

恶性肿瘤患者 T 细胞及 NK 细胞 功能研究及临床意义

深圳市人民医院临床医学研究中心(518020) 陈晓琳¹ 戴 勇 李富荣 王新根

目的:探讨恶性肿瘤患者免疫功能变化及意义。方法:利用流式细胞仪,采用双色免疫荧光法测定 31 例恶性肿瘤患者 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞水平。结果:恶性肿瘤患者 CD_3^+ 、 CD_4^+ 明显低于对照组 ($P < 0.01$); CD_8^+ 较对照稍有升高,无统计学意义; CD_4^+/CD_8^+ 比值明显降低 ($P < 0.01$);NK 细胞水平明显降低 ($P < 0.5$)。结论:恶性肿瘤患者普遍存在免疫功能低下,建议在肿瘤治疗过程中定期观察其免疫功能状态,以及早发现肿瘤转移及复发。

关键词 肿瘤 T 淋巴细胞亚群 NK 细胞

分类号 R730.23

FUNCTIONS OF T- CELL AND NK CELL IN PATIENTS WITH CANCER

Chen Xiaolin, Dai Yong, Li Furong, et al.

Medical Research Center, Shen Zhen People's Hospital, Shen Zhen 518020

[Abstract] Objective :To determine the immune functions in cancer patients and the clinical significance. Methods :The levels of T - cell subgroup and NK cell in 31 patients with cancer and 20 controls were investigated by flow cytometer. Results :The levels of CD_3 , CD_4 and the ratio of CD_4/CD_8 in cancer patients were significantly lower than those in controls ($P < 0.01$),the level of NK cell in cancer patients was also lower than that in controls ($P < 0.5$),but the level of CD_8 was higher in patients than that in controls without significance. Conclusions :The cytotoxicity functions in cancer patients were significantly decreased. It is valuable to increase the immune function during treatments. Monitoring the levels of T - cell subgroup and NK cell may be useful to finding cancer transfer and relapse.

Key words :Cancer ;T cell subgroup ;NK cell

肿瘤的发生、发展与转移等与机体的免疫监视机制密切相关,T 淋巴细胞介导的细胞免疫一直被认为在机体抗肿瘤的免疫监视功能中起重要作用,近年又发现,不需抗原刺激即可直接发挥抗瘤效应的 NK 细胞在肿瘤过程中起着不可忽视的作用。本文测定了 31 例肿瘤患者 T 细胞及 NK 细胞功能,并探讨其在肿瘤免疫中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 研究对象

31 例肿瘤病人均为我院门诊及住院患者,男 18 例,女 13 例,年龄 23~71 岁,平均年龄 53.9 岁。其

中鼻咽癌 7 例,肾癌 5 例,结直肠癌 4 例,肺癌 8 例,肝癌、转移癌、松果体癌等 7 例。正常对照组 20 例,均为体检健康者,男 11 例,女 9 例,年龄 21~60 岁,平均 45.8 岁。

1.2 试剂

IgG_1 FITC/ IgG_1 PE、 CD_3 FITC/ CD_4 PE、 CD_3 FITC/ CD_8 PE 由 Phar Mingen 公司提供, CD_3 FITC/ CD_{16+56} PE 由 BD 公司提供。

1.3 仪器

购自美国 Coulter 公司的流式细胞仪,型号为 Epics Altra。

1.4 实验方法

1.4.1 样本准备 患者组及对照组均为清晨空腹采

1 现单位:深圳市人民医院血液科

静脉血, EDTA 抗凝, 实验采用直接免疫荧光法, 取 4 支试管, 每管加抗凝血 100 μ l, 再分别加入同型控制单抗 IgG₁FITC/ IgG₁PE 及实验单抗 CD₃FITC/ CD₄ PE、CD₃FITC/ CD₈PE、CD₃FITC/ CD₁₆₊₅₆PE, 室温暗处孵育 15min 后溶血、洗涤、1%多聚甲醛固定, 上机检测。

1.4.2 流式细胞仪检测 选择氦离子激光激发, 激发波长为 488nm, 测定中以前向角散射 (FSC) 对侧向角散射 (SSC) 设门, 调整电压及增益, 圈出淋巴细胞群, 获取门内 10 000 个细胞, FITC 及 PE 荧光信号用 PMT2、PMT3 收集, 转化成 Log 信号直方图, 以 EXPO 软件进行分析, 得出荧光标记阳性细胞的百分数。

1.5 统计学处理

采用二组均数 t -test。

2 结果

附表 各组 T 淋巴细胞及 NK 细胞水平测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD ₃ ⁺ (%)	CD ₄ ⁺ (%)	CD ₈ ⁺ (%)	CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺	NK (%)
患者组	31	58.12 \pm 8.63 ¹⁾	27.1 \pm 13.4 ¹⁾	29.1 \pm 7.97	1.03 \pm 0.49 ¹⁾	15.7 \pm 8.87 ²⁾
对照组	20	70.38 \pm 9.28	38.1 \pm 8.51	28.94 \pm 9.74	1.53 \pm 0.77	18.39 \pm 6.05

注: 1) 两组 t -test $P < 0.01$

2) 两组 t -test $P < 0.5$

由表中可以看到, 恶性肿瘤患者 CD₃⁺、CD₄⁺ 均明显低于对照组, 差异极显著 ($P < 0.01$); CD₄⁺/CD₈⁺ 比值明显降低 ($P < 0.01$); NK 细胞较对照组下降明显, 差异显著 ($P < 0.5$); 而 CD₈⁺ 虽较对照组有所升高, 但两组比较无明显差异。

3 讨论

机体维持正常的免疫功能状态, 有赖于各种免疫细胞 (特别是各类 T 细胞亚群) 之间的相互协作或相互制约, 以产生适度的免疫应答, 使之即能清除异物抗原, 又不致损伤机体组织。恶性肿瘤患者普遍存在免疫功能低下, 免疫细胞不能有效识别、排斥和杀灭肿瘤细胞是肿瘤发生的根本原因。抗肿瘤免疫以细胞免疫为主, T 细胞及 NK 细胞在免疫监视、杀伤靶细胞及免疫调节方面具有极重要的作用。正常情况下, T 细胞及亚群的数目在周围组织中相对稳定, 若 T 细胞总数或 CD₄⁺/CD₈⁺ T 细胞比值异常时, 即可视为免疫调节功能紊乱, 易发生肿瘤或自身免疫病。CD₃⁺ 代表 T 细胞总数, 依其功能不同又可

将其区分为 CD₄⁺ T 细胞即辅助性 T 细胞 (Th 细胞) 和 CD₈⁺ T 细胞即抑制性 T 细胞 (Ts 细胞) 两个亚群, CD₄⁺ 细胞可识别瘤细胞分泌的可溶性抗原, 参与 B 细胞、巨噬细胞、NK 细胞和 CTL 的激活, 进而发挥抗癌作用; 另外, CD₄⁺ 细胞还可释放多种细胞因子参与抗癌效应, 如 IL-2 可促进 CTL 的增生及抗癌作用, 并激活 NK 细胞; IFN- γ 可激活巨噬细胞、NK 细胞; IL-4、IL-5 等可促进 B 细胞活化、分化和抗体的形成; TNF- α 可杀伤瘤细胞等等。少数 CD₄⁺ 细胞属细胞毒性 T 细胞, 具有 MHCII 类分子限制性的杀瘤作用。CD₈⁺ T 细胞的功能是抑制免疫应答活化阶段, 其作用的靶细胞是抗原特异性的 Th 和 B 细胞, 抑制作用可能是: 直接对抗原提呈细胞产生胞毒效应; 分泌抑制因子 (TsF) 介导效应; 通过独特型网络而发挥抑制效应^[1]。

本文研究结果表明: 恶性肿瘤患者 CD₃⁺、CD₄⁺ 细胞明显低于对照组, 差异极显著, CD₈⁺ T 细胞略高于对照组, 虽无统计学差异, 但 CD₄⁺/CD₈⁺ T 细胞比值较对照组明显降低, 差异显著, 这与文献报道的结果一致^[2,3], 说明恶性肿瘤患者体内存在不同程度的免疫抑制, CD₄⁺ 细胞介导的抗癌效应明显降低, 由此促成了肿瘤的发生和发展。目前研究认为肿瘤患者免疫功能低下的原因主要有: 多种瘤细胞 (如肝癌、肺癌、乳腺癌、胃肠道肿瘤等) 高表达 fas-L, 在机体抗癌免疫应答过程中, 活化的肿瘤特异性 T 细胞 fas 表达增高, 因此, 瘤细胞可通过 fasL-fas 途径介导肿瘤特异性 T 细胞凋亡; 肿瘤病人接受化疗、放疗、肾上腺皮质激素、抗淋巴细胞球蛋白处理等均可抑制机体的免疫状态, 此外尚有某些先天性或后天获得性免疫缺陷者均易发生恶性肿瘤; 恶性肿瘤可直接侵犯免疫器官, 也可释入免疫抑制因子或激活体内的抑制性细胞, 从而直接或间接抑制机体的免疫功能^[1], 导致免疫功能低下, 临床研究发现, 经手术或其他抗癌措施治疗肿瘤使病情缓解后, 机体的免疫功能可不同程度的恢复^[4]。

与 T 细胞不同的是, NK 细胞无需抗原致敏, 也不受 MHC 限制, 即可直接发挥抗癌和抗病毒效应, 并发挥免疫监视作用, 通过分泌细胞因子调节免疫应答, 被誉为机体免疫防御体系的第一道防线^[5]。NK 细胞具有较广的抗癌谱, 可杀伤同系、同种或异种瘤细胞, 其杀伤靶细胞的机制可能是: 释放穿孔素

和颗粒酶引起靶细胞坏死或凋亡;通过 fas/fasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡;释放 NK 细胞毒因子及 TNF 等可溶性介质,通过与瘤细胞表面的相应受体结合而杀伤之;释放 IFN- γ 、IL-1、IL-2 等细胞因子增强或扩大其抗癌作用。

本文研究表明;NK 细胞数量较对照组明显下降,差异显著,与文献报道相符^[6],有认为肿瘤细胞分泌某种抑制或封闭因子使 NK 细胞活性下降、在杀伤肿瘤过程中大量消耗 NK 细胞等因素是导致 NK 细胞数量减少的主要原因^[2]。补充 IFN- γ 、IL-2 等细胞因子可不同程度地增强 NK 细胞活性。

综上所述,建议在肿瘤治疗过程中适时采取补充免疫增强剂、细胞因子等方法及采取积极的保护措施,以尽可能的增强肿瘤患者的免疫功能,从而减

少肿瘤复发、转移及治疗相关合并症的发生。

参 考 文 献

- 1 龚非力主编. 医学免疫学. 北京:科学出版社,2000:6
- 2 沈历宗,吴文溪,华一兵. 大肠癌患者外周血 T 细胞亚群、NK 细胞活性及可溶性白介素 2 受体检测的意义. 南京医科大学学报, 2000;20(4):285~287
- 3 曹 卉,闰瑞臻,曹 蕊,等. 恶性肿瘤红细胞免疫功能状态与 T 淋巴细胞亚群关系的研究. 中国现代医学杂志,1999;9(11):32
- 4 罗小玲. 原发性肝癌患者手术前后外周血 T 淋巴细胞亚群变化分析. 广西医学,2000;22(3):437~438
- 5 张 彩,田志刚综述. 粘附 NK 细胞的免疫学特性及其抗癌效应. 国外医学肿瘤分册,1997;24(3):144~146
- 6 郑美芳. 恶性淋巴瘤患者 NK 细胞活性及 T 细胞亚群的研究. 肿瘤研究与临床,2000;12(5):316~317

(2001-04-10 收稿 张成裕审稿 刘金波编辑)

(上接第 36 页)

床,其中高频电刀是最为常用的一种,但电刀所产生的电弧温度高达 1 000^[2],可致较明显的脂肪液化和组织炭化,严重时影响组织的愈合;组织烧灼形成的浓烟焦臭明显,污染手术室的空气,这种烟雾可能有致癌作用^[3]。切割肌肉时,肌肉的强烈收缩、跳动,影响手术操作,使切割断面不整齐;由于有电流通过人体,因此对佩带有心脏起搏器患者的手术不适合应用。

在国外,电热手术刀已相继用于头颈部肿瘤切除、乳癌根治、烧伤切痂、皮瓣移植等手术^[4,5]。我们研制成功的电热手术刀在国外产品的基础上采用了“内热式”电热换能器和外延式温控显示组件组成。这种刀的外形同普通刀,切割方式也同普通刀一样是依靠刀的刃口,而这种刀无论是切割还是止血的方式都与高频电刀完全不同。电热手术刀的止血是依靠刀片本身的发热(温度范围 70~260),将热传至组织使组织表面蛋白固化,从而达到止血的效果。刀片最高 260 的温度远远低于电弧的 1000,而本组研究结果表明,电热手术刀高频电刀的止血效果无大的差别,说明止血并不需要过高的温度,相反高频电刀对组织的损伤比电热刀大,特别是切割致密的皮肤组织,如高频电刀的电弧较剧烈时常影响皮肤的愈合,因此一些医生不把高频电刀用来切割皮肤。除此之外,电热手术刀克服了电刀产生浓裂焦糊气味、烟雾及引起肌肉收缩的

缺陷。由于电热手术刀“带热”不“带电”,对于配带心脏起搏器的患者和不能用高频电刀的剖腹产手术应是安全的,使用不会受限制。该电热手术刀是一种在结构和性能上具有全新概念的外科手术器械。其主要特点有以下几个方面:有显著的止血效果,对细小血管具有止血作用,明显减少手术出血量,手术创面干燥,视野清晰,操作更方便;组织损伤小,不影响切口的愈合;电热手术刀对组织无炭化,无明显脂肪组织液化,组织损伤小,不影响切口的愈合;不引起肌肉收缩,因此切割肌肉方便,断面整齐;电热手术刀不产生焦糊气味和烟雾,也没有象高频电刀有电流经过机体,无需接地板,不会引起接地极对组织烧伤,所以使用电热手术刀更为安全可靠;使用灵巧,操作方便,解剖层次感强。

参 考 文 献

- 1 黄爱萍,肖 奇,郑志军,等. 尿道内电切疤痕治疗尿道狭窄. 中国现代医学杂志,2000;10(7):94
- 2 王 荣,肖应龙. 电刀与手术切口愈合对比分析. 实用外科杂志, 1989;9:184~185
- 3 张徐军,沈孝兵,汪国雄. 高频电刀术中烟雾致遗传毒性作用的研究. 南京铁道医学院学报,1999;18:166~167
- 4 Pilnik S,Steichen F. The use of the hemostatic scalpel in operations upon the breast. Surg Gynecol & Obstet,1986;162:589~591
- 5 Jahshan AE, Kent HL, Loose JH, et al. Hot-knife conization of the cervix: Clinical and pathologic findings from a study introducing a new technique. Obstetrics & Gynecology,1994;83:97~103

(2000-12-18 收稿 马恩庆审稿 曾文军编辑)