

## ·热点述评·

# 免疫细胞过继转移治疗体系的建立及其在进展期胃癌围手术期的应用

杜晓辉 徐迎新 陈凛 李荣



杜晓辉

于进展期胃癌综合治疗的绿色治疗新模式。

**[关键词]** 胃肿瘤,进展期; 免疫治疗; 过继免疫细胞

**Treatment pattern of adoptive transfer of immune cells and its application in perioperative period for advanced gastric cancer** DU Xiao-hui, XU Ying-xin\*, CHEN Lin, LI Rong.

\*Department of General Surgery, The Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: XU Ying-xin, Email:xuyingx@126.com

**[Abstract]** Recently immunotherapy for gastrointestinal tumor has rapidly developed, and has improved the effect of cancer comprehensive treatment as an adjunctive therapy in combination with surgery, chemotherapy, and radiation therapy. Adoptive transfer of immune cells is an important treatment method for advanced gastric cancer. In this paper, we reviewed the application of adoptive transfer therapy for advanced gastric cancer in the perioperative period and propose a new model for immunotherapy of advanced gastric cancer based on our experience and the results of clinical experiment.

**[Key words]** Stomach neoplasms, advanced; Immunotherapy; Adoptive transfer immune cells

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2013.01.005

基金项目:国家自然科学基金(61170123)

作者单位:100853 北京,解放军总医院普通外科研究所(杜晓辉现在解放军总医院海南分院普通外科)

通信作者:徐迎新, Email:xuyingx@126.com

**[摘要]** 近年来,对于胃肠道肿瘤的免疫治疗发展迅速,目前临床已经将其作为一种辅助疗法与手术、化疗、放疗联合应用,以提高肿瘤综合治疗的效果。免疫细胞过继转移治疗是对于进展期胃癌免疫治疗的一个重要方法,本文综述了其在进展期胃癌围手术期的应用,并结合自身经验及临床实验观察结果,提出对于进展期胃癌综合治疗的绿色治疗新模式。

胃癌是我国高发的消化道恶性肿瘤之一,且大多数患者就诊较晚<sup>[1]</sup>。近年来,国内外学者不断进行化疗方案的改进或尝试化疗联合分子靶向药物(单克隆抗体)治疗,但从近期发表的进展期胃癌多中心临床研究结果来看,上述治疗虽然获得了具有统计学意义的生存期的延长,但一般中位生存期和中位无进展生存期仅延长了1~2个月,且血液学毒性反应发生率显著增高<sup>[2]</sup>。从提高生存率并同时改善患者生活质量的角度来看,尚未获得令人满意的结果。因此,迫切需要我们打开思路,探索新的提高疗效的策略与途径。

传统的抗肿瘤治疗思路是利用物理或化学方法攻击或清除肿瘤,但并未考虑患者自身抗肿瘤能力的恢复与重建,甚至因过度治疗而进一步造成了患者自身抗肿瘤免疫功能的减低直至崩溃。当外周血白细胞数降低时,临幊上会使用升白药物来提高白细胞数量,但只是从骨髓中动员出来大量粒细胞,并没有解决淋巴细胞的减少及其后果。特别是胸腺依赖性T细胞是抗肿瘤的主力,其在中老年胸腺萎缩后,经过残酷打击后的恢复并非易事。实际上,在清除肿瘤病灶的同时,提高机体抗肿瘤的免疫细胞数量和质量,改善机体内环境同样非常重要。即“驱邪”必须“扶正”。

免疫细胞过继转移技术是近年来发展起来的继手术、化疗和放疗后第四大抗肿瘤治疗的手段,也是四大手段中唯一具有整体考量和“扶正培本”功效的疗法。过继转移的免疫活性细胞不仅能够杀伤肿瘤,同时可以增强患者整体免疫功能,提高患者生活质量,延长生存期<sup>[3]</sup>。该疗法通过细胞工程技术,将机体外周血免疫细胞前体定向诱导、活化并大规模扩增(数百倍到数千倍),从不同途径输入体内,可迅速补充免疫活性细胞,并快速作用病灶部位。

肿瘤的免疫治疗与外科有很深的渊源。该治疗是由近百年前美国外科医生 William B. Coley 所开

创的,他发明了著名的 Coley 毒素,使用加热灭活的混合细菌培养液引发肿瘤出血坏死和消退,由于其活性因素是内毒素,不良反应较大而无以为继<sup>[4]</sup>。上世纪 80 年代后期,美国著名外科医生 Steven. A. Rosenberg 再次掀起肿瘤免疫治疗的热潮,并在晚期黑色素瘤和肾癌的治疗中获得了较好的疗效<sup>[5]</sup>。如今,欧美和日本等发达国家在该领域已广泛开展了深入的临床研究,并证明是安全有效的<sup>[6]</sup>。2010 年,美国 Dendreon 公司抗前列腺癌特异性免疫细胞治疗技术完成了随机分组多中心临床试验,获得了延长中位生存期 4.1 个月的疗效,成为美国 FDA 批准上市的首个细胞免疫治疗产品,被认为是历史性突破<sup>[7]</sup>。2011 年,诺贝尔生理学和医学奖授予了发现树突状细胞(DC)及其抗肿瘤作用的拉尔夫·斯坦曼。他是一位胰腺癌患者,用自己发现的 DC 治疗,存活了 4 年之久。目前已经用于临床的特异性免疫细胞包括树突状细胞(DC)、肿瘤特异性细胞毒 T 细胞(CTL)、肿瘤组织浸润淋巴细胞(TIL)和肿瘤引流区淋巴结细胞(TDLN);非特异性免疫细胞包括淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)、天然杀伤细胞(NK)和细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)等。

解放军总医院普通外科研究所研究小组从 2002 年开始,历经 10 年的基础研究与临床研究,在医院的普通外科逐步建立了肿瘤免疫治疗的转化医学平台。在基础研究方面,建立了临床级肿瘤抗原致敏 DC、CTL、TIL、TDLN、NK、CIK、B 细胞体外大规模培养扩增体系和免疫细胞表型分析、细胞因子分泌、体外杀伤、T 细胞受体克隆化、多态性分析系统以及人鼠嵌合肿瘤模型、肿瘤淋巴道转移模型、人源免疫细胞体内抑瘤观察模型以及利用荧光活体成像系统对人免疫细胞在裸鼠原位胃癌模型的体内分布进行动态示踪,完成了系统的免疫细胞过继转移新医疗技术的临床前研究<sup>[8-9]</sup>。在临床研究方面,2004 年,肿瘤免疫治疗经我院伦理委员会论证批准并报医疗卫生主管部门批准进入临床研究。经治疗 26 例胃癌患者,未发现 II 级以上不良反应,获得症状改善等近期疗效,证明该医疗技术是安全的<sup>[10]</sup>。2006 年再次获得医疗卫生主管部门批准扩大临床应用。我们于 2011 年完成了肿瘤抗原致敏 DC/DC 诱导特异性 T 细胞/CIK 联合治疗 III~IV 期胃癌的队列研究。2005 年 9 月 1 日至 2009 年 12 月 1 日所有符合入组标准的 III~IV 期胃癌手术患者共 354

例,以患者意愿为原则将所有病例分为免疫组和对照组,对照组为常规治疗(手术加化疗)患者,免疫组为常规治疗基础上进生物过继免疫治疗,以 2010 年 11 月 1 日为终检日期;共有效随访 III~IV 期胃癌手术患者 300 例,有效随访率大于 85%;免疫治疗组患者中位生存期延长 9.1 个月,1 年和 3 年生存率均显著提高。

目前,国内国际抗肿瘤免疫细胞过继转移治疗已取得了大量的临床观察数据,多数应用于无法使用其他治疗手段的晚期病例,而且为了证明某一免疫细胞治疗的有效性,往往使用单一免疫细胞制剂和单一注射途径。本项研究的特点如下。

1. 围手术期开始免疫细胞过继转移治疗:即内镜活检明确诊断后,术前采血 45 ml 并开始培养扩增 DC 和淋巴细胞。术中,在保证病理诊断的前提下留取自体肿瘤组织制备肿瘤组织抗原。术后早期(8~9 d)开始免疫治疗。此时,肿瘤负荷减到最低,手术造成的急性炎性反应已减弱并恢复,是免疫细胞过继转移的最佳时机。同时,该治疗可以促进整个机体的术后恢复,强化了预存免疫状态,为术后化疗奠定了好的基础。该窗口期免疫治疗的患者普遍其后的化疗反应轻微。后续化疗间歇和结束后继续跟进免疫治疗。

2. 多种免疫细胞联合输入:序贯给予足够数量和质量的特异性和非特异性免疫细胞。每个疗程(采血 1 次)DC 在  $1 \times 10^8$  左右,DC 诱导的 T 细胞(DC-AT)大于  $1 \times 10^{10}$ ,CIK 细胞大于  $1 \times 10^{10}$ 。所输入的 DC 必须荷载肿瘤抗原且成熟度很高,因为未成熟的 DC 诱导免疫耐受。制备的免疫活性 T 细胞为 CD3+ 细胞,约占培养细胞总数的 95% 以上,其活化程度应大大高于外周血单个核细胞(有特定指标),其中大部分应是记忆性(memory) T 细胞,以杀伤为主的 CD8+ 细胞应占 70%~80% 以上。细胞应具有肿瘤特异的 TCR 克隆化前体(precursors),回输体内后产生肿瘤特异的 T 细胞克隆并可持续直到 12 个月以上。应最大限度地减低具有抑制免疫活性的 CD4+CD25+FoxP3+T 细胞(Tregs) 和凋亡细胞(programmed cell death,PD) 的数量。

3. 多种免疫活性细胞从不同途径输入体内:DC 在富含淋巴组织区域多点皮内注射,DC-AT 腹腔内注射,CIK 细胞静脉回输。

尽管以上综合治疗策略和新技术已被临床实践证明是安全有效的,但我们期待进一步提高疗

效。考虑到我国的胃癌患者来院治疗时大多是进展期,体内整体环境很差,借用中医的观点,肿瘤患者不仅正气虚弱,同时具有毒、瘀、痰、湿等病邪积滞的邪实因素,免疫活性细胞过继转移到体内后,如体内这些病邪不驱除,整体内环境不改善,亦不能充分发挥作用且不能持久,无法修复与重建自身抗肿瘤免疫功能。因此,中医药与免疫细胞技术结合,可更快获得中医药的“扶正培本”效应,中医药多靶点的综合作用以及对整体内环境的调节(驱邪扶正)可巩固免疫细胞疗法的疗效。两者相得益彰,可能发挥“1+1>2”的协同作用,有望恢复和重建患者的自身抗肿瘤能力,明显改善生活质量,大大延长现有恶性肿瘤患者的生存期。

我们将进一步探索具有我国特点和优势并符合我国国情的抗肿瘤绿色治疗新模式,为显著延长患者生存期,明显改善生存质量而努力。

## 参 考 文 献

- [1] Price TJ, Shapiro JD, Segelov E, et al. Management of advanced gastric cancer. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2012, 6:199-208.
- [2] Amedei A, Benagiano M, della Bella C, et al. Novel immunotherapeutic strategies of gastric cancer treatment. J Biomed Biotechnol, 2011, 437348.
- [3] Ellebaek E, Andersen MH, Svane IM, et al. Immunotherapy for metastatic colorectal cancer: present status and new options. Scand J Gastroenterol, 2012, 47:315-324.
- [4] Conley WG, Raman A, Krousgrill CM, et al. Nonlinear and nonplanar dynamics of suspended nanotube and nanowire resonators. Nano Lett, 2008, 8:1590-1595.
- [5] Rosenberg SA. Raising the bar: the curative potential of human cancer immunotherapy. Sci Transl Med, 2012, 4:127ps8.
- [6] Lubaroff DM. Prostate cancer vaccines in clinical trials. Expert Rev Vaccines, 2012, 11:857-868.
- [7] Cha E, Fong L. Therapeutic vaccines for prostate cancer. Curr Opin Mol Ther, 2010, 12:77-85.
- [8] Du X, Wang XY, Ning N, et al. Dynamic tracing of immune cells in an orthotopic gastric carcinoma mouse model using near-infrared fluorescence live imaging. Exp Ther Med, 2012, 4:221-225.
- [9] Du X, Jin R, Ning N, et al. In vivo distribution and antitumor effect of infused immune cells in a gastric cancer model. Oncol Rep, 2012, 28:1743-1749.
- [10] 刘洪一, 李荣, 刘巨超, 等. 抗 CD3 抗 CEA 抗体诱导杀伤细胞对胃癌体内杀伤的作用. 中国肿瘤临床与康复, 2012, 19:5-7.

(收稿日期:2012-11-20)

## · 名词解析 ·

### 直肠系膜与肛管

**直肠系膜** 直肠系膜是外科学名词。解剖学无这一名词。直肠系膜是指盆筋膜脏层所包裹的直肠背侧脂肪及其结缔组织、血管和淋巴组织。由于骨盆的特殊形状,只在直肠的上 1/3 形成膜状结构,而中下 1/3 是从直肠的后方及两侧包裹着直肠,形成半圈 1.5~2.0 cm 厚的结缔组织,临床外科称之为直肠系膜,后方与骶前间隙有明显的分界,侧方由于侧韧带与盆腔侧壁相连,无明显分界,上自第 3 骶椎前方,下达盆膈,所以直肠癌外科提出的全直肠系膜切除(TME),是指从第 3 骶椎前方至盆膈直肠后方及双侧连系直肠的疏松结缔组织。

**肛管** 肛管的准确定位有两种不同的说法,长度描述不一,一些教科书将肛管定义为从齿状线至肛门缘,长约 3~4 cm,显然混淆了解剖学肛管和外科学肛管,应予更正。

**解剖学肛管:**是指齿状线至齿状线下方 1.2~1.5 cm 处(肛缘)。这段管状结构长度约 1.5 cm,肛管的上段有柱状上皮转化为移行上皮与鳞状上皮相连接。我国近几年解剖学教科书将肛管定义为:直肠穿过盆膈后至肛门缘的一段肠管,约 40 mm 长,以齿状线为界分为上、下两部。这种描述与外科学肛管相似。

**外科学肛管:**是肛门直肠环至齿状线下方 1.2~1.5 cm 处(肛缘)。这段管状结构实际上是直肠柱区加解剖学肛管,直肠柱区长约 1.5~2.0 cm,故外科肛管长约 3.0~3.5 cm。肛肠外科疾病如痔、瘘等大多在这段区域内发生,所以曾经在一段时期临床外科称这段区域为外科肛管。

两种不同的肛管划分为必然造成临床工作混乱,现大多学者推荐使用解剖学肛管的概念。认为解剖学肛管的上界齿状线是两种不同来源组织结构的分界线,肉眼易识别,描述清楚,同时对直肠癌外科也有重要的临床意义。

(汪建平)