

## 半嵌合细胞因子诱导的杀伤细胞治疗晚期非小细胞肺癌的疗效

金婷<sup>1,2</sup>, 王涛<sup>1</sup>, 刘天懿<sup>2</sup>, 王刚<sup>2</sup>, 吴亮亮<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北京大学公共卫生学院, 北京 100191; <sup>2</sup>解放军总医院肿瘤中心实验室, 北京 100853

**摘要:** **目的** 观察半嵌合细胞因子诱导的杀伤细胞 (cytokines induced killer cells, CIK) 治疗对中晚期非小细胞肺癌患者生存期的影响。**方法** 回顾性分析 2010–2013 年在解放军总医院接受治疗的 47 例中晚期非小细胞肺癌患者。其中观察组 24 例, 对照组 23 例。观察组为经过半嵌合 CIK 细胞免疫治疗联合化疗方案的患者, 对照组为仅采用化疗方案的患者, 比较两治疗组的生存时间和免疫状态。**结果** 观察组治疗后外周血中总 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 细胞百分比显著高于对照组 ( $P < 0.001$ ); 观察组中位无进展生存时间及 1 年生存率显著高于对照组 (7.3 个月 vs 5.3 个月, 66.7% vs 41.4%) ( $P < 0.001$ )。**结论** 半嵌合 CIK 细胞联合化疗治疗非小细胞肺癌可以改善患者机体的免疫状况, 有效延长患者生存时间。

**关键词:** 半嵌合细胞因子诱导的杀伤细胞; 非小细胞肺癌; 生存期

中图分类号: R 734.2 文献标志码: A 文章编号: 2095–5227(2014)10–1008–04 DOI: 10.3969/j.issn.2095–5227.2014.10.009

网络出版时间: 2014–06–17 11:12 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20140617.1112.003.html>

### Efficacy of semi-allogeneic cytokines induced killer in treatment of non-small cell lung cancer during survival period: A 3-year follow up study

JIN Ting<sup>1,2</sup>, WANG Tao<sup>1</sup>, LIU Tian-yi<sup>2</sup>, WANG Gang<sup>2</sup>, WU Liang-liang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China; <sup>2</sup>Tumor Center Lab, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: WANG Tao. Email: [twang@bjmu.edu.cn](mailto:twang@bjmu.edu.cn)

**Abstract: Objective** To investigate the survival effect of advanced non-small cell lung cancer treating with semi-allogeneic cytokines induced killer cells (CIK). **Methods** Clinical data about 47 patients with advanced non-small cell lung cancer admitted to Chinese PLA General Hospital from 2010 to 2013 were retrospectively analyzed. The patients were divided into two groups, 24 cases of observation group and 23 cases of control group. The observation group received semi-allogeneic CIK cells combined with chemotherapy while the control group was treated with chemotherapy only. Survival time and immune state of the two groups were compared. **Results** After treatment, the percentage of CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> cell in peripheral blood of the observation group was significantly higher ( $P < 0.05$ ) than that of the control group. The median progression free survival (PFS) and 1-year survival rate of observation group was significantly higher than that of the control group (7.3 months vs 5.3 months, 66.7% vs 41.4%,  $P < 0.001$ ). **Conclusion** Semi-allogeneic CIK cells combined with chemotherapy in the treatment of non-small cell lung cancer can improve the patients' immune status and prolong patients' survival period effectively.

**Key words:** semi-allogeneic cytokines induced killer cells; non-small cell lung cancer; survival period

肺癌是全球最主要的癌症死亡原因之一, 其 5 年生存率仅为 15%<sup>[1]</sup>。在所有肺癌患者中, 非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者占 80% 左右。大多数非小细胞肺癌患者早期症状不明显, 确诊时已经出现局部浸润、远端转移, 导致无法手术。化疗为临床治疗非小细胞肺癌的常规方法。目前, 临床治疗的标准化疗方案是含铂两药化疗方案。研究表明传统的化疗治疗晚期非小细胞肺癌, 疗效已经到达一个平台期, 没有明显的突破, 并伴随着严重的不良反应。近年, 一些靶向治疗药物被纳入非小细胞肺癌的治疗方案。

与传统化疗药物相比, 靶向治疗的不良反应有所降低, 也能改善患者的生存周期, 但是其治疗效果与患者的基因型有关, 且经常会出现耐药的情况, 限制了其临床应用<sup>[2]</sup>。因此, 需要发展一种新的治疗手段提高非小细胞肺癌的治疗效果。研究发现细胞因子诱导的杀伤细胞 (cytokines induced killer cells, CIK) 治疗能显著改善患者的免疫状态, 提高生活质量, 并能延长其生存期<sup>[3–5]</sup>。20 世纪 90 年代发现, CIK 细胞可抗击多种恶性肿瘤, 对正常组织细胞无毒性作用, 并且在多种肿瘤治疗中取得良好效果。但是由于化疗使很多患者的血细胞产生抑制, 无法进行自体的 CIK 细胞治疗, 而目前关于采用半嵌合 CIK 细胞治疗的报道较少。因此, 笔者对解放军总医院肿瘤中心实验室 2010–2013 年采用半嵌合 CIK 细胞联合化疗治疗的中晚

收稿日期: 2014–03–25

作者简介: 金婷, 女, 本科, 主管技师。研究方向: 肿瘤免疫学。

Email: [tinkingt@126.com](mailto:tinkingt@126.com)

通信作者: 王涛, 男, 博士, 副研究员。Email: [twang@bjmu.edu.cn](mailto:twang@bjmu.edu.cn)

期非小细胞肺癌患者进行了回顾性研究,为中晚期非小细胞肺癌患者的治疗提供依据。

### 对象和方法

**1 研究对象** 从2010年1月-2013年12月在解放军总医院肿瘤内科和肿瘤中心实验室接受治疗的中晚期非小细胞肺癌患者。根据患者的治疗情况将研究对象分为单纯化疗组(对照组)23例,化疗+半嵌合CIK细胞治疗组(观察组)24例。按年龄、性别、临床分期,组织分型等方面平衡2组基线。纳入标准:年龄18~80岁;预计生存期>3个月,KPS评分 $\geq 70$ ;白细胞及分类正常;肝、肾功能正常;无心律失常、心衰或严重的冠状动脉疾病;无自身免疫性疾病;排除孕妇及哺乳期妇女。对照组为同时期在肿瘤内科接受化疗的中晚期非小细胞肺癌患者,纳入标准同上。

**2 治疗** 两组均采用培美曲塞或多西他赛+顺铂,3周方案。化疗结束3d后,将CIK细胞混合于含1%人血清白蛋白的100ml 0.9%氯化钠注射液中,2h内经静脉回输入患者体内。对照组仅采用化疗方法。半嵌合CIK细胞是指抽取患者健康直系亲属的外周静脉血进行CIK细胞培养,在抽血前需对患者及其献血人做HLA基因配型。CIK细胞治疗每半个月为一个周期,每个患者须完成6个周期以上。每周静脉输注CIK细胞数为 $3 \times 10^9 \sim 6 \times 10^9$ 个/ml。所有患者对治疗方式知情同意。

**3 随访** 采用统一制定的调查表对患者的治疗进程和生存期进行随访并记录治疗数据,出院患者则采用电话随访的方式。无进展生存期(progression free survival, PFS)定义为自治疗开始至出现有客观证据证明疾病进展的时间。总生存期(overall survival, OS)定义为自治疗开始至患者出现任何原因导致死亡的时间。数据截止时仍存活的患者,以病历记录的最后日期作为截止日期。随访截止时间为2013年12月31日。

**4 统计学分析** 用Epidata3.1建立数据库,SPSS17.0软件对数据进行分析。T细胞亚群比较采用两独立样本非参数检验法;对生存时间分析应用Kaplan-Meier法;Log-rank对生存曲线的差异进行显著性检验;COX回归进行多因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 结果

**1 研究对象一般情况** 本研究在2010-2013年共随访符合纳入标准的47例中晚期非小细胞肺癌患者,观察组24例,对照组23例。其中男性35例(74%),女性12例(26%);年龄44~69岁,平均56.5岁。疾病分期:Ⅲ期8例、Ⅳ期39例。病理类型:腺癌25例(包括细支气管肺癌12例,乳头状腺癌3例,肺泡细胞癌10例)、鳞型细胞癌15例、大细胞癌7例。存在远处转移者(骨、肝、脑)39例。两组患者在性别、年龄构成、疾病分期、病理类型上无统计学差异( $P > 0.05$ )。见表1。

**2 免疫状态分析** 观察组治疗后的 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD56^+$ 、 $CD3^+CD8^+CD56^+$ 细胞百分比均明显高于治疗前( $P < 0.001$ ),同时也高于对照组治疗后( $P < 0.001$ )。两组 $CD4^+CD25^+$ 细胞百分比,治疗前差异无统计学意义,治疗后观察组显著降低( $P <$

表1 两组患者一般资料

Tab. 1 General information of patients in two groups (n, %)

	Observation (n=24)	Control (n=23)	$\chi^2$	P
Age (yrs)	54.5 ± 7.79	55.3 ± 6.04	-0.351 <sup>a</sup>	0.726
Gender			0.363	0.948
M	17(71)	18(78)		
F	7(29)	5(22)		
Clinical stages			0.725	0.867
Ⅲ	3(13)	5(22)		
Ⅳ	21(87)	18(78)		
Histology			0.567	0.989
Adenocarcinoma	14(58)	11(48)		
Squamous carcinoma	7(29)	8(35)		
Large cell carcinoma	3(13)	4(17)		
Metastasis			0.725	0.867
Yes	21(88)	18(78)		
No	3(12)	5(22)		
Smoke			0.662	0.882
Yes	15(63)	17(74)		
No	9(37)	6(26)		

<sup>a</sup>t test; the rest is the chi square test

表2 两组外周血中各细胞比例

Tab. 2 Peripheral blood cell proportion in two groups ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Group	CD3 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>
Observation				
Before the treatment	49.1 ± 2.6	18.3 ± 1.3	19.1 ± 2.2	18.4 ± 2.1
After the treatment	58.3 ± 3.1 <sup>ab</sup>	40.3 ± 1.1 <sup>ab</sup>	39.6 ± 1.5 <sup>ab</sup>	10.5 ± 1.2 <sup>ab</sup>
Control				
Before the treatment	43.4 ± 2.1	19.3 ± 1.8	19.4 ± 2.1	17.5 ± 1.4
After the treatment	40.1 ± 2.5	17.4 ± 2.1	18.3 ± 1.3	18.7 ± 2.3

<sup>a</sup> $P < 0.001$ , vs before treatment; <sup>b</sup> $P < 0.001$ , vs control group

0.001), 而对照组略有上升(表2)。说明半嵌合 CIK 细胞治疗能有效改善患者的免疫状态。

**3 总生存分析** 截止到2013年12月31日, 两组47例中死亡42例, 仅观察组5例存活。观察组1年生存率为66.7%, 相比于对照组的41.4%有显著提高( $P < 0.001$ )。其中, 观察组中位生存期为19个月(95% CI: 14.1~23.8个月), 对照组的中位生存期为11个月(95% CI: 6.3~15.7个月)(图1)。观察组中位无进展生存时间为7.3个月(95% CI: 5.0~9.1个月), 高于对照组的5.3个月(95% CI: 4.0~6.0个月)( $P=0.003$ )。见图2。

**4 影响患者总生存期的多因素分析** COX 多因素分析发现, 是否接受半嵌合 CIK 细胞治疗、年龄 < 55 岁、是否有吸烟史、是否有远处转移是患者总生存期的影响因素。见表3。

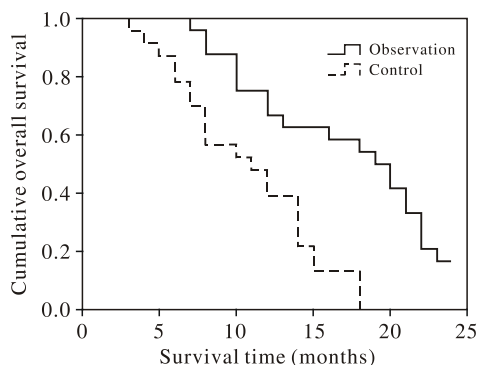


图1 总生存时间曲线图

Fig.1 Overall survival curve

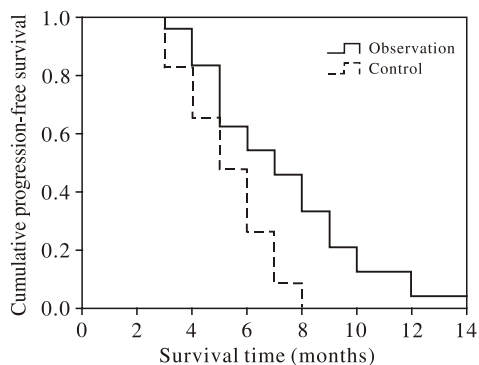


图2 无进展生存时间曲线

Fig.2 Progression-free survival curve

表3 COX 回归模型分析

Tab.3 Cox regression model analysis

Factor	Regression coefficient	RR (95% CI)	P
Semi-allogeneic CIK	-0.745	0.423(0.287-0.610)	< 0.001
Age < 55 years	-0.324	0.723(0.539-0.970)	0.030
Smoke	1.262	2.533(1.515-3.963)	< 0.001
Metastasis	0.571	1.760(1.226-2.554)	0.002

## 讨论

CIK 细胞是以  $CD3^+CD56^+$  细胞为主的免疫效应细胞群, 兼具有 T 细胞的抗瘤活性和自然杀伤细胞 (natural killer cells, NK) 的非主要组织相容性复合物 (major histocompatibility complex, MHC) 限制的优点, 可以抵制多种实体瘤与血液肿瘤<sup>[6-8]</sup>。与其他肿瘤免疫治疗方式相比, CIK 细胞具有体外增殖快、杀瘤谱广、高活性等优势<sup>[9]</sup>。CIK 细胞可表达多种细胞因子受体, 并可通过静脉输注迁移到肿瘤部位, 控制肿瘤的生长<sup>[10-12]</sup>。这些特性使 CIK 细胞成为最适用于临床的免疫治疗方案。本研究按照 Runmei 等的方法培育了半嵌合 CIK 细胞, 并联合化疗治疗非小细胞肺癌的结果发现, 患者1年生存率及无进展生存时间均较单纯化疗有所提高, 差异有统计学意义。本研究与任庆等<sup>[13]</sup>的研究取得类似结果, 说明 CIK 细胞可提高非小细胞肺癌的治疗效果, 在综合治疗中具有一定的应用价值。

恶性肿瘤的生长主要取决于宿主的免疫状态, 当宿主免疫功能低下或受抑制时, 肿瘤的发病率与死亡率均会增高。有报道表明正常人外周血中各免疫细胞的比例均较肿瘤患者外周血中各免疫细胞的比例要高<sup>[14]</sup>。改善肿瘤患者外周血中免疫细胞的比例, 使其逐渐向正常值靠拢, 对于肿瘤患者来说无疑是提高其抗肿瘤能力的有效手段。本研究发现: 非小细胞肺癌患者在采用了半嵌合 CIK 细胞免疫治疗后, 外周血中的  $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^+CD56^+$  等细胞的比例较之前有了明显的提高, 这也就说明半嵌合 CIK 细胞免疫治疗改善了患者的免疫状态, 进而延长了肿瘤患者的带瘤生存时间, 患者的总生存期也得以延长。

之前 CIK 细胞治疗的临床应用多以肿瘤患者自体 CIK 细胞为主, 而肿瘤患者由于肿瘤的生长发展过程抑制了机体各项的免疫功能及活性。尤其是晚期肿瘤患者, 免疫功能受到明显抑制, 同时机体也会产生抑制性细胞, 阻碍杀伤性 T 细胞的生理作用, 造成自体 CIK 细胞体外扩增与杀瘤作用下降。研究发现, 健康者体内 CIK 细胞的增殖能力及杀瘤活性均显著高于肿瘤患者<sup>[15-16]</sup>。本研究采用患者健康直系亲属的外周静脉血进行 CIK 细胞培养, 在抽血前对患者及其献血者做 HLA 基因配型, 以降低排斥反应的发生。半嵌合 CIK 细胞治疗的安全性在以往的研究中得到过证实<sup>[17]</sup>。

以上研究表明,半嵌合CIK细胞治疗对于晚期肿瘤患者是可行的。

本研究中,我们对两组患者的总生存时间进行了COX多因素分析,发现半嵌合CIK细胞治疗对中晚期非小细胞肺癌患者生存期的延长起到促进的作用。进一步证实了半嵌合CIK细胞治疗在非小细胞肺癌治疗中的有效性。

综上所述,虽然CIK细胞的杀瘤机制尚未完全阐明,但其在杀伤肿瘤、延长肿瘤患者生存期等方面优势显著。如果肿瘤患者能在肿瘤发生远处转移前就采用常规化的细胞免疫治疗,患者的获益会更多。肿瘤免疫治疗的时机与个性化治疗方案是今后研究的主要目标,值得进一步开展大样本的临床研究。

#### 参考文献

- 1 Yang L, Ren B, Li H, et al. Enhanced antitumor effects of DC-activated CIKs to chemotherapy treatment in a single cohort of advanced non-small-cell lung cancer patients [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62 (1): 65-73.
- 2 Farhat FS, Houhou W. Targeted therapies in non-small cell lung carcinoma: what have we achieved so far? [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2013, 5 (4): 249-270.
- 3 Shi SB, Ma TH, Li CH, et al. Effect of maintenance therapy with dendritic cells: cytokine-induced killer cells in patients with advanced non-small cell lung cancer [J]. *Tumori*, 2012, 98 (3): 314-319.
- 4 Yang L, Ren B, Li H, et al. Enhanced antitumor effects of DC-activated CIKs to chemotherapy treatment in a single cohort of advanced non-small-cell lung cancer patients [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62 (1): 65-73.
- 5 Li R, Wang C, Liu L, et al. Autologous cytokine-induced killer cell immunotherapy in lung cancer: a phase II clinical study [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61 (11): 2125-2133.
- 6 Niu Q, Wang W, Li Y, et al. Cord blood-derived cytokine-induced killer cells biotherapy combined with second-line chemotherapy in the treatment of advanced solid malignancies [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11 (4): 449-456.
- 7 Linn YC, Hui KM. Cytokine-induced NK-like T cells: from bench to bedside [J/OL]. <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2010/435745>
- 8 Wang S, Du W, Zhang H, et al. Biological characteristics and antitumor activity of CIK cells activated by recombinant human fibronectin for human lung cancer cell lines in vitro [J]. *Zhongguo fei ai za zhi*, 2010, 13 (4): 277-281.
- 9 孔炯, 蒋敬庭, 吴昌平. 细胞因子诱导的杀伤细胞的基础研究新进展 [J]. *医学综述*, 2009, 15 (13): 1938-1941.
- 10 Nishimura R, Baker J, Beilhack A, et al. In vivo trafficking and survival of cytokine-induced killer cells resulting in minimal GVHD with retention of antitumor activity [J]. *Blood*, 2008, 112 (6): 2563-2574.
- 11 Thorne SH, Negrin RS, Contag CH. Synergistic antitumor effects of immune cell-viral biotherapy [J]. *Science*, 2006, 311 (5768): 1780-1784.
- 12 Marin V, Dander E, Biagi E, et al. Characterization of in vitro migratory properties of anti-CD19 chimeric receptor-redirectioned CIK cells for their potential use in B-ALL immunotherapy [J]. *Exp Hematol*, 2006, 34 (9): 1219-1229.
- 13 任庆, 熊锐华, 田秀荣, 等. CIK细胞治疗晚期恶性肿瘤的临床研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2012, 32 (10): 55-57.
- 14 张文杰, 冯志山, 王智华. 不同类型恶性肿瘤患者T淋巴细胞表型分析 [J]. *河北医药*, 2013, 12 (23): 3548-3549.
- 15 牟青杰, 王洁, 崔为发, 等. 三种来源CIK细胞体外增殖及杀伤活性比较 [J]. *山东医药*, 2010, 50 (11): 7-9.
- 16 黄建云, 邓晖, 高小华, 等. 健康人和肿瘤患者CIK细胞的生物学特性比较及应用 [J]. *广东医学*, 2011, 32 (20): 2621-2624.
- 17 邓笑伟, 徐铭宝, 高锦, 等. 不同来源CIK与DC细胞联合治疗中晚期肺癌的临床研究 [J]. *科技导报*, 2008, 26 (11): 35-38.