

帕瑞昔布钠对乳腺癌患者外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞的影响\*

李志艺, 颜振艺\*\*, 刘晓燕, 李大析

(广东医科大学附属医院 麻醉科, 广东 湛江 524001)

[摘要] 目的: 探讨 COX-2 抑制剂帕瑞昔布钠对乳腺癌患者外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞的影响。方法: 40 例 II 期乳腺癌患者均分为观察组和对照组, 于手术切皮前 15 min, 观察组给予帕瑞昔布钠 40 mg、对照组给予等量生理盐水; 于麻醉诱导前 30 min (T1)、术毕 (T2) 及术后 48 h (T3) 抽取患者外周血, 采用流式细胞术检测 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞的含量, 采用 ELISA 检测血清转化生长因子  $\beta$  (TGF $\beta$ ) 及白细胞介素-10 (IL-10) 水平。结果: 对照组 T2、T3 时点的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞比例、血清 TGF $\beta$  及 IL-10 水平均较 T1 时点显著升高 ( $P < 0.01$ ), 观察组 T2、T3 时点的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞比例、血清 TGF $\beta$  及 IL-10 水平均较同时点对照组显著降低 ( $P < 0.01$ )。结论: 帕瑞昔布钠可抑制手术诱导的乳腺癌患者外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞比例及血清 TGF $\beta$ 、IL-10 水平的上调。

[关键词] 帕瑞昔布钠; COX-2 抑制剂; 乳腺肿瘤; 癌; 导管, 乳腺; T 淋巴细胞; 转化生长因子  $\beta$ ; 白细胞介素 10

[中图分类号] R614 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2019)08-0950-05

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.08.017

The Effects of Parecoxib Sodium on Peripheral Blood CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Regulatory T Cells in Patients with Breast Cancer

LI Zhiyi, YAN Zhenyi, LIU Xiaoyan, LI Daheng

(1. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, Guangdong, China)

[Abstract] Objective: COX-2 inhibitor parecoxib sodium can inhibit the metastasis of breast cancer by inhibiting the production of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells (Treg). This study intends to investigate the effects of COX-2 inhibitor parecoxib sodium on CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg cells in patients with breast cancer. Methods: Forty patients with stage II breast cancer were randomly divided into the parecoxib sodium group and the control group. The observation group was given 40mg of parecoxib sodium and the control group was given equal the same volume of normal saline 15 min before skin incision. Peripheral blood of patients was collected 30 min before induction of anesthesia (T1), at the end of operation (T2), and 48h after operation (T3). The amount of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg cells was detected by flow cytometry, and serum TGF $\beta$  and IL-10 levels were detected by ELISA. Results: At the end of operation (T2) and 48h after operation (T3), the proportion of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg cells and serum TGF $\beta$  and IL-10 levels in the control group were significantly higher than those before anesthesia induction (T1) ( $P < 0.01$ ). The proportion of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg cells in the parecoxib sodium group at the end of operation (T2) and 48h after operation (T3) was significantly lower than that in the control group ( $P < 0.01$ ). At the end of operation (T2) and 48h after operation (T3), the content of TGF $\beta$  and IL-10 in

\*[基金项目] 湛江市科技计划项目 (2015B101)

\*\* 通信作者 E-mail: 453356755@qq.com

网络出版时间: 2019-08-27 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190827.1841.017.html>

the control group was significantly higher than that before anesthesia induction (T1) ( $P < 0.01$ ). Compared with the control group, the content of TGFβ and IL-10 in the parecoxib sodium group was significantly reduced at the end of operation (T2) and 48h after operation (T3) ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The surgical process results in a significant increase in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in peripheral blood of patients with breast cancer. Parecoxib sodium inhibits the proportion of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells and the levels of TGFβ and IL-10 in patients with breast cancer.

[**Key words**] parecoxib sodium; COX-2 inhibitor; breastneoplasms; carcinoma, duct, breast; T-lymphocytes; transforming growth factor β; interleukin 10

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,其发病率逐年上升。在欧美国家,乳腺癌占女性恶性肿瘤的 25% ~ 30%<sup>[1]</sup>;在我国,乳腺癌发病率已经上升为女性恶性肿瘤的第 1 位,成为妇女健康的最大威胁<sup>[2]</sup>。手术仍是治疗乳腺癌的常用方式,但术后复发率还是很高,手术和麻醉对机体的免疫系统的抑制作用是乳腺癌术后复发的主要原因之一<sup>[3]</sup>。近年来的研究发现,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg)可抑制抗肿瘤免疫<sup>[4]</sup>,还发现 COX-2 抑制剂对乳腺癌转移的抑制作用可能与其减少 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞的产生有关<sup>[5]</sup>。帕瑞昔布钠(parecoxib sodium)是一种高选择性 COX-2 抑制剂,已被广泛应用于临床围术期镇痛,其临床疗效已在口腔科、妇科及骨科等多种手术术中及术后得到证实<sup>[6-8]</sup>。研究表明帕瑞昔布钠能够降低围手术期的免疫抑制<sup>[9]</sup>,但目前还未见帕瑞昔布钠对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞影响的研究报道。本研究对术前的乳腺癌患者给予帕瑞昔布钠用药,观察麻醉诱导前 30 min、术毕及术后 48 h 乳腺癌患者外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节 T 细胞比例、血清转化生长因子 β(TGFβ)及白细胞介素-10(IL-10)水平变化,探讨帕瑞昔布钠降低术后免疫抑制的机制,为乳腺癌手术的麻醉用药提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

女性乳腺癌患者 40 例,45 ~ 60 岁,平均 54 岁。临床分期为 II 期,无注射帕瑞昔布钠禁忌症,排除术后病理不是 II 期患者,患者或其家属知情同意参与本研究。将患者随机分为观察组和对照组,每组各 20 例,两组患者年龄、病情程度等方面比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

1.2 方法

所有患者均进行麻醉诱导:静脉注射咪唑安定、异丙酚、舒芬太尼、顺阿曲库铵,患者意识消失后经口气管插管进行机械通气;观察组患者于手术切皮前 15 min 给予帕瑞昔布钠 40 mg,对照组给予等量生理盐水处理;两组患者分别于麻醉诱导前 30 min(T1)、术毕(T2)和术后 48 h(T3)抽取外周血进行后续研究。

1.3 观察指标

1.3.1 外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞比例 取患者新鲜外周血 5 mL,加入淋巴细胞分离液,离心分离获取外周血淋巴细胞。分别加入相应的荧光标记抗体:FITC-CD4 抗体、PE-CD25 抗体,避光孵育 25 min,加入 PBS 洗涤 2 次,重悬后上流式细胞仪检测 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞含量,计算外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞比例。

1.3.2 血清 TGFβ 和 IL-10 水平 取患者新鲜的外周血 5 mL,2 500 r/min 离心 10 min 分离血清,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,按试剂盒操作说明检测血清 TGFβ 和 IL-10 含量。

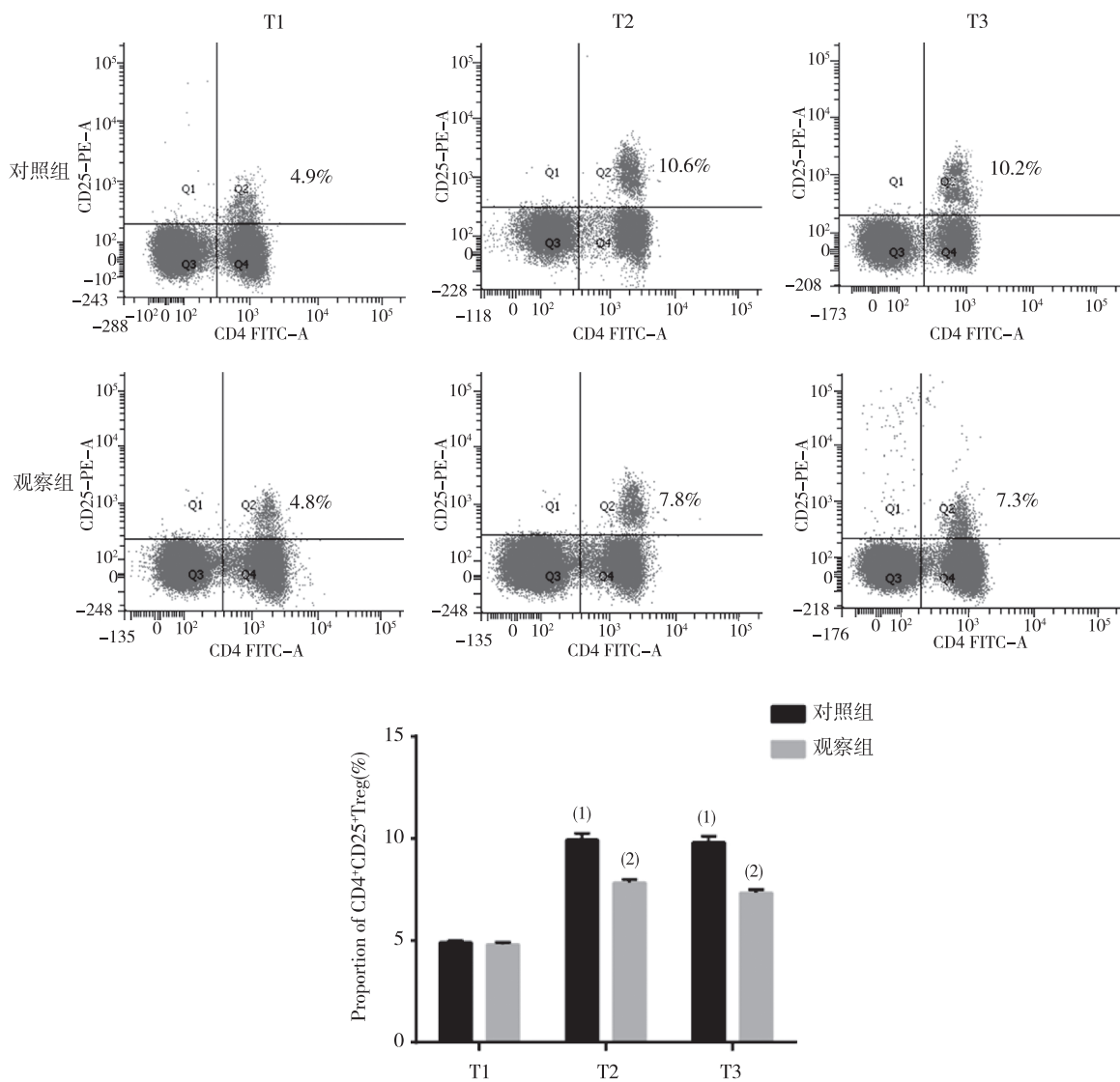
1.4 统计学分析

数据采用 SPSS 19.0 软件进行分析,计量数据采用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,数据比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞占 CD4<sup>+</sup>T 细胞比例

结果显示,对照组患者 T2、T3 时点外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞比例均显著高于 T1 时点,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );观察组患者 T2、T3 时点 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞比例均显著低于对照组同时点,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见图 1。



注：<sup>(1)</sup>与同组 T1 时点比较， $P < 0.01$ ；<sup>(2)</sup>与同时点对照组比较， $P < 0.01$ 。

图 1 两组患者手术不同时点外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞占 CD4<sup>+</sup>T 细胞比例

Fig. 1 The proportion of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg cells to CD4<sup>+</sup>T cells of breast cancer patients in the two groups at different time points of treatment

## 2.2 血清 TGFβ 及 IL-10 水平

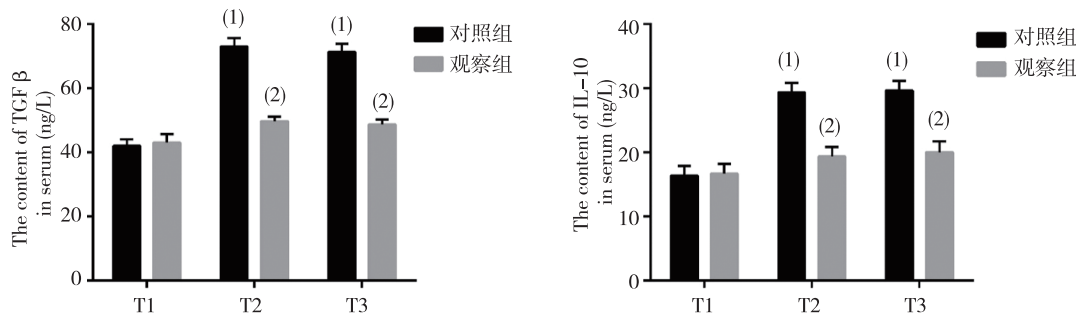
结果显示,对照组患者 T2、T3 时点血清 TGFβ 和 IL-10 含量均显著高于 T1 时点,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 观察组患者 T2、T3 时点血清 TGFβ 和 IL-10 含量均显著低于同时点对照组的数值,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。见图 2。

## 3 讨论

在围手术过程中,创伤和应激会引起的激素、前列腺素、花生四烯酸等物质释放,抑制自然杀伤

细胞(NK)细胞、T 淋巴细胞和树突状细胞的功能,导致残余肿瘤病灶的生长及扩散<sup>[10]</sup>。而大部分静脉麻醉药和吸入麻醉药都能降低 NK 等免疫细胞的活性及数量,促进肿瘤的生长及转移<sup>[11]</sup>。围术期免疫抑制发生的最高峰为术后第 3 天,这也许是术后乳腺肿瘤的微小残留灶继续发展和形成转移的最佳时期,而完好的细胞免疫却能够有效地控制这种微小肿瘤转移灶的发生概率。因此,制定合理的麻醉用药和麻醉方案,降低机体免疫抑制,对乳腺肿瘤病人预后非常重要,具有重要的临床意义。

机体抗肿瘤的免疫效应与肿瘤逃避免疫系统



注: <sup>(1)</sup>与同组 T1 时点比较,  $P < 0.01$ ; <sup>(2)</sup>与同时点对照组比较,  $P < 0.01$ 。

图 2 两组乳腺癌患者手术不同时间血清 TGFβ 和 IL-10 水平

Fig. 2 Serum levels of TGFβ and IL-10 of breast cancer patients in the two groups at different time points of treatment

的攻击之间形成一对此消彼长的矛盾关系体<sup>[12]</sup>。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞是 CD4<sup>+</sup>T 细胞中具有独特免疫调节功能的 T 细胞亚群。研究表明 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞与人体恶性肿瘤的发生密切相关,其不仅能通过细胞间的直接接触抑制效应 T 细胞的功能,还能通过分泌细胞因子等多种方式发挥抑制作用,从而抑制抗肿瘤 T 细胞免疫,已被公认是一种潜在的肿瘤逃逸机制<sup>[13]</sup>。国内外研究也发现乳腺癌患者外周血和肿瘤组织 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞数目越多,其复发的可能性越大,预后也越差<sup>[14]</sup>。近年来,乳腺癌与 COX-2 的关系日益受到重视,大量的流行病学和实验证据表明 COX-2 抑制剂对治疗早期和转移性乳腺癌均有意义<sup>[15]</sup>。本研究发现对照组术毕和术后 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞比例较术前显著升高,表明手术可上调乳腺癌患者外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞含量,使肿瘤易于逃逸,而帕瑞昔布钠能够在一定程度上抑制其上调,从而抑制肿瘤逃逸,使乳腺癌患者获益。帕瑞昔布钠通过何种途径抑制 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞的上调还需要进一步研究。

TGF-β 是一种重要的细胞因子,其参与调控细胞生长、分化和凋亡等过程,而最新研究发现 TGF-β 能够促进癌症逃避免疫,研究也显示 TGF-β 抑制剂和可用的免疫治疗药物会增强这种抗肿瘤作用,从而允许免疫系统能够高效地消除已经建立的转移瘤<sup>[16]</sup>。IL-10 是多细胞源多功能的细胞因子,参与调节细胞的生长、炎症反应和免疫反应,是公认的炎症与免疫抑制因子。在肿瘤、造血系统及心血管系统中发挥重要作用<sup>[17]</sup>。研究表明,Treg 能够分泌 TGF-β 和 IL-10,发挥其调节功能<sup>[18]</sup>。本研

究结果显示帕瑞昔布钠在抑制 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞含量的同时,还显著降低了术毕和术后患者血清 TGF-β 和 IL-10 的含量,这进一步提示帕瑞昔布钠可抑制乳腺癌术后的肿瘤逃逸,使帕瑞昔布钠成为乳腺癌患者围术期的理想用药。

综上所述,本研究发现帕瑞昔布钠可抑制乳腺癌病人术毕和术后外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 以及血清 TGF-β、IL-10 的水平上调,揭示了帕瑞昔布钠对乳腺癌病人免疫系统的作用,为乳腺癌病人的麻醉用药提供一个更好的选择。

#### 4 参考文献

[1] FINCK C, BARRADAS S, ZENGER M, et al. Quality of life in breast cancer patients: Associations with optimism and social support[J]. *Int J Clin Health Psychol*, 2018, 18(1): 27–34.

[2] YOU J, LU Q, ZVOLENSKY M J, et al. Anxiety- and health-related quality of life among patients with breast cancer: a cross-cultural comparison of China and the United States[J]. *J Glob Oncol*, 2018(4): 1–9.

[3] ABDELMAWGOUD H, EL AWADY R R. Effect of sirtuin 1 inhibition on matrix metalloproteinase 2 and forkhead box O3a expression in breast cancer cells[J]. *Genes Dis*, 2017, 4(4): 240–246.

[4] GOLAB K, GROSE R, PLACENCIA V, et al. Cell banking for regulatory T cell-based therapy: strategies to overcome the impact of cryopreservation on the Treg viability and phenotype[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(11): 9728–9740.

[5] ABDELHAMID A S, ZAYED D G, HELMY M W, et al. Lactoferrin-tagged quantum dots-based theranostic nanocapsules for combined COX-2 inhibitor/herbal therapy of

- breast cancer[J]. *Nanomedicine*, 2018, 13 (20): 2637 – 2656.
  - [6] BIAN Y Y, WANG L C, QIAN W W, et al. Role of parecoxib sodium in the multimodal analgesia after total knee arthroplasty: a randomized double-blinded controlled trial [J]. *Orthop Surg*, 2018, 10(4): 321 – 327.
  - [7] KONG Y, YANG X, LI X. The effect of parecoxib sodium for preemptive analgesia on nasal endoscopic surgery[J]. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2015, 29(16): 1474 – 1476.
  - [8] LI L B, HU Y, LIU C, et al. Comparison of pain thresholds and analgesic effects of parecoxib sodium in surgical patients of different racial and religious backgrounds [J]. *Zhong Guo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 2015, 37(3): 325 – 330.
  - [9] LU J, LIU Z, XIA K, et al. Effect of preemptive analgesia with parecoxib sodium in patients undergoing radical resection of lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8 (8): 14115 – 14118.
  - [10] GHODSI R, AZIZI E, ZARGHI A. Design, synthesis and biological evaluation of 4-(imidazolylmethyl)-2-(4-methylsulfonyl phenyl)-quinoline derivatives as selective COX-2 inhibitors and in-vitro anti-breast cancer agents [J]. *Iran J Pharm Res*, 2016, 15(1): 169 – 177.
  - [11] SAHA A, YU X, SAHOO D, et al. Effects of MRI scanner parameters on breast cancer radiomics [J]. *Expert Syst Appl*, 2017, 87: 384 – 391.
  - [12] GOSWAMI S, SHARMA-WALIA N. Crosstalk between osteoprotegerin (OPG), fatty acid synthase (FASN) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in breast cancer: implications in carcinogenesis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (37): 58953 – 58974.
  - [13] HONG J Y, KIM M, SOL I S, et al. Chitotriosidase inhibits allergic asthmatic airways via regulation of TGF-beta expression and Foxp3(+) Treg cells [J]. *Allergy*, 2018, 73 (8): 1686 – 1699.
  - [14] TAYLOR N A, VICK S C, IGLESIA M D, et al. Treg depletion potentiates checkpoint inhibition in claudin-low breast cancer [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127 (9): 3472 – 3483.
  - [15] WANG Y X, ZHANG Z Y, WANG J Q, et al. HPV16 E7 increases COX-2 expression and promotes the proliferation of breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(1): 317 – 325.
  - [16] LIU M, LI S, LI M O. TGF-beta control of adaptive immune tolerance: a break from treg cells [J]. *Bioessays*, 2018, 40(11): e1800063.
  - [17] FUTAGBI G, GYAN B, NUNOO H, et al. High levels of IL-10 and CD4+ CD25hi+ treg cells in endemic burkitt's lymphoma patients [J]. *Biomedicines*, 2015, 3 (3): 224 – 236.
  - [18] GAO M, LIU L X, WU F L, et al. The changes of th17/treg and related cytokines: IL-17, IL-23, IL-10, and TGF-beta in respiratory syncytial virus bronchiolitis rat model [J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2017, 16(5): 386 – 395.  
(2019-04-25 收稿, 2019-07-23 修回)  
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 冉海勇
- 
- (上接第 939 页)
- [12] MARFATIA H, SHAH K, MADHAVI A, PARMAR Y. Paediatric endonasal dacryocystorhinostomy using an otology set: How I do it [J]. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 2017(10), 101: 211 – 214.
  - [13] ALI M J, PAULSEN F. Human lacrimal drainage system reconstruction, recanalization, and regeneration [J]. *Current Eye Research*, 2019(2): 1 – 12.
  - [14] LIN L, YANG L, JIN X, et al. Management lacrimal sac abscesses using lacrimal probe and Crawford silicon tube [J]. *BMC Ophthalmology*, 2016, 16(1): 211.
  - [15] KALIN-HAJDU E, CADET N, BOULOS P R. Controversies of the lacrimal system [J]. *Survey of Ophthalmology*, 2016, 61(3): 309 – 313.  
(2019-05-02 收稿, 2019-07-30 修回)  
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 赵毅