

## · 综述 ·

## DC-CIK 细胞治疗研究\*

李菁媛<sup>1</sup> 陈智超<sup>2</sup>

[关键词] 白血病;DC-CIK 细胞;免疫治疗;自体干细胞移植;肝炎

[中图分类号] R733.7 [文献标志码] A [文章编号] 1004-2806(2008)03-0168-03

细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)是一类新型抗肿瘤效应细胞,能在体外被诱导并大量增殖,与以往报告的一些抗肿瘤效应细胞相比,CIK 细胞杀瘤活性更强、杀瘤谱更广。树突状细胞(dendritic cell, DC)是最有效的专职抗原提呈细胞,成熟的 DC 细胞可通过Ⅱ型组织相容性抗原(MHC-Ⅱ)等途径提呈肿瘤抗原,有效抵制肿瘤细胞的免疫逃避机制。CIK 细胞和 DC 细胞是肿瘤免疫治疗的 2 个重要部分,2 者联合可以确保高效的免疫反应。因此,对 DC 细胞共培养的 CIK 细胞(DC-CIK)的研究将成为细胞免疫治疗的重点。随着细胞制备技术的日趋完善,DC-CIK 细胞过继免疫治疗在临床逐渐开展,多种肿瘤相关的细胞免疫治疗应用及疗效评估已陆续有报道。本文将对目前 DC-CIK 细胞治疗临床应用的相关问题作简要介绍。

## 1 DC-CIK 细胞实验研究

CIK 细胞是单个核细胞在体外用多种细胞因子共培养而获得的一群异质细胞,CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>细胞是主要的效应细胞。CIK 细胞兼有 T 淋巴细胞强大的抗瘤活性与 NK 细胞的非 MHC 限制性杀瘤特点,与淋巴因子活化的杀伤细胞(LAK)和肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)相比,CIK 细胞杀伤活性更强和杀瘤谱更广。DC 细胞是目前发现功能最强的专职抗原提呈细胞。体内、外研究均表明,DC 细胞能诱发肿瘤宿主对特异性抗原的免疫应答,提高肿瘤宿主免疫效应细胞的细胞毒活性。Marten<sup>[1]</sup>等将外周血来源的 CIK 细胞和同源 DC 细胞共培养一段时间后发现,DC 和 CIK 细胞的增殖能力明显增强,共培养 14 d 后 CIK 细胞的增殖倍数比共培养 7 d 时高出 2 倍左右。共培养 24 h 后,DC 细胞白细胞介素(IL)-12 的分泌量为单独培养时的 6.93 倍,与 DC 细胞共培养的 CIK 细胞对肿瘤细胞的杀伤活性显著提高。近期,国内许多学者观察了不同来源的 DC 细胞与 CIK 细胞共培养后 DC-CIK 细胞

的表型、体外增殖和细胞毒性的变化,相关报道均支持 Marten 的实验研究,认为 DC 和 CIK 细胞共培养可以同时促进 CIK 细胞和 DC 细胞的增殖和免疫功能。张嵩等还通过动物实验探讨 DC-CIK 细胞在肿瘤治疗中的作用。动物实验结果表明,化疗后应用 DC-CIK 细胞可有效抑制肿瘤细胞生长,甚至使肿瘤完全消失。而且,DC-CIK 细胞的抗肿瘤效应对机体免疫系统功能不产生影响,在当前对肿瘤特异性抗原了解相对较少的情况下,应用 DC-CIK 细胞作为肿瘤放化疗和手术后的辅助治疗有重要临床意义。

## 2 DC-CIK 细胞治疗在白血病中的应用

Linn<sup>[2]</sup>等利用急性白血病患者诊断时的单个核细胞扩增出 DC-CIK 细胞,这些细胞可以杀死人类自然杀伤细胞(NK 细胞)的靶细胞 K562 细胞。同时,该 DC-CIK 效应细胞能够溶解自体急性单核细胞性白血病(AML)靶细胞,并且能够产生抗自体白血病原始细胞的细胞毒作用。该研究提示,DC-CIK 细胞在急性髓系白血病的细胞免疫治疗、急性髓系白血病的微小残留病灶治疗、异基因移植后复发患者的治疗方面均可能具有广泛的应用价值。赵春华等按照常规方法分别从正常人外周血单个核细胞诱导 DC 和 CIK 细胞,将 NB4 白血病细胞冻融物(LCL)冲击或未冲击的 DC 与 CIK 细胞共培养,以 CIK 细胞单独培养作为对照,研究与树突细胞共培养能否增强正常人 DC-CIK 细胞的体内外抗瘤活性。结果提示,与 DC 共培养可使 CIK 细胞获得更高的增殖速率和更强的体内外抗肿瘤活性,DC-CIK 细胞可以作为一种临床有效的抗白血病免疫治疗策略。

童春容等<sup>[3]</sup>在 DC-CIK 细胞治疗急性白血病的临床研究中观察 37 例患者,共接受 58 个疗程 DC-CIK 细胞治疗。34 例血液学缓解期接受 DC-CIK 细胞治疗的患者 3 年持续完全缓解率为 75%,治疗后中位 CCR 期为 26 个月。经过 1 个疗程 DC-CIK 治疗后,2 例肿大的脾脏明显缩小,8 例骨髓残留的异常染色体和(或)基因标志消失。张乐萍<sup>[4]</sup>等临床应用 DC-CIK 细胞与 IL-2 联合治疗儿童急性淋巴细胞白血病(ALL)微小残留病灶(MRD)。28 例化疗 12 个月后 MRD 仍阳性的儿童 ALL 患者,其中 14 例为

\*基金项目:本文受湖北省卫生厅重点科研基金资助(No: JX2A10)

<sup>1</sup>广州军区武汉陆军总医院血液科(武汉,430070)<sup>2</sup>华中科技大学同济医学院附属协和医院血液病研究所 审校者

通讯作者:陈智超, E-mail:chenzc2001@yahoo.com.cn

DC-CIK 细胞治疗组,另外 14 例为对照组。14 例应用 DC-CIK/IL-2 治疗 1~4 个疗程,输注过程中无一例出现寒战、发热、过敏,对心肺功能影响不大;输注后外周血白细胞略有升高,血红蛋白和血小板无变化,说明 DC-CIK 细胞治疗具有安全性。治疗组随访 5~33 个月无一例复发,生存时间超过 30~54 个月,且骨髓形态学和 MRD 检测均为阴性,1 例脾大者也于治疗后回缩。对照组 8 例复发死亡,2 组复发率比较差异有显著性。临床研究显示,DC-CIK 细胞治疗具有明显清除微小残留白血病细胞防止复发的作用,并且静脉输注安全。

### 3 DC-CIK 细胞在自体移植后的应用

Alvarnas<sup>[5]</sup>等取 25 例经过自体移植的白血病患者骨髓细胞标本,用常规方法在第 21 天培养出 DC-CIK 细胞,扩增倍数 44.8 倍,在第 21 天和 28 天,其特异性溶瘤作用分别为 24% 和 42%。2 例 AML 患者的 DC-CIK 细胞对 OCFLY8 的抗肿瘤作用分别为 39% 和 78%。而对自体白血病细胞的溶瘤率分别为 26% 和 58% (效靶比为 40:1)。研究显示经过自体移植的血液病患者,用粒细胞集落刺激因子(G-CSF)动员的外周血单个核细胞可以扩增出 DC-CIK 细胞并可用于移植后患者的免疫治疗。

Leemhuis 等<sup>[6]</sup>开展临床一期试验自体 DC-CIK 细胞治疗复发的霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤。7 例进展期霍奇金病和 2 例非霍奇金淋巴瘤均为自体移植术后复发。DC-CIK 细胞来源于血浆分离机采集外周血单个核细胞,在 $\gamma$ -干扰素( $IFN-\gamma$ ),OKT3 和 IL-2 存在条件下培养扩增。21 d 后,流式分析培养,特征性的 CIK 细胞的绝对计数平均扩增了 290 倍。人 B 淋巴细胞系 OCFLY8 检测 DC-CIK 细胞的体外胞毒活性,在效靶比 40:1 的水平 DC-CIK 细胞平均可杀灭 32% 靶细胞。9 例患者总共进行 21 个疗程细胞回输,不良反应作用小,临床没有出现特殊不适。治疗后,2 例患者部分缓解,2 例患者病情稳定,其中 1 例持续 18 个月。对曾经治疗过的进展期恶性血液病高危患者,体外扩增的 DC-CIK 细胞有利于自体移植后微小残留疾病的治疗。

### 4 DC-CIK 细胞在小儿肿瘤中的研究

一些小儿肿瘤在常规抗肿瘤治疗后仍有复发趋势,考虑其机制之一是免疫逃逸。对成人恶性肿瘤的研究显示,过继性 CIK 免疫效应细胞治疗在某种程度上可以阻滞类似逃逸从而达到预防肿瘤复发的目的。CIK 免疫效应细胞在小儿肿瘤也有一定效应,但目前相关研究报道较少。Hongeng 等<sup>[7]</sup>推测从缓解期肿瘤患儿体内扩增的 CIK 细胞具有相似的抗多种小儿肿瘤细胞系的作用,因而展开研究以寻找支持推论的依据。他们选取 6 个患儿为研究对象,分别为急性淋巴细胞白血病、大细胞淋

巴瘤和骨肉瘤,并且经过强烈化疗后达到缓解。取这些患儿的外周血单个核细胞培养扩增 CIK 细胞并研究期抗肿瘤细胞的细胞毒活性。所用瘤细胞系包括 K562 细胞系,2 个儿童胶质母细胞瘤系 G74 和 G77,4 个小儿肿瘤细胞系:婴幼儿急性淋巴细胞白血病细胞系 RS4t(4;11),TEL/AML 急性淋巴细胞白血病细胞系 REH t(12;21),小泡型横纹肌肉瘤细胞系 Rh-Cr t(2;13)和 Ewing 肉瘤细胞系 EW-Le t(11;22)。DC-CIK 细胞培养过程中定时加入  $IFN-\gamma$ 、抗 CD3 单抗和 IL-2。流式细胞术分析计数培养细胞,靶细胞乳酸脱氢酶(LDH)分泌水平检测作为 DC-CIK 细胞抗瘤活性的初步分析指标。研究结果显示,21 d 体外培养扩增后,来自 6 例患儿的  $CD3^+CD56^+$  DC-CIK 细胞平均占总细胞数的 28.3%,而在此之前检测的该细胞计数几乎为 0。DC-CIK 细胞溶解率中间数为 45.5%~64.5%,而外周血单个核细胞仅为 8%~12%。该研究结果将推进临床过继免疫治疗小儿肿瘤的发展,尤其是对强烈化疗和干细胞移植(特别是非骨髓移植)后 MRD 提供新的治疗方法。

### 5 DC-CIK 细胞在肝炎中的应用

在治疗白血病的初步临床试验中,童春容等<sup>[8]</sup>首次发现自体 DC-CIK 细胞可以明显抑制甚至清除白血病患者体内丙型肝炎病毒,患者肝功能不但没有加重,反而明显改善。临床治疗的 12 例各类急性白血病患者均接受了反复化疗和造血干细胞移植。12 例共接受 22 个疗程 DC-CIK 治疗,患者的血清 HCV-RNA 在 DC-CIK 回输后 2~3 个月时转阴。DC-CIK 治疗后肝功能指标逐渐下降或者肝功能指标较治疗前升高一段时间后再下降。DC-CIK 细胞治疗后患者的肝功能对化疗的耐受性明显提高。

高燕等<sup>[9]</sup>随机选择 16 例慢性乙型肝炎(CHB)患者用自体免疫活性细胞回输法治疗,追踪 52 周。在完整随访 14 例患者中,4 例患者治疗前后完成 2 次肝穿刺,其中 1 例患者结果提示治疗后肝细胞坏死和小叶内炎症程度明显减轻,纤维化程度改善。其余 3 例肝脏组织学变化不明显,但无加重或恶化。经过 52 周随访,14 例患者中有 6 例 HBV-DNA 阴转。抗 HBe 血清转化和 ALT 正常化比率为 42.86%。没有出现治疗相关的不良反应。自体 DC-CIK 细胞过继免疫治疗不会导致慢性乙肝患者肝组织损伤,同时,可通过某种非细胞毒性机制抑制乙肝病毒复制。

临床动态观察慢性乙肝患者 DC-CIK 细胞的增殖及杀伤活性发现,患者 DC-CIK 细胞的增殖和杀伤活性均低于正常人。推测 DC-CIK 细胞可能通过以下机制发挥抗肝炎病毒作用:体外培养 DC-CIK 细胞过程中采用的  $CD_3$  单抗(MabCD3)及

IL-2 等细胞因子直接激活扩增 DC-CIK, 回输后直接杀伤病毒感染的细胞; 研究显示 MabCD3 + IL-2 培养激活的 T 细胞分泌多种细胞因子如 INF- $\gamma$ 、IL-2 等。这些细胞因子可直接渗透细胞内抑制或杀伤病毒或通过改善体内的细胞因子环境, 上调病毒感染细胞的 MHC 分子及共刺激分子, 激活扩增病毒特异性 DC-CIK、巨噬细胞、自然杀伤细胞等, 从而清除病毒。

## 6 问题与展望

DC-CIK 细胞凭借增殖速度快, 杀瘤活性高的优势有望成为新一代过继细胞免疫治疗的首选方案。相关的临床 I、II 期试验已经开展, 但因临床试验时间较短, 数据欠丰富, 所以需继续扩大 DC-CIK 细胞治疗的临床应用范围, 以获取更多的临床资料。另外, 作为一个新的治疗手段, DC-CIK 细胞过继免疫治疗的方案和标准尚待进一步规范和统一。不良反应、应用时机、给药途径和方法等问题有待探讨。尤其不良反应, 虽然不似化疗药物那样具有明显细胞毒作用, 但培养体系中不少成分也具有一定不良反应, 如临床重视不够, 有时甚至可危及患者生命。如 IL-2、INF- $\gamma$  可引起寒战、发热、肌痛等感冒症状或胃肠道反应, 需引起临床足够重视。

## 参考资料

- [1] MARTEN A, ZISKE C, SCHOTTKER B, et al. Interactions between dendritic cells and cytokine-induced killer cells lead to an activation of both populations [J]. J Immunother, 2001, 24:502 - 510.
- [2] LINN Y C, HUI K M. Cytokine-induced killer cells:

NK-like T cells with cytolytic specificity against leukemia[J]. Leuk Lymphoma, 2003, 44:1457 - 1462.

- [3] 童春容, 耿彦彪, 陆道培, 等. 自体细胞因子诱导的杀伤细胞治疗急性白血病的临床研究[J]. 北京医科大学学报, 2000, 32(5):473 - 477.
- [4] 张乐萍, 陆爱东, 童春容, 等. 细胞因子诱导的杀伤细胞/白细胞介素-2 治疗儿童急性淋巴细胞白血病微小残留病疗效观察[J]. 实用儿科临床杂志, 2003, 18(3):185 - 186.
- [5] ALVARNAS J C, LINN Y C, HOPE E G, et al. Expansion of cytotoxic CD3 + CD56 + cells from peripheral blood progenitor cells of patients undergoing autologous hematopoietic cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2001, 7:216 - 222.
- [6] LEEMHUIS T, WELLS S, SCHEFFOLD C, et al. A phase I trial of autologous cytokine-induced killer cells for the treatment of relapsed Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphoma[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2005, 11:181 - 187.
- [7] HONG G S, PETVISES S, WORAPON GPAIBOON S, et al. Generation of CD3 + CD56 + cytokine-induced killer cells and their in vitro cytotoxicity against pediatric cancer cells[J]. Int J Hematol, 2003, 77:175 - 179.
- [8] 童春容, 耿彦彪, 江倩, 等. 自体细胞因子诱导的杀伤细胞治疗白血病合并丙型肝炎的首次报告[J]. 北京医科大学学报, 2000, 32(3):251 - 255.
- [9] 高燕, 魏来, 陈红松, 等. 免疫活性细胞回输法治疗慢性乙型肝炎不引起肝组织损害[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11(7):391 - 393.

(收稿日期:2007-10-25)