

## · 论 著 ·

## 伽玛刀治疗对胰腺癌患者外周 T 淋巴细胞亚群的影响

江晓肖, 宋水川, 陈达伟

**[摘要]** **目的** 研究胰腺癌患者伽玛刀治疗前后外周血白细胞、淋巴细胞及 T 淋巴细胞亚群的变化。**方法** 观察 20 例胰腺癌患者外周血白细胞、淋巴细胞变化, 并与 20 例健康人对照, 采用流式细胞术检测伽玛刀治疗前后外周血  $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、 $CD4^+CD25^+$  变化。**结果** 胰腺癌患者外周血淋巴细胞及  $CD4^+$ 、 $CD8^+$  值低于对照组 ( $P < 0.01$ ), 伽玛刀治疗前后胰腺癌患者  $CD4^+$ 、 $CD8^+$  含量差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 伽玛刀治疗前后  $CD4^+/CD8^+$ 、 $CD4^+CD25^+$  含量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。**结论** 胰腺癌患者存在 T 淋巴细胞免疫功能低下, 抗肿瘤免疫反应差, 伽玛刀治疗使患者  $CD4^+$ 、 $CD8^+$  T 淋巴细胞进一步减少, 提示伽玛刀治疗中应辅以免疫调节剂以提高临床疗效。

**[关键词]** 伽玛刀; 胰腺癌; 免疫; 外周血淋巴细胞

**[中图分类号]** R735.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2012)02-0129-03

**Clinical analysis of immunological effects on pancreatic cancer patients by  $\gamma$ -knife therapy**

JIANG Xiao-xiao, SONG Shui-chuan, CHEN Da-wei. Department of Digestive Diseases, 117 Hospital of PLA, Hangzhou, Zhejiang 310013, China

**[Abstract]** **Objective** To study the alteration in number of leucocytes, lymphocytes and the immunological function change of T cell in patients with pancreatic cancer after  $\gamma$ -knife therapy. **Methods** The peripheral blood samples were collected from 20 patients with pancreas carcinoma and 20 healthy controls. The cell number of leucocytes and lymphocytes was studied by blood RT, the population of  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD4^+/CD8^+$ , and  $CD4^+CD25^+$  were evaluated by using a flow cytometry. **Results** The total numbers of lymphocytes were lower than those of the healthy controls. The percentages of  $CD4^+$  and  $CD8^+$  T cell were lower than those of the healthy controls. These differences were of statistical significance ( $P < 0.01$ ). After  $\gamma$ -knife therapy, the differences of the proportions of  $CD4^+$  and  $CD8^+$  T cell were of statistical significance ( $P < 0.05$ ). The  $CD4^+/CD8^+$  ratios and the percentages of  $CD4^+CD25^+$  were not statistically significant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Pancreas patients have a cellular immune dysfunction and a poor anti-tumor immune response. The percentages of  $CD4^+$  and  $CD8^+$  T cell were lower after  $\gamma$ -knife therapy, which suggested that during the  $\gamma$ -knife therapy we should add immune regulative drug to improve therapeutic effect.

**[Key words]** gamma rays; pancreatic cancer; immunology; the cell number of leucocytes

胰腺癌是恶性程度较高的消化系统肿瘤之一, 由于起病隐匿, 缺乏有效的早期诊断方法, 确诊时往往已到晚期或发生转移, 晚期患者中位生存期不超过 6 个月<sup>[1]</sup>。目前以伽玛刀治疗晚期胰腺癌对提高疗效、改善生活质量有一定优势<sup>[2]</sup>。但是, 肿瘤的发生、发展与机体免疫功能密切相关, 在肿瘤生长恶化过程中, 特别是肿瘤晚期, 患者的免疫功能普遍低下<sup>[3-6]</sup>。本文拟从临床角度探讨伽玛刀治疗对胰腺癌患者免疫功能的影响。

**1 对象与方法**

**1.1 对象** 2005 年 8 月至 2008 年 3 月经本院消化科确诊已失去手术机会的胰腺癌 20 例, 其中男 15 例, 女 5 例, 年龄 35~60 岁。健康成人 20 例为对照组。

**1.2 检测项目和方法** 伽玛刀术前、术后 1 周对患者行血常规检查等, 对照组相关检查仅做一次即可。试剂为异硫氰酸荧光素或藻红蛋白标记的鼠抗人单克隆抗体  $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD25^+$  (美国 BD 公司产品)。具体方法: 抽取对照组和患者外周血各 5 ml, 肝素抗凝, 经红细胞裂解液溶解红细胞并充分混合

作者简介: 江晓肖 (1962-), 男, 浙江杭州人, 医学硕士, 主任医师, 从事消化肿瘤临床诊疗研究

作者单位: 310013 浙江杭州, 解放军 117 医院消化科

后,离心收集淋巴细胞,用 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞 1 次,淋巴细胞垂悬于含有 4% 小牛血清(FBS)的 PBS 中。细胞浓度为  $2 \times 10^7/\text{ml}$ 。取淋巴悬液 0.1 ml,加入荧光标记  $\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD8}^+$ 、 $\text{CD25}^+$  的单克隆抗体各 20  $\mu\text{l}$ ,4℃ 水浴 30 min,流式细胞仪(美国 BD 公司 Facs Calibur)检测计数 5000 个,以 Cellquest 软件分析数据,记录阳性细胞百分率,减去非特异对照值。

**1.3 统计学处理** T 淋巴细胞亚群检测值以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,伽玛刀治疗前后的显著性检验采用配对资料的  $t$  检验,与对照组之间显著性检验采用两样本的  $t$  检验,所有数据处理由 SPSS 12.0 软件包完成, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 伽玛刀治疗前后外周血白细胞与淋巴细胞绝对值的变化** 胰腺癌患者伽玛刀治疗前外周血白细胞绝对值较对照组无明显减少( $P > 0.05$ ),而淋巴细胞绝对值低于对照组( $P < 0.01$ )。伽玛刀治疗后 1 周,患者外周血白细胞和淋巴细胞绝对值明显低于伽玛刀治疗前( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 胰腺癌患者伽玛刀前后外周血白细胞及淋巴细胞比较( $\times 10^9, \bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	白细胞数	淋巴细胞数
对照组	20	$6.53 \pm 2.17$	$3.06 \pm 2.16$
伽玛刀治疗前	20	$6.34 \pm 3.05$	$1.24 \pm 1.19^*$
伽玛刀治疗后	20	$4.41 \pm 2.28^{*#}$	$0.65 \pm 0.46^{*#}$

注:与对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与伽玛刀治疗前比较,# $P < 0.05$

**2.2 伽玛刀治疗前后外周血淋巴细胞亚群变化** 胰腺癌患者外周血  $\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD8}^+$ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 、 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  含量较对照组差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ),伽玛刀治疗前后胰腺癌患者  $\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD8}^+$  含量差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),伽玛刀治疗前后  $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 、 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  含量差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 胰腺癌患者伽玛刀治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	$\text{CD4}^+$	$\text{CD8}^+$	$\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$	$\text{CD4}^+\text{CD25}^+$
对照组	20	$43.10 \pm 4.07$	$27.04 \pm 3.33$	$1.60 \pm 0.22$	$14.37 \pm 3.32$
伽玛刀治疗前	20	$36.16 \pm 3.69^*$	$17.24 \pm 3.01^*$	$2.12 \pm 0.26^*$	$19.32 \pm 2.84^*$
伽玛刀治疗后	20	$35.26 \pm 3.61^{\Delta}$	$16.64 \pm 2.78^{*\Delta}$	$2.15 \pm 0.25^*$	$18.82 \pm 2.96^*$

注:与对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与伽玛刀治疗前比较, $\Delta P < 0.05$

3 讨 论

胰腺癌因其解剖位置独特,且症状隐匿,早期诊断困难,其术后较高的转移复发率以及对传统化疗、放疗不敏感已成为制约胰腺癌有效治疗的主要障碍。伽玛刀治疗对晚期胰腺癌患者延长生命、提高生活质量具有一定的优势,然而伽玛刀治疗对胰腺癌患者免疫功能影响研究较少。机体的免疫功能状态与肿瘤的发生和发展密切相关,T 淋巴细胞在肿瘤免疫中具有极其重要的作用。 $\text{CD4}^+$  T 淋巴细胞为辅助性 T 淋巴细胞,辅助机体完成抗肿瘤免疫。 $\text{CD8}^+$  T 淋巴细胞为杀伤性 T 淋巴细胞,具有特异性杀伤细胞活性。 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  T 淋巴细胞为调节性 T 细胞,具有独特的免疫无能性和免疫抑制性两大功能,肿瘤免疫在一定程度上也是一种自身免疫,胰腺癌免疫耐受性与  $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  T 淋巴细胞密切相关<sup>[5-8]</sup>。

本研究显示,20 例胰腺癌患者外周血淋巴细胞显著低于对照组,外周血  $\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD8}^+$  T 淋巴细胞明显低于对照组, $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$  大于 2,比例倒置, $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  T 淋巴细胞含量较对照组明显升高,以上结果提示胰腺癌患者较健康者免疫功能低下。伽玛刀治疗后患者外周血  $\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD8}^+$  T 淋巴细胞含量进一步减少,差异具有统计学意义;而  $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  T 淋巴细胞含量较伽玛刀治疗前减少,差异无统计学意义。以上结果表明患者伽玛刀治疗后免疫功能进一步受到抑制。 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  T 淋巴细胞比例较对照组明显升高,提示胰腺癌患者免疫失调与患者外周血  $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  T 淋巴细胞比例相关,肿瘤患者调节性 T 淋巴细胞介导的免疫耐受与肿瘤的生长、发展密切相关,可能直接参与肿瘤进展的发生过程, $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  T 淋巴细胞水平可能与患者预后有关<sup>[9-12]</sup>。

综上所述,胰腺癌患者 T 淋巴细胞免疫功能低下是疾病过程普遍存在问题,因此合理使用免疫调节剂应成为辅助治疗本病的重要措施,主动免疫激活剂在肿瘤治疗具有广泛应用前景<sup>[13]</sup>。

## 【参考文献】

- [1] 王国江,高泽立. 胰腺癌的生物治疗研究进展[J]. 世界华人消化杂志,2008,16(1):56-61.
- [2] 陈庆丰,唐顺国,高宏伟,等. 立体定向放疗联合吉西他滨治疗胰腺癌 56 例[J]. 东南国防医药,2009,11(3):241-243.
- [3] 邢爱民,孙玉凤,陈玉凤. 肺癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化及其临床意义[J]. 肿瘤学杂志,2004,10(3):173-174.
- [4] Doherty DG, O'Farrelly C. Innate and adaptive lymphoid cells in the human liver[J]. Immunol Rev,2000,174(4):5-20.
- [5] Horwitz DA, Zheng SG, Gray JD. The role of the combination of IL2 and TGF beta or IL10 in the generation and function of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> regulatory T cell subsets[J]. J Leukocbiol, 2003,74(4):471-478.
- [6] Cederbom L, Hall H, Ivvars F. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells down regulate to stimulatory molecules on antigen-presenting cells [J]. Eur J Immunol,2000,30(6):1538-1543.
- [7] Kursar M, Bonhagen K, Fensterle J, et al. Regulatory CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T cells restrict memory CD8<sup>+</sup> T cell responses[J]. J Exp Med,2002,196(12):1585-1592.

- [8] Azuma T, Takahashi T, Kunisato A, et al. Human CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells suppress NKT cell functions [J]. Cancer Res, 2003,63(15):4516-4520.
- [9] Ichilara F, Kono K, Takahashi A, et al. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood and TILs in patients with gastric and esophageal cancers [J]. Clin Cancer Res, 2003,9(12):4404-4408.
- [10] Woo EY, Yeh H, Chu CS, et al. Cutting edge: regulatory T cells from lung cancer patients directly inhibit autologous T cell proliferation[J]. J Immunol,2002,168(9):4272-4276.
- [11] Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, et al. Regulatory CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T cells in tumors from patients with early stage non-small cell lung cancer and late stage ovarian cancer [J]. Cancer Res, 2001,61(12):4766-4772.
- [12] 刘 海,郑 维,李远明,等. 大肠癌患者外周血调节性 T 细胞的检测及临床意义[J]. 中华实验外科杂志,2007,24(5):626-627.
- [13] 朱小蔚,潘士勇. 乌体林斯对老年恶性肿瘤化疗患者免疫功能的影响[J]. 东南国防医药,2007,9(3):206-207.

(收稿日期:2011-08-23;修回日期:2011-12-22)

(本文编辑:张仲书; 英文编辑:王建东)

(上接第 107 页)

和肝脏切面无明显出血和漏胆,肝右下放置腹腔引流管。手术时间 138 min,术中出血 120 ml。术后病理报告为肝海绵状血管瘤。术后予抗炎、保肝、补液等治疗,术后第 1 天患者进流质饮食、下床活动,术后第 2 天肛门有排气,进半流质饮食,拔除腹腔引流管,术后第 3 天出院。术后 3 个月随访,患者无不适,正常工作生活。

## 2 讨 论

肝巨大血管瘤是指直径大于 5 cm 的血管瘤<sup>[1]</sup>。肝血管瘤的处理,由于其生长缓慢及良好的预后,大多数患者只需要定期观察,少数患者需要手术治疗。目前国内外学者认为,瘤体大小不是决定手术的因素,而血管瘤的生长速度、居肝内的位置、其与肝脏表面的距离及患者的自觉症状等是决定手术与否的主要因素。本例患者随着瘤体的逐渐增大,腹部胀痛不适感亦逐渐明显,且影像学上提示肝血管瘤位置较为表浅,有破裂出血可能,故我们决定为其施行手术治疗。目前肝血管瘤的治疗手段主要有肝部分切除术、血管瘤剥离术、血管瘤缝扎术、肝动脉结扎术、微波固化术、射频热毁损术及肝动脉栓塞术等方法<sup>[2]</sup>。彻底切除肿瘤是最好的治疗方法,大者行广泛的或规则性肝叶切除,小的则行段或局部切除。本病在行肝部分切除时,通常采用开腹手术完成,开腹手术多采取右肋缘下斜切口或双肋缘下屋顶式切口或右侧经腹直肌切口,这种切口较大,对患者身体上及心理上的创伤较大,且术后恢复慢,住院时间长。近年来,腹腔镜肝血管瘤切除术亦有少量报道<sup>[3]</sup>,腹腔镜肝血管瘤切除术具有手术创伤小、术后恢复快等优点,但由于肝脏的特殊解剖结构及专用腹腔镜手术器械的限制,仍然存在着操作难度大、灵活性差和手术风险高等问题,这些问题均限制了该技术的发

展<sup>[4]</sup>。手术机器人则很好地解决了这些问题。我们为本例患者施行 DVSS 辅助肝血管瘤切除术,和传统腹腔镜手术相比,该手术系统具有如下特点:三维高清立体图像处理设备,以及被放大 10~20 倍的手术野,使视野更清楚;7 个方向自由度的灵活精准的仿真手腕,提高了手术的精确度,使在常规腹腔镜手术中难度较大的缝合和显微吻合操作变得简单方便;术者可采取坐姿进行系统操作,利于进行长时间复杂的手术<sup>[5-7]</sup>。DVSS 辅助腹腔镜手术不仅继承了腹腔镜手术微创的优势,而且操作更加灵活、精细和可靠,降低了手术风险,缩短了手术时间,减少了术后并发症的发生。

## 【参考文献】

- [1] 谢春明,胡跃峰. 肝脏巨大血管瘤的动脉栓塞治疗[J]. 实用医学影像杂志,2006,7(1):44-46.
- [2] Choi J, Lee YJ, Hwang DW, et al. Surgical treatment of giant hepatic hemangiomas: technical point of view [J]. Am Surg, 2011,77(1):48-54.
- [3] 郭林泉,刘石龙,罗志强,等. 完全腹腔镜肝脏血管瘤切除二例报告[J]. 江西医学院学报,2009,49(6):87-89.
- [4] 卿伯华,唐朝晖,江拥军,等. 腹腔镜肝部分切除治疗肝血管瘤 25 例临床分析[J]. 实用预防医学,2010,17(6):1180-1181.
- [5] 嵇 武,李 宁,黎介寿. 达芬奇手术机器人的应用进展 [J]. 东南国防医药,2010,12(5):427-430.
- [6] 周宁新. “达·芬奇”机器人系统肝胆胰手术 52 例[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2009,3(10):83.
- [7] Giulianotti PC, Sbrana F, Coratti A, et al. Totally robotic right hepatectomy: surgical technique and outcomes [J]. Arch Surg, 2011,146(7):844-850.

(收稿日期:2011-08-24;修回日期:2011-09-09)

(本文编辑:黄攸生)