

研究论著

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.09.013

宫颈癌患者免疫功能、肠道微生物与放射性肠炎的相关性研究

景文江 陈嘉琦 罗若楠 马武

【摘要】 目的 探讨宫颈癌患者免疫功能、肠道微生物与放射性肠炎（RE）的关系。方法 回顾性分析80例宫颈癌患者的临床资料，根据放射治疗后3个月内是否发生RE将患者分为RE组（29例）和非RE组（51例），根据常见不良反应标准5.0版将RE组患者分为低症状级别组（1级，18例）和高症状级别组（≥2级，11例）。流式细胞仪检测血浆T淋巴细胞亚群、B淋巴细胞；使用16S核糖体RNA（16S rRNA）基因扩增测序对肠道微生物进行测序及生物信息学分析。结果 无论是放射治疗前还是放射治疗后，RE组患者的CD4⁺/CD8⁺比值、B淋巴细胞比例均低于非RE组（ P 均 < 0.05 ）；RE组中，低症状级别组患者的CD4⁺/CD8⁺比值、B淋巴细胞比例均高于高症状级别组（ P 均 < 0.05 ）。放射治疗前后，非RE组患者肠道微生物 α 多样性高于RE组（ $P < 0.05$ ）。2组肠道微生物组成具有明显差异的菌属主要为硬壁菌门和互养菌门；放射治疗前后，RE组 *Acidaminococcus*、*Dialister* 相对丰度高于非RE组，*Pyramidobacter* 相对丰度低于非RE组（ $P < 0.05$ ）。结论 宫颈癌患者CD4⁺/CD8⁺比值、B淋巴细胞比例和肠道微生物特征与RE密切相关，治疗期间CD4⁺/CD8⁺比值、B淋巴细胞比例下降和肠道微生态失衡的患者更容易发生RE。

【关键词】 宫颈癌；放射治疗；放射性肠炎；免疫功能；肠道微生物

Correlation of immune function: gut microbiota and radiation enteritis in patients with cervical cancer Jing Wenjiang, Chen Jiaqi, Luo Ruonan, Ma Wu. Cancer Radiotherapy Department, 3201 Hospital, Hanzhong 723000, China
Corresponding author, Ma Wu, E-mail: 13992690936@139.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the relationship of immune function and gut microbiota with radiation enteritis (RE) in patients with cervical cancer. **Methods** Clinical data of 80 patients with cervical cancer were retrospectively analyzed. All patients were divided into the RE group ($n=29$) or non-RE group ($n=51$) according to the incidence of RE within 3 months after radiotherapy. According to the CTCAE5.0 adverse reaction evaluation criteria, patients in the RE group were divided into the low-symptom grade subgroup (grade 1, $n=18$) and high-symptom grade subgroup (\geq grade 2, $n=11$). Plasma T lymphocyte subsets and B lymphocytes were detected by flow cytometry. 16S rRNA gene amplification and sequencing were used for sequencing and bioinformatic analysis of gut microbiota. **Results** The levels of CD4⁺/CD8⁺ and B lymphocytes in the RE group were significantly lower than those in the non-RE group before and after radiotherapy (all $P < 0.05$). In the RE group, the levels of CD4⁺/CD8⁺ and B lymphocytes in the low-symptom grade subgroup were significantly higher than those in the high-symptom grade subgroup (all $P < 0.05$). The α -diversity of gut microbiota in the non-RE group was higher than that in the RE group before and after radiotherapy (both $P < 0.05$). The major bacterial genera with significant differences between two groups were *Firmicutes* and *Synergistetes*. The relative abundance of *Acidaminococcus* and *Dialister* in the RE group was significantly higher than that in the non-RE group, and the relative abundance of *Pyramidobacter* was significantly lower than that in the non-RE group before and after radiotherapy (all $P < 0.05$). **Conclusions** CD4⁺/CD8⁺, proportion of B lymphocyte and characteristics of gut microbiota are closely correlated with RE in patients with cervical cancer. The decreases in CD4⁺/CD8⁺ and proportion of B lymphocyte, and intestinal microecological imbalance during treatment may increase the risk of RE.

【Key words】 Cervical cancer; Radiotherapy; Radiation enteritis; Immune function; Gut microbiota

宫颈癌是一种原发于子宫颈部位的恶性肿瘤，是女性生殖系统常见的恶性肿瘤之一^[1]。以手术、放射治疗为主的综合治疗是进展期宫颈癌的主要

治疗手段，其中放射治疗除根治性治疗作用外，还可作为手术后的辅助治疗，预防肿瘤的局部复发^[2]。然而，超过50%的宫颈癌患者在放射治疗

后会发生放射性肠炎 (RE), 出现腹痛、急性腹泻、恶心、食欲不振等肠道损伤症状, 严重影响患者生活质量^[3]。对 RE 发生的机制研究发现, 除电离辐射造成的上皮损伤外, 肠道免疫系统、肠道微生物等多种因素的相互作用, 也是诱发 RE 的重要原因^[4], 但有关进展期宫颈癌放射治疗患者免疫功能、肠道微生物与 RE 的关系有待进一步研究。本研究通过分析进展期宫颈癌放射治疗患者免疫功能、肠道微生物特征与 RE 的关联性, 旨在为临床 RE 的防治提供参考依据。

对象与方法

一、研究对象

收集 2020 年 3 月至 2022 年 3 月在本科行放射治疗的 80 例进展期宫颈癌患者临床资料。纳入标准: ①临床检查符合宫颈癌的相关诊断标准, 进展期为 II b~ IV a 期; ②年龄 > 18 岁; ③均接受根治性放射治疗或术后放射治疗^[5]。排除标准: ①有肠道疾病、代谢疾病或免疫缺陷病史患者; ②合并其他恶性肿瘤患者; ③长期使用糖皮质激素或免疫抑制剂患者; ④有消化道手术史患者。根据放射治疗后 3 个月内是否发生 RE 将患者分为 RE 组 (29 例) 和非 RE 组 (51 例)。本研究经医院伦理委员会批准 (批件号: 院伦理审〔2023〕006 号), 入组患者均已签署知情同意书。

二、方法

1. RE 评估与分级标准

治疗期间每周监测患者的不良反应, 患者出现便血, 同时合并便频、便秘、黏液粪便等症状时, 可确诊为 RE。根据常见不良反应标准 5.0 版 (CTCAE5.0) 对 RE 的严重程度进行分级^[6]。RE 组中, 1 级 RE 患者 18 例 (低症状级别组), 2~3 级 RE 患者 11 例 (高症状级别组), 无 4 级及以上 RE 发生。

2. 免疫功能评估

所有患者均于放射治疗前 1 周内、放射治疗第 2 周结束次日取空腹静脉血 5 mL, 采用美国贝克曼库尔特有限公司 CytoFLEX 型流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群 (CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺) 和 B 淋巴细胞比例。

3. 肠道微生物特征分析

3.1 样本收集与 16S rDNA 测序

于放射治疗前 1 周内、放射治疗第 2 周结束次

日采集患者粪便。采用 DNA 提取试剂盒 (QIAamp Power Fecal DNA Kit) 提取粪便样本中的细菌基因组 DNA。根据细菌的 16S 核糖体 RNA (16S rRNA) 基因序列设计 V4 区通用引物, 对微生物核糖体 RNA 的 V4 基因片段进行 PCR 扩增, 扩增产物行磁珠纯化回收后荧光定量, 使用 Illumina Miseq 平台进行双端测序。

3.2 生物信息学分析

使用 QIIME 软件完成生物信息学分析, 所得结果用于操作分类单元 (OTU) 的聚类分析和物种分类注释。基于 OTU 分析结果进行 α 多样性分析, 获得 Observed species 指数、Chao1 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数; 采用 Bray-curtis、unweighted unifrac 和 weighted unifrac 三种距离矩阵 PCoA 分析法进行 β 多样性分析。

三、统计学处理

采用 SPSS 20.0 对数据进行分析。计量资料采用 Kolmogorov-Smirnov 法进行正态性检验, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较行独立样本 *t* 检验, 组内治疗前后比较行配对 *t* 检验; 计数资料以例 (%) 表示, 组间比较行 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。 $\alpha=0.05$ 。

结 果

一、RE 组和非 RE 组患者的一般临床资料分析

RE 组和非 RE 组的一般临床资料比较差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。见表 1。

二、RE 组和非 RE 组的免疫功能比较

放射治疗前后, RE 组患者的 CD4⁺/CD8⁺ 比值、B 淋巴细胞比例低于非 RE 组 ($P < 0.05$)。见表 2。

三、RE 组中不同分级患者的免疫功能比较

无论是放射治疗前还是放射治疗后, RE 组中的低症状级别组患者 CD4⁺/CD8⁺、B 淋巴细胞比例均高于高症状级别组 ($P < 0.05$)。见表 3。

四、RE 组和非 RE 组的肠道微生物 α 多样性比较

无论是放射治疗前还是放射治疗后, 非 RE 组患者的 Chao1 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数均高于 RE 组 ($P < 0.05$)。见表 4。

五、RE组和非RE组肠道微生物 β 多样性比较

无论是放射治疗前还是放射治疗后,放射治疗前后,RE组和非RE组患者的肠道微生物的 β 多样性比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表5。

六、RE组和非RE组肠道微生物组成及差异分析

2组的肠道微生物组成中具有明显差异的菌属主要为硬壁菌门和互养菌门。放射治疗前及放射治疗后,RE组氨基酸球菌属(*Acidaminococcus*)、戴阿利斯特杆菌属(*Dialister*)相对丰度高于非RE

表1 RE组和非RE组患者一般临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

指标	RE组(29例)	非RE组(51例)	t/χ^2 值	P值
年龄/岁	54.63 ± 8.64	53.79 ± 8.85	0.412	0.682
BMI/(kg/m ²)	23.57 ± 1.84	24.01 ± 1.52	1.152	0.253
KPS评分/分	79.56 ± 6.28	82.13 ± 6.89	1.655	0.102
病理分型/例(%)			—	1.000 ^a
鳞状细胞癌	26(90)	46(88)		
非鳞状细胞癌	3(10)	6(12)		
分期/例(%)			0.190	0.909
II b期	8(28)	14(27)		
III a期	13(45)	25(49)		
III b期	8(28)	12(24)		
治疗方式/例(%)			0.435	0.509
根治性同步放射治疗	19(66)	37(73)		
术后辅助性放射治疗	10(34)	14(27)		
是否同步化疗/例(%)			0.197	0.657
是	15(52)	29(57)		
否	14(48)	22(43)		

注:^aFisher确切概率法。

表2 RE组和非RE组免疫功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD3 ⁺ /%		CD4 ⁺ /CD8 ⁺		B淋巴细胞/%	
		放射治疗前	放射治疗后	放射治疗前	放射治疗后	放射治疗前	放射治疗后
RE组	29	72.51 ± 7.34	73.64 ± 8.04	1.33 ± 0.17	1.21 ± 0.19	6.78 ± 1.35	5.24 ± 1.26
非RE组	51	75.47 ± 7.21	74.28 ± 6.95	1.84 ± 0.19	1.63 ± 0.21	10.12 ± 0.84	8.31 ± 1.59
t值		1.754	0.374	11.978	8.894	13.652	8.919
P值		0.083	0.710	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表3 RE组中不同分级患者免疫功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD3 ⁺ /%		CD4 ⁺ /CD8 ⁺		B淋巴细胞/%	
		放射治疗前	放射治疗后	放射治疗前	放射治疗后	放射治疗前	放射治疗后
低症状级别组	18	72.25 ± 8.17	73.51 ± 7.52	1.42 ± 0.15	1.32 ± 0.17	7.51 ± 1.25	5.61 ± 1.03
高症状级别组	11	72.93 ± 6.94	73.86 ± 6.83	1.19 ± 0.13	1.03 ± 0.16	5.59 ± 1.49	4.64 ± 1.15
t值		0.230	0.126	4.205	4.555	3.733	2.356
P值		0.820	0.901	<0.001	<0.001	0.001	0.026

表4 RE组和非RE组肠道微生物 α 多样性比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Chao1指数		Shannon指数		Simpson指数	
		放射治疗前	放射治疗后	放射治疗前	放射治疗后	放射治疗前	放射治疗后
RE组	29	314.45 ± 68.83	331.57 ± 35.19	3.15 ± 1.01	4.01 ± 0.99	0.30 ± 0.09	0.48 ± 0.11
非RE组	51	351.64 ± 70.35	359.79 ± 40.64	3.84 ± 0.98	4.54 ± 1.02	0.36 ± 0.10	0.56 ± 0.12
t值		2.291	3.130	2.994	2.258	2.673	2.952
P值		0.025	0.003	0.004	0.027	0.009	0.004

参 考 文 献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018 : GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68 (6): 394-424.
- [2] Aishanjiang D, Han L, Niyazi M, et al. Clinical analysis of uterine arterial interventional chemoembolization combined with radiotherapy in mid-advanced cervical cancer. *J BUON*, 2021, 26 (3): 656-662.
- [3] 罗丹, 孔为民, 陈姝宁. 宫颈癌放疗后放射性直肠炎发生情况及其相关因素分析. *医学综述*, 2021, 27 (2): 400-403, 408.
- [4] Hauer-Jensen M, Denham J W, Andreyev H J. Radiation enteropathy: pathogenesis, treatment and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2014, 11 (8): 470-479.
- [5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 宫颈癌诊疗规范 (2018年版). *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2020, 6 (3): 33-43.
- [6] 中国医师协会外科医师分会, 中华医学会外科学分会结直肠外科学组. 中国放射性直肠炎诊治专家共识 (2018版). *中华胃肠外科杂志*, 2018, 21 (12): 1321-1336.
- [7] Yang L, Yuan J, Zeng X, et al. The outcomes and quality of life of young patients undergoing adjuvant radiotherapy versus non-radiotherapy following surgery treating early FIGO stage cervical squamous cell cancer in southwestern China. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 9583.
- [8] Gupta N, Kainthola A, Tiwari M, et al. Gut microbiota response to ionizing radiation and its modulation by HDAC inhibitor TSA. *Int J Radiat Biol*, 2020, 96 (12): 1560-1570.
- [9] 曹新平. 精确放疗时代下的放射性肠损伤. *中华胃肠外科杂志*, 2020, 23 (8): 734-736.
- [10] 胡格, 徐秀理, 王丹, 等. CD4⁺/CD8⁺、B淋巴细胞与抑制/细胞毒性T细胞预测宫颈癌放疗患者放射性肠炎的价值. *中国临床研究*, 2022, 35 (6): 779-783.
- [11] 丁彤晶, 念家云, 于明薇, 等. 放射性肠炎发生机制的研究进展. *肿瘤研究与临床*, 2021, 33 (11): 867-870.
- [12] 王中秋, 王清鑫, 巩琳琳, 等. 放射性肠炎患者肠道菌群的变化及其与炎症反应的关系. *中国肿瘤临床*, 2021, 48 (6): 275-282.
- [13] Mitra A, Grossman Biegert G W, Delgado A Y, et al. Microbial diversity and composition is associated with patient-reported toxicity during chemoradiation therapy for cervical cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2020, 107 (1): 163-171.
- [14] 盛翔, 朱瑞娟, 李苏宜. 肠道微生态与宫颈癌合并放射性肠损伤的临床研究. *肠外与肠内营养*, 2020, 27 (2): 78-83.
- [15] Lopetuso L R, Petito V, Graziani C, et al. Gut microbiota in health, diverticular disease, irritable bowel syndrome, and inflammatory bowel diseases: time for microbial marker of gastrointestinal disorders. *Dig Dis*, 2018, 36 (1): 56-65.
- [16] Litvak Y, Byndloss M X, Bäuml A J. Colonocyte metabolism shapes the gut microbiota. *Science*, 2018, 362 (6418): eaat9076.

(收稿日期: 2022-09-07)

(本文编辑: 林燕薇)

