

化疗联合 CIK 细胞治疗对非霍奇金淋巴瘤患者细胞因子的影响

贾祝霞,卢绪章*,岑岭,周峰,姜玉,马玲娣,周民

(常州市第二人民医院血液科,江苏 南京 213003)

[摘要] 目的:探讨化疗联合细胞因子诱导杀伤(cytokine-induced killer,CIK)细胞输注对非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma,NHL)患者血清中细胞因子的影响。方法:用 ELISA 法检测 33 例患者化疗前、后及 CIK 细胞输注后血清中对肿瘤血管生长有促进作用的细胞因子血管内皮生长因子(VEGF)和转化生长因子 β (TGF- β)以及对机体免疫系统起积极调节作用的细胞因子白细胞介素-2(IL-2)和 γ -干扰素(IFN- γ)的浓度。结果:与健康对照组比较,NHL 患者血清中 VEGF 和 TGF- β 的浓度明显升高($P < 0.05$),而 IL-2 和 IFN- γ 的浓度均下降($P < 0.05$)。化疗后患者 VEGF 和 TGF- β 的浓度明显下降($P < 0.05$),IL-2 和 IFN- γ 的浓度无明显改变($P > 0.05$),但经 CIK 细胞输注治疗后,患者外周 VEGF 和 TGF- β 的浓度没有进一步改善($P > 0.05$),而 IL-2 和 IFN- γ 明显升高($P < 0.05$)。结论:NHL 患者存在免疫功能异常,体内细胞因子紊乱,化疗减少肿瘤负荷,但对机体免疫系统造成损害。而经 CIK 细胞输注后机体抗肿瘤免疫能力增强。因此,化疗联合 CIK 细胞输注治疗可提高 NHL 患者的免疫功能,改善患者生存质量,对 NHL 患者的治疗具有潜在价值。

[关键词] 非霍奇金淋巴瘤;化疗;细胞因子诱导杀伤细胞;细胞因子

[中图分类号] R733.4

[文献标识码] B

[文章编号] 1007-4368(2012)06-859-04

非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma,NHL)是淋巴造血系统常见的恶性肿瘤,近年来发病率不断上升。传统的治疗方法包括化疗和放疗取得了一定的疗效,近年来一些靶向药物如美罗华的出现进一步提高了 NHL 的缓解率,但是仍有一些患者在很短的时间内复发,且至少有 50% 的 NHL 患者经正规治疗不能治愈^[1]。众所周知,化疗药物在杀伤肿瘤细胞的同时对机体自身免疫系统造成损害,使患者的免疫力下降,容易引起严重感染等不良反应危及生命。所以化疗后如何进一步巩固治疗,提高机体免疫力值得人们探索。近年来有报道细胞因子诱导杀伤(cytokine-induced killer,CIK)细胞输注对肿瘤免疫治疗效果较好,可以调节和增强机体的免疫功能,因而成为肿瘤手术、放疗和化疗的重要辅助手段。研究表明细胞因子的水平与肿瘤发生、发展及疗效和预后密切相关,而肿瘤患者机体免疫功能异常,体内细胞因子紊乱。因此,本研究通过临床检测 NHL 患者化疗及 CIK 细胞输注治疗前后血清细胞因子水平的变化,评价化疗联合 CIK 细胞治疗对 NHL 患者的疗效。

1 对象和方法

1.1 对象

33 例患者均为血液科从 2007 年 1 月~2011 年 5 月期间收治的 NHL,其中男 18 例,女 15 例,中位年龄 56 岁,所有患者均经病理活检及免疫组织化学染色证实。患者一般情况良好,KPS 评分大于 80 分,无明显化疗禁忌。所有患者在治疗前、化疗结束后 2 周、以及 CIK 细胞治疗结束 1 个月后血清管采血。对照组 30 例均为健康的体检者,其中男 18 例,女 12 例,中位年龄 55 岁。

1.2 方法

化疗方案:患者均以 CHOP 方案为主进行化疗,25 例完成 6 个疗程的化疗,5 例给予 8 个疗程化疗,3 例仅完成了 3 个疗程的化疗不能耐受或拒绝进一步化疗,直接 CIK 细胞治疗。化疗期间或疗程结束后如果患者出现 IV 度中性粒细胞减少或整个治疗过程中患者出现 III 度或 IV 度血小板减少,给予粒细胞刺激因子或促血小板生成素。

异体 CIK 细胞制备和回输:CIK 细胞由常州市第二人民医院肿瘤实验室规范制备:采健康人外周血 20 ml,利用淋巴细胞分离液分离单个核细胞,按照 2×10^6 个/ml 浓度分装至培养瓶内,培养液含有

[基金项目] 常州市卫生局重大项目(ZD201010)

*通讯作者,E-mail:jdgy2002@hotmail.com

白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2)、CD3、 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ), 在 5%CO₂ 37°C 培养箱内培养, 观察细胞生长状态, 每 3 d 更换培养液 1 次, 12 d 后收集 CIK 细胞, 并进行细胞计数, 保证细胞的活度达 95% 以上。采用 CIK 细胞静脉输注, 每次输注细胞数大于 5×10^9 个, 隔天 1 次, 每 5 次为 1 个疗程, 每个患者至少 2 个疗程。输注前 2 天及输注结束后 2 天, 每日给予 IL-2 100 万 U 皮下注射。

细胞因子浓度检测: 分别在化疗前、化疗结束后以及输注 CIK 细胞后对患者血清中细胞因子, 包括血管内生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子- β (transforming growth factor, TNF- β)、IFN- γ 、IL-2 水平进行检测。按照 ELISA 检测试剂盒 (四正柏生物技术有限公司) 说明书操作, 采用双抗体夹心 ELISA 方法。用酶标测定仪在波长 450 nm 处测定各个实验标本的吸光度值, 算出每个标本的细胞因子的浓度水平。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 13.0 统计软件处理数据, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 化疗前后和不同组间用两样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 化疗前后细胞因子变化

与健康对照组比较, NHL 患者血清中对肿瘤血管生长有促进作用的细胞因子 VEGF 和 TGF- β 浓度明显升高 [VEGF: (139.1 \pm 40.6) pg/ml vs (101.7 \pm 15.4) pg/ml, $P < 0.0001$; TGF- β : (17.0 \pm 7.1) ng/ml vs (12.7 \pm 7.1) ng/ml, $P = 0.0185$], 而对机体免疫系统

起积极调节作用的细胞因子 IL-2 和 IFN- γ 浓度下降 [IL-2: (53.2 \pm 13.4) pg/ml vs (76.5 \pm 11.3) pg/ml, $P = 0.0007$; IFN- γ : (8.8 \pm 4.2) pg/ml vs (13.2 \pm 3.4) pg/ml, $P = 0.0122$] (图 1); 经过化疗后 VEGF 和 TGF- β 浓度明显下降 [VEGF: (139.1 \pm 40.6) pg/ml vs (100.6 \pm 14.5) pg/ml, $P < 0.0001$; TGF- β : (17.0 \pm 7.1) ng/ml vs (12.03 \pm 10.4) ng/ml, $P = 0.0015$], 但是 IL-2 和 IFN- γ 浓度无明显改善 [IL-2: (53.2 \pm 13.4) pg/ml vs (49.5 \pm 10.0) pg/ml, $P = 0.2578$; IFN- γ : (9.4 \pm 2.4) pg/ml vs (8.8 \pm 4.2) pg/ml, $P = 0.5559$] (图 1)。

2.2 不良反应

CHOP 方案不良反应主要表现为胃肠道反应和血液系统毒性作用。36.4% (12/33) 的患者出现不同程度的恶心、呕吐, 给予对症处理后好转。24.2% (8/33) 的患者出现不同程度骨髓抑制, 包括中性粒细胞减少症 ($< 1.0 \times 10^9$ 个/L) 经粒细胞刺激因子治疗后恢复正常; 血小板减少症 ($< 50.0 \times 10^9$ 个/L) 经促血小板生成素治疗后好转。3% (1/33) 患者出现四肢麻木感等外周神经系统毒性。

2.3 CIK 细胞输注治疗前后细胞因子变化

经过 CIK 细胞输注治疗后, 患者血清中对肿瘤血管生长有促进作用的细胞因子 VEGF 和 TGF- β 浓度没有进一步改善 [VEGF: (100.6 \pm 14.5) pg/ml vs (104.1 \pm 34.9) pg/ml, $P = 0.7268$; TGF- β : (12.03 \pm 10.4) ng/ml vs (12.7 \pm 7.8) ng/ml, $P = 0.4238$], 但是机体免疫系统起积极调节作用的细胞因子 IL-2 和 IFN- γ 浓度明显升高 [IL-2: (49.5 \pm 10.0) pg/ml vs (126 \pm 45.5) pg/ml, $P = 0.0003$; IFN- γ : (8.8 \pm 4.2) pg/ml vs (80.7 \pm 17.2) pg/ml, $P < 0.0001$, 图 1]。

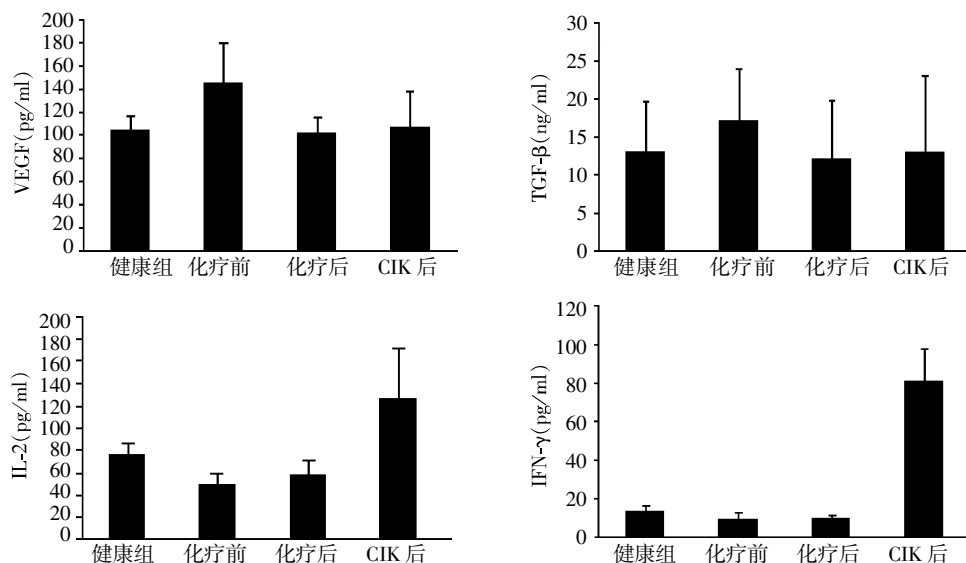


图 1 化疗联合 CIK 治疗对细胞因子的影响

2.4 CIK 细胞输注的不良反应

在 CIK 细胞输注治疗后,33.3%(11/33)患者出现发热,体温范围 37.5℃~38.8℃,一般在输注前给予 IL-2 输注结束 24 h 内出现,6 例未给予特殊处理,自行缓解,3 例予头部冰枕物理降温,2 例给予消炎痛栓肛塞。CIK 细胞治疗后,肝肾功能及心肌酶谱检测均未见异常。

3 讨论

免疫功能是机体的重要功能,免疫系统调节受损引起免疫细胞及细胞因子紊乱导致机体疾病的发生。很多研究表明肿瘤患者存在细胞免疫和体液免疫的异常,表现为外周淋巴细胞亚群及血清中细胞因子异常^[2]。VEGF 和 TGF- β 可刺激肿瘤新生血管的形成、增强肿瘤细胞在体内的迁移能力、使肿瘤细胞逃避免疫监视,在肿瘤的发生、浸润和转移的过程中起着十分重要的作用^[3-4]。此外,TGF- β 可通过抑制机体的免疫功能促进肿瘤的侵袭和转移^[5]。IL-2 主要是由 CD4⁺T 细胞产生,反过来又能促进 T、B 细胞的增生与分化,诱导 B 细胞合成相应抗体,激活及增强 NK、巨噬细胞杀伤功能,促进 NK 细胞分泌 IFN- γ 及其他相关的细胞因子,在机体的肿瘤免疫治疗中起到重要作用^[6]。IFN- γ 在体内主要是由活化的 T 细胞和 NK 细胞产生,通过抑制肿瘤细胞的增殖及调动机体免疫系统直接杀伤肿瘤细胞达到抗肿瘤的作用。另外,IFN- γ 通过直接抑制血管内皮细胞增殖、迁移发挥其抑制血管的作用,间接抑制肿瘤的转移和复发^[7]。患者血清中细胞因子的水平与患者疾病的发展、治疗的反应及预后存在密切的关系^[2]。因此,本研究通过检测细胞因子的变化评价化疗后联合 CIK 细胞输注的疗效。

本研究用 ELISA 法检测 NHL 患者血清中对肿瘤血管生长有促进作用的细胞因子 VEGF 和 TNF- β 及对机体免疫系统起积极调节作用的细胞因子 IL-2 和 IFN- γ 的表达水平,在 33 例初诊 NHL 患者血清中 VEGF 和 TNF- β 浓度明显高于正常对照组($P < 0.05$),而 IL-2 和 IFN- γ 浓度明显低于正常对照组($P < 0.05$),说明 NHL 患者体内存在细胞因子的紊乱,与以前的报道一致^[8]。给予全身静脉化疗后,患者的细胞因子的紊乱得到了一定程度的改善,VEGF 和 TNF- β 浓度明显降低($P < 0.05$),说明化疗降低了肿瘤负荷,但 IL-2 和 IFN- γ 浓度并无明显改善,反而有下降的趋势($P > 0.05$),说明化疗对患者的免疫系统有一定的影响。

同时观察到化疗不良反应,36.4%(12/33) 的患者出现不同程度的恶心、呕吐等消化道影响,24.2%(8/33) 的患者出现骨髓抑制,包括粒细胞减少及血小板下降。3%(1/33) 患者出现外周神经系统毒性。化疗药物在杀伤肿瘤细胞同时损害患者机体的免疫系统,对感染及对肿瘤的防御能力亦下降,因此在化疗后需要一种有效的方法提高机体免疫力,巩固治疗,提高疗效。

近年来,生物免疫治疗作为肿瘤手术、放疗及化疗的辅助治疗,在临床上得到一定的应用。其中 CIK 细胞输注治疗对提高肿瘤患者免疫功能,抑制肿瘤的生长和转移具有重要功能^[9]。临床研究表明,CIK 细胞输注治疗可以明显改善患者生活质量,提高完全缓解率,延长其无病生存期^[10-11]。目前认为 CIK 细胞通过 2 种途径杀灭肿瘤:①直接杀死肿瘤细胞;②通过调动机体免疫功能杀灭肿瘤,CIK 细胞能够分泌较多的辅助性 T 细胞(T helper, Th)1 类细胞因子,如 IL-2、IFN- γ 等,调节体内其他细胞因子的分泌以增强肿瘤细胞对 CIK 细胞杀伤作用的敏感性,起到抑制肿瘤和杀伤肿瘤的作用^[9,12]。

本文对化疗后的 NHL 患者进一步行 CIK 细胞输注治疗,同时用 ELISA 法检测患者血清中细胞因子水平的变化。发现 CIK 细胞治疗后患者血清中 IL-2 和 IFN- γ 水平明显升高($P < 0.05$),但是 VEGF 和 TNF- β 浓度无明显变化($P > 0.05$)。患者血清中 IL-2 和 IFN- γ 水平提高,间接说明患者免疫功能提高,对患者的生活质量及长期生存有利。有大约 33.3% 患者出现发热,给予对症处理后好转,未发现肝肾功能及心肌酶谱的变化。本实验从细胞因子方面说明 CIK 细胞输注治疗可提高患者机体免疫功能,与先前 CIK 细胞输注后机体抗肿瘤免疫力增强的研究结论一致^[9-10]。

NHL 患者经过传统方案化疗缓解率可以达到 50%^[13],降低促进肿瘤血管生成的因子,降低肿瘤负荷,但化疗影响患者免疫系统,不良反应较大。而化疗后进一步联合 CIK 细胞输注治疗可以提高患者体内对机体免疫系统起积极调节作用的细胞因子,增加机体的抗肿瘤能力,改善患者生活质量。因此化疗联合 CIK 细胞治疗对 NHL 治疗具有重要价值。

[参考文献]

- [1] Fadilah SA. Fundamentals of the management of non-Hodgkin lymphoma [J]. Med J Malaysia, 2009, 64(4): 333-339

[2] Zamarron BF,Chen W. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression[J]. Int J Biol Sci,2011,7(5):651-658

[3] Kato Y,Asano K,Mogi T,et al. Clinical significance of circulating vascular endothelial growth factor in dogs with mammary gland tumors [J]. J Vet Med Sci, 2007,69(1):77-80

[4] Clifford RL,Deacon K,Knox AJ. Novel regulation of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A)by transforming growth factor(beta)1;requirement for Smads, (beta)-Catenin,and GSK3 (beta) [J]. J Biol Chem, 2008,283(51):35337-35353

[5] Gorelik L,Flavell RA. Immune-mediated eradication of tumors through the blockade of transforming growth factor-beta signaling in T cells[J]. Nat Med,2001,7(10): 1118-1122

[6] Olejniczak K,Kasprzak A. Biological properties of interleukin 2 and its role in pathogenesis of selected diseases--a review [J]. Med Sci Monit,2008,14 (10): RA179-89

[7] Kane A,Yang I. Interferon-gamma in brain tumor immunotherapy [J]. Neurosurg Clin N Am,2010,21(1): 77-86

[8] Passam FH,Sfridaki A,Pappa C,et al. Angiogenesis-related growth factors and cytokines in the serum of patients with B non-Hodgkin lymphoma;relation to clinical features and response to treatment[J]. Int J Lab Hematol,2008,30(1):17-25

[9] Jin J,Joo KM,Lee SJ,et al. Synergistic therapeutic effects of cytokine-induced killer cells and temozolomide against glioblastoma[J]. Oncol Rep,2011,25(1):33-39

[10] 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

[11] 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(2):305-310

[12] Gritzapis AD,Dimitroulopoulos D,Paraskevas E,et al. Large-scale expansion of CD3(+)/CD56(+)lymphocytes capable of lysing autologous tumor cells with cytokine-rich supernatants [J]. Cancer Immunol Immunother, 2002,51(8):440-448

[13] Seshadri T,Kuruvilla J,Crump M,et al. Salvage therapy for relapsed/refractory diffuse large B cell lymphoma [J]. Biol Blood Marrow Transplant,2008,14 (3):259-267

[收稿日期] 2011-12-23

(上接第 851 页)

[7] 曾天德,冷静,赖国才. 福建省监狱服刑人员焦虑情绪的调查分析研究[J]. 中国健康心理学杂志,2011,19 (5):548-551

[8] 李路荣,颜剑雄,谭千保. 服刑人员心理问题及其心理矫治[J]. 中国健康心理学杂志,2008,16(4):446-447

[9] 吴宗宪. 中国服刑人员心理矫治技术[M]. 北京:北京师范大学出版社,2010:80-89

[10] 冯正直,张大均. 中国版 SCL-90 的效度研究[J]. 第三军医大学学报,2001,23(4):481-483

[11] 杨焱,王登峰. Rosenberg 自尊量表因素结构的再验证[J]. 中国心理卫生杂志,2007,27(9):603-605

[12] 杜玉凤,杨阳,安晓伟,等. 团体心理辅导对顽危犯的干预效果 [J]. 中国健康心理学杂志,2011,19(12): 1446-1448

[13] 樊富珉. 团体心理咨询 [M]. 北京:高等教育出版社, 2005:4-6

[14] 吴九君,郑日昌. 监狱服刑人员情绪管理团体辅导研究[J]. 中国健康心理学杂志,2008,16(12):1420-1421

[15] 董杉,董晓梅,代金芳. 团体训练对大学生抑郁情绪的干预效果评价 [J]. 中华疾病控制杂志,2011,15 (9):758-761

[收稿日期] 2012-01-17