

# 肿瘤的CIK细胞过继免疫治疗观察及实验研究

尹富华<sup>1</sup>, 鲍锋<sup>1</sup>, 梁辉<sup>1</sup>, 杨素芬<sup>1</sup>, 刘荣春<sup>1</sup>, 刘寅<sup>1</sup>, 运美江<sup>2</sup>

(1. 辽宁三早肿瘤医学研究院, 辽宁 沈阳 110042; 2. 北京理工大学2003级本科, 北京 100081)

**摘要:**目的:应用CIK细胞治疗462例中晚期恶性肿瘤患者,并进行了系统的随访,旨在观察CIK细胞治疗中晚期恶性肿瘤的疗效和实验室的试验研究。方法:用淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞,在体外用多种细胞因子(CD3、MCAb、IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\alpha$ 等)共同培养后获得的CIK细胞,分次回输给患者。随访观察患者治疗前后瘤体变化,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:总缓解率为78.57%;临床症状治疗前后对比有明显改善, $\chi^2=79.8, P<0.01$ ,有统计学意义。生存质量卡氏评分提高率为80.3%。结论:CIK细胞能抑制肿瘤细胞生长,具有较强的杀伤活性。CIK细胞治疗安全有效,无明显副作用,是治疗肿瘤较为理想的方法。

**关键词:**恶性肿瘤;免疫疗法;杀伤细胞

**中图分类号:** R73

**文献标识码:** B

**文章编号:** 1673-842X(2006)06-0157-02

近年来,恶性肿瘤发病率及死亡率均有明显上升趋势。生物疗法治疗肿瘤是继常规手术、放疗、化疗之后的一种新的肿瘤治疗方法<sup>[1]</sup>。在恶性肿瘤治疗中,细胞过继免疫治疗也是应用疗效较为肯定的一种方法。

自1999年9月—2004年12月,本院应用CIK细胞过继免疫疗法治疗恶性肿瘤462例,并进行了系统的随访和实验室试验研究,现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 本组462例患者均经B超、X线、CT、细胞学及病理学和/或核磁共振等方法检查确诊为恶性肿瘤。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78例占16.88%, III~IV患者384例占83.11%。其中男226例,女236例;年龄分布为18~86岁,平均52.5岁。其中乳腺癌121例,肺癌128例,结直肠癌62例,胃癌52例,淋巴瘤31例,其它为肾癌、黑色素瘤、食管癌、肝癌、脑胶质瘤、卵巢癌、宫颈癌等68例。462例中接受CIK过继免疫治疗6个疗程的患者1例,4个疗程32例,3个疗程35例,2个疗程65例,其余为1个疗程。

**1.2 CIK细胞制备及回输** 用淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞(PBMC),然后在含有CD3MCAb、IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\alpha$ 等的培养基中进行培养扩增,14~28天后,再将培养的CIK细胞取少许做流式细胞仪检测,当CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>细胞数 $\geq 50\%$ 、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> $\geq 30\%$ ,且细菌及真菌培养阴性时收集细胞,加入1%人血白蛋白生理盐水中分次回输。1个疗程输注的细胞总数为 $5 \times 10^9 \sim 15 \times 10^9$ 以上。以后第2年输注2个疗程,第3年输注1个疗程。

**1.3 观察指标及疗效判定** 观察指标包括瘤体变化、生存期、临床症状、生存质量、体重及不良反应等。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,缓解率为CR与PR、MR的总和,并观察治疗对心肝肾及消化道的影响。

## 2 结果

**2.1 瘤体变化** 462例恶性肿瘤患者经CIK治疗后CR5例,PR49例,MR309例,SD82例,PD17例。

**2.2 生存期** 经本方法治疗后随访,其存活率为:1年生存率为87.2%,2年生存率为80.5%,3年生存率为69.8%。

**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 $1/3 \sim 2/3$ 为部分改善;积分下降 $< 1/3$ 为无改善。462例患者大多数临床症状治疗后较治疗前有明显改善,其中以乏力、气短、失眠症状改善为最明显,两组间率比较的显著性检验采用 $\chi^2$ 分析。统计学分析差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表1。

表1 462例患者治疗前后主要症状分析

	治疗前	治疗后	缓解率(%)
乏力	87	6	93.10
气短	152	12	92.10
失眠	141	12	91.49
食少	82	9	89.02

注:治疗前与治疗后比较, $\chi^2=79.80, P<0.01$ 。

**2.4 生存质量改善** 对462例患者用Karnofsky评分及体重的改变来评估生存质量的改善,结果见表2。

表2 治疗后Karnofsky评定及体重变化表

	提高	稳定	下降	提高率(%)
Karnofsky	371	78	13	80.3
体重	323	95	44	69.9

**2.5 不良反应** 输注CIK过程中仅2例病人出现发热反应,体温 $\leq 38.5^\circ\text{C}$ ,1例出现少量皮疹,对症处理后很快恢复正常,均不影响治疗。未见其他副反应。

## 3 讨论

CIK细胞(cytokine-induced)具有增殖快、杀伤活性强和杀瘤谱广的特点。由于该种细胞同时表达CD3和CD56两种膜蛋白分子<sup>[2]</sup>,故又称为NK细胞样T淋巴细胞。CIK细胞中的效应细胞CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>在正常人外周血中极为罕见,仅1%~5%。在体外经多种细胞因子培养14~28天,CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>细胞迅速增多,较培养前升幅可达1000倍以上<sup>[3]</sup>。大量体外实验证实CIK细胞较以NK细胞为主的LAK细胞具备更强大

## 复方降糖灵胶囊降血糖作用的实验研究

廖泽云<sup>1</sup>,汪长华<sup>2</sup>

(1.湖北民族学院医学院,湖北恩施 445000;2.武汉大学医学院,湖北武汉 430071)

**摘要:**观察复方降糖灵胶囊治疗糖尿病的实验研究。结果:复方降糖灵胶囊能降低链脲佐霉素所致的实验性糖尿病小鼠、肾上腺素性小鼠、及葡萄糖性小鼠的血糖;并能促进肝糖原、肌糖原的合成,改善链脲佐霉素所致的肝糖原合成减少,可以调节实验性糖尿病大鼠血糖代谢环节。

**关键词:**复方降糖灵胶囊;中药疗法;血糖;实验研究

**中图分类号:**R285.5 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-842X(2006)06-0158-02

复方降糖灵胶囊主要由黄芪、三七等药组成,主要功效为益气养阴、补脾益肾、活血化瘀。在临床上,取得了很好的临床效果。为进一步考察其作用特点,笔者对其降血糖活性进行了实验研究,现报道如下。

## 1 材料与方

1.1 材料 药物:复方降糖灵胶囊:每克含生药7.0g,由广州中医药大学新药开发研究中心提供,使用时以蒸馏水配制所需浓度,按临床用药量的10倍(7.40g/kg)、20倍(11.10g/kg)设置低、高2个剂量组。优降糖(Cibenclamide,格列苯脲,湖南洞庭药业股份有限公司产品,湘卫药准字(1987)第021082号)。

实验动物:健康清洁级SD大白鼠,雄性,体重150~190g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,上海医学实验动物管理委员会质量合格证号:卢动合证字152号;昆明种雄性健康小鼠,体重20~

23g,合格证号:卢动合证字155号。

试剂与仪器:链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ, Sigma公司产品);胰岛素放免试剂盒购自401同位素研究所;葡萄糖-葡萄糖氧化酶法测定试剂盒为上海捷门生物技术公司产品。ONETOUCH II血糖仪及试纸:美国Lifescan公司;奥地利产CliniBio-128 C酶标仪。

统计处理:数据经SPSS 10.0统计软件处理,采用 $\bar{X} \pm s$ 表示。

1.2 方法 对链脲佐菌素性糖尿病小鼠血糖的影响:取小鼠80只,随机选择10只作为正常对照组。其余70只禁食16h后,1次腹腔注射STZ65 mg/kg(临用时用0.05mol/L, pH4.5的缓冲液分配制)。36h后,动物禁食(不禁水)12h,眼眶采血测血糖,选择血糖 $>11.1\text{mol/L}$ 的小鼠作为糖尿病模型鼠,并随机分为复方降糖灵胶囊高、低剂量组,优降糖组、模型对照组,每天灌胃给药1次。前2组给药途径与

的杀瘤活性。肿瘤克隆抑制实验显示,CIK细胞的瘤细胞抑制Log指数为2.5~3.5,较LAK细胞的瘤细胞抑制指数高2个Log<sup>[4-5]</sup>。本研究采用Schmidt-woif等所述方法<sup>[3]</sup>略加修改,制备出CIK细胞。

CIK细胞杀瘤机制为,当CIK细胞受到敏感的靶细胞刺激时,CIK细胞通过其表面杀伤抑制受体系统或黏附因子对靶细胞的识别,这种细胞之间的直接接触导致:① CIK细胞释放具有细胞毒性的胞浆颗粒到膜外空间,其中CD<sub>3</sub><sup>+</sup>CD<sub>56</sub><sup>+</sup>细胞可产生最大的颗粒释放量。这些胞浆颗粒对靶细胞具有直接杀伤力;②分泌IFN、TNF、IL-2、TGF- $\beta$ 和GM-CSF等细胞因子,这些细胞因子对靶细胞有直接或间接抑制与杀伤作用,进一步放大免疫杀瘤效应;③ CIK细胞在培养过程中表达FasL,一方面增强了其对FasL+肿瘤细胞引发的Fas-FasL凋亡的抵抗性,还可通过对Fas+肿瘤细胞诱导凋亡行使其对肿瘤细胞的慢性杀伤作用,保证抗瘤活性的长期持久。

CIK细胞杀瘤谱广,为非MHC限制性效应细胞,对自体与异体、同种与异种肿瘤细胞均有杀伤作用。CIK细胞对化疗药物敏感的亲本细胞和不敏感的转化细胞均具有强大的杀伤活性。实验表明,CIK细胞的疗效与CIK细胞的治疗量和体内残留肿瘤细胞量存在一定相关性。笔者认为,回输细胞总

数应 $>5 \times 10^9$ 才具有治疗作用。

从临床观察结果显示:经CIK细胞治疗后瘤体有不同程度的缩小,总缓解率为78.57%;3年存活期为69.8%;临床症状如乏力、失眠、气短和食欲不振等均有明显改善。从整体看,结果好转明显。所以我们认为CIK细胞治疗安全有效,无明显毒副作用。是较为理想的肿瘤治疗方法。◆

## 参考文献:

- [1] 董志伟.我国肿瘤流行趋势与生物技术在肿瘤控制中的作用[J].中国肿瘤治疗杂志,1997,4(3):164
- [2] Schmidt-wolf IG, Lefterova P, Mehta BA, et al. Phenotypic characterization and identification of effector cells involved in tumor cell recognition of cytokine-induced killer cells[J]. Exp Hematol, 1993, 21(13):1673
- [3] Schmidt-wolf IGH, Negrim RS, Kiem HP, et al. Use of a SCLD mouse/human lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cell with potent antitumor cell activity[J]. J Exp, 1991, 174:139
- [4] 任欢,邢淑贤,李殿俊,等.CIK细胞的体外杀瘤活性的实验研究[J].中国肿瘤生物治疗杂志,1999,6(1):17
- [5] Lu PH, Negrin RS. A novel population of expanded human CD3-CD56-cells derived from T cells with potent in vivo antitumor activity in mice with severe combined immunodeficiency[J]. J Immunol, 1994, 153(4):1687

收稿日期:2006-07-09

作者简介:廖泽云(1965-),男(土家族),湖北恩施人,副教授,硕士研究生,研究方向:中医药与内分泌疾病。