

杀伤细胞联合化疗治疗中晚期肺癌的临床疗效分析

周美玉,许国发,王泽新,刘如燕,龙艺,李艳彦
(重庆市涪陵中心医院肿瘤科,重庆 408099)

摘要:目的 观察细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK 细胞)联合化疗治疗中晚期肺癌的临床疗效。方法 选择 2010 年 10 月至 2013 年 1 月经重庆市涪陵中心医院病理活检确诊的 120 例肺癌患者为研究对象,将其分为治疗组和对照组,每组 60 例。治疗组给予 CIK 细胞联合化疗治疗,对照组给予单纯化疗,比较两组患者治疗后免疫功能、B7H4 蛋白水平、生活质量(以 KPS 评分为标准)、生存时间。结果 治疗组治疗后 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 百分比治疗前提高,差异有统计学意义($t=2.39, P=0.02$)。治疗组治疗前后 B7H4 蛋白水平分别为 (61.08 ± 9.52) 、 $(55.86 \pm 7.80) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,差异有统计学意义($t=6.34, P=0.00$)。治疗组和对照组治疗后患者生活质量分别为 88.3% 和 71.7%,差异有统计学意义($\chi^2=5.208, P=0.039$);治疗组和对照组中位生存时间分别为 20 个月和 17 个月,差异有统计学意义($\chi^2=7.113, P=0.008$)。结论 CIK 联合化疗治疗中晚期肺癌患者可能通过降低 B7H4 蛋白水平,提高了患者免疫功能、生活质量和延长生存时间。

关键词:细胞因子诱导杀伤细胞;化疗;肺癌;临床疗效

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.11.022

Efficacy of cytokine-induced killer cells combined with chemotherapy on patients with advanced lung cancer

ZHOU Meiyu, XU Guofa, WANG Zexin, LIU Ruyan, LONG Yi, LI Yanyan

(Department of Oncology, The Central Hospital of Fuling, Chongqing 408099, China)

Abstract: Objective To observe the clinical efficacy of cytokine-induced killer cells (CIK) combined with chemotherapy for advanced lung cancer. **Methods** A hundred and twenty patients with advanced lung cancer diagnosed by pathological biopsy in Chongqing Fuling Central Hospital from October 2010 to January 2013 were assigned into two groups, the treatment group ($n=60$) and the control group ($n=60$). The treatment group received CIK combined with chemotherapy, while the control group received chemotherapy alone. The immune function, B7H4 protein levels, quality of life (KPS scores as criteria) and median survival time were evaluated and com-

基金项目:重庆市涪陵区科技计划项目(FLKJ2011ABB2058)

通信作者:李艳彦,女,副主任医师,研究方向为肺癌化疗放疗治疗, E-mail:liyanyan218@163.com

- [4] 史云桃,蒋廷波.高敏 C 反应蛋白对急性心肌梗死患者并发恶性室性心律失常的预测价值[J].内科急危重症杂志,2015,21(3):199-201.
- [5] 何胜虎,周胜华,张晶,等.急性 ST 段抬高型心肌梗死急诊 PCI 发生恶性心律失常临床特点及替罗非班的影响[J].中国临床药理学与治疗学,2016,21(4):432-435.
- [6] 马玉良,王伟民,刘建,等.冠状动脉介入过程中圆锥支或右心室支急性闭塞致心电图改变的观察[J].中国循环杂志,2013,28(5):367-340.
- [7] ANTZELEVITCH C. Genetic, molecular and cellular mechanisms underlying the J wave syndromes [J]. Circ J, 2012, 76(5): 1054-1065.
- [8] 梁静,周玉杰,韩红亚.右冠状动脉痉挛导致急性下壁心肌梗死和电风暴一例[J].中华心血管病杂志,2017,45(1):64-65.
- [9] 李勇,吕树铮.急性 ST 段抬高型心肌梗死患者直接经皮冠状动脉介入术后发生缓慢性再灌注心律失常的危险因素分析[J].中国医药,2017,12(3):321-325.
- [10] LIBBY P. Inflammation in atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(9):2045-2051.
- [11] 官洪山,上官海娟,乔树宾.代谢综合征合并急性冠脉综合征患者高敏 C 反应蛋白的变化[J].中国循环杂志,2013,28(3):187-190.
- [12] 过高峰,宋磊.高敏 C 反应蛋白和氨基末端脑钠肽前体水平与经急诊 PCI 术的急性心肌梗死患者冠脉病变程度的相关性分析[J].安徽医学,2013,34(3):302-304.
- [13] 史云桃,蒋廷波.高敏 C 反应蛋白对急性心肌梗死患者并发恶性室性心律失常的预测价值[J].内科急危重症杂志,2015,21(3):199-201.
- [14] 仇昌智,陆永光,黄军章,等.丹参多酚酸盐对 ACS 患者 PCI 术后内皮细胞微粒和 C 反应蛋白的影响[J].重庆医学,2016,45(19):2668-2671.

(收稿日期:2017-04-23,修回日期:2017-05-28)

pared between the two groups. **Results** The percentage of the levels of CD3 + and CD4 + in the treatment group increased after treatment, which showed statistically significant difference ($t = 2.39, P = 0.02$). The levels of B7H4 protein in the treatment group were ($61.08 \pm 9.52 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) before treatment and ($55.86 \pm 7.80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) after treatment, which showed statistically significant difference ($t = 6.34, P = 0.00$). The KPS improvement rate in the treatment group and control group were 88.3% and 71.7%, respectively, which showed statistically significant difference ($\chi^2 = 5.208, P = 0.039$). The median survival time of the treatment group was 20 months, which was three months longer than that of the control group, the difference was statistically significant ($\chi^2 = 7.113, P = 0.008$). **Conclusion** CIK combined with chemotherapy for patients with advanced lung cancer may improve immunity, quality of life and prolong survival of the patients by reducing B7H4 protein levels.

Key words: Cytokine-induced killer cells; Chemotherapy; Lung cancer; Efficacy

肺癌是最常见的恶性肿瘤,在初诊时已经处于中晚期,且预后差。中晚期肺癌患者多数无手术机会,可考虑治疗方案为放疗和化疗,有效率为20%~35%,因此,临床上迫切需要一种安全有效的方法提高有效率,延长生存时间。免疫失衡在肺癌发病机制中起着重要作用,免疫治疗成为晚期肺癌治疗的重要组成部分^[1]。既往临床研究已经证实细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK细胞)治疗肺癌安全有效^[2-4]。本研究旨在总结CIK细胞联合化疗治疗晚期肺癌的安全性及临床疗效。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2010年10月至2013年1月经重庆市涪陵中心医院肿瘤科初诊的120例晚期肺癌患者,入组标准:(1)病理活检确诊为肺癌,诊断标准及分期参考美国国立综合癌症网络(NCCN)指南;(2)Karnofsky功能状态评分^[5](KPS评分)大于60分;(3)治疗前血常规、凝血象、肝肾功、心功能、乙型肝炎五项目、输血前三项(梅毒、艾滋、丙肝)、心电图结果正常;(4)本研究经重庆市涪陵中心医院伦理委员会讨论审批通过备案;(5)患者治疗前均签署治疗知情同意书。排除标准:(1)排除同时存在其他恶性肿瘤;(2)合并自身免疫性疾病;(3)入组前接受过放化疗的患者;(4)孕妇或者哺乳期;(5)入组前存在严重的感染。

1.2 治疗方案 入组患者分为两组,两组患者均接受常规化疗(方案为紫杉醇/多西他赛/吉西他滨/依托泊苷+铂类,每3周一次;治疗组患者接受在常规化疗基础上联合CIK细胞治疗,两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可

比性,具体数据见表1。

1.3 CIK细胞采集与培养 化疗前抽取患者外周血40~50 mL,分离单个核细胞,将细胞加入含干扰素- γ (IFN- γ) $1 \times 10^6 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 的完全培养液的培养瓶中,置于37℃、5% CO₂条件下孵箱中培养。培养24 h后加入终浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 小鼠抗人CD3抗体 $1 \times 10^6 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 白细胞介素2(IL-2)和 $1 \times 10^6 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 白细胞介素-1 α (IL-1 α)继续培养。每天显微镜下观察细胞生长情况,每2~3天换液1次,补加新鲜的含IL-2完全培养液,再培养10 d左右,经检测无细菌及真菌生长,收集CIK细胞($1.0 \sim 1.3$) $\times 10^{10}$,洗涤后回输患者。每例患者至少接受2个周期的CIK细胞治疗。

1.4 主要试剂及检测方法 抽取患者治疗前后的外周血,应用FACA Calibur流式细胞仪(美国BD公司)检测T细胞亚群中CD4⁺、CD8⁺以及CD4⁺/CD8⁺细胞的比例。B7H4试剂盒购于上海哈灵生物科技有限公司,采用酶联免疫分析(ELISA)方法检测患者外周血中B7H4蛋白水平变化。

1.5 观察指标 生活质量(QOL)根据KPS评分^[5]标准进行评估。总分100分,10分一个等级。在治疗后至下一个疗程开始前评分提高 ≥ 10 分为改善;提高或下降 < 10 分者为稳定;总提高率=改善率+稳定率。而评分下降 ≥ 10 分者为恶化;毒副反应:根据《急性和亚急性毒性反应的表现和分度标准》(WHO标准)^[6]评价化疗毒副反应。主要观察终点:生存时间(OS),随访时间3~60个月,末次随访时间2016年1月。

表1 两组患者一般资料的比较

组别	例数	性别/例(%)		年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	病理类型/例(%)				肿瘤分期/例(%)	
		男性	女性		腺癌	鳞癌	腺鳞癌	小细胞癌	Ⅲ期	Ⅳ期
对照组	60	43(71.7)	17(28.3)	65.03 $\pm$ 10.21	24(40.0)	27(45.0)	1(1.7)	8(13.3)	34(56.7)	26(43.3)
治疗组	60	42(70.0)	18(30.0)	65.95 $\pm$ 9.67	17(28.3)	23(38.3)	5(8.3)	15(25.0)	37(61.7)	23(38.3)
$\chi^2(t)$ 值		0.04		(0.578)	6.31				0.31	
P值		1.00		0.56	0.10				0.71	

表2 两组治疗前后 T 细胞亚群和肿瘤标志物的比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	T 细胞亚群				CEA/ng · L ⁻¹	B7H4/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
		CD3 ⁺ /%	CD4 ⁺ /%	CD8 ⁺ /%	CD4 ⁺ /CD8 ⁺		
对照组	60						
治疗前		55.98 ± 5.14	26.01 ± 4.67	27.65 ± 5.60	1.04 ± 0.26	20.58 ± 13.21	60.21 ± 10.72
治疗后		56.95 ± 6.68	27.33 ± 5.01	26.61 ± 6.16	1.08 ± 0.35	18.40 ± 10.61	56.65 ± 11.03
t 值		1.24	1.56	0.93	0.70	1.77	1.91
P 值		0.22	0.12	0.35	0.48	0.08	0.06
治疗组	60						
治疗前		54.93 ± 7.06	28.60 ± 5.73	28.20 ± 6.55	1.06 ± 0.33	21.83 ± 16.21	61.08 ± 9.52
治疗后		61.06 ± 4.82	33.96 ± 5.99	27.60 ± 3.24	1.25 ± 0.28	18.58 ± 10.86	55.86 ± 7.80
t 值		4.10	3.71	0.53	2.39	1.89	6.34
P 值		0.00	0.01	0.59	0.02	0.06	0.00

1.6 统计学方法 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,生存分析采用 Kaplan-meier 法,两组生存率比较采用 Log-rank 检验,生存状态影响因素分析采用 COX 回归,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 安全性及不良反应 CIK 治疗常见的不良反应为过敏反应及发热,观察组 60 例患者中仅 1 例患者出现寒战、发热,最高体温 38.5℃;予地塞米松和盐酸异丙嗪抗过敏处理后恢复正常。1 例患者出现轻度头痛及肌肉酸痛,12 h 后自行恢复正常。无 1 例患者发生重要器官(心脏、肺、肝、肾)损害。CIK 联合化疗,显著降低了患者化疗后Ⅲ~Ⅳ度骨髓抑制的风险,促进患者骨髓在化疗间歇期的恢复。

2.2 QOL 评价(KPS 评分) 治疗组 CIK 治疗后患者 KPS 评分提高者 33 例,稳定者 20 例,下降者 7 例,提高率为 88.3%。对照组患者 KPS 评分提高者 28 例,稳定者 15 例,下降者 17 例,提高率为 71.7%,两组 QOL 改善率差异有统计学意义($\chi^2 = 5.208, P = 0.039$)。CIK 治疗后患者精神、睡眠、食欲、乏力、纳差等情况明显好转。

2.3 免疫功能、癌胚抗原(CEA)、B7H4 蛋白、中位生存时间 治疗组 CIK 治疗后患者外周血中 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 较治疗前提高,血浆中 B7H4 蛋白水平治疗前下降,差异有统计学意义($t = 6.34, P < 0.05$)。CIK 治疗前后 CEA 水平差异无统计学意义($t = 1.89, P = 0.06$),具体数据见表 2。随访至 2016 年 1 月,治疗组和对照组患者中位生存时间分别为 20 个月和 17 个月,95% CI 分别为(16.83 ~ 23.16)和(15.24 ~ 18.75),差异有统计学意义($\chi^2 = 7.11, P = 0.008$),见图 1。COX 回归分析结果提示患者的性别、年龄、病理类型、治疗前后 KPS 评

分对生存状态的影响差异无统计学意义($\chi^2 = 0.978, P = 0.964$),具体数据见表 3。

表3 两组患者生存时间的多因素分析

因素	生存时间	
	RR(95% CI) 值	P 值
性别	1.16(0.794 ~ 1.702)	0.440
年龄	1.01(0.987 ~ 1.018)	0.782
病理类型	0.99(0.863 ~ 1.134)	0.875
治疗前 KPS 评分	1.01(0.980 ~ 1.030)	0.717
治疗后 KPS 评分	0.99(0.971 ~ 1.016)	0.535

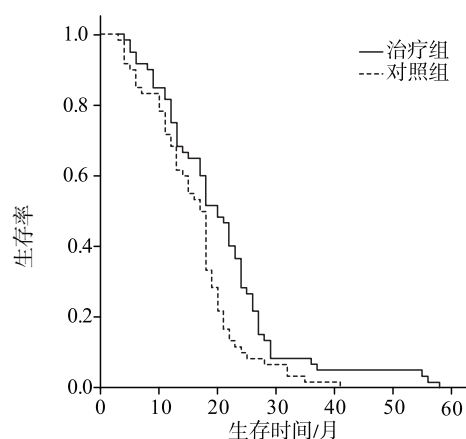


图1 两组患者生存曲线比较

3 讨论

临床上很多晚期肺癌患者因不能耐受化放疗的副作用而选择放弃治疗。CIK 细胞主要表达 CD3⁺CD56⁺,具有 T 淋巴细胞强大的抗瘤活性和 NK 细胞非主要组织相容性复合体(MHC)限制性杀瘤的特点,CIK 联合化疗可减轻化疗副作用,提高患者生活质量^[2],临床广泛用于治疗肝癌、肺癌、乳腺癌、宫颈癌、胰腺癌等肿瘤^[7]。

肿瘤患者细胞免疫功能处于抑制状态,CD3⁺、CD4⁺细胞比例下降可使肿瘤细胞发生免疫逃逸,从

而有利于肿瘤生长和转移^[8],本研究发现 CIK 联合化疗组患者 CD3⁺CD4⁺ 百分比、KPS 评分较对照组提高,其原因可能是肿瘤患者的免疫功能抑制,淋巴细胞比例失调,导致免疫功能低下,输注 CIK 细胞治疗后,淋巴细胞比例升高或者接近正常,从而提高肿瘤患者的细胞免疫功能,改善患者的生活质量,与其他研究^[9-10]的结果一致。

此外,本研究还发现两组患者中位生存时间差异有统计学意义,治疗组患者的中位生存时间较对照组延长 3 个月,且副作用可耐受,与李红霞等^[11]报道结果相同。Gu 等^[12]也报道了 CIK 联合传统治疗能延缓中晚期肺癌患者的进展,延长患者生存时间。分析其原因是 CIK 细胞兼具 T 细胞和 NK 细胞的功能,通过增加细胞免疫功能展现出抗肿瘤活性,从而延长患者的生存时间。

本研究中 COX 分析结果提示患者性别、年龄、病理类型、治疗前后 KPS 评分对生存状态的影响差异无统计学意义,其原因可能与患者总例数较少,年龄分布不均衡,老年患者较多,且每种病理类型的例数分布不均衡有关,鳞癌和腺癌相对较多,而其他病理类型相对较少。

T 细胞免疫的功能主要是监视肿瘤细胞生长和转移。B7H4 是 B7 家族的成员,通过抑制 T 细胞的增殖,细胞因子的产生和细胞周期的免疫应答负性调节 T 细胞^[13]。B7H4 广泛表达于各种肿瘤组织,高表达于肿瘤的微环境中,与 T 细胞表面的受体结合,抑制 T 细胞的活化或诱导 T 细胞凋亡,从而使肿瘤发生免疫逃避^[14]。B7H4 表达与肿瘤预后呈负相关^[15],阻断 B7H4 与其受体结合成为治疗肿瘤研究的热点。Chen 等^[16]发现 B7H4 在肺癌细胞中表达并通过激活肿瘤抗原特异性 T 细胞促进细胞凋亡,通过阻断 B7H4 相关的肿瘤细胞可增强其抗肿瘤的免疫活性。本研究中发现 CIK 治疗后患者 B7H4 的蛋白水平较治疗前下降,提示 CIK 联合化疗能够通过降低 B7H4 的蛋白表达来修复肺癌患者免疫功能的作用。

综上所述,CIK 联合化疗治疗中晚期肺癌患者有助于提高患者的生活质量和免疫功能,降低 B7H4 蛋白水平,然而 B7H4 介导的免疫机制有待于开展进一步大样本的前瞻性临床研究。

参考文献

[1] GRIDELLI C, ASCIERTO PA, BARBERIS MC, et al. Immunotherapy of non-small cell lung cancer: report from an international experts panel meeting of the Italian association of thoracic oncology

[J]. Expert Opin Biol Ther, 2016, 16(12): 1479-1489.

- [2] WANG M, CAO JX, PAN JH, et al. Adoptive immunotherapy of cytokine-induced killer cell therapy in the treatment of non-small cell lung cancer [J]. PLoS One, 2014, 9(11): e112662. DOI: 10.1371/journal.pone.0112662.
- [3] 龙倩,周航,王家辉,等. 细胞因子诱导杀伤细胞治疗晚期肺癌的临床疗效观察[J]. 中国肿瘤临床, 2016, 43(7): 302-305.
- [4] 耿杰,张全安,童金龙,等. 同步放化疗联合 DC-CIK 细胞生物治疗中晚期非小细胞肺癌的疗效[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(9): 41-43.
- [5] BAKA S, ASHCROFT L, ANDERSON H, et al. Randomized phase II study of two gemcitabine schedules for patients with impaired performance status (Karnofsky performance status advanced non-small-cell lung cancer [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(10): 2136-2144.
- [6] The World Health Organization. WHO handbook for reporting results of cancer treatment [EB/OL]. [1979-01-01]. <http://www.who.int/iris/handle/10665/37200>.
- [7] CHU H, DU F, JIANG L, et al. The Efficacy of CIK-Based Immunotherapies for Advanced Solid Tumors [J]. Technol Cancer Res Treat, 2017, 16(5): 577-585.
- [8] JIN C, LI J, WANG Y, et al. Impact of cellular immune function on prognosis of lung cancer patients after cytokine-induced killer cell therapy [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(15): 6009-6014.
- [9] ZHENG C, YU G, WANG H, et al. Meta-analysis of chemotherapy and dendritic cells with cytokine-induced killer cells in the treatment of non-small-cell lung cancer [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(8): 14527-14537.
- [10] LUO H, GONG L, ZHU B, et al. Therapeutic outcomes of autologous CIK cells as a maintenance therapy in the treatment of lung cancer patients: A retrospective study [J]. Biomedicine & pharmacotherapie, 2016, 84: 987-993.
- [11] 李红霞,彭丽娟,葛磊,等. 细胞因子激活的杀伤细胞治疗晚期肺癌的研究 [J]. 安徽医药, 2012, 16(12): 1798-1799.
- [12] GU Y, LV H, ZHAO J, et al. Influence of the number and interval of treatment cycles on cytokine-induced killer cells and their adjuvant therapeutic effects in advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 50: 263-269.
- [13] ZHENG X, LI XD, WU CP, et al. Expression of costimulatory molecule B7-H4 in human malignant tumors [J]. Onkologie, 2012, 35(11): 700-705.
- [14] JEON H, VIGDOROVICH V, GARRETT-THOMSON SC, et al. Structure and cancer immunotherapy of the B7 family member B7x [J]. Cell Rep, 2014, 9(3): 1089-1098.
- [15] TSIAOUSIDOU A, TSAROUCHEA AK, LAMBROPOULOU M, et al. Increased B7H4 tissue expression correlates with high CA19.9 serum levels and a worse prognosis of pancreatic adenocarcinoma [J]. Clin Exp Med, 2016, 16(3): 351-356.
- [16] CHEN C, QU QX, SHEN Y, et al. Induced expression of B7-H4 on the surface of lung cancer cell by the tumor-associated macrophages: a potential mechanism of immune escape [J]. Cancer Lett, 2012, 317(1): 99-105.

(收稿日期:2016-10-08,修回日期:2017-01-01)