

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.01.002

· 研究快报 ·

## HLA 半相合外周血活化干细胞治疗晚期实体瘤的疗效

韩颖<sup>1,2</sup>, 于津浦<sup>2</sup>, 李慧<sup>2</sup>, 任宝柱<sup>2</sup>, 曹水<sup>2</sup>, 张迺宁<sup>2</sup>, 安秀梅<sup>2</sup>, 任秀宝<sup>2</sup> (1. 辽宁医学院 辽宁锦州 121001; 2. 天津市肿瘤防治重点实验室 天津医科大学附属肿瘤医院 生物治疗科, 天津市 300060)

**[摘要]** 目的: 观察 HLA 半相合外周血活化干细胞(HLA haploidentical peripheral blood stem cells, haplo-PBSCs)对晚期难治性实体瘤患者的临床抗肿瘤疗效以及不良反应。方法: 入组 42 例全部为 2004 年 10 月至 2007 年 10 月天津医科大学肿瘤医院生物治疗科收治的晚期难治性恶性肿瘤患者(所有入组患者均知情同意, 试验工作经医院伦理委员会批准), 其中卵巢癌 12 例, 肾癌 9 例, 肺癌 8 例, 乳腺癌 8 例, 结肠癌 2 例, 胃癌 2 例, 恶性黑色素瘤 1 例。供者为患者健康直系亲属, 进行 haplo-PBSCs 的动员、采集和体外 rhIL-2 活化。经 HLA 半相合外周血干细胞治疗后, 分别通过 CT/PET-CT 检查、RESIST 标准、KPS 评分、临床症状缓解率等指标来评估 HLA 半相合外周血干细胞的临床疗效及不良反应情况。结果: 42 例患者接受 1 个疗程治疗后, 全体患者中位无进展生存期(PFS)为 6 个月, 临床获益率(CR + PR + SD)为 73.8%; 患者生活质量总获益率为 76.2%, 生活质量评分(KPS)较治疗前平均提高 20 分(0~30 分)。其中, KIR 不相合方向为 GVH 组的临床获益率、无进展生存期、生活质量总获益率均显著优于 HVG(或相合)组[94.1% vs 60.0%, (13.4 ± 1.3) vs (8.0 ± 0.9)个月, 89.5% vs 65.2%, 均  $P < 0.05$ ]; 供受者关系为母子/女组的治疗有效率、患者生存期和生活质量均显著优于父子/女组(均  $P < 0.05$ ); 肾癌和卵巢癌的临床获益率分别为 90.0% 和 81.8%, 相对于其他类肿瘤类型高, 在治疗反应性和敏感性上可能占优势。结论: HLA 半相合外周血活化干细胞治疗后, 机体产生非特异性的抗肿瘤作用, 对改善患者症状和提高生活质量有显著效果。

**[关键词]** 晚期实体肿瘤; HLA 半相合; 外周血活化干细胞; 免疫治疗

**[中图分类号]** R730.54 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2010)01-0007-06

## Clinical efficacy of activated-HLA haploidentical peripheral blood stem cells in treatment of advanced solid tumors

HAN Ying<sup>1,2</sup>, YU Jin-pu<sup>2</sup>, LI Hui<sup>2</sup>, REN Bao-zhu<sup>2</sup>, CAO Shui<sup>2</sup>, ZHANG Nai-ning<sup>2</sup>, AN Xiu-mei<sup>2</sup>, REN Xiu-bao<sup>2</sup> (1. Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning, China; 2. Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy of Tianjin; Department of Cancer Biotherapy, Affiliated Tumor Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the anti-tumor and side effects of activated-HLA haploidentical peripheral blood stem cells (haplo-PBSCs) in the treatment of advanced refractory solid tumor patients. **Methods:** Forty-two patients with advanced refractory tumor, who were diagnosed in our hospital from Oct. 2004 to Oct. 2007, were enrolled in this study (all patients signed informed consent), including 12 with ovarian cancer, 9 with renal cancer, 8 with lung cancer, 8 with breast cancer, 2 with colon cancer, 2 with gastric cancer, and 1 with melanoma. The donors were healthy direct relatives of the patients; the donors' haplo-PBSCs were mobilized, collected, and activated by rhIL-2 *in vitro*. The clinical efficacy and side effects of haplo-PBSCs therapy were assessed by CT/PET-CT scanning, RESIST standard, KPS score, and clinical response rates, etc. **Results:** All 42 patients received one episode of haplo-PBSCs treatment. The progression-free survivals (PFS) were 6 months and the clinical beneficial rate (CR + PR + SD) was 73.8%. The beneficial rate of life quality was 76.2% and the KPS increased by 20 (0-30) points on average after haplo-PBSCs treatment. The patients with KIR unmatched in GVH direction had better outcomes than those with KIR matched or KIR unmatched in HVG direction ( $P < 0.05$ ), and the clinical beneficial rate, PFS and total beneficial rate were 94.1% vs 60.0%, (13.4 ± 1.3) vs

**[基金项目]** 国家“十五”科技攻关引导项目资助(No. 2005BA740C);天津市科技创新项目资助(No. 06FZZDSF01500)。Project supported by the National “the 10th Five Years Plan” of Science and Technology Key Program of China (No. 2005BA740C), and the Science and Technology Innovation Program of Tianjin (No. 06FZZDSF01500)

**[作者简介]** 韩颖(1982-),女,天津市人,住院医师,硕士研究生,主要从事肿瘤生物治疗的基础和临床研究

**[通信作者]** 任秀宝(REN Xiu-bao, corresponding author), E-mail: rwziyi@yahoo.com.cn

(8.0 ± 0.9) months, and 89.5% vs 65.2%, respectively (all  $P < 0.05$ ). The donor/recipient relation as the mother/child had a better outcome than that as the father/child ( $P < 0.05$ ). Patients with renal cancer or ovarian cancer had better outcomes than those with other cancers, with clinical beneficial rates being 90.0% and 81.8%, respectively.

**Conclusion:** Activated haplo-PBSCs therapy can induce non-specific anti-tumor effect, and improve the clinical symptom and life quality of advanced tumor patients.

[ **Key words** ] advanced solid tumor; HLA haploidentical; activated peripheral blood stem cell; immunotherapy

[ Chin J Cancer Biother, 2010, 17(1): 7-12 ]

对于晚期难治性肿瘤患者的免疫治疗早在 19 世纪末就已经有学者开展了探索性的研究,当时的 Coley 等就将细菌毒素注入晚期癌症患者体内以试图激活其自身免疫功能,但由于此时患者体内已经产生明显的免疫耐受现象<sup>[1]</sup>,使得该治疗难以奏效。Ferrantini 等<sup>[2]</sup>指出过继性免疫治疗在未来的几年里将在癌症治疗中有很好的前景,随着骨髓性干细胞移植在血液系统肿瘤治疗中的成功,其在实体肿瘤中的应用也成为可能,但是,骨髓性干细胞移植治疗近 25% 的病死率又使其应用的安全性受到质疑<sup>[3]</sup>。由于非骨髓性异基因造血干细胞移植并发症轻、危险性小、患者存活质量高等优点,使得其成为实体瘤治疗的新希望,但是,这种干细胞移植同样有其不可轻视的缺点,如移植后迟发的免疫重建过程、机会性感染以及疾病的复发等;而且只有不到 50% 的患者能够找到完全相合的供者。而直系亲属作为供者与患者相合的可能性最大。因此本研究利用体外经过短期活化的亲缘间 HLA 半相合外周血活化干细胞 (HLA haploidentical peripheral blood stem cells, haplo-PBSCs) 对 42 例晚期难治性肿瘤患者进行治疗,观察其抗肿瘤疗效。

## 1 材料与方法

### 1.1 患者临床资料

选择自 2004 年 10 月至 2007 年 10 月在天津医科大学附属肿瘤医院生物治疗中心进行 haplo-PBSCs 治疗的晚期转移性肿瘤患者 42 例,其中男性 18 例,女性 24 例;年龄 51 ~ 79 岁,中位年龄 60 岁;KPS (Karnofsky performance status) 评分 50 ~ 90 分。所有病例均经病理或细胞学检查确诊,临床分期为 III-IV 期。其中肾癌 9 例,乳腺癌 8 例,肺癌 8 例,卵巢癌 12 例,恶性黑素瘤 1 例,直肠癌 2 例,胃癌 2 例;其中 34 例患者前期综合治疗后仍病情进展,均属晚期难治性实体瘤(表 1)。入选患者均有经实验室 HLA 配型证实的 HLA 单倍体相合的直系亲属健康供者,并且间隔上次抗肿瘤治疗 3 个月以上。所有参与临床试验的患者均签署知情同意书,并经医院

伦理委员会审查批准。

### 1.2 Haplo-PBSCs 动员、采集、体外活化以及回输

Haplo-PBSCs 采自患者健康的直系亲属,采集前供者接受 rhG-CSF 10 μg/(kg · d) × 5 d 的动员,具体动员和采集方法见文献[4],但作少量改进。新鲜采集的 haplo-PBSCs 洗涤后经淋巴细胞分离液提取淋巴细胞,经 PBS 洗涤后加入含有 rhIL-2 的无血清培养基 X-VIVO20,并调整细胞密度至 3 × 10<sup>6</sup>/ml,经 5% CO<sub>2</sub> 37 °C 培养 3 ~ 4 h 后,经质检合格后收集细胞,用 PBS 洗涤 3 次后混悬于含 2% 白蛋白的 250 ml 生理盐水中回输给患者。

### 1.3 患者和供者外周血白细胞 DNA 的提取

分别取患者和供者的 1 ml EDTA 抗凝外周静脉血,采用 QIAGEN DNA Midi 试剂盒,按照说明书标准方法提取全基因组 DNA 200 μl。

### 1.4 PCR-SSP 检测 HLA 等位基因分型

HLA 分型采用序列特异性引物聚合酶链反应技术 (polymerase chain reaction-sequence-specific primers, PCR-SSP), 采用 QIAGEN 公司的 Olerup SSPTM 试剂盒。PCR 反应体系为 10 μl,体系中含有 DNA 模板 100 ng。扩增条件为:94 °C 120 s,94 °C 10 s,65 °C 60 s,共 10 个循环;94 °C 10 s,61 °C 50 s,72 °C 30 s,共 20 个循环;4 °C 保存备用。反应毕,取 5 μl 扩增产物加样至含溴化乙锭的 2% 琼脂糖凝胶中,在电压 150 V 下电泳 12 min 后,于全自动凝胶成像分析系统记录结果并进行分析。

### 1.5 PCR-SSP 检测 KIR 基因分型

根据 KIR 序列数据库公布的 KIR 碱基编码序列(release 1.3.0)设计 23 对上下游引物序列,经 BLAST 软件验证可识别 16 个 KIR 基因。采用 PCR-SSP 检测 KIR 基因分型。扩增产物分析:依次将扩增产物 8 μl 加入 20 g/L 琼脂糖凝胶上,水平电泳 12 mV/cm,溴化乙锭染色,UVP 成像。

### 1.6 供受者关系分组

母胎嵌合的形成有利于携带父系 HLA 信息的子代细胞不被母体排斥<sup>[5]</sup>,因此推测母胎嵌合对于提高活化后 haplo-PBSCs 的疗效可能具有决定

性的意义,所以将供受者的关系分为母子/女组和父子/女组以观察不同的疗效(表1)。

表1 患者与其供者的临床特征

Tab.1 Characteristics of patients and the donors [ n( % ) ]

Group	Mother/child, ( N=27 )	Father/child, ( N=15 )	$\chi^2$	P
Sex				
Male	13( 48.1 )	8( 53.3 )	0.104	0.747
Female	14( 51.9 )	7( 46.7 )		
Tumor location				
Ovary	9( 33.3 )	3( 20.0 )	3.548	0.829
Kidney	5( 18.5 )	4( 26.7 )		
Lung	4( 14.8 )	4( 26.7 )		
Breast	6( 22.2 )	2( 13.3 )		
Colon	1( 3.7 )	1( 6.7 )		
Gastric	1( 3.7 )	1( 6.7 )		
Melanoma	1( 3.7 )	0( 0.0 )		
Disease stage				
Progression	18( 66.7 )	11( 73.3 )	0.010	0.921
Stable	9( 33.3 )	4( 26.7 )		
KIR ligand				
GVH	13( 48.1 )	4( 26.7 )	1.847	0.174
HVG	14( 51.9 )	11( 73.3 )		
KPS score				
70	4( 14.8 )	2( 13.3 )	0.185	1.000
80	18( 66.7 )	10( 66.7 )		
90	5( 18.5 )	3( 20.0 )		

GVH: The absence in recipients of donor HLA-C alleles recognized by killer immunoglobulin-like receptors ( KIRs ) was defined as KIR-epitope-mismatched in the GVH directions; HVG: The absence in donors of recipient HLA-C alleles was defined as KIR-epitope-mismatched in the HVG direction; KPS: Karnofsky performance status

1.7 疗效观察指标

在治疗前及治疗后4周行CT/PET-CT评价疗效。依据RISIST标准,疗效分为:完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、病变稳定(SD)、病变进展(PD),临床有效率(CR+PR)。以KPS评分观察患者生活质量的改善情况,同时观察治疗引起的不良反应情况。

1.8 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。患者一般资料比较运用 $\chi^2$ 检验,治疗前后的比较采用配对t检验,生存率采用Kaplan-Meier法,显著性检验采用Log-Rank法,采用SPSS 13.0软件,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 接受治疗的肿瘤患者的HLA配型

在所有接受治疗的42位患者中,33对3/6个HLA-A/-B/-DR位点相合,4对4/6个位点相合,还有其余5对6/6个位点完全相合。

2.2 Haplo-PBSCs采集和回输数量

供者经rhG-CSF动员后采集的CD34<sup>+</sup>细胞总数平均为(6.5~6.9)×10<sup>6</sup>/kg;经体外培养后回输的活化CD34<sup>+</sup>细胞总数为(5.3~5.6)×10<sup>6</sup>/kg,回收率达81%。经过体外培养后回输给患者的细胞数平均为(7.5~8.3)×10<sup>10</sup>个,连续2d进行回输治疗。回输前予以口服地塞米松和葡萄糖酸钙预处理。每位患者只接受1个疗程治疗。

2.3 Haplo-PBSCs对晚期实体瘤的治疗效果

全组接受治疗的42例晚期实体瘤患者中,无CR病例,7例PR,24例SD,11例PD,全组患者的总缓解率为16.67%,中位无进展生存期(PFS)为6个月,临床获益率为73.8%(表2)。

表2 Haplo-PBSCs治疗晚期实体肿瘤的疗效

Tab.2 Clinical efficacy of haplo-PBSCs in treatment of advanced solid tumors

Tumor	Case ( N )	CR ( n )	PR ( n )	SD ( n )	PD ( n )	Clinical beneficial rate ( % )
Renal cancer	9	0	2	6	1	90.0
Ovarian cancer	12	0	2	8	2	83.3
Breast cancer	8	0	1	5	2	75.0
Lung cancer	8	0	1	4	3	62.5
Other cancer	5	0	1	1	3	40.0
Total	42	0	7	24	11	73.8

全组中肾癌患者共9例,男性5例,女性4例。9例患者均曾行根治性肾切除或姑息性肾切除术,术后进行过包括IFN- $\alpha$ 或IL-2在内的二线甚至三线治疗,但仍复发或转移,临床分期均为IV期。经haplo-PBSCs治疗后,9例患者中2例部分缓解(PR),6例疾病稳定(SD),1例疾病进展(PD),有效率(CR+PR)为22%,临床获益率(CR+PR+SD)为90%。中位随访时间为21个月,中位无进展生存期(PFS)为5.7个月。

全组中晚期转移性或化疗抵抗性卵巢癌患者共12例,其中7例患者曾行肿瘤根治性切除术,术后均

曾进行过一线或二线化疗,但最终出现复发或转移,临床分期均为IV期。12例患者经 haplo-PBSCs 治疗后,2例部分缓解(PR),7例疾病稳定(SD),2例疾病进展(PD),有效率(CR+PR)为16.7%,临床获益率(CR+PR+SD)为83.3%。中位随访时间为18个月,中位无进展生存期(PFS)为10.5个月。

42例患者在接受大剂量 rhIL-2 活化的 HLA 半相合 haplo-PBSCs 治疗后,29例患者出现临床症状不同程度的缓解。按照 KPS 评分标准评价,生活质量改善10例,生活质量稳定22例。治疗后患者生活质量总获益(改善+稳定)率为76.2%,KPS 较治疗前平均提高20分(0~30分)。其中1例多发肺转移的晚期肾癌患者,在接受1个疗程治疗后,咳血痰、憋气、呼吸困难等临床症状均明显减轻或消失,影像学检查示肺部转移灶的数量和病灶大小都出现明显减少,RECIST 疗效评价达到 PR(图1)。

全组患者的 PFS 为6个月。截至随访期结束时,共有22例患者获得长期稳定无病生存,而有20例死亡。

2.4 KIR-配体方向与临床疗效的关系

2.4.1 KIR-配体方向与治疗反应率 根据 KIR-配

体不相合方向的不同,将全组42例患者分为两组,一组为GVH方向不相合者(19例),另一组为HVG方向不相合或KIR-配体相合者(23例)。在接受治疗1个疗程后,GVH方向不相合组患者的总缓解率和临床获益率分别为31.6%和94.7%,而HVG方向不相合或KIR-配体相合组分别为4.3%和56.6%( $P < 0.05$ ,表3)。

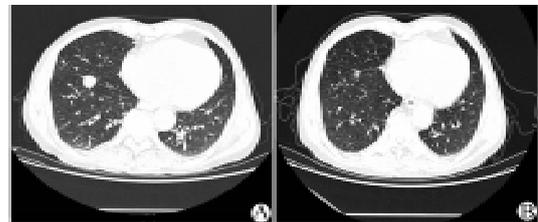


图1 Haplo-PBSCs 治疗后达 PR 的晚期肾癌多发肺转移患者的 CT 检查

Fig.1 CT images of a renal cancer patient with multiple lung metastasis who had partial response after treatment with haplo-PBSCs

A: Before the treatment; B: After the treatment

表3 Haplo-PBSCs 治疗中 KIR-配体相合方向与临床疗效的关系

Tab.3 Relationship of KIR-ligand direction with clinical efficacy in haplo-PBSCs treatment

KIR-ligand direction	Case (N)	CR (n)	PR (n)	SD (n)	PD (n)	Remission rate (CR+PR)(%)	Clinical beneficial rate (CR+PR+SD)(%)
HVG(-)/KIR(+)	23	0	1	12	10	4.3*	56.6*
GVH(-)	19	0	6	12	1	31.6	94.7

HVG(-)/KIR(+): HVG mismatch or KIR ligand match; GVH(-): GVH mismatch; \* $P < 0.05$  vs GVH(-)

2.4.2 KIR-配体方向与患者生存期 KIR 不相合方向为GVH组患者的无进展生存期分别为(13.4±1.3)个月,而KIR不相合方向为HVG或相合组为(8.0±0.9)个月,Log-Rank分析 $P < 0.05$ 。结果说明KIR-配体不相合方向为GVH的患者,在接受活化的haplo-PBSCs治疗后,无进展生存期得到延长(图2)。

2.4.3 KIR-配体方向与患者生活质量 GVH方向不相合组患者治疗后的生活质量总获益率为89.5%,KPS平均提高26分;而HVG或相合组患者在治疗后的生活质量总获益率为65.2%,KPS平均提高15分( $P < 0.05$ ),可见KIR-配体的不相合方向为GVH的患者在接受haplo-PBSCs治疗后,可有更大机会改善生活质量,且改善幅度较大(表4)。

2.5 供受者关系与临床治疗有效率的关系

2.5.1 供受者关系与治疗有效率 根据供受者关系的不同,将全组42例患者分为两组,一组为母子/女治疗组(27例),另一组为父子/女治疗组(15例)。母子/女治疗组患者的1年随访治疗有效率为18/27(66.7%),父子/女治疗组患者的1年随访治疗有效率为7/15(46.7%)( $P < 0.05$ ),提示供受者关系为母子/女的患者较父子/女者存在一定的治疗优势。

2.5.2 供受者关系与患者生存期 供受者关系为母子/女患者的无进展生存期为(12.1±1.2)个月,而供受者关系为父子/女患者为(7.5±1.3)个月,Log-Rank分析 $P < 0.05$ 。结果说明供受者关系为母子/女的患者,在接受haplo-PBSCs治疗后,无进展生存期得到延长(图3)。

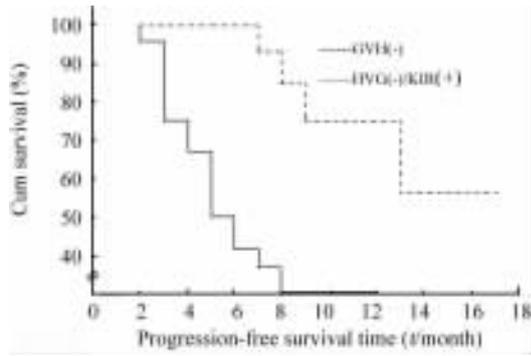


图2 KIR-配体方向对无患者进展生存时间的影响  
Fig.2 Effect of KIR-ligand direction on progression-free survival time of patients

表4 KIR-配体方向与治疗患者生活质量的关系  
Tab.4 Relationship of KIR-ligand direction with life quality improvement after therapy

KIR-ligand direction	Case (N)	Remission (n)	Stable (n)	Decline (n)	beneficial rate(%)	KPS
HVG(-)/KIR(+)	23	3	12	8	65.2*	+15*
GVH(-)	19	7	10	2	89.5	+26

HVG(-)/KIR(+): HVG mismatch or KIR ligand match; GVH(-): GVH mismatch; \*P<0.05 vs GVH(-)

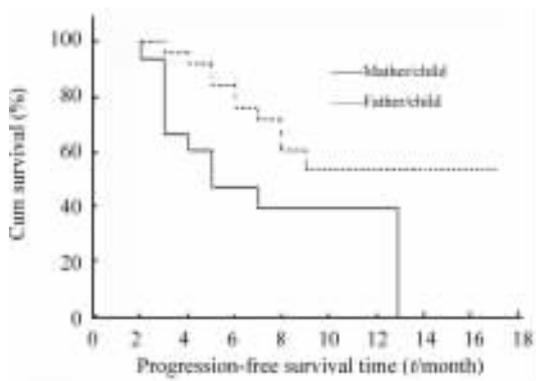


图3 供受者关系对无进展生存时间的影响  
Fig.3 Effect of donor-recipient relation on progression-free survival time of patients

2.5.3 供受者关系与患者生活质量 结果显示,供受者关系为母子/女组患者,在治疗后的生活质量总获益率为81.5%,KPS平均提高25分;而供受者关系为父子/女组患者在治疗后的生活质量总获益率为66.7%,KPS平均提高16分(P<0.05)。可见供受者关系为母子/女的患者,在接受活化的haplo-PBSCs治疗后,可以在更大程度和范围内获得生活质量的改善(表5)。

## 2.6 Haplo-PBSCs 治疗的不良反应

42例患者在接受大剂量rhIL-2活化的haplo-PBSCs治疗过程中未观察到严重不良反应,12例患者出现发热、寒战、周身不适等IL-2相关性不良反应,8例患者在治疗早期出现腹泻、食欲不振、皮疹等移植物抗宿主反应,按照NCI毒性分级标准均未超过3级。采用对症治疗后所有症状都迅速缓解。

表5 供受者关系与治疗患者生活质量改善的关系

Tab.5 Relationship of donor-recipient relation with life quality improvement after therapy

Relation (donor/recipient)	Case (N)	Remission (n)	Stable (n)	Decline (n)	Remission rate (%)	KPS
Father/child	15	2	8	5	66.7	+16
Mother/child	27	8	14	5	81.5*	+25*

\*P<0.05 vs father/child

## 3 讨论

进展期的恶性肿瘤诱导机体产生明显的免疫耐受现象<sup>[6]</sup>,患者自体淋巴细胞往往存在严重的免疫抑制,直接影响自体过继性免疫治疗的效果。相反,来自异基因健康供者(不论HLA全相合或半相合)的淋巴细胞不仅可以识别受者肿瘤抗原及其MHC-I/II类分子,因此异体免疫细胞具有较癌症患者自体细胞强得多的抗肿瘤活性。其中,供者的T细胞是诱导疾病缓解的最重要的免疫细胞<sup>[7-12]</sup>。

与移植后供者淋巴细胞回输不同的是,活化的haplo-PBSCs回输患者没有经过预处理,可以很快地适应其半相合的免疫环境。所以回输细胞的抗肿瘤能力以及细胞数量就成为保证临床疗效的主要因素。

活化的HLA haplo-PBSCs回输方式在临床上主要应用于急性髓性白血病的挽救治疗,在恶性淋巴瘤中应用的研究非常少,在恶性实体瘤中的应用更是稀少。Sykes等<sup>[13]</sup>曾经报道过治疗5例恶性淋巴瘤患者中有2例获得临床获益。Dodero等<sup>[14]</sup>大宗病例报道,在恶性淋巴瘤患者中对化疗敏感者往往对haplo-PBSCs半相合治疗也有更高的敏感性并且获得更长期的缓解。患者母亲的造血干细胞是异基因细胞治疗的最好来源<sup>[15]</sup>。因此,本研究应用活化的HLA haplo-PBSCs治疗恶性晚期实体瘤患者是非常独特的。

本研究结果显示了该方法对恶性晚期实体瘤患者治疗上的一些特点和优势:(1)相比较HLA完全相合干细胞移植,HLA半相合外周血干细胞治疗的病死率要明显降低,同时复发的风险也要明显降低,

对于患者来说其Ⅲ、Ⅳ度不良反应也有所减轻;(2) 供受者关系为母子/女者在治疗有效率和生存期上较父子/女者具有明显的治疗优势,而且可以在更大程度和范围内获得生活质量的改善;(3) KIR-配体不相合为GVH方向者在治疗反应性和生存期上较HVG方向不相合或KIR配体相合者具有明显的治疗优势,而且可以有更大机会获得生活质量的改善,并且改善幅度更大;(4)在病种上,肾癌和卵巢癌患者在治疗反应性和敏感性上可能占优势。

NK细胞通过KIR(killer immunoglobulinlike receptor)识别自身HLA达到自身免疫耐受。目前认为KIR仅在NK细胞及T细胞表面表达,不同的KIR识别结合不同的HLA。临床上发现有些HLA完全相合的患者移植后仍然出现了排斥反应,而有些HLA不相合的患者移植后长期无病存活<sup>[6]</sup>,表明仅仅检测HLA已经不能满足临床需要。Ruggeri等<sup>[6]</sup>研究了单倍体相合造血干细胞移植后发现,KIR在其发挥了重要作用,在供受者间KIR受体-配体不相合移植中供者NK细胞攻击宿主细胞,有助于植入成功,攻击白血病细胞,介导GVL效应,攻击宿主抗原提呈细胞,预防GVHD的发生。这些结果与本研究结果是一致的。

KIR基因与HLA基因起源于共同的基因,但KIR与HLA各自独立遗传给下一代。每个个体内HLA I类抗原与KIR间并无必然的相关性,即使HLA相合同胞兄弟姐妹间KIR也不一定相合。遗传学上HLA分型与KIR分型分离。所以本研究有必要进行HLA和KIR的分别检测。

但本研究中HLA半相合的活化haplo-PBSCs回输方式也确实存在着一定的局限性,主要包括:(1) 患者接受治疗后平均4~6个月才能出现移植抗肿瘤反应,这就使得它不适用于快速进展的肿瘤;(2)由于一些不可避免的因素,如感染、GVHD反应等,其相关病死率也在10%~20%。

本研究只对42例患者进行了观察,病例数相对少,且瘤种数又相对较多,在优势瘤种的进一步筛选上有困难,并且由于缺乏对照组,难以与其他治疗方案比较,这些问题也正是本研究今后工作改进的重点。

## [参考文献]

[1] Mapara MY, Sykes M. Tolerance and cancer: mechanisms of tumor evasion and strategies for breaking tolerance [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(6): 1136-1151.  
[2] Ferrantini M, Capone I, Marincola FM, Parmiani G, Belardelli F. International meeting. Immunotherapy of cancer: challenges and needs [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(4):

581-585.

- [3] Busca A, Novarino A, de Fabritius P, Picardi A, Zeuli M, Locatelli F. Nonmyeloablative allogeneic blood stem cell transplantation in patients with metastatic solid tumors [J]. *Hematology*, 2006, 11(3): 171-177.  
[4] 邵莹,戴荣增,张乃宁,任秀宝,任宝柱,崔秀珍,等. 60例实体肿瘤患者外周血干细胞的动员和采集[J]. *中国肿瘤临床*, 2002, 29(3): 167-170.  
[5] Ruggeri L, Mancusi A, Burchielli E, Capanni M, Carotti A, Aloisi T. NK cell alloreactivity and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2008, 40(1): 84-90.  
[6] Ruggeri L, Mancusi A, Burchielli E, Perruccio K, Aversa F, Martelli MF. Natural killer cell recognition of missing self and haploidentical hematopoietic transplantation [J]. *Semin Cancer Biol*, 2006, 16(5): 404-411.  
[7] Mavoungou E, Sall A, Poaty-Mavoungou V, Toure FS, Yaba P, Delicat A. Alloreactivity and association of human natural killer cells with the major histocompatibility complex [J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1999, 6(2): 254-259.  
[8] Van der Harst D, Goulmy E, Falkenburg JH, Kooij-Winkelaar YM, van Luxemburg-Heijs SA. Recognition of minor histocompatibility antigens on lymphocytic and myeloid leukemic cells by cytotoxic T-cell clones [J]. *Blood*, 1994, 83(8): 1060-1066.  
[9] Appelbaum FR. Haematopoietic cell transplantation as immunotherapy [J]. *Nature*, 2001, 411(2): 385-389.  
[10] Truitt RL, Atasoylu AA. Contribution of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells to graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia reactivity after transplantation of MHC compatible bone marrow [J]. *Bone Marrow Transplant*, 1991, 8(1): 51-58.  
[11] Lewalle P, Hensel N, Guimaraes A, Couriel D, Jiang YZ, Mavroudis D. Helper and cytotoxic lymphocyte responses to chronic myeloid leukemia: implications for adoptive immunotherapy with T cells [J]. *Br J Haematol*, 1996, 92(3): 587-594.  
[12] Faber LM, van Luxemburg-Heijs SA, Rijnbeek M, Willemze R, Falkenburg JH. Generation of leukemia-reactive cytotoxic T lymphocyte clones from the HLA-identical bone marrow donor of a patient with leukemia [J]. *J Exp Med*, 1996, 176(5): 1283-1289.  
[13] Sykes M, Preffer F, McAfee S, Saidman SL, Weymouth D, Andrews DM. Mixed lymphohaemopoietic chimerism and graft-versus lymphoma effects after non-myeloablative therapy and HLA-mismatched bone-marrow transplantation [J]. *Lancet*, 1999, 353(9166): 1755-1759.  
[14] Doderio A, Carniti C, Raganato A, Vendramin A, Farina L, Spina F. Haploidentical stem cell transplantation after a reduced-intensity conditioning regimen for the treatment of advanced hematological malignancies: post transplantation CD8-depleted donor lymphocyte infusions contribute to improve T-cell recovery [J]. *Blood*, 2009, 113(19): 4771-4779.  
[15] Stern M, Ruggeri L, Mancusi A, Bernardo ME, de Angelis C, Bucher C. Survival after T cell-depleted haploidentical stem cell transplantation is improved using the mother as donor [J]. *Blood*, 2008, 112(7): 2990-2995.

[收稿日期] 2009-11-20

[修回日期] 2009-12-28

[本文编辑] 韩丹