



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.021

http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.021

Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(9):1315-1318.

· 简要论著 ·

胰腺癌患者化疗前后外周血自然杀伤 T 细胞、T 细胞亚群及 γ 干扰素等细胞因子的变化

张晨, 王美玲, 马华

(河南省郑州交通医院 普通外科, 河南 郑州 450001)

摘要

目的: 探讨胰腺癌患者化疗前后外周血中自然杀伤 T 细胞 (NKT)、T 淋巴细胞亚群及 γ 干扰素等细胞因子的变化及其意义。

方法: 将确诊的 42 例胰腺癌实施化疗的患者作为胰腺癌组, 另选 30 例消化内科收治的胰腺炎患者为胰腺炎组、30 例体检健康人群为健康组, 比较三组外周血中自然杀伤 T 细胞、T 淋巴细胞亚群及 γ 干扰素等细胞因子水平差异。

结果: 胰腺癌组在化疗前 IFN- γ 、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 2 (IL-2) 水平分别显著的低于化疗后 ($P < 0.05$); 胰腺癌组患者化疗前的白细胞介素 6 (IL-6) 显著的高于化疗后 ($P < 0.05$); 胰腺癌组患者化疗前、化疗后的 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 水平均显著的低于健康组和胰腺炎组, 胰腺癌组化疗前后 IL-6 水平均显著的高于健康组和胰腺炎组 (均 $P < 0.05$); 胰腺癌组在化疗前 NKT 细胞显著的低于化疗后 ($P < 0.05$); 胰腺癌组患者化疗前、化疗后的 NKT 细胞均显著的低于健康组和胰腺炎组 ($P < 0.05$); 胰腺癌组患者在化疗前 T 淋巴细胞 ($CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$) 水平均显著的低于化疗后 ($P < 0.05$), 胰腺癌组患者化疗前的 $CD8^+$ 显著的高于化疗后 ($P < 0.05$)。

结论: 胰腺癌患者外周血免疫相关细胞及细胞因子水平较健康人群显著的降低, 化疗后有助于改善患者的免疫水平、在化疗过程中检测免疫细胞及细胞因子变化可以对患者的化疗效果进行评价。

关键词

胰腺肿瘤; 自然杀伤 T 细胞; 淋巴细胞亚群; γ 干扰素; 细胞因子类

中图分类号: R735.9

胰腺癌是一种恶性程度高, 其诊疗困难且预后差, 该肿瘤生长迅速、转移早, 致死率在恶性肿瘤中排第4位^[1]。目前胰腺癌的发病机制尚未完全阐明, 其发生可能与吸烟、饮食、环境和遗传因素等有关, 但目前越来越多的证据显示胰腺癌与自然杀伤细胞 (NKC) 的活力下降有关^[2]。此外, 不少研究显示, 恶性肿瘤的发生发展也与免疫抑制因子如 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 等有关^[3]。由于 80% 以上的患者在确诊时已处于晚期, 无法进行手术切除, 因此, 目前临床上对胰腺癌的治疗以化疗为主^[4]。本文就胰腺癌患者化疗前后外周血 NKT、

T 细胞亚群及 IFN- γ 等细胞因子的变化进行了分析, 现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将本院肿瘤科确诊的 42 例胰腺癌实施化疗的患者作为胰腺癌组, 另选 30 例消化内科收治的胰腺炎患者为胰腺炎组、30 例体检健康人群为健康组。胰腺癌组 42 例, 男 22 例, 女 20 例; 年龄 45~72 岁, 平均年龄 (61.46 ± 8.05) 岁; 肿瘤部位: 胰头部 23 例, 胰体 15 例, 胰尾 4 例; 临床分期均为 III 期患者。胰腺炎组 30 例, 男 16 例, 女 14 例; 年龄 38~70 岁, 平均年龄 (58.78 ± 9.02) 岁。健康组 30 例, 男 18 例, 女 12 例; 年龄 40~72 岁, 平均年龄 (59.00 ± 6.82) 岁。3 组研究对象的年龄、性

收稿日期: 2015-06-14; 修订日期: 2015-08-11。

作者简介: 张晨, 河南省郑州交通医院副主任医师, 主要从事普通外科方面的研究。

通信作者: 张晨, Email: sunwenpowerman@163.com

别构成差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

纳入标准: (1) 胰腺癌患者的诊断主要依据B超、CT、MRI及病理学或ERCP送检细胞学检查证实; (2) 胰腺炎患者来源于本院消化内科确诊患者, 健康组来源于本院体检中心; (3) 胰腺癌患者均为首诊患者, 院外未接受任何放化疗治疗。排除标准: (1) 已经进行治疗的胰腺癌患者; (2) 合并其他部位肿瘤的患者(肺癌、肝癌等); (3) 合并风湿免疫系统疾病、内分泌系统疾病的患者; (4) 近期服用糖皮质激素和免疫抑制剂类药物的患者。

1.2 化疗方法

胰腺癌患者给予吉西他滨(浙江海正药业股份有限公司, H20093418) $1\ 000\ \text{mg}/\text{m}^2$, 静脉滴注30 min; 醛氢叶酸 $100\ \text{mg}/\text{m}^2$, 静脉滴注30 min后给予5-FU(哈尔滨三联药业有限公司, H20050331) $600\ \text{mg}/\text{m}^2$, 静脉滴注, 在第1、8、15天给药。28 d为1个治疗周期, 所有患者持续治疗2个周期。

1.3 指标检测方法

1.3.1 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2及IL-6的检测

所有患者均于清晨空腹状态下抽取静脉血5 mL, 采用Ficoll密度梯度离心法常规分离外周血淋巴细胞, 通过刺激和固定细胞, 置4℃冰箱过夜。再加细胞表面抗原抗CD4-prep, 涡旋混匀, 室温暗处孵育20 min。再加入打孔液打孔, 进行细胞因子染色(加入抗IFN- γ -异硫氰酸荧光素(FITC)、抗TNF- α -聚乙烯(PE)、抗IL-2-FITC、抗IL-6-PE, 并另设一管加该单克隆抗体的同型抗体), 2 h内上流式细胞仪分析。

1.3.2 CD3⁺、CD4⁺T细胞水平的检测 所有患者均于清晨空腹状态下抽取静脉血2 mL, 加入含有EDTA的抗凝管中, 接着转入含有单克隆抗体的CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺的专用管中, 使用美国雅培公司提供CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺单克隆细胞检测自动化方案全线产品检测各项指标。

1.3.3 NKT的检测 采用三色流式细胞术(FCM)进行NKT细胞的检测。取2根12 mm×75 mm流式试管分别标记同型对照和测试管; 吸取10 μL CD3-PE-Cy5至试管底部, 在同型对照管中加入IgG1-FITC(PN IM0639U)和IgG2a-PE(PN A09141)各20 μL , 在测试管中加入V α 24-FITC(PN IM1589)和V β 11-PE(PN IM2290)各20 μL ; 每管中均加入100 μL PBMNC, 漩涡振荡混匀后避光、室温孵育15 min; 每管中加入pH 7.4 PBS 2 mL混匀; 置水平离心机350 g室温离心5 min; 弃上清, 加0.5 mL PBS重悬细胞、待测。利用ADC Expo32软件进行数据获取和分析。

1.4 统计学处理

数据分析及统计在专业软件SAS 9.0软件包中处理, T淋巴细胞亚群水平、细胞因子水平、NKT细胞水平采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用SNK- q 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组细胞因子水平比较

胰腺癌组患者在化疗前IFN- γ 、TNF- α 、IL-2水平分别为(1.96 ± 0.83)%、(5.14 ± 1.75)%、(6.21 ± 2.05)%显著的低于化疗后的(5.74 ± 1.76)%、(8.39 ± 2.05)%、(9.42 ± 2.16)%, 差异均具有统计学意义($P<0.05$); 胰腺癌组患者化疗前的IL-6为(18.31 ± 4.29)%, 显著高于化疗后的(6.29 ± 2.18)%, 差异均具有统计学意义($P<0.05$); 胰腺癌组患者化疗前、化疗后的IFN- γ 、TNF- α 、IL-2水平均显著的低于健康组和胰腺炎组($P<0.05$), 胰腺癌组化疗前后IL-6水平均显著的高于健康组和胰腺炎组($P<0.05$) (表1)。

表1 三组研究对象的细胞因子水平比较(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	IFN- γ	IL-6	TNF- α	IL-2
胰腺癌组	42				
化疗前		$1.96\pm 0.83^{(1,2,3)}$	$18.31\pm 4.29^{(1,2,3)}$	$5.14\pm 1.75^{(1,2,3)}$	$6.21\pm 2.05^{(1,2,3)}$
化疗后		$5.74\pm 1.76^{(1,2)}$	$6.29\pm 2.18^{(1,2)}$	$8.39\pm 2.05^{(1,2)}$	$9.42\pm 2.16^{(1,2)}$
胰腺炎组	30	7.80 ± 2.61	$4.27\pm 1.50^{(1)}$	$10.16\pm 1.96^{(1)}$	$12.83\pm 2.96^{(1)}$
健康组	30	8.61 ± 2.53	1.85 ± 0.55	10.38 ± 2.14	13.25 ± 3.04

注: 1)与健康组比较, $P<0.05$; 2)与胰腺炎组比较, $P<0.05$; 3)与胰腺癌组化疗后比较, $P<0.05$

2.2 三组研究对象的NKT细胞水平比较

胰腺癌组患者在化疗前NKT细胞(5.62 ± 2.04)%显著的低于化疗后的(13.96 ± 3.20)%,且差异均具有统计学意义(P<0.05),胰腺癌组患者化疗前、化疗后的NKT细胞均显著的低于健康组和胰腺炎组(P<0.05)(表2)。

2.3 三组T淋巴细胞亚群水平比较

胰腺癌组患者在化疗前T淋巴细胞(CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺)水平均显著的低于化疗后的且差异均具有统计学意义(P<0.05);胰腺癌组患者化疗前的CD8⁺显著高于化疗后且差异均具有统计学意义(P<0.05);胰腺癌组患者化疗前、化

疗后的T淋巴细胞(CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺)水平均显著的低于健康组和胰腺炎组(P<0.05),胰腺炎组化疗前后CD8⁺水平均显著的高于健康组和胰腺炎组(P<0.05)(表3)。

表2 三组研究对象的NKT细胞比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	NKT	F	P
胰腺癌组	42			
化疗前		5.62 ± 2.04 ^{1),2),3)}		
化疗后		13.96 ± 3.20 ^{1),2)}	21.588	<0.001
胰腺炎组	30	19.62 ± 4.05		
健康组	30	20.51 ± 3.77		

注:1)与健康组比较,P<0.05;2)与胰腺炎组比较,P<0.05;3)与胰腺癌组化疗后比较,P<0.05

表3 三组研究对象的T淋巴细胞亚群水平比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
胰腺癌组	42				
化疗前		56.29 ± 7.05 ^{1),2),3)}	38.27 ± 5.28 ^{1),2),3)}	39.27 ± 3.27 ^{1),2),3)}	0.97 ± 0.24 ^{1),2),3)}
化疗后		69.16 ± 6.98 ^{1),2)}	42.25 ± 5.13 ^{1),2)}	37.26 ± 3.10 ^{1),2)}	1.14 ± 0.26 ^{1),2)}
胰腺炎组	30	75.72 ± 9.16	44.29 ± 4.85	35.14 ± 4.27	1.23 ± 0.17
健康组	30	77.51 ± 8.36	45.16 ± 6.28	34.05 ± 5.92	1.32 ± 0.19

注:1)与健康组比较,P<0.05;2)与胰腺炎组比较,P<0.05;3)与胰腺癌组化疗后比较,P<0.05

3 讨论

胰腺癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一,已成为全球第4或第5大癌症死亡原因^[5]。由于80%以上的患者在确诊时已处于晚期,无法进行手术切除,因此,目前临床上对胰腺癌的治疗以化疗为主^[6-9]。其主要化疗药物包括以下几种。(1)氟尿嘧啶及其衍生物:5-氟尿嘧啶、卡培他滨、S-1等;(2)脱氧胸苷酸合成酶抑制剂:雷替曲塞、培美曲塞等;(3)胞嘧啶类似物:吉西他滨;(4)铂类药物:顺铂、奥沙利铂等;(5)环氧合酶2抑制剂:塞来昔布、罗非昔布和帕瑞昔布等;(6)VEGF及其受体治疗药物:贝伐单抗、西妥昔单抗和埃罗替尼等^[10]。单药治疗疗效较差,一般多采用联合用药方式进行化疗,如吉西他滨联合铂类药物、GTX联合化疗、吉西他滨联合生物靶向药物化疗等,疗效较好^[11]。

T淋巴细胞亚群是正常机体内与其它免疫细胞相互作用共同调节机体免疫系统的细胞群,能够维持正常的细胞和体液免疫应答^[12-14]。研究^[15]表明肿瘤细胞分泌可溶性免疫抑制因子可能导致患者

的免疫功能低下,主要表现为CD4⁺T细胞减少,并且随着病情进展,变化更加明显。化疗对机体的免疫功能具有双重作用:(1)通过杀伤肿瘤细胞以解除肿瘤对机体的免疫抑制作用;(2)对增殖活跃的淋巴细胞具有非选择性杀伤作用^[16-18]。在本项研究中,笔者发现胰腺癌组患者在化疗前T淋巴细胞(CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺)水平均显著的低于化疗后,表明化疗能够有效地减少肿瘤负荷,改善患者的免疫功能。

NKT是能够同时表达T细胞的TCR与NK细胞的NKR-P1两种受体的CD,其主要生物学功能为免疫调节和细胞毒作用。研究表明NKT细胞受到刺激后可分泌大量的IL-4、IFN-γ、IL-13和其它细胞因子,从而介导细胞免疫而发挥细胞毒性作用,是联系固有免疫和获得性免疫的桥梁之一,也是NKT抗肿瘤的重要机制^[19-20]。本项研究发现,胰腺癌组患者在化疗前NKT细胞显著的低于化疗后,且化疗前、后的NKT细胞均显著的低于健康组和胰腺炎组,说明化疗有助于NKT抗肿瘤活性的恢复。此外,胰腺癌组患者化疗前、化疗后的IFN-γ、TNF-α、IL-2水平均显著的低于健康组

和胰腺炎组, IL-6水平显著高于健康组和胰腺炎组, 这可能是由于恶性肿瘤能够产生大量坏死物而诱发局部及全身的炎症反应; 腺癌组患者在化疗前IFN- γ 、TNF- α 、IL-2水平均显著的低于化疗后, 并且IL-6水平显著高于化疗后, 表明化疗后胰腺细胞坏死程度减轻, 炎性渗出减少。

综上所述, 笔者认为胰腺癌患者外周血免疫相关细胞及细胞因子水平较健康人群显著的降低, 化疗后有助于改善患者的免疫水平、在化疗过程中检测免疫细胞及细胞因子变化可以对患者的化疗效果进行评价。

参考文献

- [1] 马臣, 姜永晓, 刘曙正, 等. 中国胰腺癌发病趋势分析和预测[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(2):160-163.
- [2] Vonderheide RH, Bayne LJ. Inflammatory networks and immune surveillance of pancreatic carcinoma[J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(2):200-205.
- [3] 倪泉兴, 虞先濬, 刘亮. 中国胰腺癌临床诊断标准的探讨[J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(2):81-87.
- [4] Silvestris N, Gnoni A, Brunetti AE, et al. Target therapies in pancreatic carcinoma[J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(8):948-965.
- [5] 李慧超, 王宁, 郑荣寿, 等. 中国 2010 年胰腺癌发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2015, (3):163-169.
- [6] 苗毅. 胰腺癌外科治疗的困惑与思考[J]. 中华消化外科杂志, 2013, 12(2):100-104.
- [7] 李明生, 石大环, 卢明友. 化疗前后肺癌患者血清IFN- γ 、IL-6、TNF- α 水平变化及意义[J]. 山东医药, 2012, 52(26):74-75.
- [8] Yoshida T, Fujiwara W, Enomoto M, et al. An increased number of CD4⁺ CD25⁺ cells induced by an oral administration of *Lactobacillus plantarum* NRIC0380 are involved in antiallergic activity[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2013, 162(4):283-289.
- [9] Yu SJ, Liao EC, Tsai JJ. House dust mite allergy: environment evaluation and disease prevention[J]. *Asia Pac Allergy*, 2014, 4(4):241-252.
- [10] 中国临床肿瘤学会胰腺癌专业委员会. 胰腺癌综合诊治中国专家共识(2014年版)[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2014, 19(4):358-370.
- [11] 薛瑞华, 刘荣. 胰腺癌治疗方式的选择[J]. *中华腔镜外科杂志:电子版*, 2013, 6(1):45-47.
- [12] 唐艺宸. 肿瘤浸润调节性T淋巴细胞与胰腺癌进展及预后的相关性研究[D]. 重庆:第三军医大学, 2014:22-40.
- [13] 侯亚莉, 华克胜. 胰腺癌化疗前后血清 IGF- II 和 TGF- α 检测及临床意义[J]. *中国现代医生*, 2012, 50(8):109-110.
- [14] 马湘, 曲林林, 张明进, 等. 进展期胰腺癌患者姑息性旁路手术后的预后因素分析[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(9):1195-1199.
- [15] 张兰, 李则学, 刘海亮. 抗肿瘤治疗对晚期肿瘤患者外周血CD4⁺ CD8⁺记忆T细胞亚群的影响[J]. *解放军医药杂志*, 2013, 25(3):40-42.
- [16] 李海燕, 苏文. 化疗对机体免疫细胞的调节[J]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2015, 9(3):473-476.
- [17] 吴安任. 胰腺癌患者化疗前后外周血 NKT, IFN- γ , IL-6 水平变化及意义[J]. *山东医药*, 2014, 54(27):65-67.
- [18] 郭秋均, 李杰. 肿瘤相关巨噬细胞在重塑肿瘤免疫微环境中的作用[J]. *肿瘤*, 2013, 33(10):922-927.
- [19] Bassiri H, Das R, Nichols KE. Invariant NKT cells: Killers and conspirators against cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(12):e27440.
- [20] 李衍训, 孙晋津. microRNA:胰腺癌早期诊断的潜在标记物[J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(3):367-371.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 张晨, 王美玲, 马华. 胰腺癌患者化疗前后外周血自然杀伤T细胞、T细胞亚群及 γ 干扰素等细胞因子的变化[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(9):1315-1318. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.021

Cite this article as: ZHANG C, WANG ML, MA H. Changes in natural killer cells, T-cell subsets and γ interferon in peripheral blood of pancreatic cancer patients before and after chemotherapy[J]. *Chin J Gen Surg*, 2015, 24(9):1315-1318. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.021