

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.04.012

· 临床研究 ·

DC-CIK 细胞治疗局部晚期和晚期胰腺癌患者的临床疗效

蔡凯,艾月琴[▲],张闯,高艳荣,郭树霖,江龙委,张燕,贾绍昌(中国人民解放军第81医院全军肿瘤中心肿瘤生物治疗科,江苏南京210002)

[摘要] **目的:**探讨树突状细胞(dendritic cell, DC)联合细胞因子诱导的杀伤(cytokine-induced killer, CIK)细胞治疗局部晚期和晚期胰腺癌的安全性和有效性。**方法:**采集2011年7月至2012年5月在解放军第81医院生物治疗科治疗的24例Ⅲ~Ⅳ期胰腺癌患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),体外诱导培养DC和CIK细胞。DC经胰腺癌细胞株(PANC-1)裂解物致敏后与CIK细胞回输至胰腺癌患者,观察DC-CIK细胞治疗前后患者外周血淋巴细胞亚群、血清肿瘤标志物的改变以及临床疗效。**结果:**DC-CIK细胞治疗3个月后,胰腺癌患者外周血CD3⁺T细胞、CD8⁺T细胞和CD4⁺CD25⁺Treg细胞比例均显著下降(均 $P < 0.05$),CD4⁺/CD8⁺比值升高[(1.1 ± 0.7) vs (1.5 ± 0.9), $P < 0.05$]。血清肿瘤标志物CA19-9在治疗后1个月[(382.8 ± 277.7) vs (213.8 ± 214.6), $P < 0.05$]和治疗后3个月[(213.8 ± 214.6) vs (154.0 ± 118.2), $P < 0.01$]持续下降。24例患者无1例完全缓解,其中3例部分缓解,4例疾病稳定,17例疾病进展;治疗有效率为12.5%,疾病控制率为29.2%;中位生存期为5.7个月,6个月生存率为33%,9个月生存率为27%。治疗期间所有患者均未出现3~4级不良反应。**结论:**DC-CIK细胞治疗局部晚期和晚期胰腺癌患者安全可行,可改善患者免疫功能并产生临床获益。

[关键词] 树突状细胞;细胞因子诱导的杀伤细胞;胰腺癌;调节性T细胞;CA19-9

[中图分类号] R735.9;R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)04-0449-07

Clinical efficiency of dendritic cells and cytokine-induced killer cells on local advanced and advanced pancreatic cancer patients

Cai Kai, Ai Yueqin[▲], Zhang Chuang, Gao Yanrong, Guo Shulin, Jiang Longwei, Zhang Yan, Jia Shaochang (Department of Tumor Bio-therapy, Cancer Center of PLA, No. 81 Hospital of PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the safety and efficiency of dendritic cells (DCs) combined with cytokine-induced killer (CIK) cells in the treatment of local advanced and advanced pancreatic cancer. **Methods:** Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were collected from 24 pancreatic cancer patients in III ~ IV stage from the department of tumor bio-therapy of No. 81 Hospital of PLA during Jul. 2011 to May. 2012 and were cultured *in vitro* to obtain DC and CIK cells. DCs were sensitized by PANC1 (pancreatic cancer cell line) cell lysates and then transfused to pancreatic cancer patients combined with CIK cells. The changes in peripheral blood lymphocyte subsets, serum tumor markers and clinical efficiency were evaluated before and after DC-CIK cell treatment. **Results:** The proportions of CD3⁺T cells, CD8⁺T cells and CD4⁺CD25⁺Treg were significantly decreased after DC-CIK cell treatment for 3 months (all $P < 0.05$), while the ratio of CD4⁺/CD8⁺ cells was significantly increased (1.1 ± 0.7 vs 1.5 ± 0.9, $P < 0.05$). The serum tumor marker CA19-9 level declined 1 month after-treatment (382.8 ± 277.7 vs 213.8 ± 214.6, $P < 0.05$) and 3 months after-treatment (213.8 ± 214.6 vs 154.0 ± 118.2, $P < 0.01$). In all the 24 patients, there was no case of complete response, 3 cases of partial response, 4 cases of stable disease, 17 cases of progressive disease; the clinical response rate was 12.5% and the disease control rate was 29.2%; the median survival time was 5.7 months; the 6- and 9-month overall survival rates were

[基金项目] 中国人民解放军南京军区医学科技创新基金(No. 08MB055)。Project supported by the Medical Science and Technology Innovation Foundation of Nanjing Military Command of PLA(No. 08MB055)

[作者简介] 蔡凯(1977-),男,江苏省泰兴市人,博士,主治医师,主要从事肿瘤免疫和生物治疗的研究工作,Email:njcaikai@163.com;艾月琴(1978-),女,江苏海安人,硕士,住院医师,主要从事肿瘤生物治疗的临床研究工作,Email:aiyq783@163.com。▲共同第一作者

[通信作者] 贾绍昌(Jia Shaochang, corresponding author),Email:nj80864520@163.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20130722.1446.009.html>

33% and 27%, respectively. No grade 3-4 adverse events were observed in all cases during treatment. **Conclusion:** DCs combined with CIK cell treatment on local advanced and advanced pancreatic cancer patients are safe and feasible. DC-CIK treatment could increase patient's immune function and show clinical benefits.

[**Key words**] dendritic cell (DC); cytokine-induced killer (CIK) cell; pancreatic cancer; Treg; CA19-9

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(4): 449-455]

胰腺癌是一种恶性程度很高的肿瘤,居世界男性癌症致死病因的第 8 位,女性居第 9 位^[1]。我国的最新统计资料显示,胰腺癌居全国癌症死亡病因的第 7 位^[2],西方发达国家胰腺癌病死率更高,2012 年在美国居癌症死亡病因的第 4 位^[3]。胰腺癌整体预后很差,5 年总生存率不超过 5%,对于晚期胰腺癌患者,预期生存更短(3~6 个月)^[4,5]。胰腺癌之所以有如此高的病死率,一方面由于早期诊断困难,约 80%~85% 的患者在诊断时已失去了手术治愈的机会;另一方面,对于局部晚期或晚期胰腺癌患者(Ⅲ~Ⅳ期),虽然放疗和化疗被证明可以部分提高和改善无病生存期(disease-free survival, DFS)和总生存期(overall survival, OS),但疗效增加的同时不良反应亦随之增加,且多数患者对放化疗仍然是抵抗的^[6-7]。免疫治疗是一种完全不同于传统放、化疗的依赖细胞毒杀伤作用的治疗手段,其作用机制包括主动免疫和被动免疫两种方式。前者是通过疫苗活化机体免疫系统,通过增强自身免疫力杀伤肿瘤细胞,后者则是输注具有强大杀伤能力的免疫细胞对肿瘤细胞进行直接杀伤。目前国内开展较多的是树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗联合细胞因子诱导的杀伤(cytokine-induced killer, CIK)细胞治疗。本研究观察对放化疗失败或不能耐受放化疗的局部晚期或晚期胰腺癌患者进行 DC-CIK 细胞免疫治疗的近期临床疗效,探索细胞免疫治疗胰腺癌的有效性、安全性和可行性。

1 材料与方 法

1.1 临床资料

选取 2011 年 7 月至 2012 年 5 月在中国人民解放军第 81 医院肿瘤生物治疗科进行自体 DC-CIK 细胞免疫治疗的Ⅲ~Ⅳ期胰腺癌 24 例,其中男性 13 例、女性 11 例,中位年龄 64 岁(30~75 岁);11 例(45.8%)经病理确诊,13 例(54.2%)为临床诊断(在无法取得病理学证据的情况下,胰腺癌的临床诊断标准参照文献[8])。按美国癌症联合委员会胰腺癌 TNM 分期标准(第七版),本组患者中Ⅲ期 8 例、Ⅳ期 16 例。治疗前 Karnofsky 功能状态评分(Karnofsky performance status, KPS)为 60~90 分。

24 例患者的一般临床资料见表 1。所有患者的临床试验程序均经本院伦理委员会审查批准,全部受试患者均签署自体免疫细胞治疗知情同意书。

病例入选标准:病理确诊或临床诊断为局部晚期或晚期胰腺癌患者(Ⅲ~Ⅳ期),预期生存时间≥3 个月,先前治疗结束至首次 DC 疫苗治疗开始至少间隔 4 周以上,能耐受血细胞分离机的采集。病例排除标准:怀孕及哺乳期妇女;同时患有自身免疫性疾病;感染活动状态;严重凝血异常;既往有生物制品过敏史者。

1.2 主要试剂与仪器

注射用重组 rhG-CSF(规格 75 μg/瓶)购自深圳新鹏生物工程有限公司。注射用 rhGM-CSF 购自厦门特宝生物工程股份有限公司,IL-4 及 TNF-α 均购自美国 Peprotech 公司,注射用 rhIL-2(规格 100 万 U/瓶)购自北京四环生物制药有限公司,注射用 rhIFN-γ(规格 100 万 U/支)购自上海凯茂生物医药有限公司,抗人 CD3 单克隆抗体(anti-CD3 mAb)及 GT-T551 培养液均购自北京宝日医生物技术有限公司,CD86-PE-CY5 购自美国 BD 公司,CD11c-PE、HLA-DR-ECD、CD83-FITC、CD80-FITC、CD54-PE-CY5 均购自美国 Beckman 公司,X-VIVO 培养液购自美国 Lonza 公司。PANC-1 细胞株购自中国科学院细胞库。COM. TEC 血细胞分离机购自德国 Fresenius 公司,Beckman Coulter XL 流式细胞仪购自美国 Beckman 公司。

1.3 DC 及 CIK 细胞的制备及表型测定

DC 的制备及质量控制:所有患者均采用胰腺癌 PANC-1 细胞裂解物作为负荷抗原,具体方法见参考文献[9]。CIK 细胞制备:将采集所得外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)在 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 1~2 h 后,吸取悬浮细胞,以 GT-T551 培养液调整细胞密度至 1×10⁶ 个/ml,接种于含 GT-T551 培养液和 1 000 U/ml rhIFN-γ 的培养瓶中,常规培养 24 h 后加入 rhIL-2 至终质量浓度为 500 U/ml、anti-CD3 mAb 至 50 ng/ml,继续培养,每隔 2 d 补液 1 次,定期观察并适时分瓶培养,保持细胞密度在(1~2)×10⁶ 个/ml。根据细胞扩增数量、状态及成熟度,于第 9 至

21 天分 3 次收集细胞准备回输,回输前取样进行流式细胞表型鉴定分析。CIK 细胞其余质量控制同 DC^[9]。回输前 DC 及 CIK 均经流式细胞术分析证

实为成熟的 DC(主要细胞表型为 HLA-DR⁺ CD11c⁺ CD80⁺ CD86⁺ CD83⁺ CD54⁺)和 CIK 细胞(主要细胞表型为 CD3⁺ CD56⁺)。

表 1 24 例胰腺癌患者的临床特征

Tab. 1 Clinical characteristics of 24 patients with pancreatic cancer

No.	Gender	Age	Pathology type	Tumor location	Stage	Site of metastasis	Previous therapy	KPS
1	F	71	AC	Head	IV	Relapse in situ	CT(3)	80
2	M	64	Clinical diagnosis	Head	III	None	BD	80
3	M	74	Clinical diagnosis	Head	III	None	None	60
4	F	63	Clinical diagnosis	Head	IV	Liver	CT(6)	80
5	F	65	AC + SCC (10%)	Head	III	None	Ope	90
6	F	54	Clinical diagnosis	Body and tail	IV	Liver + lung + BrLN	CT(3)	70
7	M	64	Clinical diagnosis	Head	III	None	RT + CT(5)	70
8	M	63	Clinical diagnosis	Tail	IV	Liver	RT + CT(1)	70
9	M	55	Clinical diagnosis	Tail	IV	Liver	ICT(1)	70
10	F	61	AC	Body and tail	IV	BrLN	RT + CT(2)	80
11	F	59	Clinical diagnosis	Body	IV	Liver	CT(5)	70
12	F	71	AC	Body and tail	III	None	RT	80
13	M	59	Clinical diagnosis	Tail	IV	multiple MET	RT + CT(1)	70
14	F	75	AC	Body	IV	Liver	Ope	80
15	F	73	Clinical diagnosis	Body	IV	BrLN	RT	80
16	M	56	AC	Tail	IV	Liver	Pope + CT(2)	70
17	M	40	AC	Head	IV	BrLN	Ope + CT(2)	80
18	F	55	Clinical diagnosis	Body	III	None	CT(4)	70
19	M	64	AC	Tail	IV	Spleen	CT(4)	80
20	M	33	AC	Body and tail	IV	BrLN	RT	80
21	M	30	Clinical diagnosis	Body and tail	III	None	None	80
22	F	68	AC	Head	III	None	None	70
23	M	46	Clinical diagnosis	Tail	IV	Liver + Spleen	None	80
24	M	64	AC	Tail	IV	BrLN	Pope	70

BD: Biliary drainage; CT: Chemotherapy; Ope: Operation; Pope: Palliative operation; RT: Radiotherapy; ICT: Intraarterial chemotherapy; SCC: Squamous cell carcinoma; AC: Adenocarcinoma; (n): Indicates chemotherapy cycles; MET: Metastasis; BrLN: Beyond regional lymph node

1.4 DC-CIK 细胞免疫治疗方案

DC 治疗方案参考文献[10], CIK 细胞根据培养细胞的成熟度个体化回输。在患者先前治疗结束至少 4 周后行免疫学评估和临床评估,排除细胞治疗禁忌症后行单个核细胞采集术(apheresis),将 PBMC 送实验室培养。将第 7 天收获的 DC 细胞均

分 4 份进行回输,当日行第 1 次初始接种(prime),皮下注射部位为双侧锁骨下区、双侧腋窝及双侧腹股沟淋巴结引流区,后按 1 次/周的频率进行加强接种(boost),共 3 次;其间将收获的 CIK 细胞分 3 次静脉回输给患者。末次 DC 接种后 4、12 周时分别再次行免疫学评估和临床评估(图 1)。

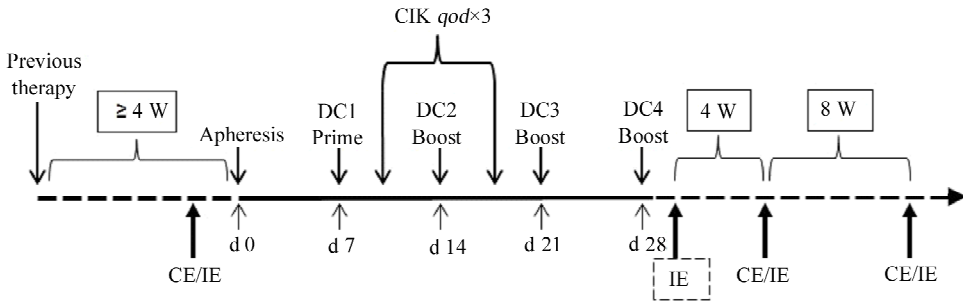


图1 DC联合CIK细胞的免疫治疗方案

Fig. 1 Schedule of immunotherapy combining DC and CIK

CE: Clinical evaluation; IE: Immunological evaluation; qod: Every other day

1.5 流式细胞术检测 DC-CIK 治疗后胰腺癌患者外周血淋巴细胞亚群的变化

在拟行免疫学评估当日收集胰腺癌患者抗凝外周血,分3组加入流式抗体:第一组为 CD3-ECD、CD4-PC5、CD8-FITC,第二组为 CD3-ECD、CD19-FITC、CD56-PE,第三组为 CD4-PC5、CD25-PE。孵育 20 min 后加入红细胞裂解液继续孵育 10 min, $1\ 358 \times g$ 离心 5 min 后 PBS 洗涤 2 次,制成细胞悬液,流式细胞仪检测。检测结果用 CXP (V2.1) 软件分析。不同淋巴细胞亚群的标志如下:总 T 细胞 ($CD3^+$)、辅助性 T 细胞 Th ($CD3^+CD4^+$)、杀伤性 T 细胞 Tc ($CD3^+CD8^+$)、自然杀伤细胞 NK ($CD3^+CD56^+$)、调节性 T 细胞 Treg ($CD4^+CD25^+$)、B 细胞 ($CD19^+$)。

1.6 随访及疗效评价

随访时间从 2011 年 7 月至 2012 年 12 月,患者在接受最后一次 DC-CIK 细胞治疗后 1 个月复查血常规、肝肾功能、血清肿瘤标志物和外周血淋巴细胞亚群,并进行胰腺(腹部)CT 检查及转移病灶的影像学检查(CT、MRI 或 ECT 检查),同时进行免疫反应评价和临床疗效评价;在治疗 3 个月后再次评估;之后每 3~6 个月复查评估。近期疗效评估按实体瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST)分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、病情稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD),患者治疗结束至少 4 周以后进行疗效确认。以 CR+PR 计算临床治疗有效率(response rate, RR);以 CR+PR+SD 计算疾病控制率(disease control rate, DCR)。总生存时间(overall survival, OS)是从 DC 疫苗治疗到死亡或随访截止日期的时间。细胞治疗过程中的不良反应根据美国国立癌症研究所《常见不良

反应标准》(NCI-CTCAE V4.0)进行判定。

1.7 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 软件分析,两组间比较采用 t 检验(正态分布时)或者 Wilcoxon 秩和检验(非正态分布时),重复测量资料采用线性混合效应模型分析,采用 Kaplan-Meier 法计算生存率,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 DC-CIK 细胞治疗后患者淋巴细胞亚群的变化

与治疗前相比,接受 DC-CIK 细胞治疗 1 个月后胰腺癌患者外周血 $CD4^+/CD8^+$ 比值上升 ($P = 0.04$), $CD4^+CD25^+$ Treg 细胞比例下降 ($P = 0.047$);治疗 3 个月后 $CD3^+$ T 细胞比例下降 ($P = 0.042$), $CD8^+$ T 细胞比例下降 ($P = 0.011$), $CD4^+/CD8^+$ 比值上升 ($P = 0.034$), $CD4^+CD25^+$ Treg 细胞比例下降 ($P = 0.037$) (表 2)。

2.2 DC-CIK 细胞治疗对胰腺癌患者外周血肿瘤标志物的影响

所有胰腺癌患者接受 DC-CIK 细胞免疫治疗前、治疗 1 个月后再和治疗 3 个月后再检测血清肿瘤标志物癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原 CA19-9 和 CA125 的表达水平。结果如图 2 的线性混合效应模型分析所示,DC-CIK 细胞治疗后胰腺癌患者外周血 CA19-9 水平呈显著下降趋势 [(382.8 ± 277.7) vs (213.8 ± 214.6) vs (154.0 ± 118.2) U/ml, $P = 0.003$],但 CA125 与 CEA 水平无显著变化 ($P > 0.05$)。

2.3 DC-CIK 细胞治疗胰腺癌的近期疗效

DC-CIK 细胞治疗 24 例胰腺癌患者,其中 3 例 PR、4 例 SD、17 例 PD,但无 1 例达 CR;治疗有效率

为 12.5%,疾病控制率为 29.2%(表 3)。

2.4 DC-CIK 细胞治疗胰腺癌患者的中期疗效

DC-CIK 细胞治疗 24 例患者随访时间为 3.5 ~ 16.7 个月,中位随访时间 8.9 个月。截至 2012 年 12 月终止随访,有 19 例胰腺癌患者死亡(Ⅲ期 5 例、Ⅳ期 14 例,其中 1 例Ⅲ期患者死于非肿瘤性急性脑血管意外),5 例仍在随访过程中(Ⅲ期 3 例、Ⅳ期 2 例)。24 例患者中去除 5 位仍存活患者和 1 例意外死亡患者的中位生存时间(median survival time, MST)为 5.0 个月(共 18 例,图 3),全部 24 位患者 MST 为 5.7 个月,6 个月生存率为 33%,9 个月生存率为 27%。

2.5 DC-CIK 细胞治疗胰腺癌患者的安全性

治疗患者中,有 2 例在 DC-CIK 细胞回输后出现畏寒和发热(最高分别为 38.2 °C 和 39.3 °C),对症处理后恢复正常;1 例患者出现轻度乏力,未予以特殊处理后逐渐自行恢复。所有不良反应均未达 3~4 级。

表 2 DC-CIK 细胞治疗前后胰腺癌患者外周血淋巴细胞亚群的变化(%)

Tab. 2 Changes of lymphocyte subsets in peripheral blood of pancreatic cancer patients before and after DC-CIK cell treatment(%)

Subset	Time after treatment (t/month)		
	0	1	3
N	24	24	20
CD3 ⁺ T	58.1 ± 13.6	60.4 ± 12.8	49.2 ± 13.8*
CD4 ⁺ T	24.9 ± 9.9	30.4 ± 10.3	23.0 ± 8.9
CD8 ⁺ T	29.0 ± 15.1	26.0 ± 13.9	20.6 ± 14.2*
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.1 ± 0.7	1.5 ± 0.8*	1.5 ± 0.9*
CD19 ⁺ B	6.0 ± 2.9	6.9 ± 3.5	5.4 ± 3.0
CD3 ⁺ CD56 ⁺ NK	10.6 ± 5.5	11.6 ± 8.8	12.1 ± 5.3
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg	4.3 ± 2.0	3.3 ± 1.6*	3.1 ± 1.6*

* P < 0.05 vs 0 month

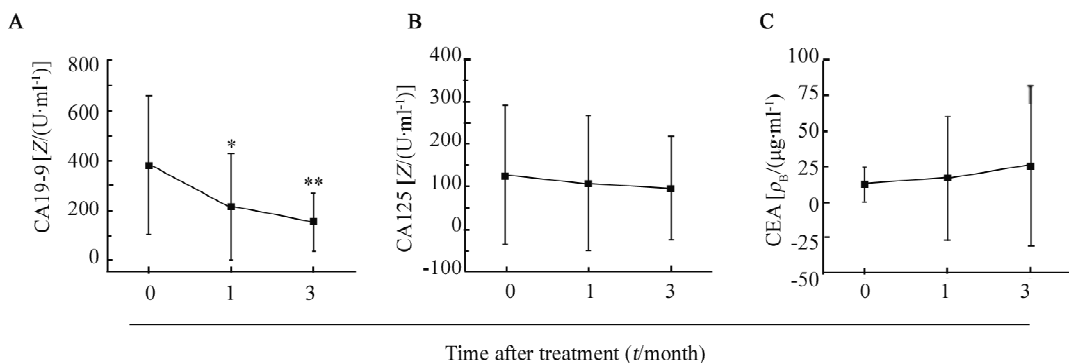


图 2 DC-CIK 细胞治疗前后胰腺癌患者外周血肿瘤标志物的变化

Fig. 2 Changes of tumor markers in peripheral blood of pancreatic cancer patients before and after DC-CIK cell treatment

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs 0 month

3 讨论

抗代谢药吉西他滨(gemcitabine, GEM)单药化疗或以 GEM 为主的二联化疗是局部晚期和晚期胰腺癌患者的一线标准治疗。最近研究^[12-13]显示,含 GEM 的 GTX(gemcitabine + docetaxel + capecitabine)三联方案及不含 GEM 的 FOLFIRINOX 四药方案治疗后,胰腺癌患者的 OS 均较单药 GEM 明显延长,但多药联合常带来毒副反应的增加,因而在胰腺癌临床实践指南(中国版)中,FOLFIRINOX 方案列为体力状态良好的Ⅲ~Ⅳ期胰腺癌患者的一线治疗。此外,化疗和放疗杀伤肿瘤

的机制主要是针对肿瘤异常的增殖动力学,即使达到临床治愈时,仍可能有大量肿瘤细胞残存。相比化疗,近年来兴起的细胞免疫治疗具有独特的优势,主要通过激活和强化机体免疫系统,利用抗原特异性细胞毒性 T 细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)靶向肿瘤细胞进行杀伤。同时机体免疫系统存在免疫记忆,一旦肿瘤再次出现(复发或再燃),CTL 可迅速扩增后杀伤肿瘤。

肿瘤免疫治疗成功与否取决于几方面的综合因素^[14]:第一,肿瘤细胞免疫原性的强弱;第二,机体的免疫反应性;第三,肿瘤微环境及机体免疫负性调控的强弱。目前普遍认为,胰腺癌是一类免疫原性很差的肿瘤^[15-16]。研究^[17]发现,胰腺癌患者骨髓中

表 3 DC-CIK 细胞回输总量和患者的临床反应
Tab. 3 Total number of re-infused DC-CIK cell and clinical responses of patients

No.	Total cell number		Clinical response	Survival (t/month)
	DC($\times 10^7$)	CIK($\times 10^9$)		
1	9.22	4.45	PD	6.7
2	8.69	3.07	PD	10.1
3	4.75	4.02	PR	4.6
4	7.05	5.06	PD	4.4
5	9.59	5.75	PR	11.7
6	8.01	5.30	SD	5.3
7	6.70	6.16	PD	8.6
8	8.41	4.55	PD	6.7
9	3.25	6.34	PD	2.7
10	5.01	5.27	PD	5.7
11	2.34	4.61	PD	1.1
12	5.06	3.91	PD	6.7
13	4.03	3.59	PD	3.8
14	8.54	9.40	PD	5.6
15	3.95	4.94	SD	2.5
16	3.61	5.24	PD	1.4
17	4.21	5.44	PD	3.5
18	8.26	4.20	PD	10.5
19	3.89	4.69	SD	5.3
20	4.12	5.86	PR	5.8
21	6.99	4.56	PD	8.1
22	9.52	5.26	PD	10.3
23	4.00	4.01	SD	4.1
24	5.23	3.56	PD	5.0

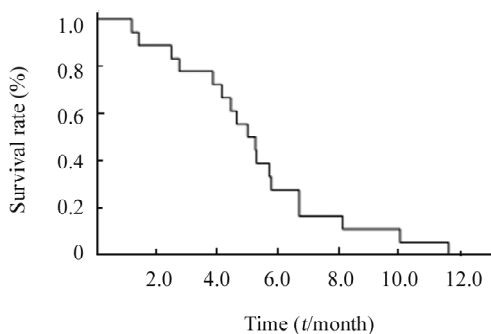


图 3 DC-CIK 细胞治疗后胰腺癌患者的生存曲线
Fig. 3 Survival curve of pancreatic cancer patients after DC-CIK cell treatment

可出现高频肿瘤特异性 T 细胞, 胰腺癌中高水平的肿瘤特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞可预示更长的生存期^[14, 18], 这些都说明胰腺癌可以诱发抗肿瘤免疫反应。随着多种肿瘤相关性抗原(tumor associated antigen, TAA)在胰腺癌中表达的确定, 靶向这些抗原的核酸疫苗和多肽疫苗的临床试验已广泛开展^[19]。由于肿瘤的遗传不稳定性(或)自发突变性, 单靶点疫苗活化的抗原特异性 T 细胞种类单一, 理论上肿瘤患者自身肿瘤细胞是疫苗制备的最佳抗原, 但对包括晚期胰腺癌在内的很多晚期肿瘤, 不论是伦理上还是实际操作中, 均难以取得足够的自身肿瘤组织用于疫苗制备。因此本研究中 DC 疫苗均采用异体胰腺癌细胞株 PANC-1 裂解物作为负荷抗原, 虽然不同肿瘤细胞株之间常有共同抗原^[16, 20], 但异体细胞株与患者自身肿瘤细胞的差异性必然会导致疗效差异。本研究中, DC 疫苗治疗后患者肿瘤标志物 CA19-9 和 CA125 均出现下降, CEA 却呈上升趋势。虽然没有进行抗原特异性 T 细胞检测, 但既往研究^[20-21]提示 PANC-1 细胞株体外培养时鲜有 CEA 产生, 因此推测 CEA 特异性 T 细胞亚群缺失, 这可能是本研究中 CEA 没有下降的原因, 但还有待进一步研究证实。

疫苗反应性既与负荷抗原的免疫原性有关, 还与淋巴细胞数量和功能有关, 外周血淋巴细胞亚群的动态监测可反映机体的细胞免疫功能^[22]。本研究发现, 治疗前胰腺癌患者 CD3⁺ T 细胞比例、CD4⁺/CD8⁺ 比值均低于正常人(数据未显示), 而 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞比例则明显升高, 提示晚期胰腺癌患者细胞免疫功能低下。治疗后 1 个月 CD3⁺ T 细胞比例和 CD4⁺/CD8⁺ 比值升高, Treg 细胞比例下降, 治疗后 3 个月 CD4⁺/CD8⁺ 比值进一步升高和 Treg 细胞比例进一步下降, 但此时 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞比例持续下降, 提示患者细胞免疫处于衰竭状态, 此时关注患者细胞亚群的绝对数可能更有意义。

临床上常发现免疫反应与临床反应不一致^[23], 原因是多方面的, 既有免疫检测技术的局限性^[22], 也有临床疗效评价标准(如 RECIST)对细胞免疫治疗评价的不适用性^[24]。理论上免疫反应和临床反应的联系是必然的, 在不断完善免疫治疗疗效评价的同时, 需要更关注临床疗效。DC-CIK 细胞治疗后胰腺癌患者外周血 CEA 呈上升趋势(可能与异体肿瘤细胞株 PANC-1 生物学特性有关), 但 CA19-9 和 CA125 出现下降, 说明 DC-CIK 细胞治疗对肿瘤生长有一定抑制作用。治疗后 24 例患者 RR 为

12.5%、DCR 为 29.2%、MST 为 5.7 个月,6 个月生存率为 33%、9 个月生存率为 27%,与文献报道含 GEM 姑息化疗结果相近^[25-26],现实中,多数患者在放化疗后复发或进展。在这种形势下实施 DC-CIK 细胞治疗,对常规治疗抵抗的 III ~ IV 期胰腺癌仍可临床获益。24 例患者中 IV 期 16 例(66.7%),原本细胞治疗入选条件中“预计生存期 > 3 个月”,但最终有 4 例生存期并没有达到预期生存,说明晚期胰腺肿瘤患者病情难以评估和控制,给临床试验带来极大的困难。所有治疗患者均未出现 3 ~ 4 级以上的不良反应,说明该治疗的安全性良好,是一种可接受的、能临床获益的治疗手段。

对于晚期胰腺癌进行细胞免疫治疗,虽然可以产生临床获益,但肿瘤负荷过大及机体的整体免疫抑制状态极大地限制了细胞免疫治疗的作用,因此如何将细胞免疫治疗规范地融入肿瘤的综合治疗中是一个充满希望又极富挑战的任务。

[参 考 文 献]

[1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2893-2917.

[2] 赵平,孔灵芝. 中国肿瘤死亡报告: 全国第三次死因回顾抽样调查 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 132-143.

[3] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63(1): 11-30.

[4] Hidalgo M. Pancreatic cancer [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(17): 1605-1617.

[5] Vincent A, Herman J, Schulick R, et al. Pancreatic cancer [J]. *Lancet*, 2011, 378(9791): 607-620.

[6] Stathis A, Moore MJ. Advanced pancreatic carcinoma: Current treatment and future challenges [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7(3): 163-172.

[7] Greenhalf W, Thomas A. Combination therapy for the treatment of pancreatic cancer [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2011, 11(5): 418-426.

[8] 倪泉兴,虞先潜,刘亮. 中国胰腺癌临床诊断标准的探讨 [J]. *中国癌症杂志*, 2012, 22(2): 81-87.

[9] 蔡凯,高艳荣,柯燕,等. 重组人粒细胞集落刺激因子动员后人外周血单核细胞来源树突状细胞肿瘤疫苗治疗研究 [J]. *医学研究生学报*, 2012, 25(6): 616-621.

[10] Cranmer LD, Trevor KT, Hersh EM. Clinical applications of dendritic cell vaccination in the treatment of cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53(4): 275-306.

[11] Lombardi L, Troiano M, Silvestris N, et al. Combined modality treatments in pancreatic cancer [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16(Suppl 2): S71-S81.

[12] De Jesus-Acosta A, Oliver GR, Blackford A, et al. A multicenter analysis of GTX chemotherapy in patients with locally advanced and

metastatic pancreatic adenocarcinoma [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012, 69(2): 415-424.

- [13] Conroy T, Desseigne F, Ychou M, et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(19): 1817-1825.
- [14] Wachsmann MB, Pop LM, Vitetta ES. Pancreatic ductal adenocarcinoma: A review of immunologic aspects [J]. *J Investig Med*, 2012, 60(4): 643-663.
- [15] Laheru D, Jaffee EM. Immunotherapy for pancreatic cancer-science driving clinical progress [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(6): 459-467.
- [16] Soares KC, Zheng L, Edil B, et al. Vaccines for pancreatic cancer [J]. *Cancer J*, 2012, 18(6): 642-652.
- [17] Schmitz-Winnenthal FH, Volk C, Z'Graggen K, et al. High frequencies of functional tumor-reactive T cells in bone marrow and blood of pancreatic cancer patients [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(21): 10079-10087.
- [18] Fukunaga A, Miyamoto M, Cho Y, et al. CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes together with CD4⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and dendritic cells improve the prognosis of patients with pancreatic adenocarcinoma [J]. *Pancreas*, 2004, 28(1): e26-e31.
- [19] Plate J. Clinical trials of vaccines for immunotherapy in pancreatic cancer [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2011, 10(6): 825-836.
- [20] Deer EL, Gonzalez-Hernandez J, Coursen JD, et al. Phenotype and genotype of pancreatic cancer cell lines [J]. *Pancreas*, 2010, 39(4): 425-435.
- [21] Lieber M, Mazzetta J, Nelson-Rees W, et al. Establishment of a continuous tumor-cell line (panc-1) from a human carcinoma of the exocrine pancreas [J]. *Int J Cancer*, 1975, 15(5): 741-747.
- [22] Characiejus D, Jacobs JJ, Pasukoniene V, et al. Prediction of response in cancer immunotherapy [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(2): 639-647.
- [23] Malyguine AM, Strobl SL, Shurin MR. Immunological monitoring of the tumor immunoenvironment for clinical trials [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(2): 239-247.
- [24] Hales RK, Banchereau J, Ribas A, et al. Assessing oncologic benefit in clinical trials of immunotherapy agents [J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(10): 1944-1951.
- [25] Poplin E, Feng Y, Berlin J, et al. Phase III, randomized study of gemcitabine and oxaliplatin versus gemcitabine (fixed-dose rate infusion) compared with gemcitabine (30-minute infusion) in patients with pancreatic carcinoma E6201: A trial of the Eastern cooperative oncology group [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(23): 3778-3785.
- [26] Cunningham D, Chau I, Stocken DD, et al. Phase III randomized comparison of gemcitabine versus gemcitabine plus capecitabine in patients with advanced pancreatic cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(33): 5513-5518.

[收稿日期] 2013 - 03 - 08

[修回日期] 2013 - 06 - 10

[本文编辑] 黄静怡