

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.014

· 临床研究 ·

## 自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 联合化疗治疗晚期肺腺癌的疗效

杨佳, 顾国民, 王秀丽, 李晓琴, 展翼翼, 刘春玲(新疆医科大学附属肿瘤医院 肺内科二病区, 新疆 乌鲁木齐 830011)

**[摘要]** **目的:** 探讨自体肿瘤抗原致敏树突状细胞-细胞因子诱导的杀伤细胞(dendritic cell-cytokine induced killer cell, DC-CIK)联合化疗治疗晚期肺腺癌的临床疗效和安全性。**方法:** 选取2013年1月至2013年12月在新疆医科大学附属肿瘤医院治疗的120例晚期肺腺癌患者,60例行自体肿瘤抗原致敏DC-CIK联合化疗(联合组),60例行单纯化疗(化疗组),评价两组患者治疗后免疫功能、毒副反应、临床疗效、生活质量、无进展生存期和总生存期。**结果:** 联合组治疗前后外周血T细胞亚群无明显变化( $P > 0.05$ ),而化疗组治疗后外周血中 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 细胞百分比明显低于治疗前,且较联合组显著下降( $P < 0.05$ );联合组较化疗组的恶心呕吐、Ⅲ-Ⅳ度骨髓抑制发生率均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );联合治疗组患者治疗后体力、食欲、睡眠较单纯化疗组改善明显( $P < 0.05$ )。联合组和化疗组患者的无进展生存期比较差异无统计学意义(6个月 vs 4.5个月,  $P > 0.05$ ),联合组患者的总生存期较化疗组患者长(16个月 vs 11.5个月,  $P < 0.05$ )。**结论:** 自体肿瘤抗原致敏DC-CIK联合化疗较单纯化疗治疗晚期肺腺癌,可明显改善患者由于化疗毒性导致的免疫功能降低,提高患者生活质量,延长总生存,减轻不良反应,提高总体疗效。

**[关键词]** 肺腺癌;自身抗原;树突状细胞-细胞因子诱导的杀伤细胞(DC-CIK);过继细胞免疫治疗;化疗

**[中图分类号]** R734.2; R730.54

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2016)01-0083-06

## Clinical effectiveness of autologous tumor antigen-pulsed dendritic cell-cytokine induced killer cells combined with chemotherapy in treatment of advanced lung adenocarcinoma

YANG Jia, GU Guomin, WANG Xiuli, LI Xiaoqin, ZHAN Yiyi, LIU Chunling( The Second Wards' Department of Pulmonary Internal Medicine, The Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang, China )

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the clinical efficacy and safety of autologous tumor antigen-pulsed DC-CIK ( dendritic cell-cytokine induced killer cell ) combined with chemotherapy in treatment of advanced lung adenocarcinoma. **Methods:** 120 patients with advanced lung adenocarcinoma treated in the Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University from Jan 2013 to December 2013 were selected in this study; 60 patients were treated with autologous tumor antigen-pulsed DC-CIK combined with chemotherapy ( combination group ), the other 60 patients were treated with chemotherapy only ( chemotherapy group ); the immune function, curative effect, adverse reactions, quality of life ( QOL ), progression free survival ( PFS ) and overall survival ( OS ) after treatment were separately evaluated in the two groups . **Results:** Compared to the values of pre-treatment, there was no significant difference in peripheral blood T cell subsets in combination group (  $P > 0.05$  ); Compared to pre-treatment value, the post-treatment percentage of  $CD3^+$ ,  $CD3^+CD4^+$ ,  $CD3^+CD8^+$  and  $CD3^-CD56^+$  in peripheral blood decreased significantly in chemotherapy group, and it was significant lower than that of combination group (  $P < 0.05$  ); the incidences of nausea and vomiting, Ⅲ-Ⅳ degree myelosuppression in combination group were less than that of chemotherapy group, and the difference was statistically significant (  $P <$

**[基金项目]** 吴阶平医学基金会资助项目( No. 320675012239 ),新疆医科大学科研创新基金资助项目( No. XYDCX201485 )。Project supported by Wu Jieping Medical Foundation( No. 320675012239 ), and the Xinjiang Medical University Scientific Research Innovation Foundation( No. XYDCX201485 )。

**[作者简介]** 杨佳( 1982 - ),女,新疆乌鲁木齐人,硕士,主治医师,主要从事肿瘤生物治疗临床研究, E-mail: 16558290@qq.com

**[通信作者]** 刘春玲( LIU Chunling, corresponding author ), E-mail: liudeyouxiang66@sina.com

0.05); after treatment, compared with chemotherapy group, the combination of sleep, appetite and physical strength in combination group was significantly improved ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in PFS between combination group and chemotherapy group (6 months vs 4.5 months,  $P > 0.05$ ), however, the OS of combination group was longer than that of chemotherapy group (16 months vs 11.5 months,  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Autologous tumor antigen-pulsed DC-CIK combination with chemotherapy, compared with chemotherapy alone, can obviously optimize the immune function of the patients, improve their life quality, reduce the adverse reactions, prolonged overall survival periods, and improve the overall curative effects.

[ **Key words** ] lung adenocarcinoma; autoantigens; dendritic cell-cytokine induced killer cell (DC-CIK); adoptive immunocyto therapy; chemotherapy

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23(1): 83-88. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.014 ]

我国每年新增约 80 万非小细胞肺癌患者,其中肺腺癌的发病率逐年上升。目前,晚期肺腺癌患者的主要治疗方案为以铂类为主的化疗,以及基于表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因突变的靶向治疗,但较低的突变率限制了其受益群体,患者的 5 年生存率不到 15%<sup>[1]</sup>,因此,如何提高患者的生存时间及生活质量已成为治疗晚期肺腺癌的主要目标。目前肿瘤的免疫治疗发展迅速,它通过激活患者免疫系统获得持久高效的免疫反应,延长了患者的生存时间<sup>[2-3]</sup>。树突状细胞(dendritic cell, DC)是机体内唯一能激活初始 T 淋巴细胞的专职抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),处于免疫应答的中心环节,因此诱导 DC 参与免疫应答为治疗晚期肺腺癌提供了新的方向。抗原致敏的 DC 疫苗在治疗前列腺癌、恶性黑色素瘤及肾癌的临床研究中已取得了可喜的疗效<sup>[4-5]</sup>。细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine induced killer cell, CIK)兼具 T 淋巴细胞强大的抗肿瘤活性和 NK 细胞的非 MHC 限制性杀瘤优点,能直接和间接对体内的癌细胞进行杀伤。将负载肿瘤抗原的 DC 与 CIK 细胞共培养,不但可促进 CIK 细胞增殖,并增强其抗肿瘤的能力。且 DC 和 CIK 能促进化疗药物的抗肿瘤作用,提高免疫系统对肿瘤的杀伤力<sup>[6-7]</sup>。本研究应用自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 联合化疗治疗晚期肺腺癌患者 60 例,对比单纯化疗肺腺癌患者 60 例,旨在评价自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 联合化疗治疗晚期肺腺癌的临床疗效及安全性。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例资料

选取 120 例新疆医科大学附属肿瘤医院 2013 年 1 月至 2013 年 12 月经病理学或细胞学检查确诊的 IIIb 及 IV 期肺腺癌患者。纳入标准:肺部至少有一个  $\geq 1.0$  cm 的肿瘤病灶,年龄 16 岁以上, ECOG

评分为 0 或 1,肝功能、肾功能基本正常,无中枢神经系统转移,白细胞计数  $> 3.5 \times 10^9/L$ ,血小板计数  $> 100 \times 10^9/L$ ,预计生存期为 3 个月以上,肿瘤生长部位具有取材的可行性,患者能够接受自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 治疗。本研究通过新疆医科大学附属肿瘤医院伦理委员会批准,所有患者均签署了知情同意书。入组患者随机分为两组:60 例为自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 联合化疗(联合组),60 例为单纯化疗(化疗组)。治疗前两组基线资料,如性别、吸烟史、年龄、病理分期、ECOG 评分、EGFR 状态等方面差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ) (表 1)。截至 2015 年 3 月 31 日,联合组均完成 4 个周期的自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 治疗。

表 1 两组晚期肺腺癌患者的一般临床特征比较 [n( % )]

Tab.1 Comparison of the baseline clinical feature of patients lung adenocarcinoma in two groups [n( % )]

Parameters	N	Combination therapy	Chemotherapy	P
Gender				
Male	54	28( 46.67 )	26( 43.33 )	0.646
Female	66	32( 53.33 )	34( 56.67 )	
Smoking history				
Yes	41	21( 35 )	20( 33.33 )	
No	79	39( 65 )	40( 66.67 )	0.698
Median age ( t/a )		55.5	57.2	
TNM stage				
IIIb	51	25( 41.67 )	26( 43.33 )	0.784
IV	69	35( 58.33 )	34( 56.67 )	
ECOG grade				
0	54	26( 43.33 )	28( 46.67 )	0.646
1	66	34( 56.67 )	32( 53.33 )	
EGFR mutation				
Positive	40	19( 31.67 )	21( 35 )	0.608
Negative	80	41( 68.33 )	39( 65 )	

## 1.2 肺腺癌细胞的分离及肿瘤抗原制备

将联合组患者在 CT 定位下经皮穿刺活检所得不少于 2 g 新鲜肺癌组织(经病理学检查明确为肺腺癌),用 0.9% 生理盐水洗涤 2 次后,研磨成浆,经胶原酶 IV 消化后制成细胞悬液( $1 \times 10^6$  个/ml)。应用淋巴细胞分离液,分离获得自体肺癌细胞。将所得细胞加入含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液作原代培养,获得满足实验所需细胞数后,将肿瘤细胞在  $-80^\circ\text{C}$  冰箱中冷冻然后复温至  $37^\circ\text{C}$ ,如此反复冻融 3 次,再于冰浴中超声波破碎,离心( $300 \times g$ , 5 min)收集上清液,用孔径为  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜过滤灭菌,最后  $-80^\circ\text{C}$  保存,作为抗原备用<sup>[8]</sup>。

## 1.3 自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 细胞的培养

采集联合组患者外周静脉血 50 ml,生理盐水 1:1 稀释混匀,应用人淋巴细胞分离液,采用密度梯度离心法获得 PBMC 细胞,加生理盐水洗涤两次;将沉淀细胞接种于 20 ml X-VIVO15 培养液中,静置于  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中,使细胞贴壁生长,2 h 后将悬浮细胞(CIK 细胞)吸出悬于 50 ml 培养液中,加入 1 000 U/ml  $\text{IFN-}\gamma$ ,培养箱中培养;将贴壁细胞(DC 细胞)加入 50 ml 培养液,IL-4(500 U/ml),GM-CSF(1 000 U/ml),培养箱中培养。CIK 细胞:第 1 天补加 CD3 单抗(50 ng/ml),以后每隔 3 d 补加培养液及 IL-2(1 000 U/ml)至第 7 天;DC 细胞:隔天半量换液并补加 IL-4(500 U/ml),GM-CSF(1 000 U/ml),第 5 天同时加入终浓度为  $5 \mu\text{g/ml}$  的自体肺腺癌裂解物,培养至第 7 天,将自体肿瘤抗原致敏的 DC 细胞加入 CIK 细胞中,继续培养至第 14 天收集细胞给患者一次性回输。回输前取样送检流式进行细胞亚群分析。

## 1.4 化疗方案

两组患者同样选用 AP 化疗方案,具体用药为培美曲塞  $500 \text{ mg/m}^2$ ,第 1 天;顺铂  $75 \text{ mg/m}^2$ ,第 1 天;21 d 为 1 个治疗周期,2 周期后评价疗效。联合治疗组:患者均为化疗前采集外周静脉血,采血后当日行 AP 方案化疗,细胞培养 14 d 后一次性回输给患者。21 d 为 1 个周期 2 周期后评价疗效。入组患者联合治疗及化疗至少 4 个周期。

## 1.5 疗效评判

(1)免疫状态评价:依据 T 细胞亚群检测评价患者免疫功能,包括总 T 细胞( $\text{CD3}^+$ )、辅助性 T 细胞( $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ )、杀伤性 T 细胞( $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ )、NK( $\text{CD3}^-\text{CD56}^+$ )、CIK( $\text{CD3}^+\text{CD56}^+$ )。上述指标于治疗前及 4 周期治疗后检测并评价。

(2)近期疗效评价:按 RECIST 评价标准,每 2

周期评价一次。分完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、稳定(stable disease, SD)和进展(progressive disease, PD)。以 CR + PR 计算有效率(RR),以 CR + PR + SD 计算疾病控制率(disease control rate, DCR)。

(3)远期疗效评价:电话随访至 2015 年 3 月 31 日,记录患者的复发时间、远处转移、生活质量和生存情况。首要研究终点为死亡,次要研究终点为病情进展,比较两组患者总生存期(overall survival, OS)以及无进展生存期(progression-free survival, PFS)。

(4)不良反应及生活质量评价:按 NCI《急性和亚急性毒性反应的表现和分度标准》评判化疗毒副作用。参照《肺癌患者生活质量评估测量表》比较两组患者治疗前后生活质量,挑选其中与化疗和细胞免疫治疗密切相关的:抑郁、体力、睡眠、食欲、体质,进行治疗前后评估。

## 1.6 统计学处理

采用 SPSS15.0 软件进行统计学分析,检测数据以  $\bar{x} \pm s$  表示;计数资料比较采用  $\chi^2$  检验,生存分析采用 Log-Rank 法比较,以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 DC-CIK 联合化疗后改善了患者由化疗导致的免疫功能下降

比较治疗前后,联合组和化疗组患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化,结果显示:治疗后联合组  $\text{CD3}^+$ 、 $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ 、 $\text{CD3}^-\text{CD56}^+$  及  $\text{CD3}^+\text{CD56}^+$  较治疗前有所升高,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而化疗组治疗后外周血中  $\text{CD3}^+$ 、 $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ 、 $\text{CD3}^-\text{CD56}^+$  细胞百分率比较治疗前明显下降( $P < 0.05$ );并且联合组和化疗组两组间治疗后比较,化疗组  $\text{CD3}^+$ 、 $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ 、 $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ 、 $\text{CD3}^-\text{CD56}^+$  细胞比例也明显低于联合组( $P < 0.05$ )(表 2)。由此可见,化疗的毒副作用削弱了晚期肺腺癌患者的免疫状态,而肿瘤抗原致敏 DC-CIK 细胞治疗可以显著改善由化疗导致的免疫功能下降。

### 2.2 DC-CIK 联合化疗后改善了患者生活质量

每周期治疗完成后对两组患者抑郁、体力、睡眠、食欲、体质等生活质量观察随访,结果显示在体力、食欲、睡眠方面联合组较化疗组不良反应小( $P < 0.01$ )。由此得出,自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 联合化疗治疗晚期肺腺癌患者在一定程度上可以改

善因化疗毒副反应或病情本身引起的体力匮乏, 并且可改善患者的食欲及睡眠质量(表3)。

表2 两组晚期肺腺癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化(  $\bar{x} \pm s, \%$  )

Tab.2 Changes of T cell subsets in peripheral blood of patients with lung adenocarcinoma in two groups (  $\bar{x} \pm s, \%$  )

Groups	CD3 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>
Combination therapy					
Pre-therapy	66.09 ± 15.28	38.64 ± 9.55	24.91 ± 8.69	6.28 ± 3.76	3.73 ± 3.18
Post-therapy	70.54 ± 12.84*	39.51 ± 12.82*	28.78 ± 8.36*	7.71 ± 4.94*	7.35 ± 2.63
Chemotherapy					
Pre-therapy	68.03 ± 14.12	38.57 ± 10.81	27.45 ± 7.45	6.79 ± 4.73	4.16 ± 3.49
Post-therapy	51.64 ± 10.61 <sup>△</sup>	32.25 ± 13.46 <sup>△</sup>	19.83 ± 9.77 <sup>△</sup>	4.38 ± 4.08 <sup>△</sup>	1.82 ± 1.34

\*  $P < 0.05$  vs chemotherapy group; <sup>△</sup> $P < 0.05$  vs pre-therapy

表3 两组晚期肺腺癌患者治疗后的生活质量比较(  $n$  )

Tab.3 Life quality of patients with lung adenocarcinoma after therapies in two groups (  $n$  )

Groups	Despondent	Physical decline	Poor sleep	Loss of appetite	Mass loss
Combination therapy	11	9*	11*	14*	10
Chemotherapy	17	29	23	37	16

\*  $P < 0.05$  vs chemotherapy group

### 2.3 DC-CIK 联合化疗的不良反应用

对联合组患者进行安全性评价, 结果显示: 细胞回输后 12 h 内出现高热、寒战者 1 例, 经对症治疗后缓解, 1 例出现面部、四肢皮疹, 给予抗过敏治疗 3 d 后缓解, 无其他严重不良反应。见表 4。

表4 两组患者出现的不良反应[  $n( \%)$  ]

Tab.4 Side effects of patients with lung adenocarcinoma in two groups[  $n( \%)$  ]

Groups	III-IV degree of bone marrow suppression	Nausea and vomiting	Diarrhea
Combination therapy	4( 6.67 )*	22( 36.67 )*	4( 6.67 )
Chemotherapy	9( 15 )	33( 55 )	7( 11.67 )

\*  $P < 0.05$  vs chemotherapy group

### 2.4 DC-CIK 联合化疗组肺腺癌患者 PFS 及 OS 评价

DC-CIK 联合组中位随访时间为 16 个月( 5 ~ 21 个月), 6 人至今健在, 4 人因电话长期无人接听或空号而失访; 化疗组中位随访时间 11 个月( 5 ~ 18 个月), 2 人健在, 3 人失访。联合组患者的 PFS 在 2

~ 10 个月之间, 中位 PFS 为 6 个月; 化疗组患者的 PFS 在 2 ~ 7 个月之间, 中位 PFS 为 4.5 个月。两组患者 PFS 比较差异无统计学意义(  $\chi^2 = 2.899, P = 0.089$  ) ( 图 1 )。

联合组患者的 OS 在 6 ~ 21<sup>+</sup> 个月之间, 中位数为 16 个月; 化疗组患者的 OS 在 6 ~ 17<sup>+</sup> 个月, 中位数为 11.5 个月。两组患者 OS 比较差异有统计学意义(  $\chi^2 = 24.406, P = 0.000$  ) ( 图 2 )。

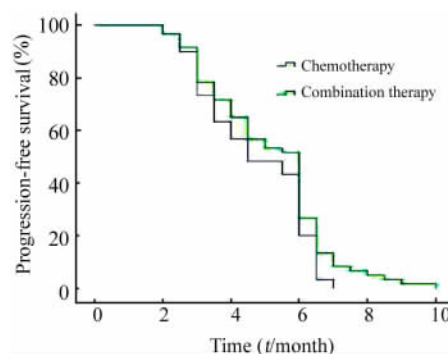


图1 两组晚期肺腺癌患者 PFS 曲线  
Fig.1 PFS curves of patients with lung adenocarcinoma in two groups

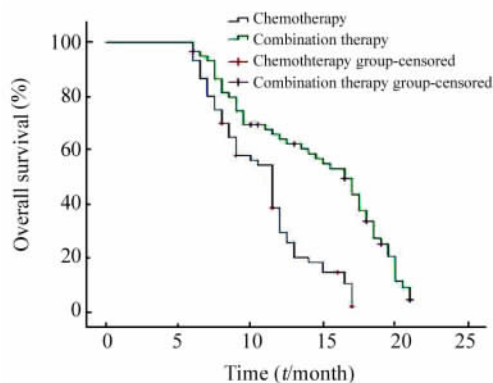


图2 两组晚期肺腺癌患者 OS 曲线

Fig.2 OS curves of patients with lung adenocarcinoma in two groups

### 3 讨论

众所周知,晚期恶性肿瘤治愈的可能性微乎其微,特别是肺癌、晚期非小细胞肺癌的5年生存率低于15%,预后差。因此对于患者来说治疗的最大夙愿一方面是尽可能延长其生存时间,另一方面在有限的生存期内尽量保证生活质量和生活自理能力。化疗虽然在延长患者生存期方面疗效显著,但其副作用大使患者苦不堪言,甚至部分患者因不能耐受而放弃治疗。

树突状细胞作为最强大的抗原提呈细胞,可以最有效地提呈肿瘤抗原,诱导机体产生杀伤反应。抗原或抗原修饰处理 DC 是 DC 疫苗具有特异性杀瘤活性的关键环节。DC 进入肿瘤组织后,便在趋化因子和某些敏感的化学因子的影响下定向迁徙。浸入肿瘤组织的 DC 在肿瘤中的分布情况也存在异质性,几乎全部的报道都提示肿瘤浸润的 DC 数量越多,患者的预后越好。龚选举等<sup>[9]</sup>报道,浸入肿瘤组织的 DC 的数量与患者5年生存率呈正相关。本实验采用自体肺腺癌细胞反复冻融制成抗原致敏 DC,肿瘤反复冻融后是细胞裂解物,为多价抗原,含有很多未被发现的重要肿瘤表位,且此次采用患者自身肿瘤细胞,较肿瘤细胞株制备的抗原更能体现特异性和个体化治疗,提升 DC 细胞的识别能力。本次实验将自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 与化疗联合用于治疗晚期肺腺癌患者,各项评价指标均证实了联合治疗在延长患者生存期和减低不良反应两方面的有效性。

外周血 T 细胞亚群是反映体内细胞免疫状态的重要指标,本研究显示化疗组患者治疗后 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> 细胞比率较治

疗前均有下降,而联合组患者治疗前后 T 细胞亚群无明显变化,由此得出,自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 与化疗联合能控制由化疗导致的免疫功能降低。Shebzukhov 等<sup>[10]</sup>报道,化疗毒性可使细胞免疫抑制加重,出现 CD3<sup>+</sup> T 细胞数量下降,NK 细胞活性减弱。由于自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 可释放多种细胞因子,如 IL-2、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  等,不仅对肿瘤细胞有抑制作用,还可通过调节免疫系统间接杀伤肿瘤细胞,降低肿瘤的复发和转移<sup>[11]</sup>。

评价细胞免疫治疗的疗效,患者的无进展生存期和总生存期应作为评价的最主要指标<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,联合组 OS 较化疗组 OS 延长了 4.5 个月,且差异有统计学意义。但研究中,虽然联合组较化疗组 PFS 有延长,但统计学没有明显差异,出现这样的结果分析原因可能是因为:过继性免疫治疗与细胞毒性化疗药物在作用机制上有本质的区别,前者的治疗目标在于恢复、重建机体免疫系统对肿瘤细胞的监视作用,后者治疗的目标在于清除肿瘤细胞。由于细胞免疫治疗先涉及一种免疫反应动力学的建立,然后才有患者肿瘤负荷和生存期的变化<sup>[13]</sup>,所以其疗效反应时效上与化疗难以相提并论。同时选用 RECIST 评价标准时,也许会对其治疗效果的误判<sup>[14]</sup>。

从生活质量看,联合治疗组患者在体力、食欲、睡眠方面均好于单纯化疗组;恶心呕吐、III-IV 度骨髓抑制等不良反应发生率也明显低于单纯化疗组。由此得出,自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 与化疗联合治疗不但延长了患者生存期,且能保证较好的生活质量和自理能力,这正是实现了目前晚期肿瘤患者的普遍夙愿。

今后需要从如下方面进行探寻:(1)从病例的选择上扩大样本量后再从 EGFR 基因是否突变以及病理分期上进行更细化的分层研究;(2)有研究报道,过继性免疫治疗联合化疗对早期非小细胞肺癌患者获益更显著<sup>[15]</sup>,下一步我们将尝试选择早期肺腺癌患者,观察术后联合自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 的临床疗效;(3)对比自体肿瘤抗原致敏 DC-CIK 与非致敏 DC-CIK 和 CIK 在抗肿瘤疗效上的差别,并深入探讨其作用机制。

### [参考文献]

- [1] ZHANG Y W, LI R M, ZHANG X W, et al. Current adoptive immunotherapy in non-small cell lung cancer and potential influence of therapy outcome [J]. Cancer Invest, 2013, 31(3): 197-205. DOI: 10.3109/07357907.2013.775294.
- [2] TUCKER Z C, LAGUNA B A, MOON E, et al. Adjuvant immuno-

- therapy for non-small cell lung cancer [ J ]. *Cancer Treat Rev*, 2012, 38( 6 ): 650-661. DOI: 10.1016/j.ctrv.2011.11.008.
- [ 3 ] MELLMAN I, COUKOS G, DRANOFF G. Cancer immunotherapy comes of age [ J ]. *Nature*, 2011, 480( 7378 ): 480-489. DOI: 10.1038/nature10673.
- [ 4 ] EUBEL J, ENK A H. Dendritic cell vaccination as a treatment modality for melanoma [ J ]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2009, 9( 11 ): 1631-1642. DOI: 10.1586/era.09.139.
- [ 5 ] BERNTSEN A, TREPIAKAS R, WENANDY L, et al. Therapeutic dendritic cell vaccination of patients with metastatic renal cell carcinoma: a clinical phase 1/2 trial [ J ]. *J Immunother*, 2008, 31( 8 ): 771-780. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181833818.
- [ 6 ] RAMAKRISHNAN R, GABRILOVICH D I. Mechanism of synergistic effect of chemotherapy and immunotherapy of cancer [ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60( 3 ): 419-423. DOI: 10.1007/s00262-010-0930-1. Epub 2010 Oct 26.
- [ 7 ] RICHARDS L. Chemotherapy: conventional chemotherapy boosts the effect of cancer vaccines [ J ]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7( 6 ): 297-305. DOI: 10.1038/nrclinonc.2010.73.
- [ 8 ] 李可, 吕章春, 陈海祥, 等. 抗原致敏 DC 诱导 CIK 细胞对肺癌细胞的杀伤作用 [ J ]. *肿瘤学杂志*, 2008, 14( 4 ): 310-314. DOI: 1671-170X( 2008 )04-0310-04.
- [ 9 ] 龚选举, 阎玉虎, 吴建平. 树突状细胞在肺癌组织中的浸润及其影响 [ J ]. *中华结核和呼吸杂志*, 2000, 23: 478-479. DOI: 10.3760/j.issn:1001-0939.2000.08.012.
- [ 10 ] SHEBZUKHOV Y V, KOROLEVA E P, KHLGATION S V. Humoral immune response to thymidylate synthase in colon cancer patients after 5-fu chemotherapy [ J ]. *Immunol Lett*, 2005, 100( 1 ): 88-93. DOI: 10.1016/j.imlet.2005.06.011.
- [ 11 ] OOSTERWIJK E, DIVGI C, BANDER N H. Active and passive immunotherapy: vaccines and antibodies [ J ]. *BJU Int*, 2007, 99( 5 ): 1301-1304. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2007.06835.x.
- [ 12 ] 任秀宝. 关于肿瘤免疫治疗疗效评价的思考 [ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18( 1 ): 7-10. DOI: 10.3872/j.issn:1007-385X.2011.01.002.
- [ 13 ] WOLCHOK J D, HOOS A, O' DAY S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15( 23 ): 7412-7420. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1624.
- [ 14 ] 张斌, 陈虎. 肿瘤免疫细胞治疗的质量管理和疗效评价 [ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015, 22( 1 ): 8-15. DOI: 10.3872/j.issn:1007-385X.2015.01.002
- [ 15 ] 郑雅文, 李润美, 魏枫, 等. 过继免疫治疗联合放疗治疗非小细胞肺癌的 Meta 分析 [ J ]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2013, 20( 4 ): 461-467. DOI: 10.3872/j.issn:1007-385X.2013.04.014
- [ 收稿日期 ] 2015 - 09 - 26 [ 修回日期 ] 2015 - 12 - 22
- [ 本文编辑 ] 党瑞山

· 科技动态 ·

## NLRP6 调节肠道抗病毒天然免疫效应

核苷酸结合寡聚化结构域( nucleotide-binding oligomerization domain, NOD )样受体含有的 pyrin 结构域蛋白 6( nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 6, NLRP6 ), 其分子有 3 个主要结构域, 即 N 端的 Pyrin 结构域、中部的 NOD 结构域和 C 端的亮氨酸富集重复结构域( leucine-rich repeat domain, LRR )。NLRP6 在肠道中高表达在维持肠道微生物稳态和抗细菌免疫方面发挥重要作用, 但在肠道病毒感染过程中作用仍未知, 作者应用脑心肌炎病毒( encephalomyocarditis virus, EMCV )感染模型对其展开研究。

首先, 通过腹膜下注射 EMCV 感染小鼠, 作者发现 NLRP6 缺陷的小鼠和野生型小鼠的死亡率差异不大, 但前者肠道病毒的负荷量高于后者, 说明 NLRP6 在肠道内发挥着抑制 EMCV 复制的重要作用。接着作者又分别给 Nlrp6 缺陷的小鼠和野生型小鼠口服感染 EMCV, 发现 NLRP6 缺陷的小鼠死亡率及血液中的病毒量均更高, 说明 NLRP6 在肠道具有促进抗病毒免疫的效应。考虑到肠道菌群的变化和炎性小体激活受到抑制可能影响了 NLRP6 缺陷小鼠控制肠道 EMCV 感染, 作者在感染 EMCV 前先将 NLRP6 缺陷的小鼠和野生型小鼠( WT )共培养 4 周, 以平衡其肠道菌群差异, 结果发现, NLRP6 缺陷的小鼠死亡率及血液中的病毒量仍显著高于 WT 小鼠, 说明菌群差异并不影响 NLRP6 缺陷小鼠的死亡率。继而又以 EMCV 感染 Caspase-1 缺陷小鼠, 发现 caspase-1 缺陷小鼠和 WT 的存活率基本相同, 说明 NLRP6 不通过 caspase-1 控制 EMCV 的感染。

进一步研究 NLRP6 产生抗病毒效应的分子机制, 质谱分析发现了 NLRP6 的相互作用分子 RNA 解螺旋酶 Dhx15, 提示 NLRP6 通过 Dhx15 结合病毒 RNA, 而并不与病毒 DNA 结合。用合成的 RNA 类似物进行试验, 发现 NLRP6 倾向于结合长链聚肌苷酸胞苷酸 Poly I:C。NLRP6-Dhx15 复合体识别病毒 RNA 后, 通过与线粒体抗病毒信号蛋白( MAVS )相互作用诱导产生 I 型和 III 型干扰素和干扰素激活相关基因 ISG, 说明 NLRP6 与 Dhx5 作为 RNA 病毒识别受体诱导 ISG, 并且在肠道内这种效应相当重要。最后, 作者证实 NLRP6 本身就是 ISG, 在病毒感染后能被 IFN 信号诱导上调表达。

综上, 该文结果说明了 NLRP6 在肠道通过与 Dhx15 相互作用触发 MAVS 依赖的抗病毒反应, 从而控制肠道病毒感染, 这个过程并不依赖炎性小体, 提示了 NLRP6 功能的多样性, 也说明其在机体对抗不同病原体过程中均发挥重要作用。

该研究的创新性主要在于: 第一次发现 NLRP6 具有抗病毒效应; 有明确的分子机制, 即通过结合 Dhx15 直接识别病毒 RNA, 下游通过 MAVS 诱导 I 型和 III 型干扰素产生, 且这个过程并不依赖于炎性小体及维甲酸诱导基因 RIG-I 信号, 说明 NLRP6 作用的多样性。

[ 李天亮 摘译, 韩超峰 审阅. WANG P, ZHU S, YANG L, et al. *Science*, 2015, 350( 6262 ): 826-830. DOI: 10.1126/science.aab3145 ]