

体会到低体重患者股动脉直径小,要选择合适的股动脉插管,股动脉切口若缝合过多血管组织,容易造成狭窄。胸腔镜下手术 ECC 时间过长,导致下肢缺血的并发症发生<sup>[4]</sup>。从研究的结果来看,胸腔镜组与传统开胸组 ECC 时间、手术时间、术后呼吸机辅助呼吸时间、低心排综合征及术后半年随访的外科治疗效果差异无统计学意义。胸腔镜组引流量、住院时间、术后切口疼痛例数少于传统开胸组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。说明胸腔镜心脏不停跳下房间隔缺损手术操作方便、简化和安全。胸腔引流量减少主要与胸腔镜手术的创面小,不需要损伤前纵隔的组织和胸骨有关。胸腔镜下手术对骨骼系统无损伤,加上手术切口小,因而手术后的疼痛轻,缩短了患者住院时间。总之,电视胸腔镜心脏跳动下

房间隔缺损修补手术具有创伤小、恢复快、疼痛轻的特点,是可行的。

#### 参考文献

- 1 徐学增,俞世强,刘金成,等.全胸腔镜与经胸封堵治疗小儿房间隔缺损的对比研究[J].中国胸心血管外科临床杂志,2007,14(5):338-340.
- 2 Argenziano M, Williams MR. Robotic atrial septal defect repair and endoscopic treatment of atrial fibrillation[J]. Semin Thorac Cardio Surg, 2003, 15(2): 130-140.
- 3 林辉,李香伟,莫安胜,等.体外循环内直视手术 1097 例报告[J].中国临床新医学,2009,2(1):1-3.
- 4 杜正隆,凌毅,钟齐庆,等.全电视胸腔镜下先天性心脏病的外科治疗研究[J].中国体外循环杂志,2007,5(4):216-217.

[收稿日期 2012-12-31][本文编辑 宋卓孙 蓝斯琪]

## 课题研究·论著

# 晚期鼻咽癌患者特异性细胞免疫效果观察

周微雅, 曾毅, 周玲

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(编号:桂科自 9632023)

作者单位: 530021 南宁,广西临床检验中心(周微雅); 100001 北京,中国疾病预防控制中心(曾毅,周玲)

作者简介: 周微雅(1956-),女,大学本科,主任技师,研究方向:临床免疫。E-mail:zhouweiya2008@126.com

**[摘要]** 目的 探讨晚期鼻咽癌患者对 EB 病毒晚期潜伏膜蛋白(EBV-LMP)的特异性细胞免疫应答问题。方法 提取鼻咽癌患者自体单个核细胞体外培养,加入 EBV-LMP<sub>2</sub> 抗原制成致敏淋巴细胞,致敏淋巴细胞经患者皮内注射,观察其细胞免疫指标水平的变化。结果 经致敏淋巴细胞注射后的鼻咽癌患者其 EB 病毒特异性细胞免疫水平随注射次数的增加而明显增高。结论 鼻咽癌患者特异性细胞免疫治疗可作为鼻咽癌治疗的有效辅助手段。

**[关键词]** 鼻咽癌; 特异性细胞免疫

**[中图分类号]** R 739.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2013)11-1041-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.11.04

## Curative effect observation of specific cellular immunity in advanced nasopharyngeal carcinoma patients

ZHOU Wei-ya, ZENG Yi, ZHOU Ling. Guangxi Center for Clinical Laboratory, Nanning 530021, China

**[Abstract]** **Objective** To probe into specific cellular immunity to EBV-LMP in advanced nasopharyngeal carcinoma patients. **Methods** Peripheral blood mononuclear cell drawn from nasopharyngeal carcinoma patients were cultured in vitro. EBV-LMP<sub>2</sub> was added to prepare sensitized lymphocytes cells, which was injected into patients. Change in specific cellular immunity level was observed. **Results** With sensitized lymphocytes cell injected specific cellular immunity level increased in nasopharyngeal carcinoma patients. **Conclusion** Specific cellular immunity cure can be effective adjuvant therapy to the nasopharyngeal carcinoma patients.

**[Key words]** Nasopharyngeal carcinoma; Specific cellular immunity

EB 病毒与非洲 Burkitt's 淋巴瘤和鼻咽癌(NPC)的关系十分密切<sup>[1,2]</sup>,在众多的 EB 病毒编码抗原基因中,EB 病毒核抗原(EBNA2)和 EB 病毒晚期潜伏膜蛋白(LMP)两种基因及产物对 EB 病毒的致癌转化最为重要;在淋巴细胞中 EBNA2 与细胞永生有关,而 LMP 促使细胞恶性转化。LMP 基因不仅是淋巴瘤转化的重要致癌基因,而且也可能是鼻咽癌的重要致肿瘤基因<sup>[3,4]</sup>。在人鼻咽癌的细胞中已发现存在 LMP 的表达,且在机体内能诱导特异性细胞毒细胞(CTL)。在与 EB 病毒有关的鼻咽癌的发生、发展及预后方面,机体对 EB 病毒的细胞免疫应答十分重要,认为 LMP 是诱导细胞免疫的主要成分。我们用 LMP 作为刺激抗原,诱导鼻咽癌病人自身的特异性细胞免疫,观察其特异性细胞免疫水平的变化,报告如下。

### 1 对象与方法

**1.1 对象** NPC 晚期患者 23 例,其中男 14 例,女 9 例,年龄 38~61 岁,均为经病理检查证实的 NPC 晚期患者。

### 1.2 方法

**1.2.1 特异性细胞免疫致敏淋巴细胞制备** 患者入院后即抽取静脉血 20 ml,分离单个核细胞,调整细胞浓度至  $2 \times 10^6/\text{ml}$ ,置培养板中培养,3 d 后培养物用白细胞介素-2(IL-2)处理(20 U/ml),使细胞增殖,当细胞增殖至足够数量时,加入 EBV-LMP<sub>2</sub>,继续培养。细胞变大透亮及达到所需数量时收集细胞。调整细胞浓度至  $2 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7/\text{ml}$ ,分装数管冻存于液氮中,作为特异性细胞免疫刺激细胞。分别于 1、2、3、4 周取特异性免疫刺激细胞注射于患者前臂皮内,同时抽取静脉血 10 ml,分离单个核细胞冻存,作为细胞毒细胞检测反应细胞。

### 1.2.2 特异性细胞毒细胞检测

**1.2.2.1 试剂来源** 试剂由硝酸纤维素膜 96 孔板、人  $\gamma$  干扰素单抗、酶标抗体及 EBV-LMP<sub>2</sub> 多肽组

成,其中多肽设计参照 EBV-LMP<sub>2</sub> 多肽库序列,其表位序列见表 1。所有试剂均由英国伯明翰大学 Rickinson 教授提供。

表 1 EBV-LMP<sub>2</sub> 肽表位序列

| EBV-LMP <sub>2</sub> | 氨基酸位置   | 肽序        |
|----------------------|---------|-----------|
| CLG                  | 426-434 | CLGGLHIMV |
| LLW                  | 329-337 | LLWTLVLL  |
| FLY                  | 356-364 | FLYALALL  |
| LLS                  | 447-455 | LLSAWTLTA |
| LTA                  | 453-463 | LTAGFLIFL |

**1.2.2.2 实验方法** 参照 Asani<sup>[5]</sup>方法,人  $\gamma$  干扰素单抗加入纤维素膜 96 孔板 50  $\mu\text{L}/\text{孔}$ ,包被过夜。10% 牛血清白蛋白 20  $\mu\text{L}/\text{孔}$  封闭,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 2 h,加入淋巴细胞  $4 \times 10^4/\text{孔}$ ,同时加入不同表位的 LMP<sub>2</sub> 多肽,终浓度为 20  $\mu\text{mol}/\text{孔}$ ;阴性对照加入 1640 培养液 100  $\mu\text{L}/\text{孔}$ ;阳性对照加入植物血凝素 25  $\mu\text{g}/\text{孔}$ ;37  $^{\circ}\text{C}$  过夜。加入生物素抗 IFN- $\gamma$  偶联物 50  $\mu\text{L}/\text{孔}$ ,置室温 4 h,使之与细胞生长部位 IFN- $\gamma$  复合物结合,再加入亲合素酶标记物 50  $\mu\text{L}/\text{孔}$ ,室温 2 h,与生物素分子结合。加入显色液显色 15 min,室温干燥。显微镜下观察结果,凡着蓝色的为阳性细胞,计数阳性细胞。阳性孔阳性细胞数大于阴性孔阳性细胞数 2 倍以上的为实验成立。阳性细胞数 > 50 个以上或阳性细胞数 > 阴性孔阳性细胞数 2 倍以上判为阳性,计算阳性细胞比率。

**1.3 统计学方法** 采用  $\chi^2$  检验进行统计学处理。

### 2 结果

23 例晚期鼻咽癌患者初始 CTL 只有 5 例阳性且均处于低水平表达,经特异性刺激细胞注射后,CTL 明显高于注射前,并且随注射次数的增加 CTL 显示出逐渐增高的趋势。23 例患者除 2 例注射部位稍红肿及 1 例低热外,其余病例无不良反应。CTL 阳性率(%)结果见表 2。

表 2 EBV-LMP<sub>2</sub> 特异性 CTL 检测阳性率(%)结果

| 治疗<br>周期 | NPC 患者序号 |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|----------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|          | 1        | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   | 14   | 15   | 16   | 17   | 18   | 19   | 20   | 21   | 22   | 23   |
| 1 周      | 0.0      | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 5.0  | 0.0  | 7.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  | 7.0  | 0.0  | 0.0  | 8.0  | 0.0  | 0.0  | 2.0  | 0.0  | 0.0  | 0.0  |
| 2 周      | 10.0     | 18.0 | 21.0 | 18.0 | 15.0 | 12.0 | 17.0 | 20.0 | 16.0 | 25.0 | 15.0 | 17.0 | 18.0 | 30.0 | 22.0 | 18.0 | 32.0 | 15.0 | 15.0 | 13.0 | 16.0 | 13.0 | 16.0 |
| 3 周      | 35.0     | 30.0 | 40.0 | 32.0 | 28.0 | 21.0 | 39.0 | 34.0 | 32.0 | 40.0 | 32.0 | 30.0 | 36.0 | 48.0 | 50.0 | 31.0 | 50.0 | 29.0 | 29.0 | 22.0 | 24.0 | 30.0 | 32.0 |
| 4 周      | 58.0     | 49.0 | 60.0 | 55.0 | 42.0 | 40.0 | 58.0 | 55.0 | 60.0 | 71.0 | 45.0 | 42.0 | 50.0 | 79.0 | 68.0 | 54.0 | 81.0 | 40.0 | 41.0 | 40.0 | 47.0 | 50.0 | 54.0 |

### 3 讨论

肿瘤的发生和发展除外界因素外,自身的细胞

免疫起很大作用。长时间的探索,人们认识到肿瘤免疫的基础是肿瘤特异性抗原的存在,以及免疫系

统对肿瘤细胞的有效应答,特别是 CTL 细胞,其在肿瘤的免疫排斥中起关键作用。EBV 感染人 B 淋巴细胞后 B 细胞发生转化,并伴随着 9 个与细胞内病毒感染有关的病毒编码蛋白,其中之一即为 LMP, LMP 的特殊结构通过反复刺激外周血或肿瘤中的淋巴细胞,使之成为获得肿瘤抗原信息的特异性 T 细胞,这些特异性 T 细胞能对肿瘤细胞发生特异性杀伤效应。而 CTL 对肿瘤发生杀伤受 HLA 限制,因此,需要有相同的 HLA 匹配。NPC 患者的特异性细胞免疫处于免疫抑制状态,通过活化后的致敏淋巴细胞的刺激,激活了患者的免疫系统,而且为来源于自身的淋巴细胞,很好地解决了 HLA 匹配问题。另外通过根据 HLA 限制的潜伏感染膜蛋白 CTL 表位合成的 LMP<sub>2</sub> 短肽,识别靶细胞 MHC-1 类分子结构中的抗原多肽,用酶联免疫斑点法可检测 NPC 患者的细胞免疫水平。我们发现,患者对 EB 病毒的细胞免疫普遍很低,但通过携带 EBV-LMP<sub>2</sub> 多肽的自体细胞反复刺激后,患者的 CTL 明显增高。研究表明,用 EBV-LMP<sub>2</sub> 作为刺激抗原可诱导 EB 病毒特异性免疫的产生,这将为鼻咽癌的细胞免疫治疗

提供新的途径。

#### 参考文献

- 1 钟亮星,段 辉,邓粤敏. EB 病毒 EA/IgA 抗体定量检测在鼻咽癌血清学诊断中的意义[J]. 现代检验医学杂志,2006,21(2):58-59.
- 2 冯海燕,莫颖禧,周晓莹,等. 鼻咽癌患者血浆 EB 病毒 DNA 水平与肿瘤的分期关系[J]. 耳鼻喉头颈外科杂志,2008,22(6):277-278.
- 3 Ben Nasr H, Chahed K, Remadi S, et al. Expression and clinical significance of latent membraneprotein-1, matrix metaloprotease-1 and Ets-1 transcription factor in tunisian nasopharyngeal carcinoma patients[J]. Arch Med Res,2009,40(3):196-203.
- 4 Endo K, Kondo S, Shackelford J, et al. Phosphorylated ezrin is associated with EBV latent membrane protein 1 in nasopharyngeal carcinoma and induces cell migration[J]. Oncogene,2009,28(14):1725-1735.
- 5 Asai T, Storkus WJ, Whiteside TL. Evaluation of the modified ELISPOT assay for gamma interferon production in cancer patients receiving antitumor vaccines [J]. Clin Diagn Lab Immunol,2000,7(2):145-154.

[收稿日期 2013-07-23][本文编辑 杨光禾 韦所苏]

## 课题研究·论著

# 使用自锁托槽矫治器矫治 10 例错殆畸形的临床观察

卢仕英, 谭桂萍, 黄敏方

基金项目: 广西卫生厅科研课题(编号:Z2007149); 广西自然科学基金资助项目(编号:2012GXNSFAA053164)

作者单位: 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院口腔正畸科

作者简介: 卢仕英(1987-),女,在读硕士研究生,研究方向:口腔正畸学的临床及基础研究。E-mail:lucial10@qq.com

通讯作者: 黄敏方(1966-),女,医学硕士,主任医师,研究方向:口腔科学,口腔正畸学的临床及基础研究。E-mail:mfhhmf@sina.com

**【摘要】 目的** 探讨自锁托槽矫治器在矫治错殆畸形患者中的优缺点。**方法** 对 2010~2013 年在广西壮族自治区人民医院口腔正畸科自愿选择自锁托槽进行矫治的 10 例(拔牙病例 4 例,不拔牙病例 4 例,推磨牙向远中 1 例,牙周病 1 例)错殆畸形患者的治疗资料中有关治疗疗程、方法及疗效方面进行分析。**结果** 10 例患者矫治时间 9~26(17±6.04)个月,矫治后上下殆牙列排齐整齐,磨牙关系及前牙覆殆覆盖关系正常,牙尖窝及咬殆关系良好。**结论** 自锁托槽矫治器以其独特的结构降低了弓丝与托槽槽沟间的摩擦力,从而在轻力作用下使牙齿更为有效并迅速地排齐,缩短了矫治疗程,减轻患者疼痛感,是一种高效能的矫治器。

**【关键词】** 自锁托槽矫治器; 正畸; 错殆畸形; 摩擦

**【中图分类号】** R 78 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2013)11-1043-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.11.05