

· 专家述评 ·

# 肿瘤细胞生物治疗临床关注的几个问题\*

陈正堂, 胡春燕

(第三军医大学新桥医院全军肿瘤研究所, 重庆 400037)

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.11.001

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)11-1041-02



陈正堂

随着生物医学的进步, 肿瘤生物治疗成为继手术、放射治疗和化学治疗之后的肿瘤治疗又一新方法。肿瘤生物治疗是通过调节机体的防御机制, 调动机体自身的生物学反应而发挥抗癌作用的一大类疗法, 包括细胞因子治疗、单克隆抗体治疗、小分子化合物类治疗、细胞免疫治疗, 以及基因药物治疗等。临床上应用较多的是前三者; 基因药物治疗目前上市的产品不多, 大多数处于临床试验阶段; 肿瘤细胞生物治疗作为肿瘤生物治疗的重要组成部分, 近来受到越来越多的关注。按其作用机制又分为两种, 一是主动细胞免疫治疗, 系指给患者回输能在体内激发抗肿瘤活性的细胞; 二是被动细胞免疫治疗, 则是指给患者回输具有内在抗肿瘤活性的细胞。本所自 2009 年底以来, 成功开展肿瘤细胞生物治疗, 主要是树突状细胞(DC)和细胞因子活化的杀伤细胞(CIK)回输治疗, 已达 400 余例。现就其应用中临床普遍关注的几个问题作一述评。

## 1 肿瘤细胞生物治疗有没有确切疗效?

要回答这一问题, 首先得从该领域的研究历史中寻找答案。肿瘤生物治疗的起源可追溯到 100 多年前, Virchow 等在肿瘤组织内发现了炎症细胞的浸润。随后, 肿瘤免疫学家 Willam Coley 首次将链球菌产物用于人体肿瘤治疗, 从而揭开了人们研究机体对肿瘤免疫效应的篇章。直至 1973 年, 加拿大细胞生物学家 Ralph Steinman 关于 DC 的发现, 肿瘤免疫治疗的研究进入了较快的发展期。上世纪 90 年代初, 比利时生物学家 Thierry Boon 发现了第一个肿瘤抗原, 使肿瘤疫苗的开发成为了可能, 开启了人类抗击肿瘤的新纪元。尤为令人振奋的是 2010 年 4 月, Dendreon 公司开发的治疗性疫苗 Provenge 获批上市, 这是首个美国 FDA 批准的以 DC 为主要效应细胞的自体细胞免疫治疗产品, 用于治疗去势治疗失败的转移性前列腺癌 (castration-resistant prostate cancer, CRPC), 这也是 FDA 批准的第一个治疗性肿瘤疫苗。追寻该领域研究历程, 不难看出, 人们为调动或激发机体自身抗肿瘤能力的努力一直未停止, 而且步步推进, 从临床现象到内在机制, 从个案观察到

大样本多中心随机临床研究, 经得起检验的循证医学证据不断涌现。20 多年来, 肿瘤细胞生物治疗成功案例中, 经典者当数以下几个。

德国 55 所医疗研究所一共招募了 553 例肾细胞癌患者进行 III 期临床研究, 观察根治性肾癌切除术后, 随机进行接受自体肾细胞疫苗辅助治疗(疫苗组)或不接受辅助治疗(对照组)的效果。结果显示, 疫苗组与对照组相比, 5 年无进展生存率与 70 个月无进展生存率, 分别提高了 9.6% 与 12%, 表明自体肾细胞疫苗辅助治疗对肾切除术后肾细胞癌患者有益<sup>[1]</sup>。

1992~1995 年进行的一项随机对照临床研究发现, 150 例肝癌细胞术后患者, 过继性细胞免疫治疗组首次复发时间显著长于无辅助治疗组, 且其 3、5 年无复发率分别提高了 15% 与 16%。该研究结果是过继性细胞免疫治疗能降低肝癌细胞患者术后复发率的有力证据<sup>[2]</sup>。

Dendreon 公司进行的随机、双盲、安慰剂对照的治疗转移性去势抗拒性前列腺癌的 sipuleucel-T 自体细胞免疫治疗的 III 期临床实验(NCT00065442)表明, 与安慰剂组相比, 治疗组的中位生存期延长 4.1 个月, 死亡风险下降了 22%<sup>[3]</sup>。

以上循证医学证据表明, 在所观察的瘤种中, 细胞生物治疗是有确切临床疗效的。

## 2 哪些肿瘤适用细胞生物治疗?

经国内外多项临床研究证实, 肿瘤细胞免疫治疗在实体肿瘤如乳腺癌、黑色素瘤、肺癌、前列腺癌、肾癌、结肠癌、胃癌、肝癌、胰腺癌、鼻咽癌和膀胱癌等, 以及部分血液系统肿瘤均适用, 且有较好的耐受性, 其疗效优势主要体现在免疫应答、疾病控制率、进展时间、中位生存期、无病生存期及总生存期等多方面。即使是晚期癌症患者和(或)化疗治疗失败的患者, 亦不乏报道经肿瘤细胞免疫治疗后, 肿瘤标志物水平下降, 出现诱导迟发型超敏反应(DTH), 甚至肿瘤体积减小现象。其中尤以《新英格兰医学杂志》于 2008 年报道的关于自体肿瘤特异性 CD4+T 细胞克隆成功治疗晚期恶性黑色素瘤, 且 2 年内无复发的临床试验为典型代表。

## 3 哪些肿瘤患者不适于细胞生物治疗?

肿瘤细胞免疫治疗, 以 DC、CIK 细胞治疗为例, 首先需要采集人体淋巴细胞, 体外诱导培养成具有抗肿瘤活性的免疫细胞, 经质量检测合格后回输到患者体内, 发挥特异性抗肿瘤效应。DC 是人体内功能最强大的抗原递呈细胞, 从淋巴引流区注射入患者体内; 而 CIK 细胞则是通过静脉回输到人体。对于某些癌症患者来说, 肿瘤细胞免疫治疗应列为禁忌证: 年

\* 基金项目: 军队临床高新技术重点资助项目(2010gxjs070)。

陈正堂: 肿瘤内科专家, 主攻肺癌的早期诊断和综合治疗, 有丰富的肿瘤诊断及鉴别诊断经验, 致力于各种恶性肿瘤科学而合理的综合治疗: 包括肿瘤化疗、放疗、手术及生物一靶向治疗的综合应用。2002 年被教育部选拔为高级访问学者在美国内布拉斯加大学医学中心研修 1 年。主持国家 863 课题、NSFC 课题等省部级以上科研课题 14 项, 总经费 500 万元。获国家科技进步二等奖 1 项, 省部级科技进步(医疗成果)二等奖 7 项。主编、出版专著 3 部, 其中《临床肿瘤学概论》一书为教育部面向 21 世纪课程教材。以第一(通讯)作者发表论文 200 余篇, 其中在《Lung Cancer》、《Clin Cancer Res》、《Cancer Res》等 SCI 收录的国际著名专业杂志发表论文 30 余篇。

龄小于 18 岁;怀孕或哺乳期妇女;器官功能衰竭者;脏器移植或合并严重自身免疫性疾病,长期或正在使用免疫抑制药物者;合并不可控制的感染性疾病;T 细胞肿瘤患者;对本治疗中所用的生物试剂过敏者;无法抽取血液的肿瘤患者;精神疾病者;以及其他原因如患者病情恶化或出现无法忍受的不良反

#### 4 如何选择肿瘤细胞生物治疗的时机及确定其在肿瘤治疗领域中的定位?

对于大负荷肿瘤来说,肿瘤免疫治疗很难像手术治疗那样根治,而是主要通过系统性的调节机体免疫系统的防御功能,清除微小病灶,预防肿瘤的复发与转移,所以多主张与其他治疗方法联合应用。肿瘤放化疗的主要问题是放疗抗拒、多药耐药性及较强的毒副作用。通过生物治疗打破放化疗抗拒,减轻其毒副作用,重建机体免疫防御系统,提高放化疗疗效已逐步成为可能,且被多项研究证实。目前,肿瘤细胞免疫治疗联合放化疗的最佳时机有待定论,但在临床研究中,研究者普遍是在患者放化疗一疗程结束后的 2~4 周进行细胞免疫治疗,且已显示出较好的疗效。2009 年, Cytotherapy 的一则报道显示, 42 例手术后 I~III 期的非小细胞肺癌(NSCLC)患者,化疗后 1 个月接受 DC 活化的 CIK 细胞治疗,与单纯化疗组相比 2 年总生存率明显改善[(94.7±3.6)% vs. (78.8±7.0%)]<sup>[4]</sup>。另一临床研究中,59 例 III A~IV 期 NSCLC 患者,随机分为 A 组(只接受 TP 方案化疗)和 B 组(化疗 5 d 后,行自体 CIK 细胞治疗),治疗后观察疗效,较 A 组而言, B 组细胞免疫应答反应增强(患者体内 CIK 细胞、NK 细胞、CD3<sup>+</sup> T 细胞亚型, CD4 细胞及 CD4/CD8 细胞比值均显著增高),生活质量(QOL)有所改善,疾病控制率(DCR)(89.7% vs. 65.5%)、中位生存期(15 个月 vs. 11 个月)、无病生存期和总生存期均有提高<sup>[5]</sup>。

一直以来,由于大部分细胞毒性制剂的骨髓抑制作用,普遍认为化疗和细胞免疫治疗不相容;但近年来有研究表明如果这两种手段使用得当,不仅能相容,而且能产生协同抗肿瘤活性。Lesterhuis 等<sup>[6]</sup>证实了化疗不削弱免疫效应细胞功能。作者发现了一个有趣的现象,在实体瘤的化疗中,虽然常常出现肿瘤患者中性粒细胞减少症,但很少发生淋巴细胞减少症。而且,越来越多的证据表明化疗对免疫系统的影响具有双面性,化疗也可以增加肿瘤细胞对凋亡的敏感度或导致肿瘤细胞免疫原性增加,增强免疫治疗的潜在机制。同时,生物治疗恰当应用对化疗具有增效作用。有研究表明,免疫效应细胞如 CIK 细胞能有效裂解过高表达的 P-糖蛋白,且对于化疗拮抗的细胞株,打破化疗多药耐药性屏障,提高化疗疗效。在一项生物治疗联合化疗的临床研究中,招募的 84 例 I~III 期的 NSCLC 术后患者,进行化疗联合 DC-CIK 治疗与单独化疗比较,证实化疗联合 DC-CIK 治疗较单独化疗患者获益[2 年总生存率,联合治疗组 vs. 化疗组为(94.7±3.6)% vs. (78.8±7.0)%,  $P < 0.05$ ]<sup>[7]</sup>。另一项临床研究招募的 28 例 III B~IV 期 NSCLC 患者化疗联合 DC/CIK 细胞治疗试验表明,化疗联合 DC/CIK 治疗虽然非感染性发热有所增加,但总体不良反应轻微且可耐受,而且疾病的中位进展时间由 5.2 个月延长为 6.9 个月,1 年生存率联合治疗组显著高于化疗组,但总生存期比较差异无统计学意义<sup>[8]</sup>。

对于多数肿瘤来说,放疗可以作为一种标准治疗手段应用。生物治疗联合放疗同样存在协同增效作用。作为一种“应激”,放疗不仅引起肿瘤细胞过表达热休克蛋白(HSP)等多种蛋白,而且能够提高肿瘤的免疫原性;促进肿瘤细胞表达

MHC-I 类分子、ICAM-1、肿瘤抗原和 Fas;诱导免疫原性的细胞死亡,促进抗原递呈细胞的抗原识别、加工和递呈;全身照射还能剔除 T 调节细胞,减少细胞因子的消耗。细胞免疫治疗可增强肿瘤放疗的敏感度。据放疗联合瘤内注射 imDC 治疗肝癌的临床研究报告,14 例入选治疗患者中,9 例中位生存期 6.8 个月,所有患者平均生存 5.6 个月,其中 2 例分别为肝癌和肝、肺癌双重癌患者生存期达 20 和 26 个月以上<sup>[9]</sup>。还有研究显示 DC 免疫治疗后接受放疗, DTH 阳性的晚期黑色素瘤患者的生存期更长。已有实验证实放疗的低剂量照射增强 DC 活性<sup>[10]</sup>。

#### 5 肿瘤细胞生物治疗临床应用还需注意哪些问题?

目前,肿瘤细胞治疗的安全性及有效性已逐渐得到证实。但其真正应用于临床治疗,应特别注意以下几点。(1)回输细胞的鉴定与安全性检测,即质量控制。安全性方面,内毒素检测、细菌、真菌和支原体检测是不可或缺的;而回输细胞的鉴定则包括多项指标。①细胞存活率:回输存活率 DC 应大于 85%,而 CIK 细胞应大于 95%;②细胞数目:每次回输的 DC 数目应大于  $10^7$ , CIK 细胞数目应大于  $10^9$ ;③表型特征确认:通常用流式细胞术检测细胞表面分子标记。目前主要用于检测 DC 的表面分子标记有 HLA-DR、CD11c、CD54、CCR7、CD80、CD83 和 CD86;用于检测 CIK 细胞表型的分子标记主要是 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>与 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>。(2)应进行患者治疗后随访。细胞免疫治疗是一种通过调节自身免疫系统,发挥自身抗肿瘤作用的方法,需要一定时间建立免疫应答,通常需数月乃至数年后才能体现疗效。这就使得治疗后随访成为必要。随访一般是治疗后每 3 个月进行一次。随访内容包括患者肿瘤标志物水平、影像学及疗效评估,进而判断细胞免疫治疗的疗效。(3)关于不良反应的处理。总体而言,肿瘤细胞免疫治疗(DC-CIK 治疗)具有不良反应小的特点,但少数病例可有发热,注射部位可能出现轻微红肿与疼痛现象,一般 1~3 d 内可自行消退。若患者体温大于 38.5℃,应给予退热处理。对于可能发生的急性、严重过敏反应,应配备相应药物(如抗组胺药等)及加强生命支持的设备。

需要指出的是,肿瘤细胞生物治疗虽已作为 III 类诊疗技术用于临床,但在进一步提高疗效、加强机制探讨等方面还有很多工作要做。因此,结合临床加强转化医学研究尤为必要。目前关注较多的是以肿瘤抗原(片段)致敏 DC,使之能在体内产生特异性免疫应答,靶向性地杀伤肿瘤细胞。自 Thierry Boon 发现了第一个肿瘤抗原以来,关于肿瘤抗原的研究大量涌现,极大地推动了特异性抗肿瘤细胞免疫的发展。如今,已发现了上百种肿瘤抗原,使得肿瘤抗原致敏的 DC 疫苗的研究成为一种必然趋势。致敏 DC 的抗原包括特异性的多肽(如混合多肽,重组肽等),细胞系、肿瘤组织裂解物或肿瘤组织裂解物联合病毒多肽,以及通过腺病毒载体导入特异性抗原(或抗原基因)等。由于肿瘤细胞自身存在大量基因突变,每一类肿瘤细胞产生了多种不同抗原,且肿瘤发生的过程是一个机体的系统性问题,涉及多种信号通路的改变,以及微环境的改变,等等。因此,如何介导肿瘤的特异性免疫应答是相关研究与应用的关键。深入研究肿瘤细胞免疫治疗关于特异性免疫应答的产生,充分发挥细胞免疫治疗的效果,将可能成为今后研究热点领域之一。

#### 6 肿瘤细胞免疫治疗展望

肿瘤细胞免疫治疗经过多年的研究及临床试验,特别是经过近 20 年的快速发展,其理论逐渐成熟,技术日趋完善。如今,细胞免疫治疗在肿瘤的治疗中显示出了(下转第 1046 页)

dermal scaffold that supports soft tissue regeneration; removal of terminal galactose- $\alpha$ -(1,3)-galactose and retention of matrix structure[J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(7):1807-1819.

- [6] 郑必祥, 彭代智, 左海斌, 等. 巴马小型猪与人真皮的组织形态学和生物力学基本特征比较研究[J]. *第三军医大学学报*, 2010, 32(8):754-758.
- [7] De Sagun EZ, Botts JL, Srivastava A, et al. Long-term outcome of xenogenic dermal matrix implantation in immunocompetent rats[J]. *J Surg Res*, 2001, 96(1):96-106.
- [8] 姜笃银, 陈璧, 徐明达, 等. 异种脱细胞真皮基质的制作和临床应用观察[J]. *中华烧伤杂志*, 2002, 18(1):15-18.
- [9] 杨燕妮, 彭代智, 伍素华. 天然真皮支架抗原性研究进展[J]. *第三军医大学学报*, 2004, 26(24):2269-2270.
- [10] 林恒, 彭代智, 严泉, 等. 整合素  $\beta_1$  在微粒皮混合移植中的异位表达及定量分析[J]. *中华烧伤杂志*, 2008, 24(6):445-449.
- [11] Shehadi IE, Larson DL, Archer SM, et al. Evaluation of histologic changes after microdermabrasion in a porcine model[J]. *Aesthet Surg J*, 2004, 24(2):136-141.
- [12] Heck EL, Bergstresser PR, Baxter CR. Composite skin graft: frozen dermal allografts support the engraftment and expansion of autologous epidermis[J]. *J Trauma*, 1985, 25(2):106-112.
- [13] Pomahac B, Aflaki P. Use of a non-cross-linked porcine dermal scaffold in abdominal wall reconstruction[J]. *Am*

*J Surg*, 2010, 199(1):22-27.

- [14] Eberli D, Rodriguez S, Atala A, et al. In vivo evaluation of acellular human dermis for abdominal wall repair[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2010, 93(4):1527-1538.
- [15] Wanitphakdeedecha R, Chen TM, Nguyen TH. The use of acellular, fetal bovine dermal matrix for acute, full-thickness wounds[J]. *J Drugs Dermatol*, 2008, 7(8):781-784.
- [16] 荣艳华, 张国安, 王成, 等. 不同年龄组人正常皮肤 I 型和 III 型胶原含量的比较[J]. *中华烧伤杂志*, 2008, 24(1):51-53.
- [17] Smith LJ, Fazzalari NL. The elastic fibre network of the human lumbar anulus fibrosus: architecture, mechanical function and potential role in the progression of intervertebral disc degeneration[J]. *Eur Spine J*, 2009, 18(4):439-448.
- [18] Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(12):3233-3243.
- [19] 刘英开, 陆树良, 青春, 等. 真皮模板对大鼠创面组织生物学顺应性的影响[J]. *中华烧伤杂志*, 2005, 21(2):122-124.
- [20] Clayman MA, Clayman LZ. Use of Alloderm as a barrier to treat chronic Frey's syndrome[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2001, 124(6):687-690.

(收稿日期:2011-11-22 修回日期:2011-12-27)

(上接第 1041 页)

其独特的优势,特别是与传统治疗方法相结合是一个重要方向。需要提出的是,评价肿瘤免疫治疗的疗效评估不宜简单的套用传统的 WHO 标准或 RECIST 标准,有学者提出了 irRC (immune-related response criteria) 标准。因此,如何克服目前我国肿瘤免疫治疗尚存在的基础研究与临床试验脱节现象,让肿瘤细胞生物治疗与放疗化疗更有效地结合,以及准确评估肿瘤细胞生物治疗的疗效等问题,均有待深入研究。随着生物医学和分子生物学的进一步发展,生物治疗在肿瘤的治疗过程中的地位将越来越明显,特别是在攻克某些对放疗化疗不敏感的肿瘤方面,无论是在理论上或是临床应用上都有可能取得新的突破。

#### 参考文献:

- [1] Jocham D, Richter A, Hoffmann L, et al. Adjuvant autologous renal tumour cell vaccine and risk of tumour progression in patients with renal-cell carcinoma after radical nephrectomy: phase III, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2004, 363(9409):594-599.
- [2] Takayama T, Sekine T, Makuuchi M, et al. Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma; a randomised trial[J]. *Lancet*, 2000, 356(9232):802-807.
- [3] Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(5):411-422.
- [4] Li H, Wang CL, Yu JP, et al. Dendritic cell-activated cytokine-induced killer cells enhance the anti-tumor effect of

chemotherapy on non-small cell lung cancer in patients after surgery[J]. *Cytotherapy*, 2009, 11(8):1076-1083.

- [5] Wu CP, Jiang JT, Shi LR, et al. Prospective study of chemotherapy in combination with cytokine-induced killer cells in patients suffering from advanced non-small cell lung cancer[J]. *Anticancer Res*, 2008, 28(6B):3997-4002.
- [6] Lesterhuis WJ, de Vries IJ, Aarntzen EA, et al. A pilot study on the immunogenicity of dendritic cell vaccination during adjuvant oxaliplatin/capecitabine chemotherapy in colon cancer patients[J]. *Br J Cancer*, 2010, 103(9):1415-1421.
- [7] Li H, Wang CL, Yu JP. Dendritic cell-activated cytokine-induced killer cells enhance the anti-tumor effect of chemotherapy on non-small cell lung cancer in patients after surgery[J]. *Cytotherapy*, 2009, 11(8):1076-1083.
- [8] Zhong R, Teng J, Han B, et al. Dendritic cells combining with cytokine-induced killer cells synergize chemotherapy in patients with late-stage non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60(10):1497-1502.
- [9] Chi KH, Liu SJ, Li CP, et al. Combination of conformal radiotherapy and intratumoral injection of adoptive dendritic cell immunotherapy in refractory hepatoma[J]. *J Immunother*, 2005, 28(2):129-135.
- [10] Shigematsu A, Adachi A, Kiriya N, et al. Effects of low-dose irradiation on enhancement of immunity by dendritic cells[J]. *J Radiat Res(Tokyo)*, 2007, 48(1):51-55.

(收稿日期:2011-11-19 修回日期:2011-12-21)