

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.03.018

· 短篇论著 ·

CIK 细胞联合多西他赛、奥沙利铂、替吉奥治疗晚期胃癌的疗效观察

The observation of curative effects on the treatment of advanced gastric cancer by CIK cells combined with Docetaxel, Oxaliplatin and S-1

徐全晓^{1,2}, 常占国¹, 张晓冬¹, 马磊¹, 贺利民¹ (1. 南阳市第一人民医院 肿瘤内科, 河南 南阳 473010; 2. 郑州大学第一附属医院 肿瘤内科, 河南 郑州 450052)

[摘要] **目的:** 探讨 CIK 细胞联合多西他赛、奥沙利铂、替吉奥治疗晚期胃癌患者的疗效及安全性。**方法:** 收集 2011 年 1 月至 2012 年 1 月在我院收治的 66 例晚期胃癌患者, 分为实验组 30 例: CIK 联合多西他赛、奥沙利铂、替吉奥治疗患者; 对照组 36 例: 为同期单纯用多西他赛、奥沙利铂、替吉奥治疗患者。治疗后随访 36 个月, 研究主要终点为无进展生存期 (PFS), 次要终点为总生存期 (OS); 采用流式细胞术检测 2 组患者在化疗前与经 6 周期化疗结束后 1 个月的外周血淋巴细胞亚群的变化。**结果:** ①实验组的近期有效率 (53.30% vs 36.10%, $P=0.16$) 及疾病控制率 (86.70% vs 83.30%, $P=0.97$) 与对照组的差异均无统计学意义; ②治疗前后比较, 对照组外周血淋巴细胞亚群表达水平无显著差异 ($P>0.05$); 实验组 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 表达水平均有所提高 (均 $P<0.05$); ③与对照组相比, 实验组治疗后患者的生活质量 (QOL) 评分率显著升高 (86.70% vs 50.00%, $P=0.002$); 生存期 PFS [(16.67 ± 12.26) vs (9.65 ± 9.01) 个月, $P=0.031$] 及 OS [(18.89 ± 11.70) vs (1.78 ± 8.64) 个月, $P=0.039$] 均有明显延长。**结论:** CIK 联合多西他赛、奥沙利铂、替吉奥治疗晚期胃癌可能起到协同作用, 能延长 PFS 和 OS。

[关键词] CIK 细胞; 化疗; 晚期胃癌; 疗效

[中图分类号] R735.2; R730.54; R730.53

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)03-0381-04

胃癌是世界最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率位居我国常见恶性肿瘤第 2 位。由于早期胃癌患者症状不典型, 确诊时已经处于中晚期, 失去手术根治机会, 即使早期胃癌可行根治性手术切除, 仍有 60% 患者出现局部复发或远处转移^[1]。晚期胃癌的中位生存期仍不超过 12 个月^[2]。

近年来, 肿瘤生物免疫治疗日益受到重视, 已成为国内外研究的热点。细胞因子诱导的杀伤 (cytokines-induced killer, CIK) 细胞已广泛应用于临床研究, 并取得较好疗效。本研究观察 CIK 细胞联合多西他赛、奥沙利铂、替吉奥治疗晚期胃癌的临床疗效, 为探讨晚期胃癌治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

多西他赛 (斯曲帝)、奥沙利铂 (奥正南)、替吉奥 (维康达)、RPMI 1640 培养基均购自 Gibco 公司, 人淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物公司, rhIL-4 购自 Peprotech 公司, rhIL-2 购自北京四环生物工程制品厂, rhIL-1a 购自英国 Pepro Techcltd 公司, rhINF- γ 购自上海生物制品所, 鼠抗人 CD1a、CD40、CD83、CD86 购自 Ebioscience 公司, 四色淋巴细胞亚

群检测试剂盒、流式细胞仪均购置于 BD 公司。

1.2 患者一般资料

收集 2011 年 1 月至 2012 年 1 月在我院收治的 66 例经病理或细胞学证实为晚期胃腺癌 (转移性, 局部不能手术切除或复发) 患者, 所有患者在治疗前均签署知情同意书。实验组: CIK 联合化疗组共 30 例, 纳入标准: 原发性胃癌, 未接受过放化疗, 卡氏评分 >60 分, 预计生存期 >6 个月, 无化疗禁忌证。排除条件: 不符合入组条件者, 妊娠期、哺乳期患者, 同时患有其他肿瘤的患者。对照组: 单纯化疗组共 36 例, 选择标准: 同期就诊相似患者 (若行手术, 手术类型相同, 手术时间相差 <3 个月; 年龄相差 <10 岁)。两组患者在年龄、性别、发病部位、病理类型, 肿瘤大小、TNM 分期和化疗周期数等临床病理特征方面均相似 ($P>0.05$), 详见表 1。

[基金项目] 河南省创新型科技人才队伍建设工程基金资助项目 (No. 2014GG032)。Project supported by Innovation Scientists and Technicians Troop Construction Projects of Henan Province (No. 2014GG032)

[作者简介] 徐全晓 (1981 -), 男, 河南省新野县人, 硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤生物治疗的研究, E-mail: xuquanxiao@126.com

[通信作者] 贺利民 (He Limin, corresponding author), E-mail: fanlin0618@163.com

表 1 胃癌患者一般资料

	实验组 (n=30)	对照组 (n=36)
性别		
男	19	24
女	11	12
年龄(岁)		
35~59	9	13
60~79	19	21
≥80	2	2
部位		
贲门	14	19
胃体	16	17
分化程度		
低分化	8	6
中分化	18	21
高分化	4	9
TNM 分期		
Ⅲ期	10	14
Ⅳ期	20	22
转移部位		
淋巴结	28	33
肝脏	12	13
肺	8	6

1.3 CIK 细胞培养

患者于化疗前抽取外周静脉血 50 ml, 经淋巴细胞分离液分离后, 吸取白膜层, 用 Hank's 液洗 3 次。CIK 细胞培养方法: 第 0 天加入 IFN- γ 500 U/ml, 置 37℃、5% CO₂ 孵箱中培养 24 h, 第 1 天加入 IL-2 300 U/ml、CD3 10 ng/ml、IL-1 α 100 U/ml 继续培养。以后每 3 天换液 1 次, 并调整细胞数为 2×10^6 个/ml, 在 37℃、5% CO₂ 孵箱中连续培养, 锥虫蓝染色计数。培养 12~14 d 时取少许培养细胞做流式检测, 当 CD3⁺ CD56⁺ 细胞数 $\geq 25\%$, CD3⁺ CD8⁺ 细胞 $\geq 30\%$, 且微生物学检查阴性时收集细胞为 CIK 细胞。经 0.9% 氯化钠注射液洗涤 3 次, 加入含 1% 人血白蛋白的 0.9% 氯化钠注射液 100 ml 中静脉回输, 时间为 30 min。

1.4 治疗方案

对照组: 多西他赛 75 mg/m² 静滴, 奥沙利铂 150 mg/m² 静滴, 替吉奥 40 mg/m² 口服第 1~14 天, 3 周方案, 共 6 周期; 实验组: 化疗及用药方案同上组, 每次化疗结束后第 3 天收集 CIK 细胞, 每次回输细胞数量为 $5.0 \times 10^9 \sim 10.0 \times 10^9$ 个。与化疗同

步共回输 6 次, 6 周期化疗结束后 1 个月用流式细胞仪检测外周血淋巴细胞亚群。

1.5 疗效观察与评价

1.5.1 按照 WHO 标准评估 疗效分为完全缓解 (CR)、部分缓解 (PR)、稳定 (SD)、进展 (PD) 4 级。有效率: CR + PR 病例占全部病例百分率。疾病控制率: CR + PR + SD 病例占全部病例的百分率。两组患者均随访 36 个月, 研究主要终点为无进展生存期 (PFS), 次要终点为总生存期 (OS)。

1.5.2 生活质量改善评定标准 参考肿瘤患者生活质量评分 (QOL) 量表, 显效为生活质量评分提高 20 分以上; 有效为评分提高 10 分以上; 无效为评分提高 10 分以下或不变或减低。有效率 (%) = (显效病例 + 有效病例) / 全部病例 $\times 100\%$ 。同期观察 CIK 治疗的不良反应。

1.5.3 免疫指标测定 两组患者均于化疗前与 6 周期化疗结束后 1 个月, 用流式细胞仪检测外周血淋巴细胞亚群。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 生存期比较采用 Kaplan-Meier 分析, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CIK 细胞获取与质量控制

培养的第 1~3 天细胞成贴壁状, 局部聚集成团, 细胞体积较小, 形态不规则, 增殖速度较缓。3 d 后细胞逐渐悬浮, 可见少量呈簇样聚集。5 d 后细胞增殖速度加快, 少量呈细胞团样聚集, 细胞体积变大变圆。9 d 左右细胞团数量明显增多, 增殖约 100 倍。14 d 左右增殖达高峰, 约 600~800 倍。每次回输细胞数量在 $5.0 \times 10^9 \sim 10.0 \times 10^9$ 个以上, 活率 $> 95\%$ 。无菌, 内毒素 ≤ 5 EU/ml, 支原体阴性。流式细胞术检测 CD3⁺ $> 80\%$, CD3⁺ CD4⁺ 为 $30\% \sim 60\%$, CD3⁺ CD8⁺ 为 $15\% \sim 30\%$, CD3⁺ CD56⁺ $> 25\%$, CD4⁺ CD25⁺ $< 5\%$ 。

2.2 近期疗效评价

疗效评价结果表明, 实验组有效率为 53.30%, 对照组为 36.10% ($\chi^2 = 1.97, P = 0.16$); 疾病控制率实验组为 86.70%, 对照组为 83.30% ($\chi^2 = 0.01, P = 0.97$)。可见, 两组近期疗效相似。

2.3 治疗前后患者生活质量的变化

评价结果 (表 2) 显示, 生活质量改善的有效率, 实验组为 86.70%, 对照组为 50.00%, 差异有统计

学意义($\chi^2=6.81, P<0.01$)。

表 2 治疗后实验组与对照组生活质量的比较

组别	生活质量改善			有效率 (%)
	显效	有效	无效	
联合组($n=30$)	9	17	4	86.70
化疗组($n=36$)	4	14	18	50.00

表 3 实验组与对照组化疗前与化疗结束后 1 个月外周血淋巴细胞亚群的表达

组别	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD19 ⁺	CD16 ⁺ CD56 ⁺
化疗组						
化疗前	68.23 ± 10.51	31.60 ± 10.21	32.90 ± 12.53	1.27 ± 1.14	10.40 ± 5.11	14.53 ± 7.19
化疗后	71.55 ± 14.18	31.47 ± 11.43	31.55 ± 15.90	1.36 ± 1.17	8.15 ± 6.10	22.35 ± 3.27
联合组						
化疗前	68.37 ± 16.35	31.35 ± 9.62	34.47 ± 17.93	1.15 ± 0.65	9.30 ± 6.91	16.55 ± 8.19
化疗后	79.4 ± 14.03*	39.67 ± 3.47*	42.74 ± 4.65*	1.57 ± 0.32	8.92 ± 3.21	21.50 ± 1.84

* $P<0.05$ vs 化疗前

2.6 实验组患者 PFS 和 OS 明显延长

两组患者于治疗后共随访 36 个月,采用 Kaplan-Meier 分析结果(图 1)显示,与对照组相比,实验

2.4 治疗前后患者免疫指标的变化

流式细胞术检测结果(表 3)显示,对照组化疗前后淋巴细胞亚群差异无统计学意义($P>0.05$);实验组治疗后外周血 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺及 CD3⁺CD8⁺表达水平的差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.5 不良反应观察

联合治疗组在输注 CIK 细胞后 4 例患者出现一过性发热,最高达 38.8℃,经对症治疗后均缓解。

组 PFS 明显延长[(16.67 ± 12.26) vs (9.65 ± 9.01)个月, $P=0.031$];OS 也明显延长[(18.89 ± 11.70) vs (1.78 ± 8.64)个月, $P=0.039$]。

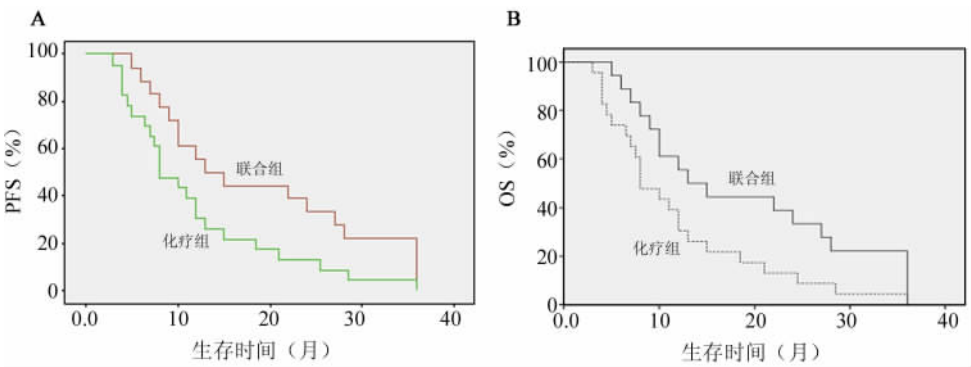


图 3 两组胃癌患者 PFS(A)和 OS(B)的比较

3 讨论

目前晚期胃癌的治疗仍以化疗为主。国内外研究^[4-6]表明,多西他赛、奥沙利铂、替吉奥(DOT, DOS)方案治疗晚期胃癌的客观有效率为 59.1%,高于多西他赛、S-1(DS)方案(41.7%)和奥沙利铂、S-1(SOX)方案(43.8%);Ⅲ~Ⅳ度不良反应发生率,DOS 方案(43.9%)也高于 DS 方案(19.4%)和 SOX 方案(12.4%),不良反应主要为:骨髓抑制、恶心、呕吐和外周神经毒性,但均可耐受。本研究采用 DOT 方案治疗晚期胃癌的有效率和不良反应发生

率与文献报道结果一致。

国内外大量研究表明,肿瘤免疫治疗在部分肿瘤治疗方面取得了较好疗效,肿瘤生物免疫治疗有望成为手术、放化疗之后新的治疗手段。近年来一些临床研究^[7]报道基于 CIK 细胞的肿瘤生物免疫治疗可明显延长晚期肾癌患者的生存期,对肺癌、鼻咽癌、肝癌等也取得了较好疗效^[8-10]。

本研究用传统化疗结合 CIK 细胞免疫治疗晚期胃癌,发现两组的近期疗效无明显差异,但在治疗过程中联合治疗组患者在化疗期间的生活质量较单纯化疗组高,提示 CIK 细胞免疫治疗可以提高患者

对化疗的耐受程度;对患者外周血淋巴细胞亚群检测发现,联合治疗组外周血 T 细胞比例较单纯化疗组升高,提示 CIK 细胞可以增强化疗后患者的免疫功能,在化疗后患者抗肿瘤免疫功能恢复过程中起到了一定的作用,CIK 细胞免疫治疗对化疗起辅助作用。本研究主要终点为 PFS,次要终点为 OS,研究结果为:随访 36 个月,采用多西他赛、奥沙利铂、替吉奥(DOT)方案对晚期胃癌患者化疗有效率与 DCF 化疗方案^[11]有效率基本相同,可能与样本量不足有关;本研究终点 PFS 与 OS 联合治疗组较单纯化疗组均有不同程度的延长,表明 CIK 联合多西他赛、奥沙利铂、替吉奥治疗晚期胃癌可能起到协同作用。其可能机制^[12-13]为:(1)上调肿瘤细胞表面主要组织相容性复合物(MHC)的表达;(2)上调免疫刺激性细胞因子和趋化因子直接导致 T 细胞浸润,起到增强疗效作用;(3)破坏免疫细胞在肿瘤中的微环境;(4)诱导 Fas/FasL 的表达,促进效应 T 细胞反应。化疗药物可减少肿瘤负荷,抑制肿瘤生长与扩散,对原发灶、转移灶和亚临床转移灶等均有控制作用。免疫治疗是从肿瘤发生机制的源头上着手,重建肿瘤患者的免疫系统,识别和清除体内肿瘤细胞,化疗联合免疫治疗是全新的肿瘤治疗模式,可防止肿瘤的复发,减低药物的不良反应,提升患者的抗癌免疫力,延长生存时间,提高生存质量。

[参考文献]

- [1] 吴晓松. 胃癌术后复发治疗新进展[J]. 解放军医学院学报, 2013, 34(2):189-190.
- [2] 徐瑞华, 滕开原. 晚期胃癌化疗进展[J]. 癌症, 2009, 28(10): 1108-1113.
- [3] 张晓冬, 郭明浩, 常占国, 等. DC/CIK 自体回输对化疗后胃癌患者 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞的影响[J]. 山东医药, 2014, 54(3): 70-72.
- [4] 冯继, 方军, 方献英. 多西他赛联合奥沙利铂和替吉奥治疗晚期胃癌的临床观察[J]. 中国现代药物应用, 2014, 7(8):135-136.
- [5] Wang M, Wu M, Wang W, et al. Docetaxel plus S-1 versus oxaliplatin plus S-1 for first-line treatment of patients with advanced gastric cancer: A retrospective study [J]. *Oncol Res Treat*, 2014, 37(1/2): 24-28.
- [6] Park I, Ryu MH, Choi YH, et al. A phase II study of neoadjuvant docetaxel, oxaliplatin, S-1 (DOS) chemotherapy followed by surgery and adjuvant S-1 chemotherapy in and potentially resectable gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2013, 72(4): 815-823.
- [7] Wang D, Zhang B, Gao H, et al. Clinical research of genetically modified dendritic cells in combination with cytokine-induced killer cell treatment in advanced renal cancer [J]. *BMC Cancer*, 2014, 10(14): 251-252.
- [8] Zhao M, Li H, Li L, et al. Impact of cellular immune function on prognosis of lung cancer patients after cytokine-induced killer cell therapy [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(15): 6009-6014.
- [9] Li JJ, Gu MF, Pan K, et al. Autologous cytokine-induced killer cell transfusion in combination with gemcitabine plus cisplatin regimen chemotherapy for metastatic nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Immunother*, 2012, 35(2): 189-195.
- [10] Yu X, Zhao H, Liu L. A randomized phase II study of autologous cytokine-induced killer cells in treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Immunol*, 2014, 34(2): 194-203.
- [11] 何若冰, 陈俊强. 胃癌新辅助化疗的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(12):1207-1211.
- [12] Shurin MR. Dual role of immunomodulation by anticancer chemotherapy [J]. *Nat Med*, 2013, 19(1): 20-22.
- [13] Champiat S, Ileana E, Giaccone G, et al. Incorporating immune-checkpoint inhibitors into systemic therapy of NSCLC [J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(2): 144-153.

[收稿日期] 2015-01-15

[修回日期] 2015-05-05

[本文编辑] 阮芳铭

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中数字用法的要求

本刊严格执行国家标准《出版物上数字用法的规定》,文稿中凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方,均应使用阿拉伯数字。(1)公历世纪、年代、年、月、日和时、时刻必须使用阿拉伯数字,如 20 世纪 90 年代、2006-02-15、5 h、30 min、30 s、14:36:08 等;年份不能用简称,“1998 年”不能写作“98 年”。(2)物理量量值必须使用阿拉伯数字。(3)非物理量量词前面数字一般也应使用阿拉伯数字,如 3 支、5 根等。(4)数值范围的表达要求:5 万至 10 万应写成 5 万~10 万,不能写成 5~10 万; 3×10^9 至 5×10^9 应写成 $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$, 或 $(3 \sim 5) \times 10^9$, 不能写成 $3 \sim 5 \times 10^9$; 60% 至 70% 不能写成 60~70%, 应写成 60%~70%; 25.5 ± 0.5 mg 应写成 (25.5 ± 0.5) mg。(5)带单位的量值相乘时,每个数值后单位不能省略,如 4 mm×2 mm×3 mm,不能写成 $4 \times 2 \times 3$ mm 或 $4 \times 2 \times 3$ mm³。

(本刊编辑部)