

# 体部伽玛刀联合 DC-CIK 过继免疫治疗 晚期非小细胞肺癌的疗效观察

郑放超, 张小玉, 冯怀志, 陈健, 孙蕙, 钟国成  
(解放军第 452 医院, 四川 成都 610021)

**摘要:** [目的] 研究立体定向体部伽玛刀配合过继免疫治疗晚期非小细胞癌(NSCLC)的临床疗效和意义。[方法] 选择 72 例晚期 NSCLC 患者, 随机分为两组; 放疗组 36 例, 接受体部伽玛刀治疗; 联合组 36 例, 除给予伽玛刀治疗外, 还接受自体树突状细胞(DC)和细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)的过继免疫治疗, 比较两组患者治疗后的免疫功能、生活质量及生存情况等。[结果] 治疗后 3 个月, 联合组患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>阳性率、Th1/Th2 比值、Ag-NOR 比值等免疫学指标均高于放疗组 ( $P < 0.05$ ); 联合组患者生活质量 (PS 评分)、肝功能 (ALT)、血清肿瘤标志物 (CEA 和 CA125) 等指标均较放疗组患者降低 ( $P < 0.05$ ); 另外, 联合组患者的 6 个月疗效、中位生存时间均优于放疗组 ( $P < 0.05$ ); 联合组白细胞降低和全身乏力的发生率低于放疗组 ( $P < 0.05$ )。[结论] 立体定向伽玛刀联合 DC-CIK 过继免疫治疗能改善晚期 NSCLC 患者的免疫功能和生活质量, 降低不良反应发生率, 提高临床疗效。

**关键词:** 癌, 非小细胞肺; 立体定向放射治疗; 树突状细胞; 细胞因子诱导杀伤细胞; 伽玛刀  
**中图分类号:** R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)11-0815-04

## Clinical Study of Stereotactic Conformal Body $\gamma$ -knife Combined with Adoptive Immunotherapy (Dendritic Cell and Cytokine-induced Killer Cell) in the Treatment for Advanced Non-small Cell Lung Cancer

ZHENG Fang-chao, ZHANG Xiao-yu, FENG Huai-zhi, et al.  
(452nd Hospital of People's Liberation Army, Chengdu 610021, China)

**Abstract:** [Purpose] To investigate the clinical effect of stereotactic conformal body gamma ( $\gamma$ )-knife combined with adoptive immunotherapy in the treatment for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). [Methods] Seventy-two patients with advanced NSCLC were divided into two groups randomly. Thirty-six patients of radiotherapy group were treated with stereotactic conformal body  $\gamma$ -knife alone and other 36 patients of joint group were treated with stereotactic conformal body  $\gamma$ -knife combined with adoptive immunotherapy (dendritic cell and cytokine induced killer cell, DC-CIK). The therapeutic effect was compared between two groups. [Results] Three months after treatment, immunological indicators including positive rate of CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, Th1/Th2 ratio and Ag-NOR ratio in patients of joint group were higher than those in patients of radiotherapy group ( $P < 0.05$ ). Also, the PS score, ALT, CEA and CA125 were lower in patients of joint group than those in patients of radiotherapy group ( $P < 0.05$ ). The median survival time of joint group was longer than that of radiotherapy group ( $P < 0.05$ ). The incidence rates of leukocytopenia and acratia were lower in joint group than those in radiotherapy group ( $P < 0.05$ ). [Conclusion] Stereotactic conformal body  $\gamma$ -knife combined with DC-CIK can improve immunity function and QOL in patients with advanced NSCLC, and reduce the incidence rate of side effects.

**Subject words:** carcinoma, non-small cell lung; stereotactic conformal therapy; dendritic cells; cytokine-induced killer cells; gamma knife

目前, 立体定向适形放疗技术因其精度高、损伤小、疗效好的特点正受到体部肿瘤治疗的重视, 其中伽玛刀在治疗非小细胞肺癌 (non-small cell lung

cancer, NSCLC) 中已取得了较好疗效<sup>[1]</sup>。另一方面, 以树突状细胞(dendritic cell, DC)和细胞因子诱导杀伤 (cytokine-induced killer, CIK) 细胞为效应细胞的过继免疫由于能有效杀伤散在癌细胞, 改善患者免疫状态, 缓解放化疗不良反应, 减少复发转移而逐渐

**通讯作者:** 钟国成, 副主任医师, 硕士, 解放军第 452 医院肿瘤科, 四川省成都市工农院街 1 号 (610021); E-mail: zgc005@yahoo.com.cn。  
**收稿日期:** 2012-02-07; **修回日期:** 2012-04-22

获得临床医师的认可。我们尝试将体部定向伽玛刀联合 DC-CIK 治疗 NSCLC, 旨在探讨过继细胞免疫对伽玛刀治疗肿瘤的减毒增效作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选择 2009 年 6 月至 2011 年 2 月在解放军第 452 医院治疗的 72 例 NSCLC 患者作为研究对象。入选标准: ①病理诊断明确, 均为 III 期患者; ②入选后未再行手术及化疗 (入选前因反复多种方案化疗导致耐药无法再获益或主观拒绝); ③有可测量病灶, 入选时满足伽玛刀和过继免疫治疗适应证; ④未发生意识模糊或恶病质, 预计入选后生存期 > 3 个月。入选后患者随机(参考经典随机数字表法<sup>[2]</sup>)分为两组: 放疗组 36 例, 接受伽玛刀治疗和相应的对症治疗; 联合组 36 例, 除接受与放疗组相同治疗外, 还接受 DC-CIK 过继免疫。两组患者入选时一般资料(年龄、性别、病情指标等) 差异无统计学意义,  $P > 0.05$ , 具有可比性, 见表 1。DC-CIK 临床治疗于 2009 年通过卫生部批准, 获国家三类技术认证(参考《关于公布首批允许临床应用的第三类医疗技术目录的通知》——卫办医政发 2009-84 号)。本研究获解放军第 452 医院伦理委员会通过, 所有患者或法定代理人入选后均签署《病情知情书》和《治疗同意书》。

### 1.2 治疗方案

放疗组患者接受伽玛刀治疗并配合相应的对症治疗(保护胃黏膜、补充维生素、适量激素等); 联合组患者除接受以上治疗外(两组患者放疗方式、照射部位及剂量、对症治疗方式的差异无统计学意义,

$P > 0.05$ , 见表 2), 还给予 DC-CIK 过继免疫, 具体方案如下。

#### 1.2.1 伽玛刀治疗

两组患者均接受 OUR-QGD 型体部定向伽玛射线系统(设备购自深圳奥沃公司)治疗。患者平卧于定向体架中(架内设有真空负压袋以固定体位), 经螺旋 CT 三维立体定位, 在计算机控制下精确扫描(层距 6~8mm)胸腔病灶, 所得图像信息和参数汇入电脑系统进行三维重建, 勾勒靶区(TV)并明确靶点数。按计划设计, 50% 等剂量曲线覆盖计划靶区(PTV)95% 以上, 70% 等剂量曲线覆盖临床靶区(CTV)95% 以上(满足 95% 以上的 PTV 体积接受 95% 以上的剂量)<sup>[3]</sup>。靶区周围辐照剂量为 25~40Gy, 分割剂量约 2.0~5.0Gy。整个伽玛刀治疗疗程约 2~3 周(共放疗 10~15 次, 1 次/d, 一周治疗 5d 后再休息 2d)。

#### 1.2.2 DC-CIK 过继免疫治疗

参考文献[4,5]方法, 联合组患者抽取外周血(第 1 周期免疫治疗的抽血时间安排在伽玛刀治疗的前一天)获得单个核细胞(PBMC), 将其加入 1640 培养液中静置贴壁 2h, 吸出悬浮细胞(调整至  $1 \times 10^6/\text{ml}$ ), 并加入含 1 000U/ml IFN- $\gamma$ , 80mg/ml 鼠抗人 CD3 单抗、1 000U/ml IL-2 和 200U/ml IL-1 $\alpha$  (试剂购自 Hyclone 公司) 的培养液中作 CIK 培养; 贴壁细胞(CD14<sup>+</sup>单核细胞)则加入含 rhGM-CSF 和 rhIL-4(购自 Pharmingen 公司) 的 1640 培养液作 DC 诱导。诱导第 8d, DC 与 CIK 按 1:10 混合培养, 于第 9~14d(1 次/d, 共 6 次)回输患者, 每日回输细胞数约为  $(0.5 \sim 1.0) \times 10^{10}$  个。细胞回输完成后休息 4 周再开始第 2 疗程细胞治疗。细胞无污染检测、过敏反应预防、滴速等参见文献[5], 联合组患者均接受 2 次以上的免疫治疗。

表 1 两组患者的一般情况

组别	例数	年龄(岁)	性别		病理分型				临床分期	
			男性	女性	鳞癌	腺癌	腺鳞癌	大细胞癌	IIIa 期	IIIb 期
放疗组	36	57.84±10.74	23	13	18	15	2	1	26	10
联合组	36	59.31±12.25	21	15	16	18	2	0	24	12

表 2 两组患者放疗方式、照射部位及剂量、对症治疗比较

组别	例数	放疗方式	放射靶区(个)			照射剂量(Gy)	对症治疗			
			1	2	3		升白细胞	止吐	保肝	补充维生素
放疗组	36	伽玛刀	17	15	4	62.96±15.85	26	21	14	33
联合组	36	伽玛刀	14	16	6	65.42±13.67	20	17	11	31
$\chi^2$				1247*		0.7052 <sup>△</sup>	2.1672	0.8916	0.5515	0.5625
P				0.4097		0.4807	0.1410	0.3450	0.4577	0.4533

注: \*, 秩和检验 T 值; <sup>△</sup>: t 值。

### 1.3 观测指标及疗效评估

#### 1.3.1 免疫学指标

分别于治疗前与治疗3个月(此时联合组患者已完成2个疗程免疫治疗)经流式细胞仪检测两组患者PBMC中CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>的阳性率;用定量ELISA试剂盒测定两组患者外周Th1与Th2活性比值(Th1/Th2细胞因子检测盒购自BD公司,IFN- $\gamma$ 和IL-12代表Th1,IL-4和IL-10代表Th2,根据样品标准曲线计算结果);经KL-II免疫分析系统(北京健康公司)测定两组患者PBMC核仁形成区嗜银蛋白(Ag-NOR)面积与核面积比值(IS%)。

#### 1.3.2 近期疗效

治疗前与治疗3个月检测两组患者生活质量PS评分(performance status,5分法,分值越低表示生活质量越好),同时检测患者外周血清转氨酶(ALT)、血清癌胚抗原(CEA)、糖链抗原(CA)-125含量。

#### 1.3.3 远期疗效

所有患者长期随访,治疗后半年按照WHO实体瘤疗效标准评价疗效:完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(SD)和进展(PD)。比较两组患者的6个月疗效和中位生存时间(median survival time,MST)。

#### 1.4 不良反应评价标准

监测患者血压、脉搏、呼吸、血常规及肝肾功能,放疗结束3个月内按放射治疗肿瘤协作组、欧洲癌症治疗研究组所定放射反应分级标准记录患者的放疗不良反应,具体定义如下:①白细胞下降:放疗后白细胞降至 $3 \times 10^9/L$ 以下;②乏力:按Chalder乏力评价量表<sup>[6]</sup>评分出现>0分者(患者放疗前评分均为0分);③胸腔积液:胸部B超或CT提示积液最大间距大于4cm;④胃肠道反应:厌食伴体重下降在>5%治疗前水平或恶心呕吐需止呕药。

#### 1.5 统计学处理

经SAS医用统计软件(军事医学科学院胡良平教授协助)分析结果。计量资料以均数和标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,计数资料以百分率表示。应用t检验、 $\chi^2$ 检验或秩和检验进行统计,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 免疫学指标

治疗后3个月,联合组患者外周血CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>阳性率、Th1/Th2比值、Ag-NORs比值等免疫学指标均高于放疗组( $P<0.05$ ),见表3。

### 2.2 近期疗效

治疗后3个月联合组患者生活质量(PS评分)、肝功能(ALT)、血清肿瘤标志物(CEA和CA125)等指标均较放疗组患者降低( $P<0.05$ ),见表4。

表3 两组患者治疗前后免疫学指标比较

组别	时间	CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> (%)	Th1/Th2	Ag-NORs(IS%)
放疗组	治疗前	3.87±1.08	1.62±0.56	4.39±1.92
	治疗后3个月	3.63±0.76	0.93±0.25	4.02±0.86
联合组	治疗前	3.94±0.85*	1.58±0.39*	4.32±1.75*
	治疗后3个月	4.08±1.12 <sup>△</sup>	1.37±0.42 <sup>△</sup>	4.46±1.31 <sup>△</sup>

注:\*,与放疗组治疗前比较, $P>0.05$ ;<sup>△</sup>:与放疗组治疗后3个月比较, $P<0.05$ 。

表4 两组患者治疗前后PS评分、ALT、CEA和CA125比较

组别	时间	PS评分	ALT(U/L)	CEA(ng/ml)	CA125(U/ml)
放疗组	治疗前	2.32±0.54	74.24±19.64	23.54±6.62	174.72±45.64
	治疗后3个月	2.79±0.61	108.83±30.43	16.58±5.16	146.36±39.83
联合组	治疗前	2.35±0.48*	77.65±22.39*	25.81±6.35*	181.17±41.96*
	治疗后3个月	2.43±0.42 <sup>△</sup>	89.29±20.96 <sup>△</sup>	12.64±4.87 <sup>△</sup>	114.63±34.45 <sup>△</sup>

注:\*,与放疗组治疗前比较, $P>0.05$ ;<sup>△</sup>:与放疗组治疗后3个月比较, $P<0.05$ 。

### 2.3 6个月疗效和MST

经随访,联合组患者的6个月疗效、MST均优于放疗组( $P<0.05$ ),见表5。

表5 两组患者6个月疗效和MST

组别	例数	6个月疗效				MST(月)
		CR	PR	SD	PD	
放疗组	36	2	13	12	9	13.56
联合组	36	4	18	9	5	19.34
t				1458*		6.936
P				0.0421		0.000

注:\*,秩和检验T值。

### 2.4 不良反应

治疗期间,两组各有部分患者出现了白细胞减少、胸腔积液、胃肠道反应等不良反应,联合组白细胞降低和全身乏力的发生率明显低于放疗组( $P<0.05$ )。两组患者均无呼吸衰竭或胃肠道穿孔发生。具体情况见表6。

表 6 两组患者的不良反应发生情况

组别	例数	白细胞降低	全身乏力	胸腔积液	胃肠道反应
放疗组	36	77.78(28)	52.78(19)	19.44(7)	33.33(12)
联合组	36	55.56(20)	27.78(10)	13.89(5)	27.78(10)
$\chi^2$		4.000	4.677	0.400	0.262
P		0.046	0.031	0.527	0.608

注:括号内为例数,括号前为百分比(%)。

### 3 讨论

立体定向体部伽玛刀属于三维适形放射治疗(3D-CRT)。伽玛刀配备多钴源(30个以上)非共面动态旋转聚集技术,能对照射野进行三维集束分次大剂量治疗,适形覆盖靶区,大大提高了肿瘤靶区辐照的精度和剂量,同时将正常组织的照射剂量降至最低,显著提高了放疗增益比<sup>[7]</sup>。此外,伽玛刀治疗周期较短可有效减少放疗过程中肿瘤细胞的加速再增殖。

伽玛刀能提高 NSCLC 的局部疗效,但尚无法清除所有隐匿灶,而且在杀伤癌细胞的过程中会损伤机体免疫功能,同时会导致骨髓抑制、胸腔积液等多种并发症,妨碍放疗的顺利完成<sup>[8]</sup>。因此,提高患者对射线的耐受能力和围放疗期的免疫状态,减轻放疗的不良反应具有重要的临床意义<sup>[9]</sup>。DC 是启动主动和特异性免疫的关键细胞,而 CIK 同时表达 CD3<sup>+</sup>和 CD56<sup>+</sup>,具有强大的免疫支持作用,是目前肿瘤杀伤活性最强的效应细胞。理论上,DC-CIK 免疫治疗对放疗患者具有以下优势:生物杀伤癌细胞,抑制侵袭转移;刺激机体抗肿瘤免疫应答,部分纠正患者免疫缺陷;减轻放疗损伤(CIK 有保肝和升白作用),提高患者生活质量;对机体几无副反应,安全性好<sup>[10]</sup>。

本文研究结果显示,治疗后3个月联合组患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>阳性率、Th1/Th2 比值和 Ag-NORs 均高于放疗组( $P < 0.05$ ),提示联合组患者的免疫状态优于放疗组。Ag-NORs 是一种调节 rDNA 转录的酸性蛋白,Ag-NORs 比值能代表 rDNA 的转录效率,间接反映淋巴细胞活性<sup>[11]</sup>;CD3 和 CD56 阳性率与细胞免疫强弱相关,而 Th1/Th2 比值可显示体内抗肿瘤应答状态。联合组患者的生活质量、肝功能、相关肿瘤标志物、6个月疗效和 MST 等指标均优于放疗组( $P < 0.05$ );此外,比较两组患者的不良反应,联合组患者白细胞降低和全身乏力的发生率低于放疗组( $P < 0.05$ ),而胸腔积液及胃肠道反应的发生率两组差异无统计学意义。综合以上结果可以看出,DC-CIK 为接受放疗的患者带来了明显的临床受益,对伽玛

刀治疗产生减毒增效效应。分析其机制,首先伽玛刀最大程度摧毁局部癌细胞,减轻瘤负荷,在一定程度上打破了肿瘤组织对抗肿瘤免疫的抑制,有利于回输的 DC-CIK 发挥抗癌作用,而 DC-CIK 能进一步杀伤隐匿潜存癌细胞,并通过免疫增强及缓解毒副损伤作用,改善患者体内 Th1 应答<sup>[12]</sup>和肝功能,提高生活质量和临床疗效。两者的联合,将局部治疗与全身治疗相统一,体现了祛邪扶正的治疗理念<sup>[13]</sup>。不过,由于这两种手段还存在不确定和不成熟的因素,加之研究样本较少,因此其确切的作用机制、治疗时间和方案的完善以及如何减少射线对回输细胞的抑制等问题还需要深入地研究和论证。

### 参考文献:

- [1] Hiraoka M, Matsuo Y, Takayama K, et al. Stereotactic body radiation therapy for lung cancer: achievements and perspectives [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2010, 40(9): 846-854.
- [2] 张小玉,呼永河,唐春果,等. 华蟾素辅助立体定向体部伽玛刀治疗原发性肝癌的临床研究[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2011, 5(7): 1901-1905.
- [3] Dahele M, Palma D, Lagerwaard F, et al. Radiological changes after stereotactic radiotherapy for stage I lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(7): 1221-1228.
- [4] Zhong G, Wang J, Xu M, et al. Enhanced maturation and functional capacity of dendritic cells induced by mannose-sylated L2 domain of ErbB2 receptor [J]. *Scand J Immunol*, 2005, 62(2): 108-116.
- [5] 钟国成,张小玉,孙慧,等. 自体肿瘤抗原致敏的树突状细胞联合细胞因子诱导杀伤细胞应用于肺腺癌治疗的临床研究[J]. *肿瘤*, 2010, 30(5): 395-400.
- [6] Cella D. The functional assessment of cancer therapy-anemia(FACT-An) scale: a new tool for the assessment of outcomes in cancer anemia and fatigue [J]. *Semin Hematol*, 1997, 34(3 Suppl 2): 13-19.
- [7] Crabtree TD, Denlinger CE, Meyers BF, et al. Stereotactic body radiation therapy versus surgical resection for stage I non-small cell lung cancer [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2010, 140(2): 377-386.
- [8] Stauder MC, Macdonald OK, Olivier KR, et al. Early pulmonary toxicity following lung stereotactic body radiation therapy delivered in consecutive daily fractions[J]. *Radiother Oncol*, 2011, 99(2): 166-171.
- [9] Xia T, Li H, Sun Q, et al. Promising clinical outcome of stereotactic body radiation therapy for patients with inoperable stage I/II non-small-cell lung cancer[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 66(1): 117-125.
- [10] Helms MW, Prescher JA, Cao YA, et al. IL-12 enhances efficacy and shortens enrichment time in cytokine-induced killer cell immunotherapy [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2010, 59(9): 1325-1334.
- [11] Wang J, Ma G, Dai S, et al. Effect of cellular immune supportive treatment on immunity of esophageal carcinoma patients after modern two-field lymph node dissection[J]. *Ai Zheng*, 2007, 26(7): 778-781.
- [12] 吕章春,陈海祥,李可,等. 经诱导健康人与肿瘤患者 CIK 和 DC-CIK 对肺癌细胞杀伤作用的比较研究[J]. *肿瘤学杂志*, 2009, 15(6): 530-533.
- [13] 张丽霞,亓丽丽,任妍,等. 唯美生放射免疫治疗联合射频消融治疗原发性肺癌 13 例[J]. *肿瘤学杂志*, 2011, 17(12): 920-922.