文章编号:1000-5404(2014)23-2389-06

论著

组蛋白去乙酰化酶抑制剂在胰腺癌细胞免疫治疗中的意义

胡 鹏,张雷达 (400038 重庆,第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所)

[摘要] **目的** 研究组蛋白去乙酰化酶(histone-deacetylase,HDAC)抑制剂增强细胞免疫疗法治疗胰腺癌的机制和意义。**方法** 将PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1胰腺癌细胞株分别设定不加药物组,HDAC抑制剂[曲古抑菌素A(TSA)]加药组。使用流式细胞计数、免疫荧光染色计数、Western blot分别测定两组胰腺癌细胞株的模型MICA/B表达。测定不同浓度、不同作用时间TSA对3种胰腺癌细胞株MICA/B表达的影响。找到TSA调高胰腺癌细胞株MICA/B表达的最佳浓度为200 nmol/L,最佳作用时间为24 h。乳酸脱氢酶释放计量法测定CIK细胞:肿瘤细胞=10:1的情况下CIK细胞对两组胰腺癌细胞株的杀伤率。双变量相关性分析CIK细胞对胰腺癌细胞株杀伤率与胰腺癌细胞株MICA/B的表达的关系。**结果** 流式细胞仪检测的PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1的MICA/B表达率分别为2.2%、61.2%、31.2%。200 nmol/L TSA处理24 h后,表达率分别为13.8%、86.6%、76.1%($P<0.01$)。免疫荧光染色显示TSA处理后的细胞染色明显增强;Western blot检测TSA处理后的胰腺癌细胞株MICA/B膜型蛋白表达增强。在CIK细胞:肿瘤细胞=10:1的情况下,CIK细胞对PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1的杀伤率分别为7.66%、12.03%、12.15%。200 nmol/L TSA处理24 h后,CIK对以上3种细胞的杀伤率为24.32%、58.63%、49.25%($P<0.01$)。CIK细胞对PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1细胞的杀伤率与细胞表面膜型MICA/B的表达的相关性系数分别为0.959、0.964、0.972($P<0.01$)。表明与CIK细胞对胰腺癌细胞株的杀伤率与胰腺癌细胞株的细胞表面膜型MICA/B的表达呈正相关。**结论** HDAC抑制剂通过调高胰腺癌细胞株的MICA/B表达来增强CIK细胞对胰腺癌细胞株的杀伤,从而提高胰腺癌细胞免疫治疗的效果。

[关键词] 组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂;胰腺癌;生物治疗;CIK;MICA/B
[中图法分类号] R73-361; R730.51; R735.9 [文献标志码] A

Significance of histone deacetylase inhibitor in cellular immunotherapy of pancreatic cancer *in vitro*

Hu Peng, Zhang Leida (Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the mechanisms and significance of the histone deacetylase (HDAC) inhibitor in the enhancement of cellular immunotherapeutic efficiency for pancreatic cancer. **Methods** Pancreatic cancer cell lines PANC-1, BXPC-3 and CFPAC-1 were respectively treated with HDAC inhibitor, trichostatin A (TSA) at 50, 100, 200 and 400 μmol/L for 24 h. The cells without any treatment served as normal control. The expression of membrane type MICA/B was measured in above cells with flow cytometry, immunofluorescence staining and Western blotting. Then the cells were treated by the optimal concentration of 200 μmol/L TSA for 12, 24, 36 and 48 h to screen out the best treatment duration. When the dose of TSA was 200 nmol/L and treatment duration was 24 h, the expression of MICA/B was the highest. When the ratio of cytokine-induced killer (CIK) cells to the pancreatic cancer cells was 10:1, the killing rate of CIK cells for the cells treated with TSA or not was measured by LDH release assay. Bivariate correlation analysis was used to study the relationship of killing rate of CIK cells and MICA/B expression. **Results** Flow cytometry showed that the expression rate of MICA/B was 2.2%, 61.2% and 31.2% in PANC-1, BXPC-3 and CFPAC-1 cells respectively. However, after the cells were treated by 200 nmol/L TSA for 24 h, the rate was 13.8%, 86.6% and 76.1%, respectively, significantly higher than in the cells without treatment ($P<0.01$). Moreover, immunofluorescence staining indicated that the cells were more strongly stained, and Western blotting found the the membrane protein MICA/B expression was enhanced in the pancreatic cancer cell lines after TSA treatment. With the ratio of 10:1, the killing rate of CIK cells was 7.66%, 12.03% and 12.15% respectively for PANC-1, BXPC-3 and CFPAC-1 cells, and the rates were 24.32%, 58.63% and 49.25% respectively for the cells treated with 200 nmol/L TSA for 24 h ($P<0.01$). The correlation coefficient were 0.959, 0.964, 0.972 respectively for the killing rates of CIK cells to PANC-1, BXPC-3, CFPAC-1 cells and the expression of MICA/B

[通信作者] 张雷达,电话:(023)68773083,E-mail:pengboyfei@msn.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141106.1108.005.html (2014-11-06)

($P<0.01$), indicating a positive correlation between the killing rates and the expression levels. **Conclusion** HDAC inhibitor can enhance CIK cells' killing effect through increasing the MICA/B expression in pancreatic cancer cell lines, and thus improve the effect the cellular immunotherapy for pancreatic cancer.

[**Key words**] histone deacetylase inhibitor; pancreatic cancer; cellular immunotherapy; cytokine-induced killer; MICA/B

Corresponding author: Zhang Leida, E-mail: pengboyfei@msn.com

研究表明,在胰腺癌的进展过程中,MICA/B-NKG2D介导的免疫监视障碍起到了重要的推动作用。具体来说,胰腺癌细胞MICA/B表达的降低是其免疫逃逸的主要机制之一[1],而MICA/B表达的降低主要体现在细胞膜MICA/B的减少,而细胞质内游离MICA/B的增多[2]。因此,调高胰腺癌细胞膜表面MICA/B的表达,从而恢复并增强MICA/B-NKG2D介导的免疫应答,成为了胰腺癌细胞免疫治疗的重要理论依据。文献[3]报道:组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂可有效调高肿瘤细胞MICA/B的表达。

作为胰腺癌的综合治疗手段之一的细胞免疫生物治疗,因为该治疗不良反应极小,且与手术等其他治疗协同效果良好,所以渐渐进入了大家的视野[4-6]。CIK细胞(cytokine-induced killer cell)被认为是新一代过继免疫治疗方案,是目前细胞免疫研究的热点[7]。研究证实细胞免疫治疗杀伤肿瘤细胞的最重要攻击靶点就是MICA/B-NKG2D介导的免疫应答[8-10]。但是,由于胰腺癌细胞MICA/B表达的降低,细胞免疫治疗对于胰腺癌细胞的识别率较低,在接近人体治疗环境的CIK细胞——肿瘤细胞为10∶1、20∶1的情况下,CIK细胞对胰腺癌细胞的杀伤率有限。导致CIK细胞免疫治疗在胰腺癌中的应用却受到了一定的限制[11]。所以能否通过HDAC抑制剂的代表药物TSA调节MICA/B的表达,进而增强CIK细胞免疫治疗的效果;以及通过调节免疫功能,增加人体自身抗肿瘤的能力,为胰腺癌的生物治疗提供新的思路及理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂及主要仪器

PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1细胞株;DMEM培养基(Gibico公司);1640培养基(Gibico公司);兔MICA抗体(SIGMA公司,1抗);Anti-Rabbit IgG(SIGMA公司,2抗)胎牛血清(Gibico公司);PBS溶液;TSA(美国Cayman公司)、鼠抗人CD3单抗(OKT3)(德国美天旎公司)、INF-γ(1000 U/mL)(美国Perprotech公司)、IL-1(美国Perprotech公司)、重组人IL-2(美国Perprotech公司)、37 ℃恒温水浴箱、离心管(15 mL/支,Coming 430790);离心机(JI-0412-I);细胞培养瓶(25 cm^2,corning);CO_2培养箱(Heal Force公司,HF90);6孔板;相差显微镜;多功能酶标仪(Thermo Varioskan Flash)、96孔板,流式细胞仪等(BD FACSAria Ⅱ)、Cytotoxiciyt Detection Kit Plus试剂盒(LDH)(罗氏公司)等。

1.2 胰腺癌细胞培养

细胞培养:人胰腺癌PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1细胞采用含10^5 U/L青霉素、10%胎牛血清、0.1 g/L链霉素等双抗的DMEM培养液,于5% CO_2、饱和湿度37 ℃恒温条件下培养。

1.3 CIK细胞的制备

采集健康志愿者外周血,经Ficoll分离液密度梯度离心获取外周血单个核细胞(PBMC)。用1640培养基调整其密度为2×10^6/mL,培养2 h后取出未贴壁的悬浮细胞。200×g离心后,用含INF-γ(1 000 U/mL),0.6%自体血清的培养基重新悬浮至密度为3×10^6/mL,置于37 ℃ 5% CO_2培养箱中培养24 h。向培养基中加入50 ng/mL的1 000 U/mL的重组人IL-1,鼠抗人CD^3单抗(OKT3),500 U/mL重组人IL-2,2 d更换含0.6%自体血清、500 U/mL重组人IL-2的培养液1次,连续培养14 d。

1.4 TSA调控胰腺癌细胞MICA/B表达的测定

将细胞铺于6孔板中,每孔细胞浓度约为5×10^5/mL;分别设定不加药物组,TSA 24 h组(浓度为50、100、200、400 μmol/L);每组2孔。孵育24 h后,清除培养液(TSA)。TSA 200 μmol/L组,孵育为12、24、36、48 h后,清除培养液(TSA)。

1.4.1 流式细胞仪进行细胞水平测定 PBS洗涤后加入1 mL胰酶进行消化,5 min后用1 mL完全培养基终止消化并充分吹打以悬浮细胞,将细胞浓度调整为1×10^6/mL后,分别加入5 μL PE标记的MICA/B单克隆抗体,4 ℃冰箱中孵育30 min后,200×g离心、洗涤、重悬。用流式细胞仪分析加入抗体的阳性细胞数,计算百分比。找到TSA调高胰腺癌细胞株MICA/B表达的最佳浓度为200 μmol/L;最佳时间为24 h。后续实验使用最佳浓度,时间。

1.4.2 免疫荧光进行染色测定 多聚甲醛固定细胞10 min,PBS清洗后,加入1抗,室温孵育1 h。PBS清洗,加入2抗,室温孵育45 min。PBS清洗。加入0.5 μg/μL DAPI染色10 min,PBS清洗。加入20 μL封片剂封片于4 ℃冰箱中存放2周以上。显微镜观察照片。

1.4.3 Western blot测定 TSA作用24 h后,弃培养基,PBS清洗,转移至EP管,室温200×g离心10 min后,加入100 μL RIPA裂解液,混匀后置于0 ℃ 30 min,煮沸10 min,4 ℃,2 600×g离心20 min。-20 ℃保存。按照试剂盒说明,制作10%分离胶,加样。每种样品点蛋白总量为20 μg,电泳。120 V转膜2 h,4 ℃过夜。加1抗,PBS清洗,加2抗,PBS清洗,DAB显色5 min后进行数据分析。

1.5 TSA增敏CIK杀伤分组及CIK细胞对胰腺癌细胞杀伤率的测定

采用已公认的测定CIK杀伤率的研究法-乳酸脱氢酶释放计量法进行测定。观察贴近临床实际效用浓度的CIK细胞∶肿瘤细胞=10∶1的情况下,TSA处理组与对照组CIK细胞对胰腺癌细胞株的杀伤率。实验分组:CIK杀伤组(normal组):MICA/B单抗标记后,流式细胞仪测定细胞的MICA的表达;使用乳酸脱氢酶法测定CIK对细胞的杀伤率。TSA处理后CIK杀伤组:测定MICA的方式、培养环境均同前组。测定经TSA处理后细胞MICA表达及CIK对细胞的杀伤率,TSA浓度为200 nmol/L,24 h后去除药物,将TSA洗涤去除后进行测定。

1.6 统计学分析

采用SPSS 13.0软件进行统计学分析。每组实验均重复

3 次,取平均值后,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。CIK 对胰腺癌细胞株的杀伤率与胰腺癌细胞株 MICA/B 采用双变量相关性分析。MICA/B 及杀伤率的分析方法采用单因素方差分析。

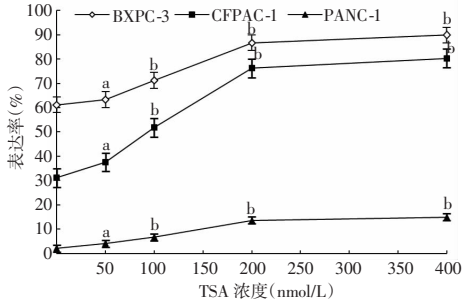
2 结果

2.1 组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂(TSA)调高胰腺癌细胞株 MICA/B 表达的作用

TSA 调高细胞株膜型 MICA/B 的表达有较强的浓度依赖性,时间依赖性。图 1 所示为固定 TSA 作用时间为 24 h,TSA 浓度对胰腺癌细胞株 MICA/B 表达的影响;图 2 所示为固定 TSA 浓度为 200 nmol/L 时,TSA 作用时间对胰腺癌细胞株 MICA/B 表达的影响。结果看到 TSA 对胰腺癌细胞株有较弱的促凋亡作用,当 TSA 浓度达 200 nmol/L 以后,胰腺癌细胞株膜型 MICA/B 表达的调高有减缓趋势;固定 TSA 浓度为 200 nmol/L,TSA 作用时间超过 36 h,胰腺癌细胞株膜型 MICA/B 表达有所降低。找到 200 nmol/L,作用时间为 24 h 的 TSA 对于胰腺癌细胞株膜型 MICA/B 表达的调高作用最为明显,而高浓度,长时间的 TSA 对胰腺癌细胞株的凋亡作用开始显现。

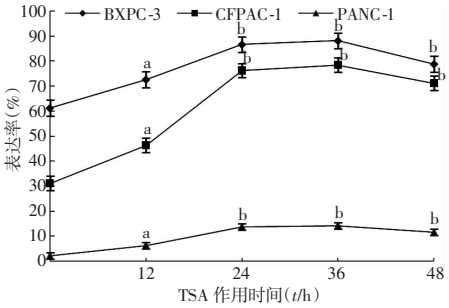
2.2 培养 24 h 的 200 nmol/L TSA 增强胰腺癌细胞株 MICA/B 表达的作用

流式细胞仪检测结果发现空白组 PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1 的 MICA/B 表达率定量分析平均数分别为 2.2%、61.2%、31.2%。200 nmol/L TSA 处理组,表达率分别为 13.8%、86.6%、76.1%(图 3),有统计学差异($P<0.01$)。免疫荧光染色对比了 200 nmol/L TSA 处理 24 h 前后,PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1 细胞株的细胞膜 MICA/B 表达,右侧为 TSA 处理后的细胞染色,明确看到细胞膜型 MICA/B 染色明显增强,说明 MICA/B 表达明显增高(图 4)。Western blot 抗体结合的是膜表达型的 MICA/B 蛋白分子,图像示 200 nmol/L TSA 处理 24 h 后胰腺癌细胞株膜表达型 MICA/B 蛋白呈强阳性(图 5)。



a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 0 nmol/L 比较

图 1 浓度梯度的 TSA 作用 24 h 对胰腺癌细胞株 MICA/B 表达的影响



a:$P<0.05$;b:$P<0.01$,与 0 h 比较

图 2 200 nmol/L 浓度的 TSA 作用时间对胰腺癌细胞株 MICA/B 表达的影响

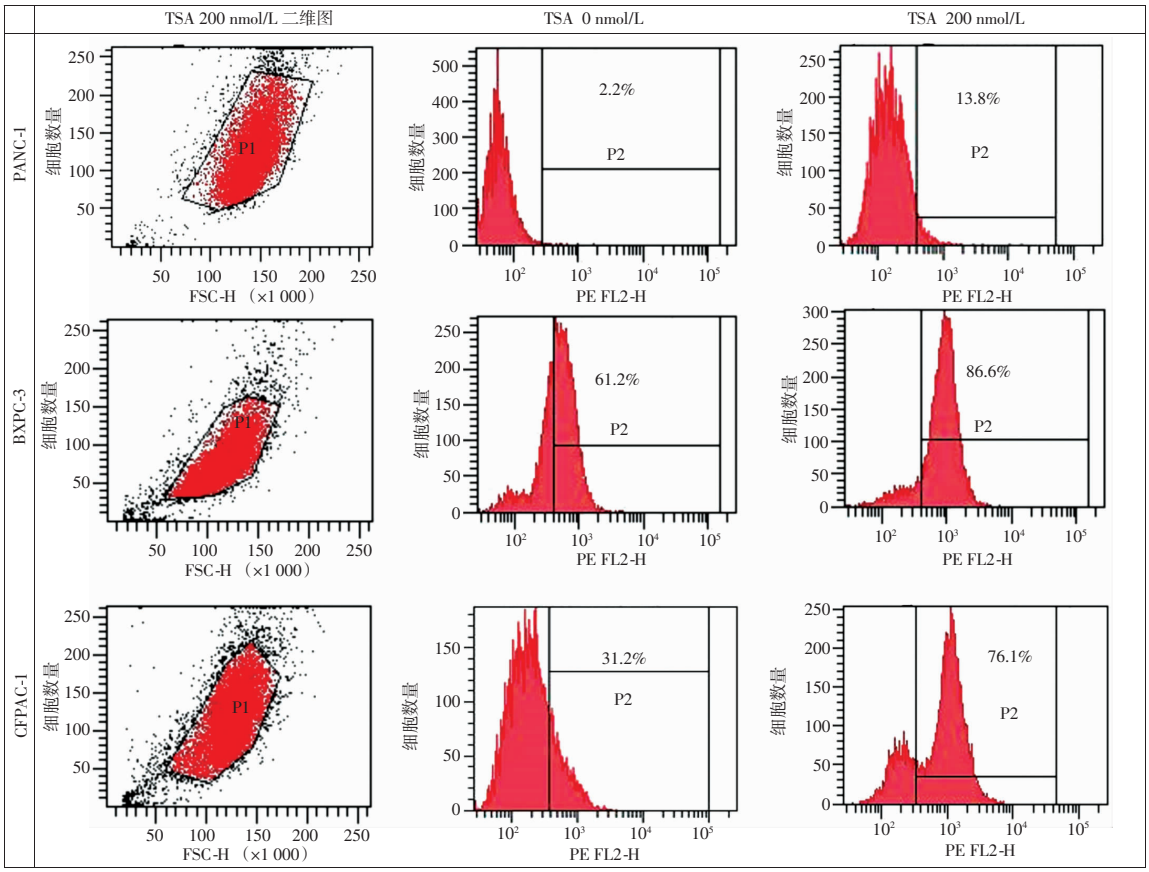


图 3 流式细胞仪检测 TSA 200 nmol/L、作用 24 h 前后 PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1 3 种胰腺癌细胞株的 MICA/B 表达

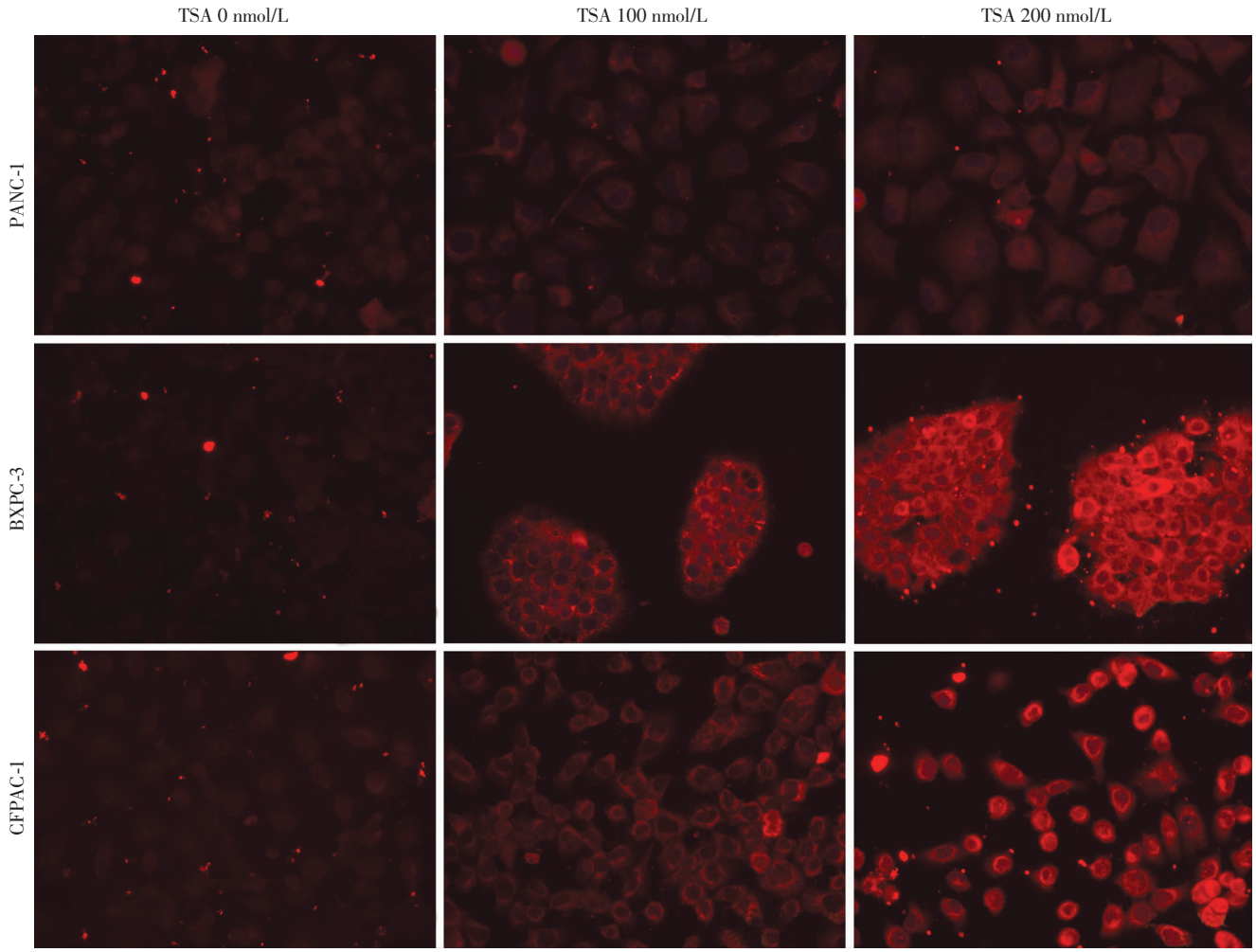


图 4　对比 TSA 处理 24 h 后 3 种胰腺癌细胞株膜型 MICA/B 抗体标注的形态学变化　（免疫荧光显微镜　×100）

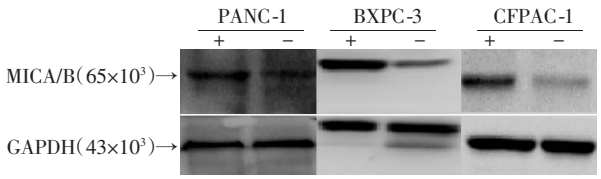


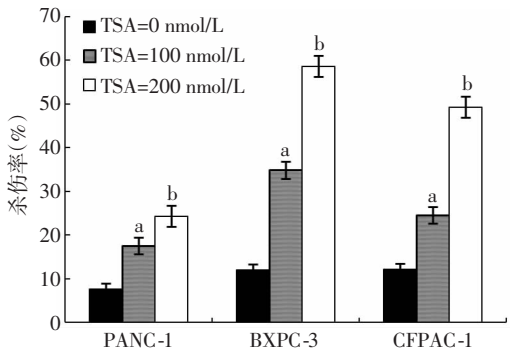
图 5　Western blot 检测 200 nmol/L、0 nmol/L TSA 处理 24 h 后 3 种胰腺癌细胞株膜表达型 MICA/B 蛋白表达

2.3　TSA 增敏 CIK 细胞对胰腺癌细胞杀伤率的作用

在接近临床实际治疗环境的 CIK 细胞∶肿瘤细胞 = 10∶1 的情况下∶CIK 细胞对 TSA（100 nmol/L、200 nmol/L）处理 24 h 后的 PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1 杀伤率明显增高（图 6，$P < 0.01$）。

2.4　细胞 MICA/B 的表达与 CIK 杀伤率的相关性分析结果

双变量相关性分析结果显示，CIK 细胞对 PANC-1、BXPC-3、CFPAC-1 细胞的杀伤率与细胞表面膜型 MICA/B 表达的相关性系数分别为 0.959、0.964、0.972（$P < 0.01$）。表明 CIK 细胞对胰腺癌细胞株的杀伤率与胰腺癌细胞株的细胞表面膜型 MICA/B 的表达呈正相关。



a：$P < 0.01$，与 0 nmol/L 比较；b：$P < 0.01$，与 100 nmol/L 比较

图 6　CIK 细胞对经 TSA 处理 24 h 胰腺癌细胞株的杀伤率对比（$n = 3$，$\bar{x} \pm s$）

3　讨论

目前临床治疗胰腺癌的常规方法包括手术、化疗和放疗，但因上述 3 种治疗方法特异性较差，在杀伤肿瘤细胞的同时也对正常细胞和组织造成不同程度损伤，导致机体免疫功能异常或低下，是影响胰腺癌总体

疗效的主要原因之一[12]。最新的回顾性研究显示,美国胰腺癌患者的 5 年生存率仅为 5.4%;在我国,该生存率可能会更低。令人遗憾的是,手术治疗作为治疗胰腺癌最重要的手段,近 5 年来无明显进展,而是仍然采用传统或改良的根治性切除。所以如何采取有效的综合治疗手段,使胰腺癌患者远期获益,是目前胰腺专科医师面临的一大挑战。随着免疫学、生物学、细胞学等基础学科的迅速发展,生物治疗作为新兴的肿瘤治疗方案日益受到人们的关注,因其治疗效果显著,调节机体免疫力能力强、且副作用有限成为了手术治疗、化疗和放疗等传统治疗手段的重要辅助方案。

CIK 细胞是在多种细胞因子共同作用下获得的新型免疫活性细胞,通过回输体外培养的自体细胞治疗恶性肿瘤,相较于传统放疗和化疗,无严重不良反应及后遗症,对于防止癌细胞扩散、残留病灶转移及提高患者自身免疫力具有明显疗效。而使用药物配合 CIK 细胞免疫治疗,也越来越引起人们的关注[13-15]。但我们研究发现(图 6),在贴合临床实际治疗的 CIK 细胞:肿瘤细胞 = 10∶1 的情况下,CIK 细胞对 PANC-1、BXPC-3 及 CFPAC-1 胰腺癌细胞株杀伤率均较低,这成为了限制 CIK 细胞治疗在胰腺癌临床治疗中开展的重要因素。

大量研究表明,MICA/B 与细胞的感染、肿瘤均密切相关。作为 CIK 细胞表面免疫受体 NKG2D 的主要配体之一,MICA/B 可通过与 NKG2D 受体相结合,发挥一系列免疫激活和免疫介导作用,是目前已知的 CIK 细胞杀伤肿瘤细胞的重要作用机制之一[16]。但本研究结果显示(图 6):在一般情况下,PANC-1、BXPC-3 及 CFPAC-1 胰腺癌细胞株的 MICA/B 表达率均较低,进一步证实了 MICA/B 低表达可能是导致胰腺癌细胞"免疫逃逸"的主要原因,也是 CIK 细胞免疫治疗胰腺癌效果欠佳的重要因素。如何诱导胰腺癌细胞 MICA/B 高表达,是增强 CIK 免疫细胞的杀伤活性的关键。临床研究证实,HDAC 抑制剂可有效诱导肿瘤细胞表面 MICA/B 高表达[17-18],促进肿瘤细胞表明的 MICA/B 与 CIK 细胞表面免疫受体 NKG2D 相结合,从而提高 CIK 细胞对肿瘤细胞的杀伤率,这可能成为 CIK 治疗胰腺癌的新思路。TSA 是最早被研究的 HDAC 抑制剂代表药物之一,1975 年,TSA 从 Streptomyces hygroscopicus 菌株的次级代谢产物中被分离出来,化学作用中具有低毒,分子相对简单等特点。文献[19]报道,TSA 对正常细胞影响较小,而对于肿瘤细胞的代谢有一定的影响,有较弱的促凋亡作用。由于 TSA 在体内环境中的稳定性差,所以目前临床应用的是其结构优化物,与 TSA 在功能,作用等方面无明显差别。

本研究结果显示(图 1-5),PANC-1、BXPC-3 及 CFPAC-1 胰腺癌细胞株在经 TSA 处理后,MICA/B 表达率均显著提高,与未经 TSA 刺激组比较差异显著($P<0.01$)。杀伤实验结果显示(图 6),经 TSA 处理后,CIK 细胞:肿瘤细胞 = 10∶1 的情况下,CIK 细胞对 PANC-1、BXPC-3 及 CFPAC-1 胰腺癌细胞株的杀伤率均有提高,最高可达 58.63%,与未经 TSA 处理的胰腺癌细胞株的 CIK 细胞杀伤率比较升高明显($P<0.01$)。提示经 TSA/HDAC 抑制剂处理可显著增强 CIK 细胞对胰腺癌细胞株的杀伤率。而相关性分析结果显示(表 1),胰腺癌细胞株表面 MICA/B 表达与 CIK 细胞杀伤胰腺癌细胞的杀伤率呈明显正相关性,这一结果也与文献所报道的其他肿瘤细胞中 MICA/B 表达与 CIK 细胞杀伤活性成正比相符合。

基于本研究结果,笔者预期在胰腺癌的临床治疗中,可采用切除胰腺癌患者组织标本进行免疫组化筛选,MICA/B 高表达患者进行 CIK 细胞免疫治疗,MICA/B 低表达患者进行 HDAC 抑制剂 + CIK 细胞免疫治疗,从而实现个性化的胰腺癌生物治疗方案。其次,本组研究中 CIK 细胞均源自健康志愿者,无法与胰腺癌细胞进行有效的主要组织相容性复合体(MHC)位点匹配,若临床治疗中使用胰腺癌患者自身血液细胞制备 CIK 细胞,即可与 MHC 完美匹配,CIK 细胞对胰腺癌细胞的杀伤率则有望进一步提高。

参考文献:

[1] 段小辉, 邓银梅, 陈雄, 等. MHCI 链相关分子 A/B 在胰腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(16): 3038-3040, 3045, 封 2.

[2] Morales-Buenrostro L E, Rodriguez-Romo R, de-Leo C, *et al*. HLA and MICA antibodies: further evidence of their impact on graft loss two years after their detection[J]. Clin Transpl, 2006, 207-218.

[3] Andresen L, Jensen H, Pedersen M T, *et al*. Molecular regulation of MHC class I chain-related protein A expression after HDAC-inhibitor treatment of Jurkat T cells[J]. J Immunol, 2007, 179(12): 8235-8242.

[4] Kim J S, Park Y S, Kim J Y, *et al*. Inhibition of human pancreatic tumor growth by cytokine-induced killer cells in nude mouse xenograft model[J]. Immune Netw, 2012, 12(6): 247-252.

[5] Thanendrarajan S, Kim Y, Schmidt-Wolf I. New adoptive immunotherapy strategies for solid tumours with CIK cells[J]. Expert Opin Biol Ther, 2012, 12(5): 565-572.

[6] Qiu Y, Yun M M, Xu M B, *et al*. Pancreatic carcinoma-specific immunotherapy using synthesised alpha-galactosyl epitope-activated immune responders: findings from a pilot study[J]. Int J Clin Oncol,

2013, 18(4): 657-665.
[7] Niam M, Linn Y C, Fook-Chong S, *et al*. Clinical scale expansion of cytokine-induced killer cells is feasible from healthy donors and patients with acute and chronic myeloid leukemia at various stages of therapy [J]. Exp Hematol, 2011, 39(9): 897-903.
[8] Bae D S, Hwang Y K, Lee J K. Importance of NKG2D-NKG2D ligands interaction for cytolyticactivity of natural killer cell [J]. CellImmunol [J], 2012, 276(1/2): 122-127.
[9] Lu X, Zhu A, Cai X, *et al*. Role of NKG2D in cytokine-induced killer cells against multiple myeloma cells[J]. Cancer Biol Ther, 2012, 13(8): 623-629.
[10] Skov S, Pedersen M T, Andresen L, *et al*. Cancer cells become susceptible to natural killer cell killing after exposure to histone deacetylase inhibitors due to glycogen synthase kinase-3-dependent expression of MHC class I-related chain A and B[J]. Cancer Res, 2005, 65(23): 11136-11145.
[11] Tan G, Zhang X, Feng H, *et al*. The therapeutic effect of cytokine-induced killer cells on pancreatic cancer enhanced by dendritic cells pulsed with K-ras mutant peptide[J]. Clin Dev Immunol, 2011: 649359.
[12] Engelken F J, Bettschart V, Rahman M Q, *et al*. Prognostic factors in the palliation of pancreatic cancer[J]. Eur J Surg Oncol, 2003, 29(4): 368-373.
[13] Bae J H, Kim S J, Kim M J, *et al*. Susceptibility to natural killer cell-mediated lysis of colon cancer cells is enhanced by treatment with epidermal growth factor receptor inhibitors through UL16-binding protein-1 induction[J]. Cancer Sci, 2012, 103(1): 7-16.
[14] 高炳华,王新生. CML的基因沉默与过继免疫治疗的研究进展[J]. 军事医学, 2013, 37(11): 870-872.
[15] Xu X, Rao G S, Groh V, *et al*. Major histocompatibility complex class Ⅰ-related chain A/B (MIC/B) expression in tumor tissue and serum of pancreatic cancer: role of uric acid accumulation in gemcitabine-induced MICA/B expression[J]. BMC Cancer, 2011, 23(11): 1-11.
[16] Zhang C, Wang Y, Zhou Z, *et al*. Sodium butyrate upregulates expression of NKG2D ligand MICA/B in HeLa and HepG2 cell lines and increases their susceptibility to NK lysis[J]. Cancer Immunol Immunother, 2009, 58(8): 1275-1285.
[17] PoggiA, Zocchi M R. Mechanisms of tumor escape: role of tumor microenvironment in inducing apoptosis of cytolytic effector cells[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2006 , 54(5): 323-333.
[18] Klein A P. Identifying people at a high risk of developing pancreatic cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(1): 66-74.
[19] 张振沛, 李德海, 顾谦群, 等. 选择性HDAC抑制剂的研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2013, 23(4): 321-330.

(**收稿**:2014-09-20;**修回**:2014-10-20)
(编辑 栾 嘉)

经验交流

文章编号:1000-5404(2014)23-2394-01

传统治疗配合超短波治疗周围性面神经麻痹53例

张婉怡 (100091 北京,解放军第309医院康复医学科)

[**关键词**] 周围性面神经麻痹;针灸;艾灸;闪罐;甲钴胺片;超短波
[**中图法分类号**] R49 [**文献标志码**] B

周围性面神经麻痹是指原因不明的茎乳突孔内急性非化脓性面神经炎引起的周围性面肌麻痹[1],表现为急性起病,单侧面部瘫痪,不能蹙额、皱眉、露齿、鼓颊等,患侧额纹消失或变浅,眼睑闭合不全,口角向健侧歪斜[2]。因病变带来容貌的骤变,患者通常心理压力巨大。临床上中西医结合物理疗法已成为该病的主要治疗方法。笔者用传统治疗配合超短波治疗周围性面瘫疗效显著,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

53例患者均来自我科门诊,其中男性32例,女性21例;年龄16~60岁,病程最短2~40 d。

1.2 诊断依据

发病前常有受凉、受潮、吹风或咽炎史。起病突然,病侧有耳后或下颌角疼痛。少数患者于发病前几天可有耳后、耳内疼痛或面部不适等。一侧面颊运动不灵,口角向健侧歪斜,额纹变浅或消失,鼻唇沟变浅,眼裂大,蹙额、皱眉、露齿、鼓颊等动作困难,食物残留于龈颊沟间,或患侧有舌前2/3味觉减退或消失,听觉过敏,外耳道疱疹等,舌淡红、苔薄白或薄黄,脉浮数或弦细。排除其他原因所致的周围性面瘫(如小脑脑桥角病变、脑干病变、手术损伤、腮腺病变、格林-巴利综合征等)[3]。

1.3 方法

针灸:早期患者发病1周之内采用远端取穴,取翳风,合谷,血海,丰隆,太冲,平补平泻。1周之后在之前穴位基础上在患侧加阳白,攒竹,地仓,迎香,颊车,下关,平补平泻手法,手法易轻浅,留针20 min,每日1次。

艾灸:针刺后用艾条灸翳风,阳白,颊车,灸15 min,每日1次,

(下转2399页)

[**通信作者**] 张婉怡, E-mail:707985194@qq.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141201.1115.001.html (2014-12-01)