

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.03.017

· 转化医学 ·

肺癌免疫细胞治疗临床转化的研究进展

Research progress of cellular immunotherapy and clinic translation on lung cancer

王琦¹, 任秀宝², 蒋敬庭¹ (1. 苏州大学附属第三医院 肿瘤生物诊疗中心, 江苏 常州 213003; 2. 天津医科大学附属肿瘤医院 生物治疗中心, 天津 300000)

[摘要] 肺癌是最常见且致死率最高的癌症之一, 其恶性程度高、病情发展迅速, 且术后复发率高, 治疗效果不理想。生物治疗是继手术、化疗和放疗之后的第四种肿瘤综合治疗模式, 生物治疗技术之一的免疫细胞治疗能够激活机体的抗肿瘤能力并重建患者免疫功能, 主要包括树突状细胞(dendritic cell, DC)、细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine induced killer cells, CIK)、DC-CIK、自然杀伤 T(natural killer T, NKT)细胞及 $\gamma\delta$ T 细胞等疗法。肺癌的细胞治疗已在基础研究和临床试验领域确定了其抗肿瘤效应, 进一步通过基因工程修饰、双特异性抗体和免疫卡控点分子干预等手段增强免疫细胞的特异性、识别功能和抗肿瘤能力是未来免疫治疗的重要手段。本文介绍 DC 疫苗、CIK 细胞及 DC-CIK 等对肺癌治疗临床转化的研究进展。

[关键词] 肺癌; DC; CIK; DC-CIK

[中图分类号] R734.2; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)03-0375-06

肺癌是全世界最常见且死亡率最高的癌症。主要包括非小细胞肺癌(non small cell lung cancer, NSCLC)和小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)。目前肺癌的治疗方式以手术、化疗和放疗为主, 晚期肺癌 5 年生存率不足 5%, 探讨新的治疗模式尤为重要^[1]。

免疫治疗, 尤其免疫细胞治疗, 其核心是激活肿瘤患者 T 细胞介导的杀伤肿瘤效应, 以提高机体抗肿瘤能力。手术、放化疗不能彻底清除癌细胞, 免疫治疗对肿瘤干细胞和其他处于非增殖期的肿瘤细胞的杀伤作用是对手术、放化疗的重要补充手段^[2-4]。细胞治疗主要包括 DC、CIK、DC-CIK、NKT、 $\gamma\delta$ T 细胞等疗法。T 细胞通过识别并聚集到肿瘤抗原表达的部位产生免疫应答, 直接抑制肿瘤细胞的增殖并杀伤肿瘤细胞, 且毒副作用少。肿瘤免疫细胞治疗在肿瘤治疗领域越来越重要^[5], 为肺癌的综合治疗提供了新手段。本文对肺癌的 DC 疫苗、CIK 细胞及 DC-CIK 治疗的临床转化进行介绍。

1 DC 疫苗抗肺癌的临床应用

DC 是体内的专职性抗原提呈细胞, 起源于骨髓中的 CD34⁺ 多能干细胞, 能高效摄取并处理抗原, 并将多肽提呈给静息的 T 细胞发挥免疫调节和免疫监视作用^[6]。DC 经趋化作用可从外周血进入肿瘤微环境摄取肿瘤抗原, 肿瘤抗原与 MHC 分子结合成 MHC 分子-抗原肽复合物, 为 T 细胞提供第一活化信号。同时 DC 逐渐分化成熟, 黏附分子和共

刺激分子表达上调, 为 T 细胞提供第二活化信号。T 细胞大量活化、增殖与分化, 产生抗原特异性的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)和 CD4⁺ T 细胞。CTL 识别肿瘤细胞后通过分泌穿孔素(perforin)及颗粒酶 B, 激活细胞浆内的半胱氨酸蛋白酶(caspase), 使细胞的骨架和 DNA 被切断, 促使肿瘤细胞凋亡^[7-8], 进一步提高 DC 的抗肿瘤作用。

1.1 抗原肽脉冲构建的肺癌 DC 疫苗

运用 CEA 多肽片段作为肿瘤抗原致敏自体 DC 治疗晚期 NSCLC 患者, 患者的 CD3⁺ 和 CD8⁺ 淋巴细胞、NK 细胞、体内效应细胞分泌的 IFN- γ 明显升

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81171653); 江苏省自然科学基金资助项目(No. BK2011246, No. BK2011247); 江苏省“333 工程”科研项目资助项目(No. BRA2013054); 江苏省卫生厅医学科研招标立项课题(No. H201350); 常州市社会发展计划基金资助项目(No. CE20125017, CE20135048)。Project supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81171653), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK2011246, No. BK2011247), the “333 project” Science Foundation of Jiangsu Province (No. BRA2013054), the Medical Research of Jiangsu Provincial Commission of Health (No. H201350), and the Social Development Foundation of Changzhou City (No. CE20125017, CE20135048)

[作者简介] 王琦(1988-), 女, 江苏省常州市人, 硕士生, 研究实习员, 主要从事肿瘤免疫治疗学、细胞与分子生物学研究。E-mail: cz_xifengpo@hotmail.com

[通信作者] 蒋敬庭(Jiang Jingting, corresponding author), E-mail: jiangjingting@suda.edu.cn

高,全组 1 年生存率为 68.2%,提示 CEA 致敏 DC 治疗晚期 NSCLC 是一项安全性高、副作用少的治疗手段^[9-10]。有研究^[11-12]表明,负载了 HSP70 抗原肽的 DC 对肺腺癌细胞 SPC-A-1 的杀伤活性明显高于单纯 DC。MAGE-3 多抗原肽诱导的 CTL 对 NSCLC 的肿瘤细胞杀伤效率高于 MAGE-3 单肽诱导的 CTL,其能克服单表位肽抗原性弱的缺点,引起比单抗原肽诱导的更为强烈的免疫反应。多肽疫苗易于体外合成,无需病毒载体,但多肽疫苗分子量小易被降解,且免疫原性弱。多抗原肽的抗原采用分子量小、免疫原性弱的赖氨酸作为支架,将数条表位肽连接起来,形成树枝样结构,以增加抗原的分子量,增强其抗原性,且保证空间构像不被改变,有效地弥补了多肽疫苗的缺陷^[13-14]。

1.2 肺癌特异抗原致敏的 DC 疫苗

将人肺癌细胞株 A549 冻融抗原负载到 DC 疫苗,能显著促进淋巴细胞增殖与 IL-6、TNF- β 等细胞因子的分泌,其对靶细胞肺癌细胞 A549 的杀伤活性显著高于无关靶细胞肝癌细胞 SMMC-7721^[15]。另有研究^[16]证实,将肺癌细胞可溶性抗原(TSA)和超抗原金黄色葡萄球菌肠毒素 A(SEA)联合修饰致敏的 DC 有较强的免疫刺激活性,CD1a、HLA-DR 和 CD80 表达增高,刺激异体淋巴细胞增殖并诱导出大量 CD8⁺ CTL,对肺癌细胞的杀伤性明显提高。因此肺癌特异抗原致敏的 DC 疫苗具有高效特异的抗肿瘤作用。

1.3 DC/肿瘤融合细胞疫苗

DC/肿瘤融合细胞疫苗既表达肿瘤的抗原成分,又有 DC 的抗原提呈能力,融合细胞能呈递肿瘤细胞所有的抗原,激发 T 细胞免疫反应,具有抗肿瘤和保护机体的作用,且可有效地选择靶细胞,毒副作用小^[17-18]。研究^[19]表明,融合疫苗能显著阻止弱免疫原性的小鼠路易斯肺癌细胞(LLC)的生长,部分肿块缩小了 50% 并降低了肺转移,Fas、caspase-8 和 caspase-3 表达上调,由此融合细胞能促使肿瘤细胞凋亡。目前已初步确立了 DC 疫苗临床治疗的标准和评价体系^[20],加强了 DC 在临床的规范化应用。

1.4 基因修饰的肺癌 DC 疫苗

基因修饰的 DC 疫苗包括转染表达肿瘤抗原(tumor antigen,TA)的 mRNA 或转染编码免疫刺激分子、细胞因子、趋化因子、抗凋亡因子或其他增强 DC 细胞功能的因子。用重组腺病毒的方法构建 *Ki-ras* 基因 12 位密码子点突变(*Ki-ras-V12*)的肺癌 DC 疫苗,可显著刺激 T 细胞增殖,提高 CTL 的杀伤能

力,特异性杀伤表达 *Ki-ras-V12* 的 Lewis 肺癌细胞,但对非特异性的黑素瘤细胞 B16 无明显杀伤作用^[21]。基因修饰的 DC 疫苗能表达全蛋白序列,包含所有的抗原位点,比单纯的外源性抗原刺激更能有效地进行抗原提呈;基因转染后的 DC 疫苗可较长时间表达抗原、细胞因子或共刺激分子,进一步增强 DC 抗原提呈能力;病毒作为载体的外源性抗原表达能促进 DC 成熟活化并延长存活时间,促进 T 细胞和 NK 细胞活化,增强免疫反应;不含有正常人体抗原,自身免疫反应轻微或不引起免疫反应。这些优点将增加基因修饰的 DC 疫苗的应用范围^[22]。

1.5 肿瘤凋亡小体致敏的 DC 疫苗

⁶⁰Co 源照射诱导肺癌细胞凋亡小体,通过共同孵育可使自体及同种异体 DC 体外负载肺癌细胞凋亡小体,电镜观察结果显示,凋亡小体被 DC 吞噬或包裹。凋亡小体内包含了大量肿瘤抗原物质,其治疗效果与 DC/肿瘤融合细胞疫苗产生的特异性 CTL 效应相似,且不良反应较 DC/肿瘤融合细胞疫苗小,将有助于微小残留癌的防治。诱导凋亡的方式包括放射线照射、化疗药物和病毒感染等,特别是放射线照射临床应用可行性较大^[23]。凋亡小体致敏的 DC 疫苗目前主要处于体外研究阶段。

2 CIK 细胞在肺癌治疗中的临床转化

CIK 细胞是外周血单个核细胞(PBMC)在体外经多种细胞因子刺激后获得的以 CD3⁺CD56⁺T 细胞为主的免疫效应细胞群^[24],具有体外扩增能力强、非 MHC 限制性、强大的细胞毒活性以及副作用少等特征^[25-27]。CIK 细胞主要为 CD3⁺CD56⁺的 T 细胞亚群,具有直接细胞毒活性,CIK 细胞表面的趋化因子或趋化因子受体诱导其到达肿瘤细胞周围,与肿瘤细胞表面配体结合后,CIK 细胞被激活,释放穿孔素、颗粒酶等直接穿透肿瘤细胞致其裂解^[28]。CIK 细胞具有 T 细胞和 NK 细胞的杀伤活性,可分泌 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-6 等多种炎症因子直接或间接杀伤肿瘤细胞,并通过影响细胞凋亡相关基因等加速或诱导肿瘤细胞的凋亡或坏死^[29-30]。

CIK 细胞对诱导 A549 肺癌细胞株凋亡作用的研究^[31]显示,效靶细胞混合培养后 5~14 h 凋亡率上升,14~24 h 凋亡率下降,CIK 细胞有可能通过下调 Ki-67 使肿瘤细胞处于静止期,下调 p53、survivin 上调 Fas、caspase-3、8、9,通过死亡受体途径和线粒体通路诱导细胞凋亡的进程。42 例中晚期肺癌患者经 CIK 细胞治疗后 CD3⁺、CD4⁺T 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比例显著提高,临床症状得到明显改善,但血

液中的 IgA、IgG、IgM 和 CEA 无显著改变^[32]。同时,对比单纯化疗治疗中晚期 NSCLC 的 Meta 分析^[33]发现,CIK 细胞治疗在有效率、KPS 评分方面的差异有统计学意义,CIK 细胞联合化疗与传统的化疗比较能提高近期疗效、改善生存质量并延长生存期。笔者课题组在胃癌治疗中的研究^[34]显示,经 CIK 细胞联合化疗治疗的胃癌患者,其生存期显著高于经单独化疗的患者,且提高 CIK 输注的频率能显著降低胃癌患者的死亡风险。对 151 例晚期胃癌患者预后指标的统计分析显示:CIK 细胞治疗可以提高胃癌患者的五年总生存率(OS)和无瘤生存率(DFS),通过多个周期的长期治疗可以提高患者的免疫功能^[35]。

笔者课题组对 CIK 治疗晚期 NSCLC 的研究^[36]显示,联合 CIK 细胞治疗组患者的免疫功能和生存质量都比单独化疗组显著改善。其中联合治疗组的疾病控制率、患者的无进展生存期和总生存期相较于单独化疗组具有统计学意义。此外,用患者自体的 CIK 细胞进行治疗,副作用小且能够显著提高患者的生存质量。

对 CIK 细胞联合多西他赛对肺癌耐药株抗肿瘤效应的体内外研究^[37]发现,CIK 细胞在体外实验中,相比于非耐药的肺癌细胞株,对于耐药肺癌细胞株有更强的抗肿瘤细胞毒活性。体内实验也证明,CIK 细胞联合多西他赛能更好地抑制裸鼠体内移植瘤的生长。研究表明,CD4⁺CD25⁺(regulatory T cells, Tregs)具有抑制细胞毒淋巴细胞介导的免疫应答功能。在体外培养 CIK 细胞之前除去 Tregs,能显著促进 CIK 细胞增殖,提高细胞毒活性。同时,用 CIK 细胞与除去 Tregs 的 CIK 细胞治疗接种过肺癌细胞 A549 的荷瘤裸鼠,发现剔除 Tregs 的 CIK 细胞抑制瘤块生长的能力更强,表明 Tregs 会抑制 CIK 细胞的抗肿瘤活性,转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor, GITR)可能是 Tregs 发挥免疫抑制功能的重要影响因素^[38]。

3 DC-CIK 细胞治疗肺癌的临床研究

DC-CIK 细胞是指与 DC 共培养的 CIK 细胞,由于 DC 负载了肿瘤特异性抗原,可显著增强 CIK 细胞的靶向性及疗效。其原理为 CIK 细胞中存在少量免疫负性调控细胞(如 Tregs),能抑制 CIK 细胞的杀伤活性,DC 可能通过分泌大量细胞因子(IL-16 等)和共刺激分子(CD80、CD86 等)解除 Tregs 对

CIK 的抑制作用^[39-41]。

用同一肿瘤患者的 PBMC 经体外诱导分别扩增出 CIK、LAK、CD3AK 和 DC 细胞,再将靶细胞抗原孵育过的 DC 分别与 3 种细胞共同培养^[42],结果显示,联合 DC 的自体 CIK 细胞体外杀瘤活性显著增强,CIK 细胞的杀伤活性显著高于 LAK、CD3AK 细胞。提示 DC 共培养可显著提高自体 CIK 细胞的体外杀瘤活性。

体内研究结果^[43-44]表明,反复冻融肺癌组织获得的肿瘤细胞裂解物负载 DC,诱导 DC-CIK 细胞,注射至肺癌裸鼠移植瘤内,DC-CIK 细胞组的抑瘤率达 70.3%,显著高于 DC 或 CIK 单独作用组。实验发现,在治疗后的第 15 天,DC-CIK 组中肿瘤开始快速地生长,说明 DC-CIK 对体积较小的肿瘤抑制作用明显,而随着肿瘤体积增大,抑制作用逐渐减小。临床上 DC 更适用于治疗手术后微小残余病灶和转移病灶,且应当缩短注射的间期。

比较健康人与肿瘤患者来源的 PBMC 诱导的 DC 和 CIK 在体外对肺癌细胞 A549 和肺腺癌原代细胞的杀伤活性,显示健康人来源的 DC 表面分子 CD40、CD80、CD86 和 HLA-DR 的表达及 CIK 和 DC-CIK 中 CD3⁺CD56⁺细胞比率均较肿瘤患者来源的高,细胞毒活性也显著增强,且同一个体来源的 PBMC 诱导的 DC-CIK 的杀伤活性强于 CIK,因此将健康人来源的 CIK、DC-CIK 应用于肺癌的免疫细胞治疗疗效更佳^[45]。

DC-CIK 细胞联合化疗对晚期 NSCLC 的疗效及安全性的研究^[46]显示,采用 DC-CIK 联合化疗多西他赛加顺铂治疗的晚期 NSCLC 患者为联合治疗组;选取临床资料相近的同期进行单纯化疗(多西他赛+顺铂)的晚期 NSCLC 患者为单纯化疗组,结果显示联合治疗组疾病控制率显著升高,1 年生存率提高 6%,CD3⁺CD4⁺细胞内 IFN- γ 升高,说明 DC-CIK 可以提高 NSCLC 的疾病控制率、生存率,改善患者的免疫功能状态,可以直接杀伤肿瘤细胞,并释放炎症细胞因子间接杀伤肿瘤细胞。此外,DC-CIK 还能减少化疗引起的骨髓抑制、恶心呕吐与周围神经毒性的发生,提高患者的生存质量^[47-51]。DC、CIK、DC-CIK 细胞对肺癌治疗临床应用详见表 1。

4 其他免疫细胞治疗肺癌的临床研究

NKT 细胞表面既表达 T 细胞的表面标志又表达 NK 细胞的表面标志。NKT 细胞只能识别由 CD1d 分子提呈的特异性糖脂类分子,如 α -半乳糖神经酰胺(α -Galactosylceramide, α -GalCer),以 CD1d

限制及 TCR 介导的方式激活 NKT 细胞。目前 NKT 细胞的抗肿瘤治疗已经进入 I、II 期临床试验阶段。Motohashi 等^[52]对 6 例 NSCLC 患者输注两个不同剂量($1 \times 10^7/\text{m}^2$ 和 $5 \times 10^7/\text{m}^2$)经体外 α -GalCer 和 IL-2 活化的 V α 24 NKT 细胞,接收高剂量水平治疗的患者中,产生的 IFN- γ 的细胞增加,其中 2 例外周血中 NKT 细胞增加。随后 Motohashi 等^[53]又对 17 例进展期 NSCLC 患者输注剂量为 $1 \times 10^9/\text{m}^2$ 的经 α -GalCer、IL-2 及 GM-CSF 活化的 NKT 细胞,共进行 4 次治疗,没有严重的不良反应,且外周血中分泌 IFN- γ 细胞增加,患者的中位生存期延长。

$\gamma\delta$ T 细胞是体内固有免疫中的一个重要的细胞群,为 MHC 非限制性细胞,具有一定的非特异性

杀伤肿瘤细胞的作用,具有广泛的抗癌谱。 $\gamma\delta$ T 细胞治疗肺癌在 I 期临床研究中已取得了显著疗效。Nakajima 等^[54]用唑来膦酸和 IL-2 在体外诱导扩增 $\gamma\delta$ T 细胞,对 10 例 NSCLC 患者进行输注治疗,3 例患者达到稳定状态,生活质量评分保持稳定或有所提高。同期 Sakamoto 等^[55]对 15 例 NSCLC 进行过继性 $\gamma\delta$ T 细胞输注治疗,6 例患者达到稳定,说明 $\gamma\delta$ T 细胞的抗肿瘤免疫治疗是安全且具有可实施性的。但是目前临床上使用传统的肿瘤免疫治疗评价体系对治疗效果的评价往往不令人满意,进而导致 III 期临床试验的失败,因此建立肿瘤免疫治疗疗效评价的新标准尤为重要^[56]。

表 1 DC、CIK、DC-CIK 细胞对肺癌治疗的应用

细胞类型	肿瘤特征	治疗策略	临床疗效	参考文献
DC	CEA 表达升高的晚期 NSCLC	CEA 多肽致敏 DC	CD3 ⁺ 、CD8 ⁺ 淋巴细胞、NK 及效应细胞分泌的 IFN- γ 明显升高,1 年生存率为 68.2%	[8]
	弱免疫原性的肺癌	DC/肿瘤融合细胞疫苗	融合疫苗能显著阻止弱免疫原性的小鼠路易斯肺癌细胞(LLC)的生长,部分肿块缩小了 50% 并减少了肺转移的数量,凋亡蛋白 Fas、caspase-8 和 caspase-3 表达上调	[17-18]
	术后微小残留癌灶的治疗	肿瘤凋亡小体致敏的 DC 疫苗	凋亡小体内包含了几乎全部肿瘤抗原物质,其治疗效果与肿瘤细胞融合 DC 产生的特异性 CTL 效应相仿,将有助于微小残留癌的防治,且不良反应小	[21]
CIK	中晚期肺癌	单纯 CIK 细胞治疗	治疗后 CD3 ⁺ 、CD4 ⁺ T 细胞及 CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 比例显著提高,治疗前后 KPS 评分有显著统计学意义,但是血液中的 IgA、IgG、IgM 和肿瘤标志物 CEA 无明显改变	[31]
	化疗肺癌	CIK 联合化疗	有效率、KPS 评分方面的差异具有统计学意义,而 1 年、2 年生存率和粒细胞减少、胃肠道反应、贫血、转氨酶升高方面差异不显著。联合 CIK 治疗与传统的化疗相比能提高近期疗效、改善生存质量、延长生存期	[32-36]
DC-CIK	治疗手术后微小残余病灶和转移病灶	单纯 DC-CIK 细胞治疗	DC-CIK 治疗抑瘤率达 70.3%,显著高于 DC 或 CIK 单独作用。在治疗后的第 15 天左右,DC-CIK 组中肿瘤开始较快地生长,说明 DC-CIK 对体积较小的肿瘤抑制作用明显,而随着肿瘤体积增大,这种抑制作用逐渐减小。临床上 DC 更适用于治疗手术后微小残余病灶和转移病灶	[43]
	晚期 NSCLC 化疗患者	DC-CIK 联合化疗	联合治疗组 DCR 显著升高,1 年生存率提高 6%,CD3 ⁺ CD4 ⁺ 细胞内 IFN- γ 升高。DC-CIK 可以提高 NSCLC 的疾病控制率、生存率,改善患者的免疫功能状态,减少化疗引起的骨髓抑制、恶心呕吐、周围神经毒性发生率,改善患者的体力和食欲,不仅可以直接杀伤肿瘤细胞,还能释放炎性细胞因子间接杀伤肿瘤细胞	[46]

5 展 望

通过 CIK 联合 DC、放化疗、射频消融和中药单体等手段,诱导 CIK 细胞向癌巢定向迁移,可提高 CIK 细胞杀伤肿瘤细胞和调控免疫状态的能力,同时减少毒副反应,提高患者生活质量;也可通过改良 T 细胞基因的嵌合抗原(chimeric antigen receptor, CAR)疗法,或基因工程修饰、双特异性抗体和免疫卡控点分子干预等手段增强 CIK 细胞的抗肿瘤能力,但肺癌免疫细胞治疗的特异性、高效性和靶向性有待于进一步提高。NKT 细胞和 $\gamma\delta$ T 细胞治疗也逐步完善并推进临床转化。

肺癌免疫细胞治疗的适应优势人群可以通过应用高通量测序、单克隆抗体芯片、质谱检测、流式细胞小球微阵列及高速分析分选等技术,从遗传学分型、表观遗传、蛋白质翻译后修饰和系统免疫学层面进行筛选,临床需进一步建立和健全肿瘤免疫细胞治疗的监测、检测及评价体系。

[参考文献]

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65 (1): 5-29.
- [2] Thorne SH, Negrin RS, Contag CH. Synergistic antitumor effects of immune cell-viral biotherapy [J]. Science, 2006, 311 (5768): 1780-1784.
- [3] Reck M. What future opportunities may immuno-oncology provide for improving the treatment of patients with lung cancer? [J]. Ann Oncol, 2012, 23(Suppl 8): 28-34.
- [4] Rangachari D, Brahmer JR. Targeting the immune system in the treatment of non-small-cell lung cancer [J]. Curr Treat Options Oncol, 2013, 14 (4): 580-594.
- [5] Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy [J]. Science, 2013, 342 (6165): 1432-1433.
- [6] Strome SE, Voss S, Wilcox R, et al. Strategies for antigen loading of dendritic cells to enhance the antitumor immune response [J]. Cancer Res, 2002, 62 (6): 1884-1889.
- [7] Gitlitz BJ, Beldegrun AS, Zisman A, et al. A pilot trial of tumor lysate-loaded dendritic cells for the treatment of metastatic renal cell carcinoma [J]. J Immunother, 2003, 26 (5): 412-419.
- [8] Su Z, Dannull J, Heiser A, et al. Immunological and clinical responses in metastatic renal cancer patients vaccinated with tumor RNA-transfected dendritic cells [J]. Cancer Res, 2003, 63 (9): 2127-2133.
- [9] 韩宝惠, 钟华, 范小红, 等. CEA 多肽致敏的树突状细胞 (DC) 治疗晚期非小细胞肺癌临床初步研究 [J]. 中国肺癌杂志, 2006, 9 (4): 340-344.
- [10] Morse MA, Clay TM, Lyster HK. CEA loaded dendritic cell vaccines [J]. Cancer Chemother Biol Response Modif, 2002, 20: 385-390.
- [11] 卢卫平, 贾春祎, 王启文, 等. HSP70-抗原肽负载的 DCs 对肺癌细胞杀伤作用的实验研究 [J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11 (24): 5807-5809.
- [12] Wu Y, Wan T, Zhou X, et al. Hsp70-like protein 1 fusion protein enhances induction of carcinoembryonic antigen-specific CD8⁺ CTL response by dendritic cell vaccine [J]. Cancer Res, 2005, 65 (11): 4947-4954.
- [13] 谢利海, 何德全. MAGE-3 多抗原肽诱导抗非小细胞肺癌免疫效应研究 [J]. 现代医药卫生, 2010, 26 (22): 3390-3392.
- [14] Takahashi H, Okamoto M, Shimodaira S, et al. Impact of dendritic cell vaccines pulsed with Wilms' tumor-1 peptide antigen on the survival of patients with advanced non-small cell lung cancers [J]. Eur J Cancer, 2013, 49 (4): 852-859.
- [15] Son CH, Bae JH, Shin DY, et al. Antitumor effect of dendritic cell loaded ex vivo and in vivo with tumor-associated antigens in lung cancer model [J]. Immunol Invest, 2014, 43(5): 447-462.
- [16] 马昌云, 吴芳, 孔繁义, 等. 肺癌可溶性抗原联合超抗原诱导的 DC 疫苗对肺癌细胞杀伤作用的研究 [J]. 中国肺癌杂志, 2009, 12 (6): 539-542.
- [17] Guo W, Guo Y, Tang S, et al. Dendritic cell-Ewing's sarcoma cell hybrids enhance antitumor immunity [J]. Clin Orthop Relat Res, 2008, 466 (9): 2176-2183.
- [18] Chen X, Liu Z, Huang Y, et al. Superior anti-tumor protection and therapeutic efficacy of vaccination with dendritic cell/tumor cell fusion hybrids for murine Lewis lung carcinoma [J]. Autoimmunity, 2014, 47 (1): 46-56.
- [19] Savai R, Schermuly RT, Pullamsetti SS, et al. A combination hybrid-based vaccination/adoptive cellular therapy to prevent tumor growth by involvement of T cells [J]. Cancer Res, 2007, 67 (11): 5443-5453.
- [20] Schuler PJ, Harasymczuk M, Visus C, et al. Phase I dendritic cell p53 peptide vaccine for head and neck cancer [J]. Clin Cancer Res, 2014, 20 (9): 2433-2444.
- [21] 喻璟瑞, 陆燕蓉, 朱文, 等. 突变 Ki-ras 基因修饰的肺癌 DC 疫苗的体外抗癌活性 [J]. 中国肺癌杂志, 2004, 7 (2): 104-107.
- [22] Kang TH, Bae HC, Kim SH, et al. Modification of dendritic cells with interferon-gamma-inducible protein-10 gene to enhance vaccine potency [J]. J Gene Med, 2009, 11 (10): 889-898.
- [23] 才子斌, 王芳, 李薇, 等. ⁶⁰Co 源照射诱导肺癌细胞凋亡及其凋亡小体体外负载自体及同种异体树突状细胞的实验研究 [J]. 中国老年学杂志, 2008, 28 (2): 112-114.
- [24] Jiang J, Wu C, Lu B. Cytokine-induced killer cells promote anti-tumor immunity [J]. J Transl Med, 2013, 11(1): 83.
- [25] Jin CG, Chen XQ, Li J, et al. Moderating effects and maintenance of lung cancer cellular immune functions by CIK cell therapy [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14 (6): 3587-3592.
- [26] 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.
- [27] Jingting Jiang CW, Liangrong Shi, Ning Xu, et al. Side effects during treatment of advanced gastric carcinoma by chemotherapy combined with CIK-cell transfusion in elderly people [J]. Chinese J Clin Oncol, 2008, 5(2): 79-82.

- [28] 蒋敬庭. 细胞因子诱导的杀伤细胞抗肿瘤机制及应用[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(10): 35-38.
- [29] 周怡, 蒋敬庭. 细胞因子在 CIK 细胞抗肿瘤治疗中的作用[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(2): 115-117.
- [30] Wei C, Wang W, Pang W, et al. The CIK cells stimulated with combination of IL-2 and IL-15 provide an improved cytotoxic capacity against human lung adenocarcinoma[J]. Tumour Biol, 2014, 35(3): 1997-2007.
- [31] 李花, 孙抒, 李香丹, 等. CIK 细胞对 A549 肺癌细胞株的抗增殖及诱导凋亡作用的形态学研究[J]. 临床与实验病理学杂志, 2009, 25(4): 406-409.
- [32] 罗虎, 宫亮, 陈永峰, 等. CIK 维持治疗中晚期肺癌的临床观察及影响因素分析[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(6): 569-572.
- [33] 罗虎, 罗丹, 宫亮, 等. 联合 CIK 细胞与化疗对比单纯化疗治疗中晚期非小细胞肺癌的 Meta 分析[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(20): 2119-2121.
- [34] 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.
- [35] 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.
- [36] Wu C, Jiang J, Shi L, et al. Prospective study of chemotherapy in combination with cytokine-induced killer cells in patients suffering from advanced non-small cell lung cancer[J]. Anticancer Res, 2008, 28(6B): 3997-4002.
- [37] Liu P, Chen L, Huang X. The antitumor effects of CIK cells combined with docetaxel against drug-resistant lung adenocarcinoma cell line SPC-A1/DTX in vitro and in vivo[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2009, 24(1): 91-98.
- [38] Li H, Yu JP, Cao S, et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells decreased the antitumor activity of cytokine-induced killer (CIK) cells of lung cancer patients[J]. J Clin Immunol, 2007, 27(3): 317-326.
- [39] 杨磊, 刘富强, 王景文, 等. 硒与树突状细胞对 T 细胞杀伤白血病细胞活力的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2008, 16(4): 892-897.
- [40] Peggs KS, Quezada SA, Allison JP. Cancer immunotherapy: co-stimulatory agonists and co-inhibitory antagonists[J]. Clin Exp Immunol, 2009, 157(1): 9-19.
- [41] Pan Y, Tao Q, Wang H, et al. Dendritic cells decreased the concomitant expanded tregs and tregs related IL-35 in cytokine-induced Killer cells and increased their cytotoxicity against leukemia cells[J]. PLoS ONE, 2014, 9(4): e93591.
- [42] 郑秋红, 郑天荣, 谢云青, 等. 树突状细胞对自体 CIK 细胞体外杀伤肺腺癌细胞影响的研究[J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12(16): 1237-1240.
- [43] 陈诗萍, 买世娟, 余杏娟, 等. 树突状细胞诱导的 CIK 细胞对肺癌生长的抑制作用[J]. 中国医药生物技术, 2012, 7(2): 125-129.
- [44] Gao D, Li C, Xie X, et al. Autologous tumor lysate-pulsed dendritic cell immunotherapy with cytokine-induced killer cells improves survival in gastric and colorectal cancer patients[J]. PLoS ONE, 2014, 9(4): e93886.
- [45] 吕章春, 陈海祥, 李可, 等. 经诱导健康人与肿瘤患者 CIK 和 DC-CIK 对肺癌细胞杀伤作用的比较研究[J]. 肿瘤学杂志, 2009, 15(6): 530-533.
- [46] 张俊萍, 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.
- [47] Shi SB, Tang XY, Tian J, et al. Efficacy of erlotinib plus dendritic cells and cytokine-induced killer cells in maintenance therapy of advanced non-small cell lung cancer[J]. J Immunother, 2014, 37(4): 250-255.
- [48] Cui Y, Yang X, Zhu W, et al. Immune response, clinical outcome and safety of dendritic cell vaccine in combination with cytokine-induced killer cell therapy in cancer patients[J]. Oncol Lett, 2013, 6(2): 537-541.
- [49] Zhong R, Han B, Zhong H. A prospective study of the efficacy of a combination of autologous dendritic cells, cytokine-induced killer cells, and chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients[J]. Tumour Biol, 2014, 35(2): 987-994.
- [50] Yuanying Y, Lizhi N, Feng M, et al. Therapeutic outcomes of combining cryotherapy, chemotherapy and DC-CIK immunotherapy in the treatment of metastatic non-small cell lung cancer[J]. Cryobiology, 2013, 67(2): 235-240.
- [51] Yang L, Ren B, Li H, et al. Enhanced antitumor effects of DC-activated CIKs to chemotherapy treatment in a single cohort of advanced non-small-cell lung cancer patients[J]. Cancer Immunol Immunother, 2013, 62(1): 65-73.
- [52] Motohashi S, Ishikawa A, Ishikawa E, et al. A phase I study of in vitro expanded natural killer T cells in patients with advanced and recurrent non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(20 Pt 1): 6079-6086.
- [53] Motohashi S, Nagato K, Kunii N, et al. A phase I-II study of alpha-galactosylceramide-pulsed IL-2/GM-CSF-cultured peripheral blood mononuclear cells in patients with advanced and recurrent non-small cell lung cancer[J]. J Immunol, 2009, 182(4): 2492-2501.
- [54] Nakajima J, Murakawa T, Fukami T, et al. A phase I study of adoptive immunotherapy for recurrent non-small-cell lung cancer patients with autologous gamma delta T cells[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2010, 37(5): 1191-1197.
- [55] Sakamoto M, Nakajima J, Murakawa T, et al. Adoptive immunotherapy for advanced non-small cell lung cancer using zoledronate-expanded gamma delta T cells: A phase I clinical study[J]. J Immunother, 2011, 34(2): 202-211.
- [56] 任秀宝, 于津浦. 肿瘤免疫治疗疗效评价的新标准[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18(4): 351-354.

[收稿日期] 2015-01-23

[修回日期] 2015-03-07

[本文编辑] 阮芳铭