

原发性肝癌患者介入治疗期间的 NK 活性变化

董永华

袁弥满

林 贵

摘要: 随机选择 60 例在本院接受介入治疗的原发性肝癌患者分为三组: I 组(20 例)采用本院常规的介入治疗方案, II 组(20 例)采用常规介入治疗的同时,分别在术后 2 小时和 48 小时,静脉滴注硫代硫酸钠 4g, 共计 8g。III 组(20 例)在 I 组的相同条件下于术后 1 周开始肌注干扰素 100 万单位,每周二次二个月以上。结果表明:原发性肝癌患者的 NK 活性明显低于正常健康人群,经介入治疗后, NK 活性显示为逐渐下降;在术后加用硫代硫酸钠能够有效的保持 NK 活性,较长期地低剂量干扰素可以在一定程度上提高患者的 NK 活性。

关键词: 原发性肝癌 介入性治疗 硫代硫酸钠 干扰素 NK 细胞活性

The Effect of NK Cell Function in Peripheral Blood of Patients with Advanced Primary Liver Cancer During Interventional Treatment Dong Yonghua, et al.

Department of Radiology, Zhongshan Hospital, Shanghai Medical University, Shanghai, 200032

ABSTRACT: NK cell function was tested in 60 patients randomly selected with advanced primary liver cancer (PLC) during interventional treatment. The patients were divided into three groups and treated with different regimens. In group 1 (n=20), routinely using HAI (5-Fu 1000mg, CDDP 30mg) and HAE (Lipiodel 10~20ml, EAMC 50mg) in group 2, the treatment project is same as in group 1, but after the treatment, total 8g Natrii thiosulfas was administrated intravenously within 48 hours; in group 3, one week after treatment as in group 1, the patients received a-2b IFN injected subcutaneously at a dose of 10×10^6 IU, B. i. w, for more than 2 months. The results showed that: 1. NK function in the patients with advanced PLC was $17.45 \pm 4.5\%$, significantly lower than that in the normal ones ($21.39 \pm 3.58\%$); 2. After the interventional treatment, the NK function of the patients were obviously decreased in group 1 ($13.58 \pm 3.14\%$), and in group 2 ($15.45 \pm 2.69\%$), but increased in group 3 ($19.20 \pm 3.27\%$). The results suggested that conventional interventional treatment will affect NK cell function of patients with advanced PLC in some degree, and the effect can be reduced by injecting Natrii Thiosulfas i. v., and administering IFN.

Key Words: Primary liver cancer Interventional treatment Natrii thiosulfas interferinum NK cell function

作者曾报道中山医院介入治疗方案对原发性肝癌患者外周血 T 淋巴亚群和 NKH-1 细胞数量的影响,发现接受介入治疗患者的 OKT3,

OKT4, NKH-1 细胞数均有不同程度的下降,特别是 NKH-1 尤为明显。由于机体细胞免疫状况系由细胞数量和活性两部分组成,因此,本

研究从观察介入治疗对原发性肝癌患者 NK 细胞活性影响入手,力求更全面地了解介入治疗对机体免疫功能的影响。同时初步探讨产生这些影响的原因及保护和提高患者机体免疫功能的可能途径。

材料和方法

一、病例选择及介入治疗方法

随机选择 60 例确诊为中晚期原发性肝癌患者,肿瘤直径 5~10cm 不等,男 52 例,女 8 例;年龄 35~68 岁,平均 55 岁;肝功能正常,白细胞总数 $3.5 \times 10^9/L$ 。随机分为三组:Ⅰ组(20 例)采用本院常规的介入治疗方案^[1],Ⅱ组(20 例)采用常规介入治疗的同时,分别在术后 2 小时和 48 小时,静脉滴注硫代硫酸钠 4 克共计 8 克。Ⅲ组(20 例)在Ⅰ组的相同条件下于术后 1 周开始肌注干扰素。所有患者在术前和第二次疗程前(术后 2 个月)抽取外周静脉血作 NK 活性测定,NK 活性测定用酶标法,以 20 例本院健康献血员的血标本测定值作为正常 NK 活性值。具体介入治疗方案为本院常规采用的碘油栓塞加化疗(5FU 1g,顺铂 80mg,丝裂霉素 20mg/次),IFN α -2b 干扰能(美国先灵葆雅公司产品),用法是在介入治疗术后一周,100 万 U,每周 2 次肌肉注射,疗程均超过 2 个月。

二、NK 细胞活性测定法

(一)靶细胞制备 收集传代培养生长良好的 K562 细胞,用 RPMI 1640 洗 2 次(每次 1000rpm \times 5min,然后用 0.5%BSA-RPMI 1640 工作液洗一次(1000rpm \times 5min,继后用锥兰检测活力应 $> 95\%$,再用 0.5BSA-RPMI 1640 工作液调节细胞浓度至 $5 \times 10^5/ml$ 待用。

(二)效应细胞制备 抽取患者外周血 5ml,肝素抗凝,用 Hank's 液 1:1 稀释,然后 Ficoll(比重 1.077)常规分离出单个核细胞,用 0.5%BSA-RPMI1640 工作液洗一次,并调节细胞数至 $5 \times 10^6/ml$ 备用。

(三)按效应细胞反应表程序(附表)进行加液(标本平行放二管),混匀离心(1000 转 \times 5min)置 5% CO₂,37°C 温育箱内 2 小时,取出

后滴加 40°C 预温的 0.5% BSA-RPMI 1640 工作液 50 μ l/管,混匀离心(1500 rpm \times 5min)吸取上清液 100 μ l 置 96 孔板中,在 32°C 条件下,每孔相隔 5 分钟滴加基底液 100 μ l,置 490nm 酶标仪上读数。

附表 效应细胞反应表程序

管别	KGG2 效应细胞	1% NP-40	0.5%BSA-RPMI 1640
S(自然释放管)	100 μ l		100 μ l
M(最大释放管)	100 μ l	100 μ l	
T(测定管)	100 μ l	100 μ l	

(四)计算公式 NK 细胞杀伤百分率 = $[T = S/(M-S)] \times 100\%$,我院血液实验室正常值为 $21.39 \pm 3.58\%$ 。

结 果

肝癌患者术前 NK 活性 = $17.45 \pm 4.58\%$ (N=60),第Ⅰ组患者术后二月下降至 $13.58 \pm 3.14\%$ (N=20),Ⅱ组下降至 $15.45 \pm 2.69\%$,Ⅲ组患者升高至 $19.20 \pm 3.27\%$ 。各组间显示有统计学差异。结果表明:原发性肝癌患者的 NK 活性明显低于正常健康人群,经介入治疗后,NK 活性显示为逐渐下降;在术后加用硫代硫酸钠能够在一定程度上有效的保持 NK 活性,较长期地小剂量干扰素可以在一定程度上提高患者的 NK 活性。

讨 论

中晚期肝癌介入治疗的近期疗效较好,但远期疗效并不理想,因此如何进一步提高中晚期肝癌介入治疗的中长期疗效是一个十分重要的研究课题。而颇受关注的问题之一就是患者的免疫功能和介入治疗对其的影响。

本研究结果表明,中晚期肝癌患者细胞免疫水平无论在数量上和活性上均明显低于正常人,而且经介入治疗后呈一定程序下降。显示介入治疗栓塞虽然是一种局部治疗,但对全身免疫机理具有一定程度影响。加用硫代硫酸钠清除体循环顺铂毒性作用后,NK 活性下降有所减轻,Powell^[2]等观察到,CCDP 静脉化疗后 15

天,肿瘤患者的 NK 活性下降了到原来的 12%~8% 倍。而 Hong 等^[8]报告用 ADM,MMC,5-Fu 方案静脉化疗,患者的 NK 和 T 细胞亚群却无明显影响。这些研究显示了顺铂毒性在引起 NK 活性和 T 淋巴细胞亚群改变中所起的作用。但是,本组病例的 NK 活性仍然呈现出下降趋势,说明介入化疗栓塞术后 NK 活性下降并非完全由顺铂毒性所致。

日本学者报告了丝裂霉素或阿霉素(不含顺铂)化疗栓塞对肝癌患者 NK 活性的影响,结果发现 NK 活性亦有明显下降,而且与栓塞程度有关,栓塞越重(特别是加用明胶海绵作中央性栓塞),NK 活性下降也就越明显^[4,5]。这些研究则表明栓塞治疗亦可能导致机体免疫功能下降,结合本文的研究结果,我们有理由认为,介入治疗术后患者免疫水平下降主要由顺铂毒性和动脉栓塞所致。顺铂的抗癌作用较强,虽然可引起 NK 活性的显著下降,但是可通过静脉滴注解毒剂硫代硫酸钠来清除体循环中的顺铂,因此,只要合理设计,顺铂的抗癌作用将可得到有效的发挥。从理论上讲,加用硫代硫酸钠后有可能降低肿瘤组织内的顺铂浓度从而降低抗癌作用。已有人报道“双路化疗”方案,动脉给予更高剂量的顺铂来提高肿瘤组织中的顺铂浓度,同时合适地加用血管收缩剂暂时性减少正常组织中的血流量。这些研究已在动物实验中和部分患者中得到了成功的结果。由于这些研究没有观察机体免疫功能的变化,所以尚有待进一步的深入研究,以使顺铂的抗癌作用得到充分合理的发挥,同时又能有效地保护机体免疫功能。

合理地选择性栓塞,无论在有效地杀灭肿瘤,减少正常肝脏损害、避免肿瘤侧支供血形成等方面都具有重要意义。由于栓塞可能导致机体免疫功能的下降,因此,合理地选择性栓塞的要求从保护机体免疫角度上亦已成为一个重要的考虑因素。随着各种微导管、同轴灌注导管的出现,选择性插管的成功率已大大提高。我们相信,这将有助于介入疗效的进一步提高。日本学者采用微导管系统进行亚段栓塞治疗小肝癌,

已经获得了优于外科手术切除的喜人成果^[6]。

干扰素是目前广泛使用的提高机体免疫功能的细胞因子,其抗癌作用机制和效用颇多。大量的研究证明,干扰素具有肯定的抗肿瘤作用。它通过干扰癌基因的表达及细胞的分化,抑制肿瘤细胞的分裂和增殖,发挥直接的抗肿瘤作用^[7,8]。另一方面则通过调节特异性免疫或非特异性免疫功能,影响肿瘤血供等而发挥间接抗肿瘤作用^[9,10]。此外,还具有抗肿瘤转移及提高放射或化疗药物的抗肿瘤作用^[7]。

但是,尽管如此,目前各家报道的临床治疗结果尚不够理想。大野童三汇总日本 18 个医疗机构的试验结果,肝癌的有效率为 2%^[7], Hanssen 等应用 IFN α -2b 治疗 19 例经组织学证实为中肠类癌肝转移患者,治疗方案为 5×10^6 U。皮下注射,连续一年,其中 7 例于治疗前行肝动脉栓塞术,一年后的有效率为 86%,所有患者的腹泻及发热症状者有所改善,而其余 12 例单独接受 IFN α -2b 治疗,有效率为 40%,仅 70% 患者腹泻及发热症状有改善。这表明单独使用 IFN 的疗效是很有限的。而与介入治疗相结合,则可望充分地发挥 IFN 的抗肿瘤作用^[11]。

在 IFN 的抗肿瘤研究中,NK 细胞的功能很引人注目。Laszio 等研究发现,免疫系统中 NK 细胞对 IFN 最为敏感,而单粒细胞,免疫球蛋白和补体水平在机体给予 IFN 后均无明显变化^[12];Semenzato 等用重组 α -IFN 治疗毛细胞白血病,结果发现患者 NK-1+ 细胞增高^[13];Einhorn 等用 IFN 治疗晚期直肠癌患者,亦观察到 NK 活性的明显升高^[7]。本研究显示,在经过 2 个月肌注干扰素后,患者的 NK 活性均有一定程度的提高,与文献报道结果一致,表明 IFN α -2b 治疗可在一定程度上提高患者的免疫功能,可作为肝癌介入治疗的辅助免疫治疗手段。但是,IFN α -2b 治疗是否可改善患者的生存期、减少复发、转移等尚有待进一步深入研究。同时还应该看到,干扰素的价格颇为昂贵,整个疗程的费用较大,因此,这种治疗在临床应用上有一定的局限。

参考文献

1. 董永华, 林贵, 袁弥满, 等. 介入治疗对原发性肝癌患者外周血淋巴细胞亚群的影响, 临床放射学杂志 1991;11:38.
2. Powell CB, et al. Reduced natural cytotoxic cell activity in patients receiving cisplatin-based chemotherapy and in mice treated with cisplatin. Clin Exp Immunol 1990;79:124.
3. Hong WS, et al. Natural killer and lymphokine-activated killer activities in stomach cancer patients with special emphasis on the effect of 5-fluorouracil, adriamycin and mitomycin-c chemotherapy. Jap J Clin Oncol 1990;20:87.
4. 田中正俊. 肝细胞癌に対する肝动脉塞栓术前后的患者末梢血 NK 活性的变化について. 肝脏 1987;28:1196.
5. 水崎宜章, 他. 肝动脉塞栓术が肝细胞癌患者のNK活性およびNK 细胞表面マ-カ-に及ぼす影响, 肝脏 1989;30:748.
6. Matsui O, Kadoya M, Yoshikawa, et al. Small hepa-tocellular carcinoma; Treatment with subsegmental transcatheter arterial embolization. Radiology 1993;188:79.
7. 胡长坤, 曹世龙. 干扰素的抗肿瘤作用. 国外医学肿瘤学分册 1992;19:274.
8. Strander HA. Clinical effects of interferon therapy with special emphasis on antitumor efficacy. Acta Oncologica 1989;28:355.
9. Giovarelli M, Cofano F, Vecchi A, et al. Interferon-activated tumor inhibition in vivo. Small amounts of interferon-gamma inhibit tumor growth by eliciting host systemic immunoreactivity. Int J Cancer 1986;37:141.
10. Uenishi N, Ida N, Kajra A, et al. Host-mediated antitumor effect of interferon in nude mice transplanted with human tumor. Gann 1983;74:730.
11. 刘杰, 田志刚. 肝癌的生物治疗进展. 国外医学肿瘤学分册 1992;19:327.
12. Laszio J, Huangg AT, Brenchman WD, et al. Phase I study of pharmacological and immunological effects of human lymphoblastoid interferon given to patients with cancer. Cancer Res 1983;43:4458.
13. Semenzato G, Pizzolo G, Agostini C, et al. a-Interferon activates the natural killer system in patients with hairy cell leukemia. Blood 1988;68:293.

重要通知

本刊与英国介入放射学杂志
建立互刊论文与摘要关系

为了提高本杂志水准, 并与国际性杂志接轨交流, 本刊副主编李麟荪与英国介入放射学学会的官方杂志(Journal of Interventional Radiology)副主编 R. A. Wilkins 联系, 初步商定互相刊登对方杂志论文摘要, 或/和刊登最有新意的论文全文一篇, 关于互刊的方法与时间将进一步确定。

特通告今后来稿时, 正式论文必须有英文摘要, 词数不超过 200 个, 包括背景、目的、患者(或对象)、方法、结果与结论。关键词不超过六个。如论文被选送刊在英方杂志, 需译成英文。欢迎广大作者踊跃投稿。

本刊编辑部