

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.04.009

· 临床研究 ·

DC-CIK 细胞治疗晚期结直肠癌的临床疗效

郑劫¹, 江龙委^{1▲}, 姚露¹, 艾月琴¹, 张燕¹, 黄伟谦¹, 高艳荣¹, 张闯¹, 赵华¹, 胡建华¹, 贾绍昌¹, 余书勇²(1. 解放军第81医院肿瘤生物治疗科, 江苏南京210001; 2. 解放军第187医院肿瘤科, 海南海口570000)

[摘要] **目的:** 评价自体树突状细胞(dendritic cell, DC)联合细胞因子诱导的杀伤(cytokine-induced killer, CIK)细胞治疗晚期结直肠癌患者的临床疗效和安全性。**方法:** 采集2011年7月至2015年3月解放军第81医院肿瘤生物治疗科收治的142例Ⅲ~Ⅳ期结直肠癌患者的外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC), 经实验室体外诱导培养DC和CIK细胞。DC细胞通过结肠癌细胞株COLO 320或直肠癌细胞株HCT-116裂解物致敏后与CIK细胞回输至结直肠癌患者, 观察DC-CIK细胞治疗的临床疗效和安全性。**结果:** 142例晚期结直肠癌患者经DC-CIK细胞免疫治疗后, 客观缓解率为16.2%, 疾病控制率为60.6%; 1年生存率为47%, 2年生存率为31%, 3年生存率为31%; 经细胞治疗后外周血CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、CD3⁺CD56⁺NK细胞、CD4⁺CD25⁺Treg细胞比例、CD4⁺/CD8⁺比值及癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)水平均无显著变化; 单因素分析显示, TNM分期($P=0.015$)、治疗次数($P=0.037$)及治疗前CEA值的正常与否为DC-CIK治疗结直肠癌的预后影响因素; 多因素分析显示, 治疗次数($P=0.024$)和年龄($P=0.015$)与DC-CIK治疗结直肠癌的预后密切相关。**结论:** DC-CIK细胞免疫治疗可能改善晚期结直肠癌患者远期生存率, 可产生临床获益, 无明显不良反应, 安全可行。

[关键词] 树突状细胞; 细胞因子诱导的杀伤细胞; 晚期结直肠癌; 细胞免疫治疗; 临床疗效

[中图分类号] R735.3; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)04-0459-06

Efficacy of the combination therapy with dendritic cells and cytokine-induced killer cells in the treatment of advanced colorectal cancer

Zheng Jie¹, Jiang Longwei^{1▲}, Yao Lu¹, Ai Yueqin¹, Zhang Yan¹, Huang Weiqian¹, Gao Yanrong¹, Zhang Chuang¹, Zhao Hua¹, Hu Jianhua¹, Jia Shaochang¹, Yu Shuyong²(1. Department of Tumor Biotherapy, No. 81 Hospital of PLA, Nanjing 210001, Jiangsu, China; 2. Oncology Department, No. 187 Hospital of PLA, Haikou 570000, Hainan, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the safety and efficacy of combination therapy with dendritic cells (DCs) and cytokine-induced killer (CIK) cells in the treatment of advanced colorectal cancer (CRC). **Methods:** Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were collected from 142 patients with stage III~IV CRC who were admitted to the Tumor Biotherapy Center of the No. 81 Hospital of PLA in Nanjing from August, 2011 to December, 2014. The cells were cultured ex vivo to generate DC and CIK cells. After sensitized with cell lysates from colon cancer cells Colo-320 or rectal cancer cells HCT-116, the DCs were transfused to CRC patients after combined with the CIK cells. T-lymphocyte subsets, serum CEA level, and clinical features were evaluated before and after the combined DC and CIK treatment. **Results:** Following the combined DC and CIK immunotherapy in patients with advanced CRC for 40 months, the overall response rate was 16.2%, the disease control rate was 60.0%, one-year overall survival rate was 47%, and both two-year and three-year overall survival rate was maintained at 31%. No significant alterations in T-lymphocyte subsets, CD4⁺/CD8⁺ ratio, and CEA level were found in these patients after the combination therapy. Single-factor analysis indicated that tumor stage

[基金项目] 南京军区医学科技创新项目资助(No. 14MS052)。Project supported by the Medical Technology Innovation Project of Nanjing Military Region (No. 14MS052)

[作者简介] 郑劫(1984-),女,江苏南京人,博士,主要从事免疫学和免疫细胞学基础研究,E-mail: zhengjieforever@hotmail.com;江龙委(1987-),男,安徽安庆人,硕士,主要从事肿瘤生物治疗的临床与基础研究,E-mail: jianglw2005@163.com。▲为共同第一作者

[通信作者] 余书勇(Yu Shuyong, corresponding author),E-mail: yushuyong187@163.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.r.20150728.1352.012.html>

($P=0.015$), the frequency of immunotherapy ($P=0.037$), and CEA value ($P=0.037$) affected significantly the survival period of these CRC patients. Multivariate Cox model indicated that frequency of the combined DC and CIK immunotherapy ($P=0.024$) and age ($P=0.015$) associated significantly with the risk of cancer-related death in these CRC patients. **Conclusion:** The combined autologous DC/CIK immunotherapy is a safe and feasible therapeutic approach and it may improve the long-term survival rate in patients with stage III ~ IV CRC.

[**Key words**] dendritic cell; cytokine-induced killer cell; advanced colorectal cancer; cellular immunotherapy; clinical efficacy

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(4): 459-464]

结直肠癌是一种常见的消化道恶性肿瘤,居世界癌症致死病因第4位^[1]。近年来,随着饮食习惯的改变,结直肠癌的发病率在东方国家正处于逐年上升的趋势^[2-3]。手术切除是目前世界范围内治疗结直肠癌的首选,术后辅助放化疗可在一定程度上改善患者的生存率。但约有25%的结直肠癌患者在诊断时已有明显转移,且5年生存率仅有10%^[4]。细胞免疫治疗目前已成为一种重要且有效的对抗癌症的治疗方法,尤其对晚期癌症患者有较好的临床疗效^[5-6]。过去在免疫治疗方面研究应用较多的是淋巴因子激活的杀伤(lymphokine-activated killer, LAK)细胞^[7]、肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL)^[8]和抗CD3单克隆抗体诱导的杀伤(anti-CD3 monoclonal antibody-induced killer, CD3-AK)细胞^[9]。但是这些细胞在体内杀伤肿瘤的活性相对较低^[10]。目前国内开展较多的是DC-CIK细胞免疫治疗,DC-CIK细胞联合培养,有增殖速度快、杀瘤活性高、杀瘤谱广的优点^[11-13]。本科室之前已报道DC-CIK细胞治疗局部晚期和晚期胰腺癌患者,可改善患者免疫功能并产生临床获益^[14]。本研究针对术后放化疗失败或不能耐受放化疗的晚期结直肠癌患者进行DC-CIK细胞免疫治疗,评价其临床疗效,探索细胞免疫治疗结直肠癌的有效性、安全性和可行性。

1 材料与方法

1.1 临床资料

收集2011年8月至2014年12月在解放军第81医院肿瘤生物治疗科进行自体DC-CIK细胞免疫治疗的可评估的晚期结直肠癌患者142例,其中女性52例、男性90例;年龄27~81岁,中位年龄60岁。患者的一般临床资料见表1。本临床试验程序经医院伦理委员会审查批准,全部入组患者均签署自体免疫细胞治疗知情同意书。(1)入选标准:参照美国癌症联合委员会(AJCC)分期标准,结直肠癌TNM分期为III-IV期的患者;病例病理检查证实均

为腺癌;接受过结直肠癌的规范化治疗(包括手术、化疗和放疗);治疗前Karnofsky功能状态评分(Karnofsky performance status, KPS)评分 ≥ 60 分;预期生存时间 ≥ 3 个月,末次治疗结束至首次DC-CIK细胞免疫治疗的间隔时间 ≥ 4 周;无严重病毒、细菌感染;能耐受血细胞分离机的采集。(2)排除标准:怀孕及哺乳期妇女;心、肝、肾功能不全者;同时患有自身免疫性疾病者;严重凝血异常者;对生物制品过敏者。

1.2 主要仪器与试剂

Beckman Coulter EPICS XL流式细胞仪购自美国Beckman公司,COM. TEC血细胞分离机购自德国Fresenius公司,HCT-116、COLO 320细胞株购自中国科学院细胞库,X-VIVO培养液购自美国Lonza公司,GT-T551培养液、anti-CD3 mAb购自北京宝日生物技术有限公司,淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物制品科技有限公司,临床使用标准rhG-CSF(75 $\mu\text{g}/\text{瓶}$)购自深圳新鹏生物工程有限公司,rhGM-CSF购自厦门特宝生物工程股份有限公司,rhIL-2购自北京四环生物制药有限公司,rhIFN- γ 购自上海凯茂生物医药有限公司,rhIL-4、rhTNF- α 购自美国Peprotech公司,CD86-PE-CY5购自美国BD公司,CD11c-PE、HLA-DR-ECD、CD83-FITC、CD80-FITC、CD54-PE-CY5购自美国Beckman公司。

1.3 DC-CIK细胞培养

应用血细胞分离机无菌采集肿瘤患者外周血,经淋巴细胞分离液制备患者PBMC,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 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 $1 \times 10^6/\text{ml}$,接种于含有GT-T551培养液和 1×10^3 U/ml rhIFN- γ 的培养瓶中,培养24 h后加入rhIL-2 500 U/ml、anti-CD3 mAb 50 ng/ml,继续培养,每2 d补液1次,定期观察并适时分瓶培养,保持细胞密度在 $(1 \sim 2) \times 10^6$ 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CIK细胞并回输;将附有贴壁细胞的空瓶内加入含rhGM-CSF 500 U/ml及rhIL-4

10 ng/ml 的 X-VIVO 培养液,置于 37 ℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养,于第 2、4 天半量换液 1 次,第 5 天加入结肠癌 COLO 320 或直肠癌 HCT-116 细胞裂解物作为负荷抗原,第 6 天加入 rhTNF-α 500 U/ml,第 7 天收获肿瘤抗原致敏的 DC,制成悬液,皮下注射回输患者。DC、CIK 回输前取样进行流式细胞表型

鉴定分析,细胞质量控制参见文献[15]。回输前 DC、CIK 细胞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 晚期结直肠癌患者的临床特征(N =142)
Tab.1 Clinical characteristics of colorectal cancer patients(N =142)

Parameters	n	Percentage (%)	Parameters	n	Percentage (%)
Gender			Age(t/a)		
Male	90	63.4	≤60	74	52.1
Female	52	36.6	>60	68	47.9
Pathological type			Previous therapy		
papillary	54	38.0	S	17	12.0
tubular	21	14.8	C/R	11	7.7
mucinous	34	23.9	S + C/R	78	54.9
signet ring cell	33	23.3	S + C + R	36	25.4
Tumor sites			Nerve infiltration		
Colon	83	58.5	Yes	41	28.9
Rectum	59	41.5	No	101	71.1
Nodes involvement			TNM stage		
Yes	100	70.4	Ⅲ	23	16.2
No	42	29.6	Ⅳ	119	83.8
Differentiation			Metastasis		
High	11	7.7	Liver	23	16.2
Middle	108	76.1	Lung	8	5.6
Low	23	16.2	Peritoneum	14	9.9
Therapeutic cycles			Multiple metastasis	74	52.1
1	105	73.9	None	23	16.2
≥2	37	26.1			

1.4 DC-CIK 细胞免疫治疗方案

采集 PBMC 当日计为第 0 天,第 7、14、21、28 天 DC 细胞分 4 次皮下注射,注射部位分别为双侧锁骨下、双侧腋下、双侧腹股沟淋巴结引流区;于第 9 至 21 天,根据细胞扩增数量、状态及成熟度将收获的 CIK 细胞分 3 次静脉回输给患者^[14, 16]。4 次 DC 细胞和 3 次 CIK 细胞回输为 1 个疗程细胞免疫治疗,每疗程间隔 3 个月,直至疾病进展。

1.5 流式细胞术检测 DC-CIK 细胞治疗对患者外周血淋巴细胞亚群的影响

分别于每疗程 DC-CIK 细胞治疗前 1 周和治疗后 1 个月抽取患者外周血,流式细胞术检测患者外周血淋巴细胞亚群:总 T 细胞 (CD3⁺)、Th 细胞 (CD3⁺ CD4⁺)、Tc 细胞 (CD3⁺ CD8⁺)、NK 细胞 (CD3⁺ CD56⁺)、Treg 细胞 (CD4⁺ CD25⁺),具体方法见参考文献[14 和 16]。

1.6 随访及疗效评价

随访时间从2011年7月至2015年3月,患者接受免疫治疗后的1个月复查血常规、肝功能、血清肿瘤标志物(癌胚抗原CEA)和外周血淋巴细胞亚群,并进行原发灶及转移灶的CT检查,评估免疫反应和临床疗效,治疗后3个月再次评估,之后每3~6个月复查评估。临床疗效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)。以CR+PR计算客观缓解率(objective response rate, ORR),CR+PR+SD计算疾病控制率(disease control rate, DCR),从免疫治疗到死亡或随访截止日期计算总生存时间(overall survival, OS)。

1.7 安全性评价

观察患者治疗前后血常规、肝功能的改变,以及治疗过程中所出现的不良反应。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。

1.8 统计学方法

采用SPSS 19.0统计学软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数数据以频数和率表示。两组间比较采用t检验(正态分布)或者Wilcoxon秩和检验(非正态分布),率检验采用 χ^2 检验。采用Kaplan-Meier法计算生存率,生存期比较采用Log-rank检验,将单因素分析有意义的因素引入Cox比例风险模型进行多因素分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效

142例晚期结直肠癌患者,随访时间3~44个月,经DC-CIK细胞治疗后,CR 0例,PR 23例,SD 63例,PD 56例;DC-CIK细胞免疫治疗后ORR为16.2%,DCR为60.6%。

2.2 外周血淋巴细胞亚群的变化

观察患者接受DC-CIK细胞免疫治疗前后淋巴细胞亚群的变化情况(表2),与治疗前相比较,142例晚期结直肠癌患者的外周血淋巴细胞亚群中,CD3⁺总T淋巴细胞、CD3⁺CD4⁺CD8⁻Th细胞、CD3⁺CD4⁻CD8⁺Tc细胞、CD3⁺CD56⁺NK细胞、CD4⁺CD25⁺Treg细胞的百分率及CD4⁺/CD8⁺比值差异无统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2.3 肿瘤标志物的变化

结直肠癌患者接受DC-CIK细胞免疫治疗前后检测血清肿瘤标志物CEA的表达水平,结果显示,DC-CIK细胞治疗后142例结直肠癌患者外周血CEA水平无显著变化[(299.89 ± 59.83)% vs (246.09 ± 50.42)% , $P = 0.21$]。

表2 晚期结直肠癌患者接受DC-CIK治疗后外周血淋巴细胞亚群的变化(%)

Tab.2 Changes of lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with advanced colorectal cancer pre- and post-treatment of DC-CIK(%)

Lymphocyte subset	Pre-treatment	Post-treatment	P
CD3 ⁺	62.00 ± 10.27	62.12 ± 12.92	0.93
CD4 ⁺	31.84 ± 9.21	31.78 ± 11.00	0.97
CD8 ⁺	25.61 ± 8.29	26.33 ± 10.68	0.52
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.41 ± 0.6	1.29 ± 0.69	0.24
CD3 ⁺ CD56 ⁺	17.45 ± 9.03	16.47 ± 9.47	0.46
CD4 ⁺ CD25 ⁺	3.28 ± 1.12	3.45 ± 1.42	0.39

2.4 总生存期

随访142例接受DC-CIK细胞治疗的晚期结直肠癌患者,其中65例患者失访,最长随访时间为44个月。结果如图1所示,治疗后1年生存率为47%,2年生存率为31%,3年生存率为31%。

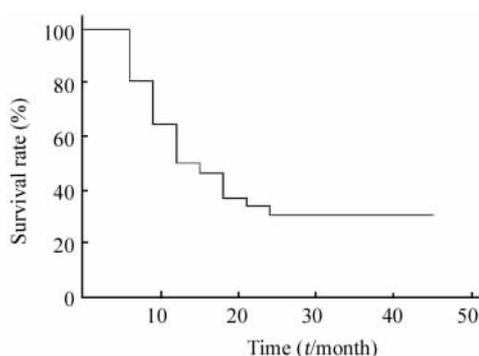


图1 DC-CIK细胞治疗晚期结直肠癌患者的生存曲线
Fig.1 Overall survival curve of patients with advanced colorectal cancer after DC-CIK therapy

2.5 单因素和多因素分析 DC-CIK细胞治疗晚期结直肠癌中影响患者预后的因素

根据142例晚期结直肠癌患者临床病理资料以及生存时间进行生存期的单因素分析(Log-rank检验),发现影响预后的因素包括了TNM分期($P = 0.015$)、治疗次数($P = 0.037$)及治疗前CEA值的

正常与否 ($P=0.037$);TNM 分期Ⅲ期患者的生存时间超过Ⅳ期患者,治疗疗程在 2 次及以上的患者生存时间超过治疗 1 次的患者,治疗前 CEA 值正常患者的生存时间超过 CEA 值升高的患者(图 2)。

再使用 Cox 多因素回归分析发现,DC-CIK 细胞治疗次数 ($P=0.024$) 和患者接受细胞免疫治疗的

年龄 ($P=0.015$) 与预后密切相关(图 3)。

2.6 安全性分析

所有患者治疗前后血常规、肝肾功能无明显变化,治疗过程中 12 例患者出现畏寒和发热,对症处理后恢复正常;6 例患者出现轻度乏力,未予特殊处理后逐渐恢复。所有不良反应均未达Ⅲ~Ⅳ级。

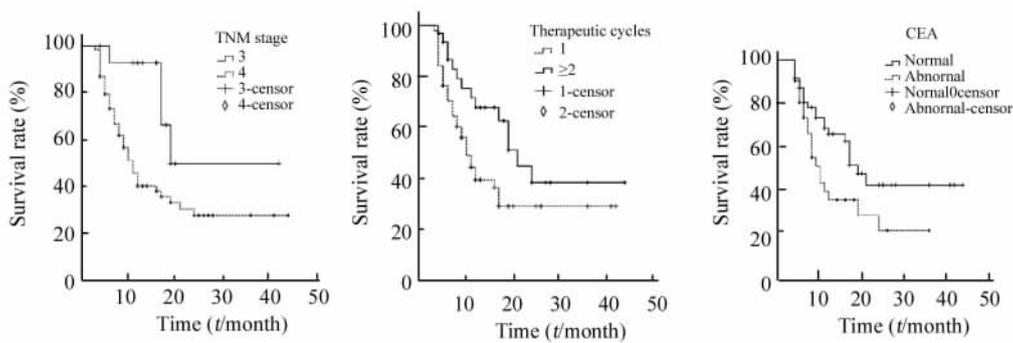


图 2 DC-CIK 细胞治疗晚期结直肠癌患者生存时间与 TNM 分期、治疗次数及 CEA 水平的相关性

Fig. 2 Correlation between the survival time and the TNM stages, therapeutic cycles and CEA level in patients with advanced colorectal cancer after DC-CIK therapy

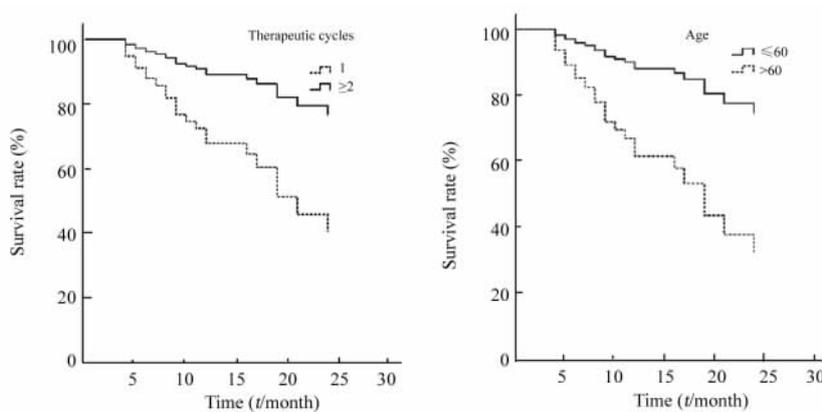


图 3 DC-CIK 细胞治疗晚期结直肠癌患者生存时间与治疗次数、患者年龄的相关性(Cox 分析)

Fig. 3 Correlation between the survival time and therapeutic cycles, the age of patients with advanced colorectal cancer after DC-CIK therapy (Cox analysis)

3 讨论

近年来免疫治疗,尤其是 DC-CIK 细胞治疗^[17] 成为恶性肿瘤治疗的研究热点。本研究以 ORR 和 DCR 为观察指标,评价 DC-CIK 细胞治疗 142 例晚期结直肠癌患者的疗效,结果显示,DC-CIK 细胞治疗后,ORR 为 16.2%,DCR 为 60.6%;且患者未出现明显不良反应,提示该治疗对晚期结直肠癌患者有临床获益。肿瘤患者免疫功能的变化是判断疗效的另一项重要指标。宿主抗肿瘤反应以 T 淋巴细胞介导的细胞免疫反应为主,因此,T 淋巴细胞亚群

的检测能较好的反映细胞免疫功能^[18]。本研究显示,患者接受 DC-CIK 治疗前后,外周血淋巴细胞亚群(总 T、Th、Tc、NK 和 Treg 细胞的百分率及 Th/Tc 的比值)没有显著差异。此结果与王丹红等^[19]报道的 DC-CIK 细胞免疫治疗食道癌患者的淋巴细胞亚群无明显变化相一致。原因可能在于本研究的受试对象都是晚期肿瘤患者,机体免疫功能呈现严重的抑制状态,短期且少次的细胞治疗强度不够,不能逆转患者免疫功能低下的状态。

理想的 DC 疫苗制备需要患者自身肿瘤细胞作为抗原,但对晚期结直肠癌患者,不论伦理上还是实

际操作中,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 疫苗采用异体结肠癌细胞株(COLO 320)或直肠癌细胞株(HCT-116)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,但异体细胞株与患者自身肿瘤细胞的差异性可能会导致疗效差异。本研究中,DC-CIK 细胞治疗后,患者 CEA 没有下降,推测可能与此因素有关。此外,晚期结直肠癌患者肿瘤负荷过大且机体整体免疫抑制状态极大地限制了细胞免疫治疗的作用。

应敏刚等^[20]等报道结直肠癌根治术后放化疗联合 DC-CIK 细胞疗法的 3 年无病生存率为 43.1%,而同期已行结直肠癌根治术但未行 DC-CIK 细胞疗法的仅为 27.5%,表明 DC-CIK 细胞疗法的临床有效性。本研究的受试对象主要为结直肠癌 III~IV 期患者,且绝大多数患者对放化疗失败或不能耐受放化疗。根据 44 个月的随访数据显示,DC-CIK 细胞治疗后,1 年总生存率为 47%,2 年和 3 年生存率持平,均为 31%,提示细胞免疫治疗可能提高晚期结直肠癌患者的远期生存率有帮助。由于本次入组患者从 2011 年 7 月起开始进行 DC-CIK 细胞治疗,目前尚未统计到患者的 5 年生存率,有待对这批患者进行继续随访,以进一步证实 DC-CIK 细胞免疫治疗对晚期结直肠癌患者远期生存率的影响。单因素分析表明,TNM 分期 III 期患者的生存时间超过 IV 期患者,细胞治疗疗程在 2 次及以上患者的生存时间超过治疗 1 次的患者,治疗前 CEA 值正常的患者生存时间超过 CEA 值升高的患者,提示 TNM 分期、治疗次数、CEA 值是 DC-CIK 细胞治疗晚期结直肠癌患者预后的主要影响因素。多因素回归分析表明,DC-CIK 细胞治疗次数和患者接受治疗时的年龄与预后密切相关,为今后临床合理开展细胞免疫治疗晚期结直肠癌患者提供参考性依据。

此外,所有接受细胞治疗的患者均未出现 III~IV 级以上的不良反应,说明 DC-CIK 细胞治疗的安全性。总而言之,DC-CIK 细胞免疫治疗安全可行,能改善晚期结直肠癌患者的远期生存率,能产生临床获益。

[参考文献]

[1] Koido S, Ohkusa T, Homma S, et al. Immunotherapy for colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(46): 8531-8542.

[2] Yang VW, Lewis J, Wang TC, et al. Colon cancer: An update and future directions [J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(6): 2027-2028.

[3] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics [J]. *CA*

Cancer J Clin, 2013, 63(1): 11-30.

- [4] Wang ZX, Cao JX, Liu ZP, et al. Combination of chemotherapy and immunotherapy for colon cancer in China: A meta-analysis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(4): 1095-1106.
- [5] Leemhuis T, Wells S, Scheffold C, et al. A phase I trial of autologous cytokine-induced killer cells for the treatment of relapsed Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphoma [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(3): 181-187.
- [6] Shi M, Zhang B, Tang ZR, et al. Autologous cytokine-induced killer cell therapy in clinical trial phase I is safe in patients with primary hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(8): 1146-1151.
- [7] Rosenberg S. Lymphokine-activated killer cells: A new approach to immunotherapy of cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1985, 75(4): 595-603.
- [8] Rosenberg SA, Spiess P, Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes [J]. *Science*, 1986, 233(4770): 1318-1321.
- [9] Yun YS, Hargrove ME, Ting CC. In vivo antitumor activity of anti-CD3-induced activated killer cells [J]. *Cancer Res*, 1989, 49(17): 4770-4774.
- [10] Takahashi H, Nakada T, Puisieux I. Inhibition of human colon cancer growth by antibody-directed human LAK cells in SCID mice [J]. *Science*, 1993, 259(5100): 1460-1463.
- [11] 翁剑锋, 于丽伟, 李砚屏, 等. 杀伤细胞和树突状细胞联合治疗晚期直肠癌的临床观察 [J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2014, 21(9): 1040-1043.
- [12] 刘涛, 沈杰, 何凤, 等. 大肠癌生物治疗临床应用研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2014, 22(7): 1707-1710.
- [13] 李亭亭, 李晖, 王熙才. 肿瘤疫苗在肿瘤治疗中的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(10): 2351-2353.
- [14] 蔡凯, 艾月琴, 张闯, 等. DC-CIK 细胞治疗局部晚期和晚期胰腺癌患者的临床疗效 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2013, 20(4): 449-455.
- [15] 蔡凯, 高艳荣, 柯燕, 等. 重组人粒细胞集落刺激因子动员后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.
- [16] Crammer 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.
- [17] 何立香, 蒋思卿, 彭大. DC-CIK 治疗恶性肿瘤的研究进展 [J]. *医学综述*, 2013, 19(1): 59-62.
- [18] 陈芬, 江千秋, 焦兰, 等. DC-CIK 联合化疗加靶向治疗对晚期结肠癌的临床疗效观察 [J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 23(12): 1686-1690.
- [19] 王丹红, 张斌, 高海燕, 等. DC-CIK 细胞治疗中晚期食道癌的临床疗效 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2014, 21(6): 621-625.
- [20] 应敏刚, 魏植强, 杨建伟, 等. 结直肠癌术后放化疗联合 DC-CIK 的疗效分析 [J]. *实用癌症杂志*, 2010, 24(3): 274-276.

[收稿日期] 2015-05-27 [修回日期] 2015-07-08

[本文编辑] 黄静怡