

自体 CIK 细胞联合 IL-2 治疗难治性脾非霍奇金淋巴瘤 1 例

杨洋¹, 杨波¹, 脱帅², 卢学春¹, 朱宏丽¹, 脱朝伟², 蔡力力¹, 迟小华³, 于睿莉¹, 陈云燕⁴, 张文英¹, 刘洋¹, 王瑶¹, 代汉仁¹, 韩为东¹, 张峰⁵, 姚善谦¹

¹解放军总医院, 北京 100853; ²解放军第 202 医院, 沈阳 110003; ³解放军第二炮兵总医院 药学部, 北京 100800; ⁴解放军第二炮兵后勤部保健办, 北京 100800; ⁵中国科学院北京基因组研究所, 北京 100029

摘要: **目的** 观察自体细胞因子诱导的杀伤细胞输注联合 IL-2 治疗老年淋巴瘤的有效性和安全性。**方法** 1 例老年脾脏恶性淋巴瘤患者在经过手术切除脾脏原发肿瘤、8 个疗程的 R-CHOP 方案免疫化疗后出现淋巴瘤肝脏转移, 此时采集患者外周血单核细胞, 在体外经干扰素- γ (IFN- γ)、白介素-2 (IL-2) 和抗 CD3 单克隆抗体诱导成 CIK 细胞, 每次回输细胞数为 $2-3 \times 10^9$ 个, 回输后应用 IL-2 100mU/d, 皮下注射, 连续 10d, 28d 为 1 个周期。观察治疗前后患者肝功能、肿瘤相关生物学指标及影像学变化。**结果** 患者共完成 8 个周期的 CIK 细胞输注, 每次回输后未出现不良反应, 肝功能指标、LDH 水平均降至正常, PET/CT 检查示治疗后肝脏淋巴瘤转移灶消失, 达到完全缓解。**结论** 自体 CIK 细胞输注联合 IL-2 疗法对于清除治疗后淋巴瘤的微小残留灶和 (或) 转移灶安全有效。

关键词: 细胞因子诱导的杀伤细胞; 脾脏淋巴瘤; 老年人

中图分类号: R 733.42 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-1139(2012)03-0285-03 **DOI:** CNKI:11-3275/R.20111107.1115.002

网络出版时间: 2011-11-07 11:15:44

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20111107.1115.002.html

Treatment of refractory non-Hodgkin's lymphoma of the spleen with combined autologous cytokine induced killer cells and IL-2: A case report

YANG Yang¹, YANG Bo¹, TUO Shuai², LU Xue-chun¹, ZHU Hong-li¹, TUO Chao-wei², CAI Li-li¹, CHI Xiao-hua³, YU Rui-li¹, CHEN Yun-yan⁴, ZHANG Wen-ying¹, LIU Yang¹, WANG Yao¹, DAI Han-ren¹, HAN Wei-dong¹, ZHANG Feng⁵, YAO Shan-qian¹

¹Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ²Chinese PLA 202 Hospital, Shenyang 110003, Liaoning province, China; ³Department of Pharmacy, General Hospital of Chinese PLA Second Artillery Forces, Beijing 100800, China; ⁴Health Care Office, Logistics Department, Chinese PLA Second Artillery Forces, Beijing 100800, China; ⁵Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100029, China

Corresponding author: LU Xue-chun. Email: luxuechun@126.com

Abstract: Objective To observe the efficiency and safety of combined autologous cytokine induced killer (CIK) cells and IL-2 in treatment of splenic lymphoma in old patients. **Methods** Hepatic metastasis of splenic primary malignant lymphoma occurred in an old patient after splenectomy and 8 cycles of R-CHOP chemotherapy. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were collected. CIK cells were induced with in vitro interferon gamma (IFN- γ), IL-2 and anti-CD3 monoclonal antibody (mAb). Liver function, tumor-related biological indexes and image changes were observed after $2-3 \times 10^9$ CIK cells were re-transfused into the patient each time and IL-2 100mU/d was subcutaneously injected for 10 days, 28 days a cycle. **Results** No adverse reaction occurred in the patient after 8 cycles of CIK cells transfusion. The liver function and serum LDH level became normal ($P < 0.05$). PET-CT showed that hepatic metastasis of lymphoma disappeared and completely relieved. **Conclusion** Combined autologous CIK cells and IL-2 is safe and effective for small residual or metastatic foci of lymphoma in old patients after splenectomy.

Key words: cytokine induced killer cells; primary malignant lymphoma of the spleen; aged

脾脏是人体最大的淋巴网状器官, 虽然临床上淋巴瘤累及脾脏并不少见, 但原发脾脏恶性淋巴瘤 (primary splenic lymphoma, PSL) 罕见^[1-2], 其

病因可能与感染、遗传或其他脾脏慢性疾病有关。目前治疗主要以手术切除为主, 结合放疗以及化疗^[3]。由于衰老所致生理机能及免疫功能退化, 使老年患者对细胞毒药物化疗耐受性差, 疗效无法维持, 给生存期和生活质量带来不利影响。细胞因子诱导的杀伤细胞 (cytokine induced killer, CIK) 是目前抗肿瘤过继细胞免疫治疗最有效的方案^[4]。本文报道 1 例老年脾脏恶性淋巴瘤在经手术、化疗序贯自体 CIK 细胞联合 IL-2 治疗后肝脏微转移灶消失, 获得完全缓解。

收稿日期: 2011-09-07

修回日期: 2011-10-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30772597); 解放军总医院科技创新苗圃基金 (11KMM24); 中央保健研究基金 (B2009B115); 科技部新药创制重大专项 (2008ZXJ09001-019)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30772597)

作者简介: 杨洋, 女, 硕士, 医师。研究方向: 老年血液肿瘤。Email: yangyangbj1022@163.com 并列第一作者: 杨洋、杨波。

通信作者: 卢学春, 男, 博士, 主任医师, 副主任。Email: luxuechun@126.com

病例资料

患者男性, 57岁, 2008年4月因左上腹疼痛4h急诊入住解放军总医院。病程中无发热、盗汗及体重下降。入院查体: 颈部及双侧腹股沟可触及数个1cm左右淋巴结, 质软, 活动度好, 与周围组织无粘连, 余全身浅表淋巴结未触及肿大, 肝脾肋下未触及。既往高血压、脂肪肝等病史。超声检查发现脾脏上极可见直径约5.1cm×5.0cm×5.0cm低回声结节, 入院后腹部CT及MRI均示脾脏多发实性占位, 肿块最大径45mm×57mm, 全身PET/CT示脾脏多发异常高代谢灶, 最大放射性摄取值(SUV_{max})12-18(图1A), 考虑恶性疾病可能性大, 不除外淋巴瘤, 余未见异常代谢。生化示血清乳酸脱氢酶(LDH)、γ谷氨酰转肽酶(GGT)升高。于2008年5月9日行脾脏切除术, 脾脏肿瘤组织病理学证实为脾脏非霍奇金淋巴瘤(弥漫大B细胞性, 非生发中心来源), 脾门淋巴结亦见肿瘤浸润, 免疫组化CD20(+++), CD79α(+++), CD3(-), ki-67+>70%, MUM-1(+), PAX-5(+)(图2)。骨髓穿刺及活检未见淋巴瘤细胞浸润。临床诊断为脾脏弥漫大B细胞淋巴瘤 III期A, 累及脾门淋巴结、颈部和腹股沟淋巴结。

治疗方案: 2008年5-10月给予8疗程的R-CHOP方案化疗, 过程顺利, 复查B超未发现异常肿大淋巴结, 临床疗效评价为PR。2008年11月初复查腹部超声及腹部增强CT均考虑肝右叶占位, 转移癌的可能性大。全身PET/CT检查示肝左叶可见一1.5cm左右的高放射性摄取灶(SUV_{max}5-8)(图1B), 血生化示转氨酶及LDH再次升高。考虑为淋巴瘤肝脏转移, 于2008年12月开始给予自体CIK细胞免疫治疗。

自体CIK细胞免疫治疗方案为: 采集外周血单核细胞之前1周开始给予胸腺五肽注射液20mg/d, 肌肉注射, 连续1周; 在患者签署知情同意书以后, 晨起空腹采集外周静脉血54ml, 分离单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC), 在符合本院基础所免疫室GMP的实验条件下, 用无血清培养基调整细胞浓度, 在每毫升细胞悬液中加入rhIFN-γ 2 000U, 置于透气性培养袋中37℃, 5% CO₂ 悬浮培养, 次日加rhIL-2 1 000U/ml, anti-CD3 McAb 50ng/ml, 培养4、7、10、13d进行细胞表型分析, 调整细胞浓度, 补充IL-2。回输时CIK细胞表型符合如下标准: CD3+ 细胞比例>70%, CD8+ 细胞比例>40%, CD3+CD56+ 细胞比例不

低于30%。采用苔盼兰染色法检测细胞活力并计数细胞数量。于培养第14天通过静脉将CIK细胞回输给患者。每次回输CIK细胞数量在2-3×10⁹个, 每疗程连续回输2次, 回输后应用rhIL-2 100mU/d, 皮下注射, 连续10d即为一个疗程。在距上一疗程回输2周后进行下一疗程的采血、制备CIK细胞。患者连续接受8个疗程CIK细胞输注。CIK细胞治疗期间, 每2周复查1次血生化, 观察肝功能和LDH变化。8疗程后复查PET-CT示肝转移灶消失(图1C), 肝功能、LDH恢复正常(图3、4), 临床疗效评价为CR, 患者目前生活质量好, 定期医院复查未见淋巴瘤复发。

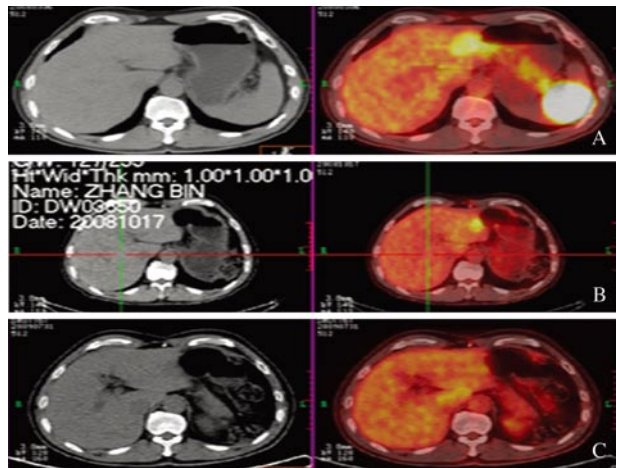


图1 PET/CT检查

A: 术前可见脾内、肝门部病灶呈高代谢放射性浓聚(SUV值约11); B: 手术切除脾脏及8疗程R-CHOP化疗后, 肝门部病灶仍有代谢较前下降的放射性浓聚; C: 8疗程自体CIK细胞联合IL-2免疫治疗后, 肝门部病灶放射性浓聚消失。

Fig 1 PET/CT showing lesions with hypermetabolism in the splenic hilum and hepatic hilum(SUV value: 11) before operation(A), still lesions in the hepatic hilum with improved hypermetabolism after operation and 8 courses of R-CHOP chemotherapy(B), no lesion with hypermetabolism in the hepatic hilum after 8 cycles of combined autologous CIK cells transfusion and IL-2(C)

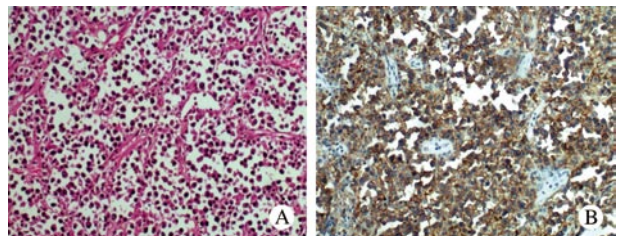


图2 脾脏肿瘤的组织病理学特征

A: 异常大淋巴样细胞弥漫浸润脾脏组织, 白髓和红髓消失(HE染色, ×200); B: 瘤细胞胞膜和胞浆CD20染色强阳性(LSAB法, ×400)。

Fig 2 Histopathological features of splenic tumor

A: Diffuse infiltration of large lymphoid cells into spleen tissues and disappeared white pulp and red pulp(HE×200); B: Strong expression of CD20 in membrane and cytoplasm of tumor cells (LSAB×400).

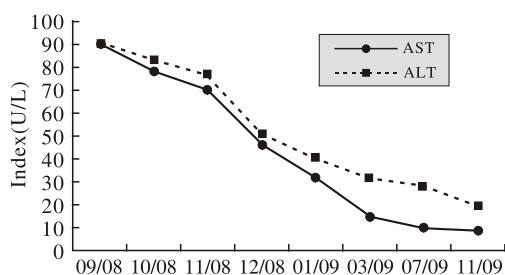


图 3 患者 CIK 细胞治疗期间血清谷草转氨酶 (AST) 和谷丙转氨酶 (ALT) 变化

Fig 3 AST and ALT levels during CIK cells treatment

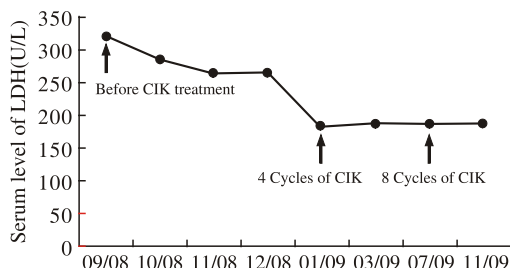


图 4 患者接受 CIK 细胞治疗期间 LDH 变化趋势

Fig 4 LDH levels during CIK cells treatment

讨论

结外淋巴瘤主要以咽淋巴环淋巴瘤和胃肠道淋巴瘤为主，而 PSL 较为罕见^[5-6]。目前 PSL 治疗包括手术、放疗、化疗。多数学者认为，脾切除不仅可以改善症状，而且是一种诊断和治疗手段。行剖腹探查术可明确肿瘤浸润范围，切除脾脏及其周围受侵的组织及脏器，无法切除者应行组织活检术，且常规行肝及腹腔淋巴结活检，为术后分期、分型及放化疗提供依据。术后为防止可能出现的播散，仍以辅助化疗为主，化疗方案多选用 CHOP 或 BACOP。该患者以急性左上腹疼痛起病，入院查腹部超声、CT、MRI 和全身 18FDG-PET/CT 检查，发现脾脏占位，生化示血清 LDH 升高，首先采用手术切除脾脏肿瘤，组织病理学证实为脾脏弥漫大 B 细胞淋巴瘤，术后予 8 个疗程的 R-CHOP 方案化疗，并于化疗后再次出现淋巴瘤肝脏转移，加之患者本身合并其他系统慢性病，已无法再次接受化疗。

CIK 细胞免疫治疗是近些年来新出现的过继免疫细胞疗法，是生物治疗的一种，并且在血液系统肿瘤的治疗上取得了较好的疗效^[7-9]。目前研

究表明，CIK 细胞较以往的淋巴因子激活杀伤细胞 (LAK)、肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL) 具有显著的临床治疗优势，主要表现为：体外培养增殖快、杀瘤活性高、抗瘤谱广、对多发耐药肿瘤敏感和血液学毒性小。国内外学者初步研究表明，CIK 细胞在治疗多种晚期实体瘤、复发进展淋巴瘤及造血干细胞移植后清除微小残留病显示出了一定疗效。鉴于以上原因，我们对该患者实施了 8 个疗程的 CIK 细胞联合 IL-2 治疗，结果表明，CIK 细胞治疗后，患者一般情况明显改善，生活质量显著提高，精力和体力都得到明显恢复，PET/CT 检查提示肝转移灶消失，未见肿瘤复发和转移。CIK 细胞治疗期间定期检测患者的血生化，结果提示，随着 CIK 疗程数增加，肝功能指标逐渐下降，淋巴瘤相关生物学指标血清 LDH 亦逐渐下降至正常水平。综上所述，该患者的成功治疗为淋巴瘤提供了一种新的治疗模式，也为 CIK 细胞联合手术、化疗等其他疗法提供了有效指导。

参考文献

- 1 Brox A, Shustik C. Non-Hodgkin's lymphoma of the spleen [J]. *Leuk Lymphoma*, 1993, 11 (3-4): 165-171.
- 2 Kehoe J, Straus DJ. Primary lymphoma of the spleen. Clinical features and outcome after splenectomy [J]. *Cancer*, 1988, 62 (7): 1433-1438.
- 3 徐琳, 卞正乾, 吴志勇. 原发性脾肿瘤 39 例诊治分析 [J]. *外科理论与实践*, 2007, 12 (2): 130-132.
- 4 Schmidt-Wolf IG, Finke S, Trojaneck B, et al. Phase I clinical study applying autologous immunological effector cells transfected with the interleukin-2 gene in patients with metastatic renal Cancer, colorectal Cancer and lymphoma [J]. *Br J Cancer*, 1999, 81 (6): 1009-1016.
- 5 Johnston A, Salles G. Prognostic systems for lymphomas [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2008, 22 (5): 839-861.
- 6 Friedlander MA, Wei XJ, Iyengar P, et al. Diagnostic pitfalls in fine needle aspiration biopsy of the spleen [J]. *Diagn Cytopathol*, 2008, 36 (2): 69-75.
- 7 刘洋, 包尔宁, 杨波, 等. 自体 CIK 细胞输注治疗老年骨髓增生异常综合征的临床研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19 (3): 787-792.
- 8 杨波, 卢学春, 朱宏丽, 等. 自体 CIK 细胞联合 IL-2 治疗老年人 B 细胞性恶性淋巴瘤的临床研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2010, 18 (5): 1244-1249.
- 9 蔡力力, 杨波, 卢学春, 等. 免疫功能检测对评估细胞因子诱导的自体杀伤细胞治疗老年血液肿瘤疗效的研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2010, 18 (5): 1250-1255.