

130 例结直肠癌术后辅助化疗联合 CIK 治疗的临床疗效评价

李迎春, 金爱山, 陈诗, 宋纯, 张桂荣

(辽宁省肿瘤医院 & 肿瘤研究所, 辽宁 沈阳 110042)

摘要: [目的] 评价术后辅助化疗联合细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)免疫治疗在结直肠癌治疗中的作用。[方法] 连续收集 2006 年 3 月至 2009 年 12 月接受结直肠癌根治术后行辅助化疗联合 ≥ 4 次 CIK 治疗的 65 例患者为 CIK 治疗组, 采用 1:1 方法, 并按照病理分期、肿瘤部位、年龄等因素选择同期结直肠癌根治术后单纯接受辅助化疗的 65 例患者为对照组。随访截止至 2014 年 5 月。 t 检验、 χ^2 检验/Fisher 精确检验比较两组临床资料。观察终点为无病生存期(DFS)和总生存期(OS)。[结果] CIK 治疗组 1、2、3、4、5 年无病生存率分别为 82%、55%、43%、34%、30%, 而对照组分别为 63%、31%、27%、20%、19% ($P < 0.05$)。CIK 治疗组中位 DFS 明显优于对照组(27 个月 vs 16 个月, $P < 0.05$)。CIK 治疗组 1、2、3、4、5 年总生存率分别为 98%、94%、80%、72%、66%, 而对照组分别为 95%、84%、63%、53%、45% ($P < 0.05$)。CIK 治疗组中位 OS 明显优于对照组(74 个月 vs 54 个月, $P < 0.05$)。CIK 治疗是患者预后的影响因素 ($P < 0.05$)。亚组分析显示, ≥ 9 次治疗的患者 OS 优于 < 9 次的患者 ($P < 0.05$)。[结论] 结直肠癌根治术后联合 CIK 治疗能够显著改善预后, 且增加 CIK 治疗次数可以使患者更大程度获益。

关键词: 结直肠肿瘤; CIK 治疗; 临床疗效; 无病生存率; 总生存率

中图分类号: R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2015)10-0843-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2015.10.B013

Efficacy of Adjuvant Chemotherapy Combined with CIK Cell Immunotherapy in 130 Patients with Postoperative Colorectal Cancer

LI Ying-chun, JIN Ai-shan, CHEN Shi, et al.

(Liaoning Cancer Hospital & Institute, Shenyang 110042, China)

Abstract: [Purpose] To evaluate the clinical efficacy of cytokine-induced killer cells (CIK) combined with adjuvant chemotherapy in the treatment of postoperative patients with colorectal cancer (CRC). [Methods] Baseline characteristics and outcomes of 130 CRC patients treated by adjuvant chemotherapy after radical resection were collected from March 2006 to December 2009. A total of 65 patients received ≥ 4 cycles of autologous CIK cell treatment (CIK group), and 65 received adjuvant chemotherapy only (control group) were chosen in respect of pathological stage, location of the tumor, age and so on. The patients were followed up until May 2014. Differences in demographic, clinical characteristics and therapeutic information of patients between the two groups were evaluated using t test, χ^2 test and the Fisher exact test as appropriate. Disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) were evaluated. [Results] The 1, 2, 3, 4, 5-year DFS rates in CIK group were markedly higher than those in control group (82%, 55%, 43%, 34%, 30% vs 63%, 31%, 27%, 20%, 19%, $P < 0.05$). The median DFS durations in CIK group were significantly better than those in control group (27 months vs 16 months, $P < 0.05$). The 1, 2, 3, 4, 5-year OS rates in CIK group were markedly higher than those in control group (98%, 94%, 80%, 72%, 66% vs 95%, 84%, 63%, 53%, 45%, $P < 0.05$). The median OS durations in CIK group were significantly better than those in control group (74 months vs 54 months, $P < 0.05$). CIK cell immunotherapy was significantly related with the OS duration ($P < 0.05$). In subgroup analysis, patients who received ≥ 9 cycles of CIK cell transfusion exhibited significantly better survival than the < 9 cycle group ($P < 0.05$). [Conclusion] Adjuvant chemotherapy combined with CIK cell immunotherapy can improve the prognosis of CRC, and increasing the frequency of CIK cell treatment seems to benefit patients more.

Subject words: colorectal neoplasms; cytokine-induced killer (CIK); clinical efficacy; DFS; OS

通讯作者: 张桂荣, 主任检验师, 硕士; 辽宁省肿瘤医院 & 肿瘤研究所,
辽宁省沈阳市大东区小河沿路 44 号 (110042); E-mail:
zhang.lth@163.com

收稿日期: 2015-04-22; **修回日期:** 2015-06-26

结直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一^[1,2]。手术为基础的多学科综合治疗(multidisciplinary treatment)是其最佳的治疗对策。然而,结直肠癌总的5年生存率仍徘徊在50%左右^[2,3]。近年来,除了针对肿瘤本身的杀伤性治疗方法以外,越来越重视激发或调动机体的免疫系统,增强肿瘤微环境抗肿瘤免疫力,从而实现长期稳定的抗肿瘤疗效^[4]。

与肿瘤的手术、放疗、化疗不同,细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)具有抗肿瘤活性强、抗瘤谱广、安全无毒副作用等优势,逐渐成为研究的热点^[5]。与常规治疗联合, CIK治疗显著延长肾癌^[6]、肝癌^[7,8]、消化道癌等^[9-12]患者的生存期。本研究对结直肠癌根治术后辅助化疗联合 ≥ 4 次CIK治疗的65例患者与未接受CIK治疗的65例患者进行对照研究,结果证明接受CIK治疗的患者生存获益。现将结果详述如下。

1 资料与方法

1.1 病例选择

CIK治疗经辽宁省肿瘤医院伦理委员会审查批准,治疗前均取得患者及家属的同意并签订知情同意书。本研究选择从2006年3月至2009年12月的患者共130例,均经病理学、组织学、细胞学等检查确诊为结直肠癌,均行结直肠癌根治术,术后病理证实为R0切除。130例患者均为AJCC TNM分期的II~III期患者,卡氏评分均 ≥ 80 分,肝肾功能正常。130例患者均进行术后辅助化疗,其中CIK治疗组术后连续接受 ≥ 4 次CIK治疗。没有特殊的CIK细胞治疗选择标准。

1.2 方法

1.2.1 治疗方案

本研究依据《NCCN结肠癌临床实践指南》和《NCCN直肠癌临床实践指南》制定患者的治疗计划。化疗方案采用FOLFOX方案、XELOX或希罗达单药方案,术后辅助化疗4~10个周期。术后对部分II~III期直肠癌患者辅助放疗,术后4~6周开始放疗,照射剂量为每周第1~5天、每天2Gy,共5周,总照射剂量为50Gy。结肠癌患者未辅助放疗。术后1个月内复发的患者排除本研究。CIK细胞按本院常规方法培养并回输。

1.2.2 CIK细胞的制备方法及回输

按本实验室的常规方法进行CIK细胞制备,详细步骤可以参见文献和书籍中介绍^[8,13]。简而言之,经肝素抗凝的50ml患者自体外周血, Ficoll-Hypaque(天津灏洋生物制品科技有限责任公司)密度梯度离心分离PBMCs,在含有1 000U/ml IFN- γ (上海凯茂生物医药有限公司)和2%自体血浆无血清培养基(GT-T503、GT-T551、TAKARA, JAPAN)中孵育24h,加入100ng/ml抗CD3抗体(OKT-3)(TAKARA, JAPAN)、100U/ml重组IL-1 α (PeproTech Inc., USA)、1 000U/ml重组IL-2(辽宁卫星制药厂)活化细胞,此后每2~5天添加新鲜无血清培养基和适量重组IL-2,细胞浓度维持在 $2 \times 10^6 \sim 6 \times 10^6$ /ml。经过台盼蓝拒染检测证实细胞活力良好,细菌、霉菌检测证实无污染,培养14天收集细胞,生理盐水洗细胞至少3次,重悬于含有2%人血清白蛋白的250ml生理盐水中,经静脉回输给患者。每次CIK治疗回输细胞数约为 0.5×10^{10} 个细胞。

1.2.3 随访及疗效评价

随访时间从2006年3月至2014年5月,总的中位随访时间为58个月,CIK治疗组与对照组中位随访时间分别为61个月和53个月。首次入院至2年,患者每3~4个月进行1次随访检查。2年后至5年,患者每6个月进行1次随访检查。5年后,患者每年进行1次随访检查。若出现复发/转移,接受标准的晚期治疗。

1.3 统计学处理

选用SPSS19.0软件进行统计分析。计量资料采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验和Fisher精确检验。生存分析采用寿命表法计算生存率, Kaplan-Meier曲线法计算中位生存期,并用Log-rank检验比较组间差异。采用Cox比例风险回归模型进行预后影响因素分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CIK治疗组与对照组病例资料对比

比较两组患者的性别、年龄、肿瘤部位、分化程度、病理分期、切除淋巴结数目、术后辅助治疗情况,结果显示两组资料无统计学差异($P > 0.05$)(Table 1)。

Table 1 Distributions of demographic, clinical characteristics and therapeutic information of patients in CIK group and control group

Characteristics	CIK group (n=65)	Control group (n=65)	χ^2	P
Sex, male/ female	36/29	37/28	0.031	0.860
Age(years)($\bar{x} \pm s$)	57 $\pm$ 13	58 $\pm$ 12		0.767 ^{&}
Location of tumor				
Colon cancer	28	27	0.285*	1.000
Rectal cancer	36	37		
Rectosigmoid junction	1	1		
Histologic differentiation				
Well differentiation	8	8	0.425*	1.000
Moderate differentiation	39	40		
Poorly differentiation	3	3		
Mucinous adenocarcinoma	14	13		
Signet ring cell carcinoma	1	1		
AJCC stage				
II	25	25	0.000	1.000
III	40	40		
Sampled lymph node (<12/ $\geq$ 12/unknown)	25/38/2	20/43/2	0.987*	0.720
Chemotherapy regimen				
FOLFOX	62	63	1.426*	1.000
XELOX	1	1		
CF+5-Fu	1	0		
Xeloda	1	1		
Adjuvant radiotherapy(rectal cancer) (yes/no)	7/58	5/60	0.367	0.545

Note: *Fisher's exact test; & t test.

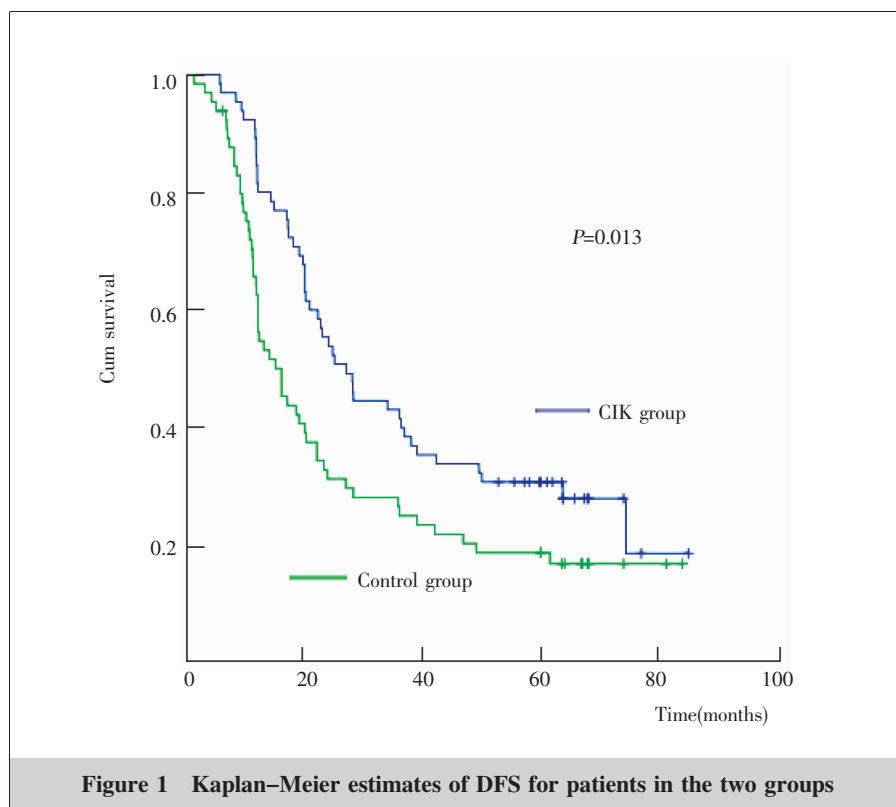


Figure 1 Kaplan-Meier estimates of DFS for patients in the two groups

2.2 无病生存期(DFS)比较

CIK 治疗组 1、2、3、4、5 年无病生存率分别为 82%、55%、43%、34%、30%，而对照组分别为 63%、31%、27%、20%、19%，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。CIK 治疗组和对对照组中位 DFS 分别为 27 个月 (95%CI:21~33) 和 16 个月 (95%CI:11~21)。Kaplan-Meier 生存曲线分析表明,CIK 治疗组 DFS 显著优于对照组 ($P<0.05$) (Figure 1)。

2.3 总生存期(OS)比较

CIK 治疗组 1、2、3、4、5 年总生存率分别为 98%、94%、80%、72%、66%，而对照组分别为 95%、84%、63%、53%、45%，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。CIK 治疗组和对对照组中位 OS 分别为 74 个月 (95%CI:61~87) 和 54 个月 (95%CI:37~71)。Kaplan-Meier 生存曲线分析结果显示,CIK 治疗组 OS 显著优于对照组 ($P<0.05$) (Figure 2)。

2.4 CIK 治疗组患者预后影响因素分析

CIK 治疗组患者中位数治疗次数为 9 次 (4~17 次)。Cox 比例风险回归模型进行分析,结果显示 CIK 治疗是患者预后影响因素 ($P<0.05$) (Table 2)。亚组分析显示, ≥ 9 次治疗的患者 OS 优于 <9 次的患者 ($P<0.05$) (Figure 3)。

3 讨论

细胞免疫治疗具有良好的安全性和有效性,联合常

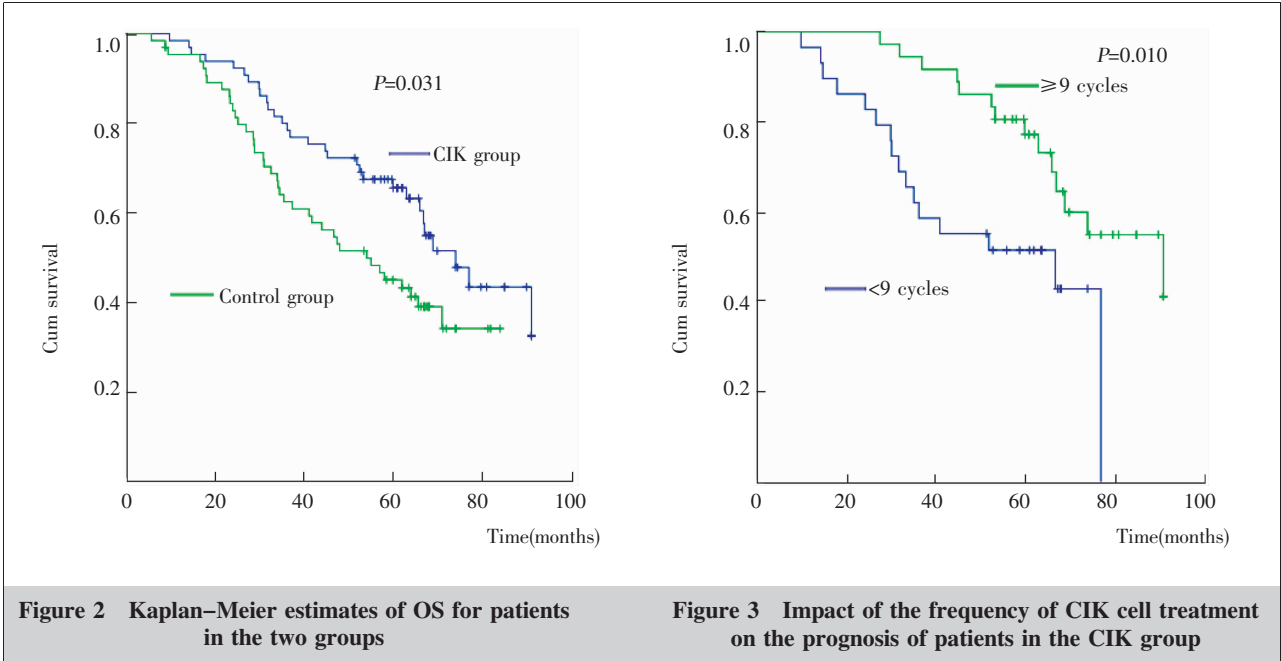


Table 2 Analysis of the prognostic factors of OS in CIK group					
Variables	Example	mOS(months)	HR	95%CI	P
Sex(male vs female)	36 : 29	62 : 73	2.134	0.976~4.668	0.058
Age(years)(≤60 vs > 60)	39 : 26	70 : 60	0.576	0.276~1.200	0.140
Location of tumor (rectum and rectosigmoid junction vs colon)	37 : 28	63 : 72	1.676	0.783~3.585	0.183
Pathological grades (Ⅲ vs Ⅱ)	40 : 25	66 : 68	1.129	0.543~2.349	0.746
Histological types (high vs low) ^{&}	18 : 47	66 : 67	0.946	0.405~2.208	0.897
CIK cycles	As a continuous variable		0.914	0.837~0.998	< 0.05 [*]

Note:& Tumor cell classification criteria refer to Chinses Standard for The Management of Colorectal Cancer (2010);The low levels of histological types include highly differentiated adenocarcinoma,moderately differentiated adenocarcinoma,and a high level of histologic type,including poorly differentiated adenocarcinoma,mucinous adenocarcinoma,and signet ring cell carcinoma.*has statistical significance.

规治疗提高多种癌症疗效^[6-14]。高危Ⅱ期和Ⅲ期结直肠癌患者术后辅助化疗的目的在于杀灭手术无法清除的微小病灶,减少复发,提高生存率。然而,大部分患者术后2年左右复发^[2,3]。已知肿瘤细胞通过分泌免疫抑制因子抑制免疫效应细胞功能,或缺乏MHC抗原表达和缺乏肿瘤抗原表达发生免疫逃逸^[15,16]。因此,非MHC抗原限制的免疫治疗更有效提高术后辅助化疗的疗效。过继性细胞免疫治疗主要包括淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphocyte activate killer,LAK)、细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte,CTL)、CIK等。但LAK细胞因本身的抗肿瘤活性很低、CTL因MHC限制性杀瘤特点限制了临床应用^[6]。CIK细胞是体外利用抗CD3抗体、IL-2、IL-1诱导外周血单个核细胞活化并扩增获得的一种新型免疫活性细胞,其中CD3⁺CD56⁺T细胞兼有T

淋巴细胞强大的抗肿瘤活性和自然杀伤细胞(natural killer cell,NK)的非主要组织相关性复合物限制性杀瘤的特点,杀伤活性高。CIK细胞同时表达多种细胞因子受体,且多项体内实验模型显示,CIK细胞经静脉回输体内后可以迁移至肿瘤部位及肺、肝等重要脏器,并发挥其细胞毒作用^[6]。CIK细胞可以调节、增强肿瘤患者机体的免疫功能^[14,17]。此外,CIK治疗恶性肿瘤患者是安全有效的,无治疗相关性死亡,相关不良反应可对症处理^[11]。因此,术后辅助化疗联合CIK治疗可能更有效清除残余肿瘤细胞,增强机体免疫能力,从而提高患者疗效。本研究观察到CIK治疗组的DFS和OS具有显著优势。与此一致,以往研究显示联合CIK免疫治疗可显著延长肾癌^[6]、肝癌^[7,8]以及消化道恶性肿瘤^[9-12]的DFS或OS。这些研究结果提示术后联合CIK治疗能够延迟结直肠

癌复发/转移并延长生存期。

目前尚无标准的临床标记可以提示患者的免疫状态和/或 CIK 治疗的疗效,也缺乏针对宿主免疫系统对 CIK 细胞输注的反应方面的研究。在一些研究中检测外周血 T 细胞亚群可能用于指示肿瘤患者的免疫状态,但是并没有得出满意的结论。Zhu 等^[10]研究指出 CIK 细胞回输后检测外周血 CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD56⁺细胞以及 CD4⁺/CD8⁺比值有一定的变化,但是依检测时间点的变化而得出不同结果。另有研究比较了 CIK 治疗前后肝功能、肾功能以及血常规结果,均无显著性差异($P>0.05$)^[11]。提示 CIK 细胞输注并不影响机体的正常生理功能,间接证明了 CIK 治疗的安全性和有效性。本研究围绕着患者临床特征分析了 CIK 治疗组患者的预后影响因素,发现 CIK 治疗次数显著影响患者 OS。以中位次数为界点, ≥ 9 次治疗的患者 OS 更长。这说明一定程度上加强 CIK 治疗可以促进长期生存。我们的结果与 Zhang 等^[6]的转移性肾癌研究、Pan 等^[8]的肝癌研究结果一致。然而,最佳治疗次数或治疗维持时间仍不清楚,有待进一步研究。

总之,本研究结果提示联合 CIK 治疗能够改善结直肠癌患者预后,增加治疗次数可以使患者获益更大。本研究属单中心的回顾性研究,存在着选择性偏倚的限制,但是仍可以为临床选择最佳治疗方案提供客观依据,并为今后开展多中心、前瞻性的临床研究提供思路 and 方向。

参考文献:

- [1] Siegel R, Desantis C, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2014 [J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(2): 104–117.
- [2] Wang N, Sun TT, Zheng RS. An analysis of incidence and mortality of colorectal cancer in China, 2009 [J]. China Cancer, 2013, 22(7): 515–520. [王宁, 孙婷婷, 郑荣寿. 中国 2009 年结直肠癌发病和死亡资料分析 [J]. 中国肿瘤, 2013, 22(7): 515–520.]
- [3] Yi CH, Ge WT, Huang YQ, et al. TNM classification and prognostic factors of 1368 patients with colorectal cancer [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2012, 39(9): 597–601. [易呈浩, 葛维挺, 黄彦钦, 等. 1368 例结直肠癌 TNM 分期及预后分析 [J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(9): 597–601.]
- [4] McNutt M. Cancer immunotherapy [J]. Science, 2013, 342(6165): 1417.
- [5] Jiang J, Wu C, Lu B. Cytokine-induced killer cells promote antitumor immunity [J]. J Translational Med, 2013, 11: 83.
- [6] Zhang P, Zhang J, Liu L, et al. Clinical efficacy and related predictive factors of cytokine-induced killer cells in the treatment of patients with metastatic renal cell carcinoma [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2012, 39(10): 732–735. [张澎, 张静, 刘亮, 等. CIK 治疗转移性肾癌的临床疗效评价及预后影响因素分析 [J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(10): 732–735.]
- [7] Ma Y, Xu YC, Tang L, et al. Cytokine-induced killer (CIK) cell therapy for patients with hepatocellular carcinoma: efficacy and safety [J]. Exp Hematol Oncol, 2012, 1(1): 11.
- [8] Pan K, Li YQ, Wang W, et al. The efficacy of cytokine-induced killer cell infusion as an adjuvant therapy for post-operative hepatocellular carcinoma patients [J]. Ann Surg Oncol, 2013, 20(13): 4305–4311.
- [9] Wang ZX, Cao JX, Liu ZP, et al. Combination of chemotherapy and immunotherapy for colon cancer in China: a meta-analysis [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(4): 1095–1106.
- [10] Zhu YJ, Zhang HB, Li Y, et al. Efficacy of postoperative adjuvant transfusion of cytokine-induced killer cells combined with chemotherapy in patients with colorectal cancer [J]. Cancer Immunol Immunother, 2013, 62: 1629–1635.
- [11] Ma XB, Ma C, Qiu W, et al. An analysis of the safety in CIK treatment for 90 cases with cancer [J]. Journal of Chinese Oncology, 2014, 20(3): 230–233. [马学斌, 马聪, 邱伟, 等. CIK 细胞治疗 90 例肿瘤患者的安全性分析 [J]. 肿瘤学杂志, 2014, 20(3): 230–233.]
- [12] Yin LW, Wang SP, Zhang L, et al. Efficacy of dendritic cells/cytokine induced killer cells adoptive immunotherapy combined with chemotherapy in treatment of metastatic colorectal cancer [J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2013, 20(2): 217–224. [尹良伟, 王苏平, 张利, 等. DC-CIK 过继性免疫疗法联合化疗治疗转移性结直肠癌患者的疗效 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20(2): 217–224.]
- [13] Xia JC. Principles and application of cancer biotherapy [M]. First Edition. Beijing: Science Press, 2011. 684–689. [夏建川. 肿瘤生物治疗基础与临床应用 [M]. 第 1 版. 北京: 科学出版社, 2011. 684–689.]
- [14] Sangiolo D. Cytokine induced killer cells as promising immunotherapy for solid tumors [J]. J Cancer, 2011, 2: 363–368.
- [15] Song Y, Zhu XK. Current progress of the mechanism of tumor immune escape [J]. Modern Oncology, 2011, 19(6): 1230–1234. [宋彦, 朱喜科. 肿瘤免疫逃逸机制的研究新进展 [J]. 现代肿瘤学, 2011, 19(6): 1230–1234.]
- [16] Wen YP, Gao LH, Li M. Interaction of cancer with immunity and the novel strategy of cancer immunotherapy [J]. China Cancer, 2011, 20(2): 103–107. [文亚平, 高丽华, 黎明. 肿瘤与免疫系统的相互作用及肿瘤免疫治疗新策略 [J]. 中国肿瘤, 2011, 20(2): 103–107.]
- [17] Guo J, Cui H, Pu SZ, et al. Effect of immune function of CIK cells combined with DC cells adoptive immunotherapy in patients with colorectal cancer for chemotherapy [J]. China Journal of Modern Medicine, 2013, 23(10): 32–35. [郭杰, 崔海, 朴素宙, 等. CIK 细胞联合 DC 细胞过继性免疫治疗结直肠癌化疗患者免疫功能的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(10): 32–35.]