

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.016

· 临床研究 ·

DC-CIK对结直肠癌根治术后肝转移患者疗效和循环肿瘤细胞的影响

吴有军, 曹志宇, 张庆军, 刘瑞军, 王玥, 吕刚, 张心慧, 孙永胜, 杨波(解放军第309医院 普通外科, 北京100091)

[摘要] **目的:** 探讨树突状细胞-细胞因子诱导的杀伤细胞(dendritic cell-cytokine induced killer cell, DC-CIK)对结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)根治术后肝转移患者循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)数量、疗效和预后的影响。**方法:** 回顾性分析2009年7月至2015年12月在解放军第309医院普通外科采用DC-CIK+常规疗法治的CRC根治术后肝转移患者62例(DC-CIK组)和同期未接受DC-CIK治疗的70例患者(常规组)的临床资料,同时抽取部分患者(DC-CIK组21例,常规组24例)的外周静脉血,用CellSearch[®]免疫磁珠技术检测血中CTC的数量,分析比较两组患者的疗效和预后。**结果:** DC-CIK组治疗后患者CTC数量明显低于治疗前[(1.0±1.1) vs (2.7±2.0)个, $P < 0.01$],而常规组CTC变化不明显($P > 0.05$);DC-CIK组肝转移灶手术切除率、治疗客观有效率、患者无进展生存和总生存均显著优于常规组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:** DC-CIK可减少CRC根治术后肝转移患者CTC数量并延长患者生存时间,在规范化实施的前提下具有可靠的抗肿瘤效果。

[关键词] 树突状细胞;细胞因子诱导的杀伤细胞;结直肠癌;肝转移;循环肿瘤细胞

[中图分类号] R735.3; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)01-0089-05

Influence of DC-CIK on circulating tumor cells in patients with liver metastasis after radical resection of colorectal cancer and its therapeutic efficacy

WU Youjun, CAO Zhiyu, ZHANG Qingjun, LIU Ruijun, WANG Yue, LYU Gang, ZHANG Xinhui, SUN Yongsheng, YANG Bo(Department of General Surgery, the 309th Hospital of PLA, Beijing 100091, China)

[Abstract] **Objective:** To explore and identify the influence of dendritic cell-cytokine induced killer cell(DC-CIK) on the number of blood circulating tumor cell(CTC), therapeutic efficacy and prognosis of patients with liver metastasis after radical resection of colorectal cancer. **Methods:** We retrospectively analyzed the clinical data of patients developing liver metastasis after radical resection of colorectal cancer(CRC) and treated in PLA 309th Hospital between July, 2009 and December, 2015, among whom 62 patients were administered DC-CIK plus conventional treatment(DC-CIK group) and 70 received only conventional treatment(conventional group). In addition, peripheral venous blood of 21 patients in DC-CIK group and 24 patients in conventional group were examined to clarify CTC number via CellSearch[®] immunomagnetic technology. The therapeutic efficacy was compared between the two groups. **Results:** The CTC number of patients in DC-CIK group decreased significantly after treatment(1.0±1.1 vs 2.7±2.0, $P < 0.01$), while that in conventional group did not alter obviously($P > 0.05$). The resection rate of liver metastasis, objective response rate to treatment, patients' progression-free survival and overall survival of DC-CIK group were all superior than those of conventional group($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** DC-CIK can decrease the number of CTC in CRC patients with liver metastasis after radical operation and prolong their survival; it has reliable anti-tumor effect under the precondition of standard execution.

[Key words] dendritic cell; cytokine induced killer cell; colorectal cancer; liver metastasis; circulating tumor cell

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(1): 89-93. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.01.016]

结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)的发病率和病死率在世界范围内位居前列,其中高达50%左右的患者发病时即已合并或最终都将出现肝转移^[1],而后者是导致患者病死的主要原因^[2]。结直肠癌肝转移(colorectal cancer liver metastasis, CRCLM)的治疗非常棘手^[3],患者预后不佳,尤其是不可切除者,5年总生存率通常不足10%^[4],对于这部分患者有必要采取新的治疗手段以进一步提高疗效和延长生存期。

[基金项目] 总后卫生部军事医学创新工程资助项目(No. 13CXZ047)。Project supported by the Military Medicine Innovation Program of the Health Department of the General Logistics Department(No. 13CXZ047)

[作者简介] 吴有军(1983-),男,硕士生,主治医师,主要从事胃肠道肿瘤的综合治疗, E-mail: wuyoujun830@163.com

[通信作者] 杨波(YANG Bo, corresponding author),硕士,主任医师,硕士生导师,主要从事胃肠道肿瘤的综合治疗, E-mail: y7115b@163.com

本课题回顾性分析了2009年至2015年间在解放军第309医院普通外科收治的CRC根治术后肝转移采用树突状细胞-细胞因子诱导的杀伤细胞(dendritic cell-cytokine induced killer cell, DC-CIK)疗法治疗的62例CRCLM患者,与同期只接受常规疗法(未接受DC-CIK治疗)的70例患者的临床资料,同时检测了其中部分患者在治疗前后循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)数量的变化,旨在探讨DC-CIK疗法对CRCLM患者的CTC数量、疗效和预后的影响。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性分析2009年7月至2015年12月间在解放军第309医院普通外科收治的132例CRC根治术后肝转移患者,其中62例接受DC-CIK+常规疗法(DC-CIK组)、70例接受常规疗法(常规组)。病例纳入标准:(1)病史明确为CRC,曾行根治性手术;(2)影像学提示CRCLM,且转移灶经肝胆外科会诊不可切除;(3)年龄18~70岁;(4)入院前3个月内未接受抗肿瘤治疗;(5)入院时一般情况良好,KPS评分 \geq 70分。病例排除标准:(1)腹水;(2)恶病质状态;(3)就诊后3个月内死亡;(4)合并腹腔、肺或其他部位转移或心肺脑肾等器官严重病变。全部入组患者均签署知情同意书,治疗方案经医院伦理委员会审查批准。

1.2 细胞、主要试剂与仪器

人结肠癌Colo320细胞和直肠癌HCT116细胞购自中国科学院细胞库。Ficoll-Hypaque淋巴细胞分离液购自美国GE Healthcare公司,GT-T551培养基购自日本TaKaRa公司,rhIFN- γ 购自Novoprotein公司,anti-CD3单克隆抗体、rhIL-4、GM-CSF、rhTNF- α 均购自美国Peprotech公司,rhIL-2购自北京四环生物制药有限公司,rhIL-1 α 购自Sinobiological公司。血细胞分离机和CellSearch[®]系统(Veridex, Raritan, NJ)分别为德国Fresenius公司和美国强生公司产品。

1.3 DC-CIK细胞的制备

于化疗当日清晨抽取患者外周血50 ml,加入Ficoll-Hypaque淋巴细胞分离液,离心后获得单个核细胞,放入GT-T551培养基中静置培养(37 $^{\circ}$ C、5%CO₂, 1~2 h),而后按常规方法^[9]分别取悬浮细胞和贴壁细胞分化扩增为CIK细胞和DC,其中DC在培养第5天时加入Colo320和HCT116细胞裂解物上清进行致敏,最后将两者以10:1比例共培养7 d收获成熟DC-CIK细胞。

1.4 治疗方案

1.4.1 常规治疗方案 所有患者入院后均先进行超声引导肝转移灶射频消融(radiofrequency ablation,

RFA),而后给予全身化疗。初始化疗方案均为mFOLFOX6,1次RFA、2次化疗视作1周期治疗。在每周期治疗后2周进行评价,决定手术还是继续原先治疗,以及是否调整为FOLFIRI、FOLFOXIRI等二线方案。治疗持续至肝转移灶转为可切除或患者拒绝继续治疗或病情明显恶化。化疗方案具体如下,mFOLFOX6:第1天奥沙利铂85 mg/m²静脉滴注2 h、LV 400 mg/m²静脉滴注2 h、5-Fu 400 mg/m²静脉推注,然后1 200 mg(m²·d) \times 2持续静脉输注(总量2 400 mg/m²,输注46~48 h),每2周重复。FOLFIRI:第1天mFOLFOX6中奥沙利铂改为伊立替康,180 mg/m²静脉滴注30~120 min。FOLFOXIRI:第1天在mFOLFOX6的基础上增加伊立替康,180 mg/m²静脉滴注30~120 min。

1.4.2 DC-CIK治疗方案 在上述常规治疗的基础上,根据患者或家属意愿决定选择62例患者采用DC-CIK疗法,每完成2次化疗给予1次DC-CIK细胞输注。将制备好的DC-CIK细胞检测无支原体和细菌真菌等污染后,加入2%白蛋白生理盐水100 ml中分3次连续3 d静脉回输,每次回输细胞数不少于 3×10^9 个。

1.5 免疫磁珠法检测CRCLM患者血中CTC

CTC检测在每周期治疗结束后约2周进行,采用CellSearch[®]系统按产品说明完成。基本步骤如下:采集患者外周静脉血7.5 ml置于CellSave管,室温保存;在样本中加入6.5 ml缓冲液,离心后吸出上清;再次加入缓冲液,而后加入包被抗上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)的纳米磁颗粒孵育,抗EpCAM通过抗原抗体反应可与上皮细胞特异性结合,将样本置于磁场中,结合有纳米磁颗粒的细胞吸附于底部,弃去液体,移除磁场,将底层富集的细胞重悬于缓冲液;在重悬液中加入抗CD45、抗细胞角蛋白CK8/18/19的荧光抗体和二脒基苯基吲哚(diamidino phenyl indole, DAPI),其中荧光特性为CK⁺和DAPI⁺、CD45⁺的细胞被定义为CTC,最后经流式细胞仪分离至样本盒表面,形成单细胞层以便计数。计数结果由两名技师审核。

1.6 疗效评价

根据实体瘤疗效评价标准1.1(RECIST 1.1)进行疗效评价。完全缓解(CR)为所有病灶完全消失,部分缓解(PR)为病灶直径总和缩小超过30%,疾病进展(PD)为病灶直径总和增加至少20%,疾病稳定(SD)为除PR和PD以外的情况。客观有效率(ORR)(%)=(CR+PR)/患者总数 \times 100%,疾病控制率(DCR)(%)=(CR+PR+SD)/患者总数 \times 100%。

1.7 随访

疗程结束后通过电话、电子邮件等方式定期随访患者,并每3~6个月来院复查。复查项目包括:肝功能、肿瘤标志物、肝B超和CT等,以首次治疗开始日期作为观察起点,至患者出现PD和死亡的时间分别定义为无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)。本组病例中位随访时间23.7(7.6~86.6)个月。

1.8 统计学处理

应用SPSS13.0统计学软件,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,率的比较采用 χ^2 检验,治疗前后CTC数量比较采用两独立样本 t 检验和配对 t 检验,Kaplan-Meier法绘制生存曲线,Log-Rank检验比较两条生存曲线之间的差异。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗对象的基本情况

62例接受RFA+化疗+DC-CIK(DC-CIK组)、70例仅接受RFA+化疗(常规组),患者的一般资料见表1,经统计学检验提示基线情况在两组间分布平衡,具有可比性。

2.2 DC-CIK治疗可降低CRCLM患者外周血中CTC数量

DC-CIK组和常规组分别有21例和24例患者在治疗前后进行了CTC检测,免疫磁珠法检测结果显示,DC-CIK组治疗后CTC数量显著低于治疗前[(1.0±1.1) vs (2.7±2.0)个, $t=2.864, P<0.01$],而常规组治疗前后CTC数量变化不大[(2.7±2.6) vs (2.5±2.1)个, $t=1.527, P>0.05$];两组治疗前CTC数量比较无显著差异($t=1.106, P>0.05$),治疗后CTC数量有显著差异($t=2.376, P<0.05$)。

2.3 DC-CIK治疗可提高CRC肝转移灶的手术切除率

治疗后,DC-CIK组及常规组分别有15、7例CRC肝转移灶进行手术切除术,DC-CIK组手术切除率明显高于常规组(24.2% vs 10.0%, $\chi^2=4.52, P<0.05$)。

2.4 DC-CIK组疗效优于常规组

截止2017年2月,DC-CIK组5例(8.1%)获得CR,33例(56.3%)获得PR,12例(19.3%)获得SD,12例(19.3%)出现PD;常规组4例(5.7%)获得CR,15例(21.1%)获得PR,29例(40.8%)获得SD,22例(32.4%)出现PD。DC-CIK组ORR显著高于常规组[61.3% vs 26.8%, $\chi^2=6.85, P<0.01$],但两组DCR比较差异无统计学意义(80.6% vs 67.6%, $\chi^2=1.13, P>0.05$)。

2.5 两种疗法患者生存情况的对比

远期疗效(图1)显示,DC-CIK组的PFS和OS均明显长于常规组[21.6(95%CI为18.748~24.452) vs 13.5(95%CI为11.387~15.613)个月, $\chi^2=19.444, P<$

0.01; 31.7(95%CI为26.664~36.736) vs 21.9(95%CI为19.601~24.199)个月, $\chi^2=14.236, P<0.01$]。

表1 两组CRCLM患者的临床资料比较[n(%)]

Tab. 1 Comparison of the clinical data between the two groups of patients with CRCLM[n(%)]

Clinical features	DC-CIK	Convention	P
Sex			0.805
Male	42(67.7)	46(65.7)	
Female	20(32.3)	24(34.3)	
Age(t/a)			0.307
<60	17(27.4)	25(35.7)	
≥60	45(72.6)	45(64.3)	
Site			0.499
Colon	30(48.4)	38(54.3)	
Rectum	32(51.6)	32(45.7)	
Differentiation			0.255
Low	14(22.6)	22(31.4)	
Middle/high	48(77.4)	48(68.6)	
TNM stage			0.884
I	13(21.0)	15(21.4)	
II	26(41.9)	27(38.6)	
III	23(37.1)	29(41.4)	
T classification			0.659
T1	8(12.9)	7(10)	
T2	17(27.4)	19(27.1)	
T3	24(38.7)	23(32.9)	
T4	13(21.0)	21(30)	
N classification			0.933
N0	39(62.9)	42(60)	
N1	16(25.8)	20(28.6)	
N2	7(11.3)	8(11.4)	
Lesion at primary site			0.283
Yes	9(14.5)	6(8.6)	
No	53(85.5)	64(91.4)	
Number of liver metastasis			0.575
≥5	41(66.1)	43(61.4)	
<5	21(33.9)	27(38.6)	
Diameter of the biggest lesion(d/cm)			0.218
>3	27(43.5)	38(54.3)	
≤3	35(56.5)	32(45.7)	
Serum CEA			0.359
Elevated	51(82.3)	53(75.7)	
Normal	11(17.7)	17(24.3%)	
Serum transaminase(z/U·L ⁻¹)			0.794
<200	49(79.0)	54(77.1)	
≥200	13(21.0)	16(22.9)	
Number of treatment cycle			0.722
≤3	46(74.2)	50(71.4)	
>3	16(25.8)	20(28.6)	

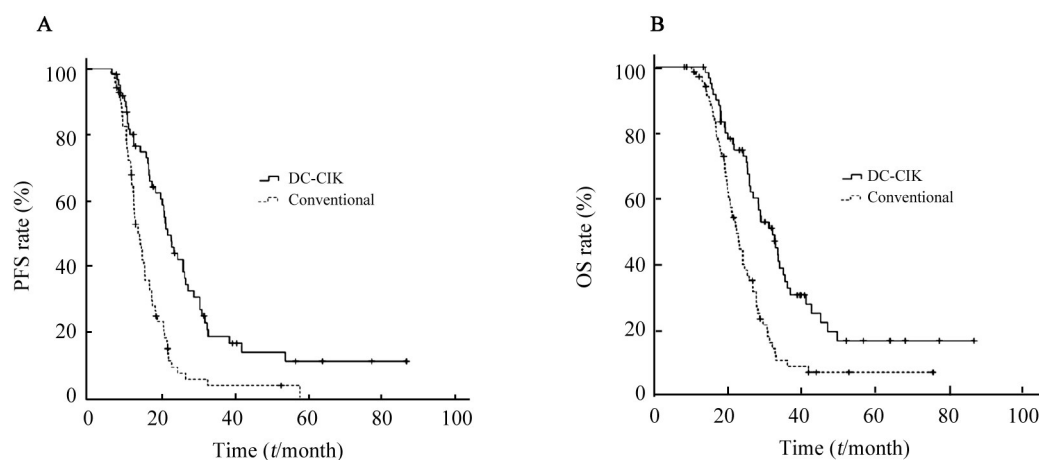


图1 两组结直肠癌肝转移患者PFS(A)和OS(B)曲线比较

Fig.1 Comparison of PFS(A) and OS(B) curves between the two groups of patients with CRCLM

3 讨论

CIK细胞是在体外经IFN- γ 、IL-2、CD3抗体、IL-1 α 等多种细胞因子激活的一群异质性T淋巴细胞,其主要细胞类型包括CD3⁺CD4⁺ Th细胞、CD3⁺CD8⁺ CTL细胞、CD3⁺CD56⁺ NK细胞以及CD3⁺CD56⁺ NKT细胞,其中CD3⁺CD56⁺ NKT细胞兼具T细胞的强大细胞毒性和NK细胞的非MHC限制性,是主要的抗肿瘤效应细胞。将DC与CIK细胞混合培养,可通过分泌细胞因子和细胞-细胞相互作用的方式,进一步增强CIK细胞的抗肿瘤活性^[6]。CIK/DC-CIK细胞具有获取方便、扩增能力强、在体内持续时间长(2周以上)^[7]等特点,应用于血液和实体肿瘤均取得了良好效果,且不良反应轻微。CIK/DC-CIK细胞在CRC中的作用也得到了肯定,被用于CRC根治术后的辅助治疗以及晚期患者的姑息治疗^[8-9]。

作为一种细胞免疫疗法,CIK/DC-CIK疗法与化疗和RFA相互间可产生协同效应,一方面CIK/DC-CIK可使化疗患者受损的免疫功能得到提高,并且能够杀灭对化疗不敏感或RFA残留的肿瘤细胞^[7];另一方面某些化疗药物例如5-Fu、吉西他滨、环磷酰胺等在较低浓度下具有选择性清除患者血液中Treg、髓源性抑制细胞等免疫抑制细胞数量的作用^[10],而RFA则可在短时间内显著降低肿瘤负荷,均有利于CIK/DC-CIK细胞发挥作用。有研究^[11-12]显示,CIK/DC-CIK与化疗或RFA联合显示出了增强的治疗效果。笔者通过本研究发现,DC-CIK疗法可减少患者血液中CTC数量,提高抗肿瘤治疗的ORR和肝转移灶的手术切除率,延长患者PFS及OS,反映出DC-CIK细胞可靠的抗肿瘤活性。

CTC是由肿瘤实体病灶脱落进入血液循环的肿瘤细胞,是肿瘤发生远处转移的根源。肿瘤细胞进

入循环后极大部分都发生凋亡或被免疫系统清除,因此CTC的数量通常很少,但其数量仍可从一定程度上反映肿瘤负荷和机体抗肿瘤免疫功能状态^[13]。目前在乳腺癌、肺癌、肾癌、肝癌、胆管癌、CRC、前列腺癌、卵巢癌、黑色素瘤等多种恶性肿瘤中均有CTC应用于临床的报道^[14],结果都显示CTC可作为肿瘤患者预后评估、治疗方式选择以及疗效监测的重要辅助指标^[15],其与循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)以及外泌体(exosome)一同被称为“液体活检”,在近几年受到了越来越多的重视^[16]。对于CRC,有学者^[17]研究了430例转移性CRC治疗前后CTC的变化情况,发现治疗后CTC<3个/7.5 ml的患者在PFS方面明显优于那些 ≥ 3 个/7.5 ml的患者,肯定了其在CRC中的临床价值。目前已根据不同原理开发出多种CTC检测方法,笔者采用的是应用较为广泛的强生CellSearch[®]系统,检测结果可靠性较高。但由于该法所依据的EpCAM、细胞角蛋白等上皮标志物均缺乏肿瘤特异性,且肿瘤细胞也可发生上皮间质转化而失去上述标志物,因此仍存在一定的假阳性或假阴性,加上高昂的检测费用,限制了其在临床上大规模的应用。

DC具有捕获并加工处理外源性抗原,然后通过MHC II类分子提呈给CD4⁺Th细胞,或通过MHC I类分子交叉提呈给CD8⁺CTL的能力,对于启动和增强细胞免疫应答非常关键,选择合适的抗原用于DC制备是决定DC-CIK细胞治疗特异性和疗效的重要因素。理论上自体肿瘤组织裂解物含有全部肿瘤抗原,用于致敏DC较为理想,但晚期癌症患者通常无法获取足够的肿瘤组织。笔者使用结肠癌Colo320细胞和直肠癌HCT116细胞的裂解物制备DC,尽管它们表达一些CRC的共同抗原,但肯定与患者实际的抗原表达谱存在不同,从而有可能造成疗效上的

差异。另外有报道^[6],CIK/DC-CIK 更加适用于肿瘤负荷较低的情况,本研究采用先进行 RFA 和全身化疗降低肿瘤负荷,而后给予 DC-CIK 细胞输注的治疗方案,或许对提高疗效有一定帮助,需要注意的是 CIK/DC-CIK 治疗应与化疗间隔一定的时间,以免化疗药物杀伤 CIK/DC-CIK 细胞。尽管 CIK/DC-CIK 可从一定程度上延长肿瘤患者生存,但也存在靶向性不高、组织浸润程度不一和免疫抑制等问题,其疗效有待进一步提升。目前已在某些机构开展的利用生物信息学和基因组学方法筛选鉴定肿瘤特异性新抗原,过表达某些趋化因子受体以及联合使用免疫检查点抑制剂等方面的研究有望为 CIK/DC-CIK 疗法注入新的动力^[18-20]。

总之,本研究证实了 DC-CIK 疗法在 CRC 根治术后肝转移患者中的疗效和应用价值,对于这类患者,在 RFA 和化疗等常规治疗的基础上给予 DC-CIK 能够显著改善预后,同时必须强调的是,严格规范的细胞分离培养和全流程绝对无菌操作是确保治疗成功的前提,这一点应该贯穿于 DC-CIK 疗法的始终。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R, MA J, ZOU Z, et al. Cancer statistics, 2014[J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(1): 9-29. DOI: 10.3322/caac.21208.
- [2] YE L C, LIU T S, REN L, et al. Randomized controlled trial of cetuximab plus chemotherapy for patients with KRAS wild-type unresectable colorectal liver-limited metastases[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(16): 1931-1938. DOI: 10.1200/JCO.2012.44.8308.
- [3] OKUNO M, HATANO E, KASAI Y, et al. Feasibility of the liver-first approach for patients with initially unresectable and not optimally resectable synchronous colorectal liver metastases[J]. *Surg Today*, 2016, 46(6): 721-728. DOI: 10.1007/s00595-015-1242-z.
- [4] GALLINGER S, BIAGI J J, FLETCHER G G, et al. Liver resection for colorectal cancer metastases[J/OL]. *Curr Oncol*, 2013, 20(3): e255-e265[2017-09-28]. https://www.researchgate.net/profile/Sylvie_Giacchetti/publication/11404446. DOI: 10.3747/co.20.1341.
- [5] 杨林, 刘静维, 张雯, 等. DC-CIK 细胞联合化疗治疗局部晚期不可切除或转移性胃腺癌的临床疗效[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 23(9): 966-971. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.09.007.
- [6] 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.
- [7] MA Y, ZHANG Z, TANG L, et al. Cytokine-induced killer cells in the treatment of patients with solid carcinomas: a systematic review and pooled analysis[J]. *Cytotherapy*, 2012, 14(4): 483-493. DOI: 10.3109/14653249.2011.649185.
- [8] ZHU Y, ZHANG H, LI Y, et al. Efficacy of postoperative adjuvant transfusion of cytokine-induced killer cells combined with chemotherapy in patients with colorectal cancer[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(10): 1629-1635. DOI: 10.1007/s00262-013-1465-z.
- [9] LIN T, SONG C, CHUO D Y, et al. Clinical effects of autologous dendritic cells combined with cytokine-induced killer cells followed by chemotherapy in treating patients with advanced colorectal cancer: a prospective study[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(4): 4367-4372. DOI: 10.1007/s13277-015-3957-2.
- [10] ZHAO P, ZHU D, ZHANG Z, et al. Gemcitabine treatment enhanced the anti-tumor effect of cytokine-induced killer cells by depletion of CD4⁺CD25^{hi} regulatory T cells[J/OL]. *Immunol Lett*, 2016, 181: 36-44 [2017-09-28]. <http://sciencedirect.com/science/journal/01652478>. DOI: 10.1016/j.imlet.2016.11.009.
- [11] ZHAO H, WANG Y, YU J, et al. Autologous cytokine-induced killer cells improves overall survival of metastatic colorectal cancer patients results from a phase II clinical trial[J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2016, 15(3): 228-235. DOI: 10.1016/j.clcc.2016.02.005.
- [12] LI X, DAI X, SHI L, et al. Phase II/III study of radiofrequency ablation combined with cytokine-induced killer cells treating colorectal liver metastases[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(1/2): 137-145. DOI: 10.1159/000452531.
- [13] MEGO M, GAO H, COHEN E N, et al. Circulating tumor cells (CTC) are associated with defects in adaptive immunity in patients with inflammatory breast cancer[J]. *J Cancer*, 2016, 7(9): 1095-1104. DOI: 10.7150/jca.13098.
- [14] 周长春, 范长波, 宋现让. 循环肿瘤细胞的检测和应用[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2012, 4(1): 38-45. DOI: 10.3969/j.issn.1674-6929.2012.01.009.
- [15] HUANG X, GAO P, SONG Y, et al. Relationship between circulating tumor cells and tumor response in colorectal cancer patients treated with chemotherapy a meta-analysis[J/OL]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 976[2017-09-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4302148>. DOI: 10.1186/1471-2407-14-976.
- [16] GOLD B, CANKOVIC M, FURTADO L V, et al. Do circulating tumor cells, exosomes, and circulating tumor nucleic acids have clinical utility. a report of the association for molecular pathology[J]. *J Molecular Diagn*, 2015, 17(3): 209-224. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2015.02.001.
- [17] COHEN S J, PUNT C J, IANNOTTI N, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(19): 3213-3221. DOI: 10.1200/JCO.2007.15.8923.
- [18] ROSENBERG S A, RESTIFO N P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 62-68. DOI: 10.1126/science.aaa4967.
- [19] WANG D, LI J, LIU J Y, et al. Modification of chemokine receptor expression to enhance levels of trafficking receptors on autologous-cytokine-induced killer cells derived from patients with colorectal cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2014, 68(5): 551-556. DOI: 10.1016/j.biopha.2014.04.004.
- [20] WANG Y, XU Z, ZHOU F, et al. The combination of dendritic cells-cytotoxic T lymphocytes / cytokine-induced killer (DC-CTL / CIK) therapy exerts immune and clinical responses in patients with malignant tumors[J/OL]. *Exp Hematol Oncol*, 2015, 4: 32. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4641330>. DOI: 10.1186/s40164-015-0027-9.

[收稿日期] 2017-09-29

[修回日期] 2017-11-23

[本文编辑] 党瑞山