

## DC - CIK 细胞联合化疗治疗老年晚期非小细胞肺癌临床分析

赵利红, 汪海岩, 赵晶, 张德芳

(徐州医学院附属医院肿瘤科, 江苏 徐州 221002)

**摘要:**目的 观察自体树突状细胞(DC)、细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)联合化疗对老年非小细胞肺癌患者的免疫功能、临床疗效、生活质量和毒副作用的影响。方法 选取36例DC - CIK细胞联合化疗治疗的老年晚期非小细胞肺癌患者作为联合治疗组,以同期临床特点相近的36例接受单纯化疗的患者作为单纯化疗组,比较2种方法治疗前后患者免疫功能及组间临床疗效、生活质量和毒副作用。结果 与治疗前比较:联合治疗组CD4<sup>+</sup>升高( $P=0.00$ ),CD8<sup>+</sup>无明显变化( $P=0.93$ ),CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>升高( $P<0.05$ ),自然杀伤细胞(NK细胞)升高( $P<0.05$ );单纯化疗组CD4<sup>+</sup>明显降低( $P<0.05$ ),CD8<sup>+</sup>变化不明显,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>降低( $P<0.05$ ),NK细胞降低( $P<0.05$ )。与单纯化疗组相比,联合治疗组的疾病控制率明显高于单纯化疗组(80.1% vs. 52.8%,  $P<0.05$ ),体力下降、食欲降低发生率明显降低( $P<0.05$ ),化疗副作用(骨髓抑制、恶心呕吐、外周神经毒性)发生率明显降低( $P<0.05$ )。结论 与单纯化疗相比,DC - CIK细胞联合化疗治疗更安全、有效,能提高老年晚期非小细胞肺癌患者生活质量和临床缓解率。

**关键词:**非小细胞肺癌,晚期;老年;过继性细胞免疫治疗;化学治疗

中图分类号:R734.2 文献标志码:A 文章编号:1000-2665(2013)12-0880-04

## Clinical study of DC - CIK in combination with chemotherapy for elderly patients with advanced non - small cell lung cancer

ZHAO Lihong, WANG Haiyan, ZHAO Jing, ZHANG Defang

(Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the influence of autologous dendritic cells (DCs) and cytokine induced killer (CIK) cells in combination with chemotherapy on elderly patients with advanced non - small cell lung cancer (NSCLC) in terms of immune function, clinical efficacy, life quality and side effects. **Methods** 36 elderly patients with advanced NSCLC were enrolled who received DC - CIK in combination with chemotherapy, while another 36 elderly advanced NSCLC patients were included as a group who were treated with chemotherapy alone. Then, a comparison of immune function before and after treatment was undergone and intergroup clinical efficacy, quality of life and side effects were observed. **Results** Compared with the values prior to treatment, the percentages of CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> and NK cells were significantly higher in the combined treatment group ( $P<0.05$ ), in contrast with remarkably reduced levels in the chemotherapy group. No significant difference was found in the percentages of CD8<sup>+</sup> in both groups before and after treatment. Furthermore, compared with the chemotherapy group, the combined therapy group presented a substantial increase in disease control rate (80.1% vs. 52.8%,  $P<0.05$ ) and remarkable amelioration of body weight loss, loss of appetite and chemotherapy adverse reaction (bone marrow suppression, nausea and peripheral neuropathy) ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Compared with chemotherapy alone, DC - CIK in combination with chemotherapy is safer and more effective, stimulating the improvement of quality of life and clinical remission rate for elderly patients with advanced NSCLC.

**Key words:** non - small cell lung cancer; advanced stage; elderly patients; adoptive cellular immunotherapy; chemotherapy

在全球范围内,肺癌是发病率最高的恶性肿瘤,是导致肿瘤患者死亡的首要原因<sup>[1]</sup>。肺癌中非小细胞肺癌(non - small cell lung cancer, NSCLC)占80%~85%,就诊时约75%已属ⅢB~Ⅳ期。Owon-ikoko等<sup>[2]</sup>报道50%的肺癌新发病例年龄>70岁,

因此,老年NSCLC患者成为肺癌治疗的重要部分。

由于肿瘤患者,包括肺癌患者,就诊时多为晚期,已失去手术根治机会,而且对化疗及放疗有时会有一定的限制。因此,以免疫治疗为基础的肿瘤生物治疗作为现代肿瘤治疗的第4种模式越来越受到



重视。其中,DC-CIK 细胞疗法是新一代过继性细胞免疫治疗(adoptive cellular immunotherapy, ACI)的首选方案<sup>[3]</sup>。研究发现细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK 细胞)和同源的树突状细胞(DC)共培养后,CIK 细胞毒性进一步增强<sup>[4]</sup>。另外,Lopez 等<sup>[5]</sup>研究也证实:DC 及 CIK 细胞还可以通过促进白细胞介素-12(IL-12)和 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )的分泌来增强对肿瘤细胞的杀伤作用。虽然自 2001 年国际上就开始了 DC 联合 CIK 细胞或自然杀伤细胞(NK 细胞)的基础研究,但其临床应用多处于起步阶段,且多应用于血液系统肿瘤<sup>[6-7]</sup>;其对于老年 NSCLC 的疗效和副作用鲜有报道。

因此,我们选择老年 NSCLC 患者,通过与单纯化疗对照分析,评价 DC-CIK 细胞联合化疗对晚期 NSCLC 患者免疫功能、临床疗效、生活质量和毒副作用的影响,以期对肺癌的综合治疗提供依据。

## 1 资料和方法

1.1 临床资料 所有患者均为徐州医学院附属医院肿瘤科经病理组织学或细胞学检查确诊,且均经 X 线或 CT 检查证实有明确病灶的Ⅲ~Ⅳ期 NSCLC 患者,年龄 60~80 岁,KPS 评分 $\geq 70$ 分,预计生存期 $> 6$ 个月,所有患者就诊前 1 个月内均未接受过其他抗肿瘤治疗措施,血常规、肝肾功能及心脏功能无明显异常,均签署知情同意书。

排除标准:心、肝、肾功能不全,近期内有活动性出血,严重感染未控制或高热,颅内转移,并发除肺癌外的其他恶性肿瘤,有精神、心理疾病或其他疾病不能配合治疗及疗效评估者。

患者随机分为单纯化疗组和 DC-CIK 联合化疗组(联合治疗组),每组 36 例,2 组患者在年龄、肿瘤病理类型和临床分期等方面差异无统计学意义。

1.2 DC、CIK 细胞制备和回输 CIK 细胞培养:无菌条件下,由专职人员使用血细胞分离机采集患者自体外周血单个核细胞(PBMC)<sup>[8]</sup>,细胞数量达到 $(1 \sim 3) \times 10^9$ ,必须保证每位患者 1 套采集管道。Ficoll 法分离 PBMC,生理盐水洗涤 3 次,用含 10% 人 AB 血清的 RPMI 1640 培养基调节细胞密度为 $(1 \sim 2) \times 10^9/L$ ,培养第 1 天加入重组人 IFN- $\gamma$  至终浓度 $2 \times 10^6$  U/L,37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养,第 2 天加入重组人 IL-2(终浓度为 $1 \times 10^6$  U/L)以及 CD3 McAb 50  $\mu g/L$ 。每 3 天离心更换培养液,观察细胞生长情况,同时补加 IL-2( $1 \times 10^5$  U/L)。

DC 细胞培养:在 PBMC 培养 2 h 之后的贴壁细

胞中加入含 $1 \times 10^6$  U/L 的重组人粒细胞刺激因子(GM-CSF)和 $1 \times 10^6$  U/L IL-4 的 AIM-V 培养液,37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。每 3 天换液 1 次并补充细胞因子,第 6 天再加入肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),共培养 7 天,获得 DC 细胞。

第 7 天的 DC、CIK 细胞按 1:10 比例共培养<sup>[9]</sup>,继续培养 3 天;DC-CIK 细胞混悬液需新鲜配制,现配现用。具体操作参照卫生部《人体细胞治疗临床研究质控要点》和中国免疫学会制订的《过继性免疫治疗癌症规范》<sup>[10]</sup>。

## 1.3 治疗方法

1.3.1 单纯化疗组 应用 DP 方案:多西他赛(江苏恒瑞有限公司)75 mg/m<sup>2</sup>,第 1 天;顺铂 25 mg/m<sup>2</sup> 第 1~4 天;28 天为 1 个治疗周期,治疗 2 周期后评价临床疗效。

1.3.2 联合治疗组 DP 方案实施前 2 天单采患者 PBMC,培养 DC-CIK 细胞,第 3 天应用 DP 方案;细胞培养 10 天后,分 3 次回输入患者体内,1 次/d,每次 1.5 h 内回输完毕;28 天为 1 个治疗周期,治疗 2 个周期后评价临床疗效。

2 组患者治疗前和治疗 2 个周期后抽取外周血,应用流式细胞仪检测 T 细胞亚群中 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、NK 细胞百分比,化疗期间每周检测血常规及肝功能 1 次。

1.4 疗效评价 参照 RECIST 统一标准,近期临床疗效每 2 周期评价一次。疗效分为完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(SD)和进展(PD),以 CR+PR 计算有效率(RR),以 CR+PR+SD 计算疾病控制率(DCR)。

本研究主要分析 2 组患者免疫功能、临床疗效、生活质量和毒副反应。患者免疫功能通过 T 细胞亚群数据进行评价;近期临床疗效通过患者近期病情缓解情况进行评价;参照文献[11]评价 2 组患者治疗前和治疗 2 个周期后生活质量,选取与治疗密切相关的 5 项指标(精神抑郁、体力、睡眠、食欲、体重),进行治疗前后对比,计算各指标降低百分比;毒副反应按 WHO 统一标准评价<sup>[12]</sup>。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计分析软件进行数据处理及分析,计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据的比较采用独立样本  $t$  检验,率的比较采用 $\chi^2$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 近期临床疗效观察 与单纯化疗组相比较,联



合治疗组 DCR 有所提高,差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.25, P = 0.012$ ), RR 比较差异无统计学意义。见表 1。

表 1 2 组近期临床疗效比较( $n = 36$ )

| 指标     | 联合治疗组 | 单纯化疗组 |
|--------|-------|-------|
| CR(例)  | 0     | 0     |
| PR(例)  | 19    | 15    |
| SD(例)  | 10    | 4     |
| PD(例)  | 7     | 7     |
| RR(%)  | 52.8  | 41.7  |
| DCR(%) | 80.1* | 52.8  |

组间比较: \* $P < 0.05$

2.2 治疗后生活质量评价 对比联合治疗组与单纯化疗组患者治疗前后抑郁、体力、睡眠、食欲、体重等指标,联合治疗组较单纯化疗组患者体力下降( $\chi^2 = 6.25, P = 0.012$ )和食欲减低( $\chi^2 = 4.8, P = 0.028$ )明显降低,差异有统计学意义。见表 2。

表 3 2 组 T 细胞亚群指标比较( $n = 36, \bar{x} \pm s, \%$ )

| 组别    | CD4 <sup>+</sup> 细胞 | CD8 <sup>+</sup> 细胞 | CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> | NK 细胞          |
|-------|---------------------|---------------------|------------------------------------|----------------|
| 联合治疗组 |                     |                     |                                    |                |
| 治疗前   | 31.19 ± 7.95        | 24.08 ± 4.31        | 1.34 ± 0.45                        | 13.47 ± 3.17   |
| 治疗后   | 38.81 ± 7.59**      | 24.19 ± 5.73        | 1.70 ± 0.58**                      | 16.72 ± 6.68** |
| 单纯化疗组 |                     |                     |                                    |                |
| 治疗前   | 36.00 ± 5.84        | 24.44 ± 4.33        | 1.52 ± 0.39                        | 14.81 ± 3.76   |
| 治疗后   | 25.64 ± 4.04*       | 25.28 ± 4.19        | 1.04 ± 0.23*                       | 9.78 ± 3.63*   |

组内与治疗前比较: \* $P < 0.05$ ; 治疗后组间比较: \*\* $P < 0.05$

2.4 不良反应 在 DC-CIK 细胞回输过程中有 3 例患者出现寒战及发热,对症处理后症状消失。与单纯化疗组相比,联合治疗组患者Ⅲ~Ⅳ度骨髓抑制( $P = 0.009$ )、恶心呕吐( $P = 0.032$ )及外周神经毒性明显减低( $P = 0.047$ ),差异有统计学意义。见表 4。

表 4 2 种治疗方法的毒副反应比较( $n = 36$ , 例)

| 指标          | 联合治疗组 | 单纯化疗组 |
|-------------|-------|-------|
| 骨髓抑制 I - II | 13    | 16    |
| III - IV    | 5*    | 15    |
| 恶心呕吐        | 11*   | 20    |
| 食欲减低        | 1*    | 6     |
| 体重下降        | 2     | 3     |

组间比较: \* $P < 0.05$

### 3 讨论

ACI 是通过注射免疫活性细胞从而激发或调动机体自身的免疫系统,来增强肿瘤微环境的抗肿瘤

2.3 治疗前后患者 T 细胞亚群指标观察 联合治疗组治疗后 CD8<sup>+</sup> 细胞百分比治疗前无明显变化( $P = 0.926$ ), CD4<sup>+</sup> ( $P = 0.000$ )、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ( $P = 0.005$ )、NK 细胞百分比( $P = 0.011$ )较治疗前明显提高。治疗后,与单纯化疗组相比,联合治疗组 CD4<sup>+</sup>、NK 细胞百分比及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 均有所提高( $P < 0.05$ ),差异具有统计学意义,CD8<sup>+</sup> 比例变化不明显。见表 3。

表 2 2 组患者生活质量指标比较( $n = 36$ , 例)

| 指标   | 联合治疗组 | 单纯化疗组 |
|------|-------|-------|
| 抑郁   | 5     | 11    |
| 体力下降 | 7*    | 17    |
| 睡眠差  | 8     | 13    |
| 食欲减低 | 9*    | 18    |
| 体重下降 | 6     | 11    |

组间比较: \* $P < 0.05$

免疫力,实现杀伤肿瘤细胞的目的。目前,用于免疫治疗的免疫活性细胞主要包括:淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)、细胞毒 T 细胞(CTL)、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)和 DC、CIK 细胞等。CIK 细胞是将人 PB-MC 在体外经多种细胞因子作用后获得的一群异质细胞,是一类非主要组织相容性复合物(MHC)和非 T 细胞受体(TCR)限制性的免疫活性细胞<sup>[13]</sup>,兼具 T 细胞强大的抗肿瘤活性和 NK 细胞非 MHC 限制性杀伤作用,对各种血液系统肿瘤及实体瘤均具有广谱杀伤效应。DC 是机体重要的抗原提呈细胞,在介导免疫细胞的抗肿瘤活性中具有重要作用。艾丽梅等<sup>[14]</sup>研究表明:DC 与 CIK 细胞共培养既激活抗原负载 DC 介导的 MHC 限制性细胞毒性作用,又发挥了 CIK 细胞的非 MHC 限制性细胞毒作用,对肿瘤细胞的具有双重杀伤作用。另外,将具有高效杀伤活性的 CIK 细胞和具有强大肿瘤抗原递呈能力的 DC 联合应用,也可以通过增强肿瘤患者 T 细胞免疫能力,来起到抗肿瘤作用<sup>[15]</sup>。



最近,李卿、张效东等<sup>[16-17]</sup>报道 DC - CIK 细胞与分子靶向药物、微创技术等联合应用,显著提高了疗效。本项研究把 DC - CIK 细胞治疗和化疗有机结合,在患者可以耐受的前提下,积极探讨联合治疗对老年 NSCLC 的治疗手段。通过本次研究可以发现:联合治疗组的近期临床疗效明显高于单纯化疗组( $\chi^2 = 6.25, P = 0.012$ ),说明 DC - CIK 细胞联合化疗可以增强抗肿瘤能力,提高了疗效。

肿瘤的发生、发展、转移与肿瘤宿主的免疫状态密切相关,所以肿瘤患者免疫功能的评估是判断疗效的一项重要指标。宿主抗肿瘤反应以 T 细胞介导的细胞免疫为主<sup>[18-20]</sup>,所以 T 细胞亚群检测能较好地反映细胞免疫功能。一般认为,肿瘤患者外周血的 CD8<sup>+</sup> 细胞主要是抑制性 T 细胞;CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值可作为判断机体免疫功能状态的一项重要指标;NK 细胞是机体免疫监视系统的重要组成部分,NK 细胞数量减少减弱了机体的免疫机能。本研究发现,DC - CIK 细胞联合化疗治疗后患者 CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、NK 细胞比例较治疗前明显提高;相反,单纯化疗组患者经过治疗后则出现了不同程度的降低。说明患者接受 DC - CIK 细胞治疗后出现了较好的抗肿瘤指数,并且减轻了患者化疗所引起的免疫抑制。

综上所述,自体 CIK 细胞及 DC 细胞联合化疗治疗老年晚期 NSCLC 疗效较好,毒副反应轻,具有更好的临床获益及更高的生存质量,可作为老年晚期 NSCLC 一线治疗的选择之一。由于本研究病例数较少,尚需扩大病例进一步证实。

#### 参考文献:

- [1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1): 10 - 29.
- [2] Owonikoko TK, Ragin CC, Belani CP, et al. Lung cancer in elderly patients: an analysis of the surveillance, epidemiology, and end results database [J]. J Clin Oncol, 2007, 25(35): 5570 - 5577.
- [3] Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, et al. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy [J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8(4): 299 - 308.
- [4] Sumpter K, Harper - Wynne C, Cunningham D, et al. Report of two protocol planned interim analyses in a randomised multicentre phase III study comparing capecitabine with fluorouracil and oxaliplatin with cisplatin in patients with advanced oesophagogastric cancer receiving ECF [J]. Br J Cancer, 2005, 92(11): 1976 - 1983.
- [5] Lopez RD, Waller EK, Lu PH, et al. CD58/LFA - 3 and IL - 12 provided by activated monocytes are critical in the in vitro expansion of CD56<sup>+</sup> T cells [J]. Cancer Immunol Immunother, 2001, 49(12): 629 - 640.
- [6] van Meerten E, Eskens FA, van Gameren EC, et al. First - line treatment with oxaliplatin and capecitabine in patients with advanced or metastatic oesophageal cancer: a phase II study [J]. Br J Cancer, 2007, 96(9): 1348 - 1352.
- [7] Liu C, Sun Q, Hang X, et al. Multicenter phase II study of capecitabine plus oxaliplatin as a first - line therapy in Chinese patients with advanced gastric cancer [J]. Anticancer Drugs, 2008, 19(8): 825 - 831.
- [8] Hirschowitz EA, Foody T, Hidalgo GE, et al. Immunization of NSCLC patients with antigen - pulsed immature autologous dendritic cells [J]. Lung Cancer, 2007, 57(3): 365 - 372.
- [9] Wongkajornsilp A, Sangsuriyong S, Hongeng S, et al. Effective osteosarcoma cytotoxicity using cytokine - induced killer cells pre - inoculated with tumor RNA - pulsed dendritic cells [J]. J Orthop Res, 2005, 23(6): 1460 - 1466.
- [10] 尹富华, 鲍锋, 梁辉, 等. 肿瘤的 CIK 细胞过继免疫治疗观察及实验研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2006, 8(6): 157 - 158.
- [11] Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ - C30: a quality - of - life instrument for use in international clinical trials in oncology [J]. J Natl Cancer Inst, 1993, 85(5): 356 - 376.
- [12] 孙燕. 内科肿瘤学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 994 - 997.
- [13] 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 - 1679.
- [14] 艾丽梅, 毛淑丹, 宋盈盈. DC - CIK 细胞体外抗淋巴瘤细胞的免疫效应研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2010, 26(10): 898 - 900.
- [15] 陈智超, 李笋媛, 姚军霞, 等. DC - CIK 细胞治疗自体外周血造血干细胞移植后急性髓性白血病的临床研究 [J]. 临床内科杂志, 2007, 24(9): 596 - 598.
- [16] 李卿, 王新利, 王杨, 等. DC - CIK 共培养细胞联合索拉菲尼对肝癌细胞体内外杀伤效应 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2010, 17(1): 46 - 50.
- [17] 张效东, 周宁新, 徐迎新, 等. DC - CIK 过继转移联合微创技术治疗消化道肿瘤 [J]. 北京师范大学学报: 自然科学版, 2010, 46(4): 489 - 491.
- [18] Finn OJ. Cancer immunology [J]. N Engl J Med, 2008, 358(25): 2704 - 2715.
- [19] Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion [J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6(10): 715 - 727.
- [20] Nagorsen D, Scheibenbogen C, Marincola FM, et al. Natural T cell immunity against cancer [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(12): 4296 - 4303.

收稿日期: 2013 - 08 - 12 修回日期: 2013 - 10 - 09

本文编辑: 孙立杰