

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.04.021

· 综 述 ·

细胞因子诱导的杀伤细胞治疗胃癌的研究现状

Cytokine induced killer cells for gastric cancer

孙婷,唐晓义,刘婷 综述;张斌,陈虎[▲]审阅(军事医学科学院附属医院造血干细胞移植科细胞与基因治疗中心,全军造血干细胞研究所,北京 100071)

[摘要] 细胞因子诱导的杀伤(cytokine induced killer, CIK)细胞免疫治疗作为一种毒副作用较轻、前景良好的过继性细胞免疫治疗方法,其联合化疗对胃癌的治疗已进行了一定的研究。虽然,目前所报道的临床研究已经证实 CIK 细胞治疗的安全性,但尚不足以充分证明 CIK 细胞联合化疗治疗胃癌的有效性,因为这些试验设计方案均存在一些缺陷,如为非随机对照的临床研究、样本量较小、未明确胃癌类型、未标准化的 CIK 细胞制备方法和治疗方案、无用于预测 CIK 细胞治疗效果的特异性生物标志物等。因此,迫切需要解决这些问题方能促进 CIK 细胞用于胃癌临床研究的发展。

[关键词] 细胞因子诱导的杀伤细胞;胃癌;临床试验

[中图分类号] R735.2; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)04-0473-04

在全球范围内,胃癌高居常见肿瘤发病的第四位,已经成为第二大肿瘤致死因素,占肿瘤总病死人数的 10.4%,在我国、东欧和日本地区高发。手术切除仍是胃癌的主要根治性手段,但是 5 年总体生存率仅为 20%~25%,联合治疗策略(术前后的化疗/放疗或者围手术期的化疗)的 5 年生存率也仅提高至 30%~35%。围手术期的化疗/放疗诱导胃癌患者病理完全缓解率不足 20%~30%,而术前单独化疗很少诱导病理完全缓解。虽然胃癌的治疗手段有所改进,但是晚期胃癌预计治愈率仍不高,对于转移性胃癌,化疗是姑息治疗的主要手段,客观反应率仅为 20%~40%,中位总体生存期为 8~10 个月^[1]。因此,迫切需要研究新的治疗方法,比如表皮生长因子抑制剂、抗血管生成药物、凋亡促进剂和免疫治疗。作为一种免疫治疗方法,已经有学者对细胞因子诱导的杀伤(cytokine induced killer, CIK)细胞免疫治疗在胃癌中的临床应用进行了研究,本文就 CIK 细胞在胃癌治疗中研究现状作一综述。

1 CIK 细胞的特性

CIK 细胞是一群体外培养扩增获得的异质性 T 细胞群,具有 T 细胞和 NK 细胞的混合表型,能发挥 MHC 非限制性杀瘤效应,最早于 1991 年由斯坦福大学医学中心的 Schmidt-Wolf 等^[2]学者报道。当时研究^[2]发现,CIK 细胞对淋巴瘤细胞具有较高的细胞毒作用,但对正常人造血前体细胞(粒-巨噬细胞集落形成单位)的毒副作用较小。随后研究^[3,4]发现,CIK 细胞的扩增效率和抗肿瘤活性均要优于淋

巴因子激活的杀伤(lymphokine activated killer, LAK)细胞,且无需注射外源性 IL-2 来维持 CIK 细胞在体内的活性,故在学界引起学者的广泛关注。

CIK 细胞体外扩增的经典方案为:采用 3 种细胞因子如 IFN- γ (第 0 天)、抗 CD3 单抗(第 1 天)和 IL-2(第 1 天和随后定期添加)培养 PBMC 21~28 d^[2,3,5]。添加 IFN- γ 的作用在于激活培养物中的巨噬细胞,通过接触依赖性和细胞因子介导信号途径促进 Th1 表型的获得^[6],抗 CD3 单抗为培养物提供有丝分裂起始信号^[7],然后连续添加 IL-2 有助于维持有丝分裂信号^[8]。经过 21~28 d 的连续扩增,CIK 细胞数量能扩增上百倍。目前已经有学者报道^[9]了其他改良的 CIK 细胞培养方法,比如添加新的细胞因子 IL-1、IL-7、IL-15 或胸腺细胞球蛋白、体外扩增过程中的短暂的异基因刺激或者去除调节性 T 细胞等。

CIK 细胞扩增后的最终表型为一群异质性的 T 细胞群,主要含有 CD3⁺CD56⁺ 和 CD3⁺CD56⁻ 两群,前者主要发挥 CIK 细胞 MHC 非限制性肿瘤杀

[基金项目] 国家“十一五”计划新药创制重大专项(No. 2009zx09503-23)。Project supported by the Key New Drug Creation and Manufacturing Program of the “Eleventh Five-year Plan” of China (No. 2009zx09503-23)

[作者简介] 孙婷(1983-),女,陕西省商洛市人,硕士,从事细胞治疗和造血干细胞移植方面研究,E-mail:txy_love@126.com

[通信作者] 张斌(Zhang Bin, corresponding author), E-mail:zb307ctc@163.com;陈虎(Chen Hu, co-corresponding author), E-mail:chenhu217@aliyun.com。▲为共同通讯作者

伤活性,后者类似于传统的 T 淋巴细胞,赋予 CIK 细胞一种跨 HLA 屏障的残留基因反应性^[3,10-11],但 CIK 细胞的确切肿瘤识别机制尚未完全阐明。研究^[12]表明,CIK 细胞表达一些 NK 细胞受体如 NKG2D、DNAX 辅助因子-1(DNAM-1)和低水平的 NKp30、抑制性杀伤细胞免疫球蛋白样受体(inhibitory killer immunoglobulin-like receptor, iKIR)、NKG2A 和 CD94,而不表达 NKp44 和 NKp46。其中 NKG2D 受体与肿瘤细胞表面的配体相互作用在 CIK 细胞肿瘤识别机制中发挥重要作用,研究^[5,12]发现,其他分子如 NKp30、DNAM-1 和 LFA-1/ICAM-1 复合物也在肿瘤识别中发挥作用。NKG2D 识别的主要配体为 MHC I 类相关分子 A、B 和几乎只在恶性肿瘤细胞上表达的 UL16 结合蛋白(unique long 16-binding protein, ULBP)和应力诱导蛋白^[13-15]。CIK 细胞最终的肿瘤裂解作用是由穿孔素和颗粒酶介导^[16]。

2 CIK 细胞联合化疗治疗胃癌的疗效

以检索式“(gastric[title] or stomach[title]) and (cancer[title] or tumor[title] or tumour[title] or neoplasm[title] or carcinoma[title]) and (“cytokine induced killer”[title] or CIK”[title])”在 PubMed 数据库中的检索结果显示,目前已经有 5 项临床试验报道了化疗联合自体 CIK 细胞治疗用于胃癌治疗的研究结果。2006 年,蒋敬庭等^[17]研究发现,与单纯化疗相比,自体 CIK 细胞联合化疗能显著降低血清中肿瘤标志物水平、增强患者免疫功能、改善患者生活质量和延长患者 2 年生存期。随后,在 2010 年,蒋敬庭等^[18]又报道一项针对 156 例原发性胃癌患者的临床研究,结果表明,与单纯化疗相比,自体 CIK 细胞联合化疗显著延长患者的中位生存期(49 个月 vs 27 个月, $P < 0.05$),显著提高患者 2 年生存率(73.5% vs 52.6%, $P < 0.05$)和 5 年生存率(40.4% vs 23.9%, $P < 0.05$)。增加自体 CIK 细胞治疗输注次数可能降低胃癌患者的死亡风险。研究者还对这些胃癌患者组织中共刺激分子 B7-H4 的表达水平与自体 CIK 细胞治疗胃癌患者预后情况进行了研究^[19],发现无论 B7-H4 表达高低,化疗联合自体 CIK 细胞治疗均能显著延长胃癌患者的无瘤生存时间。2012 年,Shi 等^[20]研究表明,化疗联合自体 CIK 细胞治疗能显著提高局部晚期胃癌患者的 5 年无疾病生存率(28.3% vs 10.4%, $P = 0.044$),但不能显著提高这些患者的 5 年总体生存率(32.4% vs 23.4%, $P = 0.071$);还发现,化疗联合自体 CIK 治

疗能显著提高肠型肿瘤患者的 5 年总体生存率(46.8% vs 31.4%, $P = 0.045$)和 5 年无疾病生存率(42.4% vs 15.7%, $P = 0.023$)。2013 年,王志明等^[21]研究显示,对单纯化疗组相比,化疗联合自体 CIK 细胞能明显减少腹水引流量[(4 500 ± 1 218) vs (5 527 ± 1 460)ml, $P = 0.018$],显著延长中位疾病进展时间(4 个月 vs 2.5 个月, $P = 0.006$)和中位总生存时间(11 个月 vs 6 个月, $P = 0.001$),但不能显著提高疾病反应率(35% vs 22.7%, $P = 0.499$)和疾病控制率(75% vs 54.5%, $P = 0.209$)。2013 年,Zhao 等^[22]学者报道,化疗联合 CIK 细胞治疗能显著延长晚期胃癌患者的 5 年总体生存率(56.6% vs 26.8%, $P = 0.014$)、中位总体生存期(96 个月 vs 32 个月, $P = 0.003$)、5 年无进展生存率(49.1% vs 24.1%, $P = 0.026$)和中位无进展生存率(36 个月 vs 23 个月, $P = 0.028$) (表 1)。

虽然上述研究结果表明,与单纯化疗的对照组相比,自体 CIK 细胞联合化疗能使胃癌患者生存受益。但是,这些试验均是非随机的对照临床研究且样本量有限。因此,有必要开展更大样本量的随机对照临床研究,以严格评估 CIK 细胞治疗对胃癌患者长期生存的影响。

3 CIK 细胞联合化疗治疗胃癌的安全性

CIK 细胞联合化疗治疗方案的安全性是目前颇受关注的问题之一。蒋敬庭等^[17]报道了 32 例 CIK 细胞联合化疗的患者,其中 14 例有发热、3 例有寒战、2 例有恶心和呕吐症状,经简单对症处理后症状消失,未有严重的不良反应记录。Shi 等^[20]报道了 74 例,其中 20.8% 有发热、15% 有寒战、10% 有头痛、5% 有皮疹、5% 有恶心和呕吐症状。王志明等^[21]报道的 20 例患者中,仅有 1 例发热。Zhao 等^[22]在 53 例患者中未发现严重的毒副作用。这些研究结果说明,CIK 细胞联合化疗的治疗方案是比较安全的。

4 CIK 细胞治疗胃癌临床试验中的存在问题

虽然胃癌的临床诊断、手术和放疗化疗方案的发展已经取得了长足进步,但其预后仍然较差,CIK 细胞治疗作为一种不良反应较小的、体外培养技术相对简单和无 MHC 限制性的过继性细胞免疫治疗方法已经在胃癌中展示了很好的应用前景。但是,临床研究中仍有一些问题亟待解决。第一,临床试验设计均为非随机对照的临床研究,很有必要开展大样本的随机对照临床研究;第二,多数临床试验中未

明确胃癌类型:肠型和弥散型,不同类型胃癌可能会对 CIK 细胞治疗敏感性不同;第三,CIK 细胞制备方法和治疗方案(剂量、次数)未进行标准化,导致不同试验结果间的可比性差;第四,尚无可以预测 CIK 细胞治疗疗效的特异性生物标志物,这不利于对

CIK 细胞治疗短期疗效的评价;第五,还应积极拓展针对胃癌的特异性细胞免疫治疗的研究,比如肿瘤抗原-TCR 或嵌合型抗原受体修饰的 T 细胞。只有解决了上述问题,CIK 细胞治疗才有望早日进入临床,用于胃癌患者的常规治疗。

表 1 CIK 细胞联合化疗治疗胃癌的临床试验

试验类型	样本 (n)	治疗方案		CIK 细胞输注方案	CIK 细胞相关不良反应	主要疗效评价(治疗组 vs 对照组)	参考文献
		治疗组	对照组				
非随机对照的临床研究	IV 期胃癌 57 例	FOLFOX4 化疗 + 自体 CIK 细胞(32 例)	单纯 FOLFOX4 化疗(25 例)	每次化疗后输注 5 次 CIK 细胞(剂量 1×10^9 /次)	寒战、发烧以及恶心和呕吐	血清肿瘤标志物水平显著下降;患者免疫功能、短期疗效和生活质量有改善;患者 2 年生存期延长	[17]
回顾性队列观察性研究	原发性胃癌 156 例	FOLFOX4 化疗 + 自体 CIK 细胞(81 例)	单纯 FOLFOX4 化疗(75 例)	6 疗程化疗后输注至少 1 次 CIK 细胞(剂量 1×10^9 /次)	未报道	患者中位生存期显著延长;2 和 5 年生存率显著提高	[18-19]
非随机对照的临床研究	局部 III/IV 期胃癌 151 例	基于 5-FU 的多药辅助性化疗 + 自体 CIK 细胞(74 例)	单纯基于 5-FU 的多药辅助性化疗(77 例)	辅助性化疗后输注至少 15 次 CIK 细胞(剂量 $\geq 1 \times 10^9$ /次)	发热、寒战、头疼、皮疹以及恶心和呕吐	患者 5 年无疾病进展生存率显著提高;肠型患者的 5 年总体生存率和 5 年无疾病进展生存率显著提高	[20]
非随机对照的临床研究	晚期胃癌 42 例	XELOX 化疗 + 自体 CIK 细胞(20 例)	单纯 XELOX 化疗(22 例)	每次化疗第 5~7 天引流腹水后腹腔内灌注 CIK 细胞(剂量 1×10^9 /次)	发热	患者 Karnofsky 评分明显提高;2 个周期内腹水引流量明显减少;患者中位生存时间和中位疾病进展时间显著延长	[21]
回顾性研究	II/III 胃癌 165 例	FUP 或 FOLFOX4 化疗 + 自体 CIK 细胞(53 例)	单纯 FUP 或 FOLFOX4 化疗(112 例)	4 疗程化疗后输注 4~40 次 CIK 细胞(剂量 $\geq 5 \times 10^9$ /次)	未观察到严重的毒副作用	患者 5 年总体生存率和 5 年无疾病进展生存率显著提高;患者中位 PFS 和 OS 显著延长	[22]

注:FOLFOX4:奥沙利铂联合氟尿嘧啶和亚叶酸钙;XELOX:希罗达加奥沙利铂;PFS:无进展生存期;OS:总生存期

5 小 结

CIK 细胞联合化疗治疗胃癌为那些手术、放疗、单纯化疗已无适应证的患者提供一种新的治疗途径,既能增强治疗效果,又可减轻患者化疗的毒副反应。但只有切实解决临床目前试验中所存在的问题,才能达到延长患者生存期和提高生活质量的目的。

[参 考 文 献]

[1] Amedei A, Benaglio M, della Bella C, et al. Novel immunotherapeutic strategies of gastric cancer treatment [J]. J Biomed Bio-

technol, 2011, 2011: 437348.

[2] 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.

[3] Lu PH, Negrin RS. A novel population of expanded human CD3⁺ CD56⁺ cells derived from T cells with potent in vivo antitumor activity in mice with severe combined immunodeficiency [J]. J Immunol, 1994, 153(4): 1687-1696.

[4] 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.

- [5] 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.
- [6] Hayes MP, Wang J, Norcross MA. Regulation of interleukin-12 expression in human monocytes: Selective priming by interferon-gamma of lipopolysaccharide-inducible p35 and p40 genes [J]. *Blood*, 1995, 86(2): 646-650.
- [7] Ma X, Chow JM, Gri G, et al. The interleukin 12 p40 gene promoter is primed by interferon gamma in monocytic cells [J]. *J Exp Med*, 1996, 183(1): 147-157.
- [8] Lopez RD, Waller EK, Lu PH, et al. CD58/LFA-3 and IL-12 provided by activated monocytes are critical in the in vitro expansion of CD56⁺ T cells [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2001, 49(12): 629-640.
- [9] 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.
- [10] Franceschetti M, Pievani A, Borleri G, et al. Cytokine-induced killer cells are terminally differentiated activated CD8 cytotoxic T-EMRA lymphocytes [J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(5): 616-628.
- [11] Sangiolo D, Martinuzzi E, Todorovic M, et al. Alloreactivity and anti-tumor activity segregate within two distinct subsets of cytokine-induced killer (CIK) cells: Implications for their infusion across major HLA barriers [J]. *Int Immunol*, 2008, 20(7): 841-848.
- [12] Pievani A, Borleri G, Pende D, et al. Dual-functional capability of CD3⁺ CD56⁺ CIK cells, a T-cell subset that acquires NK function and retains TCR-mediated specific cytotoxicity [J]. *Blood*, 2011, 118(12): 3301-3310.
- [13] Diefenbach A, Jamieson AM, Liu SD, et al. Ligands for the murine NKG2D receptor: Expression by tumor cells and activation of NK cells and macrophages [J]. *Nat Immunol*, 2000, 1(2): 119-126.
- [14] Cosman D, Müllberg J, Sutherland CL, et al. ULBPs, novel MHC class I-related molecules, bind to CMV glycoprotein UL16 and stimulate NK cytotoxicity through the NKG2D receptor [J]. *Immunity*, 2001, 14(2): 123-133.
- [15] Groh V, Rhinehart R, Secrist H, et al. Broad tumor-associated expression and recognition by tumor-derived gamma delta T cells of MICA and MICB [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(12): 6879-6884.
- [16] Baker J, Verneris MR, Ito M, et al. Expansion of cytolytic CD8 (+) natural killer T cells with limited capacity for graft-versus-host disease induction due to interferon gamma production [J]. *Blood*, 2001, 97(10): 2923-2931.
- [17] Jiang J, Xu N, Wu C, et al. Treatment of advanced gastric cancer by chemotherapy combined with autologous cytokine-induced killer cells [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(3B): 2237-2242.
- [18] Jiang JT, Shen YP, Wu CP, et al. Increasing the frequency of CIK cells adoptive immunotherapy may decrease risk of death in gastric cancer patients [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(48): 6155-6162.
- [19] 蒋敬庭, 吴昌平, 沈月平, 等. 共刺激分子 B7-H4 表达对细胞因子诱导的杀伤细胞治疗胃癌患者预后的影响 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2010, 13(5): 366-370.
- [20] Shi L, Zhou Q, Wu J, et al. Efficacy of adjuvant immunotherapy with cytokine-induced killer cells in patients with locally advanced gastric cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(12): 2251-2259.
- [21] 王志明, 庄荣源, 陈勇, 等. 化疗联合腹腔灌注细胞因子诱导的杀伤细胞治疗胃癌腹水 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2013, 16(1): 28-31.
- [22] Zhao H, Fan Y, Li H, et al. Immunotherapy with cytokine-induced killer cells as an adjuvant treatment for advanced gastric carcinoma: A retrospective study of 165 patients [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2013, 28(4): 303-309.
- [收稿日期] 2014-01-02 [修回日期] 2014-05-20
[本文编辑] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》,全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定,正确用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示(pH 用正体除外),例如 *m*(质量)、*t*(时间)、*c*(浓度)、*V*(体积)、*p*(压力)、*F*(力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示,例如 kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的浓度或质量浓度时,一般使用 L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时,不能写成 mg/kg/d 的形式,应写成 mg/(kg · d)或 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 的形式。(5)单位符号常见书写错误:长度单位符号 A°(埃)已不用,应写作 0.1 nm;时间单位“小时”符号为 h(不是 hr)、“秒”符号为 s(不是 sec);转速单位符号为 r/min(不是 rpm);量浓度单位符号为 mol/L(不是 M、N,也不是 mol/mm³);力的单位“牛顿”符号为 N[不是 dyn(达因)、kgf(千克力),换算 1 dyn = 10⁻⁵ N];热量单位“焦耳”符号为 J[不是 cal(卡)、kcal(千卡),换算 1 cal = 4.187 J];放射性活度单位符号为 Bq[不是 Ci(居里),换算 1 Ci = 3.7 × 10¹⁰ Bq]。

(本刊编辑部)