

自体 CIK 细胞对晚期胃癌肿瘤标志物及生活质量的影响*

芦兰¹, 许绿叶¹, 师幸伟^{2△}

长江航运总医院¹肿瘤科, ²心内科(武汉 430000)

【摘要】 目的 评价自体 CIK 细胞治疗晚期胃癌的疗效。方法 体外培养自体 CIK 细胞,14 d 后分 3 次回输,共 3 个疗程,观察治疗前后胃癌患者免疫指标、肿瘤标志物、总缓解率和卡氏评分的变化。结果 晚期胃癌患者 CIK 细胞治疗前后 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺ 和 CD3⁺CD56⁺ 比较差异均有统计学意义(P<0.05);肿瘤标志物 CA199 和 CEA 治疗前后比较差异有统计学意义(P<0.05);治疗后总缓解率为 63.2%;卡氏评分提高率为 55.3%。结论 自体 CIK 细胞能明显改善晚期胃癌患者免疫功能,有效降低肿瘤标志物,提高生活质量,且不良反应小,为晚期胃癌提供一种新的治疗方法。

【关键词】 CIK 细胞;晚期胃癌;肿瘤标志物

近年来,肿瘤过继免疫治疗已逐渐成为肿瘤生物治疗中最活跃的研究领域。细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cells, CIK 细胞)是一种新型的免疫活性细胞,CD3⁺CD56⁺ 细胞是其主要效应细胞,因具有增殖速度快、杀瘤谱广、杀瘤活性高等优点成为人们研究的热点。胃癌是我国最常见的消化道恶性肿瘤,起病隐匿,症状不典型,一经确诊,多数属于晚期,失去手术机会,且不能耐受强烈化疗。本研究通过观察回输自体 CIK 细胞后患者肿瘤标志物及生活质量的变化来探讨其在晚期胃癌治疗中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集我院 2012 年 1 月至 2013 年 5 月收治的 38 例晚期(IV 期)胃癌患者,均经病理诊断,不适合手术和放化疗,预计生存期>3 个月,卡氏评分>60 分,肝肾功能、血常规及心电图均正常,男 21 例,女 17 例,年龄(55±12)岁。

1.2 治疗方法 所有患者均给予营养支持治疗同时行自体 CIK 细胞治疗,每 2 个月 1 个疗程,连续治疗 3 个疗程,并进行疗效评价。

1.3 主要试剂及仪器 PAA 培养液、CIK 细胞培养相关试剂盒(深圳市博泰公司),鼠抗人 CD3⁺-FITC、CD4⁺-FITC、CD8⁺-FITC、CD3⁺CD56⁺-FITC 荧光抗体(Immunotech 公司,法国),流式细胞仪(Coulter 公司,美国)。

1.4 CIK 细胞的制备与回输 取患者外周血 50 mL,用淋巴细胞分离液(比重 1.077±0.001)经 Ficoll 密度梯度离心法提取外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell),此细胞被重悬并置于 PAA 培养液中培养。调整细胞浓度至少 10⁵·mL⁻¹,第 1 天加入 γ 干

扰素(IFN-γ) 1 000 IU/mL,24 h 后加入浓度为 50 ng/mL 的 CD3McAb、浓度为 1 000 IU/mL 的 rhIL-2、浓度为 200 IU/mL 的 IL-1,置于 37℃、5% CO₂ 孵化箱中培养,以后隔天补加 PAA 培养液并调整细胞浓度至少 10⁶·mL⁻¹,同时补加浓度为 1 000 IU/mL 的 rhIL-2,第 14 天收获细胞。收集标准:CD3⁺CD56⁺ 细胞≥50%,细胞活性>95%^[1],细菌、真菌、内毒素、支原体检测排除污染。采用静脉输注,一般分批回输,每次输注细胞数≥10⁹·mL⁻¹(含 5 g 白蛋白和第 1 次回输含 IL-2,10 万 IU,以后每次含 IL-2,20 万 IU),1 h 内滴完,3 次为 1 个疗程,每 2 个月接受 1 个疗程治疗,共 3 个疗程。

1.5 流式细胞仪检测免疫表型 取胃癌患者治疗前后外周血,分别标记带荧光的抗体(CD3⁺-FITC、CD4⁺-FITC、CD8⁺-FITC、CD3⁺CD56⁺-FITC),避光反应 15 min,做成单细胞悬液。全血样本用甲酸溶血,离子强度调节剂调节离子浓度,1% 多聚甲醛固定,3 000 r/min 离心 5 min×2,加生理盐水溶解稀释,用流式细胞仪检测。

1.6 疗效判定 近期客观疗效评定参照 WHO 标准分完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、微效(MR)、稳定(SD)及病情进展(PD),缓解率=CR+PR+MR。CR:所有靶病灶消失,无新病灶出现,且肿瘤标志物正常,至少维持 4 周;PR:靶病灶最大径之和减少 50% 以上,至少维持 4 周;MR:肿瘤病灶的两径乘积缩小 25% 以上,但<50% 无新病灶出现。SD:靶病灶最大径之和缩小未达 PR,或增大未达 PD;PD:靶病灶最大径之和至少增加≥20%,或出现新病灶。如仅一个靶病灶的最长径增大≥20%,而记录到的所有靶病灶的最长径之和增大未达 20%,则不应评价为“PD”。

1.7 生活质量评价 患者活动状态参照卡氏评分标准。每天记录患者临床的精神状态、活动能力、饮食及

* 武汉市卫计委临床医学科研项目(编号:WX13D16)

△通信作者

睡眠情况。100分:正常,无症状和体征;90分:能进行正常活动,有轻微症状和体征;80分:勉强可进行正常活动,有一些症状或体征;70分:生活可自理,但不能维持正常生活工作;60分:生活能大部分自理,但偶尔需要别人帮助;50分:常需人照料;40分:生活不能自理,需要特别照顾和帮助;30分:生活严重不能自理;20分:病重,需要住院和积极的支持治疗;10分:重危,临近死亡;0分:死亡。

1.8 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计软件,计量资

料进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 免疫指标水平的变化 患者 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD3⁺CD56⁺ 在第 1 次 CIK 细胞治疗后 1 周和第 3 次 CIK 细胞治疗后 2 个月,与治疗前比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);第 1 次 CIK 细胞治疗后 2 个月的免疫指标水平随时间有下降趋势,但与治疗前比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

表 1 CIK 细胞治疗前后外周血淋巴细胞水平比较

时间	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CIK 细胞 [*]
治疗前	47.12 ± 9.10	29.50 ± 9.11	33.90 ± 10.02	0.85 ± 0.19	4.5 ± 2.9
第 1 次治疗后 1 周	59.40 ± 10.87 [△]	35.42 ± 10.06 [△]	27.30 ± 8.72 [△]	1.37 ± 0.23 [△]	10.7 ± 3.6 [△]
第 1 次治疗后 2 个月	50.71 ± 9.28	30.50 ± 9.57	31.70 ± 9.32	1.00 ± 0.20	5.7 ± 3.2
第 3 次治疗后 2 个月	63.32 ± 11.75 [△]	36.10 ± 10.78 [△]	26.80 ± 8.41 [△]	1.45 ± 0.24 [△]	12.1 ± 3.8 [△]

* 表型标志为 CD3⁺CD56⁺; △ 与治疗前比较 $P < 0.05$

2.2 肿瘤标志物水平的变化 治疗后 CA199、CEA 较治疗前明显下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 CIK 细胞治疗前后肿瘤标志物水平比较 $\bar{x} \pm s$

时间	CEA (ng/mL)	CA199 (U/mL)
治疗前	8.74 ± 4.01	133.9 ± 20.04
治疗后	5.36 ± 3.87	115.57 ± 19.11

2.3 疗效评价 本组 38 例,CR 0 例,PR 6 例,MR 18 例,SD 9 例,PD 5 例,总缓解率 (CR + PR + MR) 为 63.2%。

2.4 卡氏评分 38 例治疗后卡氏评分平均提高 (10 ± 3.08) 分,其中提高 21 例,稳定 10 例,下降 7 例,提高率为 55.3%。

2.5 药物不良反应 治疗过程中 5 例出现发热,多发生在 CIK 细胞输注后 6 h 内,体温在 38.0℃ 内,未特殊处理体温恢复正常;1 例出现乏力、全身肌肉酸痛,未特殊处理后好转;2 例出现皮疹,经对症处理后好转,所有患者未发现明显心、肝、肾不良反应。

3 讨论

胃癌的发生、发展与宿主抗肿瘤免疫功能状态密切相关,其发生时患者免疫功能低下或免疫抑制。研究发现,晚期胃癌患者外周血中 T 细胞克隆数明显低于早期及无转移的胃癌患者,证实胃癌的进展与 T 细胞免疫反应减弱相关^[2]。YOSHIKAWA 等^[3]证实晚期胃癌 CD8⁺ T 细胞产生 IFN- γ 的能力受到抑制,且其凋亡比正常人有所增加。

CIK 细胞是人外周血单个核细胞在体外经 IL-2、IL-1、IFN- γ 和 CD3McAb 等因子刺激后获得的一群异质细胞,由于该细胞同时表达 CD3 和 CD56 两种膜表面分子又被称为 NK 样 T 淋巴细胞^[4],兼具有 T 淋巴细胞强大的抗瘤活性和 NK 细胞的非主要组织相容

性复合体限制性杀瘤特点。CIK 细胞是目前细胞毒活性最强的免疫效应细胞,回输体内后具有杀灭癌细胞、抑制肿瘤生长及清除残留微小病灶的作用,且在不损伤机体免疫系统和功能的前提下,直接杀伤肿瘤细胞,同时调节和增强机体的免疫功能。CIK 细胞凭借其增殖速度快、杀瘤活性高、杀瘤谱广和不良反应小等特点,被认为是新一代抗肿瘤过继免疫治疗的首选方案,已成为继手术、放疗、化疗肿瘤治疗的第 4 种模式^[5-6]。

本研究结果显示,38 例晚期胃癌患者在不适合手术和放化疗的情况下选择自体 CIK 细胞治疗,治疗后反映淋巴细胞如 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞活性的相关免疫指标水平呈上升趋势,且随疗程延长呈持续高表达;治疗后较治疗前相关肿瘤标志物水平呈下降趋势;统计其临床缓解率约为 63.2%,与国内研究^[7]基本一致;卡氏评分平均提高 (10 ± 3.08) 分,提高率为 55.3%。这表明自体 CIK 细胞能明显改善晚期胃癌患者免疫功能,有效降低肿瘤标志物,提高生活质量,且不良反应小,为无手术和放化疗适应证的晚期胃癌患者提供一种新的治疗手段。

参考文献

- [1] WENG D S, ZHOU J, ZHOU Q M, et al. Minimally invasive treatment combined with cytokine induced killer cells therapy lower the short-term recurrence rates of hepatocellular carcinomas[J]. J Immunother, 2008, 31(1): 63-71.
- [2] ZHANG X Y, CHAN W Y, WHITNEY B M, et al. T cell receptor Vbeta repertoire expression reflects gastric carcinoma progression[J]. Clin Immunol, 2001, 101(1): 3-7.
- [3] YOSHIKAWA T, SAITO H, OSAKI T, et al. Elevated Fas expression is related to increased apoptosis of circulating CD8⁺ T cell in patients with gastric cancer[J]. J Surg Res, 2008, 148(2): 143-151.
- [4] FRANCECHETTI M, PAEAN A, BOLERO G, et al. Cytokine in-

duced killer cells are terminally differentiated activated CD8 catatonic T - EMRA lymphocytes [J]. Exp Hematol, 2009, 37(5): 616 - 628.

[5] WU C, JIANG J, SHI L, et al. Prospective study of chemotherapy in combination with cytokine - induced killer cells in patients suffering from advanced non - small cell lung cancer [J]. Anticancer

Res, 2008, 28(6B): 3997 - 4002.

[6] 蒋敬庭, 吴昌平, Ning Xu, 等. CIK 细胞治疗老年人中晚期胃癌的副反应分析 [J]. 肿瘤杂志, 2006, 26(10): 950 - 952.

[7] 王琦, 蒋敬庭, 邓海峰, 等. 细胞因子诱导的杀伤细胞治疗中晚期胃癌的疗效 [J]. 江苏医药, 2007, 33(8): 800 - 802.

(收稿日期: 2013 - 08 - 01 编辑: 王冰)

晚扎脐带对新生儿血红蛋白和网织红细胞的影响

李桂友¹, 唐敏², 张慕意³, 苏素娟³, 沈小雅³, 陈彩儿³, 李红玉², 原绮霞², 郑飞燕³

广东省广州市荔湾区妇幼保健院¹ 护理部, ² 儿科, ³ 产科(510375)

【摘要】 目的 探讨晚扎脐带对新生儿血红蛋白和网织红细胞的影响。方法 将 120 例新生儿随机分为观察组和对照组, 每组 60 例。观察组新生儿分娩后 2 min 后进行脐带结扎, 对照组新生儿分娩后即进行脐带结扎, 观察两组新生儿出生后 4 周血红蛋白、网织红细胞和胆红素水平。结果 两组新生儿血红蛋白水平出生后开始下降, 但对照组下降水平更为显著, 在各个时间对照组血红蛋白水平均低于观察组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 第 2 周两组网织红细胞水平均显著增高, 第 3 和第 4 周开始下降, 并且观察组网织红细胞水平显著高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 两组胆红素水平在各时间段差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 晚扎脐带比常规断脐更加有利于增加血红蛋白和网织红细胞的含量, 并且不会增加新生儿胆红素水平, 值得临床应用。

【关键词】 新生儿; 血红蛋白; 网织红细胞; 晚扎脐带

目前对新生儿分娩后脐带结扎的最佳时间存在争议, 出生便断脐会引起新生儿血液灌注明显减少, 从而可能导致新生儿血容量不足, 导致新生儿的脏器血液供应减少, 并且还可以引起新生儿铁储备不足, 导致新生儿发生贫血; 而断脐过迟, 导致新生儿血容量增加, 同样会引起红细胞增多症和高胆红素血症等^[1-3]。为此, 本研究对晚期脐带结扎和常规断脐对新生儿的影响进行比较, 以寻找最佳的断脐时机, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 1 月至 2013 年 6 月期间来我院产科分娩的 120 例足月妊娠单胎活产新生儿为研究对象, 并且所有对象均符合下列标准: (1) 足月新生儿; (2) 母亲身体健康, 无妊娠期疾病; (3) 顺产。排除标准: (1) 新生儿伴有窒息, 先天畸形等疾患; (2) 随访过程中发生溶血、肺炎等疾病; (3) 随访失败的新生儿。按照数字表随机分组的原则分为观察组和对照组, 每组 60 例, 两组胎龄、孕母年龄、新生儿性别、体重等比较均差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 两组一般资料比较 $\bar{x} \pm s$

项目	例数	胎龄(周)	孕母 年龄(岁)	性别(例)		体重(kg)
				男	女	
观察组	60	39.74 ± 1.75	25.66 ± 12.86	33	27	3.32 ± 0.56
对照组	60	39.12 ± 1.64	26.86 ± 13.90	34	26	3.24 ± 0.85
t/χ^2 值		2.002	0.490	0.030	0.141	0.042
P 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

1.2 方法 两组孕妇分娩后均采用 20 U 缩宫素静脉注射, 并对新生儿进行常规的护理, 保暖, 观察组的婴儿在分娩后 2 min 后进行脐带结扎, 对照组的婴儿则在分娩后 10 s 左右行脐带结扎。

1.3 观察指标 新生儿出生后 1、2、4、8 周各检测 1 次血红蛋白、网织红细胞和胆红素。其中血红蛋白、网织红细胞取足跟血送我院生化室进行分析, 胆红素用南京产 JH20 - 1B 型经皮黄疸仪在新生儿额部进行检查。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料比较采用 t 检验, 计数资料的比较用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 两组新生儿血红蛋白水平比较 两组新生儿血红蛋白水平出生后开始下降, 但对照组下降水平更为明显, 在各个时间对照组血红蛋白水平均低于观察组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 两组新生儿血红蛋白水平比较 $(\bar{x} \pm s)$ g/L

项目	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
观察组	185.66 ± 21.86	165.84 ± 21.38	115.54 ± 15.48	125.66 ± 19.45
对照组	175.97 ± 21.67	155.45 ± 21.23	98.48 ± 9.34	105.66 ± 11.86
t 值	2.438	2.671	3.537	4.342
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 两组新生儿网织红细胞水平比较 两组新生儿网织红细胞水平出生后第 1 周差异无统计学意义