

• 临床检验研究 •

消化系统肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞分析与临床意义

陈 莉, 吴丽娟, 胡宗海, 彭 燕, 李继红, 栗群英
(成都军区总医院检验科, 成都 610083)

摘要:目的 通过观察外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞活性在消化系统肿瘤患者中的表达, 探讨消化系统肿瘤患者的细胞免疫功能状况及临床意义。方法 采用流式细胞分析法对 123 例消化系统肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞进行检测, 并与 35 例健康对照组比较。结果 与健康对照组比较, 消化系统各肿瘤组患者外周血总 T 细胞($CD3^+$)、T4 细胞($CD3^+CD4^+$)、NK 细胞($CD3^-CD16/56^+$) 百分率下降($P<0.01$); T4/T8($CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$) 比值降低($P<0.05$); T8 细胞($CD3^+CD8^+$) 百分率明显升高($P<0.05$); 消化系统各肿瘤组间差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 消化系统肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞活性表达较健康对照组显著降低, 表明消化系统肿瘤患者细胞免疫功能低下。检测消化系统肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞水平对评估患者的细胞免疫功能、监测抗瘤疗效和判断预后均具有一定的临床意义。

关键词: 消化系统肿瘤; T 淋巴细胞亚群; 杀伤细胞, 天然; 流式细胞术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.20.004

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)20-2306-02

Analysis of T-lymphocytes subgroups and NK cells in peripheral blood of patients with digesting systemic cancer

Chen Li, Wu Lijuan, Hu Zonghai, Peng Yan, Li Jihong, Li Qunying

(Department of Medical Lab, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China)

Abstract: Objective To observe the alteration of peripheral blood T-lymphocyte subgroups and NK cells in patients with digestive systemic cancer, and identify the condition of body's immune function of patients with digestive systemic cancer and the clinical significance of this two flow cytometric items. Methods By a 3-color flow cytometry, peripheral blood T-lymphocyte subgroups and NK cells from 123 patients with digestive systemic cancer were detected. For compares, 35 healthy persons were detected as a control group. Results In patients with digestive systemic cancer, the percentages of total T-lymphocytes ($CD3^+$), T4 cells ($CD3^+CD4^+$) and NK cells ($CD3^-CD16^+CD56^+$) clearly decreased than that of the control group ($P<0.01$); the rates of T4/T8 ($CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$) distinctly decreased than that of the control group ($P<0.05$); moreover, the percentages of T8 cells ($CD3^+CD8^+$) were significantly higher than that of the control group ($P<0.05$); but the numerical data between various digestive systemic tumors had no significant differences ($P>0.05$). Conclusion T-lymphocyte subgroups and NK cells have significant differences between the patients with digestive systemic cancer and healthy people, indicating that the cellular immune function of tumour patients is lower. It is very important to analyze the levels of peripheral blood T-lymphocyte subgroups and NK cells for evaluating patient's immune function, monitoring therapeutic effect and judging prognosis.

Key words: digestive system neoplasms; T-lymphocyte subsets; killer cells, Natural; flow cytometry

机体的免疫状态与肿瘤的发生、发展密切相关, T 淋巴细胞及 NK 细胞在肿瘤免疫中起中心调控作用, 是机体抗肿瘤免疫的重要效应细胞, 其中 NK 细胞为非特异性效应细胞, T 淋巴细胞为特异性效应细胞, 他们共同参与和调节了体内的抗肿瘤免疫过程。当 T 淋巴细胞的数量和功能发生异常时, 可导致机体免疫功能的紊乱和一系列的病理改变^[1-2]。本研究采用流式细胞术对 123 例消化系统肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞进行检测, 并与 35 例健康体检者对照研究, 分析探讨消化系统肿瘤患者的细胞免疫功能状况及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 123 例消化系统肿瘤患者均为本院 2008 年 6 月至 2011 年 3 月门诊住院患者, 全部病例均经病理学诊断确诊, 其中 31 例食管癌, 32 例胃癌, 30 例肝癌, 30 例大肠癌; 男 76 例, 女 57 例, 年龄 23~76 岁, 平均 51 岁。健康对照组 35 例为本院健康体检者, 其中男 19 例, 女 16 例; 年龄 22~68 岁, 平均 48 岁。全部病例和健康对照组均空腹采集静脉血 2~3 mL, EDTA-K₂ 抗凝, 用于检测细胞免疫功能。

1.2 仪器与试剂 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞检测采用三色流式细胞术对 T 淋巴细胞亚群包括总 T 细胞($CD3^+$)、T4 细胞($CD3^+CD4^+$)、T₈ 细胞($CD3^+CD8^+$) 和 NK 细胞($CD3^-CD16/56^+$) 进行分析检测。所有试剂均采用美国 Beckman-Coulter 公司产品, 仪器为美国 Beckman-Coulter Epics-XL4 型流式细胞仪。具体操作方法参照文献[3]进行检测。

1.3 统计学处理 应用 SPSS12.0 统计分析软件进行统计学处理, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较做 t 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

消化系统肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞与健康对照组比较, 肿瘤患者外周血 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、NK 细胞明显低于健康对照组 ($P<0.01$); $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ 比值降低 ($P<0.05$); 肿瘤组与健康对照组比较, $CD3^+CD8^+$ 明显增加 ($P<0.05$); 肿瘤组之间各组数据差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 1。

表 1 消化系统肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞活性检测结果(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺	NK
健康对照组	35	68.45±6.38	49.16±5.68	26.31±2.79	1.84±0.52	21.28±9.31
食管癌	31	51.28±3.21*	33.52±3.57*	31.32±4.16 [#]	1.03±0.21 [#]	9.91±6.29*
胃癌	32	49.17±4.01*	29.46±3.57*	33.12±3.82 [#]	0.98±0.16 [#]	10.63±6.08*
肝癌	30	46.52±6.17*	28.48±3.57*	36.26±5.17 [#]	0.81±0.30 [#]	9.57±7.13*
大肠癌	30	48.37±5.08*	29.21±3.57*	35.41±5.24 [#]	0.91±0.38 [#]	11.13±5.01*

*: $P<0.01$,[#]: $P<0.05$,与健康对照组比较。

3 讨 论

现代肿瘤免疫学研究表明,肿瘤的发生和发展同机体免疫系统功能异常存在密切关系,而抗肿瘤免疫主要以细胞免疫为主,其中胸腺依赖性淋巴细胞(即 T 淋巴细胞)又是细胞免疫系统的关键组成部分。机体内的 T 淋巴细胞能识别肿瘤细胞,在接受肿瘤细胞刺激后,转化为能攻击和杀伤肿瘤细胞的致敏淋巴细胞,有着免疫监视功能。免疫功能正常与否,直接关系到肿瘤的发生、发展和预后^[4]。因此,对于 T 淋巴细胞的研究越来越受到免疫学界和医学界的重视,成为近年来的研究重点。本研究表明,食管癌、胃癌、肝癌、大肠癌等消化系统肿瘤患者的总 T 细胞(CD3⁺)、CD3⁺CD4⁺淋巴细胞、NK 细胞百分比明显低于健康人($P<0.01$),CD3⁺CD8⁺淋巴细胞百分比比较健康人明显升高($P<0.01$),CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺比值较健康人显著降低($P<0.05$),显示消化系统各肿瘤组患者的细胞免疫功能明显下降。肿瘤患者的外周血 CD3⁺T 淋巴细胞数量较健康对照组显著降低,可能是由于肿瘤细胞所产生的肿瘤特异性抗原趋化 CD3⁺T 细胞向肿瘤组织中聚集并发育成为成熟的 T 淋巴细胞从而发挥其特有的抗肿瘤免疫的作用,因为这种聚集的作用,使得外周血中表达 CD3 的成熟 T 淋巴细胞的数量显著减少。在肿瘤的发展过程中,肿瘤细胞分泌多种免疫抑制因子,诱导和激发产生抑制性 T 淋巴细胞,造成 CD4 细胞和 CD8 细胞发生异常,导致其比值失衡,免疫功能紊乱^[5]。患者 CD4⁺细胞表达减少,抑制性 T 细胞增多引起 CD8⁺细胞增高,从而造成 CD4⁺/CD8⁺比值明显失衡。CD4⁺细胞表达减少导致 IL-2、IFN- γ 减少,血清中 TNF- α 和 SIL-2R 水平异常增高,必然导致 NK 细胞活性降低,免疫监视功能减低。肿瘤患者免疫功能出现不同程度抑制,降低了清除肿瘤细胞能力,使肿瘤得以持续生长。NK 细胞对肿瘤有直接杀伤作用,肿瘤患者与健康对照组比较 NK 细胞活性降低,表明癌患者免疫功能低下、紊乱及处于免疫抑制状态,由于肿瘤产生或分泌大量免疫抑制因子(TDSF),不可避免地出现 NK 细胞活性降低及 T 细胞亚群异常和比例失调。患者免疫功能越低下,病期越晚,预后越差,CD4⁺/CD8⁺比值还与肿瘤转移密切相关,即 CD4⁺/CD8⁺比值越低,转移复发率越高^[6-7]。由此认

为,临床检测 T 淋巴细胞亚群的表达对肿瘤的诊断治疗及预后判断起到一定的作用,若患者 CD3⁺、CD4⁺细胞数量明显减少,并且 CD8⁺细胞数增多,CD4⁺/CD8⁺比值明显降低,则在排除某些免疫性疾病以及病毒感染疾病后可初步诊断为肿瘤。其次,探讨 T 淋巴细胞亚群的异常分布对肿瘤的治疗有一定的价值。因此认为对肿瘤的治疗除了可利用手术以及放疗、化疗等手段直接清除瘤体或瘤细胞外,还可以通过改善细胞免疫来影响肿瘤的进程。综上所述,作者认为临床检测 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞的表达,能反映消化系统肿瘤患者的免疫功能状态及肿瘤的发展状态和预后。消化系统肿瘤是目前中国发病率较高的恶性肿瘤,本研究就是通过对消化系统肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞以及 NK 细胞相关指标的检测,来探讨消化系统肿瘤患者 T 淋巴细胞及 NK 细胞功能同消化系统肿瘤发生和发展的关系,以便临床上监测消化系统肿瘤人群的免疫状态,对其免疫治疗具有重要的意义。

参考文献

[1] 田晓刚,高力英. 外周血 T 细胞亚群检测在恶性肿瘤中的价值[J]. 甘肃医药,2010,29(1):32-33.
[2] 孙利敏,冯仲珉,朱成功. 恶性肿瘤患者化疗前后 T 细胞亚群变化临床分析[J]. 中国医药导报,2007,4(28):82-83.
[3] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京:人民军医出版社,2010:78-127.
[4] 亢澜涛,张桂荣. 411 例恶性肿瘤患者 T 细胞亚群的检测分析[J]. 实用肿瘤学杂志,2007,21(4):362-365.
[5] 张晟晃,谭小宇,陈念平. 肝癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群的测定及临床意义[J]. 中国医院用药评价与分析,2010,10(2):159-160.
[6] 熊彪,邹元宝. 大肠癌患者外周血 T 细胞亚群和 NK 细胞活性检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(10):892-893.
[7] 黄宏君,周燕玲,吴白平. 肺癌患者手术前后外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞活性分析及临床意义[J]. 实用预防学,2010,17(1):151-152.

(收稿日期:2011-08-08)

临床实验设计中的单盲法与双盲发

单盲法指只有试验者知道受试者接受何种处理(如药物或手术),而受试者本人不知道;可避免来自受试者的个人因素的影响,但不能排除试验者的主观因素。双盲发指受试者与试验者均不知道接受何种处理,可以防止来自受试者与试验者主观因素的影响,但较单盲法难以实现。
——摘自《医学科研方法与论文写作》(殷国荣、王斌全、杨建一主编,科学出版社出版)