远处转移。男23例、女12例,年龄27~70岁,平均(50.0±12.7)岁。肿瘤位于左侧21例,右侧14例;行肾癌根治术20例,肾部分切除术15例。肾癌TNM分期:T1期26例,T2期9例。Fuhrman分级:I级9例,II级13例,III级7例,IV级6例。本研究经医院医学伦理委员会审核批准,所有患者均知情同意。

1.2 治疗方法 术后1个月内开始给予患者IFN α-2b(商品名:甘乐能,美国先灵葆雅公司生产,批号:S20040012)进行免疫辅助治疗,皮下注射,6 MIU/次,每周3次,共持续3个月。用药前抽取外周血进行血常规、肝肾功能检测,以确保用药安全。

1.3 监测指标 治疗前以及治疗开始后第1、2、4、8、16周抽取外周血检测免疫相关指标。细胞免疫相关指标包括CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、CD16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>、CD19<sup>+</sup>,体液免疫相关指标包括IL-2、IL-6、IL-10、IL-8、TNF-α。不良反应监测:观测体温、血压以及皮肤瘙痒、红斑等症状,每周查1次血常规,每月查1次肝肾功能。

1.4 统计学处理 应用SPSS 17.0统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态分布数据采用t检验,非正态分布数据采用wilcoxon秩和检验。检验水平(α)为0.05。

2 结果

2.1 治疗前后免疫指标变化情况 IFN α-2b免疫辅助治疗3个月疗程结束后,即第16周时,患者细胞免疫指标CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>与治疗前比较差异无统计学意义。CD16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>在治疗开始后前两周升高,在第2周时与治疗前比较差异有统计学意义(P<0.05);在第16周时较治疗前下降,差异有统计学意义(P<0.01);CD19<sup>+</sup>在治疗开始后第1、2、4周时较治疗前降低,但在第16周时较治疗前升高,差异均有统计学意义(P<0.01),见表1。体液免疫各项指标中,IL-8水平在治疗开始后第4周时较治疗前降低(P<0.05),TNF-α水平在治疗开始后第8周时较治疗前升高(P<0.05);治疗结束后,即第16周时,所有体液免疫指标与治疗前比较差异均无统计学意义,见表2。

表1 免疫治疗前后细胞免疫相关指标比较

n=35,  $\bar{x} \pm s$

时间	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	CD16 <sup>+</sup> 56 <sup>+</sup>	CD19 <sup>+</sup>
治疗前	0.352±0.093	0.302±0.111	0.013±0.006	0.227±0.103	0.093±0.033
治疗后					
1周	0.353±0.085	0.301±0.095	0.013±0.006	0.242±0.099	0.077±0.034**
2周	0.334±0.092	0.306±0.094	0.012±0.006	0.256±0.097*	0.074±0.034**
4周	0.358±0.075	0.309±0.095	0.013±0.005	0.226±0.096	0.080±0.037**
8周	0.364±0.084	0.303±0.088	0.013±0.005	0.199±0.092	0.105±0.043
16周	0.345±0.077	0.282±0.093	0.014±0.008	0.183±0.076**	0.136±0.071**

\* P<0.05, \*\* P<0.01 与治疗前比较

表2 免疫治疗前后体液免疫相关指标比较

n=35,  $\bar{x} \pm s$ , ρB/(ng·L<sup>-1</sup>)

时间	IL-2	IL-6	IL-10	IL-8	TNF-α
治疗前	3.8±8.0	107.5±145.4	30.4±75.6	365.5±165.7	4.9±7.0
治疗后					
1周	4.3±8.6	127.1±150.8	28.2±75.4	319.3±179.7	17.5±34.7
2周	4.0±10.9	115.4±146.4	27.2±91.3	326.7±196.0	8.5±14.8
4周	4.8±17.5	110.8±152.0	27.7±86.7	285.6±204.4*	11.5±16.1
8周	5.9±20.2	115.7±166.0	22.7±64.4	294.6±203.3	25.5±68.0**
16周	20.6±75.1	114.0±150.7	44.0±89.1	333.1±184.7	33.6±94.9

\* P<0.05, \*\* P<0.01 与治疗前比较

2.2 不良反应 用药后最常见的不良反应是发热,一般发生于治疗前两周,体温最高达 $40^{\circ}\text{C}$ ,给予解热镇痛药物治疗后患者症状一般都能缓解,约两周后发热自行消失。本组25例(71.4%)患者用药后出现发热;其他不良反应包括肌痛(14例,40.0%)、厌食(9例,25.7%)、疲乏(5例,14.3%)、皮肤瘙痒(2例,5.7%)等。肝肾功能损害是IFN治疗较严重的不良反应,本组35例患者治疗过程中肝肾功能指标均正常。

### 3 讨论

人体免疫系统是由参与执行免疫功能的器官、组织、细胞和分子所构成的复杂的生物功能系统,其机能的发挥主要是由以上几个部分充分协调的结果。机体的免疫水平是通过细胞免疫与体液免疫来实现的。研究表明,免疫因素在恶性肿瘤的治疗中发挥了重要作用<sup>[4]</sup>。术后免疫治疗有利于免疫功能的恢复,增强机体抗肿瘤能力,减少肿瘤复发,从而延长患者生存期。

IFN是第一个用于临床的基因重组细胞因子。临床上一般将IFN- $\alpha$ 用量 $\leq 3$  MIU/d称为小剂量,5~10 MIU/d称为中等剂量,而 $> 10$  MIU/d称为高剂量。20世纪90年代起,中、高剂量IFN- $\alpha$ 和(或)IL-2被作为转移性肾癌的一线治疗方案,客观反应率约为10%~20%。多项随机对照临床研究结果表明术后IFN辅助免疫治疗并不能显著提高患者的无瘤生存期或总生存期<sup>[5-7]</sup>。Pizzocaro等<sup>[5]</sup>对123例Robson II~III期肾癌患者给予术后IFN治疗,每周3次,每次6 MIU,共持续6个月,3年、5年无瘤生存期和总生存期与对照组相比无明显差异。Messing等<sup>[6]</sup>将IFN用于140例T3~T4期肾癌术后患者,每3周1个疗程,每个疗程用药方案为:第1天3 MIU/m<sup>2</sup>,第2天5 MIU/m<sup>2</sup>,第3~5天20 MIU/m<sup>2</sup>,隔3周进入下一疗程,一共12个疗程。研究表明:与对照组相比,IFN免疫治疗无益于提高患者的无瘤生存期和总生存期。在一项meta分析报道中,Coppin等<sup>[7]</sup>分析了4个随机对照研究,共644例局部进展性肾癌患者接受IFN治疗,与安慰剂治疗组相比,IFN治疗组中位生存期延长3.8个月(11.4个月 vs 7.6个月),总有效率提高(12.5% vs 1.5%)。Coppin最后得出结论:IFN对于透明细胞病理类型、仅有肺转移的转移性肾癌患者有积极疗效。最新欧洲泌尿协会(European Association of Urology, EAU)颁布的肾癌诊疗指南中指出,IFN单药治疗不再推荐应用于转移性肾癌的一线治疗方案,但在特定病例(体力状况良好、透明细胞类型、仅有肺部转移)中,IFN单药治疗方案仍具有一定作用<sup>[8]</sup>。综合以上证据可以看出,IFN应用于肾癌术后辅助免疫治疗,其总体疗效维持在较低的水平,临床应用存在争议。

由于免疫治疗的疗效不尽如人意,目前越来越多的临床研究关注于免疫单药与抑制肿瘤血管生成药物联合治疗转移性肾癌。在一项单中心随机双盲III期临床试验中,Escudier等<sup>[9]</sup>比较了IFN联合贝伐单抗治疗方案与IFN单药治疗的疗效,研究发现,联合治疗组的中位无进展生存期(PFS,10.4个月 vs 5.5个月,  $P=0.0001$ )、总体反应率(ORR,

31% vs 13%,  $P=0.0001$ )以及中位进展时间(10.2个月 vs 5.5个月,  $P=0.0001$ )均优于单药治疗组。另一项III期临床试验中,Rini等<sup>[10]</sup>发现,与IFN单药治疗组相比,IFN联合贝伐单抗治疗方案能有效改善患者ORR(25.5% vs 13.1%,  $P<0.0001$ )和中位PFS(8.4个月 vs 4.9个月,  $P<0.0001$ ),但是两组之间总生存期无明显差异(18.3个月 vs 17.4个月,  $P=0.097$ )。有两项II期临床试验研究表明,索拉菲尼联合IFN治疗转移性肾癌客观反应率分别仅为18%和35%<sup>[11-12]</sup>。根据以上临床试验结果不难看出,转移性肾癌的免疫辅助治疗依然是个世界性的难题,仍需要大量临床资料进行充分论证。

虽然IFN在肾癌术后治疗中的作用已经过大量临床研究证实,但国内外关于IFN对患者术后短期内免疫功能的作用的报道仍较少。Donskov等<sup>[13]</sup>研究发现,转移性肾癌患者经IFN+IL-2联合治疗2周后,治疗有效患者淋巴细胞总数、CD3<sup>+</sup>、CD57<sup>+</sup>明显高于治疗无效者,而CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD20<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup>在治疗有效者和无效者之间无统计学差异。他们认为,淋巴细胞亚群的变化可以预测患者免疫治疗的有效性,即延长生存期。国内朱伟等<sup>[14]</sup>报道,肾癌根治术后行IFN免疫治疗,术后T淋巴细胞亚群CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>与术前比较有统计学差异,提示免疫功能有所提高。

与其他学者旨在研究IFN治疗与生存期的关系不同,本研究主要目的在于探讨特定肾癌病例术后应用IFN治疗后一定时期内患者免疫水平的变化情况。本研究纳入标准为:(1)美国癌症联合会(AJCC)肾癌TNM分期中的T1~T2期患者;(2)病理类型为肾透明细胞癌;(3)治疗前血常规、肝肾功能正常,且无其他不适合IFN免疫治疗的疾病。在前期临床实践中,我们尝试过9 MIU单次剂量,但患者不良反应大,不能耐受,白细胞低至 $2 \times 10^9/\text{L}$ 以下。从治疗效果和患者耐受两方面综合考虑,本研究选择6 MIU单次剂量治疗。

本研究比较了35例患者IFN治疗前后的细胞免疫相关指标,结果显示除CD16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>、CD19<sup>+</sup>变化有统计学差异以外,其他各项指标差异均无统计学意义。IFN主要通过刺激淋巴细胞以提高机体免疫水平,本研究中我们首次将体液免疫相关指标纳入评价标准。研究结果表明除第4周IL-8、第8周TNF- $\alpha$ 变化有统计学差异外,其他各项指标差异均无统计学意义。因此,可初步认为,局限性肾透明细胞癌术后应用IFN 6 MIU/次,每周3次,共持续3个月的免疫治疗方案并不能有效提高患者的细胞免疫和体液免疫相关指标。另外,反映机体体液免疫水平的指标还包括各种免疫球蛋白含量,如IgG、IgA、IgM等,以及补体、C-反应蛋白水平等,还有必要做进一步研究。

IFN免疫治疗的不良反应发生率为60%~90%,主要包括(1)血清病样反应:发热、乏力、肌痛、关节痛等;(2)其他少见反应:呕吐、低血压、高血压、心律不齐、眩晕、瘙痒、脱发等<sup>[15]</sup>。本研究治疗过程中发热是发生率最高的不良反应,约占71.4%,多发生于治疗初期,体温最高达 $40^{\circ}\text{C}$ ,药物对症治

疗后一般能缓解,不影响治疗的进行。其他不良反应随着治疗的进行逐渐缓解,绝大多数患者能够耐受。

肾癌术后是否进行免疫辅助治疗一直存在争议,各治疗中心的研究结果也不尽相同,目前尚无定论。这可能和研究对象的选择、给药剂量、给药方式、给药时间等因素有关。绝大多数研究是针对进展期和转移性肾癌,而对局限性肾癌应用IFN治疗的报道较少。本研究选取局限性肾透明细胞癌患者作为研究对象,侧重于探讨免疫辅助治疗后短期免疫水平的变化情况,研究结果表明,局限性肾透明细胞癌术后应用IFN 6MIU/次,每周3次,共持续3个月的免疫治疗方案对于提高患者细胞免疫和体液免疫相关指标效果不明显,对患者远期生存率的影响有待于进一步随访观察和研究。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] Rabinovitch R A, Zelefsky M J, Gaynor J J, Fuks Z. Patterns of failure following surgical resection of renal cell carcinoma: implications for adjuvant local and systemic therapy[J]. *J Clin Oncol*, 1994, 12: 206-212.
- [2] Sandock D S, Seftel A D, Resnick M I. A new protocol for the followup of renal cell carcinoma based on pathological stage[J]. *J Urol*, 1995, 154: 28-31.
- [3] Störkel S, Eble J N, Adlakha K, Amin M, Blute M L, Bostwick D G, et al. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC) [J]. *Cancer*, 1997, 80: 987-989.
- [4] Topalian S L, Weiner G J, Pardoll D M. Cancer immunotherapy comes of age [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 4828-4836.
- [5] Pizzocaro G, Piva L, Colavita M, Ferri S, Artusi R, Boracchi P, et al. Interferon adjuvant to radical nephrectomy in Robson stages II and III renal cell carcinoma: a multicentric randomized study [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19: 425-431.
- [6] Messing E M, Manola J, Wilding G, Propert K, Fleischmann J, Crawford E D, et al. Phase III study of interferon alfa-NL as adjuvant treatment for resectable renal cell carcinoma: an Eastern Cooperative Oncology Group/Intergroup trial[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21: 1214-1222.
- [7] Coppin C, Porzolt F, Awa A, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2005, (1): CD001425.
- [8] Ljungberg B, Cowan N C, Hanbury D C, Hora M, Kuczyk M A, Merseburger A S, et al. EAU guidelines on renal cell carcinoma: the 2010 update[J]. *Eur Urol*, 2010, 58: 398-406.
- [9] Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, Ravaud A, Bracarda S, Szczylik C, et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial [J]. *Lancet*, 2007, 370: 2103-2111.
- [10] Rini B I, Halabi S, Rosenberg J E, Stadler W M, Vaena D A, Archer L, et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon alfa versus interferon alfa monotherapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: final results of CALGB 90206[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28: 2137-2143.
- [11] Gollob J A, Rathmell W K, Richmond T M, Marino C B, Miller E K, Grigson G, et al. Phase II trial of sorafenib plus interferon alfa-2b as first- or second-line therapy in patients with metastatic renal cell cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25: 3288-3295.
- [12] Ryan C W, Goldman B H, Lara P N Jr, Mack P C, Beer T M, Tangen C M, et al. Sorafenib with interferon alfa-2b as first-line treatment of advanced renal carcinoma: a phase II study of the Southwest Oncology Group [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25: 3296-3301.
- [13] Donskov F, Bendedsgaard K M, Von Der Maase H, Marcussen N, Fisker R, Jensen J J, et al. Intratumoural and peripheral blood lymphocyte subsets in patients with metastatic renal cell carcinoma undergoing interleukin-2 based immunotherapy: association to objective response and survival [J]. *Br J Cancer*, 2002, 87: 194-201.
- [14] 朱伟,付杰新,李建安,陈伯川,易钢.  $\alpha$ -干扰素在肾癌根治术后的治疗作用[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2001, 22: 350-352.
- [15] 马镇光早,鲍镇美. 干扰素治疗肾癌[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2003, 24: 429-431.

[本文编辑] 魏学丽,邓晓群