

· 论 著 ·

自体 DC- CIK 细胞联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床观察

王美清 彭大为 程小珍 何立香 谢宗宙 朱燕兴

摘要：目的 观察自体 DC- CIK 细胞联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的疗效。方法 62 例确诊为肺癌的患者随机分为两组 A 组 31 例(自体 DC- CIK 联合 NP) B 组 31 例(方案单用 NP 方案化疗) ,观察治疗前后的临床疗效及免疫学指标。结果 A 组与 B 组比较 ,其有效率为(29.03% vs. 19.35%) ,疾病控制率为(74.19% vs.51.60%)(P 值分别为 0.131、0.031) ,A 组患者 CD3⁺、CD4⁺ 细胞的百分比含量较治疗前明显提高 ,差异有统计学意义(P<0.05)。结论 自体 DC- CIK 细胞联合化疗治疗晚期肺癌患者有控制肿瘤 ,改善生活质量及增强免疫功能的趋势。

关键词 肺癌 ;细胞免疫 ;DC- CIK

中图分类号 R734.2 文献标识码 A 文章编号 :1009- 9727(2012)6- 719- 03

Effect of antitumor cytokine induced killer cells and dendritic cells combined with chemotherapy on advanced non- small cell lung cancer patients. WANG Mei- qing ,PENG Da- wei ,CHENG Xiao- cheng et al. (Tumor Department of Haikou Municipal Hospital ,Haikou 570208 ,Hainan ,P. R. China)

Abstract Objective To observe the clinical effects of autologous cytokine induced killer cells (CIK)and dendritic cells (DC)combined with chemotherapy on advanced non- small cell lung cancer (NSCLC)patients. Methods The 62 non- small lung cancer patients were randomly divided into group A comprised of 31 cases (DC- CIK+NP chemotherapy group)and group B comprised of 31 cases (NP chemotherapy group) by comparing the two groups of patients with lung cancer before and after treatment of clinical curative effect and T lymphocyte subtypes in peripheral blood. Results The effective rate in group A and group B were 29.03% and 19.35% , the response rate were 29.03%and 19.35% , and the disease control rate were 74.19% and 51.60%(P=0.131 P=0.031). The levels of CD3⁺and CD4⁺in the group A increased after treatment ,which showed significant statistical difference. Conclusion The use of autologous DC- CIK combined with chemotherapy for treatment advanced NSCLC has advantages of inhibiting the growth of tumor ,enhancing immune function and improving the quality of life.

Key words Lung cancer; Cell immune; DC- CIK

肺癌的发病率和病死率不断上升 ,其病死率居所有恶性肿瘤首位。传统的手术、放疗、化疗虽取得长足进步 ,但肺癌患者的总体生存率并无明显改善 ,5 年生存率不足 15%。随着医学免疫学及分子遗传学迅速发展 ,现已发现肺癌的发生与免疫功能下降密切相关 ,因此肺癌的免疫治疗已经成为肺癌综合治疗中的重要部分^[1]。肿瘤细胞免疫治疗也称为生物治疗 ,其原理是通过为肿瘤患者补充具有杀死、抑制肿瘤能力的免疫细胞和能力 ,调节患者自身免疫功能 ,达到控制和清除肿瘤细胞的目的 ,具有低毒性和高特异性的优点^[2]。细胞因子诱导的杀伤细胞(Cytokine- induced killer cell ,CIK 细胞)是在体外经过多种细胞因子共同诱导而获得的一群异质细胞 ,其主要效应细胞为 CD3⁺ 和 CD56⁺ 细胞^[3] ,兼具有 T 细胞强大的抗癌活性和 NK 细胞非 MHC 限制杀瘤特点。树突状细胞(Dendritic cell less ,DC)是目前已知功能最强的专职

抗原提呈细胞(APC) ,故将 DC 和 CIK 联合有协调抗肿瘤的作用。现总结我院采用 DC- CIK 联合化疗治疗 62 例晚期肺癌患者 ,结果报告如下。

1 对象和方法

1.1 研究对象 我院肿瘤科自 2010 年 1 月~2011 年 6 月共入组的 62 例经细胞学或组织病理确诊为晚期非小细胞肺癌患者 ,随机分为 A 组(DC- CIK 联合 NP 方案)和 B 组(单纯 NP 方案) ,其中男性 48 例 ,女性 14 例 ,年龄为 35~75 岁 ,平均年龄为 56 岁 ;入组标准 组织学或细胞学确诊为晚期的肺癌患者 ,接受过肺癌的规范化治疗包括手术、化疗或放疗 ;年龄大于 18 岁 ,KPS 评分大于或等于 60 分 ;所有患者或由其法定代理人签署了知情同意书 ,同意进行此免疫治疗。

1.2 主要试剂 主要试剂来源上海柯莱逊生物技术有限公司 ,将淋巴细胞分离液 Ficoll- Hypaque (密度 1.077)放置于室温环境。

作者单位 海口市人民医院肿瘤科 海南 海口 570208

作者简介 王美清(1971~) ,女 广东人 本科 副主任医师 ,研究方向 肿瘤的诊断与治疗。

1.3 方法

1.3.1 DC 和 CIK 细胞的制备 机采至少 1 109 个患者的单个核细胞(PBMC),用淋巴细胞分离液分离并收集单个核细胞,加入含 10%FBS 的 RPMI-1640 培养液调整细胞浓度为 $1-2 \times 10^6/\text{ml}$ 培养 120min。其中贴壁细胞加入含 IL-4、GM-CSF 等半定量细胞因子及肿瘤抗原进行培养 DC,每 3d 换液,第 6d 加入 500U/ml、TNF- α 和 100ng/ml CD40L,并抽样送检(细菌培养和表型分析),第 7d 进行 DC 细胞收集、离心、洗涤及回输。

悬浮细胞用于培养 CIK。悬浮细胞加入 100ng/ml 的抗 CD3 单抗、100U/ml 的人重组 IL-1 等细胞因子进行培养 24h 后,再加入 500U/ml 的人重组 IL-2、1 000U/ml 的重组人 IFN- γ 继续培养,每 3d 换一次液。在第 7d 进行抽样送检,在第 10-14d 左右进行 CIK 细胞收集、离心、洗涤及回输。

1.3.2 治疗方法 A 组和 B 组的患者均以 NP 方案化疗(长春瑞滨 $25\text{mg}/\text{m}^2$ d1 d8,奈达铂 $100\text{mg}/\text{m}^2$ 分 2 次 d1 d8,21d 为一周期)。A 组患者在化疗第 9d 开始回输 DC 和 CIK 细胞,共 8 次。

1.4 疗效评价 临床疗效评价按 WHO 实体瘤近期疗效评价标准分为:完全缓解(CR):瘤体或恶性胸腔积液完全消失持续至少 4 周以上;部分缓解(PR):肿瘤最大直径减少 50%以上,或恶性胸腔积液明显减少持续至少 4 周;病情稳定(SD):肿瘤增大或缩小均不超过 25%,无新病灶;病情进展(PD):肿瘤增长大于 25%或出现新的病灶。(完全缓解+部分缓解)÷治疗总人数=有效率;(完全缓解+部分缓解+病情稳定)÷治疗总人数=疾病控制率。接受治疗后第 4 周、第 8 周评价近期临床疗效,复查胸部 CT、评估临床症状、血常规、血生化常规等,如怀疑有肿瘤转移,加做相关检查。同时观察患者的临床症状及不良反应,如 KPS 评分、食欲、睡眠、疼痛、咳嗽、声音嘶哑等。

免疫学评价:采集患者治疗前和接受 DC-CIK 治疗后 2 周末外周血 2ml,送中心实验室用流式细胞术做淋巴细胞亚型分析,评价其治疗前后的变化情况。随访:对所有入组患者均进行随访,随访起点为接受治疗的时间,随访截止时间为 2012 年 1 月。

1.5 统计分析 所有数据均采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计量资料以均数+标准差表示,用配对 t 检验分析,率的比较用卡方检验分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效 A 组有效率为 29.03%较 B 组的 19.35%明显升高,但差异无统计学意义,A 组疾病控制率为 74.19%较 B 组 51.60%明显升高,差异有统计学

意义($P < 0.05$) 结果见表 1。A 组患者 KPS 评分平均提高 10~20 分,患者自我感觉均有不同程度的改善,主要表现为咳嗽减轻,疼痛症状明显缓解,部分患者胸水完全吸收。A 组患者在回输 DC-CIK 细胞过程中有 5 例出现发热,最高体温为 38.4°C ,2 例服用吲哚美辛,其余患者可自行消退,未发生严重的不良反应。

2.2 外周血淋巴细胞亚型分析 31 例患者接受 DC-CIK 联合化疗后 2 周末,外周血 $\text{CD}3^+$ 、 $\text{CD}4^+$ 细胞百分比含量较治疗前明显增高,差异有统计学意义($P < 0.05$), $\text{CD}8^+$ 虽也略有增加但差异无统计学意义($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 1 两组患者治疗后的临床有效率和疾病控制率的比较

Table 1 Comparison of results before and after treatment in both groups

组别 Group	CR	PR	SD	PD	总例数 Total No.	有效率(%) Effective rate	疾病控制率(%) Control rate
A 组	2	7	14	8	31	29.03	74.19
B 组	1	5	10	15	31	19.35	51.60
χ^2						1.123	1.871
P 值						0.131	0.031

表 2 A 组 31 例患者治疗后外周血 T 淋巴细胞亚型变化的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 2 Variations of T lymphocyte subsets after treatment in 31 cases of Group A($\bar{x} \pm s, \%$)

时间 Time	$\text{CD}3^+$	$\text{CD}4^+$	$\text{CD}8^+$
治疗前 Before treatment	51.64 \pm 3.42	23.46 \pm 8.78	20.92 \pm 9.96
治疗后 After treatment	65.66 \pm 4.02	28.33 \pm 6.92	21.65 \pm 9.07
t 值	15.602	2.425	0.302
P 值	< 0.001	0.027	0.865

3 讨论

肺癌是世界各国最常见的恶性肿瘤之一。近 20 年的追踪发现,每年的肺癌的新病例约以 0.5% 的速率增长,经过几十年的努力,肺癌患者的 5 年生存率仍不到 15%。目前已成为严重危害人民生命和健康的常见病。长期的临床实践和临床研究已证明,在规范化治疗的框架内进行肺癌综合治疗,并不能出现肺癌治疗上的革命性突破。此,继续探讨新的肺癌治疗方案,才能遏制肺癌发病率的不断上升。随着细胞免疫学和分子生物学的发展,体内回输免疫活性细胞的过继免疫治疗已成为肿瘤治疗研究中一个新的热点。

DC 细胞是目前已知的体内功能最强的抗原提呈细胞,于 1973 年由 Steinman 和 Cohn 在小鼠脾脏中发现,因其成熟时细胞表面伸出膜状或刺状突起而得名。DC 细胞表面具有丰富的有助于抗原提呈的分子,如共刺激分子 B7-1、B7-2、MHC I、II 类分子,细胞黏附分子 ICAM-1 以及淋巴细胞功能相关抗原 LFA-1、LFA-3 等^[4],能有效激活初始 T 细胞,引发机

体长生抗肿瘤免疫反应。CIK 细胞,又称为 NK 细胞样 T 细胞。CIK 细胞,对多种不同组织来源的肿瘤细胞均有杀伤作用。体外实验结果表明患者自身来源的 CIK 的抗肿瘤活性明显强于自体淋巴细胞激活的杀伤细胞(Lymphokine-activated killer cells, LAK)。CIK 细胞主要通过以下 3 种途径发挥其抗肿瘤活性^[5]:直接识别并杀伤肿瘤细胞,通过分泌细胞因子,提高机体免疫功能抑制肿瘤细胞的生长,通过诱导肿瘤细胞的凋亡抑制肿瘤细胞生长。近年大量研究表明,DC 和 CIK 联合有协调抗肿瘤的作用。

本研究将 DC-CIK 联合化疗治疗中晚期肺癌患者,结果显示,临床有效率为 29.03%,对照组为 19.35%,差异无统计学意义($P=0.131$),而疾病控制率为 74.19%,对照组为 51.60%,差异有统计学意义($P=0.031$)。虽然有效率无明显差异,但是疾病控制率却明显高于对照组,提示 DC-CIK 联合化疗效果优于单纯化疗,能够有效抑制肿瘤的生长。经 DC-CIK 治疗后,肺癌患者外周血免疫指标 CD_3^+ 、 CD_4^+ 的百分比含量较治疗前明显增高, KPS 评分平均提高 10-20 分,提示肺癌患者自体 DC-CIK 细胞回输后,不仅可以直接杀伤肿瘤细胞,而且能有效诱导机体产生获得性免疫反应,达到有效抗肿瘤目的,并能够减轻患者的临床症状,改善生活质量,而且几乎没有不良反应。因随访时间短,大多数患者病情稳定,无法统计生存期,故需继续随访以观察其远期疗效及其对生存期的影响。

在目前强调肺癌多学科综合治疗的理念下,为使患者获得最佳的治疗效果。在接受手术、化疗、放疗标

准治疗后,细胞免疫治疗不失为一种新的辅助治疗手段,而 DC-CIK 细胞是目前的最佳选择,具有广阔的临床应用前景。该疗法可单独用于治疗,也适宜作为手术、放、化疗后的辅助疗法,以提高疗效和改善生存质量。因此,过继免疫疗法已成为肿瘤治疗的手段之一,为预防肿瘤复发、消除患者体内残留的肿瘤细胞、改善晚期肿瘤患者的生存质量提供了新的治疗途径^[6]。

参考文献:

- [1] Simon G, Ginsberg RJ, Ruckdeschel JC. Small cell lung cancer [J]. Chest Surg Clin N Am, 2001, 11: 165-188.
- [2] Ruttinger D, Winter H, van den Engel NK, et al. Immunotherapy of lung cancer: an update. onkologie, 2006, 29: 33-38.
- [3] Marten A, Schottker B, Ziske C, et al. Increase of the immunostimulatory effect of dendritic cells by pulsing with CA19-9 protein [J]. J Immunother, 2000, 23: 464-472.
- [4] Nagata S, Zisk EC, Schmidt WG. Human cytokine-induced killer cells have enhanced in vitro cytolytic activity via non-viral interleukin-2 gene transfer [J]. Genet Vaccines Ther, 2004, 2(1): 12.
- [5] Si M, Chen BA, et al. Assessment of safety and efficacy of AutoCIK cell [J]. PLA, 2004, 29 (4): 333-33. (In Chinese)
(施明, 王福生, 等. 自体 CIK 细胞治疗肝癌的安全性和有效性评价. 解放军医学杂志, 2004, 29 (4): 333-33.)
- [6] Li M, Chen BA, Li CP, et al. Treatment of primary liver carcinoma with CIK [J]. Clin Tumor J, 2004, 9(4): 416-417. (In Chinese)
(李曼, 陈宝安, 李翠萍, 等. CIK 治疗晚期原发性肝癌. 临床肿瘤学杂志, 2004, 9 (4): 416-417.)

收稿日期: 2012-03-06 编辑: 崔宜庆

(上接第 705 页)

就有可能不断产生,而这些生物因素对霍乱疫情发生发展的作用值得我们进一步研究和探讨。

参考文献:

- [1] Chen M, Pang WG, Liu YW, et al. The Results of Choleraic Analysis and Evaluation in Yulin from 2005 to 2006 [J]. J Med Pest Control, 2007, 23(5): 357-359. (In Chinese)
(陈明, 庞武贵, 刘义威, 等. 玉林市 2005-2006 年霍乱监测结果分析与评价 [J]. 医学动物防制, 2007, 23(5): 357-359.)
- [2] Liu H, Cao WZ, Si JM, et al. Investigation on polluting situation Vibrio Cholerae in Aquatic Products of Chongming County [J]. Strait J Prev Med, 2007, 13(5): 48. (In Chinese)
(陆焕, 曹卫中, 施锦明, 等. 崇明县海水产品霍乱弧菌污染调查 [J]. 海峡预防医学杂志, 2007, 13(5): 48)
- [3] Ye JL, Cheng SY, Lu QY, et al. Investigation on Polluting situation

and Study on Molecular Biology of Vibrio Cholerae in Aquatic Products of Zhejiang Province [J]. Chin J Health Lab Technol, 2007, 17(2): 214-216. (In Chinese)

(叶菊莲, 程苏云, 陆群英, 等. 浙江省海水产品霍乱弧菌污染状况调查及分子生物学研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(2): 214-216.)

- [4] Li XQ, Wang M, Yi H, et al. Molecular Characteristics of Vibrio Cholera Isolated from Aquatic Products in Guangzhou [J]. South Chin J Prev Med, 2005, 31(2): 35-38. (In Chinese)
(李孝权, 王鸣, 易洪, 等. 广州市水产品监测中霍乱弧菌分离株的分子特征研究 [J]. 华南预防医学, 2005, 31(2): 35-38.)
- [5] Kan B. New problems in monitoring of cholera [J]. Infect Dis Information, 2006, 19(1): 16-17. (In Chinese)
(阙颢. 霍乱监测的新问题 [J]. 传染病信息, 2006, 19(1): 16-17.)

收稿日期: 2012-02-16 编辑: 崔宜庆