

HIFU 联合 CIK 疗法治疗肝门部胆管癌对机体免疫功能的影响*

张 喆(重庆医科大学生物医学工程学院/重庆市生物医学工程重点实验室/重庆市超声医学工程中心/省部共建国家重点实验室培育基地 400016)

【摘要】 目的 观察高强度聚焦超声(HIFU)联合细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)疗法治疗肝门部胆管癌对机体免疫功能的影响。**方法** 对 28 例肝门部胆管癌患者经 HIFU 联合 CIK 治疗后,观察外周血 CD3⁺, CD4⁺, CD56⁺, sIL-2R、NK 细胞百分率及嗜银蛋白(AgNORs)水平的变化。**结果** HIFU 联合 CIK 治疗后,CD3⁺, CD4⁺, CD56⁺、NK 细胞百分率及 AgNORs 水平较治疗前明显升高($P < 0.05$),而 sIL-2R 水平则较治疗前明显降低($P < 0.05$)。**结论** HIFU 联合 CIK 治疗可以通过有效的免疫激活作用改善机体免疫功能。

【关键词】 高强度聚焦超声; 杀伤细胞; 肝门部胆管癌; 免疫功能

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.15.001 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)15-1825-02

Immune function effected by HIFU combined with CIK treatment of cholangiocarcinoma in hepatic hilum* ZHANG Zhe(College of Biomedical Engineering of Chongqing Medical University/Key Laboratory in Biomedical Engineering of Chongqing/Ultrasonic Medical Engineering Center in Chongqing/The National Key Laboratory and Education Base,Chongqing 400016,China)

【Abstract】 Objective To observe the effect on immune function caused by HIFU (high intensity focused ultrasound) combined with CIK(cytokine induced killing cell) treatment of cholangiocarcinoma in hepatic hilum. **Methods** Twenty-eight patients with cholangiocarcinoma in hepatic hilum received the treatment of HIFU combined with CIK. Physical contrast was performed to observe the changes of peripheral blood(CD3⁺, CD4⁺, CD56⁺, sIL-2R), NK cell percentage and AgNOR. **Results** After treatment,CD3⁺, CD4⁺, CD56⁺, NK cell percentage and AgNOR were higher than before treatment($P < 0.05$),however, sIL-2R went lower obviously($P < 0.05$). **Conclusion** The treatment of HIFU combined with CIK can improve physical immune function through immunization activation.

【Key words】 HIFU; CIK; Cholangiocarcinoma in hepatic hilum; Immune function

肝门部胆管癌又称 Klastskin 瘤或高位胆管癌或近端胆管癌,指累及肝总管、左右肝管汇合部的胆管癌,约占肝外胆管肿瘤总数的 50%~60%,近年来,发病率有上升趋势^[1-2],多数患者就诊时已无手术机会^[3]。高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是一种非侵入性治疗实体肿瘤的新技术,已逐渐应用于肿瘤的局部治疗,取得了良好的临床效果^[4]。本研究应用 HIFU 联合细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine induced killer cells, CIK)治疗肝门部胆管癌,通过观察有关免疫指标的变化,探讨这种综合治疗方式对机体免疫功能的影响,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 28 例肝门部胆管癌患者中男 18 例,女 10 例,年龄 46~78 岁,平均 55.5 岁。根据 Bismuth-Corlette 分型^[5],Ⅱ型 6 例,Ⅲa 型 9 例、Ⅲb 型 13 例。全组患者中 26 例出现上腹不适,其中 23 例已经出现黄疸,血清总胆红素 93.5~651.0 mmol/L。消化道肿瘤标志物 CA19-9 及癌胚抗原 CEA 均有不同程度升高。全部病例经临床表现结合实验室检查和影像学检查明确诊断。患者入选标准:(1)血清总胆红素小于 180 mmol/L;(2)血清总胆红素大于或等于 180 mmol/L,先行肝胆管引流术(PTCD)或经皮经肝内支架或内镜逆行胰胆管造影术(ERCP)支架引流;(3)肝功 Child-Pugh 分级 A 级或 B 级。对照组为 28 例健康献血者。

1.2 治疗设备 使用重庆海扶技术有限公司生产的 JC 型聚焦超声肿瘤治疗设备,治疗头参数:频率 0.85 MHz,焦域横径 1.3 mm,焦域长径 9.8 mm,治疗深度 20~140 mm,焦距 140 mm,治疗功率 200~400 W。

1.3 CIK 细胞治疗 联合治疗后 2 周采集联合组患者外周静脉血 200 mL,生理盐水等体积稀释后以 2:1 体积比缓慢加入分离试管,室温下 2 000 r/min 离心 15 min,取出单核细胞层放入专用培养液中,在 37℃,5%CO₂ 培养箱中培养 2 h 后,吸出悬浮细胞,用专用培养液配置为 1×10⁶/mL,加入 CIK 培养液,在 37℃,5%CO₂ 条件的细胞培养袋中培养。每 3 天补加新鲜 CIK 培养液,在 9~12 d 分 4 次回输给联合组患者,每位患者行 CIK 治疗 2 个周期^[6]。

1.4 临床相关免疫指标的检测 于治疗前和治疗后 2 周采血, T 淋巴细胞亚群采用微量全血直接免疫荧光法,在相同时间通过流式细胞仪检测。T 淋巴细胞核仁形成区嗜银蛋白(AgNORs)采用银染技术,通过 KL-Ⅱ免疫图像分析系统测定表达活性。NK 细胞百分率采用 LDH 释放法,计算公式为: NK 细胞百分率(%)×100%=(试验孔 A 值-自发释放孔 A 值)/(最大释放孔 A 值-A 释放孔 A 值)×100%。血清 sIL-2R 的测定采用双抗体夹心 ELISA 法。

* 基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2011CB707902)。

1.5 统计学处理 所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS11.0 版统计软件进行分析,行多样本的方差分析及 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 治疗前后 T 细胞亚群及 sIL-2R 水平的变化 联合治疗

全组患者治疗前 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺, CD4⁺, CD56⁺ 水平明显低于对照组($P < 0.05$),治疗后 2 周上述临床免疫指标较治疗前明显提高,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 sIL-2R 治疗前水平明显高于对照组($P < 0.05$),治疗后 2 周较治疗前下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 HIFU 联合 CIK 治疗前、后 2 周临床免疫指标的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD56 ⁺ (%)	sIL-2R(kU/L)
对照组	28	71.20±4.60	58.18±2.16	5.39±2.83	116.08±14.15
实验组	治疗前	42.15±3.40*	39.26±3.44*	3.46±2.25*	348.24±27.32*
	治疗后 2 周	60.15±3.70**	53.21±3.20**	4.45±2.36**	223.26±18.17**

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与治疗前比较,** $P < 0.05$ 。

2.2 治疗前后外周血 NK 细胞百分率及 AgNORs 水平的变化 联合治疗前 NK 细胞百分率及 AgNORs 水平明显低于对照组($P < 0.05$),治疗后 2 周上述临床免疫指标较治疗前明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 治疗前、后 2 周外周血 NK 细胞百分率及 AgNORs 水平的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	NK 细胞百分率(%)	AgNORs(个/核)
对照组	28	38.53±8.26	5.63±2.25
实验组	治疗前	17.25±4.18*	4.18±2.85*
	治疗后 2 周	26.12±7.16**	4.94±2.35**

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与治疗前比较,** $P < 0.05$ 。

3 讨 论

肝门部胆管癌由于病变部位高,解剖部位特殊,其易向肝内及十二指肠韧带蔓延、浸润;由于缺乏特异性临床表现,起病隐匿,其早期诊断困难;由于病程进展迅速,免疫功能低下,手术风险大、预后差,其病死率高^[7-8]。由于手术根治性治疗受到极大限制,不得不寻求新的方法提高肝门部胆管癌的根治性切除率,改善其预后。HIFU 技术是 90 年代进入临床的一种局部无创治疗实体肿瘤的新手段,临床应用结果显示,HIFU 从体外将低能量超声聚焦于体内肿瘤靶区,安全有效地定向于凝固性坏死肿瘤组织^[9]。CIK 是人外周血单核细胞在体外经过细胞因子刺激后获得的异质细胞,兼有 T 细胞的细胞毒作用和 NK 细胞的非特异杀伤活性,表型标志主要是 CD3⁺ 和 CD56⁺,具有增殖快、杀瘤谱广的特点^[10]。将 HIFU 技术联合 CIK 疗法,在无创性根治切除肿瘤灶的基础上,进一步通过免疫增强提高机体的抗肿瘤能力,从而有效达到改善预后、延长生存期的目的。

本研究结果表明,经 HIFU 联合 CIK 治疗后,患者外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD56⁺、NK 细胞百分率及 AgNORs 水平较治疗前明显升高($P < 0.05$),而 sIL-2R 水平则较治疗前明显降低($P < 0.05$),提示这种联合治疗方式可以通过有效的免疫激活作用改善机体免疫功能,从而进一步消灭体内潜存的肿瘤细胞,抑制肿瘤生长,降低复发和转移机会,提高生存率,改善预后。这种联合治疗模式为肝门部胆管癌患者提供了新选择。由于病例较少、观察时间尚短,还需进一步积累和深入研究。

参考文献

[1] 肖治宇,叶华,陈汝福,等.肝门部胆管癌的外科治疗与预后[J].重庆医学,2005,34(7):1046-1048.

[2] Chang KY,Chang JY,Yen Y. Increasing incidence of intrahepatic cholangiocarcinoma and its relationship to chronic viral hepatitis[J]. J Natl Compr Canc Netw,2009,7(14):423-427.

[3] Yeh CN,Jan YY,Yeh TS,et al. Hepatic resection of the intraductal papillary type of peripheral cholangiocarcinoma[J]. Ann Surg Oncol,2004,11(6):606-611.

[4] Wu F,Wang ZB,Zhu H,et al. Feasibility of US-guided high intensity focused ultrasound treatment in patients with advanced pancreatic cancer:initial experience[J]. Radiology,2005,236(3):1034-1040.

[5] Bismuthn H,Castaing D,Traynor O. Resection or palliation:priority of surgery in the treatment of hilar cancer[J]. World J Surg,1988,12(1):39-47.

[6] Hui D,Qiang L,Jian W,et al. A randomized,controlled trial of postoperative adjuvant cytokine induced killer cells immunotherapy after radical resection of hepatoeellular carcinoma[J]. Dig liver Dis,2009,41(1):36-41.

[7] Alan W,Alan I,Fujita S,et al. Surgical management of hilar cholangiocarcinoma[J]. Ann Surg,2005,241(5):693-702.

[8] Abdel M,Fathy D,Elghwalby N,et al. Resectability and prognostic factors after resection of hilar cholangiocarcinoma[J]. Hepatogastroenterology,2006,53(67):5-10.

[9] 伍烽,陈文直,白晋,等.高强度聚焦超声治疗原发性肝癌的初步临床研究[J].中华超声影像学杂志,1999,8(4):213-216.

[10] 钟国成,敬新蓉,李莉,等.负载自体肿瘤的树突状细胞联合细胞因子诱导的杀伤细胞在乳腺癌的临床研究[J].泸州医学院学报,2008,31(2):130-135.

(收稿日期:2012-02-11)