

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.01.013

DC-CIK 细胞治疗晚期转移性鼻咽癌的疗效

江龙委¹, 贾蒙^{2△}, 黄伟谦¹, 姚露¹, 胡建华¹, 贾绍昌¹ (1. 解放军第八一医院 肿瘤生物治疗科, 江苏 南京 210002; 2. 南京中医药大学 药学院, 南京 210023)

[摘要] **目的:** 评价 DC-CIK 细胞治疗晚期转移性鼻咽癌患者的疗效。**方法:** 回顾性分析 2011 年 8 月至 2015 年 6 月解放军第八一医院肿瘤生物治疗科行 DC-CIK 细胞治疗的 29 例晚期转移性鼻咽癌患者。观察 DC-CIK 细胞治疗前后患者的疗效、安全性及 EB 病毒 VCA-IgA 抗体水平和淋巴细胞亚群的变化。**结果:** 29 例鼻咽癌患者经 DC-CIK 细胞治疗后客观缓解率为 0, 疾病控制率为 65.5%, 中位生存时间为 42 个月, 1~4 年生存率都为 68.0%, 无严重不良反应。治疗后 29 例患者的外周血 EB 病毒 VCA-IgA 抗体显著低于治疗前 [30.88 ± 3.91] U/ml vs [49.86 ± 5.02] U/ml, $P < 0.05$]。经细胞治疗后 CD8⁺ T 细胞显著上升 ($P < 0.05$)、CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比值显著下降 ($P < 0.05$)。**结论:** DC-CIK 细胞治疗转移性鼻咽癌安全、可行, 能产生一定的临床获益。

[关键词] 树突状细胞; 细胞因子诱导的杀伤细胞; 转移性鼻咽癌; 细胞免疫治疗

[中图分类号] R730.51; R739.62 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)01-0064-04

Curative efficacy of DC-CIK cells on the patients with advanced metastatic nasopharyngeal carcinoma

JIANG Longwei¹, JIA Meng^{2△}, HUANG Weiqian¹, YAO Lu¹, HU Jianhua¹, JIA Shaoshang¹ (1. Department of Tumor Biotherapy, the 81st Hospital of PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China; 2. College of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the curative efficacy of DC-CIK cells on the patients with advanced metastatic nasopharyngeal carcinoma. **Methods:** Twenty nine patients with advanced metastatic nasopharyngeal carcinoma treated with DC-CIK cells in Department of Tumor Biotherapy, the 81st Hospital of PLA during August 2011 to June 2015 were retrospectively analyzed. Changes of EB virus VCA-IgA antibody level and lymphocyte subsets before and after DC-CIK cells treatment, as well as its curative efficacy and safety were observed. **Results:** After the treatment with DC-CIK cells, the objective remission rate of the 29 patients was 0, disease control rate of the patients was 65.5%, media survival time of the patients was 42 months, and the 1-4 years survival rates were 68.0% for all. All the patients had no serious adverse reactions. EB virus VCA-IgA antibody in peripheral blood of the patients after the treatment was significantly lower than that before the treatment ([30.88 ± 3.91] U/ml vs [49.86 ± 5.02] U/ml, $P < 0.05$). After the treatment with DC-CIK cells, CD8⁺ T cells numbers were obviously increased ($P < 0.05$) with the ratio of CD4⁺/CD8⁺T significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** DC-CIK cells immunotherapy for the patients with advanced metastatic nasopharyngeal carcinoma might be safe and feasible, and could produce some clinical efficacy.

[Key words] dendritic cell; cytokine-induced killer (CIK) cell; metastatic nasopharyngeal carcinoma; cellular immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(1): 64-67. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.01.013]

[基金项目] 南京军区医学科技创新资助项目(No. 14MS052)。Project supported by Program of Medical Science and Technology Innovation of Nanjing Military Area Command(No. 14MS052)

[作者简介] 江龙委(1987-),男,硕士,主要从事肿瘤免疫学和肿瘤生物治疗的临床与基础研究, E-mail: jianglw2005@163.com; 贾蒙(1983-),男,本科生,主要从事临床制药研究工作, E-mail: 297764517@qq.com。△共同第一作者

[通信作者] 贾绍昌(JIA Shaoshang, corresponding author),博士,主任医师,博士生导师,主要从事肿瘤的综合治疗研究, E-mail: jiashaochang@163.com

鼻咽癌是发生于鼻咽部黏膜处的常见恶性肿瘤,其发病带有明显的地域及性别特征^[1]。由于其解剖部位较深、解剖结构复杂,早期鼻咽癌不易被发现,约有 70% 的患者在确诊时已经为晚期^[2]。早期鼻咽癌首选放射治疗,晚期鼻咽癌主要采用放化疗结合的治疗方法^[3]。虽然传统的治疗方法取得了一定的治疗效果,但对于远处转移的鼻咽癌患者疗效有限。近年来,鼻咽癌的细胞免疫治疗越来越受到人们的关注。DC-CIK 细胞是国内应用最多的免疫细胞。DC 是目前发现的功能最强的抗原提呈细胞,能提呈肿瘤抗原给 T 细胞,启动抗肿瘤特异性免疫反应^[4,5];CIK 细胞是体外诱导培养的一群异质性细胞,具有广谱抗肿瘤作用^[6,7]。本课题组已经报道 DC-CIK 细胞联合治疗局部晚期和晚期胰腺癌患者以及晚期结直肠癌患者,可产生一定的临床获益^[8,9]。因此,本研究的目的是观察 DC-CIK 联合治疗转移性晚期鼻咽癌患者的临床疗效及免疫功能的变化。

1 材料与方法

1.1 临床资料

回顾性分析 2011 年 8 月至 2015 年 6 月在解放军第八一医院肿瘤生物治疗科进行自体 DC-CIK 细胞治疗的 29 例晚期鼻咽癌患者;其中,男性 21 例,女性 8 例;年龄 35 ~ 65 岁,中位年龄 50 岁;转移情况:骨转移 6 例,肺转移 6 例,多发转移 17 例;DC-CIK 细胞治疗前其他治疗情况:手术后放疗治疗 2 例,手术后放疗 + 化疗 5 例,未手术放疗 + 化疗 22 例;放化疗疗程:1 ~ 3 个疗程 24 例,4 ~ 6 个疗程 2 例,7 个疗程以上 3 例。病例纳入标准:所有病例均经组织病理学确诊为鼻咽癌,按国际抗癌联盟 (UICC) 及美国肿瘤联合会 (AJCC) 联合制定的 TNM 分期标准均为 IV 期鼻咽癌患者,有远处转移或在锁骨以下有皮肤或淋巴结的受累;Karnofsky 功能状态评分 (Karnofsky performance status, KPS) ≥ 60 分;年龄为 18 ~ 80 岁;其他治疗结束至首次细胞治疗间隔 4 周以上。病例排除标准:年龄 ≤ 18 岁;怀孕或哺乳期妇女;器官功能衰竭者;器官移植者;严重自身免疫性疾病患者;不可控制的感染性疾病;对本治疗中所用的生物试剂过敏者;无法抽取血液的肿瘤患者;精神疾病者。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。

1.2 主要试剂与仪器

淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物制品科技有

限公司;rhGM-CSF 购自厦门特宝生物工程股份有限公司;IL-4、TNF- α 购自 Peprotech 公司,X-VIVO 培养液为美国 LONZA 公司产品;anti-CD3 mAb 及 GT-T551 培养液均购自北京宝日医生物技术有限公司。COM. TEC 血细胞分离机购自德国 Fresenius 公司。

1.3 DC 及 CIK 细胞的制备及表型测定

按常规方法^[9]制备 DC 与 CIK 细胞。根据细胞扩增数量、状态及成熟度于第 9 ~ 21 天检测表型后分 3 次收集细胞用于回输。29 例患者 DC 及 CIK 细胞的表型见表 1。

表 1 鼻咽癌患者 DC 及 CIK 细胞的表型 (n = 29, %)

Tab. 1 The phenotype of DC and CIK cells of 29 nasopharyngeal cancer patients (n = 29, %)

DC		CIK	
Phenotype	Ratio	Phenotype	Ratio
HLA-DR ⁺	92.32 \pm 7.12	CD3 ⁺	91.77 \pm 14.24
CD11c ⁺	91.02 \pm 8.16	CD3 ⁺ CD4 ⁺	18.72 \pm 5.44
CD80 ⁺	89.08 \pm 6.57	CD3 ⁺ CD8 ⁺	57.34 \pm 7.78
CD83 ⁺	89.12 \pm 9.58	CD3 ⁻ CD56 ⁺	5.71 \pm 1.45
CD86 ⁺	93.93 \pm 7.47	CD3 ⁺ CD56 ⁺	18.61 \pm 4.45
CD54 ⁺	91.35 \pm 7.48		

1.4 细胞免疫治疗方案

DC 治疗方案:在单个核细胞采集结束后第 7、14、21、28 天回输给患者,回输方式为皮下注射(双侧锁骨下区、双侧腋窝及双侧腹股沟淋巴结引流区),回输量 4.24 ~ 68.34 $\times 10^7$ 个/L。CIK 细胞治疗方案:CIK 细胞成熟后分 3 次静脉回输,回输量 3.88 ~ 81.44 $\times 10^9$ 个/L。以 4 次 DC 及 3 次 CIK 治疗为 1 个治疗周期。

1.5 患者免疫功能及 EB 病毒 VCA-IgA 抗体的检测

在治疗前及治疗后 1 个月内检测外周血淋巴细胞亚群及 EB 病毒指标 VCA-IgA 抗体的变化。

1.6 随访及疗效评价

对每位患者进行随访,最长随访时间为 46 个月。在患者接受完最后 1 次细胞治疗 1 个月进行临床疗效评估,在治疗后 3 个月再次评估,之后每 3 ~ 6 个月复查评估。近期疗效评估按实体瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST)进行评价,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),患者至少 4 周以后进行疗效确认。以 CR + PR 计算客观缓解率(objective response rate, ORR),以 CR + PR + SD 计算疾病控制率(disease control rate, DCR)。总生存时间(overall survival, OS)是从细胞治疗到死亡或随访截止日期的时间。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,同一样本治疗前后比较采用配对 *t* 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 DC-CIK 细胞治疗的疗效

29 例鼻咽癌患者经 DC-CIK 细胞治疗后无 CR 及 PR, 19 例 SD, 10 例 PD; ORR 为 0, DCR 为 65.5%。8 例患者治疗后外周血 EB 病毒 VCA-IgA 抗体上升, 21 例下降; 治疗后 EB 病毒 VCA-IgA 抗体为显著低于治疗前 [(30.88 ± 3.91) U/ml vs (49.86 ± 5.02) U/ml, $P < 0.05$]。

2.2 DC-CIK 细胞治疗外周血后淋巴细胞亚群的变化

29 例鼻咽癌患者治疗后 CD8⁺ T 细胞较治疗前显著上升($P < 0.05$), CD4⁺/CD8⁺ T 细胞之比较治疗前显著下降($P < 0.05$)(表 2)。

表 2 29 例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 of 29 patients pre- and post-treatment(%)

Lymphocyte subset	Pre-treatment	Post-treatment	<i>t</i>	<i>P</i>
CD3 ⁺	54.28 ± 13.96	60.03 ± 16.09	-2.558	0.051
CD4 ⁺	24.53 ± 8.52	21.78 ± 7.76	0.916	0.402
CD8 ⁺	26.08 ± 10.12	34.83 ± 12.09*	-3.804	0.013
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.03 ± 0.41	0.66 ± 0.19*	2.789	0.038
CD3 ⁺ CD56 ⁺	21.53 ± 10.94	18.30 ± 8.35	0.928	0.396
CD4 ⁺ CD25 ⁺	2.87 ± 1.06	2.63 ± 1.71	0.262	0.804

* $P < 0.05$ vs pre-treatment

2.3 DC-CIK 细胞治疗患者的总生存期

29 例鼻咽癌患者随访时间为 4 ~ 46 个月, 中位随访时间为 11 个月。截止 2015 年 12 月随访中止, 共有 8 例患者死亡(2 例为 SD 患者, 6 例为 PD 患者), 4 例患者死于多器官功能衰竭, 3 例死于呼吸循环衰竭, 1 例死于感染。29 位患者中位生存时间为 42 个月, 1 ~ 4 年生存率均为 68.0%。

2.4 DC-CIK 细胞治疗的不良反应少

29 例鼻咽癌患者行 DC-CIK 细胞治疗过程中, 有 2 例在细胞回输后出现畏寒和发热, 对症处理后恢复正常。所有不良反应均未达 3 ~ 4 级。

3 讨论

远处转移是鼻咽癌治疗失败的主要原因。对于转移性鼻咽癌, 目前临床上采用的一线化疗方案是铂类联合氟尿嘧啶、紫杉类或吉西他滨。Li 等^[10]使用卡培他滨联合顺铂治疗 48 例转移性鼻咽癌, 结果显示中位 SD 和 OS 分别为 7.7 和 13.3 个月。除细胞毒性药物外, 靶向治疗也是转移性鼻咽癌的一种治疗方法。Chan 等^[11]开展的一项多中心临床研究显示, 60 例晚期鼻咽癌患者(86% 具有远处转移)在接受了西妥昔单抗治疗后仅获得 2.7 个月的中位无进展生存期和 7.8 个月的 OS, 虽然结果不理想, 但西妥昔单抗的优点在于适用性广、KPS 评分很差的患者也能使用。本研究使用 DC-CIK 细胞治疗转移性鼻咽癌, 结果显示 29 例患者中无 CR 及 PR, 19 例 SD, 10 例 PD, ORR 为 0, DCR 为 65.5%。本研究中 ORR 仅为 0, 与化疗相比较差, 但本研究 29 例患者中 28 例为放疗后进展或无法耐受放疗的患者, 仅 1 例患者为放疗后拒绝化疗。本研究的临床反应与既往 DC 治疗实体瘤的临床试验类似。Chia 等^[12]使用 DC 治疗 16 例进展期转移性鼻咽癌, 结果显示无 CR, 1 例 PR, 2 例 SD。Meta 分析显示^[13-15], 在 170 多项 DC 治疗实体瘤的临床试验中, 总体的 ORR 不超过 5%。但在部分实体瘤中, DC 显示出较好的临床反应率。如 Andreas 等^[16]综述了肾癌的 12 项临床试验, 结果显示 166 例肾癌患者中 ORR 为 12.7%, DCR 为 48%。除近期临床疗效外, 本研究显示出较好的远期效应, 29 例患者中位生存时间为 42 个月, 1 ~ 4 年生存期都为 68.0%, 优于前述化疗效果。

EB 病毒是鼻咽癌的肿瘤标志物, 血清中 EB 病毒的含量与肿瘤负荷相关^[17]。本研究结果显示, 经 DC-CIK 细胞治疗后, 血清中 EB 病毒含量显著下降, 说明 DC-CIK 细胞治疗能使患者受到一定的临床获益。

除临床反应外, 免疫反应也是本研究的观察指标之一。本研究结果显示, 治疗后 CD8⁺ T 细胞较治疗前上升显著, CD4⁺/CD8⁺ T 细胞之比值较治疗前有显著性下降, 其余淋巴细胞无变化。既往的研究^[18]显示, 肿瘤患者体内常会出现 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比值下降的现象, 且病变程度越高, 比值越低。

而在细胞免疫治疗干预的情况下, 既往的文献报道各有不同, 王丹红等^[19]报道 DC-CIK 细胞免疫治疗食道癌患者的淋巴细胞亚群 CD3⁺ CD19⁻、CD3⁺ CD4⁺ CD8⁻、CD3⁺ CD4⁻ CD8⁺ 细胞比例无明显变化; 另外一项对肾癌的研究^[20]也显示, 治疗前后淋巴细胞亚群无显著变化; 而刘涛等^[21]报道自体 DC-CIK 细胞治疗宫颈癌可使 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比值明显上升。本研究的结果与上述的研究并不一致, 可能是本研究中鼻咽癌患者都为转移性肿瘤, 体内的免疫功能受到的破坏较大, 同时本研究的样本量较小, 需进一步扩大样本量进行研究。

[参 考 文 献]

- [1] LINDSEY A T, FREDDIE B, REBECCA L S, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [2] KARMRAN S C, RIAZ N, LEE N. Nasopharyngeal carcinoma [J]. Surg Oncol Clin N Am, 2015, 24(3): 547-561. DOI: 10.1016/j.soc.2015.03.008.
- [3] LEE A W, MA B B, NG W T, et al. Management of nasopharyngeal carcinoma: current practice and future perspective[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(29): 3356-3364. DOI: 10.1200/JCO.2015.60.9347.
- [4] ANGUILE S, SMITS E L, LION E, et al. Clinical use of dendritic cells for cancer therapy[J/OL]. Lancet Oncol, 2014, 15(7): e257-267[2016-07-20]. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/1470204>. DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70585-0.
- [5] STEINMAN R M. Decisions about dendritic cells: past, present, and future[J]. Annu Rev Immunol, 2012, 30(1): 1-20. DOI: 10.1146/annurev-immunol-100311-102839.
- [6] NIAM M, LINN Y C, FOOK CHONG S, et al. Clinical scale expansion of cytokine-induced killer cells is feasible from healthy donors and patients with acute and chronic myeloid leukemia at various stages of therapy[J]. Exp Hematol, 2011, 39(9): 897-903. DOI: 10.1016/j.exphem.2011.06.005.
- [7] 陈复兴, 刘军权, 张南征, 等. 自身细胞因子诱导的杀伤细胞过继性免疫治疗恶性肿瘤的临床观察[J]. 癌症, 2002, 21(7): 797-801. DOI: 10.3321/j.issn:1000-467X.2002.07.021.
- [8] 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. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.04.012.
- [9] 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.
- [10] LI Y H, WANG F H, JIANG W Q, et al. Phase I study of capecitabine and cisplatin combination as first-line chemotherapy in Chinese patients with metastatic nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Chemoth Pharm, 2008, 62(3): 539-544. DOI: 10.1007/s00280-007-0641-2.
- [11] CHAN A T, HSU M M, GOH B C, et al. Multicenter, phase I study of cetuximab combination with carboplatinin patients with recurrent or metastatic nasopharyngeal carcinoma[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(15):3568-3576. DOI: 10.1200/JCO.2005.02.147.
- [12] CHIA W K, WANG W W, TEO M, et al. A phase II study evaluating the safety and efficacy of an adenovirus-ΔLMP1-LMP2 transduced dendritic cell vaccine in patients with advanced metastatic nasopharyngeal carcinoma[J]. Ann Oncol, 2012, 23(4):997-1005. DOI: 10.1093/annonc/mdr341.
- [13] RIDWAY D. The first 1000 dendritic cell vaccines[J]. Cancer Invest, 2003, 21(6): 873-886. DOI: 10.1081/CNV-120025091.
- [14] NENCIONI A, GRUNEBACH F, SCHMITDT S M, et al. The use of dendritic cells in cancer immunotherapy[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2008, 65(3): 191-199. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2007.10.002.
- [15] ROSENBERG S A, YANG J C, RESTIFO N P. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines[J]. Nat Med, 2004, 10(9): 909-915. DOI: 10.1038/nm1100.
- [16] ANDREAS D, NELA K G, STEFANIE M, et al. Dendritic cell based tumor vaccination in prostate and renal cell cancer: a systematic review and meta-analysis[J/OL]. PLoS One, 2011, 6(4): e18801[2016-07-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3080391/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0018801.
- [17] LEUNG S F, ZEE B, MA B B, et al. Plasma epstein-barr viral deoxyribonucleic acid quantitation complements tumor-node-metastasis staging prognostication in nasopharyngeal carcinoma[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(34): 5414-5418. DOI: 10.1200/JCO.2006.07.7982.
- [18] SHEU B C, HSU S M, HO H N, et al. Reversed CD4/CD8 ratios of tumor-infiltrating lymphocytes are correlated with the progression of human cervical carcinoma[J]. Cancer, 1999, 86(8): 1537-1543. DOI:10.1002/(SICI)1097-0142(19991015)86:8<1537:AID-CNCR21>3.0.CO;2-D.
- [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. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.6.008.
- [20] WANG D H, ZHANG B, GAO H Y, et al. Clinical research of genetically modified dendritic cells in combination with cytokine-induced killer cell treatment in advanced renal cancer[J/OL]. BMC Cancer, 2014, 14: 251-257[2016-07-20]. <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-14-251>. DOI: 10.1186/1471-2407-14-251.
- [21] 刘涛, 沈杰, 何凤, 等. 自体 DC/CIK 治疗宫颈癌临床疗效分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(8):813-815. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2014.08.006.

[收稿日期] 2016 - 07 - 25

[修回日期] 2016 - 11 - 30

[本文编辑] 王映红