

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.002

· 研究快报 ·

## 多靶点抗原肽自体免疫细胞治疗原发性肝细胞癌的临床安全性

黄静<sup>1</sup>, 胡晓云<sup>1</sup>, 陈晓薇<sup>1</sup>, 张明霞<sup>2</sup>, 陈逢生<sup>3</sup>, 郭亚兵<sup>1</sup> (1. 南方医科大学南方医院感染科, 广东广州 510515; 2. 南方医科大学南方医院器官衰竭研究国家重点实验室, 广东广州 510515; 3. 南方医科大学中西医结合医院, 广东广州 510515)

**[摘要]** **目的:** 评价多靶点抗原肽自体免疫细胞技术(multiple antigen stimulating cellular therapy, MASCT™)治疗原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的临床安全性。**方法:** 回顾性分析2012年1月至2014年12月南方医院肝病中心收治的接受MASCT™治疗且治疗前的末次治疗结束最少1个月以上、未接受其他免疫治疗的45例HCC患者的临床资料。第0天分离患者外周血单个核细胞, 其中贴壁细胞诱导培养为成熟树突状细胞(mature dendritic cell, mDC), 负载14种抗原肽, 小部分mDC于第8天经患者腹股沟淋巴结周围区皮下注射; 未贴壁细胞第7天与大部分mDC共培养诱导为杀伤性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL), 对mDC及CTL进行质量控制检测, 第26天经静脉回输患者体内, 分析输注细胞后患者的不良反应和血常规、肝肾功能变化。**结果:** mDC中CD80<sup>+</sup>细胞比例为(98.5±5)%、CD83<sup>+</sup>细胞为(88.0±10)%、CD86<sup>+</sup>细胞为(98.4±3)%、HLA-DR<sup>+</sup>细胞为(98.8±2)%、mDC分泌高水平IL-12[(985±312) pg/ml]、低水平IL-10[(53±10) pg/ml]。CTL中CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞为(83.0±10)%、CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>细胞为(24.0±5)%、CTL分泌高水平IFN-γ[(1222±650) pg/ml]、低水平IL-10[(7±5) pg/ml]。MASCT™治疗后, 绝大多数患者的精神、食欲、睡眠和体力较前好转, 有2名(4.4%)患者在输注CTL细胞1h后出现轻度发热, 未观察到其他严重明显不良反应。患者的血常规、肝肾功能均无明显异常变化。**结论:** MASCT™成功诱导培养典型mDC和CTL, 行MASCT™治疗的HCC患者不良反应较少, 临床应用安全性良好。

**[关键词]** 肝细胞癌; 多靶点抗原肽; 免疫细胞治疗; 安全性; 临床试验

**[中图分类号]** R735.7; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2016)01-0011-06; **[临床试验注册号]** NCT02026363

## The safety of multiple antigen stimulating cellular therapy in treating patients with hepatocellular carcinoma

HUANG Jing<sup>1</sup>, HU Xiaoyun<sup>1</sup>, CHEN Xiaowei<sup>1</sup>, ZHANG Mingxia<sup>2</sup>, CHEN Fengsheng<sup>3</sup>, GUO Yabing<sup>1</sup> (1. Department of Infectious Diseases, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China; 2. State Key Laboratory of Organ Failure Research, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China; 3. Hospital of Traditional Chinese and Western Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the safety of multiple antigen stimulating cellular therapy (MASCT™) in treating patients with hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** The clinical datas of 45 HCC patients, who received MASCT™ from January 2012 to December 2014 in the Center of Liver Diseases of Nanfang Hospital, were retrospectively analyzed. These patients did not receive any other immunotherapy before and their latest treatment (surgery, radiotherapy or chemotherapy) was at least one month before receiving MASCT™. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were separated on Day 0, and the adherent cells were induced into mature dendritic cells (mDCs) to load 14 types of antigen peptides, a small part of mDCs was injected intracutaneously into the area of inguinal lymph nodes on Day 8. The un-adherent cells were co-cultured with mDC on Day 7 and induced into cytotoxic T lymphocytes (CTLs); the quality of DCs and CTLs was controlled

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金资助项目(No. 81502378); 深圳市技术创新计划创业资助项目(No. CYZZ20140421141521053)。Project supported by the National Natural Science Foundation for Young Scientists of China (No. 81502378), and the Technological Innovation and Venture Capital Project of Shenzhen City (No. CYZZ20140421141521053)

**[作者简介]** 黄静(1990-), 女, 江西上饶人, 硕士生, 主要从事肝癌免疫细胞治疗基础及临床研究, E-mail: catherinen9024@163.com

**[通信作者]** 郭亚兵(GUO Yabing, corresponding author), E-mail: gyabing@126.com

before injected intravenously into patients on Day 26. The adverse effects, blood routine examination results, and functional changes of liver and kidney were recorded after injection. **Results:** In mDCs, the percentage of CD80<sup>+</sup>, CD83<sup>+</sup>, CD86<sup>+</sup> and HLA-DR<sup>+</sup> was (98.5 ± 5)%, (88.0 ± 10)%, (98.4 ± 3)%, and (98.8 ± 2)%, respectively; mDC secreted high level of IL-12(985 ± 312) pg/ml and low level of IL-10(53 ± 10) pg/ml. The percentage of CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> and CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> cells in CTLs was (83.0 ± 10)% and (24.0 ± 5)%, respectively; CTL secreted high level of IFN-γ(1 222 ± 650) pg/ml and low level of IL-10(7 ± 5) pg/ml. Most of the 45 patients had alleviation in appetite, sleep and physical condition after MASCT<sup>TM</sup> treatment. There were 2 patients (4.4%) had moderate fever after infusion with CTLs, but without other severe adverse reactions. There was no significant difference in renal function or blood routine examination before and after treatment. But ATL, AST, TBIL in liver function were increased a little. **Conclusion:** MASCT<sup>TM</sup> induced mDC and CTL successfully; it is a feasible treatment for HCC patients with less adverse effects and good clinical safety.

[ **Key words** ] hepatocellular carcinoma; multiple antigen peptides; cellular immunotherapy; safety; clinical trial

[ **Trial registration** ] ChiCTR: NCT02026362

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23(1): 11-16. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.002 ]

当前免疫治疗已成为继手术、放疗、化疗后的第4种恶性肿瘤的治疗方法。免疫治疗依其作用机制不同分为主动与被动免疫治疗两大类:前者如治疗前列腺癌的DC疫苗等;被动免疫治疗又称过继性细胞免疫治疗(adoptive cellular immunotherapy, ACI),即将各种细胞免疫效应细胞、细胞因子或单克隆抗体输入患者体内,直接介导抗肿瘤免疫反应。ACI是免疫治疗发展历程中的重要里程碑,迄今为止主要应用的细胞类型有肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)、DC-杀伤性T淋巴细胞(dendritic cell-cytotoxic T lymphocyte, DC-CTL)及新近出现的嵌合抗原受体的T淋巴细胞(chimeric antigen receptors of T cells, CAR-T)等,尤其是CAR-T目前在白血病治疗中疗效肯定<sup>[1]</sup>,对部分实体瘤患者的临床试验也取得令人鼓舞的疗效<sup>[2]</sup>。近年来对原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者进行了一系列免疫治疗的试验以评估免疫治疗的效果<sup>[3,4]</sup>。本研究(临床试验注册号:NCT02026363)采用多靶点抗原肽自体免疫细胞技术(multiple antigen stimulating cellular therapy, MASCT<sup>TM</sup>)诱导培养成熟DC及CTL,将DC注射于HCC患者腹股沟淋巴结周围区皮下组织,将培养诱导的CTL静脉回输HCC患者体内,旨在探索联合了主动与被动免疫的MASCT<sup>TM</sup>治疗HCC的安全性,为其临床推广应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

选取2012年1月至2014年12月期间在南方医科大学南方医院肝病中心收治接受MASCT<sup>TM</sup>治疗的45例原发性肝癌患者,其一般资料见表

1。纳入标准:(1)经临床或病理诊断确诊为原发性肝细胞癌;(2)无严重的心、肝、肾等重要脏器功能损害;(3)首次MASCT<sup>TM</sup>前末次治疗(手术、化疗、放疗)结束最少1个月以上;(4)接受了MASCT<sup>TM</sup>。排除标准:(1)有自身免疫疾病;(2)正在接受放疗、化疗或其他生物治疗者;(3)使用了免疫抑制剂治疗;(4)严重的恶病质者;(5)严重过敏体质者;(6)孕期或哺乳期患者。所有患者自愿接受MASCT<sup>TM</sup>治疗,并签署了知情同意书。本研究通过南方医院伦理委员会批准(批件号:NFEC-2014115)。

表1 45例HCC患者临床特征[n(%)]  
**Tab. 1 Clinical characteristics of the 45 patients with HCC [n(%)]**

Variable	HCC patients
Age( $\bar{x} \pm s, t/a$ )	53.78 ± 10.9
Male sex	43(95.6)
HBsAg-positive	40(88.9)
Anti-HCV-positive	1(2.2)
Child-Pugh class(A/B)	26/19(57.8/42.2)
BCLC stage(B/C)	13/19(28.9/42.2)
Treatment	
Surgery	14(31.1)
RFA	10(22.2)
TACE	33(73.3)
MASCT <sup>TM</sup> treatment time	
1	16(35.5)
2	7(15.6)
≥3	22(48.9)

### 1.2 MASCT<sup>TM</sup>治疗方案

采集患者外周全血约100~150 ml,参加细胞培

养及质量控制的技术人员(深圳源正细胞医疗技术有限公司)均经过 GMP 培训和健康查体符合 GMP 上岗要求。在符合 GMP 的实验室条件下,第 0 天分离单个核细胞(mononuclear cells, MC),贴壁后,贴壁细胞诱导培养 DC,非贴壁细胞冻存。DC 负载 14 种抗原肽(表 2),抗原肽用量,每条为  $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。经细胞因子促成熟后一部分在第 8 天给患者腹股沟淋巴结周围区皮下注射  $1 \text{ ml}$  DC 悬液(DC + 生理盐水 + 0.25% 人血白蛋白)。第 7 天复苏非贴壁细胞,与 DC 共培养刺激产生抗原专一性的 CTL,于第 26 天收集 CTL 制备成  $200 \text{ ml}$  CTL 悬液(CTL + 生理盐水 + 0.25% 人血白蛋白)(图 1)。用锥虫蓝染色法检测细胞活力均  $> 90\%$ ,经由本院临床检验中心和实验室同时进行细菌、真菌、支原体及细菌内毒素检测,检测结果均为阴性,以确保细胞培养和细胞回输的安全。混匀后送病房立即给患者回输,每次回输 DC 数不少于  $1 \times 10^7$ 、CTL 数为  $(6 \sim 10) \times 10^9$  个。对回输的 DC 及 CTL 细胞表型和细胞因子分泌进行检测。

表 2 多靶点抗原肽库组成

Tab. 2 Composition of the multiple antigen peptides library

No.	Antigen	Description
1	hTERT	Human telomerase reverse transcriptase
2	P53	Tumor suppressing antigen
3	Survivin	Apoptosis inhibitor
4	NY-ESO-1	Tumor-testis antigen
5	CEA	Carcinoembryonic antigen
6	CCND1	Cyclin D1
7	MET	HGF-hepatocyte growth factor receptor
8	RGS5	Regulators of G protein signaling 5
9	MMP7	Matrix metalloproteinase 7
10	VEGFR	Vascular endothelial growth factor receptor
11	AFP	Alpha fetoprotein
12	GPC3	Glypican-3
13	HBVc	HBV core antigen
14	HBVp	HBV DNA polymerase

### 1.3 DC 和 CTL 细胞表型和细胞因子检测方法

第 8 天回输的 DC 通过流式细胞术检测其  $\text{CD}80^+$ 、 $\text{CD}83^+$ 、 $\text{CD}86^+$ 、 $\text{HLA-DR}^+$  细胞比例;第 26 天回输的 CTL 通过流式细胞术检测其  $\text{CD}3^+$   $\text{CD}8^+$

和  $\text{CD}3^+$   $\text{CD}56^+$  细胞比例。通过 ELISA 方法检测 DC 培养上清中细胞因子 IL-10、IL-12 含量;检测 CTL 培养上清中细胞因子 IFN- $\gamma$ 、IL-10 含量。

### 1.4 观察患者临床指标

观察 45 例经 MASCT™ 治疗的原发性 HCC 患者的临床指标,包括:(1) 输注 DC 及 CTL 后 4 h 内局部输注反应,输注部位有无红肿、疼痛;(2) 全身反应,患者的精神、食欲、睡眠、体力情况变化,有无发热、皮肤潮红、瘙痒、皮疹及过敏反应、溶瘤综合征等其他免疫反应相关症状;(3) 实验室检查,所有患者治疗前后血常规和肝、肾功能。

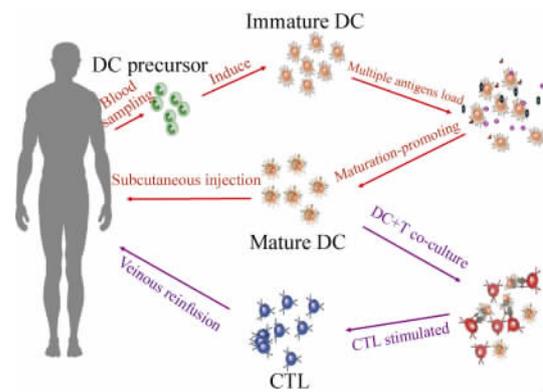


图 1 多靶点抗原肽自体免疫细胞治疗流程图

Fig. 1 Flowchart of multiple antigen stimulating cellular therapy (MASCT™)

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料均用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用  $t$  检验及单因素方差分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MASCT™ 成功诱导培养 DC 和 CTL

2.1.1 DC 分泌高水平 IL-12 对 DC 的表面标志物进行流式标记及检测显示,DC 中  $\text{CD}80^+$  细胞比例为  $(98.5 \pm 5)\%$ 、 $\text{CD}83^+$  细胞为  $(88.0 \pm 10)\%$ 、 $\text{CD}86^+$  细胞为  $(98.4 \pm 3)\%$ 、 $\text{HLA-DR}^+$  细胞为  $(98.8 \pm 2)\%$ ,呈典型成熟 DC 表型(图 2)。DC 分泌  $(985 \pm 312) \text{ pg}/\text{ml}$  的促炎因子 IL-12,同时低表达免疫抑制因子 IL-10  $[(53 \pm 10) \text{ pg}/\text{ml}]$ 。

2.1.2 CTL 分泌高水平 IFN- $\gamma$  对培养获得的 CTL 表面标志物进行流式标记及检测显示,CTL 细胞中  $\text{CD}3^+$  细胞占 97% 以上、 $\text{CD}3^+$   $\text{CD}8^+$  双阳细胞含量为  $(83.0 \pm 10)\%$ 、 $\text{CD}3^+$   $\text{CD}56^+$  双阳细胞含量为  $(24.0 \pm 5)\%$ (图 3)。ELISA 检测结果显示,CTL 培

养上清中含有  $(1\ 222 \pm 650)$  pg/ml 的 IFN- $\gamma$ 、 $(6.8 \pm 5.0)$  pg/ml 的 IL-10。

2.2 MASCT™ 治疗后患者不良反应较少

45 例 HCC 患者在接受 MASCT™ 治疗后, 绝大多数患者的精神、食欲、睡眠、体力较前好转; 2 例 (占 4.44%) 患者在输注 CTL 细胞 1 h 后有轻微发热, 发热均不超过 38.5 °C, 休息、饮水、物理降温后恢复正常。未观察到其他严重不良反应。

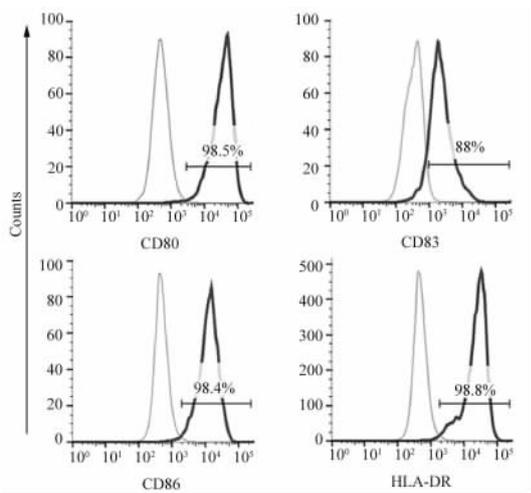


图 2 成熟 DC 的表型(流式细胞检测)

Fig. 2 Phenotype of mature DCs (flow cytometry)

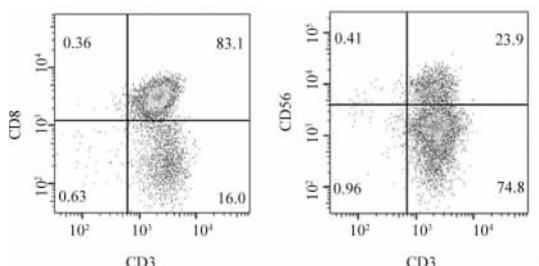


图 3 CTL 表型(流式细胞检测)

Fig. 3 Phenotype of CTLs (Flow cytometry)

2.3 MASCT™ 治疗后患者血常规未见异常变化

所有患者未出现明显的血常规异常(表 3)。在首次接受 MASCT™ 治疗前和末次治疗前抽取 HCC 患者外周血进行血常规检测, 治疗前后 WBC ( $P = 0.0411$ ), Neu 数值 ( $P = 0.0015$ ) 比较有显著的统计学意义, 但均在正常值范围内波动, 改变无临床意义。治疗前后 HB、PLT 数值比较差异无统计学意义。

2.4 MASCT™ 治疗后患者肝、肾功能未见异常

所有患者未出现明显的肝、肾功能异常(有 2

例患者末次治疗前肝、肾功能数据缺失, 表 4)。在首次接受 MASCT™ 治疗前和末次治疗后抽取患者外周血进行肝肾功能检测, 治疗前后谷草转氨酶 ( $P = 0.0198$ ), 总胆红素 ( $P = 0.0177$ ) 比较差异有统计学意义, 谷丙转氨酶也有升高趋势, 有实际临床意义。治疗前后肌酐、尿素氮数值比较差异无统计学意义。

表 3 MASCT™ 治疗后血常规变化 ( $n = 45, \bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 Variation of blood routine examination after MASCT™ therapy ( $n = 45, \bar{x} \pm s$ )

Index	Before treatment	After treatment	P
WBC ( $\times 10^9/L$ )	5.41 $\pm$ 2.11	6.78 $\pm$ 3.82	0.0411
Neu ( $\times 10^9/L$ )	62.34 $\pm$ 12.28	70.92 $\pm$ 13.32	0.0015
HB [ $\rho_B/(g \cdot L^{-1})$ ]	125.71 $\pm$ 21.70	114.20 $\pm$ 31.74	0.0508
PLT ( $\times 10^9/L$ )	143.76 $\pm$ 70.76	120.84 $\pm$ 75.02	0.1361

表 4 MASCT™ 治疗后谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、肌酐、尿素氮变化

Tab. 4 Variation of ALT, AST, TBIL, CR and BUN after MASCT™ therapy

Index	Before treatment ( $n = 45$ )	After treatment ( $n = 43$ )	P
ALT [ $Z/(IU \cdot L^{-1})$ ]	52.79 $\pm$ 74.76	99.64 $\pm$ 168.50	0.1018
AST [ $Z/(IU \cdot L^{-1})$ ]	70.40 $\pm$ 64.20	148.71 $\pm$ 202.63	0.0198
TBIL [ $c_B/(\mu mol \cdot L^{-1})$ ]	23.64 $\pm$ 14.141	66.14 $\pm$ 112.01	0.0177
CR [ $c_B/(mmol \cdot L^{-1})$ ]	86.23 $\pm$ 97.35	92.61 $\pm$ 87.87	0.7610
BUN [ $c_B/(mmol \cdot L^{-1})$ ]	5.52 $\pm$ 3.64	6.14 $\pm$ 3.85	0.4822

患者经过 4~6 次 MASCT™ 治疗, 共有 6 次访视数据(基线至第 5 次访视数据), 共 10 例患者(剔除 2 例数据波动较大的患者)。其中 1 名患者结束第 6 次 MASCT™ 治疗后立即行部分活体肝移植术, 导致第 6 次访视时 ALT 升高至 288 IU/L; 另 1 名患者行 TACE 术导致第 6 次访视时 ALT 升高至 572 IU/L。比较治疗前后 HCC 患者 ALT ( $P = 0.4679$ ), AST ( $P = 0.1661$ ) 差异均无统计学意义(表 5)。

3 讨论

近年来细胞免疫治疗技术发展迅速, PD1 单抗、CAR-T 等新技术已经进入临床试验阶段<sup>[1, 5-7]</sup>。多靶点抗原肽自体免疫细胞技术通过外源加入 14 种抗原肽, 包括 hTERT、NY-ESO-1 等 12 种在大部分

肿瘤中都过表达的肿瘤抗原肽和 4 种肝癌特异性抗原, 其中有 2 种与 HBV 相关, 分别为乙肝病毒核心抗原肽段和乙肝病毒 DNA 聚合酶肽段。MASCT™ 诱导培养的 DC 高表达 CD80、CD83、CD86 和 HLA-DR, 呈典型成熟 DC 表型。DC 表面协同刺激分子及分泌的细胞因子可为 CTL 提供刺激信号, 促进 CTL 进一步增殖和活化; DC 表面突起有利于大量接

触抗原并提呈给 CTL, 从而提高 CTL 对肿瘤的特异性杀伤<sup>[8]</sup>。因此, 第 8 天在患者腹股沟淋巴结周围皮下注射一部分负载了抗原和促成熟的 DC, 目的是通过这部分 DC 诱导患者体内的特异性 T 细胞抗肿瘤免疫应答, 是一个主动性细胞免疫的过程。另一部分 DC 与非贴壁细胞共培养诱导肿瘤抗原特异性的 CTL 细胞, 这些 CTL 能高水平分泌 IFN- $\gamma$ 。

表 5 MASCT™ 治疗后谷丙转氨酶、谷草转氨酶的动态变化(  $n=8, \bar{x} \pm s$  )  
Tab. 5 Dynamic changes of ALT, AST after MASCT™ therapy(  $n=8, \bar{x} \pm s$  )

Index	Basline	Time after treatment ( t/d )					P
		1	2	3	4	5	
ALT[ Z/( IU · L <sup>-1</sup> ) ]	39.91 ± 25.62	35.15 ± 18.89	35.46 ± 18.3	37.53 ± 20.25	40.09 ± 23.07	49.53 ± 35.39	0.4679
AST[ Z/( IU · L <sup>-1</sup> ) ]	37.34 ± 17.64	44.26 ± 26.23	43.71 ± 25.41	45.56 ± 21.32	47.25 ± 32.38	54.69 ± 39.91	0.1661

免疫细胞在肿瘤免疫中的作用机制已基本阐明<sup>[9]</sup>; CTL 细胞释放大量穿孔素、细胞溶解酶等直接杀伤肿瘤细胞, 其活化后释放大量细胞因子和趋化因子抑制或杀伤肿瘤细胞, CTL 细胞还可通过高表达凋亡基因 *Bcl-2*、*DADI*、*Survivin* 诱导肿瘤细胞凋亡及坏死, 同时还可形成记忆免疫细胞发挥慢性杀伤作用。CTL 细胞分泌的 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 可诱发多种炎症因子级联释放, 作为内源性致热源, 通过血脑屏障直接作用于下丘脑体温调节中枢, 将温度调定点上移, 体温升高引起发热<sup>[10]</sup>。为推广 MASCT™ 治疗原发性肝细胞癌的临床应用, 研究其临床治疗的安全性是必要而且有意义的。

MASCT™ 正式进入临床应用之前, 为了初步评价该技术制备的 DC、CTL 的安全性, 招募了 2 名慢性乙型肝炎受试者, 经行 6 个疗程治疗, 观察结果显示, 2 例受试者回输细胞后一般状态良好, 无不良反应发生, 血清谷丙转氨酶均有升高趋势。正式进入临床试验后, 观察了 45 例经多次 MASCT™ 治疗后原发性肝细胞癌患者的不良反应, 发现绝大部分患者无明显不良反应, 只有 2 例患者在回输 CTL 细胞后约 1 h 出现轻中度发热。多次治疗后 HCC 患者白细胞、中性粒细胞计数和肾功能无明显异常变化, 转氨酶、总胆红素水平与基线值相比有升高趋势。这可能是由于输入的 CTL 细胞分泌了大量的细胞因子, 破坏了机体原来的免疫平衡状态, 使细胞因子网络发生变化, 免疫状态暂时失去平衡, 重新达到平衡需要一定时间, 此时就可能会出现发热。有研究<sup>[11]</sup>报道, 细胞因子剂量过大会诱发多器官功能障

碍。本组 45 例 HCC 患者肝功能基线值与多次 MASCT™ 治疗后相比, 转氨酶、总胆红素轻度升高; 动态观察经 4 ~ 6 次 MASCT™ 治疗后的 10 例 HCC 患者, 第 6 次随访资料中的 ALT 与 AST 平均水平较前明显升高。经分析, 临床资料发现, 其中 1 名患者结束第 6 次 MASCT™ 治疗后立即行部分活体肝移植术导致第 6 次随访时 ALT 升高至 288 IU/L; 另 1 名患者行 TACE 术导致第 6 次随访时 ALT 升高至 572 IU/L。剔除该 2 例患者再进行统计分析, 则无显著统计学意义。有研究<sup>[12]</sup>报道 HBsAg 特异性 T 细胞进入人体内发生靶向免疫效应时会促进肝脏炎症反应, 转氨酶升高。因此, 多次 MASCT™ 治疗后机体内 CTL 细胞有可能作用于肝组织靶细胞, 释放细胞因子诱发免疫反应, 导致肝脏发生炎症反应, ALT、AST、TBIL 出现升高趋势, 当然还需大量临床研究去论证。

手术、放疗和化疗是目前临床治疗肿瘤的三大常规疗法, 部分肿瘤可通过这些方法得到一定程度治疗, 但同时也带来较多不良反应: 手术切除适合早期肿瘤, 带来较大创伤; 放、化疗不良反应明显, 杀伤正常细胞, 有可能抑制免疫功能。人类免疫系统中, CTL 细胞通过细胞特异性免疫反应直接杀伤肿瘤细胞。来自于患者自身的细胞, 体外诱导激活并经严格质控后回输患者体内, 偶有轻中度发热、转氨酶轻度升高, 予对症处理后可恢复正常。研究者<sup>[13]</sup>报道了 HCC 治愈性切除后辅以 CIK 治疗与没有其他辅助治疗相对比, CIK 治疗降低了 HCC 患者肿瘤复发率达 41%。2004 年, 国内也有文献<sup>[14]</sup>报道了自体

CIK 细胞过继免疫治疗肝癌安全有效。越来越多的证据<sup>[15-21]</sup>证明, 免疫治疗可能成为未来治疗 HCC 患者的有效方法。

总之, 多靶点抗原肽自体免疫细胞技术集主动免疫与被动免疫治疗于一体, 可调节和增强机体的免疫功能, 可杀伤肿瘤细胞, 因而可成为肿瘤手术、放疗、化疗的重要辅助手段, 甚至可成为单独的治疗手段, 具有较广阔的应用前景。在临床上已经初步证实 MASCT™ 不良反应小、安全性良好, 但仍需密切监测, 并高度重视任何不良反应事件的发生。目前本课题组正在开展全国多中心随机对照临床试验, 进一步探索 MASCT™ 的安全性及临床治疗疗效。

### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] GRUPP S A, KALOS M, BARRETT D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia [ J ]. *New Engl J Med*, 2013, 368( 16 ): 1509-1518. DOI: 10.1056/NEJMoa1215134.
- [ 2 ] ASCIERTO P A, ADDEO R, CARTENI G, et al. The role of immunotherapy in solid tumors: report from the Campania Society of Oncology Immunotherapy ( SCITO ) meeting, Naples 2014 [ J ]. *J Transl Med*, 2014, 12: 291. DOI: 10.1186/s12967-014-0291-1.
- [ 3 ] JIANG S S, TANG Y, ZHANG Y J, et al. A phase I clinical trial utilizing autologous tumor-infiltrating lymphocytes in patients with primary hepatocellular carcinoma [ J ]. *Oncotarget*, 2015, 6( 38 ): 41339-41349. DOI: 10.18632/oncotarget.5463.
- [ 4 ] ZHOU P, LIANG P, DONG B, et al. Phase clinical study of combination therapy with microwave ablation and cellular immunotherapy in hepatocellular carcinoma [ J ]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11( 5 ): 450-456. DOI: 10.4161/cbt.11.5.14669.
- [ 5 ] ASAOKA Y, IJICHI H, KOIKE K. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency [ J ]. *New Engl J Med*, 2015, 373( 20 ): 1979. DOI: 10.1056/NEJMc1510353#SA1.
- [ 6 ] JUNE C H, BLAZAR B R, RILEY J L. Engineering lymphocyte subsets: tools, trials and tribulations [ J ]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9( 10 ): 704-716. DOI: 10.1038/nri2635.
- [ 7 ] PARK T S, ROSENBERG S A, MORGAN R A. Treating cancer with genetically engineered T cells [ J ]. *Trends Biotechnol*, 2011, 29( 11 ): 550-557. DOI: 10.1016/j.tibtech.2011.04.009.
- [ 8 ] GONZALEZ-CARMONA M A, MARTEN A, HOFFMANN P, et al. Patient-derived dendritic cells transduced with an a-fetoprotein-encoding adenovirus and co-cultured with autologous cytokine-induced lymphocytes induce a specific and strong immune response against hepatocellular carcinoma cells [ J ]. *Liver Int*, 2006, 26( 3 ): 369-379. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01235.x.
- [ 9 ] DUNN G P, OLD L J, SCHREIBER R D. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting [ J ]. *Immunity*, 2004, 21( 2 ): 137-148. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.07.017.
- [ 10 ] 王秀宇. 全身炎症反应综合征的相关实验室检查指标 [ J ]. *武警医学院学报*, 2011( 4 ): 334-336. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5041.2011.04.035.
- [ 11 ] VAN DER POLL T, MEIJERS J C. Systemic inflammatory response syndrome and compensatory anti-inflammatory response syndrome in Sepsis [ J ]. *J Innate Immun*, 2010, 2( 5 ): 379-380. DOI: 10.1100318190.
- [ 12 ] QASIM W, BRUNETTO M, GEHRING A J, et al. Immunotherapy of HCC metastases with autologous T cell receptor redirected T cells, targeting HBsAg in a liver transplant patient [ J ]. *J Hepatol*, 2015, 62( 2 ): 486-491. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.10.001.
- [ 13 ] TAKAYAMA T, SEKINE T, MKUUCHI M, et al. Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma: a randomised trial [ J ]. *Lancet*, 2000, 356( 9232 ): 802-807. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02654-4.
- [ 14 ] 施明, 王福生, 张冰, 等. 自体 CIK 细胞治疗肝癌的安全性和有效性评价 [ J ]. *解放军医学杂志*, 2004, 29( 4 ): 333-335. DOI: 10.3321/j.issn:0577-7402.2004.04.016.
- [ 15 ] GRETEN T F, MANN S P, KORANGY F. Immunotherapy of hepatocellular carcinoma [ J ]. *J Hepatol*, 2006, 45( 6 ): 868-878. DOI: 10.1016/j.jhep.2006.09.004.
- [ 16 ] 寇晓霞, 黄耀, 袁振刚, 等. 自体 DC-CIK 细胞联合微波热凝治疗肝癌的疗效观察 [ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015, 22( 4 ): 509-513. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.04.018.
- [ 17 ] 郑婷, 寇晓霞, 吴孟超, 等. 含奥沙利铂化疗方案联合 DC-CIK 细胞治疗中晚期原发性肝癌的临床疗效 [ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015, 22( 6 ): 760-764. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.06.014.
- [ 18 ] HIROISHI K, EGUCHI J, BABAA T, et al. Strong CD8( + ) T-cell responses against tumor-associated antigens prolong the recurrence-free interval after tumor treatment in patients with hepatocellular carcinoma [ J ]. *J Gastroenterol*, 2010, 45( 4 ): 451-458. DOI: 10.1007/s00535-009-0155-2.
- [ 19 ] HARUYAMA Y. Glypican-3 is a prognostic factor and an immunotherapeutic target in hepatocellular carcinoma [ J ]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22( 1 ): 275-283. DOI: 10.3748/wjg.v22.i1.275.
- [ 20 ] WANG H, FENG F, WANG X P, et al. Dendritic cells pulsed with Hsp70 and HBxAg induce specific antitumor immune responses in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma [ J ]. *Mol Med Rep*, 2015. DOI: 10.3892/mmr.2015.4654.
- [ 21 ] HARDING J J, EI DIKA I, ABOU-ALFA G K. Immunotherapy in hepatocellular carcinoma: primed to make a difference? [ J ]. *Cancer*, 2015. DOI: 10.1002/cncr.29769.

[ 收稿日期 ] 2015 - 12 - 14

[ 修回日期 ] 2016 - 01 - 10

[ 本文编辑 ] 党瑞山