

CIK 细胞介导的获得性免疫在血液系统恶性肿瘤中的研究进展

师 瑞, 雷培森, 阿 明, 花 华, 杨甲强, 毛成涛
(解放军第四五一医院, 陕西 西安 710054)

摘 要: 细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)细胞是通过采集患者外周血的单核细胞, 在体外经多种细胞因子诱导和培养后获得的一类具有非主要组织相容性抗原限制性(MHC)杀瘤活性的免疫细胞, 同时表达 CD3 和 CD56 这两种膜蛋白分子, 具有 T 淋巴细胞的强大抗瘤活性和 NK 细胞的非 MHC 限制性杀瘤的优点。因其易获得, 体外高扩增率以及非 MHC 限制性等优点, 使之成为肿瘤获得性生物免疫治疗中的热点。在体外及动物试验中, CIK 细胞对实体瘤和血液系统恶性肿瘤同样具有有效的细胞毒性作用, 临床研究显示, CIK 细胞免疫治疗对于肿瘤患者, 甚至是晚期肿瘤患者疗效肯定, 与传统治疗方法具有协同抗瘤作用。本文将讨论 CIK 免疫治疗在血液系统恶性肿瘤中的研究进展及未来发展趋势, 并将最新的研究成果作一回顾。总体来讲, 研究显示, CIK 细胞在控制血液系统肿瘤生长、延长生存时间以及改善生活质量上具有肯定疗效。然而, 目前为止, 仍缺乏明确的能够用于临床治疗的应用规范。

关键词: CIK 细胞; 临床试验; 免疫治疗; 血液系统恶性肿瘤

中图分类号: R733 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2016)06-0492-09

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2016.06.B012

Research Progress of Cytokine-induced Killer (CIK) Cells Based Adoptive Immunotherapy in Hematological Malignancies

SHI Rui, LEI Pei-sen, A Ming, et al.

(The 451st Hospital of People's Liberation Army, Xi'an 710054, China)

Abstract: Cytokine induced killer (CIK) cells are immune effector cells which could be expanded from peripheral blood mononuclear cells (PBMC) cultured with many cytokines. A consistent subset of mature CIK cells presents a CD3(+)/CD56(+) phenotype. Feature both T cell cytotoxic activity and natural killer(NK)-like major histocompatibility complex (MHC)-unrestricted antitumor activity. The easy availability, high proliferation rate and non-MHC restricted cytolytic profile, making them an attractive approach for adoptive immunotherapy. CIK cells have shown considerable cytotoxicity against both solid tumors and hematological malignancies in vitro and in animal studies. Amount of phase I/II clinical studies demonstrated the feasibility and efficacy of CIK cell immunotherapy in cancer patients, even at advanced disease stages. Meanwhile, the combination application of CIK with standard therapeutic procedures revealed synergistic antitumor effects. In this article, We give insight into the latest advances in the CIK cell immunotherapy of hematological malignancies and look into future perspectives of adoptive immunotherapy. In general, CIK cells demonstrate a considerable effect on the patients with hematological malignancies, as evidenced by complete remissions, prolong survival durations and improve quality of life. However, the optimal application procedure for clinical practice has still to be developed.

Subject words: CIK cell; clinical trial; immunotherapy; hematological malignancies

在过去的十几年里, 血液系统恶性肿瘤的治疗取得重大进展, 然而远期疗效不尽人意, 大部分患者因放化疗的不良反应而痛苦不堪, 特别是最易罹患血液恶性肿瘤的老年患者。治疗相关的不良反应

导致化疗药物减量甚至停药, 导致病情加重恶化^[1]。因此, 必须寻求其他有效的、不良反应少的治疗方法。

近年来, 获得性免疫治疗作为一种新的方式, 在肿瘤治疗中显示出突出作用, 成为一种辅助治疗甚至是替代性治疗方式。通过激活机体自身免疫系统触发机体抗瘤反应, 调动机体自身机制更好地识别并杀伤肿瘤细胞。在众多的生物免疫治疗方法

通讯作者: 师 瑞, 副主任, 主治医师, 硕士; 解放军第四五一医院肿瘤血液科, 陕西省西安市友谊东路 269 号(710054); E-mail: shirui929@163.com

收稿日期: 2015-10-28; **修回日期:** 2015-12-22

中, 获得性细胞免疫治疗利用 CIK 细胞重建机体免疫机制, 疗效可靠。在首批体外及动物试验中, CIK 细胞对转染的造血细胞显示出很高的细胞毒效应^[2,3]。最新的临床试验文章显示, CIK 免疫治疗对不同类型肿瘤, 尤其是实体瘤患者具有明确的抗肿瘤效应并显著提高无进展生存及总生存率, 无明显不良反应, 患者耐受性好, 可重建晚期肿瘤患者的免疫系统, 提高生活质量^[4-8]。

CIK 细胞较其他免疫细胞扩增迅速, 具有更强的抗肿瘤活性^[3,9], 可通过分离人外周血单核细胞(PBMC), 在体外与 IFN- γ 、抗 CD3 抗体及重组人白介素-12 共培养获得。通过体外培养, CD56⁻和 CD56⁺两种主要的 CD3⁺ T 细胞被分离, 两者具体比例依赖于培养过程的具体操作。其中 CD3⁺CD56⁺细胞表型被认为具有超强的抗肿瘤能力。这类细胞同时具有 T 淋巴细胞的强大抗肿瘤活性和 NK 细胞的非 MHC 限制性杀瘤的优点, 对多种肿瘤细胞具有细胞毒作用。而这些 CD3⁺CD56⁺细胞并不是来源于 NK 细胞, 而是来源于虽通过 HLA 限制性但仍然被残存的同种异体反应所排斥的 CD3⁺CD56⁻细胞^[3,11,12]。

1 作用机制

CIK 细胞的抗肿瘤活性是穿孔素介导的, 依赖于细胞间直接接触, 通过 NKG2D 细胞表面受体发挥作用, 用 NKG2D 抗体或 siRNA 阻断 NKG2D 后, CIK 细胞丧失了不依赖 TCR 的抗肿瘤细胞毒性作用。大多数 CIK 表达 NKG2D, 它的活性与一个 10kDa 的衔接分子 DNAX 活性蛋白相关, 在高浓度 IL-2 的作用下, CIK 细胞中 DNAX 蛋白表达上调, 而与 CD3⁺CD5⁺细胞比例无关。所有实体瘤及血液系统肿瘤高表达 DNAX 配体, 典型的有 MHC I 类链相关分子(MIC) A/B 以及 UL16 结合蛋白家族成员^[14-16]。CIK 细胞同样表达其他一些活化的 NK 细胞受体, 例如 DNAM-1、NKp30、NKp44 和 NKp46, 这些受体被认为与肿瘤细胞识别有关, 但在 CIK 细胞抗肿瘤中的作用知之甚少。最终分化的 CIK 细胞同时表达 CD45RA⁺、CCR7⁻、CD11a⁺、CD62⁻、CD27⁺、CD28⁻, 分化后期的 CD3⁺CD56⁺细胞较早期的 CD3⁺CD56⁻细胞拥有更多的效应特征^[11,17]。

CD56 在 CIK 的细胞毒效应中发挥重要作用,

抗 CD56 的单克隆抗体 GPR165 可以显著减少 CIK 对三种 CD56⁺造血系统肿瘤细胞(AML-NS8、NB4 和 KCL22)的裂解作用。而对 CD56⁻的肿瘤细胞(K562、REH 和 MOLT-4)无影响。通过 siRNA 敲除 CD56 的 CIK 细胞对 CD56⁺的肿瘤细胞效应降低, 而用慢病毒的短发卡 RNA 转染肿瘤细胞的 CD56, 可以显著降低肿瘤细胞对 CIK 的敏感性^[18]。

研究发现脐血来源和外周血来源的 CIK 细胞通过不同的通路对 B 细胞性 ALL 具有细胞毒性效应, 如 NKG2D 通路和 TRAIL 通路, 而不同的作用机理不仅取决于不同来源的 CIK 细胞, 同时也取决于不同类型的肿瘤细胞^[19]。

多种过继免疫治疗使用不同的杀伤细胞, 例如, 标准的淋巴细胞因子活化的杀伤细胞(LAK)、肿瘤细胞浸润的淋巴细胞(TILs), 这两类因为低扩增效率和抗肿瘤活性, 临床试验中疗效有限^[20]。研究发现, 尽管 LAK 细胞与 CIK 细胞制备方法相似, 都具有非 MHC 限制性杀瘤活性, 但相比而言, CIK 具有更高的扩增倍率以及更特异的杀伤肿瘤细胞的能力^[9]。因此, 根据一系列实验数据, CIK 细胞因其本身超强的细胞毒性特点, 必定在未来的免疫治疗中发挥重要作用。因此, 大量针对 CIK 抗肿瘤作用的临床研究如火如荼。本文将介绍和回顾 CIK 细胞在血液系统肿瘤中的研究成果。

2 体外培养扩增方法的改进

1991 年, Schmidt-Wolf 等^[2]创建了一套标准的 CIK 细胞分离培养程序并被沿用至今。根据这套程序, CIK 细胞能够用 PBMCs 在体外加入 IL-2 培养而成。然而, 时至今日, CIK 细胞的分离培养方法仍在不断地被改进, 研究者们试图通过各种方法提高细胞的增殖数量和肿瘤特异性细胞毒性。特别值得一提的是加入了除 IL-2 以外的其他细胞因子, 另一研究热点在于在细胞培养过程中如何抑制调节性 T 细胞(Tregs)活性, Tregs 被认为可反向抑制 T 细胞杀伤活性, 抑制 Tregs 活性认为可以增强 T 细胞毒性^[21]。

Lin 等^[22]发现每 2~3 天加入 IL-16 能够增加 CIK 细胞的增殖率及增强细胞毒活性。CD3⁺CD56⁺效应细胞数量同步增加, 提高体内细胞毒性杀伤效能。研

究发现, Tregs 细胞显著减少, 因此认为 IL-6 能够抑制 Tregs 的免疫抑制作用。

在 Heninger 等^[23]的近期研究中报道了类似的结果: 加入 IL-7 较单独 IL-2 同样可以增加 CIK 细胞的增殖活性及细胞毒性。有趣的是, 同样观察到 Tregs 细胞的被抑制现象。IL-7 转染的 CIK 细胞具有相同特性^[24]。

而对于血液系统恶性肿瘤而言, IL-15 取代了 IL-2 的位置, 用 IL-15 刺激增生的 CIK 细胞对急性淋巴细胞白血病和淋巴瘤细胞、急性髓性白血病及特异性淋巴细胞白血病细胞显示出较 IL-2 更强的细胞毒活性^[25]。另一项研究中, 用 IL-15 刺激培养的 CIK CD3⁺CD56⁺ 细胞数量大幅增多同时伴有 Tregs 的功能抑制并发现 IL-35 的减少^[26]。

在一项针对清除血液系统残留肿瘤细胞的研究中, Deng 等^[27]发现抗 CD20 单克隆抗体可通过 STAT 通路促进 CIK 细胞的增殖, 并通过 MAPK/ERK 信号通路增强 CIK 细胞的抗凋亡能力。

进一步的研究显示, 与 IL-21 共培养可增加 IL-21 受体、穿孔素、端粒酶 B、Fas Ligand、 γ -IFN 以及 TNF- α 的表达, CD3⁺CD56⁺ 细胞比例增多, 但平均增殖率无显著变化^[28]。说明 IL-21 也可作为 CIK 细胞的共培养因子。

更多的证据显示, 与 DC 细胞共培养能够增加抗肿瘤细胞毒性, 减少 Tregs 细胞数量, 并且 DC-CIK 能够增加 CD3⁺CD56⁺ 细胞的数量和比例, 增加 IL-12 的分泌^[26-30]。

3 同种异体免疫反应

在血液系统恶性肿瘤中, CIK 细胞的同种异体活性非常重要。因为对于很多血液系统恶性肿瘤患者而言, 异体造血干细胞移植是唯一的治愈希望。异基因造血干细胞移植中, 起主要效应的是供体淋巴细胞移植后产生的移植物抗肿瘤效应 (graft versus tumor, GVT)。GVT 效应也可用于供体淋巴细胞输注 (donor lymphocyte infusion, DLI) 后疾病复发的治疗。而另一方面, 供体淋巴细胞同样可以引起严重的移植物抗宿主反应 (graft versus host diseases, GVHD)。CIK 细胞在出现 GVHD 时可以通过免疫屏障发挥重要作用。在一个鼠模型中, CIK 细胞通过

MHC 屏障成功移植并进入荷瘤小鼠体内后, 显示出良好的 GVT 效应以及零 GVHD 反应^[34]。这个研究小组在另一个小鼠模型中发现 CIK 细胞分泌高水平 IFN- γ , 能够降低 GVH 活性, 而从 IFN- γ 敲除动物模型中扩增的 CIK 细胞会加剧 GVHD^[35]。

有趣的是, CIK 的不同细胞亚群发挥不同作用, 或者具有抗瘤活性, 或者导致异体免疫反应。具有抗瘤活性的主要为 CD3⁺CD56⁺ 细胞, 而 CD3⁺CD56⁻ 细胞则主要与异原性免疫反应, 即排斥反应有关。这说明消除 CD3⁺CD56⁻ 细胞能够减少 GVHD 而不影响肿瘤杀伤效能。这为我们应用 CIK 细胞通过 HLA 屏障治疗肿瘤提供了新的思路^[12]。

4 自体 CIK 的临床 I 期研究

最早的关于 CIK 细胞治疗恶性肿瘤的临床研究来自于 Schmidt-Wolf 等人^[10], 在这项研究中, 一例 54 岁的滤泡性淋巴瘤患者, 在 2 个周期内接受了 1.84×10^9 的自体 CIK 细胞, 没有任何不良反应, 骨髓增生完全缓解 (CR), 患者临床症状显著改善, 血浆 IFN- γ 及 TGF- β 增多。Leemhuis 等^[36]连续报道了自体干细胞移植 (HSCT) 后复发的淋巴瘤患者的一期临床治疗。9 例淋巴瘤患者, 年龄 23~67 岁, 7 例为进展期霍奇金病 (HD), 2 例 B 淋巴细胞非霍奇金淋巴瘤 (NHL), 9 例患者共进行了 21 次输注, 单次治疗量 $1.0 \times 10^9 \sim 1.0 \times 10^{10}$ 细胞数, 无不良反应发生, 3 例 HD 患者和 1 例 NHL 患者治疗有效, 2 例 HD 获得 PR, 2 例 SD, 其中 1 例 SD 维持 18 个月。

除 6 例晚期转移实体瘤患者外, 在一项 I 期临床试验中, Oliosio 等^[37]纳入 6 例进展期淋巴瘤患者, 每例患者平均 CIK 细胞输注量为 7×10^9 ($2.2 \times 10^9 \sim 21 \times 10^9$), 3 周为一个周期, 每周 3 次, 1 例中心母细胞—中心细胞性 (CB-CC) 淋巴瘤患者获得 CR, 并维持 44 周, 其余患者对 CIK 细胞治疗无临床反应。个别患者仅出现低热反应。值得注意的是, 免疫效应, 如 IFN- γ 和 TNF- α 的显著升高, 仅在治疗有效的患者中被观察到, 而临床无效的患者无明显改变。

杨波等^[38]研究发现, 9 例老年 B 细胞性恶性淋巴瘤患者输注 $2 \times 10^9 \sim 3 \times 10^9$ CIK 细胞后, 静脉注射 IL-2 单次剂量 1×10^4 单位/天, 连续 10 天, 每 4 周重复, 7 例患者完成 8 周期治疗, 2 例患者完成 4 周期

治疗,所有患者均未出现不良反应,淋巴瘤相关症状得到缓解,生活质量明显提高,CD3⁺、CD3⁺CD8⁺和CD3⁺CD56⁺T细胞比例升高,非特异性肿瘤标志物,例如β2微球蛋白和乳酸脱氢酶(LDH)水平下降。总体来讲,9例中8例患者获得CR,试验结果令人兴奋。

刘洋等^[39]采取了同样的治疗方式治疗6例骨髓增生异常综合征的老年患者,CIK细胞治疗后CD3⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺细胞比例明显升高,所有患者均未出现严重不良反应。CIK细胞治疗有效地减少了MDS患者感染的发生,缩短了高热时间。在疾病稳定期,CIK细胞输注可减少红细胞的输注量,稳定血红蛋白水平,患者生活质量提高。但不能改变MDS向高危亚型转化的自然病程。此实验中患者未接受促红细胞生成素治疗。

下一步I期试验^[40],20例患者,年龄57~93岁,平均83岁,9例淋巴瘤,7例MDS,2例多发性骨髓瘤(MM),3例慢性淋巴细胞白血病(CLL),1例急性髓性白血病(AML)。同样,输注 $2\times 10^9\sim 3\times 10^9$ CIK细胞后,静脉注射IL-2单次剂量 1×10^4 单位/天,连续10天。6例患者完成4个周期治疗,14例患者完成8个周期循环。以CD3⁺、CD3⁺CD8⁺和CD3⁺CD56⁺T细胞的增加为免疫治疗阳性。同时β2-微球蛋白和乳酸脱氢酶(LDH)显著降低。3例患者治疗中出现不适及低热,对症处理后症状消失,治疗结束后,11例患者获得CR,7例PR,2例SD,其中,9例淋巴瘤患者中有5例临床状态得到改善,甚至有3例从PD到CR,4例患者维持CIK治疗前状态,其余11例临床症状获得改善,其中9例达到CR或PR。KPS评分从平均57分提高至83分。研究小组进行的另一项研究中,9例弥漫性大B细胞淋巴瘤的老年患者(65~90岁)在接受了4个周期R-CHOP方案化疗后,7例达到PR,2例CR,9例患者均接受了8周期上述CIK加IL-2的治疗,单次输注 $5.0\times 10^9\sim 1.0\times 10^{10}$ CIK细胞,2例出现乏力低热。截止研究终点,9例患者全部达到CR,在23~35个月的生存期内,淋巴瘤相关症状显著改善。同样观察到CD3⁺、CD3⁺CD8⁺和CD3⁺CD56⁺T细胞显著增高^[41]。

采用同样的方法,研究小组评估了CIK细胞对B细胞急性淋巴细胞白血病(CLL)的疗效。这一次不同的是,用于治疗免疫缺陷性疾病的胸腺肽α1

用于试验,胸腺肽α1 1.6mg/d,皮下注射,隔日1次;每次回输CIK细胞数为 $4\times 10^9\sim 6\times 10^9$,回输后应用IL-2 1mU/d,皮下注射,第1~10天。28d为1个疗程。结果表明,胸腺肽α1增强免疫治疗后体外诱导CIK细胞在扩增数量、效应细胞扩增倍数、比例及体外杀瘤活性4个方面均明显高于胸腺肽α1治疗前。5例患者共接受46个疗程的CIK细胞联合IL-2治疗,未观察到明显不良反应。治疗后5例患者一般情况得到不同程度改善,CD3⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺细胞比例明显升高,血清β2微球蛋白水平显著下降,感染频次减少,程度减轻,3例由部分缓解(PR)达到完全缓解,1例由疾病稳定(SD)达到PR,1例由疾病进展达到SD^[42]。

Yang等^[43]报道了1例68岁男性患者,患进展性难治性多发孤立浆细胞瘤伴多处骨质损害,CIK细胞每月输注一次 $2\times 10^9\sim 8\times 10^9$,共21个周期,所有骨损达到缓解,患者获得CR,直到随访结束。

临床一期自体CIK细胞治疗中少有报道抗肿瘤治疗无效的。5例老年急性髓细胞白血病(AML)共接受46个周期的CIK细胞输注治疗,回输后所有患者均未出现不良反应,CD3⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺细胞比例显著增高,感染发生率以及高热持续时间明显降低,值得一提的是,CIK细胞治疗能够大大减少患者所需输血次数。研究认为CIK细胞输注虽不能改变病程的转归,但在患者疾病进展期以及终末期,采用化疗联合CIK治疗可使患者病情一度平稳,延长生存时间^[44]。

5 同种异体CIK临床I期研究

2007年,Introna等^[45]首次报道CIK在同种异体造血干细胞移植后复发患者中的肯定疗效。11例患者平均年龄53岁(24~62岁),4例AML,3例HD,1例pre-B ALL,1例CMML,2例MDS。6例接受有血缘关系造血干细胞移植,5例接受无关供体造血干细胞移植。除2例外,其余9例患者接受低强度预处理,平均移植315天后,给予1~7次CIK回输,每3~4周1次,平均回输量 $12.4\times 10^6(7.2\times 10^6\sim 87.4\times 10^6)$,尽管回输被视为安全无副作用,在最后一次回输后30天内4例患者发生了急性GVHD,其中2例发展为广泛慢性GVHD(II级),然而,这些GVHD仅发

生于 CIK 细胞回输前接受非血缘供体移植的患者,因此不能结论为 GVHD 由异体 CIK 细胞引起。实验结果 6 例未从 CIK 细胞中获益,最终死亡。1 例获得 SD, 1 例 PR, 3 例获得 CR。

2012 年, Laport 等^[46]报道了另一种 CIK 治疗方法。18 例接受可配型的直系亲属的造血干细胞移植, 平均年龄 53 岁, 其中 NHL 5 例, AML 3 例, MM 3 例, CLL 2 例, ALL 2 例, MDS 2 例, HD 1 例。12 例接受低强度移植, 6 例接受清髓性移植, 16 例在接受 CIK 免疫治疗前行减瘤治疗, 包括化疗、激素治疗以及手术、供体淋巴细胞输注。平均输注时间在复发后 4 个月(1~34 个月), 给以一次性注射不同剂量, 1×10^7 (4 例)、 5×10^7 (6 例)、 1×10^8 (8 例) 细胞数/Kg, 发生 GVHD 2 例, 自限性慢性 GVHD 1 例。平均总 OS 28 个月, 平均无事件生存时间 4 个月, 8 例随访期间内 1~69 个月因复发死亡(平均 20 个月)。实验显示 CIK 治疗后, 肿瘤缓解期与异基因移植平均时间有所延长。

在另一项研究中, 脐带血来源的 HLA 匹配的 CIK 细胞被用于复发的急性白血病患者脐带血移植后, 无急慢性副作用发生。1 例出现 III 级 GVHD 的部分伴随症状^[47]。

Linn 等^[48]报道了对各种个体化化疗方案和供体淋巴细胞输注不敏感的患者, 行 CIK 细胞治疗后的喜人成果。8 例 AML, 3 例 ALL, 3 例 HD, 1 例 CML, 1 例 NHL。16 例患者共接收 55 次 CD3⁺细胞输注, 剂量范围从 $1 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8$ /kg 不等, 3 例出现急性 GVHD, 经过治疗好转, 6 例患者未从治疗中获益, 5 例患者因为同时应用了其他治疗手段, 临床疗效未评估。最终, 2 例 ALL, 2 例 HD, 1 例 AML 患者被认为 CIK 治疗获益。

6 II 期自体 CIK 细胞临床试验

江浩等^[49]对 41 例化疗前急性白血病患者 CIK 治疗的有效性进行了研究。19 例患者化疗前接受 CIK 治疗, 22 例患者单纯化疗作为对照组。两组化疗方案基本相同。免疫化疗组中, 8 例患者接受 4 个周期, 2 例患者接受 3 个周期、5 例患者接受 2 个周期、4 例患者仅 1 个周期 CIK 细胞治疗。平均细胞输注量 $(14.2 \pm 8.5) \times 10^9$ /L, 化疗后评估, 所有患者获得

CR 并持续超过 6 个月, 1 年后随访, CIK 组 73.4% 患者持续 CR, 对照组 27.3%。因此, 化疗前接受 CIK 细胞治疗的患者获得 CR 比例显著高于单纯化疗组, 并且, 3 个周期及以上 CIK 治疗疗效较少于 3 个周期者有统计学差异。联合治疗组所有患者随访期结束前保持 CR, 然而, 9 例中有 4 例 CIK 治疗少于 3 个周期的患者在随访期结束后复发。

另一项研究中, 13 例通过自体干细胞移植获得临床缓解的 AML 患者和 11 例残留病灶 PCR 检测后伊马替尼治疗的 CML 患者接受了 CIK 治疗, 其中 11 例 AML、10 例 CML 成功取得自体 CIK, 接受了每 3 周一次的 CIK 输注治疗。AML 中, 3 例 1 次、1 例 2 次、5 例 3 次、2 例 4 次 CIK 细胞输注。平均输注时间为 HSCT 后 16 天(13~37 天), 也就是血细胞减少恢复后的时间。CML 组, 所有患者接受 4 次输注。AML 组单次平均回输细胞数为 2.72×10^9 ($1.3 \times 10^9 \sim 78.6 \times 10^9$), CML 组为 25.72×10^9 ($13.76 \times 10^9 \sim 54.94 \times 10^9$)。发热是唯一的副作用, 对症处理后症状消失。研究结果显示, 无复发存活期较历史对照组无统计学差异, 两组患者均未从 CIK 治疗中获益^[50]。

钟国成等^[51]研究了 CIK 联合 DC 对多发性骨髓瘤的临床疗效。16 例患者随机分为两组, 一组单纯化疗, 另一组化疗联合 DC-CIK 治疗, PBMC 体外经 GM-CSF 和 IL-4 培养后加入多发性骨髓瘤细胞裂解物获得 DC, CIK 和 DC 以单次 $2.5 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ 的细胞数输注, 免疫治疗后, CD3⁺/CD8⁺ 和 CD56⁺ 细胞数显著上升, 同时, HSP70 和 TH1/TH2 比例增高, 而炎症因子 TGF- β 、 β 2 微球蛋白和 CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞减少。研究结果, 两组 OS 分别为 42.9 个月和 33.6 个月, 有统计学差异, 联合治疗组的 QOL 评分以及临床指标均优于单独化疗组。

Wang 等^[52]用超低剂量吉西他滨(10mg, d₁₋₅)联合 CIK 细胞(每次 $2 \times 10^9 \sim 8 \times 10^9$, 共 3 次), 治疗 2 例由骨髓增生异常综合征转化的急性髓系白血病取得良好疗效, 骨髓增生改善。

7 总体疗效和毒副作用

汇总以上数据, 208 例患者年龄从 18~93 岁, 平均 53 岁, 参加了 18 项临床试验, 最少的接受 1 次输注治疗, 最多的接受 21 次 CIK 输注治疗, 平均 5.5

次,中位数 3.5 次,单次细胞数 $1 \times 10^8 \sim 2.8 \times 10^{10}$,平均 5×10^9 ,自体 CIK 治疗 107 例,有效率 55%(CR+PR+SD),50 例接受异体 CIK 治疗,有效率 20%,另外 51 例患者行 CIK 联合常规化疗,73.4%达到 CR。值得注意的是,所有患者免疫力增强、感染次数减少、高热时间缩短,必须输血次数减少。

CIK 输注后唯一的副作用为低热 ($37.5 \sim 40^\circ\text{C}$),发生率为 26.37%,但症状不超过 24 小时并且易于处理,GVHD 发生率为 14%,但均发生在造血干细胞移植和供体淋巴细胞输注患者,因此不能结论为 GVHD 由异体 CIK 细胞引起。在一项研究中,2 例患者出现一过性的心律失常,但没用直接证据表明是由于 CIK 输注引起。

8 结论

获得性免疫疗法取得了突破性进展,通过激活患者自身免疫系统,为人体自身免疫系统识别并攻击破坏肿瘤细胞,提供了一种全新的免疫治疗方法,在肿瘤治疗中前景广阔,为人类战胜肿瘤提供了一种新的治疗方法。在动物及实验室研究中,CIK 细胞展现出强大的抗肿瘤能力。技术简便、培养费用低以及非 MHC 限制性细胞毒性都有力地推动了 CIK 从实验室到临床的转化。因此,我们可以预见,很快 CIK 细胞将被用于各系统不同类型肿瘤的临床治疗。多项临床试验已经显示 CIK 细胞能够提高肿瘤患者生活质量,延长患者生存期^[5-7,30]。

在血液系统肿瘤中,CIK 细胞显示出相当的抗肿瘤效应,可防止肿瘤复发,提高患者生存质量,延长无进展生存时间。

在自体 CIK 细胞治疗的患者中,多数表现出疾病状态的改善,体现在 QOL 评分和患者一般状况的提升,甚至在肿瘤晚期患者身上也显现出同样有效。

123 例患者中,5 例 SD,18 例 PR,41 例 CR,52%获得疾病状态的改善,总反应率为 48%,多项研究中,免疫指标提高,肿瘤标志物降低,炎症发生率较 CIK 细胞治疗前明显减少。

CIK 细胞的另一大优势在于极少甚至没有不良反应,常见的药物反应也很轻微,患者耐受性好。近四分之一的患者,包括异体免疫细胞治疗者,轻微的发热等症状多在 24 小时内自行好转消失或可通过

抗感染治疗处理缓解,一些其他少见的不良反应也很轻微并易于治疗。

除外 CIK 细胞自体治疗的特性外,非 MHC 限制性以及极低的异体反应性使得 CIK 细胞治疗能够突破 HLA 屏障,尤其是在异基因 HSCT 后。在同一系列研究中,四项临床研究中使用异基因 CIK 细胞证明可行并有效,不良反应发生率和程度基本一致。结果鼓舞人心。但重点不能仅仅着眼于 CIK 的治疗效果,而应注意到它的低毒性,尤其是移植物抗宿主反应。50 例中仅有 10 例发生 GVHD。

值得注意的是,50 例中大多数在 CIK 输注前进行了 DLI(供者淋巴细胞输注),但效果差强人意。强调了实验室研究中 CIK 细胞治疗作为 DLI 的升级版在减少异基因移植和疾病控制中的优势。然而,目前 CIK 的临床治疗仍然局限于与传统方法联合治疗慢性疾病,对于急性白血病的治疗仍然空白。

除了阳性结果外,同样有一些数据提示,CIK 细胞或许对血液系统肿瘤没有实质性的效果,比如对 AML 患者获益最少,不同研究者均认为,不合理的时间和不足的细胞数量均会影响疗效,Introna 等^[47]研究发现,CD3⁺CD56⁺细胞不表达 CD62L 和 CD27,这两个细胞表面分子对淋巴细胞归巢和抗肿瘤免疫具有重要作用,或许是 CIK 细胞缺乏远期效果的重要原因。

目前 CIK 治疗作为二线方案与标准化疗或同时或在标准化疗后进行。之所以如此,是因为目前的准入标准和安全考虑。然而,鉴于 CIK 的安全性和相对无害的提取方式,CIK 细胞应该被作可使患者收益的一线治疗,和常规治疗方案结合,特别是自体 CIK 细胞。然而,CIK 细胞的疗效以及在多大程度上影响患者的生存期,目前下结论还为时过早。事实上,由于实验设计不同,不同 CIK 细胞表型以及对试验结果的不同评估方式,使得 CIK 研究难以进一步发展定论。另外,输注时间似乎更为重要。

大量研究显示,CIK 细胞是有效和安全的免疫治疗方法,很多的改革和创新必将促进这个新兴领域的进步,并在血液系统肿瘤治疗中展现出举足轻重的地位。

参考文献:

- [1] Balducci L, Yates J. General guidelines for the manage-

- ment of older patients with cancer[J]. *Oncology*, 2000, 14 (11A):221–227.
- [2] Schmidt-Wolf IG, Negrin RS, Kiem HP, et al. Use of a SCID mouse/human lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cells with potent antitumor cell activity[J]. *J Exp Med*, 1991, 174(1):139–149.
- [3] Lu PH, Negrin RS. A novel population of expanded human CD3+CD56+ cells derived from T cells with potent in vivo antitumor activity in mice with severe combined immunodeficiency[J]. *J Immunol*, 1994, 153(4):1687–1696.
- [4] Schmeel LC, Schmeel FC, Coch C, et al. 25 years of CIK cells in cancer immunotherapy. Report of the International Registry on CIK Cells(IRCC)[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(2):305–310.
- [5] Hontscha C, Borck Y, Zhou H, et al. Clinical trials on CIK cells: First report of the international registry on CIK cells(IRCC)[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137:305–310.
- [6] Jäkel CE, Schmidt-Wolf IG. An update on new adoptive immunotherapy strategies for solid tumors with cytokine-induced killer cells[J]. *Biol Ther*, 2014, 14(7):905–916.
- [7] Jäkel CE, Vogt A, Gonzalez-Carmona MA, et al. Clinical studies applying cytokine-induced killer cells for the treatment of gastrointestinal tumors[J]. *Immunol Res*, 2014, 2014:897214.
- [8] Von Roenn J, Harris JE, Braun DP, et al. Suppressor cell function in solid tumor cancer patients[J]. *Clin Oncol*, 1987, 5(1):150–159.
- [9] Schmidt-Wolf IG, Lefterova P, Ohnston V, et al. Sensitivity of multidrug-resistant tumor cell lines to immunologic effector cells[J]. *Cell Immunol*, 2006, 169(1):85–90.
- [10] Schmidt-Wolf IG, Finke S, Trojanek 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]. *Cancer*, 2010, 81(6):1009–1016.
- [11] Schmidt-Wolf IG, Lefterova P, Mehta BA, et al. Phenotypic characterization and identification of effector cells involved in tumor cell recognition of cytokine-induced killer cells[J]. *Exp Hematol*, 1999, 21(13):1673–1679.
- [12] Sangiolo D, Martinuzzi E, Todorovic M, et al. Alloreactivity and anti-tumor activity segregate within two distinct subsets of cytokine-induced killer(CIK) cells: implications for their infusion across major HLA barriers[J]. *Immunol*, 2008, 20(7):841–848.
- [13] Verneris MR, Karami M, Baker J, et al. Role of NKG2D signalling in the cytotoxicity of activated and expanded CD8+ T cells[J]. *Blood*, 2004, 103(8):3065–3072.
- [14] Groh V, Rhinehart R, Secrist H, et al. Broad tumor-associated expression and recognition by tumor-derived T cells of MICA and MICB [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96 (12):6879–6884.
- [15] Salih HR, Antropius H, Gieseke F, et al. Functional expression and release of ligands for the activating immunoreceptor NKG2D in leukemia[J]. *Blood*, 2003, 102(4):1389–1396.
- [16] Pende D, Rivera P, Marcenaro S, et al. Major histocompatibility complex class I-related chain A and UL16-binding protein expression on tumor cell lines of different histotypes: analysis of tumor susceptibility to NKG2D-dependent natural killer cell cytotoxicity[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(21):6178–6186.
- [17] Pievani A, Borleri G, Pende D, et al. Dual-functional capability of CD3+CD56+ CIK cells, a T-cell subset that acquires NK function and retains TCR-mediated specific cytotoxicity[J]. *Blood*, 2011, 118(12):3301–3310.
- [18] Valgardsdottir R, Capitanio C, Texido G, et al. Direct involvement of CD56 in cytokine-induced killer-mediated lysis of CD56+ hematopoietic target cells [J]. *Exp Hematol*, 2014, 42(12):1013–1021.
- [19] Durrieu L, Lemieux W, Dieng MM, et al. Implication of different effector mechanisms by cord blood-derived and peripheral blood-derived cytokine-induced killer cells to kill precursor B acute lymphoblastic leukemia cell lines[J]. *Cytotherapy*, 2014, 16(6):845.
- [20] Shablak A, Hawkins RE, Rothwel DG, et al. T cell-based immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma: modest success and future perspective[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(21):6503–6510.
- [21] Li H, Yu JP, Cao S, et al. CD4+CD25+regulatory T cells decreased the antitumor activity of cytokine-induced killer (CIK) cells of lung cancer patients[J]. *Clin Immunol*, 2007, 27(3):317–326.
- [22] Lin G, Wang J, Lao X, et al. Interleukin-6 inhibits regulatory T cells and improves the proliferation and cytotoxic activity of cytokine-induced killer cells [J]. *Immunother*, 2012, 35(4):337–343.
- [23] Heninger AK, Theil A, Wilhelm C, et al. IL-7 abrogates suppressive activity of human CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells and allows expansion of alloreactive and autoreactive T cells[J]. *Immunol*, 2012, 189(12):5649–5658.
- [24] Finke S, Trojanek B, Lefterova P, et al. Increase of proliferation rate and enhancement of antitumor cytotoxicity of

- expanded human CD3+ CD56+ immunologic effector cells by receptor-mediated transfection with the interleukin-7 gene[J]. *Gene Ther*, 1998, 5(1):31-39.
- [25] Rettinger E, Kuçi S, Naumann I, et al. The cytotoxic potential of interleukin-15-stimulated cytokine-induced killer cells against leukemia cells[J]. *Cytotherapy* 2012, 14(1): 91-103.
- [26] Tao Q, Chen T, Tao L, et al. IL-15 improves the cytotoxicity of cytokine-induced killer cells against leukemia cells by upregulating CD3+CD56+ cells and downregulating regulatory T cells as well as IL-35 [J]. *Immunother*, 2013, 36(9):462-467.
- [27] Deng QI, Bai X, Lv HR, et al. Anti-CD20 antibody induces the improvement of cytokine-induced killer cell activity via the STAT and MAPK/ERK signaling pathways [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(4): 1215-1222.
- [28] Zhao N, Zhao MF, Rajbhandary S, et al. Effects of humanized interleukin 21 on anti-leukemic activity of cytokine induced killer cells and the mechanism[J]. *Chinese Journal of Hematology*, 2012, 33(10): 823-828. [赵楠, 赵明峰, Sajin Rajbhandary, 等. 人源 IL-21 增强细胞因子诱导杀伤细胞抗白血病作用及其机制研究[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(10):823-828.]
- [29] Schmidt J, Eisold S, Büchler MW, et al. Dendritic cells reduce number and function of CD4+CD25+ cells in cytokine-induced killer cells derived from patients with pancreatic carcinoma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53(11):1018-1026.
- [30] Märten A, Ziske C, Schöttker B, et al. Interactions between dendritic cells and cytokine-induced killer cells lead to an activation of both populations[J]. *Immunother*, 2001, 24(6): 502-510.
- [31] Li H, Ren XB, Zhang P, et al. Dendritic cells reduce the number and function of CD4+CD25+ cells in cytokine-induced killer cells [J]. *Chinese Journal of Medicine*, 2005, 85(44):3134-3138. [李慧, 任秀宝, 张澎, 等. 树突状细胞对 CIK 细胞中 CD4+CD25+ T 细胞数量及免疫调节作用的影响[J]. *中华医学杂志*, 2005, 85(44):3134-3138.]
- [32] Li Y, Huang SL, Zhang XC, et al. The cytotoxicity of CIK/NK cells stimulated by K562-DC fusion vaccines in NOD/SCID mice model for human erythroleukemia [J]. *Chinese Journal of Hematology*, 2008, 29(1):39-43. [黎阳, 黄绍良, 张绪超, 等. K562-DC 融合瘤苗刺激的 CIK/NK 细胞在荷瘤 NOD/SCID 小鼠体内的杀瘤活性[J]. *中华血液学杂志*, 2008, 29(1):39-43.]
- [33] Thanendrarajan S, Nowak M. Combining cytokine-induced killer cells with vaccination in cancer immunotherapy: more than one plus one? [J]. *Leuk Res*, 2011, 35(9):1136-1142.
- [34] Verneris MR, Ito M, Baker J, et al. Engineering hematopoietic grafts: Purified allogeneic hematopoietic stem cells plus expanded CD8+ NK-T cells in the treatment of lymphoma[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2001, 7(10):532-542.
- [35] Baker J, Verneris MR, Ito M, et al. Expansion of cytolytic CD8 (+) natural killer T cells with limited capacity for graft-versus-host disease induction due to interferon gamma production[J]. *Blood*, 2001, 97(10):2923-2931.
- [36] Leemhuis T, Wells S, Scheffold C, et al. A phase I trial of autologous cytokine-induced killer cells for the treatment of relapsed Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphoma [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(3): 181-187.
- [37] Olioso P, Giancola R, Riti M, et al. Immunotherapy with cytokine induced killer cells in solid and hematopoietic tumours: a pilot clinical trial[J]. *Hematol Oncol*, 2009, 27: 130-139.
- [38] Yang B, Lu XC, Zhu HL, et al. Clinical study of autologous cytokine induced killer cells combined with IL-2 for therapy of elderly patients with B-cell malignant lymphoma [J]. *Journal of Experimental of Hematology*, 2010, 18(5):1244-1249. [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.]
- [39] Liu Y, Bao EN, Yang B, et al. Clinical study of autologous cytokine induced killer cell infusion treating for elderly patients with myelodysplastic syndrome[J]. *Journal of Experimental of Hematology*, 2011, 19(3): 787-792. [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.]
- [40] Yang B, Lu XC, Yu RL, et al. Repeated transfusions of autologous cytokine-induced killer cells for treatment of haematological malignancies in elderly patients: a pilot clinical trial[J]. *Hematol Oncol*, 2012, 30(3):115-122.
- [41] Lu XC, Yang B, Yu RL, et al. Clinical study of autologous cytokine-induced killer cells for the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2012, 62(1):257-265.
- [42] Cai LL, Yang Y, Yang B, et al. Short-term curative efficacy of autologous cytokine induced killer cells combined with low-dose IL-2 regimen containing immune enhancement by thymic peptide in elderly patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia[J]. *Journal of Experimental*

- of Hematology, 2012, 20(3):564-570. [蔡力力, 杨洋, 杨波, 等. 含胸腺肽增强免疫的自体 CIK 细胞输注联合小剂量 IL-2 方案治疗老年人 B-CLL 的近期疗效观察[J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20(3):564-570.]
- [43] Yang B, Wang J, Cai LL, et al. Treatment of multiple solitary plasmacytomas with cytokine-induced killer cells[J]. Cytotherapy, 2014, 16(2):278-284.
- [44] Yang Y, Yang B, Cai LL, et al. Clinical study of autologous cytokine induced killer cells combined with chemotherapy for elderly patients with acute myeloid leukemia[J]. Journal of Experimental of Hematology, 2014, 22(1):58-63. [杨洋, 杨波, 蔡力力, 等. 自体 CIK 细胞联合化疗治疗老年急性髓细胞白血病的临床研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(1):58-63.]
- [45] Introna M, Borleri G, Conti E, et al. Repeated infusions of donor-derived cytokine-induced killer cells in patients relapsing after allogeneic stem cell transplantation: a phase I study[J]. Haematologica, 2007, 92(7):952-959.
- [46] Laport GG, Sheehan K, Baker J, et al. Adoptive immunotherapy with cytokine-induced killer cells for patients with relapsed hematologic malignancies after allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2011, 17(11):1679-1687.
- [47] Introna M, Pievani A, Borleri G, et al. Feasibility and safety of adoptive immunotherapy with CIK cells after cord blood transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2010, 16(11):1603-1607.
- [48] Linn YC, Niam M, Chu S, et al. The anti-tumour activity of allogeneic cytokine-induced killer cells in patients who relapse after allogeneic transplant for haematological malignancies[J]. Bone Marrow Transplant, 2012, 47(7):957-966.
- [49] Jiang H, Liu KY, Tong CR, et al. The efficacy of chemotherapy in combination with auto-cytokine-induced killer cells in acute leukemia[J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2005, 44(3):198-201. [江浩, 刘开彦, 童春容, 等. 化疗联合自体细胞因子诱导杀伤细胞治疗急性白血病的临床观察[J]. 中华内科杂志, 2005, 44(3):198-201.]
- [50] Linn YC, Yong HX, Niam M, et al. A phase I/II clinical trial of autologous cytokine-induced killer cells as adjuvant immunotherapy for acute and chronic myeloid leukemia in clinical remission[J]. Cytotherapy, 2012, 14(7):851-859.
- [51] Zhong GC, Yan B, Sun Y, et al. Clinical efficacy of immunotherapy of dendritic cell and cytokine-induced killer cell combined with chemotherapy for treatment of multiple myeloma[J]. Chinese Journal of Hematology, 2012, 33(12):1000-1003. [钟国成, 颜斌, 孙慧, 等. DC-CIK 过继免疫联合化疗治疗多发性骨髓瘤的疗效分析[J]. 中华血液学杂志, 2012, 33(12):1000-1003.]
- [52] Wang H, Yang B, Chi X, et al. Ultra-low-dose decitabine combined with autologous cytokine-induced killer cells for elderly patients with acute myeloid leukemia transformed from myelodysplastic syndrome[J]. Clin Ther, 2014, 36(7):1104-1011.

启 事

每期杂志出版后,本刊都将给作者/通讯作者通过邮局,以印刷品挂号形式寄赠当期杂志 2 册。如未能及时收到杂志,请登录 <http://www.chinaoncology.cn>

➡ 点击肿瘤学杂志

再点击

信息公告

MORE

查找 2016 年第 X 期《肿瘤学杂

志》杂志作者邮寄名单,按“挂号号”可在当地邮局查询。