

## CIK 细胞过继免疫治疗中晚期恶性肿瘤的临床研究

辽宁三早肿瘤医学研究院(110042) 鲍 锋 徐 岩 尹富华 梁 辉 黄雁南

**【摘要】** 目的 系统观察和分析 CIK 细胞过继免疫疗法对多种中晚期恶性肿瘤的临床疗效。方法 用淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞,后加入 IFN $\gamma$ 、IL-2 和 CD $_3$  单抗等在 5% CO $_2$  条件下定向诱导扩增 CIK 细胞。培养 15 天后分次回输给患者,随访观察患者治疗前后瘤体变化、T 淋巴细胞 rDNA 转录活性的改善、临床症状改善、生活质量、卡氏评分及体重变化等,同时记录生存期。结果 在 256 例接受 CIK 细胞治疗患者中,PR + MR 为 207 例,总缓解率为 80.86%,随访 1 年生存期为 96.09%,2 年生存期为 92.96% 和 3 年生存期为 88.28%。临床症状治疗前、后有明显改善, $\chi^2 = 68.17$ ,  $P < 0.001$ ,有显著性差异;生存质量卡氏评分提高率为 88.28%;治疗前后 T 淋巴细胞 rDNA 转录活性,差异非常显著, $P < 0.01$ ;体重多数有增加。结论 CIK 细胞过继免疫合用中药疗法对多种中晚期恶性肿瘤具有广谱高效杀伤作用,能明显地提高患者免疫功能,减轻临床症状,提高生活质量,延长生存期。

**【关键词】** 恶性肿瘤 过继免疫治疗 细胞因子诱导的杀伤细胞

本研究将我院 1999 年 9 月至 2001 年 3 月应用 CIK 细胞过继免疫治疗的 256 例中、晚期恶性肿瘤的临床疗效进行了系统的随访观察,现将临床观察结果报告如下。

### 1 资料和方法

**1.1 临床资料** 本组 256 例患者均经 B 超、X 线、CT、细胞学及病理学或核磁共振等方法检查确诊为恶性肿瘤者,并根据国际抗癌联盟(UICC)分期标准进行临床分期,其中 I - II 期患者占 17.6%, III - IV 期患者占 82.4%,其中男 119 例,女 137 例,年龄 19 ~ 83 岁,平均 57.39 岁,40 ~ 60 岁占 64.45%。病程最短 7 天,最长 3 年。其中乳腺癌 67 例,肺癌 56 例,肠癌 37 例,胃癌 28 例,淋巴瘤 20 例,其他肾癌、恶性黑色素瘤、食管癌、肝癌、脑瘤、卵巢癌等 48 例。256 例中接受 CIK 过继免疫治疗 4 个疗程的患者 1 例,3 个疗程 17 例,2 个疗程 30 例,余者 1 个疗程。

**1.2 CIK 细胞制备及回输** 抽取外周血用 Ficoll 分离并收集单个核细胞,用 RPMI - 1640 洗涤 3 次,将细胞按  $1 \times 10^6$ /ml 悬浮于 RPMI-1640 完全培养基中。第 1 天加入 IFN-r1000u/ml,24 小时后加入 rhIL-2 1000u/ml,anti-CD3McAb 50ng/ml、IL-1 200u/ml,在 37 $^{\circ}$ C、5% CO $_2$  孵箱中培养。以后每 3 天换液并调整细胞数为  $1 \times 10^6$ /ml,同时补加 rhIL-2 1000u/ml。CIK 细胞培养 14 ~ 28 天,取少许培养细胞做流式细胞仪检测,当 CD $_3^+$  CD $_{56}^+$  细胞数  $\geq 50\%$ , CD $_3^+$  CD $_8^+$  细胞  $\geq 30\%$ ,且细菌及真菌培养阴性时即收集细胞。经生理盐水洗 3 次,加入 1% 人血白蛋白生理盐水中回输。一般分批回输,1 疗程输注的细胞总数为  $1.6 \times 10^{10}$  以上。以后第 2 年输

注 2 个疗程,第 3 年输注 1 个疗程。

**1.3 观测指标及疗效判定** 观测指标包括瘤体变化、生存期、临床症状、生存质量、体重及免疫功能、不良反应等。肿瘤瘤体变化评价,参照实体瘤疗效标准,以患者治疗前及治疗后 1 个月 CT 及 B 超进行对照比较,以完全缓解(CR),部分缓解(PR),轻度缓解(MR),稳定(SD),进展(PD)进行疗效评定,缓解率 = CR + PR + MR,并观察治疗前、后对心、肝、肾及消化道的影

### 2 结果

**2.1 瘤体变化** 本组 256 例恶性肿瘤患者,经 CIK 细胞治疗后瘤体变化情况见表 1。

**2.2 生存期** 存活率:1 年生存期为 96.09%,2 年生存期为 92.96%,3 年生存期为 88.28%。对经治的 256 例患者随访 3 年,生存期情况见表 2。

**2.3 临床症状改善情况** 按临床症状积分值下降  $\geq 2/3$  为显著改善,积分下降  $1/3$  为部分改善,积分下降  $< 1/3$  为无改善。结果见表 3。

表 1 治疗后肿瘤变化情况

总例数	CR	PR	MR	SD	PD	总缓解率(%)
256	0	10	197	46	3	80.86

表 2 治疗后生存期情况

时间(年)	随访例数	存活例数	治疗后生存率(%)
1	256	246	96.09
2	256	238	92.96
3	256	226	88.28

表 3 治疗后症状分析 (n = 256)

症状	治疗前(n)	治疗后(n)	缓解率(%)	$\chi^2$	P
倦怠乏力	60	2	96.67	61.73	0.01
少气懒言					0.01
自汗失眠	126	2	98.41	160.21	0.01
食欲不振	98	54	75.86	18.11	0.01
动则气短	56	4	92.85	51.05	0.01

治疗前、治疗后相比,  $\chi^2 = 68.17, P < 0.01$

**2.4 生存质量改善** 对 256 例患者用 Karnofsky 评分及体重的改变来评估生存质量的改善。治疗后 Karnofsky 评分平均提高 10 ~ 20 分, 其中提高 226 例, 稳定 25 例, 下降 5 例, 提高率为 88.28%。治疗后患者平均体重增加 1 ~ 2kg, 其中提高 196 例, 稳定 55 例, 下降 5 例, 提高率为 76.56%。

**2.5 免疫功能情况** 对 256 例患者治疗前、后免疫功能的评估, 除常规测定  $CD_3$ 、 $CD_4$ 、 $CD_8$  和  $CD_{56}$  外, 结合本院条件, 用 SZ-Ag-NoRs 检测仪观察了 T 淋巴细胞 rDNA 转录活性, 分析 L/S 值, 以评估治疗后免疫功能的改善。治疗前、后比较, 治疗后免疫功能提高, 差异非常显著,  $P < 0.01$ 。见表 4。

表 6 SZ-Ag-NoRs 检测 L/S 值结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

病例	治疗前	治疗后
256	5.41 $\pm$ 0.33	6.29 $\pm$ 0.41

$P < 0.01$

**2.6 不良反应** 本组 256 例恶性肿瘤患者经 CIK 过继免疫治疗后, 对心、肝、肾功能均未引起不良反应, 仅有数例患者, 输入 CIK 细胞后有一过性发热反应 (温度  $\leq 38.5^\circ\text{C}$ ), 24 小时内即降至正常。

### 3 讨论

CIK (Cytokine-Induced Killer) 细胞最初是指在正常人体外周血中仅占 1 ~ 5 的  $CD_3^+ CD_{56}^+$  的 T 淋巴细胞。该细胞在细胞因子及某些单克隆抗体 (Anti-CD3McAb) 刺激下, 可戏剧性增殖 (1000 倍以上), 并有广泛的非组织相关性抗原 (MHC) 限制的极强溶瘤活性<sup>[1]</sup>。但目前国内外制备的用于过继免疫治疗的 CIK 细胞, 实际是体外扩增出的  $CD_3^+ CD_{56}^+$ 、 $CD_3^+ CD_8^+$  为主的一异质性细胞群<sup>[2,3]</sup>。其可通过三种途径发挥杀瘤、溶瘤的作用, 即: (1) CIK 细胞对肿瘤细胞的直接杀伤, 在体内受某些淋巴因

子作用后 CIK 细胞大量释放具有细胞毒性的胞浆颗粒到胞外, 这些颗粒直接破坏瘤细胞; (2) 进入体内活化的 CIK 细胞可分泌多种细胞因子如干扰素  $\gamma$  (IFN $\gamma$ )、肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ ) 和白介素-2 等, 不仅对肿瘤细胞有直接抑制作用, 而且还可通过调节免疫系统间接杀伤瘤细胞; (3) CIK 细胞表达 FasL 可诱导肿瘤细胞凋亡, 但 CIK 细胞由于有抗凋亡基因表达, 因此在体内能抵抗 FasL 阳性肿瘤细胞对 CIK 的反作用, 故 CIK 能对肿瘤细胞持久的发挥溶瘤作用。本研究采用 Schmidt - wolf 等所述方法<sup>[1]</sup> 略加修改, 制备出的 CIK 异质细胞群中  $CD_3^+ CD_{56}^+$  细胞  $> 50\%$ ,  $CD_3^+ CD_8^+$  细胞  $> 30\%$ , 是一种高溶瘤活性的 CIK 细胞, 因此对 256 例恶性肿瘤的过继免疫治疗获得了极佳疗效。

本研究对我院 1999 年 9 月至 2001 年 3 月收治的 256 例恶性肿瘤患者采用 CIK 细胞过继免疫治疗的详尽临床资料进行了初步分析。结果显示, 在 256 例医治的恶性肿瘤患者中, 绝大多数经我院综合治疗后瘤体有不同程度的缩小 (PR: 10/256, MR: 197/256) 总缓解率达 80.86%, 见表 1。该组患者经治疗后 3 年生存期为 88.28% (226/256), 且临床症状如倦怠乏力、失眠、食欲不振等均有十分明显的改善 (见表 2、3)。本研究还采用 Karnofsky 评定法和治疗前后体重的改变两项指标评估了患者的生存质量, 结果显示, 治疗后 Karnofsky 评分平均提高 15 分左右, 体重平均增加 1.5 kg。表明, 经本院系统综合治疗后患者生存质量有了明显好转。与其他 CIK 细胞治疗恶性肿瘤的结果一致<sup>[4,5]</sup>。

### 4 参考文献

- Schmidt-Wolf IG. H., Negrin RS, Kiem HP, et al. Use of a SCID Mouse/Human lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cells with potent antitumor cell activity. J Exp Med, 1991;174:139
- Margolin KA, Negrin RS, Forman SJ, et al. Cellular immunotherapy and autologous transplantation for hematologic malignancy [J]. Immunol Rev, 1997;157:231
- LU PH, Negrin RS. A novel population of expanded human  $CD_3^+ CD_{56}^+$  cell derived from T cells with potent in vivo antitumor activity in mice with severe combined immunodeficiency J Immunol, 199; 153:1687
- 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免疫治疗恶性肿瘤的临床观察. 癌症, 2002;21(7):797
- Finke J, Frone S, Fuey A, et al. Where have all the T cells gone? Mechanisms of immuno evasion by tumors [J]. Immune Today, 1999;20(4):158

(本文编辑 佟 昕)