

恶性肿瘤患者链式激活的免疫细胞治疗后肿瘤坏死因子 α 的变化及临床意义

巩佃霞 李贵新 路中 傅玲 傅俊凯

体内回输免疫活性细胞的过继免疫疗法已成为一种重要的肿瘤综合治疗方法^[1]。它是将体外激活的自体或异体免疫效应细胞输注给患者,以杀伤患者体内的肿瘤细胞。链式激活的免疫细胞(cascade primed immune cells, CAPRI)是德国慕尼黑大学医学院免疫研究所 Rudolf Wank 教授的一项用于肿瘤生物治疗的专利技术。该技术是应用患者的外周血淋巴细胞,经活化刺激,获得对肿瘤的特异性杀伤功能,回输后可在体内杀伤肿瘤。实验证明,它不仅能有效提高肿瘤细胞表面抗原的表达,从而恢复已经被阻断的细胞毒细胞的杀伤过程,且具有识别微转移细胞的能力,从而防止转移的发生^[2-3]。本实验是采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测实体肿瘤患者经 CAPRI 治疗后外周血清中肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 的变化并对肿瘤患者进行临床疗效观察。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 6 月至 2013 年 1 月就诊于潍坊医学院附属医院并行生物治疗的 10 例恶性实体肿瘤患者。10 例恶性实体肿瘤患者中,男 4 例,女 6 例,平均年龄 55 岁。其中乳腺癌 2 例,胃癌 2 例,食管癌 1 例,恶性黑色素瘤 1 例,肺癌 4 例。全部病例均由影像学 and 病理组织学诊断,根据 Karnofsky 评分 ≥ 60 分,预计生存期 > 3 个月,治疗前血常规及肝肾功大致正常,患者于采血前 2 周终止任何放疗或化疗,治疗前通过医院伦理委员会批准,并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 恶性肿瘤患者于终

止一切放化疗 2 周后,在无血液学及细胞学禁忌的前提下给予淋巴细胞单采术,收集淋巴细胞经 7 d 培养扩增后给予回输,隔日回输 1 次,1 个治疗周期回输 3 次。注意观察患者于回输期间及回输后 1 周,有无发烧、过敏等不适。

1.2.2 标本的采集 恶性肿瘤患者于生物治疗前禁食 12 h 后抽取外周静脉血 2 mL, 2 000 r/min, 离心 5 min, 分离血清, -80°C 保存待用,于生物治疗 1 个疗程结束后再次给予禁食 12 h 后抽取外周静脉血 2 mL, 2 000 r/min, 5 min 离心,分离血清, -80°C 保存备用。标本收集结束后进行 TNF- α 检测。

1.2.3 测定方法

1.2.3.1 细胞因子的测定 用 ELISA 法检测恶性肿瘤患者于 CAPRI 治疗前后外周血中 TNF- α 表达水平。试剂盒由上海劲马实验设备有限公司提供。严格按照说明书进行操作。

1.2.3.2 疗效评价 患者治疗结束后 4 周进行疗效评定,按 WHO 实体瘤客观疗效评定标准评定疗效:完全缓解(CR);部分缓解(PR);轻度缓解(MR);稳定(SD);病情进展(PD)。有效率 = CR + PR + MR。

1.2.3.3 毒副作用的观察 静脉回输过程中及回输后 2 h 内密切观察患者是否出现发热、皮疹、乏力、肌肉酸痛、呕吐等毒副作用。

1.3 统计学方法 本实验数据为计量资料,统计采用 t 检验,应用 SPSS 13.0 统计分析软件进行数据的统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 恶性肿瘤患者 CAPRI 治疗前后外周血清中 TNF- α 表达水平的变化 接受 CAPRI 治疗的患者, TNF- α 变化与治疗前相比,其外周血中 TNF- α 均显著上升($P < 0.05$),见表 1。

表 1 治疗前后 TNF- α 的表达水平比较

组别	例数	TNF- α	t 值	P 值
治疗前	10	142.527 \pm 76.952	3.207254	< 0.05
治疗后	10	174.000 \pm 81.258		

2.2 疗效评价 10 例中 CR 1 例, PR 2 例, MR 4 例, SD 2 例, PD 1 例,有效率(CR + PR + MR)为 70%。治疗后 KPS 评分 6 例提高, 3 例稳定, 1 例下降, 提高率 60%。食欲、体力改善 7 例(70%), 睡眠好转 6 例(60%)。

2.3 毒副作用观察 CAPRI 细胞回输中有 4 例出现发热, 体温在 $37.5 \sim 38.5^{\circ}\text{C}$ 之间,未做特殊处理,持续 4 ~ 6 h 后自然消退,无高热患者出现。未观察到低血压、肺水肿、过敏性休克等严重不良反应。

3 讨论

细胞治疗是现代癌症治疗的重要组成部分,现存方法包括使用基因工程诱导合成的肿瘤多肽诱导 T 淋巴细胞以对抗相应的肿瘤抗原、细胞因子诱导的杀

伤细胞(CIK)、抗原呈递细胞等,这些治疗方法并未达到预期的结果,而 CAPRI 细胞就是基于现有问题上的进一步研究,在一定程度上体现了它的优势。

CAPRI 是应用细胞因子对原始单核细胞进行初级刺激,并将经过刺激的单核细胞(PBMC)加到另一份 PBMC 中,用特殊试剂混合培养,经过级联反应过程获得 CAPRI 细胞^[4],它主要是以 CD4⁺T 辅助细胞和 CD8⁺T 杀伤细胞为主要效应细胞,另外还含有少量 NK (natural killer cell)、NKT (natural killer T)、DC (Dendritic Cells) 细胞等,与其他免疫效应细胞相比,具有杀瘤活性高、杀瘤谱广、对多重耐药肿瘤细胞敏感等特点,另外 CAPRI 细胞的有效成分及活性不会受肿瘤患者病情的

doi: 10.3969/j.issn.1006-5725.2013.21.064

作者单位: 261053 潍坊医学院肿瘤学教研室

通信作者: 李贵新 E-mail: 6028827981@qq.com

轻重、转移与否的影响,因此 CAPRI 作为临床肿瘤治疗的新方法,将会是肿瘤治疗中的又一热点。

CAPRI 细胞能分泌 TNF- α 、干扰素 (interferon γ , IFN- γ)、白介素 6 (interleukin-6, IL-6) 等细胞因子。TNF- α 是其分泌的一种细胞因子,主要是由 Th1 所分泌,与此同时还分泌 IFN- γ 、IL-2 等细胞因子,其主要通过 TNFR 诱导肿瘤细胞凋亡;促进免疫细胞增殖分化,产生抗肿瘤效应;影响肿瘤局部血管,提高肿瘤血管内皮细胞通透性,促血栓形成,抗肿瘤新生血管形成,产生抑瘤或杀瘤效应^[5-6]。本次实验研究是以来我院就诊的并行生物治疗的恶性肿瘤患者为研究对象,整个临床疗效观察期间除了出现轻度发烧外,均未出现其他明显毒副作用,说明 CAPRI 治疗是安全的。外周血 CAPRI 细胞分泌的细胞因子水平是说明其效果的重要

依据,结果显示恶性肿瘤患者于 CAPRI 治疗后有明显的升高趋势 ($P < 0.05$), CAPRI 细胞回输体内后 TNF- α 等细胞因子激活机体免疫系统,提高机体免疫功能,同时提高患者对放疗的免疫耐受能力,提高患者的生存质量,延长生存时间。

4 参考文献

- [1] Dobrzanski M J. Expanding roles for CD4 T cells and their subpopulations in tumor immunity and therapy [J]. *Front Oncol*, 2013,3:63.
- [2] Liu J, Sui J, Zhang Z, et al. Inhibition of pleural metastasis of collecting duct carcinoma of the kidney by modified cytokine-induced killer cells: A case report and review of the literature [J]. *Oncol Lett*, 2010,1(6):955-958.
- [3] Laumbacher B, Gu S, Wank R. Activated monocytes prime naive T cells against autologous cancer: vigorous cancer

destruction *in vitro* and *in vivo* *Scand [J] Immunol*, 2012,75(3):314-328.

- [4] Morton A M, McManus B, Garside P, et al. Inverse Rapi and phosphor EPK expression discriminate the maintenance phase of tolerance and priming of antigen specific CD4⁺T cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Immunol*, 2007, 179(12):8026-8034.
- [5] Lang D, Terstesse M, Dohle F, et al. Protein kinase C (PKC) dependent induction of tissue factor (TF) by mesangial cells in response to inflammatory mediators and release during apoptosis [J]. *Br J Pharmacol*, 2002, 137(7):1116-1124.
- [6] 张莉,王璐璐,吴小翎. 1,25-二羟维生素 D₃ 对胃癌细胞增殖和 TNF- α 表达的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2012,32(5):710-713.

(收稿:2013-05-22 编辑:张倩)

套细胞淋巴瘤伴复杂染色体异常 1 例

潘芹 王娟

患者男,60岁,1年前无明显诱因出现右腹股沟区肿块,站立时明显,近1个月来肿块明显,于2013年3月18日来我院就诊,查血示:白细胞 $132.72 \times 10^9/L$, 血红蛋白 $100 g/L$, 血小板 $119 \times 10^9/L$, 白细胞明显异常,考虑血液疾病可能,收入血液科进一步检查治疗。入院体检:患者一般情况可,未诉特殊不适。查体:体温:36.5℃;脉搏:80次/min;呼吸频率:20次/min,血压:120/80 mmHg,双侧颈部、腋窝可扪及肿大的淋巴结,心肺听诊无异常,腹平软,无明显压痛反跳痛,右腹沟区可及一大小约 $3 cm \times 3 cm$ 包块,以站立时为甚,可掉入阴囊,平卧时可消失,双下肢无浮肿,全身浅表淋巴结未及肿大。随后进行细胞形态学、细胞遗传学检测、FCM 免疫表型分析、淋巴结

病理学检查等一系列实验室检查,并进行降低外周血白细胞数量的治疗。骨髓细胞形态学检查显示淋巴细胞比例占 81.0%,其中原幼淋占 77.0%,考虑为急性淋巴细胞白血病或淋巴瘤可能。细胞遗传学检测显示结果:45,XY, t(11;14)(q13;q32),13q-, t(14;18)(q32;q21),17p-, -22[15]/46,XY[5],其中 t(11;14)(q13;q32)是套细胞淋巴瘤的特征性异常。FCM 免疫表型分析显示:在 CD45/SSC 点图上设门分析,淋巴细胞比例增高,占 91.0%,表达 HLA-DR、CD5、CD19、CD20、CCD79a,髓系增生明显受抑。提示成熟 B 淋巴细胞增殖性疾病。病理诊断:结合临床资料,镜下所见及免疫组化结果,支持“右侧腹股沟”淋巴结为套细胞淋巴瘤。免疫组化结果:CD3(-), CD20(+), Bcl-2(+), CD21 及 CD23(显示残留 FDC 网+), Ki-67Li 约 30%, CD10(-), Bcl-6(-), CyclinD1(+), CD5(+), CD43(+).

讨论 套细胞淋巴瘤(MCL)起病时多为全身淋巴结肿大、巨脾症和肝

肿大,有高骨髓浸润率,常常发展成白血病性。因此,多数患者起病便为进行性病期III期或IV期,属于侵袭性淋巴瘤。

T(11;14)(q13;q32)易位系套细胞淋巴瘤特有的异常。分子生物学检查常见 t(11;14)(q13;q32)易位及其 CCD1 与 IgH 基因重排,导致 CCD1 (Bcl-1)过度表达,促使肿瘤发生。大约 70%~90%的滤泡性淋巴瘤患者和 2%弥漫性 B 细胞淋巴瘤患者有 t(14;18)易位。值得注意的是许多正常人的扁桃体和外周血淋巴细胞中发现有 t(14;18)易位,这一事实提示 t(14;18)是淋巴瘤发病多阶段过程中的早期事件。本病例中 t(11;14)(q13;q32)与 t(14;18)(q32;q21)并存,同时伴有 t(2;8),这在套细胞淋巴瘤中实属罕见,t(14;18)(q32;q21)在套细胞淋巴瘤的病程中到底扮演了什么样的角色,是否意味着滤泡性淋巴瘤有向套细胞淋巴瘤转化的可能,都有待收集更多病例进行进一步的研究。

(收稿:2013-07-12 编辑:王耀东)

doi:10.3969/j.issn.1006-5725.2013.21.065

作者单位:443003 三峡大学第一临床医学院宜昌市中心人民医院检验科

通信作者:王娟 E-mail:weiwei2096@qq.com