

- (J). *Cancer Res Ther*, 2005; 1: 142-6.
- 9 徐 靖, 夏云飞. 头颈部肿瘤放射治疗后甲状腺功能减退的研究进展 (J). *中华肿瘤防治杂志* 2006; 13(13): 1026-30.
- 10 殷蔚伯. *肿瘤放射治疗学* (M). 第 4 版. 北京: 中国协和医科大学出版社 2007: 1347-8.
- 11 Jereczek-Fossa BA, Alterio D, Jassem J, et al. Radiotherapy induced thyroid disorders (J). *Cancer Treat Rev*, 2004; 30: 369-84. (2013-01-15 收稿 2013-04-18 修回)
- (编辑 徐 杰)

射频消融对原发性肝癌患者外周血 T 细胞亚群及 NK 细胞变化的影响

杨 闯 张永川 李华国 古广强 万 祎 刘文平 杨济明¹

(绵阳市第三人民医院肝胆外科, 四川 绵阳 621000)

【摘要】 目的 探讨射频消融(RFA)对原发性肝癌患者外周血 T 细胞亚群及自然杀伤(NK)细胞的影响。方法 回顾性分析接受 RFA 治疗的 45 例原发性肝癌患者的临床资料,同时随机抽选 31 例健康体检者为对照组,采用流式细胞仪检测 RFA 组治疗前后及对照组外周血 T 细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、细胞毒性淋巴细胞(CTL))及 NK 细胞水平的变化。结果 45 例原发性肝癌患者全部完成 RFA 治疗,随访 3~10 个月,30 例(66.67%)无瘤生存,15 例(33.33%)术后 3 个月相继出现肝内新发病灶,患者肝区疼痛、腹胀、食欲、精神等自觉症状明显改善;治疗前 RFA 组 CD3⁺、CD4⁺、CTL 及 NK 细胞水平,CD4⁺/CD8⁺ 比值(61.5 ± 12.5、32.9 ± 10.9、10.2 ± 6.5、1.4 ± 0.6、4.6 ± 2.1)均显著低于健康对照组,CD8⁺ T 细胞水平(27.6 ± 6.3)高于对照组($P < 0.05$);治疗后 1、2 w RFA 组 CD3⁺、CD4⁺、CTL、NK 细胞水平,CD4⁺/CD8⁺ 比值(72.3 ± 10.8、39.6 ± 11.6、15.2 ± 6.1、1.7 ± 0.7、10.9 ± 5.2、73.3 ± 11.6、39.0 ± 12.1、13.8 ± 6.6、1.8 ± 0.5、12.1 ± 5.7)均明显高于治疗前,CD8⁺ T 细胞水平(22.5 ± 6.1、22.0 ± 5.8)明显低于治疗前($P < 0.05$);治疗 1 w 与治疗 2 w 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 RFA 治疗可以通过调节原发性肝癌患者的 T 细胞亚群水平,升高 NK 细胞而改善患者的免疫抑制状态。

【关键词】 原发性肝癌;射频消融;T 细胞亚群;自然杀伤细胞;免疫抑制

【中图分类号】 R735.7 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9202(2014)16-4489-02; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2014.16.035

彻底清除病灶,减少癌症复发率是临床提高原发性肝癌生存率的关键^[1]。射频消融(RFA)作为近年来治疗原发性肝癌的一项新手段,可以有效消灭影像学上可见的肝内病变,具有疗效肯定、组织损伤小、术后并发症少以及操作简单等优点,被认为是目前临床上非手术方法治疗肝癌最具潜力的手段之一,临床应用日益广泛^[2]。本研究回顾性分析接受 RFA 治疗的原发性肝癌患者的临床资料,观察其治疗前后外周血 T 细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CTL)及自然杀伤(NK)细胞水平的变化。

1 资料和方法

1.1 临床资料 抽选 2010 年 4 月至 2013 年 5 月在我院和重庆医科大学附属第一医院行 RFA 治疗的 45 例原发性肝癌患者,诊断均符合 2001 年全国肝癌学术会议通过的关于原发性肝癌的诊断以及临床分期标准^[3],经影像学检查、甲胎蛋白(AFP)或者是肝组织活检进行确诊。其中乙肝病毒表面抗原(HBsAg)阳性 43 例,阴性 2 例;合并有肝硬化 44 例;癌症病灶共 49 个,直径 2.0~5.0 cm,肝功能 child 分级: A 级 40 例、B 级 5 例。随机抽选 31 例健康体检者为对照组;其中男 20 例,女 11 例,年龄 61~85 (平均(71.38 ± 8.16))岁。RFA 组:男 25 例,女 20 例,年龄 25~62 (平均(50.15 ± 8.22))岁。两组性别、年

龄比较差异无显著性($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 RFA 治疗方法 根据患者病变部位分别采取仰卧位或者是俯卧位,在 B 超引导下向癌症病灶内插入针形电极,根据病灶大小将内针张开至合适直径。采用上海迈德 S-1500 射频治疗仪及配套消融射频针,将开始输出功率设置为 50 W,第 3 min 后增加 10 W/min,直至 90 W 最大功率停止,对主病灶及形状不规则的子病灶予以多靶区减瘤治疗,形状规则的子病灶予以单靶区治疗,射频范围超过癌症病灶延伸至正常组织约 1.0 cm。术后采用 CT 检查是否存在病灶残余,如有则需在 2~3 w 内重复 RFA 治疗。

1.2.2 检测方法 T 细胞亚群以及 NK 细胞采用流式细胞术(FCM)全血免疫荧光法进行检测,流式细胞计数仪选择采用美国贝克曼公司 XL/XL-MCL 型,鼠抗人 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、细胞毒性淋巴细胞(CTL)及 NK 细胞均由美国 Beckman-Coulter 公司提供,RFA 组患者在治疗前以及治疗 1~2 w 后抽外周血 2 ml 进行检测,监控对照组采 1 次外周血进行同样检测。

1.3 统计学方法 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 RFA 治疗效果 45 例原发性肝癌患者全部完成 RFA 治疗,共 57 次。随访 3~10 个月,平均(5.45 ± 1.02)个月,其中 30 例(66.67%)无瘤生存,15 例(33.33%)术后 3 个月相继出现肝内新发病灶,12 例进行 2 次 RFA 治疗。治疗过程中患者均伴有明显出汗、肝区腹痛感,但均可耐受。其中 4 例出现呕吐,

基金项目:绵阳市卫生局科研课题(201231)

¹ 重庆医科大学附属第一医院肝胆科

第一作者:杨 闯(1973-),男,副主任医师,主要从事胆道疾病及肝胆肿瘤研究。

10 例患者体温升高(>38.50℃),对症治疗后均恢复。治疗后患者肝区疼痛、腹胀、食欲、精神等自觉症状明显改善。

2.2 治疗前对照组与治疗组 T 细胞亚群及 NK 细胞水平比较

治疗前 RFA 组患者 CD3⁺、CD4⁺、CTL、NK、CD4⁺/CD8⁺ 比值均显著低于健康对照组,CD8⁺T 细胞水平高于对照组(P<0.01),见表 1。

表 1 RFA 组与对照组治疗前 T 细胞亚群及 NK 细胞变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CTL	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	NK 细胞
对照组	31	75.6 ± 11.9	40.6 ± 11.3	20.3 ± 6.7	22.8 ± 6.5	1.9 ± 0.5	16.5 ± 8.1
RFA 治疗前	45	61.5 ± 12.5	32.9 ± 10.9	10.2 ± 6.5	27.6 ± 6.3	1.4 ± 0.6	4.6 ± 2.1
t/P 值		4.927 / <0.05	2.982 / <0.05	6.574 / <0.05	3.2222 / <0.05	3.814 / <0.05	9.431 / <0.01

表 2 RFA 组治疗前后 T 细胞亚群及 NK 细胞变化比较($\bar{x} \pm s$ n=45)

组别	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CTL	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	NK 细胞
RFA 组治疗前	61.5 ± 12.5 ¹⁾²⁾	32.9 ± 10.9 ¹⁾²⁾	10.2 ± 6.5 ¹⁾²⁾	27.6 ± 6.3 ¹⁾²⁾	1.4 ± 0.6 ¹⁾²⁾	4.6 ± 2.1 ¹⁾²⁾
治疗 1 w	72.3 ± 10.8 ²⁾	39.6 ± 11.6 ²⁾	15.2 ± 6.1 ²⁾	22.5 ± 6.1 ²⁾	1.7 ± 0.7 ²⁾	10.9 ± 5.2 ²⁾
治疗 2 w	73.3 ± 11.6 ¹⁾	39.0 ± 12.1 ¹⁾	13.8 ± 6.6 ¹⁾	22.0 ± 5.8 ¹⁾	1.8 ± 0.5 ¹⁾	12.1 ± 5.7 ¹⁾

与治疗 1 w 比较:1) P<0.05; 与治疗 2 w 比较:2) P<0.05

3 讨论

机体抗肿瘤免疫反应主要以细胞免疫为主,T 细胞亚群以及 NK 细胞在肿瘤免疫监视中起着中心调控的作用,是重要的抗肿瘤免疫应答细胞。有研究发现^[4],患者 AFP 与 CD4⁺/CD8⁺ 比值、CD4⁺ 以及 NK 细胞呈负相关性,与 CD8⁺ 呈正相关;肝癌患者外周血 CD8⁺T 细胞百分率升高,而 CTL 细胞百分率下降。机体免疫尤其细胞免疫的下降是原发性肝癌发生、转移或者是复发的重要原因^[5]。

T 淋巴细胞中以 CD4⁺ 数量最多,主要分泌白介素(IL-2)和 γ-干扰素(INF-γ),并与 NK 细胞有着密切的协同功能,具有重要的肿瘤防御作用。CD8⁺T 细胞的作用和 CD4⁺ 细胞作用相反,对 CD4⁺ 细胞和 NK 等杀伤细胞具有显著的抑制作用,并降低 IL-2 和 INF-γ^[6]。T 细胞亚群中 CD4⁺、CD8⁺ 细胞在机体正常情况下处于相对稳定的平衡状态,机体免疫功能得以维持。而癌症病人这一比例失去失衡,因此 CD4⁺/CD8⁺ 比值发生改变^[7]。本研究结果提示,原发性肝癌患者治疗前存在明显的细胞免疫功能抑制,大大削弱了机体抗肿瘤能力。

近年来,RFA 治疗肝癌已得到了临床的广泛认可,成为继手术切除治疗或者是介入治疗后的第三大新型肝癌治疗方法,特别是小肝癌治疗,被认为是其有效的根治性治疗手段之一^[8]。RFA 治疗原发性肝癌是通过向癌症病灶内置入高频电磁场电极,电磁波振荡导致离子碰撞产生热效应,并且向周围组织传导,温度可高达 80℃~100℃,使组织迅速凝固坏死^[9]。RFA 对癌症病人免疫激活的作用机制可考虑如下:(1)肿瘤细胞被 RFA 杀死后,组织凝固坏死,使肿瘤细胞的负荷明显减少,大大降低了免疫抑制因子的产生,最终改善免疫功能^[10];(2)肿瘤细胞坏死后产生的分解产物可刺激机体,抗肿瘤的免疫应答产生^[9];(3)肿瘤细胞 RFA 加热后能合成对机体的免疫系统有刺激作用的热休克蛋白(HSP),提高机体免疫^[11]。本研究表明 RFA 治疗后显著改善了机体细胞免疫功能,提高了机体抗肿瘤

2.3 FRA 组治疗前后 T 细胞亚群及 NK 细胞变化比较 治疗 1、2 w 后,CD3⁺、CD4⁺、CTL、NK 细胞水平、CD4⁺/CD8⁺ 比值明显高于治疗前,CD8⁺T 细胞水平明显低于治疗前(P<0.05);治疗 2 w 患者 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CTL、NK 细胞水平、CD4⁺/CD8⁺ 比值与治疗 1 w 时比较均无显著变化(P>0.05)。见表 2。

瘤免疫力。

综上,RFA 治疗可以通过调节原发性肝癌患者的 T 细胞亚群水平,升高 NK 细胞而改善患者的免疫抑制状态。

4 参考文献

- 1 涂康生,胡会社,刘青光,等.复方氨基酸注射液对肝癌患者术后恢复功能的影响[J].实用肝脏病杂志 2010;13(5):378-9.
- 2 薛平,郑超,曹良启,等.超声联合腹腔镜射频消融术对肝癌患者免疫功能的影响[J].临床医学工程 2012;19(10):1637-40.
- 3 邱少敏,彭鹏,宋玉华,等.肝癌患者血清趋化因子配体 18 的检测及其意义[J].现代生物医学进展 2012;12(22):4275-6,4280.
- 4 朱玲燕,周嘉,刘彦章,等.自然杀伤细胞在原发性肝癌细胞肝癌中的浸润及其与预后的关系[J].癌症 2009;28(11):1198-202.
- 5 Roon TP. Prevention of recurrence after resection of hepatocellular carcinoma: A daunting challenge[J]. Hepatology 2011;54(3):757-9.
- 6 于波洋,于雷,周洁宏.超声造影在肝癌射频消融术中的应用价值[J].中国老年学杂志 2013;33(5):1196-7.
- 7 宋丁,王燕云.CD8⁺CD28⁺T 细胞在原发性肝癌患者外周血的表达及意义[J].中国实验诊断学 2009;13(4):493-4.
- 8 邹茵,周志华,陆方阳,等.肝动脉栓塞化疗+冷极射频消融+无水乙醇化学消融治疗原发性肝癌的疗效[J].中国老年学杂志,2013;33(23):6027-8.
- 9 Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, et al. Natural innate and adaptive immunity to cancer[J]. Ann Rev Immunol 2011;12(29):235-71.
- 10 Kudo M. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: updated review in 2010[J]. Oncology 2010;78(1):113-24.
- 11 Kondo Y, Yoshida H, Tateishi R, et al. Percutaneous radiofrequency ablation of liver cancer in the hepatic dome using the intrapleural fluid infusion technique[J]. Br J Surg 2008;95(8):996-1004.

(2013-06-13 收稿 2013-10-10 修回)

(编辑 袁左鸣)