

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.03.018

· 临床研究 ·

结肠癌患者 CME 术后化疗联合 DC-CIK 细胞免疫治疗的临床疗效和安全性

王铁¹, 韩锦胜¹, 韩亚妹¹, 马新杰¹, 孙智广¹, 于景超¹, 蔡建辉² (1. 河北省沧州市中西医结合医院 肿瘤外科, 河北沧州 061001; 2. 河北省人民医院 普外科, 河北石家庄 050051)

[摘要] **目的:** 探讨结肠癌患者完整结肠系膜切除 (complete mesocolic excision, CME) 术后化疗联合 DC-CIK 细胞免疫治疗的临床疗效和安全性。**方法:** 收集 2012 年 6 月至 2013 年 12 月河北省沧州中西医结合医院肿瘤外科的 82 例 III 期结肠癌患者, 随机分为两组, 均接受 CME 手术。单纯化疗组 ($n=42$) 采用 CapeOX 方案, 给予 6 周期化疗; DC-CIK 细胞免疫治疗联合化疗组 (联合治疗组, $n=40$) 除采用 CapeOX 方案化疗外, 同时给予负载自身肿瘤抗原的 DC 肿瘤疫苗和细胞因子诱导的杀伤细胞 (CIK) 进行细胞免疫治疗。观察两组患者治疗前后 CEA 的变化、细胞免疫指标 (外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺、CD56⁺ 及 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺Treg 细胞的百分比)、治疗期间的药物毒副作用以及比较两组 2 年肿瘤复发率。**结果:** 两组患者术后 2 周 CEA 数值较术前均有明显下降 ($P<0.05$)。两组患者治疗前、后及术后 1 年的 CEA 数值差异无统计学意义 ($P>0.05$)。单纯化疗组术后 2 年的 CEA 数值与治疗组及与联合治疗组相比均明显升高 (均 $P<0.05$)。单纯化疗组化疗后 CD8⁺ 和 Treg 细胞的百分比明显下降 ($P<0.05$), 余指标变化无统计学意义。联合治疗组治疗后 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺、CD3⁺CD56⁺ 细胞的百分比显著提高 ($P<0.05$), Treg 细胞的百分比明显下降 ($P<0.05$)。联合治疗组患者的骨髓抑制、恶心呕吐、腹泻、外周神经毒性及手足综合征等药物毒副作用的发生率均明显降低 (均 $P<0.05$)。单纯化疗组的 2 年肿瘤复发率为 23.81%, 联合治疗组为 7.5%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论:** DC-CIK 细胞免疫治疗联合化疗可以提高结肠癌患者术后的机体免疫功能, 改善生活质量, 减少化疗药物的毒副作用, 并明显降低肿瘤 2 年的复发率。

[关键词] 完整结肠系膜切除术; 结肠癌; 化疗; 树突状细胞; 细胞因子诱导的杀伤细胞

[中图分类号] R735.3; R730.51

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)03-0397-06

Clinical effects and safety of chemotherapy combined with DC-CIK in treatment of colon cancer patients after complete mesocolic excision

WANG Tie¹, HAN Jinsheng¹, HAN Yamei¹, MA Xinjie¹, SUN Zhiguang¹, YU Jingchao¹, CAI Jianhui² (1. Department of Oncological Surgery, Cangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Hebei Province, Cangzhou 061001, Hebei, China; 2. Department of General Surgery, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the safety and clinical effects of chemotherapy combined with dendritic cells and cytokine-induced killer cells (DC-CIKs) in the treatment of colon cancer patients after complete mesocolic excision (CME). **Methods:** The present study enrolled 82 patients with colon cancer (stage III) who underwent CME in the Department of Surgery, Cangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Hebei Province between June 2012 and December 2013. The patients were randomly divided into chemotherapy group and combined therapeutic group. Chemotherapy group consisted of 42 cases, who received 6 cycles of chemotherapy with the protocol of CapeOX. Combined therapeutic group consisted of 40 cases, who were given DC loaded with autologous tumor antigen and autologous CIK cells, in addition to the same chemotherapeutical protocol. The changes in carcino-embryonic antigen

[基金项目] 河北省卫生厅青年科技基金资助项目 (No. 1020140135); 沧州市科技支撑计划资助项目 (No. 131302194)。Project supported by the Science and Technology Foundation for Youths from Health Department of Hebei Province (No. 1020140135), and the Science and Technology Support Project of Cangzhou City (No. 131302194)

[作者简介] 王铁 (1980 -), 男, 河北省沧州市人, 硕士, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的临床治疗, E-mail: melodyofsea@163.com; 韩锦胜 (1984 -), 男, 河北省沧州市人, 博士生, 主治医师, 主要从事肿瘤生物治疗的基础与临床研究, E-mail: hjs5888@163.com

[通信作者] 蔡建辉 (CAI Jianhui, corresponding author), E-mail: jianhuicai2001@163.com

(CEA), cellular immune indicators (percentage of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD56⁺, and CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ Treg in peripheral blood) and side effects of drugs were recorded, and the 2-year recurrence rate of both groups were compared. **Results:** The values of CEA decreased significantly at 2 weeks after the procedures in both groups ($P < 0.05$). There were no differences in the values of CEA before and after the treatment as well as 1 year after surgery in both groups ($P > 0.05$). The values of CEA at 2 years after surgery in chemotherapy group were notably higher than those of post-treatment and those of combined therapeutic group (both $P < 0.05$). The proportion of CD8⁺ and Tregs was reduced significantly after the treatment in chemotherapy group ($P < 0.05$), and other indicators showed no significant differences. The proportion of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺ and CD3⁺ CD56⁺ was increased markedly ($P < 0.05$), whereas the proportion of Tregs was reduced significantly after the treatment in the combined therapeutic group ($P < 0.05$). Fewer side effects (including bone marrow suppression, nausea and vomiting, diarrhea, peripheral nerve toxicity and hand-foot syndrome) were observed in the combined therapeutic group, as compared with the chemotherapy group (all $P < 0.05$). The 2-year recurrence rates in the chemotherapy group and the combined therapeutic group were 23.81% and 7.5%, respectively, with significant difference between two groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** Sequential DC injection and autologous CIK cells transfusion combined with chemotherapy may improve the therapeutic effect in colon cancer patients with CME surgery by enhancing the autoimmune function. Therefore, it can improve the life quality, reduce side effects caused by drugs and more importantly, reduce the 2-year recurrence rate.

[**Key words**] complete mesocolic excision; colon cancer; chemotherapy; dendritic cell; cytokine-induced killer cell

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(3): 397-402. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.03.018]

结肠癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤,手术切除治疗或辅助放化疗是目前结肠癌的主要治疗方法,但术后的肿瘤复发和转移仍然是影响结肠癌预后的主要危险因素。随着手术技术的提高,完整结肠系膜切除(complete mesocolic excision, CME)手术的开展提高了结肠癌患者5年的存活率15%^[1]。一项综合了18个临床试验共20 898名结肠癌患者资料的分析结果表明,2年或3年无病生存是结肠癌术后以5-FU为基础辅助化疗临床试验的合适的研究终点^[2]。该分析的近期更新结果^[3]表明,绝大多数的肿瘤患者于术后2年内复发,而术后5年和8年的复发率仅分别为<1.5%/年和<0.5%/年。近些年,实体肿瘤生物治疗的临床应用为肿瘤患者提供了一种较为有效的治疗。DC是专职的抗原提呈细胞,通过摄取、加工和提呈抗原,激活初始T细胞产生抗原特异性免疫应答^[4]。CIK是外周血来源的单个核细胞经过多种细胞因子体外刺激而培养出一群具有强大抗肿瘤活性的细胞。已有研究^[5-6]发现,CIK和同源的DC共培养后其抗肿瘤活性较单纯CIK更强大。本研究选择采用CME手术的Ⅲ期结肠癌患者,并联合化疗及DC-CIK细胞免疫综合治疗,观察患者机体的免疫功能、治疗期间的毒副作用及治疗后肿瘤远期复发情况,探索一种有效的治疗模式,为结肠癌患者的综合治疗提供临床依据。

1 材料与方法

1.1 临床资料

收集2012年6月至2013年12月河北省沧州中西医结合医院肿瘤外科接受CME手术的82例Ⅲ期结肠癌患者,随机分为两组。单纯化疗组($n = 42$)采用CapeOX方案,共给予6周期化疗;DC-CIK细胞免疫治疗联合化疗组(联合治疗组, $n = 40$)除了采用CapeOX方案化疗外,同时采用患者自体外周血来源的单个核细胞经体外诱导分化培养出DC肿瘤疫苗和CIK细胞进行细胞免疫治疗。DC肿瘤疫苗在患者双侧腹股沟淋巴结附近皮下注射,DC-CIK细胞经静脉回输治疗。82例患者中男性47例,女性35例;年龄35~73岁,中位年龄56岁。其中右半结肠癌与左半结肠各41例,高分化腺癌17例,中-低分化腺癌65例。根据AJCC7th分期,均为Ⅲ期结肠癌患者。两组性别、年龄、肿瘤病理差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经河北省沧州中西医结合医院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。纳入标准:(1)术前有病理检查证实为结肠癌;(2)首次接受手术治疗并行CME手术;(3)术前未接受过全身化疗和放射治疗;(4)接受治疗前患者均无明显肿瘤复发和转移证据。排除标准:(1)有严重心脏病,包括近期内患心肌梗塞、失代偿性心力衰竭、严重心律失常、顽固性不稳定型心绞痛等;(2)严重肝肾功能不全者;(3)近期内患有急性脑出血者;(4)严重哮喘或其他严重呼吸功能不全者;(5)术前辅助检查或术后病理证实有远处转移的患者;(6)术前确诊有同时性或异时性双癌,多发癌的患者。

1.2 肿瘤细胞裂解物的制备

1.2.1 肿瘤组织的留取 手术后在切除的肿瘤标本上切取肿瘤组织块,大小约 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$,选取部位不能取肿瘤组织与正常组织交界处,不取坏死液化区域的组织块,用含有庆大霉素盐水反复冲洗3遍,最后放入无菌瓶中,并加入庆大霉素注射液 8 万单位浸泡,标记患者信息并登记,放入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存。

1.2.2 全肿瘤细胞抗原的制备 将冻存的肿瘤组织,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴箱复温融化后用 1640 培养基反复冲洗3遍,剪碎组织块置于 200 目网塞上,用磨砂玻璃棒研磨组织,并用 1640 培养基进行冲洗,收集冲洗液快速冷冻至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$,然后 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴复温, $1\ 500 \times g$ 离心 15 min,收集上清液即为全肿瘤细胞抗原,冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 度冰箱备用。

1.3 DC 肿瘤疫苗及 CIK 细胞的制备

患者采取外周血前 1 天,给予重组人粒细胞集落刺激因子 $200\ \mu\text{g}$ 皮下注射,动员骨髓造血,抽取患者外周血 $80\sim 100\text{ ml}$,肝素抗凝,用人淋巴细胞分离液采用 Ficoll 梯度离心法分离并收集单个核细胞;用 RPMI 1640 洗涤 3 次,将细胞按 2×10^6 个/ml 悬浮于 RPMI 1640 完全血清培养基中,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 5% CO_2 孵箱中培养 $2\sim 4\text{ h}$,贴壁细胞作为 DC 进行培养,悬浮细胞及培养液吸出加到新的培养瓶中作为 CIK 细胞培养。DC 细胞培养加入 DC 培养基(含 GM-CSF 50 ng/ml , IL-4 20 ng/ml ,庆大霉素 40 U/ml),每 2 d 换液 1 次,培养第 6 天加入 rhTNF(15 ng/ml)及肿瘤细胞裂解物(全抗原成分),继续培养 24 h 后,收集 DC 即为成熟的负载全肿瘤抗原的 DC 肿瘤疫苗,生理盐水洗涤后,分为两部分,一大部分混入 1% 人血白蛋白配成 2 ml/支 的肿瘤疫苗,给予患者双侧腹股沟淋巴结附近皮下注射;另一小部分混入 CIK 细胞共同培养后回输治疗。CIK 细胞培养加入 $1\text{ FN-}\gamma$ ($1\ 000\text{ U/ml}$)、IL-2(500 U/ml),在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 5% CO_2 孵箱中培养 24 h;1 d 后加入抗 CD3 单克隆抗体($100\ \mu\text{g/L}$)、IL-15(10 U/ml)继续培养;每 3 d 更换培养基(不含 $1\text{ FN-}\gamma$)并调整细胞浓度为 $2 \times 10^6/\text{ml}$ 。在第 10 天时取共培养细胞行流式细胞术检测,微生物检查阴性后,用生理盐水洗 3 次,混入 1% 人血白蛋白配成 200 ml/支 的 DC-CIK 细胞静脉回输治疗。

1.4 治疗方案

单纯化疗组采用 CapeOX 方案,具体为:第 1 天奥沙利铂 130 mg/m^2 静脉输注,第 1~14 天卡培他滨片 $1\ 000\text{ mg/m}^2$ 每天分 2 次口服,休息 7

d;3 周重复治疗,共进行 6 个周期。联合治疗组除采用上述相同的化疗方案外,于化疗前及第 3、6 个疗程后各行 DC-CIK 细胞治疗一个疗程。CIK 细胞治疗每次输注细胞数约为 1×10^9 个,每天输注 1 次,连续 5 d 为一个疗程,每个疗程输注 CIK 细胞约 5×10^9 个。每次细胞回输后应用 100 万 U IL-2 注射液静脉点滴。DC 行腹股沟淋巴结附近皮下注射,每个疗程 3 次,每个疗程输注的成熟 DC 总数为 $3\sim 5 \times 10^8$ 个。

1.5 观察指标与患者随访

1.5.1 外周血 CEA 的变化情况 分别取患者术前、术后 2 周,治疗前后,术后 1 年和 2 年的血液标本,观察 CEA 数值变化情况。

1.5.2 外周血免疫指标的检测 分别采取两组患者治疗前后的外周血,流式细胞术检测 $\text{CD}3^+$ 、 $\text{CD}4^+$ 、 $\text{CD}8^+$ 、 $\text{CD}19^+$ 、 $\text{CD}56^+$ 的细胞百分比及 Treg 细胞的变化情况。

1.5.3 观察两组患者治疗期间的安全性及化疗药物的毒副作用情况 观察指标主要包括骨髓抑制、肝功能异常、恶心呕吐、腹泻、外周神经毒性及手足综合征的情况,以及回输细胞治疗期间有无过敏、发热等不良反应。

1.5.4 随访观察两组患者的疾病进展情况 治疗期间及治疗结束后定期复查血常规、肝肾功能、肿瘤标志物及结肠镜、腹部 B 超、螺旋 CT(必要时行 PET-CT 检查),以了解肿瘤复发、转移等情况;比较两组患者 2 年复发率。随访时间从 2013 年 7 月起至 2015 年 12 月止,以患者术后达到 24 个月为标准。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计学软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以率表示,两组间比较采用 t 检验,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血肿瘤标记物 CEA 的变化

检测两组患者外周血 CEA 的变化情况(表 1)显示,与术前相比,两组结肠癌患者术后 2 周 CEA 数值均明显下降(均 $P < 0.05$)。2 组患者治疗前、治疗后及术后 1 年的 CEA 值比较无统计学意义。单纯化疗组术后 2 年的 CEA 值与治疗前相比明显升高($P < 0.05$)。联合治疗组术后 2 年的 CEA 值与单纯化疗组相比明显降低($P < 0.05$)。

表1 两组患者 CEA 的变化[$\rho_B/(\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1})$]

Tab.1 Changes of CEA in the two groups of patients [$\rho_B/(\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1})$]

Time	Chemotherapy	Combined therapeutic
Pre-surgery	26.2 ± 23.5	25.8 ± 22.6
2 weeks post-surgery	5.5 ± 4.9*	5.8 ± 5.2*
Pre-treatment	4.6 ± 2.6	4.7 ± 2.8
Post-treatment	3.2 ± 1.7	2.6 ± 2.4
1 a post-treatment	4.9 ± 4.2	3.2 ± 2.4
2 a post-treatment	10.6 ± 5.8 [△]	5.4 ± 4.3 [▲]

* $P < 0.05$ vs pre-surgery; [△] $P < 0.05$ vs post-treatment;

[▲] $P < 0.05$ vs chemotherapy group

2.2 外周血淋巴细胞亚群的变化

免疫指标的检测结果(表2)显示,与治疗前相比,单纯化疗组化疗后 CD8⁺ 的百分率和 Treg 细胞的百分率明显下降;联合治疗组治疗后 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺、CD3⁺CD56⁺ 的细胞百分率显

著升高($P < 0.05$), Treg 细胞的百分率明显下降($P < 0.05$)。提示 DC-CIK 细胞免疫治疗可以提高化疗期间患者的免疫功能。

2.3 联合治疗组化疗相关毒副反应和术后 2 年的肿瘤复发率明显降低

对两组患者治疗期间进行安全性评价结果(表3)显示,联合治疗组在双侧腹股沟皮下注射 DC 肿瘤疫苗后,出现注射部位皮肤红斑 3 例,考虑过敏反应,给予抗过敏治疗后均消退。DC-CIK 细胞回输期间及回输后出现发热反应 5 例,体温最高 38.9℃,给予退热处理后均在 12 h 内恢复正常。细胞回输期间无过敏反应、肝肾功能无明显异常、未见毛细血管渗漏及肿瘤溶解综合征表现。与单纯化疗组相比,联合治疗组在骨髓抑制、恶心呕吐、腹泻、外周神经毒性及手足综合征的发生率均明显降低(均 $P < 0.05$)。结果提示,DC-CIK 细胞免疫治疗可以明显降低化疗的毒副作用。

表2 两组患者治疗前后外周血淋巴细胞亚群的变化(%)

Tab.2 Changes of lymphocyte subsets in peripheral blood from the two groups of patients before and after treatment (%)

Index	Chemotherapy		Combined therapeutic	
	Pre-treatment	Post-treatment	Pre-treatment	Post-treatment
CD3 ⁺	66.27 ± 9.25	62.38 ± 8.86	65.82 ± 10.23	78.41 ± 3.42*
CD4 ⁺	28.76 ± 8.34	29.18 ± 8.21	29.51 ± 7.76	41.12 ± 5.86*
CD8 ⁺	36.16 ± 6.21	27.34 ± 5.32*	36.02 ± 7.11	48.26 ± 4.32*
CD19 ⁺	7.63 ± 4.02	7.82 ± 4.58	7.71 ± 4.10	9.28 ± 3.17*
CD3 ⁺ CD56 ⁺	1.12 ± 0.36	1.00 ± 0.41	1.20 ± 0.92	4.25 ± 0.86*
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺	12.83 ± 1.46	5.36 ± 1.58*	12.16 ± 1.55	4.68 ± 1.35*

* $P < 0.05$ vs pre-treatment

两组患者在结束治疗后定期复查并随访,通过血液指标、影像学检查及病理学检查结果显示:单纯化疗组有 10 例患者复发(23.81%),32 例患者维持无瘤状态。在联合治疗组中有 3 例患者复发(7.50%),37 例患者维持无瘤状态。两组差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果表明,在规律化疗周期中序贯联合 DC-CIK 细胞免疫治疗能够显著降低患者术后 2 年内的肿瘤复发率。

3 讨论

结肠癌目前首选手术治疗,手术切除能减少肿瘤负荷,根治性手术同时清扫淋巴结,对预防术后的复发转移至关重要。CME 的手术要点就是沿着肿

瘤区域淋巴结回流路径完整切除脏层筋膜内的结肠系膜组织,清扫更多的淋巴结数目。本研究在对 CME 术和传统结肠癌根治术短期疗效的比较中得出 CME 术较传统结肠癌根治术清扫淋巴结效果更彻底,有效地减少了遗漏阳性淋巴结的风险,未增加术中及术后并发症的发生率^[7]。West 等^[8]分析 49 例接受 CME 术患者与 40 例传统结肠癌根治术患者,发现切除结肠系膜面积越大越完整者,清扫淋巴结数目越多。Hohenberger 等^[9]对 1 329 例接受结肠癌根治术的患者进行大样本的临床资料分析显示,CME 术能够降低结肠癌局部复发率而且能提高总体存活率。国内学者^[10]的综述中也指出 CME 术能够延长生存期和降低肿瘤复发率。本研究采用

CME 手术后的Ⅲ期结肠癌患者作为研究对象, 以期望 CME 术后联合化疗和细胞免疫治疗能提高Ⅲ期结肠癌患者的生存时间、降低患者肿瘤复发率。

表 3 两组患者化疗相关毒副反应情况(n)

Tab. 3 Side effects of chemotherapy in the two groups(n)

Side effects	Chemotherapy	Combined therapeutic
Bone marrow suppression	36	15*
Liver dysfunction	9	10
Nausea and vomiting	31	12*
Diarrhea	18	8*
Peripheral nerve toxicity	14	5*
Hand-foot syndrome	21	9*

* $P < 0.05$ vs chemotherapy group

2015 年 NCCN 结肠癌治疗指南中指出结肠癌术后应常规进行 CEA 的检测。70% ~ 90% 的结肠癌患者 CEA 明显升高。CEA 检测是结肠癌术后复发的敏感度较高的指标。手术完全切除肿瘤的患者 CEA 一般会在 6 周恢复正常水平, 术后有肿瘤残留或转移者, 可见 CEA 下降, 但不恢复正常, 姑息手术的患者一般呈持续上升趋势。本研究中发现两组结肠癌患者术前 CEA 的数值均有明显的升高, 术后 2 周 CEA 数值明显下降($P < 0.05$)。两组患者治疗前、治疗后及术后 1 年的 CEA 数值比较无明显差异。单纯化疗组术后 2 年的 CEA 数值与治疗前相比有升高趋势($P < 0.05$)。联合治疗组术后 2 年的 CEA 数值与单纯化疗组相比有统计学意义($P < 0.05$)。在随访过程中, 部分患者出现了 CEA 数值的升高, 可能是体内部分肿瘤生长增殖伴随后期复发转移的征象。DC-CIK 细胞免疫联合治疗组 2 年的 CEA 数值维持在低水平, 提示细胞免疫治疗在一定程度上控制肿瘤的生长。

近几年肿瘤的免疫治疗成为恶性肿瘤治疗的热点。目前应用广泛的和报道较多的是 DC-CIK 细胞免疫治疗。理想的 DC 肿瘤疫苗选用患者自身的肿瘤细胞作为抗原更具有针对性, 本研究中均为术后患者, 术后取得肿瘤组织作为抗原可以制作个体化的肿瘤疫苗, 因此能够更好地传递肿瘤信息。一项原发性肝细胞癌 I 期临床试验研究^[11], 采用自体肿瘤组织冻融后的肿瘤细胞裂解物修饰自体的 DC 治疗 31 例进展期肝细胞癌, 结果有效率达 67.6%, 表明肿瘤细胞裂解物致敏 DC 治疗进展期肝细胞癌具有一定的有效性和安全性。外周血的 CD3⁺、

CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺、CD56⁺ 的变化是反映机体特异性和非特异性细胞免疫功能的重要指标, 其中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 主要是 T 细胞的标志物, CD19⁺ 是 B 细胞的表面标记, CD3⁺ CD56⁺ 是 NKT 细胞的标记物。CD8⁺ T 细胞是肿瘤免疫中发挥主要作用的效应细胞。正常情况下, 抗原提呈细胞如 DC 可以提供双刺激信号给 CD8⁺ T 细胞并使其激活, 然后大量聚集在肿瘤部位, 发挥特异性细胞毒效应, 能够释放细胞毒性物质, 如释放穿孔素破坏细胞膜, 颗粒酶进入靶细胞降解 DNA 或通过表达 FasL 与靶细胞的 Fas 结合, 促使细胞凋亡; 也可以分泌 TNF- α 、TNF- β 和 IFN- γ 等细胞因子发挥免疫效应。CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞是一种负性调节抑制性细胞, 在肿瘤微环境中发挥着重要作用, 可以诱导产生免疫耐受或免疫逃逸, 促使肿瘤的生长、复发及远处转移。研究发现小剂量或循环剂量的环磷酰胺、5-FU 等化疗药物可以选择性删除 Treg 细胞, 有良好的免疫诱导作用。本研究通过检测两组患者治疗前后血液免疫学指标发现与治疗前相比, 单纯化疗组 CD8⁺ 及 Treg 细胞的百分率明显下降, 其余免疫指标变化不明显。而联合治疗组治疗后 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺、CD3⁺ CD56⁺ 的细胞百分率显著提高, Treg 细胞的百分率明显下降($P < 0.05$)。提示序贯 DC-CIK 细胞免疫治疗可明显提高化疗期间患者免疫功能。单纯化疗组 CD8⁺ T 细胞及 Treg 细胞的百分率下降可能与化疗方案中卡培他滨化疗药的使用有关。孙伟红等^[12]对 158 例胃癌术后的患者行 DC-CIK 细胞免疫治疗前和治疗 1 ~ 4 个疗程的外周血进行 Treg 细胞的百分率检测, 发现接受 3 个疗程以上的 75 例患者的 Treg 细胞的百分率较治疗前明显下降, 而接受 2 个疗程以下的 83 例患者 Treg 细胞的百分率无明显变化。本研究中联合治疗组序贯给予 3 个疗程的 DC-CIK 细胞免疫治疗, Treg 细胞的百分率明显下降。

结肠癌术后的辅助化疗所引起的副作用也是临床常见的问题。采用 CapeOX 方案化疗, 最常见的副作用有骨髓抑制、肝功能异常、恶心呕吐、腹泻、外周神经毒性及手足综合征, 严重影响患者的生活质量。本研究发现, 与单纯化疗组相比, 联合治疗组在骨髓抑制、恶心呕吐、腹泻、外周神经毒性及手足综合征的发生率均明显降低($P < 0.05$)。陈芬等^[13]在对 DC-CIK 联合化疗加靶向治疗对晚期结肠癌的临床疗效观察中发现, DC-CIK 联合化疗加靶向治疗组的毒副反应(包括骨髓抑制、恶心呕吐和周围神经毒性)明显轻于化疗加靶向治疗组, 治疗后体力

和食欲有明显改善。

结肠癌术后的肿瘤复发和远期生存期也是重点关注的问题,由于结肠癌术后大多数会在2年内复发^[3],本研究随访观察了两组患者2年的肿瘤复发率,经过治疗后两组患者均存活,单纯化疗组有10例复发,复发率23.81%,而联合治疗组中有3例复发,复发率7.5%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果表明在规律化疗周期中序贯联合DC-CIK细胞免疫治疗能够降低术后2年内的肿瘤复发率。有报道^[14]在对200例Ⅱ、Ⅲ期结肠癌根治术后患者进行为期3年的随访,共54例患者出现复发,复发率为27%。应敏刚等^[15]报道了结直肠癌根治术后放化疗联合DC-CIK细胞免疫治疗的3年无病生存率为43.1%,对照组未联合DC-CIK细胞免疫治疗的无病生存率仅为27.5%,说明了DC-CIK细胞免疫治疗的临床有效性。郑劼等^[16]在对142例晚期结直肠癌患者的DC-CIK细胞治疗的临床研究结果显示,1年生存率为47%,2年生存率为31%,3年生存率为31%,经过细胞免疫治疗后外周血免疫指标及CEA水平均无明显变化。考虑晚期肿瘤患者的机体呈严重的免疫抑制状态,肿瘤无法切除,体内肿瘤负荷过大,限制了细胞免疫治疗的作用。

本临床研究结果表明,采用CME术的结肠癌患者术后联合化疗及DC-CIK细胞免疫治疗可改善患者的免疫功能,增强机体自身抗肿瘤免疫效应,同时本研究联合治疗组患者2年复发率明显低于单纯化疗组,提示结肠癌患者规律化疗,可联合细胞免疫治疗,对有复发高危因素的肿瘤患者有较好的预防作用,本研究结果对控制肿瘤的远期复发和转移,对临床患者的治疗选择有一定的指导意义。

[参考文献]

- [1] 叶颖江, Hohenberger W, 王杉. 结肠癌完整结肠系膜切除—规范化质量控制手术的趋势[J]. 中国实用外科杂志, 2011, 31(6): 470-472.
- [2] SARGENT D J, WIEAND H S, HALLER D G, et al. Disease-free survival versus overall survival as a primary end point for adjuvant colon cancer studies: individual patient data from 20,898 patients on 18 randomized trials [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(34): 8664-8670.
- [3] SARGENT D, SOBRERO A, GROTHEY A, et al. Evidence for cure by adjuvant therapy in colon cancer: observations based on individual patient data from 20,898 patients on 18 randomized trials [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(6): 872-877. DOI:10.1200/JCO.2008.19.5362.
- [4] KARTIK S, KAVITA M D, MADHAV V D. Targeting human dendritic cells in situ to improve vaccines [J]. Immunol Lett, 2014, 162(100): 59-67. DOI:10.1016/j.imlet.2014.07.004.
- [5] WANG Y L, WANG Y L, MU H, et al. Enhanced specific antitumor immunity of dendritic cells transduced with the glypican 3 gene and co-cultured with cytokine-induced killer cells against hepatocellular carcinoma cells [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(5): 3361-3367. DOI:10.3892/mmr.2015.3239.
- [6] SHAN C C, SHI L R, DING M Q, et al. Cytokine-induced killer cells co-cultured with dendritic cells loaded with the protein lysate produced by radiofrequency ablation induce a specific antitumor response [J]. Oncol Lett, 2015, 9(4): 1549-1556. DOI:10.3892/ol.2015.2977.
- [7] 王铁, 叶颖江, 韩亚妹, 等. 完整结肠系膜切除术与传统结肠癌根治术短期疗效的比较 [J]. 中华胃肠外科杂志, 2013, 16(3): 264-267. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2013.03.016.
- [8] WEST N P, HOHENBERGER W, WEBER K, et al. Complete mesocolic excision with central vascular ligation produces an oncologically superior specimen compared with standard surgery for carcinoma of the colon [J]. J Clin Oncol, 2010, 28(2): 272-278. DOI:10.1200/JCO.2009.24.1448. Epub 2009 Nov 30.
- [9] HOHENBERGER W, WEBER K, MATZEL K, et al. Standardized surgery for colon cancer: complete mesocolic excision and central ligation—technical notes and outcome [J]. Colorectal Dis, 2009, 11(4): 354-364. DOI:10.1111/j.1463-1318.2008.01735.x.
- [10] ZHENG M H, ZHANG S, FENG B. Complete mesocolic excision: lessons from anatomy translating to better oncologic outcome [J]. World J Gastrointest Oncol, 2016, 8(3): 235-239. DOI:10.4251/wjgo.v8.i3.235.
- [11] LEE W C, WANG H C, HUNG C F, et al. Vaccination of advanced hepatocellular carcinoma patients with tumor lysate-pulsed dendritic cells: a clinical trial [J]. J Immunother, 2005, 28(5): 496-504.
- [12] 孙伟红, 魏晓芳, 赵鹏, 等. 胃癌患者DC-CIK治疗前后外周血Treg细胞及相关因子的变化 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2015, 22(1): 79-83. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2015.1.014.
- [13] 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. DOI:10.3969/j.issn.1672-4992.2015.12.17.
- [14] 李更蛟. Ⅱ、Ⅲ期结肠癌根治术后肿瘤复发转移情况及其危险因素分析 [J]. 疾病监测与控制杂志, 2015, 9(4): 270-272.
- [15] 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. DOI:10.3969/j.issn.1001-5930.2010.03.016.
- [16] 郑劼, 江龙委, 姚露, 等. DC-CIK细胞治疗晚期结直肠癌的临床疗效 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2015, 22(4): 459-464. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2015.04.009.

[收稿日期] 2015-12-20 [修回日期] 2016-03-15
[本文编辑] 阮芳铭