doi:10.11659/jjssx.01E016048

自体肿瘤免疫细胞辅助介入治疗中晚期原发性肝癌

于世伟,孙厚斌,尹力楠,侯英文,刘瑞宝 (哈尔滨医科大学附属肿瘤医院介入科,黑龙江 哈尔滨 150081)

[摘 要] **目的** 探讨自体肿瘤免疫细胞(DC-CIK)辅助介入治疗中晚期原发性肝癌临床效果。**方法** 2013 年 1 月至 2015 年 6 月我院 76 例中晚期原发性肝癌患者,采用随机数字表法将其分为观察组和对照组,每组 38 例。对照组采取单纯介入治疗,观察组则行自体 DC-CIK 细胞辅助介入治疗,比较 2 组近期疗效、不良反应、治疗前后肝功能指标、甲胎蛋白(AFP)及免疫功能变化。**结果** 2 组近期有效率、不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。观察组治疗后 AST、ALT、AFP 水平分别为(30.4±6.0)u/L、(45.2±3.8)u/L、(168.5±49.3)mg/L,均显著低于对照组的(65.1±6.3)u/L、(61.8±5.3)u/L、(315.2±39.5)mg/L,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。观察组治疗后 CD3+、CD4+、CD4+/CD8+均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 自体 DC-CIK 细胞辅助介入治疗能明显改善中晚期原发性肝癌患者肝功能,降低肿瘤标志物 AFP 水平,显著提高患者免疫功能。

[关键词] 肿瘤免疫细胞;原发性肝癌;肝功能;肿瘤标志物
[中图分类号] R735.7 [文献标识码] A [收稿日期] 2016-01-12

Autologous tumor immune cells assisted interventional therapy in advanced primary liver cancer

YU Shi-wei, SUN Hou-bin, YIN Li-nan, HOU Ying-wen, LIU Rui-bao (Department of Intervention, Affiliated Tumor Hospital of Harbin Medical University, Harbin Heilongjiang 150081, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical effects of autologous tumor immune cells (DC-CIK) assisted interventional therapy in the treatment of advanced primary liver cancer. **Methods** Totally 76 patients with advanced primary liver cancer were divided into 2 groups with 38 cases in each group by random number table method. The control group were merely treated with interventional therapy while the observation group were treated with autologous DC-CIK cell assisted interventional therapy. The short-term curative effect, adverse reactions, liver function indexes before and after treatment, alpha fetal protein (AFP) and changes of immune function were compared between the 2 groups. **Results** There was no statistically significant difference in short-term curative effect and incidence of adverse reactions between the 2 groups ($P>0.05$). After treatment, the levels of AST, ALT and AFP in the observation group [(30.4±6.0)u/L, (45.2±3.8)u/L, (168.5±49.3)mg/L] were significantly lower than those in the control group [(65.1±6.3)u/L, (61.8±5.3)u/L, (315.2±39.5)mg/L], and the differences were statistically significant ($P<0.05$). After treatment, CD3+, CD4+ and CD4+/CD8+ in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$). **Conclusion** Autologous DC-CIK cell assisted interventional therapy can significantly improve the liver function of patients with advanced primary liver cancer, and it can reduce the level of tumor marker AFP and significantly improve the immune function of patients.

Keywords: tumor immune cell; primary liver cancer; liver function; tumor marker

原发性肝癌(HCC)早期症状无特异性且发展快,多数患者就诊时已处于中晚期,60%~70%患者失去手术切除机会[1]。对这类患者首选肝动脉化疗栓塞(TACE)治疗,但近年来临床发现单纯 TACE 介入治疗后仍有部分癌灶残留,需借助其他手段辅助以清除残留癌灶,提高患者生存率[2]。肿瘤学认为癌症发生机制复杂,其中一重要机制为患者免疫功能低下致使免疫系统对肿瘤细胞攻击减轻。过继免疫治疗作为临床一种新型疗法,于 1985 年被美国国家癌症研究委员会确定,细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)属于体外广谱抗瘤免疫活性细胞,具有增殖能力强、杀瘤活性强的特点,而数突状细胞(DC)为当下功能最强抗原递呈细胞[3],临床常用于 TACE 治疗后辅助干预,能有效预防或减少肿瘤复发及转移[4]。但临床受细胞来源、肿瘤细胞耐受性、DC 有不同程度缺陷等影响,可能制约其疗效,若能克服这一点则不失为一种较好的过继免疫治疗方法。基于此,本研究对我院就诊的 38 例中晚期原发性肝癌患者行自体肿瘤免疫细胞(DC-CIK)辅助 TACE 介入治疗,与接受单纯 TACE 介入治疗结果进行对照分析,以期为临床中晚期肝癌治疗提供参考。现报告如下。

[通信作者] 刘瑞宝,E-mail:ruibaoliu@hotmail.com

1 资料与方法

1.1 临床资料

抽取我院2013年1月至2015年6月就诊的中晚期原发性肝癌患者76例,病例纳入标准:①影像学检查、病理学检查证实为原发性肝癌;②不能手术切除治疗,肝功能Child-Pugh分级A~B级;③患者知情同意;④感染性疾病、免疫系统疾病、治疗前2个月有化疗史等患者排除在外。对入院就诊患者编号,按照随机数字表法将患者分为对照组与观察组各38例,对照组中男25例,女13例;年龄40~69岁,平均(51.4±10.2)岁。临床分期:Ⅱ期2例,Ⅲ期19例,Ⅳ期17例。观察组中男28例,女10例;年龄41~62岁,平均(51.7±10.0)岁。临床分期:Ⅱ期3例,Ⅲ期20例,Ⅳ期15例。本研究经本院伦理委员会审核批准,患者知情同意。对比2组性别、年龄、临床分期,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

1.2 治疗方法

对照组采用单纯TACE介入治疗,Seldinger法对股动脉经皮穿刺,将导管送至肿瘤供血动脉后行数字减影,依据肿瘤血供行栓塞,栓塞药物:5-Fu 750~1 000 mg、顺铂40~80 mg、丝裂霉素20 mg或表柔比星40~60 mg加超液化碘油5~20 mL。每4周1次,1个疗程4次,干预1个疗程。观察组采取自体DC-CIK细胞辅助TACE介入治疗:①CIK细胞制备。清晨空腹抽取外周血200 mL,把其中富含白细胞层细胞吸出10 mL且悬浮在患者等量自身血浆中,通过Ficoll分离液分离单个核细胞,利用人AB型血清1640培养液(浓度10%)把细胞浓度调整至1×10^6/mL~3×10^6/mL。培养首日把抗CD3单抗100 ng/mL、人重组IFN-γ 1 000 u/mL及IL-1α 100 u/mL加入;第2天则加入人重组IL-2 300 u/mL,间隔3 d对培养液更换1次,同时补充人重组IL-2、IFN-γ,培养12~14 d获取CIK细胞。②回输。TACE介入治疗当日于数字减影下经由Seldinger法行肝总动脉灌注CIK细胞悬液,回输细胞数1.6×10^9~16×10^9个,30 min内结束回输。次日静脉回输同等条件培养CIK细胞。每4周1次,1个疗程4次,干预1个疗程。

1.3 观察指标

近期疗效以RECIST实体瘤疗效评定标准为依据,完全缓解(CR):目标病灶均消失;部分缓解(PR):肿瘤病灶缩小大于50%;无变化(NC):肿瘤病灶缩小小于25%或不变;进展(PD):肿瘤病灶增大超过25%或有新病灶出现。有效率=CR率+PR率。不良反应包括白细胞下降、血小板下降等。肝功能指标包括天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)等,治疗前、1疗程结束后通过肝功能检查评价。肿瘤标志物及免疫功能:治疗前、疗程结束后抽取外周静脉血4 mL,通过流式细胞仪测定CD3、CD4、CD8、CD4/CD8,通过化学发光免疫分析法检测血清甲胎蛋白(AFP,为典型肿瘤标志物)。

1.4 统计学方法

应用SPSS 19.0统计软件分析数据,计数资料以(%)表示,采用χ^2检验,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用t检验,$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 近期疗效

观察组近期有效率73.7%,对照组近期有效率52.6%,组间比较差异无统计学意义($\chi^2=3.619$,$P=0.057$),见表1。

表1 2组近期疗效比较[$n=38$,例(%)]

组别	CR	PR	NC	PD	有效
观察组	3(7.9)	25(65.8)	8(21.0)	2(5.3)	28(73.7)
对照组	0(0.0)	20(52.6)	13(34.2)	5(13.2)	20(52.6)
χ^2					3.619
P					0.057

2.2 不良反应情况

2组患者均出现白细胞下降、血小板下降、恶心呕吐等不良反应,多数较轻度,且2组不良反应发生率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.474$、0.070、0.482,$P=0.491$、0.791、0.487),见表2。

表2 2组不良反应发生率比较[$n=38$,例(%)]

组别	白细胞下降	血小板下降	恶心呕吐
观察组	17(44.7)	9(23.7)	20(52.6)
对照组	20(52.6)	10(26.3)	23(60.5)
χ^2	0.474	0.070	0.482
P	0.491	0.791	0.487

2.3 肝功能指标、AFP水平

观察组治疗后AST、ALT、AFP水平较治疗前均明显下降($t=25.578$、16.747、19.150,$P=0.000$、0.000、0.000),且下降幅度明显大于对照组,差异有统计学意义($t=24.587$、15.691、14.315,$P=0.000$、0.000、0.000)。对照组治疗前后AST、ALT比较差异无统计学意义($t=1.259$、2.414,$P=0.212$、0.018),见表3。

表3 2组肝功能指标及AFP水平比较($n=38,\bar{x}\pm s$)

组别		AST(u/L)	ALT(u/L)	AFP(mg/L)
观察组	治疗前	66.8±6.4	67.8±7.4	390.2±51.6
	治疗后	30.4±6.0*#	45.2±3.8*#	168.5±49.3*#
对照组	治疗前	67.1±7.5	64.6±4.8	394.0±51.2
	治疗后	65.1±6.3	61.8±5.3	315.2±39.5*

*:与治疗前比较,$P<0.05$;#:与对照组比较,$P<0.05$

2.4 免疫功能指标

对照组治疗前后CD3+、CD4+、CD4+/CD8+比较,差异均无统计学意义($t=0.793$、1.166、1.279,$P=0.430$、0.166、0.205)。观察组治疗后CD3+、CD4+、CD4+/CD8较治疗前均明显上升,差异具有统计学意义($t=3.001$、2.214、3.581,$P=0.004$、0.030、0.000),且上升幅度明显大于对照组,差异有统计学意义($t=4.195$、3.537、4.777,P均=0.000),见表4。

表4 2组治疗前后免疫功能指标比较($n=38,\bar{x}\pm s$)

组别		CD3+	CD4+	CD8+	CD4+/CD8+
观察组	治疗前	50.5±12.4	52.5±15.6	35.6±12.8	1.47±0.51
	治疗后	58.7±11.4*#	60.2±14.7*#	31.3±10.6	1.95±0.65*#
对照组	治疗前	50.3±6.4	53.1±9.3	35.7±8.6	1.46±0.56
	治疗后	48.9±8.8	50.0±10.0	38.0±10.4	1.30±0.53

*:与治疗前比较,$P<0.05$;#:与对照组比较,$P<0.05$

3 讨论

近年来肝动脉化疗栓塞介入治疗、过继免疫治疗等已逐渐成为中晚期原发性肝癌主要治疗手段。研究发现,TACE能明显提高肝癌患者2年生存率,但对于部分患者肝内病灶微小患者来说,TACE治疗后仍残留病灶,最终导致肝癌复发及转移,威胁患者生命[5],这可能与肿瘤患者自身免疫功能低下、免疫抑制密切相关,免疫功能紊乱表现为CD3+、CD4+、CD4+/CD8+比率下降,CD8+水平上升[6]。因此,采取有效措施辅助TACE或其他介入治疗改善癌症患者免疫功能至关重要。梁倩影等[7]的研究表明,自体DC-CIK细胞联合替吉奥治疗中晚期肝癌安全可靠,但该研究未设置对照组,不能突出自体DC-CIK细胞的作用。孟娟等[8]的研究表明,自体DC-CIK细胞能有效辅助及增强TACE治疗中晚期原发性肝癌疗效,且其作用机制可能为改善患者免疫功能。本研究在前人研究基础上设置对照试验,除了观察患者免疫功能变化外,还重点分析肿瘤标志物——AFP及肝功能指标变化。

自体DC-CIK细胞辅助介入治疗近年来在肿瘤干预中应用越来越多,CIK细胞由外周富集血单核细胞分离而来,具有高效杀伤肿瘤细胞、广谱抗肿瘤作用[9]。利用CIK细胞辅助TACE治疗,一方面加入超液化碘化油栓塞对肿瘤血管床堵塞及肝动脉、门静脉栓塞[10],另一方面注射CIK细胞可促使肿瘤局部CIK细胞数明显增多,对TACE治疗后残留癌细胞进一步杀灭,同时CIK细胞分泌相应细胞因子能有效增强机体免疫功能,进而避免或减少肿瘤复发及转移[11-12]。临床常见免疫功能指标包括CD3+、CD4+、CD8+、CD4+/CD8+等,其中CD3+主要反应成熟T细胞总数;CD4+细胞属于辅助T细胞,可辅助机体提高机体抗肿瘤免疫能力,同时能帮助杀灭肿瘤细胞;CD8+细胞上升表示细胞免疫损伤,且主要通过CD4+/CD8+比值反应,灵敏度高[13]。本研究结果显示观察组治疗后CD3+、CD4+、CD4+/CD8+较治疗前明显上升,且与对照组比较差异有统计学意义,表明CIK细胞辅助TACE治疗能明显增强原发性肝癌患者免疫功能,与杨茂等[14]的研究结果基本一致。

中晚期原发性肝癌多表现出肝细胞损害,而肝功能对肝细胞损害有特异监测作用。AFP为原发性肝癌肿瘤标志物之一,其特异度、灵敏度均较高,AFP主要于胎儿肝中合成,原发性肝癌患者中80%血清AFP水平上升,且在胰腺癌等其他肿瘤中均有不同程度上升。本研究结果显示,观察组治疗后AST、ALT较治疗前明显下降,而对照组治疗前后AST、ALT无差异,表明CIK细胞辅助TACE治疗能明显改善原发性肝癌患者肝功能。2组治疗后血清AFP水平较治疗前均明显下降,且观察组下降幅度明显较对照组大,表明相比单纯TACE治疗,CIK细胞辅助TACE治疗能明显降低中晚期原发性肝癌患者肿瘤标志物(AFP)。另外,观察组与对照组在近期疗效、不良反应发生率方面无明显差异,但本研究尚未分析并发症,如TACE术后可能并发肺部炎症等[15],有待进一步研究。

综上所述,自体DC-CIK细胞辅助介入治疗中晚期原发性肝癌疗效较好,能明显降低AFP水平,显著改善患者肝功能及免疫功能。

[参考文献]

[1] 魏 宇,胡 伟. DC-CIK细胞联合手术治疗高龄原发性肝癌的疗效及对患者免疫功能的影响[J]. 实用癌症杂志,2015,30(5):654-657. doi:10.3969/j.issn.1001-5930.2015.05.008.

[2] 程小珍,彭大为,王美清,等. 自体DC/CIK联合肝动脉化疗栓塞术治疗中晚期肝癌疗效观察[J]. 实用医学杂志,2014,30(9):1401-1404. doi:10.3969/j.issn.1006-5725.2014.09.018.

[3] 项 颖,李启英,王莉等. DC-CIK细胞对人肝癌HepG2细胞增殖、迁移的影响[J]. 重庆医学,2013,42(14):1571-1574. doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.14.004.

[4] 王 哲. 肝动脉化疗栓塞术联合DC-CIK细胞治疗老年原发性肝癌的疗效[J]. 中国老年学杂志,2013,33(24):6276-6277. doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2013.24.099.

doi:10.11659/jjssx.01E016104

术中使用生理盐水和平衡盐溶液对脑创伤患者术后神经功能的影响

郭子运,张雄新,李玉雄 (榆林市中医医院神经外科,陕西 榆林 719000)

[**摘 要**] **目的** 比较脑创伤患者术中使用生理盐水和平衡盐溶液灌注对术后神经功能恢复的影响。**方法** 将120例脑创伤患者随机分为生理盐水组和平衡溶液组,观察2组患者术后神经功能恢复情况。**结果** 生理盐水组术后24 h血氢离子浓度指数(pH)显著低于平衡盐溶液组,HCO_3^-水平显著低于平衡盐溶液组,Cl^-显著高于平衡盐溶液组,差异均有统计学意义($P<0.05$);2组患者颅内压、术前格拉斯哥昏迷评分(GCS)比较,差异无统计学意义($P=0.94$),在术后336 h和672 h GCS评分差异有统计学意义($P=0.00$、0.03)。2组患者术后28 d院内死亡率分别为10%和15%,差异无统计学意义($P=0.58$)。**结论** 术中使用生理盐水进行灌注,不利于患者术后神经功能的恢复,容易导致高氯性酸中毒,术中平衡盐溶液灌注更有利于神经功能的恢复。

[**关键词**] 脑创伤;生理盐水;平衡盐溶液;神经功能

[**中图分类号**] R619 [**文献标识码**] A [**收稿日期**] 2016-01-23

Influence of intraoperative use of saline and balanced salt solution on nerve function recovery in patients with brain trauma

GUO Zi-yun, ZHANG Xiong-xin, LI Yu-xiong (Department of Neurosurgery, Chinese Traditional Medicine Hospital of Yulin, Yulin Shaanxi 719000, China)

Abstract: Objective To study the influence of intraoperative use of saline and balanced salt solution on postoperative nerve function recovery in patients with brain trauma. **Methods** Totally 120 patients were randomly divided into the saline group and the balanced salt solution group, and the postoperative nerve function recovery of the two groups were observed. **Results** The level of pH and HCO_3^- 24 hours after operation in the saline group were lower than those in the balanced salt solution group ($P<0.05$), while the level of Cl^- in the saline group was higer than that in the balanced salt solution group ($P<0.05$). The intracranial pressure and preoperative Glasgow coma score (GCS) of the two groups had no statistical significance ($P=0.94$). And the Glasgow coma score at 336 hours and 672 hours after opreation of the two groups were of statistical significance ($P=0.00$, $P=0.03$). The mortality of the saline group and the balanced solution group 28

[**通信作者**] 张雄新,E-mail:43141985@qq.com

[5] 丁以锟,吕维富,周春泽等.术后预防性肝动脉化疗栓塞对肝癌患者生存的影响及预后相关因素分析[J].介入放射学杂志,2014,23(4):299-302.doi:10.3969/j.issn.1008-794X.2014.04.007.

[6] 刘 明,郭 志,邢文阁,等.肝动脉化疗栓塞联合CIK细胞治疗晚期肝癌长期生存一例[J].中华医学杂志,2012,92(21):1511-1512.doi:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2012.21.019.

[7] 梁倩影,刘先领.自体DC-CIK细胞联合替吉奥治疗中晚期肝癌的疗效[J].中国老年学杂志,2014,34(21):6074-6075.doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2014.21.063.

[8] 孟 娟,彭大为,王美清,等.自体DC-CIK联合肝动脉栓塞治疗中晚期原发性肝癌的疗效观察[J].浙江临床医学,2013,15(8):1146-1148.doi:10.3969/j.issn.1008-7664.2013.08.016.

[9] 温演伟,董洪松,田 耕.放疗联合高效细胞因子诱导杀伤细胞治疗鼻咽癌的临床疗效观察[J].海南医学,2014,25(11):1570-1572.doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2014.11.0610.

[10] 邢 宏,韩方正,汪莉萍,等.TACE联合自体CIK治疗原发性肝癌患者的细胞免疫功能变化[J].国际消化病杂志,2011,31(2):121-124.doi:10.3969/j.issn.1673-534X.2011.02.018.

[11] 李 蕊,方艳秋,杨 丹,等.CIK细胞疗法对肝癌患者免疫功能的影响[J].中国老年学杂志,2013,33(3):538-539.doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2013.03.020.

[12] 杨晓亚,高裕华,刘素蕊,等.肝癌特异性靶标致敏DC诱导CIK细胞对肝癌HuH-7细胞及移植瘤的抑制[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2014,21(5):505-509.doi:10.3872/j.issn.1007-385X.2014.05.004.

[13] 伍慧丽,鲍旭丽,张 蕾,等.活化自体淋巴细胞治疗对肝细胞癌患者外周血免疫细胞的影响及疗效评价[J].北京医学,2015,37(9):828-831.doi:10.15932/j.0253-9713.2015.9.004.

[14] 杨 茂,郭 志,司同国,等.动脉化疗栓塞联合CIK细胞过继免疫治疗对中晚期肝癌患者免疫功能的影响[J].介入放射学杂志,2011,20(2):116-119.doi:10.3969/j.issn.1008-794X.2011.02.008.

[15] 张鸿文,陶超超,雷 娟,等.原发性肝癌患者TACE术后并发肺部炎症原因及临床特征的研究[J].临床肺科杂志,2013,18(2):217-219.doi:10.3969/j.issn.1009-6663.2013.02.012.

(编辑:刘 艺)