

自体 CIK 细胞及 DC 细胞联合索拉非尼治疗转移性肾癌的疗效与安全性

李建旺¹, 黄春珍¹, 李建华², 彭大为^{1*}

(1 中南大学湘雅医学院附属海口医院, 海口 570208; 2 江西省抚州市第一人民医院)

摘要:目的 观察转移性肾细胞癌(mRCC)患者行自体细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK 细胞)及树突状细胞(DC)联合索拉非尼治疗的临床疗效及不良反应。方法 用患者自体外周血进行 CIK 细胞及 DC 细胞扩增,并应用流式细胞术检测其 CIK、DC-CIK 表型,然后采取静脉回输方法,对 mRCC 患者进行自体 CIK 细胞及 DC 细胞联合索拉非尼治疗。结果 26 患者中,完全缓解 1 例,部分缓解 4 例,疾病稳定 17 例,疾病进展 4 例,疾病控制率 72.7%;客观有效率 19.2%。中位生存时间为 25 个月,中位无进展时间 14 个月。主要不良反应为皮疹、腹泻、发热、乏力、流感样症状、厌食、体质量下降和中性粒细胞减少等。参照预后分层模型 MSKCC 危险因素评分,低危组的 RR 高于高危组($P < 0.05$),低、中、高危组的中位生存时间有统计学差异($P = 0.000$)。结论 自体 CIK 细胞及 DC 联合索拉非尼治疗 mRCC 患者疗效尚可,毒副反应可耐受。

关键词:肾肿瘤;索拉非尼;杀伤细胞;树突细胞;免疫疗法

中图分类号:R737.11 文献标志码:A 文章编号:1002-266X(2012)01-0007-03

Efficacy and safety of autologous DC and CIK cells combined Sorafenib in the treatment of metastatic renal cell carcinoma

LI Jian-wang¹, HUANG Chun-zhen, LI Jian-hua, PENG Da-wei

(1 Haikou Hospital affiliated to Xiangya Medical College, Central South University, Haikou 570208, P. R. China)

Abstract: objective To observe the efficacy and side effects of autologous cytokine-induced killer cells(CIK cells) and dendritic cells(DC) and Sorafenib in the treatment of metastatic renal cell carcinoma(mRCC). **Methods** DC and CIK cells were amplified in peripheral blood. Flow cytometry was used to detect CIK, DC-CIK phenotype, and then taking intravenous transfusion method to treat the mRCC patients with autologous CIK, DC and Sorafenib. **Results** In 26 cases of patients, there were one patient with complete remission, 4 ones with partial remission, 17 ones with stability, 4 ones with disease progression. The rate of disease control is 72.7%, and the objective effective power is 19.2%. Median survival time was 25 months, and the lack of progress in time(mPFS) was 14 months. Main side effects were rash, diarrhea, fever, fatigue, flu-like symptoms, anorexia, reduced body mass, and neutrocytopenia, etc. Referenced to the risk factors for prognosis of layered model MSKCC score, RR in the low risk of group was higher than that in the high risk group($P < 0.05$). The MST among low, medium and high risk groups had significant differences($P = 0.000$). **Conclusion** Autologous DC and CIK cells combined with Sorafenib in treating mRCC patients has a acceptable curative effect, and tolerated side effects.

Key words: kidney medulla; sorafenib; kill cells; dendritic cells; adoptive immunotherapy

转移性肾细胞癌(mRCC)的预后较差,5 年生存率仅 5%~10%^[1]。体内回输免疫活性细胞的过继免疫疗法是继手术、放疗、化疗之外的另一种重要的肿瘤治疗方法。体内回输树突状细胞(DC)是目前发现的功能最强的抗原提呈细胞,可有效激发 T 细

胞应答,抵制肿瘤细胞的免疫逃逸机制^[2]。自体细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK 细胞)兼具 T 淋巴细胞强大的抗肿瘤活性和 NK 非 MHC 限制性杀瘤细胞功能,且体内外增殖能力强^[3],是一类杀瘤活性和杀瘤谱更强的新型抗肿瘤效应细胞。DC 与 CIK 是肿瘤免疫治疗的两个重要部分,前者识别病原,激活获得性免疫系统,后者通过发挥自身细胞毒性和分泌细胞因子杀伤肿瘤细胞。本研究采用自体 DC-

基金项目:海南省卫生厅医学科研立项课题(2010-SWY-11-056)。

* 通讯作者

CIK 细胞静脉回输联合分子靶向药物索拉非尼治疗 26 例 mRCC 患者,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2006 年 1 月~2011 年 3 月我院住院的初治 mRCC 患者 26 例,男 16 例、女 10 例,年龄 45~77 岁、平均 64 岁。均经影像学、病理组织学或细胞学确诊,无法行手术及放射治疗。病理分型:透明细胞癌 21 例,颗粒细胞癌 3 例,乳头状细胞癌 2 例。病灶转移 1 处 20 例,2 处及以上 6 例。其中肺转移 18 例,肝转移 12 例,骨转移 8 例,其他 6 例。18 例为术后复发转移。每例患者至少有 1 处 CT 可测量转移灶。KPS 评分 < 80 分 8 例,≥80 分 18 例。排除脑转移患者。

1.2 方法

1.2.1 DC、CIK 细胞的培养和扩增 患者入院后行 CT 检查,根据 CT 确定肿瘤大小,计算肿瘤体积。采血前 24 h 应用 GM-CSF 行外周血干细胞动员,经 CS-3000 血细胞分离机采集 5 L 外周血中的新鲜抗凝外周血单核细胞,再用 Ficoll 400(中国科学院生物物理研究所)分离后经 Hank's 液洗 3 次,收集纯度 90% 以上的外周血单个核细胞(PBMNC),调整浓度至 $1 \times 10^6/L$ 。第 1 天加入重组人干扰素 γ 1 000 U/mL,第 2 天开始加入抗 CD3 单抗 50 $\mu g/mL$,IL-1 α 100 U/mL,IL-2 1 000 U/mL,连续培养 3 d,更换含有上述因子的培养液 1 次,连续培养 10~20 d,每周测定 2 次白细胞增殖率和 CD3、CD56 阳性细胞率,再以 DC:CIK = 1:3 比例和 CIK 细胞混合,用 CIK 培养液培养产生 DC-CIK 细胞。于细胞培养的第 9 天检测 DC 表面标记 CD40、CD80、HLA-DR 第 9、14 天检测 CIK 和 DC-CIK 共培养物表面标记 CD3、CD56、CD4、CD8。当细胞数扩增达到设计目标,阳性目标细胞达到 85% 时进行细胞治疗。

1.2.2 治疗方法 患者行 PBMNC 采集后给予索拉非尼 400 mg/次,2 次/d,连用 4 周。12 周为一疗程。PBMNC 采集后经实验室培养 2 周左右,进行回输 DC 细胞和 CIK 细胞,2~3 次/周,一次回输 CIK $1 \times 10^{10} \sim 2 \times 10^{12}$,DC 细胞 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 。每间隔 1 个月重复回输治疗 1 周期。治疗期间每周查血常规 1 次,每月查肝功能 1 次,白细胞计数 $< 3 \times 10^9/L$ 或肝功能异常者停药 8 周后进行评价,对药物反应性好及可耐受者停药休息 2~4 周继续下一周期治疗。以用药前 4 周内 CT 显示的可测量病灶作为治疗基线,每 8 周行 CT 检查 1 次。

1.2.3 疗效与安全性评价 疗效评价采用 RECIST 实体瘤疗效评价标准,分为完全缓解(CR)、部分缓

解(PR)、疾病稳定(SD)和疾病进展(PD),以 CR + PR 计算有效率(RR)。采用螺旋 CT 为主要评价手段,层厚 5 mm,比较可测量病灶的最大径变化。自治疗开始至患者死亡或失访的时间计算总生存期(OS),从治疗开始至疾病进展或死亡计算无进展生存期(PFS)。参照预后分层模型 MSKCC 危险因素评分,包括高 LDH(超过 1.5 倍正常值)、高血钙(纠正钙 $> 10 \text{ mg/dl}$ 或 2.5 mmol/L)、贫血、诊断到全身治疗的时间小于 1 年及 KPS 评分 < 80 分。无上述危险因素者预后好,1~2 项为中等,≥3 个为差。药物不良反应评估参见 NCICTC3.0。临床症状评价根据其积分值,治疗后下降 $\geq 2/3$ 为显著改善,下降 $1/3$ 为部分改善,下降 $< 1/3$ 为无改善^[4]。生存质量评价根据患者 KPS 评分和体质量。

1.2.4 统计学方法 采用 SPSS11.1 软件,率的比较采用 χ^2 检验。数据分析采用 Kaplan-Meier 法以及 Log-rank 检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CIK 和 DC-CIK 培养结果 CIK 和 DC-CIK 共培养的增殖活性细胞因子诱导的 CIK 细胞均明显增殖,而 DC-CIK 共培养细胞具有更高的增殖活性。细胞在第 3 天后开始增殖,第 5~6 天快速增长,培养 20 d 时,CIK 细胞和 DC-CIK 共培养的细胞增殖倍数分别为 120 和 1 000。CIK 培养 21 d,效靶比为 5:1 时,CIK 对 Bel-7404 细胞的细胞毒活性为 48.3%。

2.2 免疫治疗前后患者外周血免疫学指标变化 治疗前 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 比值明显低于正常, CD_8^+ 细胞则高于正常;口服索拉非尼及免疫治疗后, CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 比值较治疗前升高($P < 0.01$),而 CD_8^+ 较前降低($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 免疫治疗前后患者外周血免疫学指标变化($\bar{x} \pm s$)

| 免疫指标 | 治疗前 | 治疗后 | P |
|-----------------|--------------|--------------|-------|
| CD_3^+ | 60.72 ± 6.34 | 66.32 ± 8.25 | <0.01 |
| CD_4^+ | 30.36 ± 2.66 | 35.76 ± 4.68 | <0.01 |
| CD_8^+ | 23.56 ± 3.53 | 16.29 ± 2.24 | >0.05 |
| CD_4^+/CD_8^+ | 1.07 ± 0.23 | 1.88 ± 1.12 | <0.05 |

2.3 疗效观察 患者经 1 个疗程 DC-CIK 静脉回输治疗后自觉症状改善,食欲增强,睡眠改善,疼痛减轻,体质量无明显下降,体力较前好转,索拉非尼治疗的不良反应减轻。全部患者均可评价疗效,共完成 106 个周期,平均 3.6 个周期。获 CR 1 例,PR 4 例,SD 17 例,PD 4 例,RR 为 19.2%。随访截止日期 2011 年 5 月,死亡 21 例,存活 5 例。所有患者随访 4~58 个月。中位 OS 为 25 个月(95% CI:7.9~36.3 个月),中位 PFS 为 14 个月(95% CI:5.7~

19.2 个月)。

2.4 按危险分层分析 根据预后分层模型,预后好 13 例,中等 10 例,差 3 例,其 RR 分别为 30.8%、10.0% 和 0,预后好组疗效优于预后差组 ($P < 0.05$)。预后好组中位 OS 为 28 个月(95% CI 16.7 ~ 36.3 个月),中等组为 20 个月(95% CI 13.5 ~ 26.9 个月),预后差组为 11.2 个月(95% CI 7.9 ~ 13.5 个月)。三组中位 OS 有统计学差异 ($P < 0.01$)。

2.5 不良反应 一般出现在回输 1 ~ 2 h。均有不同程度的发热,其中低热 8 例,高热 2 例,持续时间 2 ~ 8 h,除 1 例次使用解热镇痛药外,其余均自行消退。发生皮疹 16 例(61.8%),均为 I ~ II 度,血压升高 8 例, I ~ II 度恶心、呕吐 6 例, III 度乏力 1 例, III 度腹泻 1 例, I 度转氨酶升高 4 例。

3 讨论

mRCC 约占肾细胞癌患者的 20%,其发病率和病死率有逐年上升趋势^[5]。mRCC 已失去手术机会,预后极差,2 a 生存率仅 10.0% ~ 20.0%,中位 OS 6 ~ 12 个月^[6]。索拉非尼是一种多靶点的抗肿瘤药物,属多激酶抑制药,具有双重抗肿瘤效应:一方面通过抑制 RAF/MEK/ERK 信号传导通路直接抑制肿瘤生长;另一方面又可通过抑制血管内皮生长因子受体和血小板衍生生长因子受体而阻断肿瘤新生血管的形成,间接抑制肿瘤细胞的生长。Escudier 等^[7]发现,其可明显延长 mRCC 患者的 PFS。

mRCC 患者大都存在不同程度的免疫功能缺陷,这可能与机体外周血中 DC 数量减少、功能减低有关。免疫治疗是肾癌主要的辅助治疗手段,已证实 IL-2 可提高 mRCC 患者的生存率。体内注射 DC 细胞后,DC 与 T 细胞结合,分泌大量 IL-12,诱导 Th1 型免疫应答,有利于肿瘤的清除。DC 还能分泌多种趋化因子,作用于初始 T 细胞,增强 T 细胞活性。DC 与 CIK 共培养后产生的细胞群体比原 CIK 细胞具有更强的增殖活性,不仅提高了 CIK 细胞的细胞毒作用,也显著提高了 DC 的功能^[8],两者协同作用,增加细胞因子释放,显著提高 CIK 细胞的增殖能力和杀伤活性。

本研究对 26 例 mRCC 患者经索拉非尼分子靶向治疗后,行生物细胞免疫治疗,RR 为 19.2%。截止随访日期,死亡 21 例,存活 5 例。随访 4 ~ 58 个月,中位 OS 为 25 个月,预后好组中位 OS 为 28 个

月。表明联合治疗对预后好的患者可延长其生存期,提高其生活质量。由于过继免疫治疗效果与效应细胞的治疗次数和投给数量有关,适当增加治疗次数和数量可进一步提高疗效。本研究平均治疗 3 周,细胞总数达到了个性化设计的数量,患者症状改善,生活质量提高,索拉非尼不良反应减轻。但其远期疗效及其对患者生存期的影响仍需长期随访。DC-CIK 治疗的安全性较高^[9]。本例在回输过程中有 2 例次寒战、发热,无其他明显不良反应。发热原因可能是在回输的 DC-CIK 悬液中含有 IL-2 和人血白蛋白。这种典型的个性化生物治疗模式具有独特的优势和良好的抗肿瘤作用,为 mRCC 的治疗提供了新的途径。

综上所述,索拉非尼联合自体 DC-CIK 治疗 mRCC 患者能够有效改善患者的生活质量,提高预后良好患者的生存期,不良反应大都在可耐受范围,具有临床使用价值。但本实验样本量少,有待今后进一步研究证实。

参考文献:

- [1] Algaba F. Rereading the renal cell tumors[J]. Int J Surg Pathol, 2010, 18(3Suppl):94S-97S.
- [2] Schott M, Seisslar J. Dendritic cell vaccination: new hope for the treatment of metastasized endocrine malignancies[J]. Trends Endocrinol Metab, 2003, 14(4):156-162.
- [3] 张有顺,黄玲,杨红玲,等. 肝癌患者 CIK 细胞的诱导及对肝癌细胞毒作用的研究[J]. 上海免疫学杂志, 2003, 23(3):201-203, 209.
- [4] 鲍锋,徐岩,尹富华,等. CIK 细胞过继免疫治疗中晚期恶性肿瘤的临床研究[J]. 辽宁医学杂志, 2003, 17(4):187-188.
- [5] 张骁,杜传军. 肾癌免疫治疗的研究进展[J]. 临床泌尿外科杂志, 2006, 21(6):473-476.
- [6] Ficarra V, Novara G. Kidney cancer: neoadjuvant targeted therapies in renal cell carcinoma[J]. Nat Rev Urol, 2010, 7(2):63-64.
- [7] Escudier B, Szczylik C, Eisen T, et al. Randomized Phasetrial of the Raf kinase and VEGFR inhibitor sorafenib (BAY43-9006) in patients with advanced renal cell carcinoma (RCC)[J]. J Clin Oncology, 2005, 23(Suppl):S4510.
- [8] Wang QJ, Wang H, Pan K, et al. Comparative study on anti-tumor immune response of autologous cytokine-induced killer (CIK) cells, dendritic cells-CIK (DC-CIK), and semi-allogeneic DC-CIK[J]. Chin J Cancer, 2010, 29(7):641-648.
- [9] Shi M, Zhang B, Tang ZR, et al. Autologous cytokine-induced killer(CIK) cell therapy in clinicaltrial phase I is safe in patients with primaryhepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(8):1146-1151.

(收稿日期:2011-10-17)