

· 短篇个案 ·

急性白血病患者治疗前后骨髓中 NK 细胞活性及免疫球蛋白的测定及其意义

贺其图,刘学文,贾国荣,李 静,马宏杰,李志琴,李 喆

关键词: NK 细胞活性;白血病;免疫球蛋白
中图分类号: R733.71 文献标识码: D
文章编号: 1000-8578(2007)12-0983-02

0 引言

NK 细胞是天然免疫系统的重要组成部分,绝大部分为大颗粒淋巴细胞,免疫表型为 CD3⁻、CD16⁺、CD56⁺。它能快速溶解肿瘤细胞、病毒感染细胞、骨髓与胸腺的某些细胞亚群等,无需抗体参与和事先致敏,亦不受 MHC 限制,是机体免疫监视的主要成分,可以识别和杀伤突变细胞,在机体的抗肿瘤免疫监视中起第一道防线的作用^[1]。

免疫球蛋白是 B 细胞分泌的免疫活性物质,在机体的抗感染及抗肿瘤中发挥重要作用。研究急性白血病患者体内的免疫球蛋白变化水平,对于患者延长无病生存期和减少感染事件的发生具有重要意义。

肿瘤的免疫治疗是肿瘤治疗的最新方法之一。NK 细胞活性和免疫球蛋白的研究是急性白血病患者免疫治疗的重要基础。本项研究旨在探讨急性白血病患者体内 NK 细胞活性与疾病的预后、治疗方案的选择、感染事件发生的几率的关系,并将研究结果应用于临床,更好地指导临床治疗。

1 资料与方法

1.1 资料

病例组:初发急性白血病 29 例。男 13 例,女 16 例。年龄 3~69 岁,平均年龄 31.2 岁。其中急性非淋巴细胞性白血病 20 例(M₂:6 例,M₃:6 例,M₄:4 例,M₅:4 例),急性淋巴细胞性白血病 9 例。

对 29 例患者进行化疗后,完全缓解 20 例,失访 8 例,死亡 1 例。

正常对照组:正常人 20 例,男 9 例,女 11 例。年龄 11~63 岁。

1.2 方法

1.2.1 NK 细胞活性测定 骨髓穿刺抽取骨髓液 3 ml 肝素抗凝,常规方法分离单个核细胞,采用改良四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法测定 NK 细胞的活性^[2]。

1.2.2 免疫球蛋白测定 外周血血清,经全自动生化分析仪检测。

1.3 统计方法

将结果数据输入 SPSS 11.0 软件进行统计。病例组与对照组比较采用两独立样本 *t* 检验,病例组白血病患者治疗前后 NK 细胞活性及免疫球蛋白的变化采用配对 *t* 检验;结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

各组 NK 细胞活性及免疫球蛋白含量情况,见表 1。

表 1 各组骨髓 NK 细胞活性及血清免疫球蛋白含量测定

组别	例数	NK 细胞活性 (%)	免疫球蛋白 (g/L)		
			IgG	IgA	IgM
初发组	29	13.63 ± 6.47 *	8.87 ± 1.5	72.00 ± 0.40	1.60 ± 0.39
缓解组	20	28.11 ± 8.30 *	9.93 ± 1.56	2.07 ± 0.37	1.44 ± 0.49
对照组	20	38.34 ± 7.16 *	9.24 ± 1.80	1.92 ± 0.36	1.45 ± 0.52

注: * 三组两两比较 $P < 0.01$, 初发组与缓解组比较 $P < 0.05$

实验组各类型白血病之间 NK 细胞活性比较差异无统计学意义 ($P >$

0.05);初发白血病患者与对照组相比, NK 细胞活性减低 ($P < 0.01$);白血病患者经化疗达完全缓解后, NK 细胞活性升高 ($P < 0.05$),但仍未恢复至正常水平,与正常人相比仍是减低。

血清中免疫球蛋白检测结果中,除初发组与缓解组 IgG 比较有差异外 ($P < 0.05$),其余各组免疫球蛋白含量比较差异均无统计学意义。

3 讨论

通过对白血病患者骨髓中 NK 细胞功能的检测结果分析,我们发现,初发白血病患者骨髓中 NK 细胞杀伤活性与正常对照组相比明显偏低,且这种改变与白血病的类型无关。说明白血病患者 NK 细胞功能的减低,必然导致其抗肿瘤免疫能力的大大削弱,使疾病进行性发展。本实验通过配对比较,分析了缓解期患者 NK 细胞的功能,结果显示,白血病患者达到完全缓解后,骨髓中 NK 细胞的活性增加,但尚不能达到正常水平。白血病经治疗后,即使达到完全缓解,体内仍存有一定数量的白血病细胞,这是其复发的根源,而此时 NK 细胞的功能尚未完全恢复,单纯依靠机体的免疫监视功能难以完全清除残留白血病细胞,这从一个侧面解释了获得完全缓解的白血病患者如不进行巩固化疗必将复发的原因,同时为白血病巩固维持治疗提供了理论基础^[3]。

NK 细胞的数量变化及 NK 细胞活性受很多因素的影响,IFN 及 IL 均能不同程度地增强 NK 细胞活性,IL-2 在活

化及维持人的 NK 活性上起重要作用。有研究采用流式细胞仪对恶性肿瘤患者化疗前后免疫活性细胞进行监测,结果表明,化疗前 NK 细胞明显降低, B 细胞明显增高,化疗后 NK 细胞进一步降低,而 B 细胞进一步增高。此外,韩杨等^[4]发现肿瘤患者外周血中 T 细胞和 NK

收稿日期:2006-11-14;修回日期:2007-04-05

作者单位:014010 内蒙古包头医学院第一附属医院血液科

作者简介:贺其图(1950-),男,教授,主要从事血液病诊断及治疗工作



细胞的比值 (T/NK) 呈下降趋势,晚期肿瘤患者 T/NK 值与正常对照组有显著差异。提示恶性肿瘤患者细胞免疫功能处于抑制状态。抗肿瘤药物对机体细胞免疫功能造成很大损害。临床治疗应重视调节细胞免疫功能的改善。我们应用流式细胞仪对部分初治患者(9例)进行骨髓中NK细胞数量测定,结果提示NK细胞在淋巴细胞的比例明显降低,与上述研究结果一致。而降低NK细胞活性的因素有:在杀伤肿瘤细胞的过程中消耗了大量的NK细胞;肿瘤分泌某种抑制或封闭因子使NK细胞活性降低;NK细胞在血液中再分布;单核细胞、原始细胞的增殖降低了NK作用;严重营养不良不能为NK细胞提供足够的能量。血液系统恶性肿瘤的NK细胞活性的下降可能与上述原因有关,主要为原始细胞或肿瘤细胞增殖使NK细胞数量减少或功能缺陷所致。有

些抗肿瘤药物的应用也可降低NK细胞活性。

机体具有严密的免疫监视机制,但恶变细胞在某些情况下可能通过多种机制如肿瘤细胞逃逸、肿瘤抗原诱发免疫耐受、诱导免疫细胞凋亡等机制逃避机体的免疫监视,所以针对肿瘤的特异性抗体很少产生。在本研究中,除初发组和缓解组的IgG有统计学差异外,其余各组均无显著差异,说明了抗体并非机体抗肿瘤效应的重要机制。白血病患者由于其中某些亚群减少,但有其他亚群补偿,仍然能够产生达到正常量的抗体,但是抗体的抗感染功能明显不足,可能是免疫球蛋白的质量低下或者抗体活性降低,这是白血病患者易受感染的内在原因^[5]。本实验中,虽然缓解组IgG比初发组IgG增高,但由于受机体状态、感染因素等方面的影响尚不能对白血病的诊断及预后起到预测和指导作用。

参考文献:

[1] Sherif S. Farag, Todd A. Fehniger et al. Natural killer cell receptors: new biology and insights into the graft-versus-leukemia effect [J]. Blood, 2002, 100(6), 1935-1947.
 [2] 顾忠民,马忠森,安继红,等.改良MTT法检测NK细胞活性[J].吉林大学学报(医学版),2003,29(1):119-120.
 [3] 王长安.调节NK的因素[J].国外医学免疫学分册,1986,2:87.
 [4] 韩杨,李长岭,鲁力,等.肾细胞癌和膀胱癌患者的T和NK细胞链水平与临床意义[J].中华肿瘤杂志,2004,26(3):158-160.
 [5] Minegishi Y, Ishii N, Tsuchida M, et al. [J]. Bone Marrow Transplant, 1995, 16(6):801-806.

[编辑:安凤;校对:马福元]

(上接第970页)

则须尽早施行手术治疗,包括LEEP刀或子宫切除治疗等;而对于CIN 级以下的HPV高危型感染患者,也应及早采用药物干预治疗,并定期复查,以降低细胞恶性转化的风险,提高宫颈癌防治效率^[3]。本研究试用5-Fu可吸收缓释药膜来治疗宫颈HPV高危型感染。5-Fu可用于HPV高危型感染的治疗,使高危型HPV-DNA的负荷量降低。其作用机制主要涉及:HPV16、18型的E6/E7区蛋白通过结合并降解p53,促进细胞周期失控,而5-Fu可下调E6/E7区蛋白的表达^[5、6],同时上调p53、bax等促凋亡基因的表达^[7]。鉴于宫颈的解剖特点,为了最大限度的发挥5-Fu的药效而避免其生物副反应性,我们采用了可吸收缓释药膜(中国发明专利)这一剂型^[8]。5-Fu可吸收缓释药膜选用明胶作为载体,其组织相容性好,在缓释5-Fu的同时能很好的被组织吸收,促进宫颈糜烂面的愈合。在药膜应用后,能使局部保持较高5-Fu浓度,且较长时间缓慢释放,以降低5-Fu的生物学毒性。本研究发现对于诊断后6个月未自然转阴的HPV高危型阳性患者,进行5-Fu药膜治疗,治疗后HPV高危型病毒负荷量呈明显下降趋势,并与治疗第6个月出现32%的转阴率,而对照组仅有16%;6个月时阴道镜下病理活检证实治疗组CIN 级的缓解率高达52%,与对照组(8%)相比,差异具有统计学意义(P<0.05),进一步验证了5-Fu可吸收缓释药膜的有效性。

总之,宫颈细胞学检查联合HPV分型检测能

够提高宫颈病变的特异性检出,干预治疗可部分清除宫颈HPV高危型感染,中断CIN 的细胞恶性转化,对降低宫颈癌发病率及死亡率有重要意义。

参考文献:

[1] Petry KU, Menton S, Menton M, et al. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients [J]. Br J Cancer, 2003, 88(10): 1570-1577.
 [2] Lorincz AT, Richart RM. Human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cytology in cervical screening programs [J]. Arch Pathol Lab Med, 2003, 127(8): 959-968.
 [3] 郎景和.迎接子宫颈癌预防的全球挑战与机遇[J].中华妇产科学杂志,2002,37(3):129-131.
 [4] Mandelblatt JS, Lawrence WF, Womack SM, et al. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer [J]. JAMA, 2002, 287(18): 2372-2381.
 [5] Didelot C, Mirgolet JF, Barberi-Heyob M, et al. Oncoprotein expression of E6 and E7 dose not prevent 5-Fu mediated G1/S arrest and apoptosis in 5-Fu resistant carcinoma cell lines [J]. Int J Oncol, 2003, 23(1): 81-87.
 [6] Hsu LC, Lee RM, White RL, et al. The HPV16 E6/E7 onco-gene sensitizes human ovarian surface epithelial cell to low-dose but not high-dose 5-Fu and 5-FudR [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 320(1): 249-255.
 [7] Yim E K, Lee K H, Bae J S, et al. Proternic analysis of antiproliferative effects by treatment of 5-Fu in cervical cancer cell [J]. DNA Cell Biol, 2004, 23(11): 769-776.
 [8] 卢运萍,李振凡,张宁,等.可吸收药膜缓释抗生素的实验研究[J].同济医科大学学报,1989,18(3):177-178.

[编辑:周永红;校对:杨卉]

