

口腔鳞癌转移淋巴结淋巴细胞的增殖及杀伤活性

杨宏宇¹, 黄洪章², 吴雅成¹, 吴新中¹, 李卫国¹, 李金荣³

(中山医科大学 1. 附属第三医院口腔科, 广东 广州 510630; 2. 孙逸仙纪念医院
口腔颌面外科, 广东 广州 510120; 3. 湖北医科大学口腔医学院, 湖北 武汉 430079)

摘要:【目的】观察口腔鳞癌肿瘤浸润淋巴细胞和转移淋巴结淋巴细胞, 哪一种更适于作过继免疫治疗。【方法】从 15 例口腔鳞癌原发灶及其中 5 例转移灶中分离肿瘤浸润淋巴细胞和转移淋巴结淋巴细胞, 体外培养, 观察两种来源的淋巴细胞增殖能力; 用 ³H-TdR 4 h 释放法对 5 例口腔鳞癌的肿瘤浸润淋巴细胞和转移淋巴结淋巴细胞对自体肿瘤杀伤活性进行比较。【结果】转移淋巴结淋巴细胞较肿瘤浸润淋巴细胞扩增高峰延迟 1 周, 转移淋巴结淋巴细胞培养 5 周后仍显示强有力的扩增潜力。3 周时肿瘤浸润淋巴细胞对自体肿瘤的杀伤活性较转移淋巴结淋巴细胞强 ($P < 0.02$), 分别为 35% 和 23%; 4 周时转移淋巴结淋巴细胞对自体肿瘤的杀伤活性大于肿瘤浸润淋巴细胞 ($P < 0.02$), 分别为 53% 和 40%。【结论】在口腔鳞癌患者的过继免疫治疗中, 转移淋巴结淋巴细胞比肿瘤浸润淋巴细胞有更大的潜力。

关键词: 口腔肿瘤; 淋巴细胞, 肿瘤浸润; 细胞毒活性, 免疫; 转移淋巴结淋巴细胞

中图分类号: R739.8 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2000)04-0266-02

Proliferative Ability and Cytotoxicity of Metastatic Lymph Node Lymphocytes from Oral Squamous Cell Carcinoma

YANG Hong-yu, HUANG Hong-zhang, WU Ya-cheng, WU Xin-zhong, LI Wei-guo, LI Jin-rong

(Department of Stomatology, Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】To observe tumor infiltrating lymphocyte (TIL) and metastatic lymph node lymphocyte (MLNL) from patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC), which has greater potentiality for adoptive immunotherapy. 【Methods】TIL were isolated from fresh tumor tissues in 15 patients with OSCC and MLNL were obtained from metastatic lymph nodes in 5 patients with OSCC. The proliferative ability of TIL and MLNL were observed. The cytotoxicity against autologous tumor cells of TIL and MLNL were analyzed comparably using ³H-TdR 4 h-release method. 【Results】The proliferative peak of MLNL was one week later than TIL, which exhibited strongly expansive potentiality after 4 weeks in culture. Culturing for 3 weeks, the cytotoxicity against autologous tumor cells of TIL was stronger than MLNL (35% vs 23%, $P < 0.02$), while culturing for 4 weeks, the latter became stronger than the former (53% vs 40%, $P < 0.02$). 【Conclusion】These results suggest that using MLNL as adoptive immunotherapy for patients with OSCC has greater potentiality than using TIL.

Key words: mouth neoplasms; lymphocytes, tumor-infiltrating; cytotoxicity, immunologic; metastatic lymph node lymphocyte

口腔鳞癌暴露于口腔环境中, 有丰富的引流淋巴结, 可以获得足够肿瘤浸润淋巴细胞数量用来治疗, 它的特殊解剖位置为局部注射肿瘤浸润淋巴细

胞提供了方便。用肿瘤浸润淋巴细胞对口腔鳞癌患者进行过继免疫治疗具有极大的优势。本研究对口腔鳞癌同一患者的肿瘤浸润淋巴细胞和转移

淋巴结细胞的增殖能力及杀伤活性进行比较,观察哪一种来源淋巴细胞更适于作过继免疫治疗。

1 材料与方 法

1.1 标本来源

1997~1998年住院手术患者,经病理证实的口腔鳞癌15例,其中牙龈癌2例,舌癌7例,颊癌5例,口底癌1例,颈淋巴结转移7例。

1.2 淋巴细胞的分离与培养

肿瘤细胞和淋巴细胞用酶消化,不连续梯度淋巴细胞分离。用含100 ml/L胎牛血清的RPMI-1640培养液调节细胞浓度为 $2 \times 10^8/L \sim 5 \times 10^8/L$,按 $1 \times 10^6 U/L$ 加入rIL-2,置 $37^\circ C$,体积分数5% CO₂培养箱中,每隔3~4 d调整细胞浓度,并补充rIL-2以维持培养浓度。用台盼蓝鉴定活细胞。

1.3 杀伤活性的测定

用³H-TdR 4 h释放法测定肿瘤浸润淋巴细胞和MLNL的杀伤活性,按下式计算杀伤细胞释放率^[1]:

杀伤细胞释放率(%)=

$$\left(1 - \frac{\text{实验组放射性核素计数值}}{\text{对照组放射性核素计数值}}\right) \times 100\%$$

2 结 果

2.1 淋巴细胞获得率及活力

15例口腔鳞癌中每克肿瘤组织分离所得肿瘤浸润淋巴细胞 $(0.3 \pm 0.2) \times 10^8$ 细胞,5例转移淋巴结 $(2.1 \pm 0.6) \times 10^8$ 细胞(7例中有2例污染而不计),所有淋巴细胞活力均 $> 92\%$ 。

2.2 肿瘤浸润淋巴细胞和转移淋巴结淋巴细胞的增殖

肿瘤浸润淋巴细胞在培养24 h内即开始聚集成团块,多呈悬浮生长。第5~7天数目显著增加。来源于转移淋巴结的转移淋巴结淋巴细胞第4周才达增殖高峰,而肿瘤浸润淋巴细胞第3周即可达增殖高峰。第4~5周肿瘤浸润淋巴细胞增殖变缓,有的细胞开始皱缩、碎裂、死亡,而转移淋巴结淋巴细胞显示继续强劲增殖的趋势。60%的淋巴细胞在培养第5周可扩增10~100倍,6例 > 100 倍。TIL和MLNL增殖比较见图1。

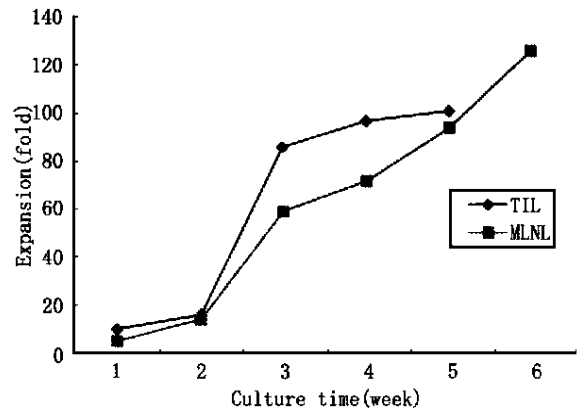


图1 口腔鳞癌肿瘤浸润淋巴细胞和转移淋巴结淋巴细胞的增殖

Fig. 1 Proliferation of tumor infiltrating lymphocyte (TIL) and metastatic lymph node lymphocyte (MLNL) from oral squamous cell carcinoma

2.3 肿瘤浸润淋巴细胞和转移淋巴结淋巴细胞杀伤活性的比较

3周时转移淋巴结淋巴细胞对自体肿瘤杀伤活性小于肿瘤浸润淋巴细胞($P < 0.02$),分别为23%和35%;4周时转移淋巴结淋巴细胞杀伤活性大于肿瘤浸润淋巴细胞($P < 0.02$),分别为53%和40%。

3 讨 论

肿瘤引流淋巴结由于位置特殊,它既不同于产生淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine activated killer cell, LAK)的外周血,又异于产生肿瘤浸润淋巴细胞的肿瘤部位,而且肿瘤引流淋巴结与肿瘤扩散和转移密切相关。它既是肿瘤细胞远处转移的天然屏障,又是肿瘤转移的重要中介^[2]。肿瘤引流淋巴结内的肿瘤细胞是否转移至他处,与肿瘤细胞本身性质及淋巴结功能状态有关。转移到淋巴结内的肿瘤细胞具有某些独特性质(包括转移能力)是肿瘤细胞远处转移的一个因素,但是肿瘤发生发展过程中造成淋巴结内的免疫抑制状态是肿瘤转移的决定因素。因此,肿瘤引流淋巴结很早就引起了学者们的重视^[3]。

近年来,以提高患者的免疫功能为目的的生理性免疫治疗被寄予了厚望^[4,5]。如何解除免疫抑制状态,并获得足量的肿瘤浸润淋巴细胞是进行过

(下转第301页)

作范围,具有一定的临床价值。当然,要保证重塑后根管形态的稳定,首先要保证修复材料的强度、韧性及材料与根管壁牙本质之间的粘接性能。

3.3 临床运用中的注意事项

利用根管重塑的方法可以改善根管的形态,扩大桩冠的使用范围,但在临床上必须严格把握适应证。一般来说,主要用于根面周边均有牙体组织的喇叭型根管口、轻度根内吸收或旧桩拆除后余留薄壁的根管。对于余留根管壁过薄、牙根已有明显裂纹者或根面组织(颊、舌、近中、远中面)缺损至龈下者均应慎重考虑。由于Super Bond C &B 是化学固化型树脂,因此操作应迅速,所有操作均应在固化过程的丝状前期内进行。另外,调拌温度对材料的固化时间影响很大,一般应保持调盘的温度在12℃以下为宜。理论上讲,Super Bond C &B 材料在口内的固化时间为5~8 min,但在临床使用时发现要达到较高的硬度需较长时间,因此建议在根管重塑后过半天再行铸桩制作。

(编辑 张敏瑞)

(上接第267页)

继免疫治疗要解决的重要问题。口腔鳞癌组织中浸润淋巴细胞较丰富,但由于其处于口腔有菌环境中,分离和培养较困难。口腔鳞癌引流淋巴结含有更为丰富的淋巴细胞,与原发灶相比不受口腔环境污染,分离培养较易成功,易获得大量肿瘤浸润淋巴细胞。且引流淋巴结受侵入肿瘤的不断刺激,分离的转移淋巴结淋巴细胞具有特异性。

本研究显示,转移淋巴结淋巴细胞虽较肿瘤浸润淋巴细胞增殖延迟,但4周后仍显示强劲的增殖势头。3周时肿瘤浸润淋巴细胞杀伤活性比转移淋巴结淋巴细胞强($P < 0.02$),但在4周时,后者远远大于前者($P < 0.02$)。肿瘤浸润淋巴细胞和转移淋巴结淋巴细胞在4周时的杀伤活性均较3周时增强,但后者增加的幅度大。

转移淋巴结淋巴细胞具有较大的增殖潜力和较强的特异性杀伤活性,来源丰富,不易受污染,在口腔鳞癌过继免疫治疗中,可能较肿瘤浸润淋巴细胞有更大的应用价值。

根管重塑技术目前仍然处于探索研究阶段,本组病例例数少、观察时间短,以后有待进一步追踪研究及推广,故此仅作初步报告。

参考文献:

- [1] 马轩祥,徐君武. 牙体缺损修复各论. 见:徐君武主编. 口腔修复学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社,1994. 58~65.
- [2] Nakabayashi N, Watanabe A, Ikeda W. Intra-oral bonding of 4-META/MMA-TBB resin to vital human dentin [J]. Am J Dent, 1995, 8(1): 37.
- [3] Lui J L. Cermet reinforcement of a weakened endodontically treated root: a case report [J]. Quintessence Int, 1992, 23(8): 533.
- [4] Lui J L. Composite resin reinforcement of flared canals using light-transmitting plastic posts [J]. Quintessence Int, 1994, 25(5): 313.

(编辑 张敏瑞)

参考文献:

- [1] 吴厚生,谢琪,姜小玲,等.³H-TdR 释放法测量细胞介导的细胞毒功能[J]. 上海免疫学杂志,1987,7(4): 230.
- [2] Tachibana T, Yoshida K. Role of the regional lymph node in cancer metastasis [J]. Cancer Metastasis Rev, 1986, 5(2): 55.
- [3] Tisch M, Heimlich F, Daniel V, et al. Cellular immune defect caused by postsurgical radiation therapy in patients with head and neck cancer [J]. Otolaryngol Head Surg, 1998, 119(4): 412.
- [4] Resser J R, Garbone D P. Immunotherapy of head and neck cancer [J]. Curr Opin Oncol, 1998, 10(3): 226.
- [5] Load A, Kode J, Chavans, et al. Limiting dilution analysis of proliferating and cytotoxicity lymphocytes in the peripheral blood and tumors of oral cancer patients [J]. Eur J Cancer Oral Oncol, 1996, 32B(5): 337.

(编辑 黄小延)