

食管癌患者手术前后外周血 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞的测定及临床意义

李晓东 王旖潇 朱成楚 陈保富 孔 敏 张 波 杨小龙

摘 要 **目的** 探讨检测食管癌患者手术前后外周血 T 淋巴细胞亚群、自然杀伤细胞(NK)水平变化,从免疫生物学角度探讨食管癌患者手术前后免疫功能的变化。**方法** 以 26 例健康体检者为对照组,96 例食管癌患者为观察组,采用流式细胞仪检测对照组和食管癌患者手术前 1 天、术后第 3 天、术后第 10 天的外周血 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺ T 淋巴细胞(CD3⁺)、CD4⁺ T 淋巴细胞(CD4⁺)、CD8⁺ T 淋巴细胞(CD8⁺)、NK 细胞(NK)的水平。**结果** 观察组术前、术后第 3 天及术后第 10 天外周血 CD3⁺、CD4⁺、NK、CD4⁺/CD8⁺ 比值明显低于对照组($P < 0.05$),CD8⁺ 明显高于对照组($P < 0.05$)。食管癌组术后第 3 天与术前各指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。食管癌组术后第 10 天 CD3⁺、NK 较术前及术后第 3 天明显升高($P < 0.05$),CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比值较术前明显升高($P < 0.05$),术后第 10 天 CD8⁺ 水平较术前、术后第 3 天明显降低($P < 0.05$)。食管癌组 CD3⁺、CD8⁺ 与年龄、分化程度及浸润深度有关($P < 0.05$),而与性别、KPS 评分、肿瘤部位、病理形态、病变长度、有无淋巴结转移、病理类型均无相关性,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 食管癌患者免疫功能受到抑制,手术解除肿瘤负荷后患者免疫状态改善;T 淋巴细胞亚群水平可能与食管肿瘤进展程度有关;T 淋巴细胞亚群、NK 在食管癌患者免疫监测中具有一定价值。

关键词 食管癌 手术前后 T 淋巴细胞亚群 NK 细胞 免疫功能

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.06.021

Clinical Significance of Detecting T Lymphocyte Subsets and NK Cells and IL - 12 in Peripheral Blood of Patients with Esophageal Carcinoma Before and after Surgery. Li Xiaodong, Wang Yixiao, Zhu Chengchu, et al. Taizhou Hospital, Zhejiang 317000, China

Abstract **Objective** To investigate the clinical significance of T lymphocyte subsets, NK cells level in the patients with esophageal carcinoma(EC) before and after operation. To explore the changes of the immune function of esophageal patients before and after surgery from the perspective of immune biology. **Method** Twenty-six cases of healthy control and 96 patients with EC were included in the study. The T lymphocyte subsets (CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺) and NK cells levels were reflected indirectly through the flow cytometry, the blood samples were collected at 1 day before operation, the third day and 10th day after surgery. **Results** The levels of CD3⁺ cells, CD4⁺ cells, NK cells and CD4⁺/CD8⁺ ratio at the 1 day before operation (BO), third day postoperative (3DP) and 10th day postoperative group (10DP) were apparently lower than healthy control(HC) ($P < 0.05$), and the level of CD8⁺ cells were significantly higher than HC ($P < 0.05$). The index between BO and 3DP had no differences statistical significance ($P > 0.05$). The expressions of CD3⁺ cells and NK cells in 10DP were significantly higher than those of in BO and 3DP($P < 0.05$), CD4⁺ cells and CD4⁺/CD8⁺ ratio were significantly higher than BO ($P < 0.05$), the expression of CD8⁺ cells was significantly lower than BO and 3DP($P < 0.05$). The levels of CD3⁺ cells and CD8⁺ cells were significant correlation with age, histological grade, depth of invasion ($P < 0.05$), but had no correlation with gender, KPS grade, tumor site, pathology morphological, tumor length, lymph node metastasis and pathological type ($P > 0.05$). **Conclusion** Their immune function were restrained, who with EC, and their immune status were improved after surgery. The T lymphocyte subsets might be associated with esophageal tumor progression. Detection T lymphocyte subsets and NK cells might have a certain value in monitoring the immune function of patients with esophageal cancer.

Key words Esophageal carcinoma; Before and after surgery operation; T lymphocyte subsets; NK cells; Immune function

基金项目:浙江省重大科技专项计划项目(2011C13039-2)

作者单位:317000 临海,浙江省台州医院(李晓东、王旖潇、朱成楚、陈保富、孔敏、张波);241000 芜湖,皖南医学院第一附属医院弋矶山医院(杨小龙)

通讯作者:杨小龙,主任医师、教授,电子信箱:wnm2005@163.com

肿瘤的发生与发展同机体自身的免疫系统功能异常存在着十分密切的关系,抵抗肿瘤主要是以细胞的免疫功能为主,T淋巴细胞是细胞免疫系统中最为重要的组成部分^[1]。T淋巴细胞由多个亚群组成,有多种分类方法,其中按细胞表面分化抗原(CD)可将其分为 CD8⁺、CD4⁺、CD3⁺ 反应 T 淋巴细胞的总水

平,CD4⁺具有调节免疫反应的活性,可辅助 B 细胞产生抗体以及分泌细胞因子,在抗肿瘤免疫过程中处于核心地位,而 CD8⁺具有免疫抑制和细胞毒性作用,对 CD4⁺具有调节性抑制作用,机体的免疫平衡状态的维持依赖这几类细胞相互间的影响,近年来多项研究发现 T 淋巴细胞亚群在卵巢肿瘤、肺癌、消化道肿瘤中表达异常^[2]。本研究通过观察食管癌手术前后 T 淋巴细胞亚群、NK 的变化,并分析它们与食管癌临床、病理的关系。

资料与方法

1. 一般资料:观察组 96 例患者均于 2013 年 6 月~2014 年 9 月至笔者所在科室接受食管癌手术治疗。其中,男性 80 例,女性 16 例,患者年龄 37~80 岁,平均年龄 65.33±9.74 岁。健康体检者志愿留取空腹血液标本 26 例作为对照组,其中男性 21 例,女性 5 例(年龄 45~72 岁,平均年龄 63.73±9.14 岁)。各组间年龄比较,差异无统计学意义($P < 0.05$)。(1)观察组纳入标准:所有患者均确诊为食管癌;手术前未经放、化疗;近期无外伤、感染、感冒等疾病;术前检查无严重心、肺、肝、肾功能障碍;KPS 评分(Karnofsky 评分)≥70 分;无食管穿孔及活动性出血;手术完整切除肿瘤并行淋巴结清扫、消化道重建,术后无肺部感染、吻合口瘘等并发症;患者志愿接受此项血清学检查。(2)观察组排除标准:癌肿无法完整切除,仅行姑息手术的患者;术后出现切口感染、肺部感染、吻合口瘘、全身炎症反应综合征的患者;不愿意接受此项血清学检查的患者;标本采集不完全或不合格者。(3)对照组纳入标准:无肿瘤病史;近期无外伤、感染、感冒等疾病;无心、肺、肝脏、肾脏功能障碍;血、尿、大便常规,血液生化,肝、肾功能检验结果无明显异常;影像学检查无异常。

2. 主要试剂:FC500 MCL 型流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特公司,PE 标记的鼠抗人 CD3 抗体、

FITC 标记的鼠抗人 CD8 抗体、FITC 标记的鼠抗人 NK 抗体、CP-Cy5.5 标记的鼠抗人 CD4 抗体、FTIC 标记的鼠抗人 CD3 抗体(均购自美国贝克曼库尔特公司)。

3. 方法:观察组:清晨空腹采集食管癌患者手术前 1 天、术后第 3 天、术后第 10 天外周静脉血各 3ml,EDTA-K2 抗凝,采集后 7h 内检测 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺)、NK。采集对照组健康体检者清晨空腹外周静脉血 3ml,EDTA-K2 抗凝,处理方法同上。应用荧光直接标记法及流式细胞仪检测外周血单个核细胞(PBMC)膜表面 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、NK。取不同荧光标记的单克隆抗体各 20μl 分别加入 100μl 的 EDTA 抗凝的外周血,4℃避光孵育 30min,加入 1ml 缓冲液洗 1 遍,1800r/min 离心 5min,上流式细胞仪检测、分析,在 FSC-SSC 散点图上圈定外周血单核细胞,加入 FLOW-COUNT 荧光微球,用 COULER 分析系统检测结果分析。

4. 统计学方法:实验结果所有数据采用 SPSS 13.0 软件分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验及单因素分析,多组间的比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 食管癌组术前、术后第 3 天、术后第 10 天与对照组 T 细胞亚群水平比较:食管癌组术前、术后第 3 天及术后第 10 天外周血 CD3⁺、CD4⁺、NK、CD4⁺/CD8⁺比值明显低于对照组($P < 0.05$),CD8⁺明显高于对照组($P < 0.05$);食管癌术后第 3 天与食管癌术前各指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。食管癌术后第 10 天 CD3⁺、NK 较术前及术后第 3 天明显升高($P < 0.05$),CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺比值较术前明显升高($P < 0.05$),术后第 10 天 CD8⁺水平较术前、术后第 3 天明显降低($P < 0.05$,表 1)。

表 1 食管癌组术前、术后第 3 天、术后第 10 天与对照组 T 细胞亚群水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	NK (%)
对照组	78.654 ± 5.837	46.800 ± 8.207	31.938 ± 7.001	1.532 ± 0.514	12.400 ± 4.458
术前	64.708 ± 14.067 [△]	38.054 ± 11.091 [△]	42.456 ± 10.240 [△]	0.937 ± 0.606 [△]	8.596 ± 8.695 [△]
术后第 3 天	63.973 ± 13.485 [△]	39.535 ± 13.351 [△]	39.319 ± 10.243 [△]	1.069 ± 0.980 [△]	8.665 ± 4.625 [△]
术后第 10 天	69.583 ± 14.688 ^{△*#}	41.969 ± 13.441 ^{△*}	35.613 ± 9.997 ^{△**}	1.152 ± 0.810 ^{△*}	9.304 ± 6.294 ^{△**}

与对照组比较,[△] $P < 0.05$;与术前比较,^{*} $P < 0.05$;与术后第 3 天比较,[#] $P < 0.05$

2. T 淋巴细胞亚群在食管癌患者术前、术后第 3 天、术后第 10 天中的水平曲线:食管癌术后 CD3⁺、

CD4⁺、NK 呈上升趋势,而 CD8⁺呈下降趋势(图 1)。

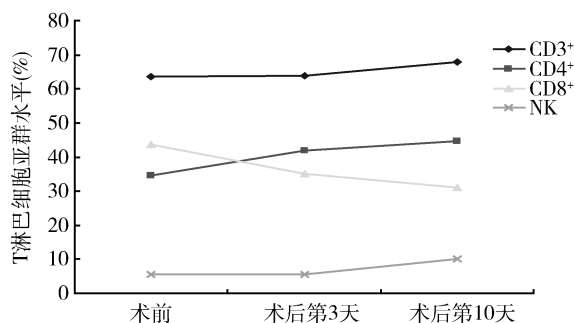


图1 T淋巴细胞亚群在食管癌术前、术后第3天、术后第10天中的表达曲线

3. 食管癌不同病理阶段术前的T淋巴细胞亚群水平:本研究病理分期均为pTNM:CD3⁺在食管癌Ⅳ期水平显著性低于Tis、Ⅰ期及Ⅱa期,在Ⅲ期水平明显低于Ⅰ期及Ⅱa期($P < 0.05$,表2)。CD8⁺在食管癌Ⅲ期、Ⅳ期水平显著性高于Tis、Ⅰ期、Ⅱa期,Ⅳ期显著高于Ⅱb期($P < 0.05$,表3)。CD4⁺/CD8⁺比值在食管癌Ⅳ期显著性低于Tis、Ⅰ期、Ⅱa期、Ⅱb期;Ⅲ期水平显著低于Tis及Ⅰ期($P < 0.05$,表4)。食管癌患者NK、CD4⁺水平在pTNM各分期水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表2 食管癌不同病理阶段CD3⁺细胞的水平($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺ (%)	F	P
Tis	6	74.000 ± 15.011 [△]		
Ⅰ期	14	71.286 ± 10.148 ^{△*}		
Ⅱa期	24	70.000 ± 17.622 ^{△*}		
Ⅱb期	12	63.500 ± 13.447		
Ⅲ期	36	60.417 ± 13.638		
Ⅳ期	4	57.000 ± 11.171		
合计	96	64.708 ± 14.067	2.310	0.051

与Ⅳ期组比较,[△] $P < 0.05$;与Ⅲ期组比较,^{*} $P < 0.05$

表3 食管癌不同病理阶段CD8⁺细胞的水平($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD8 ⁺ (%)	F	P
Tis	6	33.333 ± 13.615		
Ⅰ期	14	34.143 ± 5.097		
Ⅱa期	24	32.583 ± 7.961		
Ⅱb期	12	40.950 ± 3.522		
Ⅲ期	36	41.333 ± 11.136 ^{△**}		
Ⅳ期	4	43.667 ± 12.572 ^{△**▲}		
合计	96	42.456 ± 10.240	4.477	0.001

与Tis组比较,[△] $P < 0.05$;与Ⅰ期组比较,^{*} $P < 0.05$;与Ⅱa期组比较,[#] $P < 0.05$;与Ⅱb期组比较,[▲] $P < 0.05$

表4 食管癌不同病理阶段的CD4⁺/CD8⁺比值($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	F	P
Tis	6	1.187 ± 0.762		
Ⅰ期	14	1.115 ± 0.654		
Ⅱa期	24	1.043 ± 0.630		
Ⅱb期	12	0.925 ± 0.729		
Ⅲ期	36	0.950 ± 0.619 ^{#*}		
Ⅳ期	4	0.842 ± 0.319 ^{△**▲}		
合计	96	0.937 ± 0.606	2.985	0.015

与Tis组比较,[△] $P < 0.05$;与Ⅰ期组比较,^{*} $P < 0.05$;与Ⅱa期组比较,[#] $P < 0.05$;与Ⅱb期组比较,[▲] $P < 0.05$

4. 食管癌患者术前T淋巴细胞亚群水平影响因素:食管癌患者CD3⁺、CD8⁺与年龄、分化程度及浸润深度有关($P < 0.05$),而与性别、KPS评分、肿瘤部位、病理形态、病变长度、有淋巴结转移、病理类型均无关($P > 0.05$,表5)。

讨 论

食管癌的发生率居全国各类恶性肿瘤第5位,病死率居第4位^[3]。食管癌病因尚不明确,且术后5年生存率较低。许多研究者认为肿瘤的发生、发展由机体免疫水平低下或突变细胞免疫原性减弱引起,其中T淋巴细胞及其亚群在维持机体免疫平衡中发挥了重要作用,当T淋巴细胞亚群在数量上和功能上发生改变时,就可能导致机体免疫功能紊乱,既而易发肿瘤^[4]。机体对肿瘤的免疫基于抗肿瘤细胞免疫、肿瘤免疫抑制、免疫逃避三者之间的精确平衡,CD4⁺与CD8⁺是此消彼长的比例关系,Dick等认为:CD4⁺/CD8⁺的比值不仅反映上述两者之间的平衡关系,还可大致反映机体的抗肿瘤免疫状态^[4]。本研究结果显示,食管癌组围术期外周血具有抗肿瘤免疫调节作用的CD4⁺数量下降,而起免疫抑制和细胞毒性作用的CD8⁺T数量明显高于对照组($P < 0.05$),CD4⁺/CD8⁺比值显著低于对照组($P < 0.05$),只有在CD4⁺/CD8⁺比值正常时(1.5~2.0),机体免疫才能发挥正常的抗肿瘤作用。提示荷瘤状态下机体细胞免疫功能处于抑制状态。而术前、术后第3、10天动态监测以上指标发现,CD3⁺、CD4⁺、NK呈上升趋势,而CD8⁺呈下降趋势,更加趋近于对照组。表明手术解除肿瘤负荷后机体细胞免疫功能趋于恢复。

Andaluz-ojeda等^[5]认为可通过T淋巴细胞及其亚群计数和紊乱程度来推测肿瘤分期、患者生存时间及手术预后效果。本实验结果显示,随着食管癌患者pTNM病理分期进展,术前CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺比

表 5 食管癌组术前血清 CD3⁺、CD8⁺ 水平影响因素统计分析

临床因素		<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>	CD8 ⁺ (%)	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
性别	男性	80	63.725 ± 14.334	2.379	0.126	38.873 ± 9.802	1.569	0.213
	女性	16	69.625 ± 11.843			42.375 ± 12.132		
年龄 (岁)	≤ 49	10	65.600 ± 14.025 *	2.837	0.029	39.380 ± 5.725 *	3.283	0.015
	50 ~ 59	14	71.423 ± 10.464 *			40.286 ± 9.683 *		
	60 ~ 69	36	62.222 ± 10.999 *			38.778 ± 10.117 *		
	70 ~ 79	30	66.933 ± 15.512 *			36.400 ± 10.953 *		
	≥ 80	6	51.333 ± 21.491			48.333 ± 5.086		
KPS 评分	70	15	57.867 ± 11.057	2.212	0.115	36.793 ± 8.914	0.63	0.535
	80	55	65.611 ± 13.802			39.739 ± 10.054		
	90	26	66.704 ± 15.364			40.370 ± 11.365		
病变部位	上胸段	16	62.625 ± 13.136	4.194	0.118	40.875 ± 3.519	0.033	0.968
	中胸段	44	61.227 ± 14.016			41.496 ± 11.161		
	下胸段	36	65.444 ± 15.150			39.667 ± 11.228		
病理形态	缩窄型	8	67.000 ± 11.135	0.671	0.572	42.500 ± 4.567	2.418	0.072
	髓质型	16	61.750 ± 11.072			41.375 ± 8.838		
	蕈伞型	16	68.625 ± 13.632			39.363 ± 8.590		
	溃疡型	50	64.960 ± 15.580			37.400 ± 11.500		
病变长度	≤ 3cm	50	66.063 ± 15.573	1.512	0.226	36.563 ± 11.438	1.961	1.147
	3 ~ 5cm	24	62.000 ± 13.842			42.995 ± 9.775		
	≥ 5cm	22	67.909 ± 11.617			41.727 ± 8.686		
浸润深度	Tis	6	57.000 ± 11.171	2.285	0.066	33.333 ± 3.615	4.396	0.003
	T ₁	16	72.250 ± 9.808			36.875 ± 8.846 [△]		
	T ₂	24	66.500 ± 15.695			41.575 ± 11.144 [△]		
	T ₃	38	61.579 ± 14.939			47.947 ± 8.243 [△]		
	T ₄	12	64.833 ± 9.971			48.667 ± 12.572 [△]		
鳞癌分化程度	低分化	16	71.400 ± 11.749 [△]	3.714	0.029	41.000 ± 10.914	2.599	0.081
	中分化	56	65.393 ± 13.366 [△]			40.107 ± 9.906		
	高分化	18	55.800 ± 12.282			37.980 ± 2.547		
淋巴结转移情况	无	46	64.391 ± 13.782	0.911	0.406	37.304 ± 9.407	2.04	0.136
	有	46	64.217 ± 14.311			41.565 ± 11.079		
病理类型	远处转移	4	74.000 ± 15.011	1.074	0.346	39.950 ± 3.522	1.96	0.147
	鳞癌	90	64.921 ± 13.510			39.287 ± 9.656		
	上皮内瘤变	6	57.000 ± 11.171			43.333 ± 3.615		

与 ≥ 80 岁组比较, * *P* < 0.05; 与 Tis 组比较, [△] *P* < 0.05。6 例高级别上皮内瘤变无病理形态分型及鳞癌分化程度分级

值逐渐降低,而 CD8⁺ 逐渐升高 (*P* < 0.05),NK、CD4⁺ 水平在 pTNM 各分期水平比较,差异无统计学意义 (*P* > 0.05),此结果提示,随着食管癌的进展,免疫紊乱程度进行性加重,可通过 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD8⁺ 计数来推测食管癌的分期。T 淋巴细胞亚群紊乱程度与食管癌的病理类型、大体病理形态、病变部位、病变体积、淋巴结转移情况并无明显相关性 (*P* > 0.05),与张治等^[6] 以往研究报道相似。但实验结果表明 CD3⁺、CD8⁺ 与年龄有关,≥ 80 岁的患者免疫功能紊乱程度明显高于其他年龄组,故笔者认为 ≥ 80 岁的高龄患者围术期风险可能增加。而 Tis 组 CD8⁺ 含量显著低于 T₁₋₄ 组 (*P* < 0.05),提示肿瘤突破基膜后可能通过某种机制激活 CD8⁺ 导致机体免疫紊乱,CD8⁺ 与肿瘤浸润深度有关。

手术对机体免疫功能具有双重作用,本实验食管癌术后第 3 天较食管癌术前 CD3⁺ 稍下降 (*P* > 0.05),手术创伤及麻醉短期内可能使辅助免疫细胞水平进一步降低;食管癌组第 10 天 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、NK 水平较术前明显好转 (*P* < 0.05),可能提示手术解除了食管癌患者荷瘤状态后免疫抑制状态逐渐恢复。对此许多研究结果显示,术后 7 天左右患者免疫功能较术前已有所恢复,与本实验结果相符^[7]。

NK 介导非特异性免疫反应,免疫反应速度快,不需要产生特异性抗体,对肿瘤细胞具有直接杀伤作用,被视为是机体抗肿瘤免疫的第 1 道关卡;虽然 NK 具有强大的抗肿瘤作用,但 NK 只占外周血淋巴细胞的 15%^[8]。本实验结果显示,食管癌组 NK 在术后第

10 天较术前、术后第 3 天升高 ($P < 0.05$), 食管癌组 NK 水平低于对照组 ($P < 0.05$), 但 NK 水平与肿瘤 TNM 分期无明显相关性 ($P > 0.05$), 可能与 NK 在外周血淋巴细胞中所占比例小, 且肿瘤中后期以 T 细胞免疫为主有关^[9,10]。故 NK 不能作为预测肿瘤分期的指标, 但其在手术前后变化有明显差异, 说明 NK 与荷瘤状态密切相关, 可以作为评估患者免疫功能状态的指标之一。

综上所述, 本研究动态探索了食管癌患者术前到术后的免疫功能变化, 分析了影响免疫功能的相关因素, 结果表明: 食管癌患者免疫功能受到抑制, 食管癌术后生存率持续较低, 可能与机体癌基因激活, 多种原因导致免疫功能再次抑制有关。手术解除肿瘤负荷后患者免疫状态改善; T 淋巴细胞亚群可能与食管肿瘤进展程度有关; T 淋巴细胞亚群、NK 在食管癌患者免疫监测中具有一定价值, 可为食管癌免疫治疗提供依据。本研究尚不能确定食管癌术后长期免疫状态是否能恢复到正常水平, 需要长期随访以及扩大样本量开展进一步研究。

参考文献

- 1 Carotenuto P, Artsen A, Osterhaus AD, *et al.* Reciprocal changes of naïve and effector/memory CD8⁺ T lymphocytes in chronic hepatitis B virus infection[J]. *Viral Immunol*, 2011, 24(1): 27-33

- 2 Zou T, Satake A, Corbo - Rodgers E, *et al.* Cuttingedge: IL - 2 signals determine the degree of TCR signaling necessary to support regulatory T cell proliferation in vivo [J]. *Immunology*, 2012, 189 (1): 28-32
- 3 邵传森. 医学免疫学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2003: 7
- 4 Thomas LJ, He LZ, Marsh H, *et al.* Targeting human CD27 with an agonist antibody stimulates T - cell activation and antitumor immunity [J]. *Oncoimmunology*, 2014; 3(1): 2725-2736
- 5 Andaluz - Ojeda D, Iglesias V, Bobillo F, *et al.* Early levels in blood of immunoglobulin M and natural killer cells predict outcome in non-septic critically ill patients [J]. *Crit Care*, 2013, 28(6): 1107-1110
- 6 张治, 张伟, 许林, 等. 食管癌、贲门癌患者 T 淋巴细胞亚群水平及临床意义[J]. *江苏医药*, 2007, 33(3): 231-232
- 7 Szczesny T, Slotwinski R, Szczesny G. Changes in humoral and cellular immunity in patients operated on due to esophageal cancer [J]. *Pol Merkuri Lekarski*, 2005, 18 (106): 478-482
- 8 Iliopoulou EG, Kountourakis P, Karamouzis MV, *et al.* A phase I trial of adoptive transfer of allogeneic natural killer cells in patients with advanced non - small cell lung cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2010, 59(12): 1781-1789
- 9 Fu B, Tian Z, Wei H. Subsets of human natural killer cells and their regulatory effects [J]. *Immunology*, 2013, 5: 1012-1021
- 10 Kerkar SP, Muranski P, Kaiser A, *et al.* Tumor - specific CD8⁺ T cells expressing interleukin - 12 eradicate established cancers in lymphodepleted hosts [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(17): 6725-6734

(收稿日期: 2015-04-08)

(修回日期: 2016-10-25)

靶向壳聚糖新型纳米药物体外抗胰腺癌细胞的实验研究

俞海波 陈海川 王哲近 麻忠武 肖 竣 贺亚东

摘 要 目的 合成靶向表皮生长因子受体 (EGFR) 壳聚糖吉西他滨纳米粒, 研究其在体外胰腺癌细胞的靶向性及对细胞增殖的影响。**方法** 采用壳聚糖制备 EGFR - 吉西他滨 - 壳聚糖纳米粒 (G - GC - Dox)、吉西他滨 - 壳聚糖纳米粒 (GC - Dox)。在体外实验研究中将药物作用于 EGFR + 胰腺癌细胞系 SW1990 细胞, 研究胰腺癌细胞体外摄取实验, 并采用四甲基偶氮唑蓝法 (MTT) 法观察该体系对胰腺癌 SW1990 细胞生长增殖的影响。**结果** EGFR - 吉西他滨 - 壳聚糖纳米粒组体外 SW1990 胰腺癌细胞平均摄取纳米药物的量明显强于同一时间点吉西他滨 - 壳聚糖纳米粒组平均摄取纳米药物的量。G - GC - Dox 组处理 12、24、48h 后细胞存活率 ($43.14\% \pm 2.51\%$ 、 $31.21\% \pm 2.37\%$ 、 $18.26\% \pm 2.75\%$) 对比 GC - Dox 组 ($64.22\% \pm 3.11\%$ 、 $45.43\% \pm 3.04\%$ 、 $35.23\% \pm 3.15\%$) 对肿瘤细胞具有更好的抑制作用 ($P < 0.05$)。**结论** 本实验成功研制了靶向 EGFR 壳聚糖吉西他滨纳米粒, 并证实了该纳米粒能提高药物在体外胰腺癌细胞的靶向性, 同时对胰腺癌 SW1990 细胞增殖具有明显抑制作用, 可能为

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目 (2013KYB248); 浙江省温州市医药卫生科研项目 (2016A02); 浙江省温州市公益性科技计划项目 (Y20160527)

作者单位: 325000 温州市中心医院肝胆外科

通讯作者: 俞海波, 副主任医师, 电子信箱: zjuboby@163.com