

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.016

· 临床研究 ·

DC-CIK 细胞联合常规治疗对肾透明细胞癌患者的临床疗效

谢云青^a, 陈莉^a, 杨建伟^b, 陈路川^c, 刘施佳^a, 应敏刚^c, 郑秋红^a(福建医科大学附属福建省肿瘤医院 a. 福建省肿瘤生物治疗重点实验室; b. 腹部肿瘤内科; c. 腹部肿瘤外科, 福建 福州 350014)

[摘要] **目的:**探讨 DC-CIK 细胞治疗肾透明细胞癌临床疗效及治疗次数对患者预后的影响。**方法:**回顾性分析 2004 年 1 月至 2011 年 6 月在福建省肿瘤医院诊疗的 100 例肾透明细胞癌患者,其中 63 例在福建省肿瘤生物治疗重点实验室进行自体 DC-CIK 细胞免疫治疗联合常规治疗为 DC-CIK 细胞治疗组,其余 37 例未经 DC-CIK 细胞治疗为对照组,比较两组患者的 5 年 DFS 和 OS。治疗组按照 DC-CIK 细胞治疗疗程数分成 ≤ 3 个疗程组及 > 3 个疗程组,分析 DC-CIK 细胞治疗疗程数对肾透明细胞癌患者 5 年 DFS 和 OS 的相关性。**结果:**DC-CIK 细胞治疗组患者 5 年 OS 较对照组明显提高(81.05% vs 60.29%, $P < 0.05$),但 5 年 DFS 无显著性差异($P > 0.05$);DC-CIK 细胞治疗疗程数 > 3 的患者 5 年 OS 较对照组明显提高($P < 0.05$),但 5 年 DFS 无显著性差异($P > 0.05$)。**结论:**自体 DC-CIK 细胞回输联合常规治疗手段治疗肾透明细胞癌更有生存优势,且 DC-CIK 细胞治疗疗程数与肾透明细胞癌患者的预后密切相关。

[关键词] 肾透明细胞癌;DC-CIK 细胞;免疫治疗;临床疗效

[中图分类号] R737.11; R730.51

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)06-0665-05

Clinical evaluation of dendritic cell-cytokine induced killer cells immunotherapy combined with conventional treatment in patients with renal carcinoma

XIE Yunqing^a, CHEN Li^a, YANG Jianwei^b, CHEN Luchuan^c, LIU Shijia^a, YING Mingang^c, ZHENG QiuHong^a(a. Fujian Provincial Key Laboratory of Tumor Biotherapy, b. Department of Abdominal Medicine, c. Department of Abdominal Surgery; Teaching Hospital of Fujian Medical University, Fujian Provincial Tumor Hospital, Fuzhou 350014, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the clinical efficacy of adjuvant dendritic cell (DC)-cytokine-induced killer (CIK) cells immunotherapy and the effect of DC-CIK cells treatment courses on the prognosis of patients with renal clear cell carcinoma. **Methods:** One hundred patients with renal clear cell carcinoma treated in Fujian Provincial Tumor Hospital from Jan, 2004 to Jun, 2011 were included in this retrospective study; 63 patients received DC-CIK cells immunotherapy combined with conventional therapy were regarded as DC-CIK cells treatment group, while the other 37 patients didn't receive DC-CIK cells therapy were regarded as control group. The 5-year DFS and OS of the two groups were compared. The treatment group was further sub-grouped according to the course > 3 and course ≤ 3 , and the 5-year DFS and OS were further compared between the two sub-groups. **Results:** Survival analysis showed the 5-years overall survival (OS) rate was significantly higher in the DC-CIK group compared with the control group (81.05% vs 60.29%, $P < 0.05$), however, there was no significant difference in 5-year DFS rate between two groups. Further subgroup analysis stratified according to the course of DC-CIK cells treatment showed that the 5-years OS was significantly improved in the group with course greater than 3 ($P < 0.05$), although there was no significant difference in 5-years DFS rate between two subgroups ($P > 0.05$). **Conclusion:** Our results demonstrated that renal carcinoma patients could benefit from autologous DC-CIK cells immunotherapy in combination with conventional therapies in terms of increasing overall survival. And the course of DC-CIK cells treatment is closely related with the prognosis of patients with renal cell carcinoma.

[基金项目] 福建省自然科学基金资助项目(No. 2016J01514);福建省科技计划项目(No. 2017Y0022)。Project supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (No. 2016J01514), and the Science and Technology Program of Fujian Province (No. 2017Y0022)

[作者简介] 谢云青(1972-),女,硕士,副主任医师,主要从事肿瘤的细胞免疫学研究,E-mail:1249826653@qq.com

[通信作者] 郑秋红(ZHENG QiuHong, corresponding author),主任医师,教授,硕士生导师,主要从事肿瘤细胞免疫学研究,E-mail:zqh2858@foxmail.com

[**Key words**] Renal clear cell carcinoma; DC-CIK cell; immunotherapy; clinical efficacy

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(6): 659-663. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.016]

肾癌是泌尿外科最常见的恶性肿瘤之一,其发病率高,约占成人恶性肿瘤的5%^[1],且发病率和病死率持续上升^[2]。肾透明细胞癌(clear cell carcinoma of kidney)是肾癌中常见病理类型,占发病率的75%以上,由于其对放疗、化疗均不敏感,目前肾透明细胞癌最主要治疗方法是肾根治性手术切除。然而肾透明细胞癌起病隐匿,大约30%的患者在确诊时已经发生转移,未转移的患者在进行切除术后,约40%会复发和转移^[3]。免疫治疗已被证明在提高手术、化放疗疗效及肿瘤患者的生存期、生活质量具有显著的疗效^[4]。DC-CIK细胞是目前临床上过继免疫治疗中较为成熟有效的个体化免疫治疗方案^[5],DC与CIK细胞混合培养具有增殖速度快、杀瘤活性高、杀瘤谱广、对多重耐药肿瘤敏感及安全性高的特性^[6-7]。有研究^[8-10]显示,DC-CIK细胞应用于肾透明细胞癌临床治疗有效,但DC-CIK细胞治疗对不同分期的肾透明细胞癌及不同DC-CIK细胞治疗次数对患者疗效的比较还尚未见报道。本研究对DC-CIK细胞联合常规治疗手段治疗组和对对照组的肾透明细胞癌患者5年OS和DFS进行比较,并进一步探讨DC-CIK细胞的治疗疗程与临床疗效的相关性,以期优化DC-CIK细胞的临床治疗提供相关数据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性分析2004年1月至2011年6月在福建省肿瘤医院诊疗的100例肾透明细胞癌患者,其中治疗组63例为福建省肿瘤生物治疗重点实验室进行自体DC-CIK细胞免疫治疗联合常规治疗的患者为DC-CIK组,其余37例常规治疗的患者(未经DC-CIK细胞治疗)为对照组。入组标准:(1)患者均经组织学或细胞学检查确诊为肾透明细胞癌,参照美国癌症联合委员会(AJCC)分期标准,TNM分期为T1~T4期的患者;(2)治疗前Karnofsky评分>60分;(3)DC-CIK细胞治疗组患者经过手术和/或放疗和/或化疗联合DC-CIK细胞治疗,对照组仅为手术和/或放疗和/或化疗治疗。DC-CIK临床试验程序经福建省肿瘤医院伦理委员会审查批准,经过DC-CIK细胞治疗的全部患者均签署自体免疫细胞治疗知情同意书。两组患者一般资料比较见表1。

1.2 主要试剂与仪器

人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)、IL-4、IFN- γ 及TNF- α 购自Peprotech公司,细胞培养袋、抗人CD3单克隆抗体及GT-T551H3培养基均购自北京宝日医生物技术有限公司,IL-2购自北京四环制药有限公司,WT1(Wilms'tumor gene1)肿瘤抗原肽购自德国美天旎公司,淋巴细胞分离液购自美国GE公司。流式细胞仪(Beckman Coulter FC500)及流式检测所用的抗体均为Beckman公司产品。

1.3 DC、CIK细胞的培养及表型鉴定

参考文献[11]方法常规培养DC,患者PBMC贴壁细胞加入30ml GT-T551H3培养基(含GM-CSF 500 ng/ml,IL-4 500 ng/ml),隔天补液1次,于第5天添加TNF- α 500 U/ml及患者自身肿瘤抗原肽或WT1肿瘤抗原肽0.6 nmol,第7天收集成熟DC,流式鉴定表型,并加入所培养的CIK细胞中进行混合培养。

参考文献[12]方法常规CIK细胞培养,收集贴壁2h后的悬浮细胞,加入GT-T551H3培养基(含CD3单抗5 μ g/ml、IL-2 1000 U/ml、IFN- γ 1000 U/ml),第4天补充GT-T551H3培养基(含IL-2 500 U/ml),调整细胞密度为 2×10^6 /ml,于第11~14天检测细胞表型,与诱导的成熟DC混合培养,送检细菌、霉菌、支原体检测后,分4次收集细胞用于回输。

1.4 细胞免疫治疗方案

在患者术后化疗间歇期或与放疗同步抽取患者自体外周血50ml制备细胞,WT1肿瘤抗原肽预激DC,7d后收集成熟DC细胞,进行DC、CIK细胞混合培养,DC-CIK细胞经表型及质控鉴定后,10d左右开始静脉回输。回输方式:每天200ml/次,每次回输200ml,细胞数不少于 2.5×10^9 ,4次为1个治疗疗程。

为了分析DC-CIK细胞治疗次数对肾透明细胞癌患者预后的影响,本研究将DC-CIK细胞治疗组63患者按接受DC-CIK细胞疗程数分为 ≤ 3 个疗程组及 > 3 个疗程组, ≤ 3 个疗程组(43例)及 > 3 个疗程组(20例)。

1.5 疗效评价

随访时间截止至2016年6月,随访内容包括患者的复诊病历、影像学 and 血液学检查记录。统计两组患者的DFS和OS,并进行疗效评价。

1.6 统计学处理

采用SPSS 18.0统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表

示,采用 Kaplan-Meier 法进行单因素生存分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

表 1 DC-CIK 组和对照组患者临床资料比较

Tab.1 Clinic information of DC-CIK group and control group

Item	DC-CIK (n = 63)	Control (n = 37)	χ^2	P
Age(t/a)			0.948	0.330
< 50	23	10		
≥ 50	40	27		
TNM stage			0.019	0.890
I ~ II	40	24		
III ~ IV	23	13		
Operation			0.127	0.987
Yes	51	30		
No	12	7		
Chemotherapy			0.129	0.720
Yes	15	10		
No	48	27		
Radiotherapy			1.000*	
Yes	8	5		
No	55	32		
Target therapy			0.240	0.625
Yes	8	6		
No	55	31		

* Fisher 确切概率法

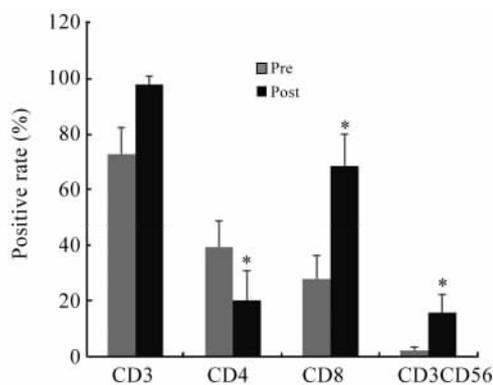
2 结果

2.1 培养的 DC-CIK 细胞表型符合输入要求

DC-CIK 细胞表型分析结果显示,培养 7 d 后,成熟 DC 表面 CD80、CD83、CD86 表达率分别为 (74.70 ± 9.43)% , (62.60 ± 8.34)% , (88.60 ± 11.42)% ;培养至第 10 天的 DC-CIK 细胞与培养前细胞的相比,其 CD3⁺、CD8⁺ 及 CD3⁺CD56⁺T 细胞的阳性率明显提高 ($P < 0.05$),然而 CD4⁺T 的表型阳性率显著降低 ($P < 0.05$)。培养 11 ~ 14 d 后,DC-CIK 细胞群中 NKT(CD3⁺CD56⁺)细胞比例较培养前有显著提高 ($P < 0.05$),且细胞毒活性 CD8⁺T 细胞比例也较培养前显著增加 ($P < 0.05$) (见图 1)。

2.2 DC-CIK 细胞联合常规治疗未诱发明显的毒副作用

在 DC-CIK 细胞回输期间,6 例患者 (9.5%) 出现低烧、寒战症状,临床对症处理后恢复正常。所有患者在治疗期间未出现严重副作用及治疗前后血常规、肝肾功能无明显变化。



* $P < 0.05$ vs Pre-culture

图 1 DC-CIK 细胞培养前后的细胞表型比较
Fig.1 Comparison of cell phenotypes before and after DC-CIK cell culture

2.3 DC-CIK 细胞联合常方法治疗组患者 5 年 OS 明显提高

两组生存曲线图结果(图 2)显示,DC-CIK 细胞治疗组患者 5 年 DFS 无显著提高 (65.58% vs 49.18% , $P > 0.05$),而 5 年 OS 显著提高 (81.05% vs 60.29% , $P < 0.05$)。

2.4 DC-CIK 细胞治疗疗程数 > 3 个明显提高患者 5 年 OS

生存曲线结果(图 3)显示,DC-CIK 细胞治疗次数与患者 5 年 DFS 无明显相关 ($P > 0.05$),但 DC-CIK 细胞治疗次数与患者 5 年 OS 有关 ($P < 0.05$)。

3 讨论

肾透明细胞癌对放疗、化疗及内分泌治疗效果均不理想,目前的治疗仍以传统手术治疗为主,尽管如此,仍有一部分肾透明细胞癌患者术后发生复发和转移。对于晚期或复发转移的肾透明细胞癌患者临床治疗预后不甚理想。因此如何预防复发、转移及提高晚期肾透明细胞癌的生存期、生活质量是目前肾透明细胞癌治疗的重点。虽然有研究^[12]显示细胞因子类药物、靶向治疗可提高肾透明细胞癌患者的生存期,但其毒性、耐药及费用问题不容忽视。

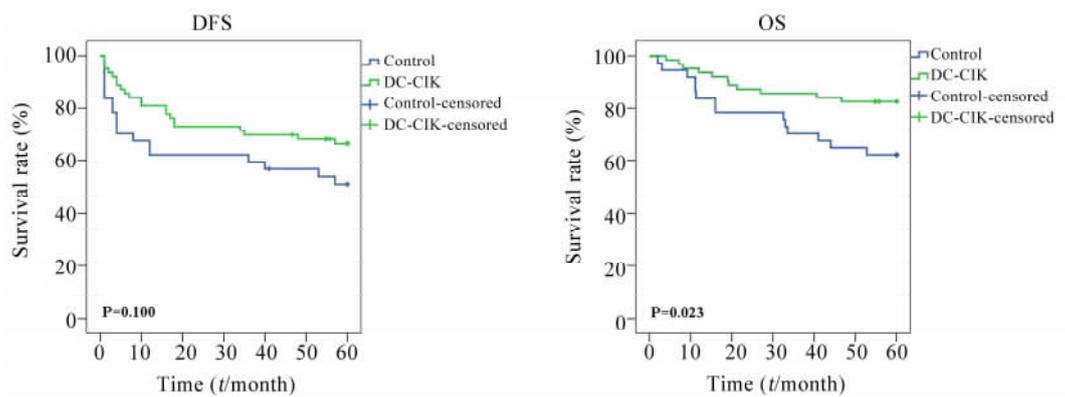


图2 DC-CIK 细胞治疗组患者5年DFS和OS的生存曲线
 Fig.2 Survival curves of 5-year DFS and OS in the DC-CIK treatment group

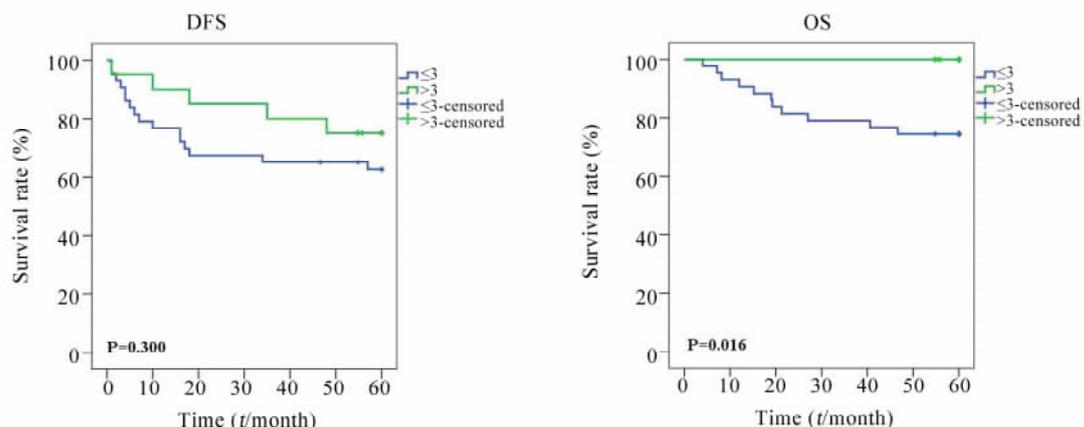


图3 DC-CIK 细胞治疗次数与患者5年DFS和OS的关系
 Fig.3 The relationship between treatment courses of DC-CIK immunotherapy with 5-year DFS and OS of patients

肾透明细胞癌是一种免疫原性较强的肿瘤,有研究^[13-14]认为,肾透明细胞癌患者DC数量少且多数处于不成熟状态,递呈抗原能力较差,不能有效地启动机体免疫应答,从而导致肾透明细胞癌的免疫逃逸。有研究^[15]发现,DC与兼具有T细胞的强大抗肿瘤活性和NK细胞的非MHC限制性杀瘤特点的CIK细胞共培养(DC-CIK细胞),可增强CIK细胞的增殖活性、杀伤活性以及分泌细胞因子的能力,临床已有研究^[8-10]显示,DC-CIK细胞治疗可显著提高肾透明细胞癌患者的生存期和生活质量。

本研究发现培养后的DC-CIK细胞具有强大的抗肿瘤细胞群,主要效应细胞CD3⁺CD8⁺细胞群占(68.39 ± 11.42)%,NKT细胞群占(15.72 ± 6.57)%,而且可显著延长肾透明细胞癌患者的5年OS,与Zhao等^[16]研究结果相符。尽管国内外已有DC-CIK细胞治疗肾透明细胞癌的临床研究,但是未见有分析DC-CIK治疗次数与患者临床预后是否具

有相关性的报道,因此,为了摸索DC-CIK细胞治疗临床应用的规范化,本研究进一步深入探讨DC-CIK细胞治疗次数与肾透明细胞癌患者预后的关系,将DC-CIK治疗组患者进一步分为治疗疗程≤3个和>3个两个亚组,以此分析DC-CIK细胞的治疗次数与肾透明细胞癌患者的预后密切相关,结果显示,DC-CIK细胞治疗疗程>3个的患者与治疗疗程≤3个的患者相比,虽然5年DFS并未显著提高,但是其5年OS得到显著提高,因此,DC-CIK细胞的治疗次数与肾透明细胞癌患者的预后有关,治疗疗程>3个或能产生更多临床获益,此结果可为指导DC-CIK细胞治疗的临床应用提供研究依据。当然,由于患者例数的有限性,本研究的结果尚需多中心、大样本数据的进一步考证,以期肾透明细胞癌患者提供更好更完善的治疗方案,提高肾透明细胞癌患者的生存期和生活质量。

本研究再次证实了DC-CIK细胞治疗对于肾透

明细胞癌患者具有积极的疗效,DC-CIK 细胞治疗对肾透明细胞癌患者不仅具有安全性,而且与其他常规治疗方法联合可显著提高其 5 年 OS,同时 DC-CIK 细胞治疗次数与肾透明细胞癌患者的预后有关。总之,DC-CIK 细胞治疗肾透明细胞癌安全可行,或将成为实体肿瘤综合治疗的新选择。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2013[J]. CA Cancer J Clin, 2013, 63(1): 11-30. DOI:10.3322/caac.21166.
- [2] KOUL H, HUH J S, ROVE K O, et al. Molecular aspects of renal cell carcinoma: a review [J]. Am J Cancer Res, 2011, 1(2):240-254.
- [3] MOTZER R J, HUTSON T E, TOMCZAK P, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma[J]. N Engl J Med, 2007, 356(2): 115-124. DOI:10.1056/NEJMoa065044.
- [4] CHODON T, KOYA R C, ODUNSI K. Active immunotherapy of cancer[J]. Immunol Invest, 2015, 44(8): 817-836. DOI:10.3109/08820139.2015.1096684.
- [5] CHEN R, DENG X, WU H, et al. Combined immunotherapy with dendritic cells and cytokine-induced killer cells for malignant tumors: a systematic review and meta-analysis[J]. Int Immunopharmacol, 2014, 22(2): 451-464. DOI: 10.1016/j.intimp.2014.07.019.
- [6] FRANKENBERGER B, SCHENDEL D J. Third generation dendritic cell vaccines for tumor immunotherapy[J]. Eur J Cell Biol, 2012, 91(1): 53-58. DOI:10.1016/j.ejcb.2011.01.012.
- [7] SU X, ZHANG L, JIN L, et al. Coculturing dendritic cells with zoledronate acid efficiently enhance the anti-tumor effects of cytokine-induced killer cells[J]. J Clin Immunol, 2010, 30(5): 766-774. DOI:10.1007/s10875-010-9434-1.
- [8] LEI K, WANG J, JIA Y, et al. The effects of CIK cells on the treatment of renal cell carcinoma[J]. J Clin Oncol, 2009, 8(6): 346-348. DOI:10.1007/s10330-009-0040-8.
- [9] ZHAO H, FAN Y, LI H, et al. Immunotherapy with cytokine-induced killer cells as an adjuvant treatment for advanced gastric carcinoma: a retrospective study of 165 patients[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2013, 28(4): 303-309. DOI:10.1089/cbr.2012.1306.
- [10] LI X, XU W M, CUI J, et al. Effect of CIK treatment on localized renal carcinoma patients after radical operation[J]. Cancer Res Prev & Treatment, 2011, 38(8): 950-953.
- [11] KITAWAKI T, KADOWAKI N, KONDO T, et al. Potential of dendritic-cell immunotherapy for relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, shown by WT1 peptide- and keyhole limpet hemocyanin pulsed, donor derived dendritic cell vaccine for acute myeloid leukemia[J]. Am J Hematol, 2008, 83(4): 315-317. DOI:10.1002/ajh.21127.
- [12] SOSMAN J, PUZANOV I. Combination targeted therapy in advanced renal cell carcinoma[J]. Cancer, 2009, 115(Suppl 10): 2368-2375. DOI:10.1002/cncr.24234.
- [13] 刘菲, 王相海, 林存智, 等. CD1a 与肿瘤相关性研究进展 [J]. 中国医师进修杂志, 2014, 37(28): 69-71. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4904.2014.28.024.
- [14] TROY A J, SUMMERS K L, DAVIDSON P J, et al. Minimal recruitment and activation of dendritic cells within renal cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2008, 4(3):585-593.
- [15] YANG L, REN B, LI H, et al. Enhanced antitumor effects of DC-activated CIKs to chemotherapy treatment in a single cohort of advanced non-small-cell lung cancer patients[J]. Cancer Immunol Immunother, 2013, 62(1): 65-73. DOI:10.1007/s00262-012-1311-8.
- [16] ZHAO X, ZHANG Z, LI H, et al. Cytokine induced killer cell-based immunotherapies in patients with different stages of renal cell carcinoma[J]. Cancer Lett, 2015, 362(2): 192-198. DOI:10.1016/j.canlet.2015.03.043.

[收稿日期] 2016 - 12 - 16

[修回日期] 2017 - 03 - 17

[本文编辑] 王映红

· 读 者 · 作 者 · 编 者 ·

文稿中数字用法的要求

本刊严格执行国家标准《出版物上数字用法的规定》,文稿中凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方,均应使用阿拉伯数字。(1)公历世纪、年代、年、月、日和时、时刻必须使用阿拉伯数字,如 20 世纪 90 年代、2006-02-15、5 h、30 min、30 s、14:36:08 等;年份不能用简称,“1998 年”不能写作“98 年”。(2)物理量量值必须使用阿拉伯数字。(3)非物理量量词前面数字一般也应使用阿拉伯数字,如 3 支、5 根等。(4)数值范围的表达要求:5 万至 10 万应写成 5 万~10 万,不能写成 5~10 万; 3×10^9 至 5×10^9 应写成 $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$, 或 $(3 \sim 5) \times 10^9$, 不能写成 $3 \sim 5 \times 10^9$; 60% 至 70% 不能写成 60~70%, 应写成 60%~70%; 25.5 ± 0.5 mg 应写成 (25.5 ± 0.5) mg。(5)带单位的量值相乘时,每个数值后单位不能省略,如 4 mm × 2 mm × 3 mm, 不能写成 $4 \times 2 \times 3$ mm 或 $4 \times 2 \times 3$ mm³。

(本刊编辑部)