

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.02.016

· 临床研究 ·

DC-CIK 过继性免疫疗法联合化疗治疗转移性结直肠癌患者的疗效

尹良伟¹, 王苏平¹, 张利², 王颖¹, 纪军², 王贺双², 郭旭³, 王晓虹¹, 马舒贝¹, 杜晓红¹, 马海英⁴△(1. 大连市中心医院 细胞生物治疗科, 辽宁 大连 116033; 2. 大连市中心医院 肛肠外科, 辽宁 大连 116033; 3. 大连市中心医院 中心实验室, 辽宁 大连 116033; 4. 大连医科大学 组织胚胎学教研室, 辽宁 大连 116044)

[摘要] **目的:** 研究 DC-CIK(dendritic cell-cytokine induced killer cell)过继性免疫治疗联合化疗对转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)的疗效及安全性。**方法:** 选取 2010 年 11 月至 2011 年 11 月在大连市中心医院治疗的 80 例 mCRC 患者, 40 例行 DC-CIK 治疗联合化疗(联合组), 40 例行单纯化疗(化疗组), 评价两组患者治疗后免疫功能、疗效、毒副反应和生活质量(quality of life, QOL)。**结果:** 共完成了 160 周期 DC-CIK 治疗, 联合组治疗前后外周血 T 细胞亚群无显著变化($P > 0.05$), 化疗组治疗后外周血中 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺ 细胞比例较治疗前显著下降, 且明显低于联合组($P < 0.05$); 联合组 3 周期治疗后 CD4⁺ T 细胞中 IFN- γ 水平较治疗前显著升高($P < 0.05$), 化疗组治疗后 IFN- γ 、IL-2、TNF- α 水平显著下降, 且明显低于联合组($P < 0.05$)。联合组和化疗组总有效率(response rate, RR)未见明显差异(37.5% vs 22.5%, $P > 0.05$); 联合组疾病控制率(disease control rate, DCR)明显高于化疗组(77.5% vs 50.0%, $P < 0.05$)。联合组 III ~ IV 度白细胞减少及 III ~ IV 度迟发性腹泻的发生率明显低于化疗组(17.5% vs 42.5%, 5.0% vs 25.0%; 均 $P < 0.05$), 其他相关不良反应无显著性差异, 而且对症治疗后均可缓解。联合组患者的中位无进展生存(progression-free survival, PFS)较化疗组患者长(6.5 个月 vs 4.5 个月, $P < 0.05$), 联合组和化疗组患者的总生存(overall survival, OS)比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。联合组在躯体功能、情绪方面较治疗前明显改善, 而且明显好于化疗组($P < 0.05$)。**结论:** DC-CIK 过继性免疫治疗联合化疗可以明显改善 mCRC 患者的免疫功能, 提高总体疗效, 减轻化疗不良反应, 延长无进展生存, 改善 mCRC 患者生活质量。

[关键词] DC-CIK; 过继性免疫治疗; 转移性结直肠癌; 化疗

[中图分类号] R735.3; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)02-0217-08

Efficacy of dendritic cells/cytokine induced killer cells adoptive immunotherapy combined with chemotherapy in treatment of metastatic colorectal cancer

Yin Liangwei¹, Wang Suping¹, Zhang Li², Wang Ying¹, Ji Jun², Wang Heshuang², Guo Xu³, Wang Xiaohong¹, Ma Shubei¹, Du Xiaohong¹, Ma Haiying⁴△(1. Cell Biological Treatment Ward, Dalian Centre Hospital, Dalian 116033, Liaoning, China; 2. Department of Anorectal Surgery, Dalian Centre Hospital, Dalian 116033, Liaoning, China; 3. Central Laboratory, Dalian Centre Hospital, Dalian 116033, Liaoning, China; 4. Department of Histology and Embryology, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the therapeutic effect and safety of dendritic cells-cytokine induced killer cells (DC-CIK) combined with chemotherapy in the treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC). **Methods:** 80 mCRC patients were selected from Dalian Centre Hospital during November 2010 to November 2011. 40 patients were treated by DC-CIK combined with chemotherapy (combined group), and another 40 patients were treated by chemotherapy alone (chemotherapy group). The immune function, therapeutic effect, toxicity and quality of life (QOL) were compared between the two groups after the treatment. **Results:** 160 cycles of DC-CIK were successfully treated. There were no obvious changes of T cell subsets in the peripheral blood in the combined group ($P > 0.05$), while the ratios of CD3⁺, CD3⁺

[作者简介] 尹良伟,男,辽宁大连人,硕士,副主任医师,主要从事肿瘤化疗及生物治疗方面的临床研究工作。E-mail: Lwyin2008@163.com

[通信作者] 王苏平(Wang Suping, corresponding author), E-mail: Wangsuping@medmail.com.cn; 马海英(Ma Haiying, corresponding author), E-mail: Hyma20060602@yahoo.com.cn。△为共同通讯作者

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20130424.1310.007.html>

CD4⁺, CD3⁺ CD8⁺ and CD3⁻ CD56⁺ cells were significantly decreased after the treatment in the chemotherapy group, and obviously lower than that in the combined group ($P < 0.05$). After treatment for 3 cycles, the IFN- γ level of CD4⁺ T cells in the combined group was significantly increased ($P < 0.05$), while the levels of IFN- γ , IL-2 and TNF- α in the chemotherapy group were significantly decreased after the treatment and were obviously lower than that in the combined group ($P < 0.05$). No significant differences were found in the overall response rate (RR) between the combined group and the chemotherapy group (37.5% vs 22.5%, $P > 0.05$). The disease control rate (DCR) of the combined group was significantly higher than that of the chemotherapy group (77.5% vs 50.0%, $P < 0.05$). III-IV grade leucopenia and tardily diarrhea in the combined group were obviously lower than those of the chemotherapy group (17.5% vs 42.5%, 5.0% vs 25.0%, $P < 0.05$). Other side effects showed no significant differences between the two groups, which can be alleviated after symptomatic treatment ($P > 0.05$). The median progression-free survival (PFS) of the combined group was longer than that of the chemotherapy group (6.5 months vs 4.5 months, $P < 0.05$), while the median overall survival (OS) of the two groups had no significant difference ($P > 0.05$). The physical and emotional functions of the combined group were better than those of the chemotherapy group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Treatment with DC-CIK adoptive immunotherapy combined with chemotherapy can effectively improve the immune function, improve the efficacy, reduce the side effects of chemotherapy, prolong the PFS, and improve QOL of mCRC patients.

[**Key words**] DC-CIK, adoptive immunotherapy, metastatic colorectal cancer (mCRC), chemotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(2): 217-224]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界排名第三位的高发肿瘤,在我国发病率由上世纪70年代初的第6位上到目前的第2位,占城市恶性肿瘤总发病人数的11.91%,仅次于肺癌^[1]。CRC的传统治疗方法主要有手术、化疗、放疗等,手术是早期患者的首选治疗方法。然而,CRC患者诊断时多为进展期或已发生转移,早期的比例仅占11.8%,进展期CRC术后存在相当的复发及转移风险^[2]。树突状细胞(dendritic cell, DC)联合细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine induced killer cell, CIK)过继性免疫治疗恶性肿瘤是一种新兴的免疫治疗手段,能有效抑制和杀灭肿瘤细胞且无明显不良反应,降低肿瘤复发及转移风险,提高患者的自身免疫力及生活质量,而且其安全性得到了广泛认可^[3-8]。本研究应用DC-CIK过继性免疫治疗联合化疗治疗转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)患者40例,对比单纯化疗治疗mCRC患者40例,评价DC-CIK免疫治疗联合化疗治疗mCRC患者的疗效及安全性。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取大连市中心医院2010年11月至2011年11月收治的80例mCRC患者,根据患者对化疗及DC-CIK治疗的接受度分为两组,40例为DC-CIK免疫治疗联合化疗组(联合组),40例为单纯化疗组(化疗组)。治疗前均向患者或家属告知病情、详细

诊疗方案及有可能出现的不良反应,签署知情同意书。mCRC患者临床试验的治疗方案和实施程序报医院伦理委员会批准。80例患者中18例曾行FOLFOX4标准一线方案化疗(两组分别8例和10例);这18例患者本次均采用FOLFIRI方案二线化疗,其余病例均采用FOLFOX4方案化疗。两组患者相关临床资料经比较差异无统计学意义(表1)。所有入组患者完全符合以下5个条件:①影像或病理明确为mCRC;②年龄小于75岁;③肾功能正常;④PS评分0~2分;⑤至少有一个可测量病灶且病灶直径 ≥ 2 cm。并排除符合以下几个条件之一的患者入组:①脑转移;②同时患有其他恶性肿瘤;③病灶区曾接受放疗或介入治疗。

1.2 DC-CIK 细胞培养

采集mCRC患者外周静脉血50 ml,用生理盐水1:1稀释,混匀,缓慢加到4个装有20 ml人细胞分离液的50 ml离心管中,离心(2 000 \times g、室温、20 min),取细胞层,生理盐水洗涤,离心(3 000 \times g、室温、20 min)弃上清液;加入50 ml生理盐水,离心(2 300 \times g、室温、10 min)弃上清液,反复两次;细胞沉淀后培养箱中静置培养(37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、3 h)。将悬浮细胞(CIK细胞)吸出离心(2 300 \times g、10 min)后悬于10 ml X-VIVO15培养液中,加入100 μ l IFN- γ ,培养箱中培养;将贴壁细胞(DC细胞)加入IL-4(500 U/ml)、GM-CSF(1 000 U/ml),培养箱中培养。CIK细胞:第1天补加CD3单抗(50 ng/ml),以后每天补加培养液及IL-2

(500 U/ml)至第7天;DC 细胞:隔天半量换液并补加 IL-4(500 U/ml)、GM-CSF(1 000 U/ml)至第7天,第8天添加 TNF- α (500 U/ml)及肿瘤相关抗原并与 CIK 细胞共培养。第9天始给患者回输 DC,连续3 d;第12天始回输 CIK,连续3 d。回输前取1 ml 样品送流式细胞仪进行细胞亚群分析。

表1 80例 mCRC 患者临床资料[n(%)]

Tab.1 Clinical characteristics of 80 patients with mCRC [n(%)]

Characteristic	Chemotherapy + DC-CIK	Chemotherapy
No. of patients	40	40
Male	24(60.0)	25(62.5)
Female	16(40.0)	15(37.5)
Median age	62	63
PS		
0~1	29(72.5)	28(70.0)
2	11(27.5)	12(30.0)
Primary lesion		
Colon	23(57.5)	25(62.5)
Rectum	17(42.5)	15(37.5)
Metastatic organ		
Lung	16(40.0)	15(37.5)
Liver	26(65.0)	22(55.0)
Other parts	10(25.0)	9(22.5)
Chemotherapy regimen		
FOLFOX4	32(80.0)	31(77.5)
FOLFIRI	8(20.0)	10(22.5)

1.3 化疗方案

FOLFOX4 方案:亚叶酸钙(CF)100 mg/m² iv d1~2;奥沙利铂(OXA)130 mg/m² iv d1;5-氟尿嘧啶(5-FU)400 mg/m² iv d1~2,600 mg/m² civ d1~2,21 d为一周期。FOLFIRI 方案:CF 100 mg/m² iv d1~2;伊立替康(CPT-11)180 mg/m² iv d1;5-氟尿嘧啶400 mg/m² iv d1~2,600 mg/m² iv d1~2,21 d为一周期。CF 为江苏恒瑞医药股份有限公司生产,批号为 0040232-11090322;OXA 为江苏恒瑞医药股份有限公司生产,批号为 10012211-11052210;CPT-11

为江苏恒瑞医药股份有限公司生产,批号为 10101011-11091012;5-FU 为天津金耀公司生产,批号为 1004121-1109120。联合治疗组患者均为化疗前采集外周静脉血,采血后当日开始化疗,化疗后第7天(细胞培养第9天)回输 DC 细胞,化疗后第10~12天(细胞培养第12~14天)回输 CIK 细胞;两组患者化疗期间均辅以必要的止吐、生血等治疗。

1.4 疗效评价

(1) 免疫功能评价:依据 T 细胞亚群检测评价患者免疫功能,包括 CD3⁺CD4⁺(辅助性 T 细胞)、CD3⁺CD8⁺(杀伤性 T 细胞)、CD3⁺(总 T 细胞)、CD3⁻CD56⁺(NK 细胞)、CD3⁺CD56⁺(NKT 细胞)以及 CD4⁺CD25⁺(调节性 T 细胞,Treg)评价患者免疫功能变化。同时检测 CD4⁺T 细胞内 IFN- γ 、IL-2 和 TNF- α 含量。入组患者 DC-CIK 免疫治疗及化疗至少3个周期,上述指标于每周期治疗前及3个周期治疗后检测并评价。

(2) 近期疗效及不良反应评价:按照 RECIST 疗效评价标准进行评价,疗效分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、稳定(stable disease, SD)和进展(progressive disease, PD),临床有效率(response rate, RR)为 CR+PR,疾病控制率(disease control rate, DCR)为 CR+PR+SD。不良反应按 WHO 毒副反应分级标准,分为0~IV度。入组患者 DC-CIK 免疫治疗及化疗至少3个周期,并在3个周期末评价近期疗效。

(3) 远期疗效评价:对所有入组患者治疗前及每月复查 CT 并检测血 CEA,结合电话随访至2012年11月1日,记录患者的复发、远处转移和生存情况。首要研究终点为病情进展,次要研究终点为死亡,评价两组患无进展生存(progression free survival, PFS)以及总生存(overall survival, OS)。

(4) 生活质量评价:QOL 评价采用欧洲癌症研究机构与治疗组织对肿瘤患者制定的生活质量核心量表(European organization for research and treatment of cancer quality of life questionnaire-C 30, EORTC QLQ-C30),包括躯体功能、角色功能、情绪功能、认知功能、社会功能等5个功能量表,所有项目得分0~100分,得分越高,说明功能越好、生活质量越高。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 15.0 for Windows 软件包进行统计处理,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;计数资料比较采用 χ^2 检验,PFS 和 OS 的比较采用 Kaplan-Meier 法,生存分析采用 Log-Rank 法。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DC-CIK 细胞成功的培养及其亚群分析

40例mCRC患者共接受了160周期DC-CIK治疗,其中5周期15例、4周期10例、3周期15例。所有160周期DC-CIK培养均成功,DC细胞计数为 $(3\sim 8)\times 10^8$ /次,CIK细胞计数为 $(1\sim 4)\times 10^9$ /次。部分患者DC-CIK培养情况及CIK细胞亚群分析显示,CD8⁺T细胞比例达90%以上,CD8⁺CD56⁺T细胞比例达20%以上。

2.2 治疗期间及治疗后外周血T细胞亚群变化

联合组患者共接受了195周期化疗,其中6周期20例、4周期15例、3周期5例;化疗组患者共接

受了200周期化疗,其中6周期18例、4周期16例、3周期6例。比较两组患者治疗期间及治疗3周期后外周血T细胞亚群的变化情况,结果显示,联合组治疗前后CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁺CD56⁺及Treg无显著变化($P > 0.05$),而化疗组治疗后外周血中CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞比例较治疗前显著下降($P < 0.05$);而且治疗后两组间比较,化疗组CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺明显低于联合组($P < 0.05$)(表2)。由此可见,化疗降低了患者的免疫功能,而DC-CIK免疫治疗可以明显改善患者的免疫功能。

表2 两组CRC患者外周血T细胞亚群的变化($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab. 2 Changes of T cell subsets in peripheral blood of two groups of CRC patients($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	NK	NKT	Treg
Chemotherapy + DC-CIK						
Pre-therapy	71.2 ± 14.3	37.4 ± 7.3	27.2 ± 6.1	11.2 ± 4.3	3.9 ± 2.3	7.2 ± 2.4
After 1 cycle	72.9 ± 13.9	35.2 ± 6.8	27.4 ± 7.3	13.5 ± 3.3	4.2 ± 1.9	6.4 ± 3.1
After 2 cycles	72.7 ± 15.5	35.1 ± 7.4	29.9 ± 5.9	13.2 ± 5.1	4.1 ± 2.5	7.1 ± 2.6
Post-therapy	74.6 ± 15.6*	34.7 ± 5.6*	30.2 ± 6.3*	14.6 ± 6.3*	5.9 ± 3.6	6.9 ± 2.3
Chemotherapy						
Pre-therapy	72.3 ± 13.9	39.2 ± 8.4	30.2 ± 7.4	13.6 ± 5.7	4.1 ± 2.4	7.9 ± 4.3
After 1 cycles	61.2 ± 10.3	35.4 ± 6.3	27.5 ± 8.3	10.2 ± 4.3	3.2 ± 2.0	6.2 ± 3.8
After 2 cycles	50.9 ± 10.8	30.9 ± 5.9	24.6 ± 7.9	6.2 ± 4.7	2.4 ± 2.3	6.6 ± 3.3
Post-therapy	43.6 ± 9.3 [△]	24.1 ± 5.3 [△]	18.2 ± 8.7 [△]	5.2 ± 4.0 [△]	2.3 ± 1.9	5.9 ± 4.0

* $P < 0.05$ vs chemotherapy group post-therapy; [△] $P < 0.05$ vs pre-therapy

2.3 治疗期间及治疗后CD4⁺T细胞中相关细胞因子的变化

比较两组患者治疗期间及治疗3周期后CD4⁺T细胞中相关细胞因子的变化情况,联合组治疗前后IL-2、TNF- α 无显著性变化($P > 0.05$),IFN- γ 治疗后较治疗前显著升高($P < 0.05$);而化疗组治疗后较治疗前IFN- γ 、IL-2、TNF- α 均显著下降($P < 0.05$)。治疗后两组间比较,化疗组CD4⁺T细胞中IFN- γ 、IL-2、TNF- α 明显低于联合组($P < 0.05$)(表3)。提示DC-CIK免疫治疗可以促进CD4⁺T细胞IFN- γ 的分泌,而化疗抑制CD4⁺T细胞分泌IFN- γ 、IL-2、TNF- α 等细胞因子的能力。

2.4 两组CRC患者治疗后近期疗效及不良反应

3周期治疗后,以CT等检查评价两组患者RR分别是37.5%(15/40)和22.5%(9/40),未见显著性差异($P > 0.05$);DCR分别为77.5%(31/40)、50.0%(20/40),联合组DCR明显好于化疗组($P < 0.05$)。两组患者的主要不良反应表现为骨髓抑制、消化道反应及末梢神经炎等,对症治疗后均可缓解。联合组和化疗组Ⅲ~Ⅳ度白细胞下降发生率分别占17.5%(7/40)和42.5%(17/40),两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组Ⅲ~Ⅳ度迟发性腹泻发生率分别占5.0%(2/40)和25.0%(10/40),联合组明显低于化疗组($P < 0.05$)。其他相关不良反应,如严重贫血、血小板下降、恶心、呕吐、肝功能异常、急性腹泻等未见显著差异(表4)。

表3 两组 CRC 患者治疗后 CD4⁺ T 细胞中相关细胞因子变化情况($\bar{x} \pm s, \%$)Tab. 3 Changes of intra-cellular cytokines in CD4⁺ T cells of two groups of CRC patients after treatment($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	IFN- γ	IL-2	TNF- α
Chemotherapy + DC-CIK			
Pre-therapy	7.2 \pm 2.3	10.1 \pm 3.6	7.9 \pm 3.1
After 1 cycle	10.4 \pm 2.5	9.2 \pm 2.6	7.5 \pm 3.3
After 2 cycles	12.2 \pm 1.9	10.8 \pm 3.0	7.1 \pm 2.0
Post-therapy	16.9 \pm 3.4 [△]	10.5 \pm 2.9	8.2 \pm 1.3
Chemotherapy			
Pre-therapy	7.6 \pm 2.9	10.8 \pm 2.7	7.7 \pm 2.8
After 1 cycle	6.2 \pm 2.4	7.1 \pm 3.1	6.2 \pm 1.9
After 2 cycles	5.2 \pm 1.3	5.2 \pm 0.9	4.4 \pm 1.3
Post-therapy	4.0 \pm 1.9*	4.6 \pm 1.1*	3.1 \pm 0.8*

* $P < 0.05$ vs Chemotherapy + DC-CIK group post-therapy; [△] $P < 0.05$ vs pre-therapy表4 两组 CRC 患者不良反应发生情况(n)Tab. 4 Side reaction of CRC patients in two groups(n)

Side reaction	Chemotherapy + DC-CIK					Chemotherapy				
	0	I	II	III	IV	0	I	II	III	IV
Leucopenia	7	8	18	5	2	4	5	14	13	4
Anemia	26	10	4	0	0	25	12	3	0	0
Thrombocytopenia	18	13	8	1	0	16	12	6	6	0
Nausea and vomiting	15	12	12	1	0	13	7	16	4	0
Hepatic disfunction	32	4	4	0	0	29	6	5	0	0
Acute diarrhea	30	6	3	1	0	28	8	3	1	0
Tardily diarrhea	29	5	4	1	1	20	6	4	6	4
Peripheral neuritis	29	10	1	0	0	25	12	3	0	0

2.5 两组 CRC 患者 PFS 及 OS 评价

联合组中位随访时间为 10 个月(4 ~ 18 个月), 化疗组中位随访时间 9 个月(3 ~ 18 个月), 两组患者随访率均为 100%。联合组患者的 PFS 分别为 3 ~ 10 个月, 中位 PFS 为 6.5 个月; 化疗组患者的 PFS 分别为 3 ~ 9 个月, 中位 PFS 为 4.5 个月。经 Log-Rank 检验, 两组患者总 PFS 差异有统计学意义($\chi^2 = 4.16, P = 0.0413$) (图 1)。联合组患者的 OS 为 4 ~ 18⁺ 个月, 中位 OS 为 12 个月; 化疗组患者的 OS 为 3 ~ 18⁺ 个月, 中位 OS 为 10.5 个月。经 Log-Rank 检验, 两组患者总 OS 比较差异无统计学意义

($\chi^2 = 2.58, P = 0.1083$) (图 2)。

2.6 两组患者治疗期间及治疗后生活质量评价

治疗前与治疗 3 周期后, 分别评价两组患者 EORTC QLQ-C30 平均得分, 治疗前两组 EORTC QLQ-C30 各项评分无明显差异($P > 0.05$)。3 周期治疗后, 评价结果显示联合组在躯体功能、情绪功能方面较治疗前明显改善, 而且明显好于化疗组($P < 0.05$), 角色功能、认知功能、社会功能方面较治疗前无明显差异($P > 0.05$); 而化疗组患者在躯体功能、情绪功能、角色功能、认知功能、社会功能等方面较治疗前无明显变化($P > 0.05$) (表 5)。

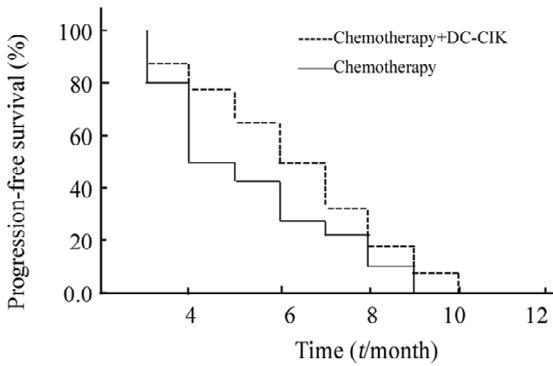


图 1 两组 CRC 患者 PFS 曲线

Fig. 1 PFS curves of two groups of CRC patients

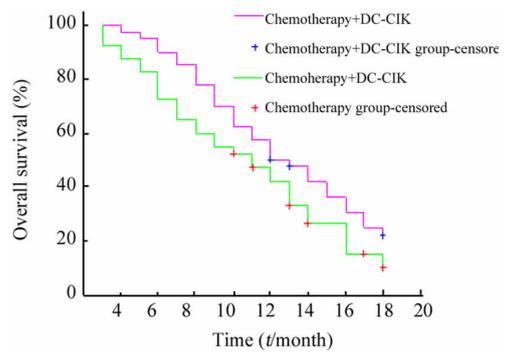


图 2 两组 CRC 患者 OS 曲线

Fig. 2 OS curves of two groups of CRC patients

表 5 两组 CRC 患者治疗前后 EORTC QLQ-C30 评分(n = 40)

Tab. 5 EORTC QLQ-C30 function scores of CRC patients in two groups before and after treatment(n = 40)

Item	Chemotherapy + DC-CIK		Chemotherapy	
	Pre-therapy	Post-therapy	Pre-therapy	Post-therapy
Physical function(PF)	59.35 ± 7.24	78.01 ± 8.76 * [△]	58.58 ± 7.39	55.39 ± 8.93
Role function(RF)	43.78 ± 5.93	50.37 ± 7.64	44.23 ± 6.12	43.56 ± 8.29
Emotional function(EF)	41.13 ± 5.26	60.72 ± 7.33 * [△]	40.39 ± 5.32	36.96 ± 5.81
Cognitive function(CF)	50.98 ± 5.83	53.87 ± 6.54	48.01 ± 5.72	47.32 ± 7.72
Social function(SF)	60.39 ± 7.29	68.53 ± 7.38	61.31 ± 5.72	58.49 ± 7.94

[△]P < 0.05 vs pre-therapy; * P < 0.05 vs chemotherapy post-therapy

3 讨论

DC 是机体内功能最强的抗原呈递细胞,可特异性激活 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞和 CD4⁺ 辅助 T 细胞,在机体的抗肿瘤免疫中发挥着重要的作用,是针对肿瘤抗原免疫反应的理想靶点之一^[9]。近年来,诸多临床前期试验^[10-11]已经验证了 DC 在一些恶性肿瘤方面的疗效,部分 DC 疫苗已经正式批准应用于临床。2010 年 5 月美国 FDA 正式以肿瘤 DC 疫苗的方式批准了 Provenge 应用于前列腺癌的治疗,具有抗肿瘤细胞免疫领域里程碑的意义^[12-13]。体外培养的 DC 是由外周血中 CD14⁺ 单核细胞在 GM-CSF 和 IL-4 作用下分化为不成熟 DC,进而在 TNF- α 、IL-1 等炎性介质作用下发育为成熟 DC^[14]。成熟 DC 才具有呈递抗原、激活免疫的功能,而且可以通过分泌 IL-6 抑制 CD4⁺ CD25⁺ Treg 活性^[15]。CIK 是一群异质细胞,主要的效应细胞为 CD3⁺ CD56⁺ T 细胞,兼具有 T 细胞的强大抗瘤活性和 NK 细胞的非 MHC 限制性杀瘤优点。因此,应用 CIK 细胞被认为是新一代抗肿瘤过继细胞免疫治疗的首

选方案。CIK 细胞主要通过三种途径杀灭肿瘤细胞^[16-18]:(1)直接杀伤:CIK 细胞可以通过不同的机制识别肿瘤细胞,释放颗粒酶/穿孔素等毒性颗粒,导致肿瘤细胞裂解;(2) CIK 细胞释放大量的炎性细胞因子具有抑瘤、杀瘤活性,如 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 等,不仅对肿瘤细胞有直接抑制作用,还可通过调节机体免疫系统反应性间接杀伤肿瘤细胞;(3) CIK 细胞能够诱导肿瘤细胞的凋亡:CIK 细胞表达 FasL(II 型跨膜糖蛋白)通过与肿瘤细胞膜表达的 Fas(I 型跨膜糖蛋白)结合,诱导肿瘤细胞凋亡。CIK 细胞免疫治疗恶性肿瘤在国内很多医院已经开展,以 CIK 细胞为基础的过继性免疫治疗是近几年肿瘤生物免疫治疗领域的热点和焦点,其具有比传统的 LAK、TIL、CD3AK 细胞等更快的增殖速度及杀瘤活性,具有杀瘤谱广、安全性高等优势^[19]。但值得提出的是用 $\leq 1 \times 10^9$ 的 CIK 细胞进行临床治疗,理论上不足以产生明显抗肿瘤疗效^[20]。DC 和 CIK 联合应用即能激活抗原负载 DC 介导的 MHC 限制性细胞毒性作用,又发挥了 CIK 的非 MHC 限制性细胞毒性作用,增加了对肿瘤细胞的杀伤;另外,DC

可以在一定程度上抑制 Treg 活性,进而增强 CIK 细胞的杀伤活性,因此 DC 联合 CIK 治疗是目前临床应用的最有效的过继性免疫治疗的方式之一^[21]。研究表明,DC-CIK 过继性免疫治疗单独应用或联合化疗/放疗治疗恶性肿瘤,如胃肠道恶性肿瘤^[22-23]、肺癌^[24]、黑色素瘤^[25]、前列腺癌^[26]、卵巢癌^[27]、肝癌^[28]、乳腺癌^[29]、淋巴瘤^[30]等,均有效抑制了肿瘤的生长,也提高了肿瘤患者的生活质量^[31-32]。

众所周知,抗肿瘤的细胞免疫是一个相当复杂的过程,其中主要的效应细胞是激活的 CD8⁺ T 细胞,又称为细胞毒性 T 细胞。本研究培养的 CIK 细胞流式细胞仪检测显示 CD8⁺ T 细胞比例达 90% 以上,CD8⁺ CD56⁺ T 细胞比例达 20% 以上,说明细胞培养达到了较高的水准。与抗肿瘤免疫相反的方面是免疫逃逸,其中免疫抑制细胞(如 Treg)通过多种机制抑制免疫效应细胞的功能,是免疫逃逸的关键因素。本研究结果显示,化疗联合 DC-CIK 治疗及单纯化疗所致的外周血 Treg 变化不明显,而且化疗联合 DC-CIK 治疗患者外周血中 CD3⁺ CD8⁺、CD3⁻ CD56⁺ 等效应细胞比例较治疗前无明显变化,而单纯化疗患者外周血中 CD3⁺ CD8⁺、CD3⁻ CD56⁺ 等效应细胞比例较治疗前显著下降;另外,化疗联合 DC-CIK 治疗患者 T 细胞中 IFN- γ 较治疗前显著升高,而化疗患者治疗后 IFN- γ 、IL-2、TNF- α 显著下降,以上均体现了化疗明显降低了机体的免疫功能,而化疗联合 DC-CIK 治疗患者免疫功能未受明显影响。在疗效上,本研究结果显示,化疗联合 DC-CIK 治疗在疾病控制率和 PFS 上明显好于单纯化疗,白细胞下降及迟发性腹泻等不良反应的发生率也明显低于单纯化疗,更重要的是 DC-CIK 治疗在一定程度上提高了患者的生活质量。值得一提的是 CD8⁺ CD45RO⁺ T 细胞(记忆性 T 细胞),这种细胞具有对少量肿瘤细胞产生快速免疫应答和持续长期发挥抗癌作用的优点^[33]。研究^[34-36]表明,病灶中的 CD8⁺ CD45RO⁺ T 细胞的含量与患者的预后呈正相关,所以提取记忆性 T 细胞应用于过继性免疫治疗,是过继性免疫治疗的发展方向之一。此外,通过基因修饰 DC、CTL 等免疫细胞增强抗肿瘤免疫在基础研究方面已经取得了明确的效果^[37-39],期望在不久的将来,这些方式将为临床肿瘤过继性免疫治疗提供更多、疗效更高的治疗方式。

[参 考 文 献]

[1] 张思维,雷正龙,李光琳,等. 中国肿瘤登记地区 2005 年发病死亡资料分析 [J]. 中国肿瘤, 2009, 18(12): 973-979.

- [2] Chen HM, Weng YR, Jiang B, et al. Epidemiological study of colorectal adenoma and cancer in symptomatic patients in China between 1990 and 2009 [J]. J Dig Dis, 2011, 12(5): 371-378.
- [3] Brenner MK, Heslop HE. Adoptive T cell therapy of cancer [J]. Curr Opin Immunol, 2010, 22(2): 251-257.
- [4] Mesiano G, Todorovic M, Gammaitoni L, et al. Cytokine-induced killer (CIK) cells as feasible and effective adoptive immunotherapy for the treatment of solid tumors [J]. Expert Opin Biol Ther, 2012, 12(6): 673-684.
- [5] Bernatchez C, Radvanyi LG, Hwu P. Advances in the treatment of metastatic melanoma: Adoptive T-cell therapy [J]. Semin Oncol, 2012, 39(2): 215-226.
- [6] Cruz CR, Hanley PJ, Liu H, et al. Adverse events following infusion of T cells for adoptive immunotherapy: A 10 year experience [J]. Cytotherapy, 2010, 12(6): 743-749.
- [7] Di L, Zhu Y, Jia J, et al. Clinical safety of induced CTL infusion through recombinant adeno-associated virus-transfected dendritic cell vaccination in Chinese cancer patients [J]. Clin Transl Oncol, 2012, 14(9): 675-681.
- [8] Montagna D, Turin I, Schiavo R, et al. Feasibility and safety of adoptive immunotherapy with *ex vivo*-generated autologous, cytotoxic T lymphocytes in patients with solid tumor [J]. Cytotherapy, 2012, 14(1): 80-90.
- [9] Adams SO, Neill DW, Bhardwaj N. Recent advances in dendritic cell biology [J]. J Clin Immunol, 2005, 25(2): 87-98.
- [10] Hegmans JP, Veltman JD, Lambers ME, et al. Consolidative dendritic cell-based immunotherapy elicits cytotoxicity against malignant mesothelioma [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 181(12): 1383-1390.
- [11] 陈虎,唐晓义,张斌. 树突状细胞肿瘤疫苗:全球临床试验巡礼 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2012, 19(1): 1-10.
- [12] Thara E, Doff TB, Pinski JK, et al. Vaccine therapy with sipuleucel-T (Provenge) for prostate cancer [J]. Materitas, 2011, 69(4): 296-303.
- [13] Couzin-Frankel J. Immune therapy steps up the attack [J]. Science, 2010, 330(6003): 440-443.
- [14] Janikashvili N, Larmonier N, Katsanis E. Personalized dendritic cell-based tumor immunotherapy [J]. Immunotherapy, 2010, 2(1): 57-68.
- [15] Levings MK, Gregori S, Tresoldi E, et al. Differentiation of Tr1 cells by immature dendritic cells requires IL-10 but not CD25⁺ CD4⁺ Tr cells [J]. Blood, 2005, 105(3): 1162-1169.
- [16] Mehta BA, Schmidt-Wolf IG, Weissman IL, et al. Two pathways of exocytosis of cytoplasmic granule contents and target cell killing by cytokine-induced CD3⁺ CD56⁺ killer cells [J]. Blood, 1995, 86(9): 3493-3499.
- [17] Hoyle C, Bangs CD, Chang P, et al. Expansion of Philadelphia chromosome-negative CD3⁺ CD56⁺ cytotoxic cells from chronic myeloid leukemia patients: *In vitro* and *in vivo* efficacy in severe combined immunodeficiency disease mice [J]. Blood, 1998, 92(9): 3318-3327.
- [18] Verneris MR, Kornacker M, Mailänder V, et al. Resistance of *ex vivo* expanded CD3⁺ CD56⁺ T cells to Fas-mediated apoptosis

- [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2000, 49(6): 335-345.
- [19] 张俊平, 毛光华, 史天良, 等. DC-CIK 联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床疗效 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18(4): 424-429.
- [20] 钱其军, 吴孟超. 肿瘤过继细胞治疗-老故事新演绎 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18(1): 1-6.
- [21] Peqq KS, Quezada SA, Allison JP. Cancer immunotherapy: Costimulatory agonists and co-inhibitory antagonists [J]. *Clin Exp Immunol*, 2009, 57(1): 9-19.
- [22] Amedei A, Nicolai E, D'Elios MM. T cells and adoptive immunotherapy: Recent developments and future prospects in gastrointestinal oncology [J]. *Clin Dev Immunol*, 2011, 2011: 320571.
- [23] 樊永丽, 赵华, 于津浦, 等. 胃癌患者术后化疗联合 CIK 免疫治疗的疗效 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2012, 19(2): 168-174.
- [24] Iwai K, Soejima K, Kudoh S, et al. Extended survival observed in adoptive activated T lymphocyte immunotherapy for advanced lung cancer: Results of a multicenter historical cohort study [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(10): 781-790.
- [25] Hunder NN, Wallen H, Cao J, et al. Treatment of metastatic melanoma with autologous CD4⁺ T cells against NY-ESO-1 [J]. *N Engl J Med*, 2008, 19, 358(25): 2698-2703.
- [26] Kawaoka T, Oka M, Takashima M, et al. Adoptive immunotherapy for pancreatic cancer: Cytotoxic T lymphocytes stimulated by the MUC1-expressing human pancreatic cancer cell line YPK-1 [J]. *Oncol Rep*, 2008, 20(1): 155-163.
- [27] Chu CS, Boyer J, Schullery DS, et al. Phase I/II randomized trial of dendritic cell vaccination with or without cyclophosphamide for consolidation therapy of advanced ovarian cancer in first or second remission [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(5): 629-641.
- [28] Yang Z, Zhang Q, Xu K, et al. Combined therapy with cytokine-induced killer cells and oncolytic adenovirus expressing IL-12 induce enhanced antitumor activity in liver tumor model [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44802.
- [29] Bernhard H, Neudorfer J, Gebhard K, et al. Adoptive transfer of autologous, HER2-specific, cytotoxic T lymphocytes for the treatment of HER2-over expressing breast cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(2): 271-280.
- [30] Guo Z, Liu H, He XP, et al. A clinical study of cytokine-induced killer cells for the treatment of refractory lymphoma [J]. *Oncol Lett*, 2011, 2(3): 531-536.
- [31] Mesiano G, Todorovic M, Gammaitoni L, et al. Cytokine-induced killer (CIK) cells as feasible and effective adoptive immunotherapy for the treatment of solid tumors [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2012, 12(6): 673-684.
- [32] Sangiolo D. Cytokine induced killer cells as promising immunotherapy for solid tumors [J]. *J Cancer*, 2011, 2: 363-368.
- [33] 何以丰, 狄文. 癌相关 CD8⁺ 记忆 T 细胞在过继免疫治疗中的应用 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2012, 19(2): 116-121.
- [34] Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome [J]. *Science*, 2006, 313(5795): 1960-1964.
- [35] Leffers N, Gooden MJ, de Jong RA, et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(3): 449-459.
- [36] de Jong RA, Leffers N, Boezen HM, et al. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 114(1): 105-110.
- [37] Chen J, Li HY, Wang D, et al. Human dendritic cells transfected with amplified MUC1 mRNA stimulate cytotoxic T lymphocyte responses against pancreatic cancer *in vitro* [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(10): 1509-1518.
- [38] 朱成英, 董小林, 韩亚萍, 等. 携带癌胚抗原基因重组腺病毒相关病毒感染 DC 诱导 CTL 活化 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2012, 19(3): 313-316.
- [39] Chen L, Qiu M, He W, et al. Functional study of immature dendritic cells co-transfected with IL-10 and TGF-beta 1 genes *in vitro* [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(6): 6633-6639.
- [收稿日期] 2012-12-12 [修回日期] 2013-02-24
- [本文编辑] 王莹, 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中须写成斜体的外文字符

在科技文稿中出现许多外文字符, 它们有的是正体、有的是斜体。正体和斜体外文字符各有其特定含义和用法, 切不可混淆使用。现根据有关标准和规则, 把生物医学文稿中须要写成斜体的外文字符归纳为以下几类:

(1) 生物学中拉丁学名的属名和种名(包括亚属、亚种、变种)应斜体, 例如大肠杆菌 *Escherichia coli*、幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* 等。(2) 各种基因的缩写符号应斜体(基因表达产物缩写符号应写成正体), 例如人脆性 X 智力低下基因 1 的符号为 *FMRI*、原癌基因 *RAF1* (人)、病毒癌基因 *v-raf-1* (鼠)、抑癌基因 *p53* (鼠) 等。(3) 限制性内切核酸酶缩写符号中前 3 个字母应斜体, 例如 *Hind III*、*BamH I*、*Sal I* 等。(4) 各种统计学符号应斜体, 例如样本数 *n*、均数 \bar{x} 、样本差 *s*、*t* 检验、*F* 检验、概率 *P*、相关系数 *r* 等。(5) 各种物理量的量符号应斜体(*pH* 用正体除外), 例如长度 *l* (*l*)、面积 *A* (或 *S*)、体积 *V*、质量 *m*、时间 *t*、压力 *p*、相对分子质量 *M_r*、物质的量浓度 *c_B* 等。(6) 化学中表示旋光性、分子构型、构象、取代基等符号应斜体, 例如左旋 *L*-、右旋 *D*-、邻位 *o*-、对位 *p*-、反式 *trans*-、顺式 *cis*- 等。(7) 数学中用字母表示的变数和一般函数应斜体。(8) 英文中使用的某些拉丁词应斜体, 例如 *vs*、*in situ*、*in vivo*、*in vitro* 等。