

**3.2.3 工作性质** 高校教职工主要从事教学、行政办公管理、科研等工作,大脑长期处于劳动状态,大脑皮层易高度紧张,会导致功能紊乱、引起血管收缩、痉挛,造成血压升高。高血脂、高血压易引起动脉粥样硬化、脑卒中、冠心病等危及生命的疾病,危害极大<sup>[5]</sup>。

**3.2.4 运动锻炼** 生命在于运动。想要身体健康,运动健身必不可少<sup>[6]</sup>,因运动不足造成诸多疾病的产生,如体内脂肪过多堆积、体质量增加、身体机能下降等,高校教职工极易患上高血脂、脂肪肝等疾病,有研究显示脂代谢紊乱影响糖代谢,是 2 型糖尿病发生的危险因素<sup>[7]</sup>,高校教职工高血脂症和脂肪肝的患病率在近年也随年龄增加而增高<sup>[8]</sup>。

**3.3 措施及建议** (1)建立定期健康体检制度;(2)建立高校教职工个人健康体检档案。健康体检不等于健康管理<sup>[9]</sup>,构建全市医疗机构信息查询系统,高校教职工能随时随地了解自身健康状况;及时开展针对性健康管理措施与治疗;(3)设立专门的健康管理机构;(4)改善高校环境,办公区域、教学区域、休息区域多绿化,增加运动锻炼场所,组织文体活动,做到劳逸结合;(5)注意个人生活方式,提倡绿色健康生活方式,不熬夜,饮食有规律,多运动,提高自身身体机能。

#### 参考文献

[1] 杨柳,黄巧,钟朝晖,等.重庆市基于人群的 0~5 岁儿童出生缺陷抽样调查研究[J].重庆医学,2013,42(18):

• 经验交流 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.12.034

2127-2129.

[2] 朱云霞.高校教职工健康调查及对策探讨[J].保健医学研究与实践,2007,4(2):7-9.

[3] 黎明,薛卫华,林永瑞.广东某高校 50 岁以上教职工血脂血糖水平分析[J].保健医学研究与实践,2008,5(2):10-11.

[4] 冯琪,韩春艳.不同职业育龄妇女生殖健康状况分析[J].广东医学,1999,20(7):557.

[5] 季建英,贾瑞珍,朱玉鹏.2002 年北京市体检中心体检人群健康状况分析[J].中国煤炭工业医学杂志,2003,6(9):880.

[6] 杨晓庆,陈璐.高等院校教职工血脂现状与分析[J].临床和实验医学杂志,2009,8(4):147-148.

[7] 卢元镇.中国体育社会学[M].北京:北京体育大学出版社,2001:79.

[8] Kashyap S,Belfort R,Gastaldelli A,et al. A sustained increase in plasma free fatty acids impairs insulin secretion in nondiabetic subjects genetically predisposed to develop type 2 diabetes[J].Diabetes,2003,52(10):2461-2474.

[9] 罗强,陈敏,李哲,等.某高校教职工脂肪肝患病情况及相关因素分析[J].实用预防医学,2009,16(1):269-270.

(收稿日期:2015-12-30 修回日期:2016-01-25)

## 18 例自体 DC-CIK 治疗多发性骨髓瘤的回顾性分析\*

易雪,关军,赵霞,周英,刘小红,余丹,邹亮,张婷

(湖北省武汉市中西医结合医院血液科 430022)

**[摘要]** **目的** 探讨以树突状细胞诱导的杀伤细胞(DC-CIK)为效应细胞的生物免疫疗法治疗多发性骨髓瘤的临床意义。**方法** 回顾性分析 18 例接受 DC-CIK 治疗的多发性骨髓瘤患者,其中 10 例为完全缓解(CR)和非常好的部分缓解(VGPR)组(CR/VEPR 组),8 例为部分缓解(PR)和疾病进展(PD)组(PR/PD 组)。比较 DC-CIK 对两组患者的临床效应。**结果** DC-CIK 治疗后 CR/VGPR 组患者的生存质量和免疫不全麻痹程度较 PR/PD 组改善明显( $P < 0.05$ )。**结论** DC-CIK 免疫治疗多发性骨髓瘤有一定临床意义。

**[关键词]** 多发性骨髓瘤;树突细胞;细胞因子诱导杀伤细胞

**[中图分类号]** R733.3

**[文献标识码]** B

**[文章编号]** 1671-8348(2016)12-1687-03

以免疫调节剂硼替佐米为基础的联合化疗在过去 11 年里被证明能有效延缓初诊或复发多发性骨髓瘤总生存期,二次自体造血干细胞移植和异基因造血干细胞移植及自体联合异基因造血干细胞移植等毒性更强的治疗方案被积极用于临床,并取得较单纯化疗显著延长无进展生存期和总生存期的结论。尽管如此,多发性骨髓瘤仍然无法治愈,几乎所有患者最终会复发。如何有效延长平台期,提高患者的生存质量,成了多发性骨髓瘤治疗的目标。树突状细胞诱导的杀伤细胞(DC-CIK)作为一种过继性免疫疗法近年来已成为实体瘤治疗的热点。本院尝试将自体 DC-CIK 治疗用于多发性骨髓瘤患者,目的在于了解 DC-CIK 在多发性骨髓瘤中的临床应用价值。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 回顾性分析 2013 年 2 月至 2014 年 12 月本院血液科收治的给予自体 DC-CIK 治疗的多发性骨髓瘤患者共 18 例,男 14 例,女 4 例;年龄 52~78 岁,中位年龄 65.5 岁。18 例患者均符合 2003 年国际骨髓瘤工作组(IMWG)诊断标准<sup>[1]</sup>。分期参考国际预后分期系统(ISS)。给予 DC-CIK 治疗前评估 2 组患者疗效,采用欧洲血液和骨髓移植协作组(EBMT)标准将患者分为两组,一组包括完全缓解(CR)和非常好的部分缓解(VGPR)的 CR/VEPR 组;对照组为包括部分缓解(PR)和疾病进展(PD)的 PR/PD 组。所有患者体力状态(ECOG)评分小于或等于 2 分,无严重并发症和夹杂病。基本

\* 基金项目:武汉市临床医学科研项目(WX14C01)。 作者简介:易雪(1977-),副主任医师,硕士,主要从事骨髓移植及移植抗宿主病研究。 △ 通讯作者,E-mail:hui\_ch\_eng@yahoo.com.cn。

表 1 治疗前患者一般资料

组别	n	年龄( $\bar{x}\pm s$ ,岁)	男/女	临床分型(n)				ISS 评分(n)		
				IgG	IgA	$\lambda$	$\kappa$	I 期	II 期	III 期
CR/VEPR 组	10	66.00 $\pm$ 6.81	8/2	4	2	1	1	1	1	8
PR/PD 组	8	69.00 $\pm$ 6.52	6/2	6	2	1	1	1	1	6

资料见表 1。

## 1.2 方法<sup>[2]</sup>

**1.2.1 DC 培养及鉴定** 无菌抽取患者静脉血 50 mL,通过密度梯度离心法提取外周血单个核细胞(PBMC),将 PBMC 重悬于血清培养基中(购自北京宝日医公司),置于 37℃,5%CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育,2 h 后将非贴壁细胞转到另一培养瓶用于培养 CIK,贴壁细胞的培养瓶中加入细胞因子 rhGM-CSF 1 000 U/mL 和 rhIL-4 500 U/mL 刺激细胞向 DC 分化;在培养的第 6 小时,加入 TNF- $\alpha$  100 ng/mL 刺激 DC 成熟;18 h 后收集并计数贴壁 DC 细胞。DC 活细胞经过台盼蓝染色,应达到 80% 以上;流式细胞仪检测确定是否成熟。

**1.2.2 CIK 制备方法和质控** 非贴壁细胞用无血清培养基培养(购自北京宝日医公司),调整浓度为 1 $\times$ 10<sup>6</sup>/mL,加入 IFN- $\gamma$  1 000 U/mL 培养 24 h 后,加入抗 CD3 单克隆抗体 50  $\mu$ g/mL、rhIL-2 300 U/mL,每培养 3~4 d,根据细胞生长状态补充新鲜培养液和 rhIL-2,并调整细胞浓度至 2 $\times$ 10<sup>5</sup>/mL。CIK 活细胞经过台盼蓝染色,应达到 80% 以上;流式细胞仪检测确定 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> 细胞的比例是否明显提高。

**1.2.3 DC-CIK 共培养和质控** 收集 DC 细胞后与 CIK 细胞按约 1:10 比例共培养 14 d,无菌检测后,收集细胞,其数量达到 1 $\times$ 10<sup>10</sup> 个以上。DC-CIK 活细胞经过台盼蓝染色,应达到 80% 以上;流式细胞仪检测确定 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> 细胞的比例应该在 20% 以上。细胞杀伤试验:以 DC-CIK 为效应细胞,以肿瘤细胞为靶细胞,将效应细胞与靶细胞按 10:1(数目比)的比例加入 96 孔 U 型板中,每孔含靶细胞 1 $\times$ 10<sup>4</sup> 个,终体积为 200  $\mu$ L,设 3 个复孔。培养 4 h,然后取上清,用乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒检测效应细胞对靶细胞的杀伤率。

**1.2.4 DC-CIK 回输** 细胞质量检测合格后分 3 d 经静脉回输给患者。回输前排除细胞污染,离心,加入生理盐水 100 mL,混匀后 2 h 静脉滴注。静脉滴注前肌肉注射盐酸异丙嗪 25 mg。2 次周期之间间隔 6 周。18 例患者治疗周期均大于或等于 2 周期。

**1.3 疗效评估** (1)两组患者生存质量(QOL)及免疫不全麻痹恢复情况。QOL 参照美国芝加哥 Rush-Presbyterian-St. Luke. 医学中心研制出的癌症患者生命质量测定量表(FACT-G)。免疫不全麻痹标准<sup>[3]</sup>:至少 1 个未受累免疫球蛋白指标

低于正常下限(IgG<7 g/L,IgA<0.7 g/L 或 IgM<0.4 g/L)。免疫不全麻痹程度:根据未受累免疫球蛋白定量低于正常下限的水平分为 4 度:无(正常下限以上,IgG $\geq$ 7 g/L,IgA $\geq$ 0.7 g/L 或 IgM $\geq$ 0.4 g/L),轻度(低于正常下限 0~25%),中度(低于正常下限 26%~50%),重度(低于正常下限值大于 50%)。免疫不全麻痹改善的标准:治疗后定期测定免疫球蛋白的数量,参照以上分度标准,再次分度,与初诊时分度比较,分度提升 1 度为改善 1 级,以此类推,改善级别分为 2 级、3 级。(2)瘤负荷水平:参考 2006 年 IMWG 骨髓瘤疗效评价标准<sup>[4]</sup>分别于治疗前和治疗后 3 个月记录患者骨髓瘤细胞百分数、 $\beta_2$  微球蛋白( $\beta_2$ -M)水平、清蛋白、血清异常 M 蛋白水平、24 h 尿尿轻链、血肌酐(Scr)水平。(3)不良反应:治疗期间观察患者一般生命体征,记录不良事件。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 软件进行分析,计量资料用  $\bar{x}\pm s$  表示,采用组间比较采用 *t* 检验;计数资料采用率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 治疗效果** 治疗后 3 个月的 CR/VGPR 组的 FACT-G 及免疫不全麻痹等指标平均值均优于 PR/PD 组患者(*P*<0.05),见表 2。两组患者治疗后免疫不全麻痹恢复情况由治疗前缓解状态决定,VGPR/CR 组的患者免疫状态改善较 PR/PD 组患者显著。VGPR/CR 组治疗前及治疗后 3 个月骨髓瘤细胞百分数、 $\beta_2$ -M 水平、清蛋白、血清异常 M 蛋白、Scr 等指标的平均值较 PR/PD 组改善差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 3。

表 2 两组患者 QOL(FACT-G 评分)和免疫不全麻痹改善情况

组别	n	时间	FACT-G 评分 ( $\bar{x}\pm s$ ,分)	改善比例(%)
CR/VGPR 组	10	治疗前	57.00 $\pm$ 3.46	80
		治疗 3 个月后	62.00 $\pm$ 4.50	
PR/PD 组	8	治疗前	47.50 $\pm$ 6.04	16
		治疗 3 个月后	47.50 $\pm$ 4.33	

表 3 瘤负荷水平评估( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	时间	骨髓瘤细胞百分数(%)	$\beta_2$ -M(mg/L)	清蛋白(g/L)	血清异常 M 蛋白(g/L)	Scr( $\mu$ mol/L)
CR/VGPR 组	10	治疗前	0.00 $\pm$ 1.46	4.30 $\pm$ 1.72	38.50 $\pm$ 12.22	1.88 $\pm$ 1.75	74.00 $\pm$ 20.70
		治疗后 3 月后	0.00 $\pm$ 6.02	3.20 $\pm$ 0.60	39.95 $\pm$ 3.26	1.70 $\pm$ 10.13	103.00 $\pm$ 18.77
PR/PD 组	8	治疗前	3.25 $\pm$ 22.17	2.00 $\pm$ 4.82	37.40 $\pm$ 5.13	24.14 $\pm$ 13.72	57.00 $\pm$ 37.69
		治疗后 3 月后	9.00 $\pm$ 18.06 <sup>a</sup>	3.10 $\pm$ 3.52 <sup>b</sup>	37.40 $\pm$ 6.94 <sup>c</sup>	26.04 $\pm$ 36.00 <sup>d</sup>	66.50 $\pm$ 21.92 <sup>e</sup>

<sup>a</sup>:与 CR/VGPR 组比较,*t*=2.07,*P*=1.89;<sup>b</sup>:与 CR/VGPR 组比较,*t*=1.89,*P*=0.06;<sup>c</sup>:与 CR/VGPR 组比较,*t*=1.35,*P*=0.194;<sup>d</sup>:与 CR/VGPR 组比较,*t*=1.92,*P*=0.072;<sup>e</sup>:与 CR/VGPR 组比较,*t*=1.34,*P*=0.197。

**2.2 不良反应** 治疗期间 18 例患者均无明显骨髓抑制;18 例患者基本无感染发生;4 例患者回输后出现短暂寒战低热,给予抗过敏处理后缓解。

### 3 讨论

国内外研究表明,CIK 与功能最强的专职抗原提呈细胞树突状细胞(DC)共培养,产生了更多的 CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> 细胞毒性 T 淋巴细胞,和较多的 NK 样 T 淋巴细胞<sup>[5-6]</sup>。CIK 的增殖活性显著增加,高分泌 IL-12、IL-2、IFN- $\gamma$ , 细胞毒作用加强,DC 表面标记 CD86、CD80、CD40 的表达明显增加,抗原提呈能力更强<sup>[7]</sup>。具有高效杀伤活性的 CIK 细胞和具有强大肿瘤抗原递呈能力的 DC 联合,两者协同加强了对肿瘤细胞的杀伤作用<sup>[8-10]</sup>。

本研究回顾性分析了本院 2013 年 2 月至 2014 年 10 月间行自体 DC-CIK 治疗的 18 位多发性骨髓瘤患者,发现治疗前疾病状态是 DC-CIK 效应的决定因素。回输前瘤负荷越低,患者从 DC-CIK 治疗中获益越大,如 QOL(主要在情感状况和社会/家庭状况方面)、免疫不全麻痹恢复程度(1 级或 2 级为主)均改善明显,瘤负荷水平变化不显著。回输前疾病处于 PD 的患者,单用 DC-CIK 者骨髓瘤持续进展,QOL 和免疫不全麻痹无改善;联合化学治疗者,虽然瘤负荷水平有所下降,但 QOL 和免疫不全麻痹无明显改善。因为本研究例数少,且为单臂分析,联合化疗、单用细胞免疫治疗和单用化学治疗之间并未充分对比,故是否联合化学治疗更能提高回输后缓解率还有待进一步研究证实。孙慧等<sup>[11]</sup>利用 DC-CIK 联合沙利度胺治疗 26 例复发难治性骨髓瘤,总体有效率为 73.1%。

在安全性方面,本研究显示,DC-CIK 细胞免疫治疗并未发现明显的不良反应。这与其他研究结论一致<sup>[6,12-13]</sup>。

文献表明,进一步优化和修饰 DC-CIK 技术也许能弥补 DC-CIK 在降低瘤负荷水平方面的不足。例如,采用单倍体 DC(来自子女)体外刺激 CIK 细胞能增强 IFN- $\gamma$  分泌,抑制 IL-4 分泌,从而加强对肿瘤细胞杀伤作用;透明质酸介导的细胞游走受体(RHAMM)在多种肿瘤中高表达,DC-CIK 联合疫苗回输靶向性更强,也许能达到体内有效抗肿瘤作用<sup>[14-15]</sup>;将 DC、CIK 和某些抗原肽共同培养,可以增强对某些缺乏特异性抗原的肿瘤细胞的杀伤能力<sup>[16-17]</sup>。

或许,免疫治疗的目标并不在于提高疾病缓解率,降低各种并发症如感染的发生率,提高 QOL 才应该逐渐成为衡量免疫治疗疗效的指标。

### 参考文献

[1] The International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders; a report of the International Myeloma Working Group[J]. *Br J Haematol*, 2003, 121(5): 749-757.

[2] 钟国成, 张小玉, 孙慧, 等. 抗原致敏 DC 联合 CIK 在原发性肝癌的临床应用[J]. *中国肿瘤临床*, 2009, 36(24): 1404-1408.

[3] Kyrtsolis MC, Mouzaki A, Maniatis A. Mechanisms of polyclonal hypogamma globulinaemia in multiple myeloma(MM)[J]. *Med Oncol*, 1999, 16(2): 73-77.

[4] Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma[J]. *Leu-*

*kemia*, 2006, 20(9): 1467-1473.

[5] 陈海飞, 沈红石, 王静, 等. DC-CIK 细胞的生物学活性及体外抗血液肿瘤研究[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(30): 5823-5826.

[6] Wang QJ, Wang H, Pan K, et al. Comparative study on anti-tumor immune response of autologous cytokine-induced killer(CIK) cells, dendritic cells-CIK (DC-CIK), and semi-allogeneic DC-CIK[J]. *Chin J Cancer*, 2010, 29(7): 641-648.

[7] Jiang JT, Shen YP, Wu CP, et al. Increasing the frequency of CIK cells adoptive immunotherapy may decrease risk of death in gastric cancer patients[J]. *World J Gastroenterol*. 2010, 16(48): 6155-6162.

[8] Ranieri E, Gigante M, Storkus WJ, et al. Translational mini-review series on vaccines: dendritic cell based vaccines in renal cancer[J]. *Clin Exp Immunol*, 2007, 147: 395-400.

[9] Hill JA, Ichim TE, Kuzsneruk KP, et al. Immune modulation by silencing IL-12 production in dendritic cells using small interfering RNA[J]. *J Immunol*, 2003, 171(2): 691.

[10] Adema GJ, Hartgers F, Verstraten R, et al. A dendritic-cell-derived C-C chemokine that preferentially attracts naive T cell[J]. *Nature*, 1997, 387(6634): 713.

[11] 孙慧, 匡红, 张小玉, 等. DC-CIK 过继免疫联合沙利度胺治疗复发难治性多发性骨髓瘤的回顾性研究[J]. *免疫学杂志*, 2012, 28(4): 324-328.

[12] Avigan DE, Vasir B, George DJ, et al. Phase I / II study of vaccination with electrofused allogeneic dendritic cells/ autologous tumor-derived cells in patients with stage IV renal cell carcinoma [J]. *J Immunother*, 2007, 30(7): 749-761.

[13] Thanendrarajan S, Nowak M, Abken H, Schmidt-Wolf IG. Combining cytokine-induced killer cells with vaccination in cancer immunotherapy: more than one plus one? [J]. *Leuk Res*, 2011, 35(9): 1136-1142.

[14] Tian H, Chen GH, Xu Y, et al. Current research advance on cellular immunotherapy for leukemia[J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2013, 21(5): 1326-1330.

[15] Qu HQ, Zhou XS, Zhou XL, et al. Effect of DC-CIK cell on the proliferation, apoptosis and differentiation of leukemia cells[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2014, 7(8): 659-662.

[16] Sievers E, Albers P, Schmidt Wolf IG, et al. Telomerase pulsed dendritic cells for immunotherapy for renal cell carcinoma[J]. *Urol*, 2004, 171(1): 114-119.

[17] Shan CC, Shi LR, Ding MQ, et al. Cytokine-induced killer cells co-cultured with dendritic cells loaded with the protein lysate produced by radiofrequency ablation induce a specific antitumor response[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(4): 1549-1556.