

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2008.05.016

## DCIK 细胞治疗急性髓细胞性白血病的疗效观察

石英俊<sup>1</sup>, 陈宇光<sup>1</sup>, 吴德沛<sup>2</sup>, 孙爱宁<sup>2</sup>, 吴涤梵<sup>3</sup>, 张尚权<sup>4\*</sup> (1. 上海大学生命科学学院, 上海 200444; 2. 苏州大学附属第一医院, 江苏省血液研究所, 苏州 215006; 3. 中科英达生物技术有限公司, 上海 201318; 4. 中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

[摘要] 目的: 评价 DCIK 细胞过继免疫治疗急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)的临床疗效。方法: 选取苏州大学附属第一医院 2006 年 1 月至 2007 年 12 月所收治的 10 例确诊 AML 患者, 经规范化疗后处于完全缓解中, 经院伦理委员会批准和患者知情同意, 用血细胞分析仪分离外周血中单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC), 在体外诱导培养成 DCIK 细胞; 以流式细胞术检测 DCIK 细胞的表型, 以 MTT 法检测 DCIK 细胞对人红白血病细胞 K562 的杀伤活性, 确认质量合格后回输给患者进行抗肿瘤免疫治疗; 治疗后评价其近期临床疗效、免疫学活性及不良反应等。结果: 体外成功诱导培养 DCIK 细胞, 其对白血病细胞株 K562 的杀伤率为(58.3 ± 3.3)%; DCIK 细胞群中, CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>占(38.4 ± 9.42)%。10 例患者经治疗后, 7 例持续完全缓解(continuous complete remission, CCR), 占 70%; 患者回输 DCIK 后外周血中的 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup>的比例均有明显提高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 无一患者出现严重不良反应。结论: DCIK 能诱导机体产生特异性的免疫反应, 对急性髓细胞性白血病的治疗有较好的临床疗效。

[关键词] DCIK 细胞; 急性髓细胞性白血病; 过继免疫治疗

[中图分类号] R733.7; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2008)05-0484-05

## DCIK cells in adoptive immunotherapy of acute myeloid leukemia: a clinical research

SHI Ying-jun<sup>1</sup>, CHEN Yu-guang<sup>1</sup>, WU De-pei<sup>2</sup>, SUN Ai-ning<sup>2</sup>, WU Di-fan<sup>3</sup>, ZHANG Shang-quan<sup>4\*</sup> (1. School of Life Science, Shanghai University, Shanghai 200444, China; 2. The First Hospital Affiliated to Suzhou University, Blood Research Institute, Suzhou 215006, Jiangsu, China; 3. Shanghai Zhongke Biotech Company, Shanghai 201318, China; 4. Shanghai Institute of Biochemistry and Cytobiology, Chinese Academy of Science, Shanghai 200031, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the clinical anti-cancer efficacy of co-cultured dendritic cells with cytokine-induced killer cells (DCIK) in treating patients with acute myeloid leukemia (AML). **Methods:** Totally 10 patients, who were diagnosed as AML and completely remitted after chemical therapy in the First Affiliated Hospital of Suzhou University from Jan. 2006 to Dec. 2007, were included in this study. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) isolated from these patients were treated with standard protocol and were induced to DCIK cells, which were identified by flow cytometry. MTT assay was used to evaluate the cytotoxic effect of DCIK cells against K562 cells. The qualified DCIK cells were administered to the patients and the clinical anti-cancer efficacy, immunological activity and side effects were evaluated. **Results:** The cultured DCIK cells inhibited the K562 cells by (58.3 ± 3.3)%. In DCIK cells administered to patients, the proportion of CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> cells was (38.4 ± 9.42)%. Among the 10 patients received DCIK therapy, 7 had continuous complete remission (70%), 2 had recurrence and 1 had tumor-bearing survival. The ratios of CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, and CD56<sup>+</sup> cells in patients' peripheral blood obviously increased after DCIK infusion. No patients had serious adverse event. **Conclusion:** DCIK can induce specific immunoreaction in the immune system and has satisfactory clinical anti-cancer efficacy in treatment of AML.

[Key words] DCIK cells; acute myeloid leukemia (AML); adoptive immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(5): 484-488]

[基金项目] 上海市科委重大科技攻关计划资助项目(No. 05DZ19311)。Supported by the Key Research plan of Shanghai Science and Technology commission (No. 05DZ19311)

[作者简介] 石英俊(1982-), 女, 上海市人, 硕士研究生, 主要从事肿瘤生物治疗方面的研究

\* Corresponding author. E-mail: quansz123@hotmail.com

急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)是起源于造血干细胞的恶性疾病,在临床上除了化疗外,以造血干细胞移植为主要的治疗手段。近年来,虽然急性髓细胞性白血病初治完全缓解率正在逐渐提高,但如何进行缓解后的治疗,争取患者长期存活,及对难治复发性白血病的治疗已成为白血病治疗的难点。目前,过继性免疫治疗用于 AML 的强化治疗及难治、复发性病例诱导缓解治疗在临床上取得了较好疗效<sup>[1]</sup>。过继性免疫疗法中,细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cells, CIK)兼具 T 淋巴细胞强大的抗肿瘤活性和 NK 细胞的非 MHC 限制性杀瘤特点,成为增殖能力和细胞毒活性较强的肿瘤免疫效应细胞。研究表明<sup>[2]</sup>, CIK 与 DC 细胞共培养可以诱生以 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>(natural killer T cell, NKT)表型为主的 DCIK 细胞群,可以获得更高的抗肿瘤效果。本课题组前期研究也证实 DCIK 细胞的细胞毒活性明显大于 CIK 细胞<sup>[3]</sup>,在体外肿瘤细胞杀伤和体内小鼠肿瘤模型治疗中都取得了良好的抗肿瘤效果<sup>[4]</sup>。本研究采集 AML 患者外周血,分离出单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),经体外诱导培养成鉴定合格的 DCIK 细胞后,回输给 AML 患者进行过继性免疫治疗,取得了良好的临床治疗效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

10 例 AML 患者均为 2006 年 1 月至 2007 年 12 月苏州大学附属第一医院所收治,其中男 8 例,女 2 例,中位年龄为 37(13~52)岁。按 FAB 分类法分型, M2 为 6 例, M4 为 2 例, M5 为 2 例(表 1)。

入组标准:经临床及骨髓细胞形态学、细胞学染色和组织化学检测而确诊为急性髓细胞性白血病;接受过白血病的常规化疗后处于缓解中;末次治疗至开始接受 DCIK 治疗的间隔时间为 4 周;KPS 评分 $\geq 80$ 分。本研究获苏州大学附属第一医院伦理学委员会的批准,所有患者或其法定代理人签署了知情同意书,同意进行此免疫抗肿瘤治疗。

排除标准:正在接受放疗、化疗或其他全身抗肿瘤治疗者;同时存在其他恶性肿瘤及传染性疾病者;怀孕期或哺乳期妇女;存在违反本试验的体检或实验室检测异常者。

### 1.2 主要试剂来源

人红白血病细胞株 K562 由中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所细胞库提供。AIM-V 培养基购自 GIBCO 公司, IFN- $\gamma$  为上海生物制品研究

所提供, rhIL-2 由上海华新生物技术公司提供, rhIL-4 由 Amoytop Biotech 提供, rhGM-CSF 由复旦大学附属华山医院提供, TNF- $\alpha$  由上海塞达生物药业有限公司提供, rh-IL-1 $\beta$  由晶美生物工程有限公司提供,  $\alpha$ CD3 由 Yes 生物技术公司提供, 淋巴细胞分离液由上海试剂二厂提供, 硫酸庆大霉素由上海第一制药厂提供, 人血清白蛋白为上海生物制品所提供。

### 1.3 DC 和 CIK 细胞的体外培养

用血细胞分离仪采集 AML 患者外周血,再用淋巴细胞分离液纯化后,得到 PBMC 100 ml,约  $1 \times 10^9$  个细胞。取 PBMC 细胞接种到 AIM-V 培养液,调节细胞密度为  $1 \times 10^6$ /ml,加入 IFN- $\gamma$  1 000 U/ml,培养 2 h。将非黏附细胞移入经抗  $\alpha$ CD3 单抗包被的 100 ml 培养瓶中,添加 rh-IL-1 $\beta$  和 rhIL-2,使两者质量浓度分别为 100、300 U/ml,培养 2 d;用 CIK 液稀释至  $1 \times 10^6$ /ml 继续培养,2 d 计数 1 次并传代;在留有黏附细胞培养瓶中,加入 DC 培养液培养 5 d,加入 TNF- $\alpha$  使其达 200 U/ml,培养 7 d,相差显微镜与电镜中观察其细胞形态。

### 1.4 体外诱导 DCIK 细胞

将培养 7 d 的 DC 与 CIK 细胞 1:5 混合,按  $5 \times 10^5$ /ml 的密度继续培养 10 d 左右,收集 DCIK 细胞,加入 2 g 人血清白蛋白,置于 200 ml 0.9% NaCl 中备用。

### 1.5 DC、DCIK 细胞形态观察

取 DC(密度约  $1 \times 10^5$ /ml), PBS 洗涤 2 次,  $1\ 000 \times g$  离心 10 min, PBS 重悬,加样于多聚赖氨酸包被玻片,静置 10 min; PBS 轻洗玻片, 95% 乙醇固定 15 min; PBS 浸洗 1 min, 苏木精染色 6 min; 水浸洗, 盐酸乙醇溶液分色 5 s, 水浸洗, 淡氨水细胞核蓝化 4 min; 水浸洗, 伊红染液染色 6 min; 水浸洗, 梯度乙醇脱水; 二甲苯透明, 封片。另外, 取已制备的 DCIK 细胞, 用相差显微镜观察。

### 1.6 流式细胞术分析细胞表型

应用 FITC 标记的抗人 CD 分子单抗与淋巴细胞表面 CD 分子结合, 流式细胞仪对 DCIK 在回输前进行 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>表型鉴定; 在 DCIK 免疫治疗前后, 抽取白血病患者外周血进行淋巴细胞 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup>表型分析。

### 1.7 MTT 法检测 DCIK 细胞对 K562 细胞系的体外杀伤活性

DCIK 细胞作为效应细胞, K562 人红白血病细胞为靶细胞。将诱导培养 13 d 的 DCIK 细胞(密度为  $4 \times 10^6$  个/ml)与 K562 细胞按效靶比 10:1、5:1、

2.5:1 分别加入 96 孔板中。每 6 孔为同一组效靶比,另设单独效应细胞组和单独靶细胞组为对照组,37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养过夜。加入 MTT 液培养 5 h,离心弃上清后加入酸化异丙醇完全溶解甲臞沉淀,最后测 D<sub>570</sub> 值。计算杀伤率: 杀伤率(%) = 1 - [(ET - E)/(TC)] × 100%, 其中 T 为靶细胞, E 为效应细胞, C 为空白对照。

### 1.8 免疫治疗计划

患者在接受 AAG 等常规方案化疗后处于 CR 中,在完善治疗前经基线评估,然后取 PMBC,制备 DCIK,经鉴定其成活率达 90% 以上,无菌且无热原,体外最高效靶比时对肿瘤靶细胞的杀伤活性达 50% 以上。静脉回输鉴定合格的自体 DCIK 细胞,每次 5 × 10<sup>9</sup> 个细胞,总体积为 350 ~ 400 ml。3 d 输注 1 次,每 3 次为 1 个疗程。本课题中所列白血病患者使用 3 个疗程,每个疗程间隔 1 个月。

### 1.9 疗效评价标准和临床观察指标

观察方法包括观察临床症状、体征,血象每周 2 次,骨髓象、中性粒细胞碱性磷酸酶(neutrophilic alkaline phosphatase, NAP)每月 1 次,Ph 染色体治疗前后各检查 1 次。肝肾功能、ECG、B 超、心肌酶谱等检测依病情而定。

疗效评定标准:据 1978 年全国白血病防治协作会议附件<sup>[5]</sup>。完全缓解(complete remission, CR): (1)临床:无贫血、出血、感染及白血病细胞浸润表现;(2)血象:血红蛋白 > 100 g/L,白细胞总数 < 10 × 10<sup>4</sup>/L,分类无幼稚细胞,血小板(100 ~ 400) × 10<sup>9</sup>/L;(3)骨髓象:正常。持续完全缓解(continuous completely remission, CCR)时间从 CR 时起计算至复发为止或继续 CCR。免疫学评价:接受治疗后第 8 周,检测 10 例患者治疗后外周血中淋巴细胞 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup> 细胞的变化。

不良事件:依据美国国立癌症研究所制定的通用药物毒性反应标准,将各种不良事件分为 0 ~ IV 度, I 度 + II 度 + III 度 + IV 度为毒性反应发生率。

随访:所有患者在疗效评价之后每 3 个月随访 1 次,行骨髓形态,微小残留病灶检测。

### 1.10 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 *t* 检验,应用统计软件 OriginPro7.5 完成。

## 2 结果

### 2.1 DCIK 细胞形态的变化

体外培养 DC 细胞 H-E 染色后进行细胞形态鉴定。由图 1A 可见细胞表面呈绒毛突起,且随诱导

培养时间的延长突起明显,提示 DC 已经诱导成熟,可用于与 CIK 细胞的共培养阶段。

将 DC 与 CIK 以 1:5 混合共培养后在 Nikon 相差显微镜下观察,所诱导的 DCIK 细胞生长良好,细胞均匀透亮(图 1B)。用碘化丙啶染色后经流式细胞术检测,细胞存活率均在 90% 以上,达到鉴定质量标准。

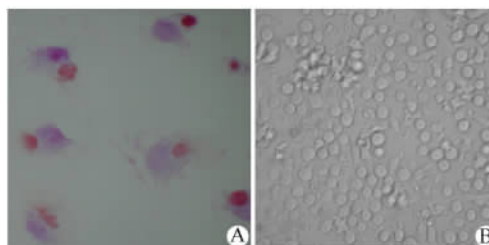


图 1 体外诱导的 DC 与 DCIK 细胞(×400)

Fig. 1 DC and DCIK cells cultured *in vitro* (×400)

A: H-E staining of dendritic cells; B: DCIK cells

### 2.2 DCIK 细胞对 K562 白血病细胞的杀伤活性

MTT 法检测结果显示,当 DCIK 细胞与 K562 细胞的效靶比为 2.5:1 时,杀伤率为(35.8 ± 5.1)%;当效靶比为 5:1 时为(47.8 ± 4.8)%;当效靶比为 10:1 时,达(58.3 ± 3.3)%。结果显示,诱导的 DCIK 细胞体外杀伤肿瘤细胞效果明显。

### 2.3 DCIK 细胞回输前表型分析

DCIK 细胞群中具有高效杀伤活性的 CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> 双阳性的 NKT 细胞。经体外培养合格的 DCIK 在回输给患者前,流式细胞术检测 CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> 细胞比例,结果显示,回输给 10 例患者的 DCIK 细胞群中,表型为 CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> 的细胞所占比例为(38.42 ± 9.42)%,符合鉴定质量标准。

### 2.4 临床疗效评价

10 位患者都完成 3 个疗程治疗,随访时间为 16 个月。结果显示,7 例 CCR,1 例复发后缓解(second complete remission, CR2),1 例复发后死亡,1 例带瘤生存。

### 2.5 免疫学疗效评价

10 例白血病患者回输 DCIK 进行免疫治疗前后,用 FACS 检测外周血中淋巴细胞的表型。在 DCIK 细胞治疗前后,CD4<sup>+</sup> 平均百分率为 35.52% vs 38.35%; CD8<sup>+</sup> 平均百分率为 21.54% vs 36.63% (*P* < 0.01); CD3<sup>+</sup> 中位百分率为 75.26% vs 65.55%; CD56<sup>+</sup> 平均百分率为 11.83% vs 21.36% (*P* < 0.05)。提示该疗法可使 CD56<sup>+</sup> 细胞明显升高,增强了杀伤肿瘤细胞活性;并且提高了患者体内

的 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 基础水平, 可诱导患者产生非特异性 T 细胞免疫反应。

2.6 治疗中发生的不良反应

在接受 DCIK 过继性免疫治疗的 10 例患者中未出现 III 度和 IV 度的严重不良反应。

表 1 AML 患者 DCIK 治疗的临床疗效评价

Tab. 1 Efficacy evaluation of DCIK treatment for patients with AML

| Case | Sex    | Age | FAB subtype | Karyotype | DCIK                | Recent efficacy                  |
|------|--------|-----|-------------|-----------|---------------------|----------------------------------|
| 1    | Male   | 46  | M5b         | Normal    | 5 × 10 <sup>9</sup> | CCR                              |
| 2    | Male   | 13  | M2a         | Normal    | 5 × 10 <sup>9</sup> | CCR                              |
| 3    | Male   | 35  | M2a         | Normal    | 5 × 10 <sup>9</sup> | Dead after 15 months' recurrence |
| 4    | Male   | 36  | M4          | Normal    | 5 × 10 <sup>9</sup> | CCR                              |
| 5    | Male   | 52  | M2a         | t(8:21)   | 5 × 10 <sup>9</sup> | CR2 after 6 months' recurrence   |
| 6    | Male   | 42  | M2          | t(8:21)   | 5 × 10 <sup>9</sup> | CCR                              |
| 7    | Male   | 39  | M5b         | Normal    | 5 × 10 <sup>9</sup> | Survival with tumor-bearing      |
| 8    | Female | 51  | M2          | t(8:21)   | 5 × 10 <sup>9</sup> | CCR                              |
| 9    | Female | 17  | M2          | Normal    | 5 × 10 <sup>9</sup> | CCR                              |
| 10   | Male   | 23  | M4          | Normal    | 5 × 10 <sup>9</sup> | CCR                              |

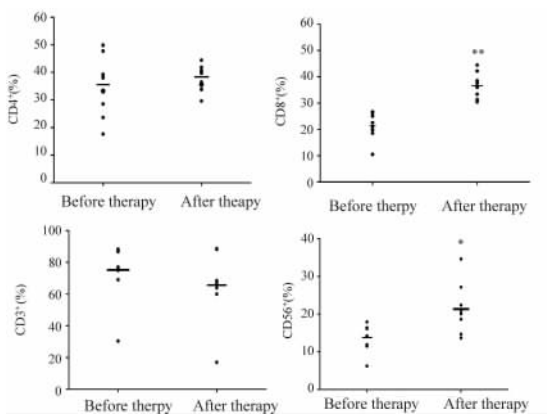


图 2 AML 患者 DCIK 治疗前后外周血

CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup> 的变化

Fig. 2 Changes of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup> in peripheral blood of AML patients before and after the DCIK treatment

\* P < 0.05, \*\* P < 0.01 vs before DCIK treatment

3 讨论

CIK 细胞是以 CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> T 细胞为主的异质

细胞群, 其抗癌谱与 LAK 细胞相似。但 CIK 细胞在体内外抗肿瘤活性比 LAK 细胞强十倍以上, 且体外增殖能力明显强于 LAK 细胞<sup>[6]</sup>。当 CIK 细胞受到敏感的靶细胞刺激时, CIK 细胞通过其表面杀伤抑制受体系统或黏附分子对靶细胞的识别, 释放穿孔素和胞质颗粒对靶细胞直接溶解, 并能够分泌 IFN、TNF、IL-2、TGF-β 和 GM-CSF 等细胞因子, 对靶细胞有直接或间接抑制与杀伤作用, 进一步放大免疫杀伤效应。CIK 细胞亦可以增强 Fas-L 的表达, 诱导表达 Fas 的肿瘤细胞发生凋亡。CIK 细胞在体内外都表现出较好的肿瘤杀伤作用。在 SCID 小鼠构建的人类 B 淋巴细胞瘤模型和原代慢性粒细胞白血病细胞接种 SCID 小鼠均证实 CIK 细胞具有抑制肿瘤细胞在体内种植、清除体内肿瘤、抑制肿瘤转移和延长小鼠生存期等作用<sup>[7]</sup>。据报道, CIK 细胞能抑制裸鼠移植瘤中 73% 卵巢癌细胞的生长<sup>[8]</sup>。另外, CIK 细胞能抑制 77% 肺癌细胞 NCI-H460 在裸鼠中的生长<sup>[9]</sup>。

树突状细胞( dendritic cell, DC )是目前发现的功能最强的抗原提呈细胞( antigen-presenting cell, APC ), 它通过处理、提呈抗原, 介导机体免疫应答。DC 与自然杀伤性细胞分别代表固有免疫系统中的两个不同角色。体内体外实验已经证明 DC 和 NK 之间存在互相作用, 并产生不同的效应, 包括 DC 和 NK 各自的活化、释放细胞因子以及各自的成熟等<sup>[10]</sup>。

最近 Marten 等<sup>[2]</sup>发现, DC 与 CIK 细胞共培养后, 两者互相作用, 促进彼此的成熟。CIK 细胞属于异质细胞群, 随培养时间延长, 其中 CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> 细胞的含量逐渐升高, 而 CD45RA<sup>+</sup> 细胞的含量逐渐减少; 经 DC 作用后的 CIK 细胞中 CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> 双阳性细胞和 CD8<sup>+</sup> 细胞的含量可进一步升高, CD45RA<sup>+</sup> 细胞的含量进一步减少。说明大量成熟的 DC 进一步促进了 CIK 细胞的成熟。另有研究<sup>[11]</sup>发现成熟的 DC 细胞可以刺激 CIK 细胞产生 IFN-γ, 但是 CIK 细胞反过来会通过穿孔素依赖的方式将不成熟的 DC 细胞杀死。Schmidt 等<sup>[12]</sup>证实, DC 与 CIK 细胞通过共培养可降低 CIK 细胞群中的免疫抑制 T 细胞( Treg 即 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 细胞 ) 而达到削弱 Treg 对抗肿瘤免疫细胞的抑制作用, 从而增强 CIK 在体内发挥细胞毒活性。另外, 在体外观察到多发性骨髓瘤的独特型抗原刺激的 DC 与 CIK 细胞共同培养能明显提高 CIK 细胞的扩增和杀伤能力, 间接说明肿瘤抗原可能具有诱导或激发 CIK 细胞扩增和杀伤活性<sup>[13]</sup>。目前 CIK 细胞治疗肿瘤已进入 I ~ II 临

床试验, 比较有肯定疗效的肿瘤包括: 血液肿瘤、泌尿与生殖系统肿瘤、神经胶质细胞瘤和消化系统肿瘤等。Leembuis 等<sup>[14]</sup>曾报道 9 例自体造血干细胞移植后再复发的淋巴瘤患者接受 CIK 细胞治疗, 3 例接受高细胞量(中位数为  $9.4 \times 10^9$  个  $CD3^+$  细胞)的患者, 2 例患者获得部分缓解, 且在治疗中未见明显的不良反应。在以化疗联合过继性免疫治疗肝癌中, 将自体 CIK 细胞通过肝动脉输注给患者, 与单纯化疗组相比, 降低了肝癌患者的 18 个月的复发率达 25%<sup>[15]</sup>。

DCIK 作为 CIK 细胞的增强细胞, 可为患者提供更佳的治疗效果。本课题组<sup>[16]</sup>同时进行的对肺癌治疗免疫治疗中, DCIK 细胞也已经表现出较好的临床疗效, 近期临床有效率达 41.6%, 中位无肿瘤进展时间可达 17.5 个月。为了检测 DCIK 对血液病肿瘤的临床疗效, 本研究共收治 10 例确诊为急性髓细胞白血病的患者, 接受自体 DCIK 输注治疗。研究中, 经体外诱导的 DC 与 CIK 细胞共培养后, 细胞群中  $CD3^+ CD56^+$  的 NKT 细胞含量明显升高。10 例患者经过继免疫治疗后, 7 例患者在随访的 16 个月中得到持续缓解, CCR 达 70%; 仅有 1 例患者因复发而死亡; 并且患者主观自我感觉也均有不同程度的改善。近期免疫学指标中, 患者外周血中  $CD4^+$ 、 $CD56^+$ 、 $CD8^+$  的比例均有明显升高, 说明在 DCIK 静脉回输后, 能有效诱导机体产生非特异性 T 细胞免疫反应。所有患者未发生严重不良反应。

总之, DCIK 细胞制剂确实具有较高的肿瘤临床价值, 可作为配合手术、放化疗治疗肿瘤的辅助手段, 基本无不良作用, 在防止肿瘤的转移和复发中发挥重要作用, 并进一步提高肿瘤患者的生存率, 改善他们的生活质量。

## [ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] Schmitt A, Reinhardt P, Hus I, *et al.* Large-scale generation of autologous dendritic cells for immunotherapy in patients with acute myeloid leukemia[ J ]. *Transfusion*, 2007, 47( 9 ): 1588-1594.

[ 2 ] Märten A, Ziske C, Schottker B, *et al.* Interactions between dendritic cells and cytokine-induced killer cells lead to an activation of both populations[ J ]. *J Immunother*, 2001, 24( 6 ): 502-510.

[ 3 ] 张 嵩, 张尚权, 白春学. 树突状细胞与同源细胞因子诱导的杀伤细胞共培养细胞在肿瘤免疫治疗中的作用[ J ]. *中华结*

核和呼吸杂志, 2004, 27( 5 ): 315-319.

- [ 4 ] 庄 捷, 曹 晖, 刘祥麟, 等. 树突状细胞与 CIK 细胞共培养诱导的 DCCIK 细胞群对肿瘤的杀伤作用[ J ]. *细胞生物学杂志*, 2007, 29( 2 ): 237-240.
- [ 5 ] 张之南. 血液学诊断及疗效标准[ M ]. 北京: 科学出版社, 1998: 171-194.
- [ 6 ] Schmidt-Wolf IG, Lefterova P, Mehta BA, *et al.* Phenotypic characterization and identification of effector cells involved in tumor cell recognition of cytokine-induced killer cells[ J ]. *Exp Hematol*, 1993, 21( 13 ): 1673-1679.
- [ 7 ] Schmidt-Wolf IG, Negrin RS, Kiem HP, *et al.* Use of a SCID mouse/human lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cells with potent antitumor cell activity[ J ]. *J Exp Med*, 1991, 174( 1 ): 139-149.
- [ 8 ] Kim HM, Kang JS, Lim J, *et al.* Inhibition of human ovarian tumor growth by cytokine-induced killer cells[ J ]. *Arch Pharm Res*, 2007, 30( 11 ): 1464-1470.
- [ 9 ] Kim HM, Lim J, Park SK, *et al.* Antitumor activity of cytokine-induced killer cells against human lung cancer[ J ]. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7( 13 ): 1802-1807.
- [ 10 ] Cooper MA, Fehniger TA, Fuchs A, *et al.* NK cell and DC interactions[ J ]. *Trends Immunol*, 2004, 25( 1 ): 47-52.
- [ 11 ] Joshi PS, Liu JQ, Wang Y, *et al.* Cytokine-induced killer T cells kill immature dendritic cells by TCR-independent and perforin-dependent mechanisms[ J ]. *J Leukoc Biol*, 2006, 80( 6 ): 1345-1353.
- [ 12 ] Schmidt J, Eisold S, Büchler MW, *et al.* Dendritic cells reduce number and function of  $CD4^+ CD25^+$  cells in cytokine-induced killer cells derived from patients with pancreatic carcinoma[ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53( 11 ): 1018-1026.
- [ 13 ] Märten A, Renoth S, von Lilienfeld-Toal M, *et al.* Enhanced lytic activity of cytokine-induced killer cells against multiple myeloma cells after co-culture with idiotype-pulsed dendritic cells[ J ]. *Haematologica*, 2001, 86( 10 ): 1029-1037.
- [ 14 ] Leemhuis T, Wells S, Scheffold C, *et al.* A phase I trial of autologous cytokine-induced killer cells for the treatment of relapsed Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphoma[ J ]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11( 3 ): 181-187.
- [ 15 ] Weng DS, Zhou J, Zhou QM, *et al.* Minimally invasive treatment combined with cytokine-induced killer cells therapy lower the short-term recurrence rates of hepatocellular carcinomas[ J ]. *J Immunother*, 2008, 31( 1 ): 63-71.
- [ 16 ] 朱 柠, 陈小东, 刘祥麟, 等. DCIK 细胞用于肺癌临床免疫治疗[ J ]. *细胞生物学杂志*, 2008, 30( 2 ): 251-256.

[ 收稿日期 ] 2008 - 07 - 04 [ 修回日期 ] 2008 - 08 - 15

[ 本文编辑 ] 郁晓路