

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.01.012

• 临床研究 •

幽门螺杆菌感染对晚期胃癌自体 DC - CIK 维持治疗的影响

丁园¹ 陈玉强¹ 李巧珍¹ 米彦军¹ 颜江华² 叶燕华¹ (1. 厦门大学附属成功医院暨解放军第 174 医院 肿瘤治疗中心 福建 厦门 361003; 2. 厦门大学 医学院 抗癌研究中心 福建 厦门 361000)

[摘要] 目的: 对比幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp) 感染阴性和阳性的晚期胃癌患者接受自体树突状细胞联合细胞因子诱导的杀伤(dendritic cells-cytokine induced killer, DC-CIK) 细胞维持治疗的疗效差异。方法: 收集 2010 年 6 月至 2012 年 6 月中国人民解放军第 174 医院肿瘤中心收治的 72 例晚期胃癌患者, 年龄 29 ~ 90 岁, 中位年龄 56 岁, 通过胃镜检查进行胃癌确诊并检测 Hp, 分为 Hp 阳性组(45 例) 及 Hp 阴性组(27 例), 在接受手术或/和放疗后, 接受 2 疗程自体 DC-CIK 维持治疗, 比较两组外周血培养的 DC 分化成熟情况及临床疗效差异。结果: 两组 DC 成熟过程形态变化无差异; Hp 阳性组 DC 表面分子 CD83、CD86 表达显著高于 Hp 阴性组($P < 0.01$), 两组间 HLA-DR 表达无明显差异($P > 0.05$)。Hp 阳性组治疗后生活质量评分(KPS)、外周血 T 细胞亚群($CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$) 比例较治疗前显著提高($P < 0.05$), 肿瘤标志物(CEA、CA199、CA724) 表达较治疗前下降($P < 0.05$)。Hp 阴性组治疗后肿瘤标志物表达、外周血 T 淋巴细胞比例较治疗前显著降低($P < 0.05$), KPS 评分较治疗前无明显变化($P > 0.05$)。Hp 阳性组治疗后 KPS 评分、CEA 和 CA199 表达以及 $CD3^+$ 和 $CD4^+$ T 细胞数量等的改善均优于 Hp 阴性组($P < 0.05$), 但瘤体稳定率、CA724、 $CD8^+$ T 细胞比例无显著差异($P > 0.05$)。共随访 2 年, 阳性组患者中位生存期为 12.64 个月, 长于阴性组的 11.42 个月($P < 0.05$)。结论: 携带 Hp 抗原信息的 DC 疫苗协同 CIK 治疗能够提高 Hp 感染的晚期胃癌患者的自身免疫功能, 达到稳定瘤体、改善生活质量、延长生存期的目的。

[关键词] DC-CIK; 幽门螺杆菌; 胃癌

[中图分类号] R735.2; R730.54; R377

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)01-0067-06

Influence of *Helicobacter pylori* infection on autologous DC-CIK maintenance therapy in the advanced gastric cancer patients

Ding Yuan¹, Chen Yuqiang¹, Li Qiaozhen¹, Mi YanJun¹, Yan Jianghua², Ye Yanhua¹ (1. Department of Oncology, No. 174 Hospital of PLA, Xiamen 361003, Fujian, China; 2. Cancer Research Center, Medical College of Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effect of *Helicobacter pylori* (Hp) infection on the outcome of maintenance therapy with autologous dendritic cells-cytokine induced killer (DC-CIK) cells in gastric cancer patients. **Methods:** Seventy-two patients with advanced gastric cancer, aged 29-90 years, who were admitted to the Department of Oncology of No. 174 Hospital of PLA between June, 2010 and June, 2012 were included in this study. Based on the gastroscopic findings, patients were divided into two groups: Hp-positive and Hp-negative. Both groups received two courses of autologous DC-CIK immunotherapy after surgery or radiotherapy and chemotherapy. At the end of treatment, DC differentiation and maturation, treatment efficacy and patients outcomes in the two groups were analyzed. **Results:** No significant difference was observed in the morphology and maturation status of DCs between two groups ($P > 0.05$). Levels of CD83 and CD86 on the surface of DCs were significantly higher in the Hp-positive group than those in the Hp-negative group ($P < 0.01$), but surface levels of HLA-DR in DCs had no significant difference between two groups ($P > 0.05$). In the Hp-positive group,

[基金项目] 南京军区医学科技创新课题资助(No. 10MA068); 厦门市科技计划创新项目资助(No. 3502z20134026, No. 3502z20144034)。Project supported by the Medical Science and Technology Innovation Subject of Nanjing Military Region (No. 10MA068), and the Science and Technology Innovation Project of Xiamen City(No. 3502z20134026, No. 3502z20144034)

[作者简介] 丁园(1983-), 女, 福建省建宁县人, 硕士, 主治医师, 主要从事肿瘤生物免疫治疗临床研究, E-mail: dingyuan242007@sina.com

[通信作者] 陈玉强(Chen Yuqiang, corresponding author), E-mail: chenycq707@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20150205.1444.008.html

the quality of life KPS score and levels of T lymphocyte markers (CD3⁺ , CD4⁺ and CD8⁺) were significantly increased (*P* < 0.05) but levels of tumor markers CEA , CA199 and CA724 were significantly decreased (*P* < 0.05) after treatment. In the Hp-negative group , levels of tumor markers and the T lymphocyte markers were significantly different before and after treatment (*P* < 0.05) , but the KPS score was not significantly improved (*P* > 0.05) . Hp-positive patients had better KPS score , higher levels of CEA and CA199 , and more abundant CD3⁺ CD4⁺ T cells than Hp-negative patients (*P* < 0.05) . In contrast , the two groups did not significantly differ in tumor stability , CA724 expression , and the number of CD8⁺ T cells (*P* > 0.05) . At the end of 2-years follow-up , the median survival time was 12.64 months in the HP-positive group and 11.42 months in the HP-negative group (*P* < 0.05) . **Conclusion:** Hp infection may help stabilize the tumor size , improve the quality of life , and prolong the survival time in patients with advanced gastric cancer undergoing maintenance therapy with DC-CIK cells.

[Key words] dendritic cells-cytokine induced killer(DC-CIK) cell; *Helicobacter pylori*; gastric cancer

[Chin J Cancer Biother , 2015 , 22(1) : 67-72]

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori* , Hp) 是定植于胃黏膜表面的革兰阴性螺旋状微需氧菌 ,其在胃癌组织中的感染率高达 74.37%^[1]。临床研究^[2]证实 ,根除 Hp 能够有效减少胃癌病死率。随着肿瘤免疫学和基因工程技术的突飞猛进 ,具有特异性的生物免疫治疗有望成为提高胃癌生存率的突破点。本课题研究 Hp 感染的特异性肿瘤抗原刺激树突状细胞(dendritic cell , DC) 并联合细胞因子诱导的杀伤(cytokine induced killer , CIK) 细胞治疗晚期胃癌患者的临床疗效 ,以筛选出优化的细胞免疫治疗方案。

(rhIL-4) (货号 SJB02) 、重组人白细胞介素-2(rhIL-2) (货号 SJB01) 、重组人肿瘤坏死因子(rhTNF-α) (货号 SJA03) 、干扰素-γ(IFN-γ) (货号 SJC02) 均购自厦门特宝生物技术公司 ,CD3 单抗细胞(货号 SB-JM0112) 购自北京思科达生物科技有限公司 ,鼠抗人 CD-83(货号 11-0839) 、CD-86(货号 53-0869) 及 HLA-DR(货号 12-9956) 单克隆抗体均购自 Bioscience 公司。

表 1 胃癌患者临床特点

Tab. 1 Clinical features of the patients with gastric cancer

Features	HP ⁺ (n = 45)	Hp ⁻ (n = 27)	<i>P</i>
Sex			
Male	29	15	0.454
Female	16	12	
Age(t/a)			
≥ 56	26	19	0.285
< 56	19	8	
Surgery	28	16	0.803
AJCC stages			
III a	17	14	0.234
III b	12	7	
IV	16	6	

1 材料与方法

1.1 病例资料

选择 2010 年 6 月至 2012 年 6 月中国人民解放军第 174 医院肿瘤中心收治的 72 例晚期胃癌患者 ,其中男性 44 例、女性 28 例 ,年龄 29 ~ 90 岁 ,中位年龄 56 岁。入选标准: 组织学、影像学明确诊断为中晚期胃癌; 接受过胃癌的规范化治疗(包括手术、放疗和化疗) ; 末次治疗至开始接受 DC-CIK 细胞免疫治疗的间隔时间 ≥ 4 周; 预计生存期 > 3 个月; KPS 评分 > 60 分; 无严重的病毒或细菌感染。排除标准: 正在接受放化疗或其他全身抗肿瘤治疗者; 同时合并其他肿瘤及传染性、感染性疾病者; 大手术伤口未愈合者; 怀孕、哺乳期妇女; 对生物制品过敏者。患者的临床特点见表 1。本临床试验方案经医院伦理委员会审查批准 ,所有患者均在前期化、放疗结束后 ,签署知情同意后入组。

1.2 主要试剂

链霉素/青霉素购自 Sigma 公司(货号 P11-010) ,Ficoll 淋巴细胞分离液购自 CEDARLANE 公司(货号 CL5020) ,重组人粒-巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF) (货号 SJA01) 、重组人白细胞介素-4

1.3 Hp 的鉴定

患者空腹行胃镜检查 ,从胃窦部距离幽门 2 ~ 5 cm 处取 1 块胃黏膜组织 ,放入尿素酶检测试剂瓶中 5 min 内组织块周围液体变为红色为阳性 ,不变色为阴性。

1.4 DC-CIK 细胞的制备

1.4.1 肿瘤抗原的采集及提取 通过胃镜活检获

得新鲜肿瘤组织,放在细胞筛上研磨,用 RPMI 1640 冲洗,加入肝素钠(20 U/ml)抗凝,用滤网滤过取单细胞悬液进行密度梯度离心,收集上清为肿瘤组织细胞裂解物,放置在 -20°C 冰箱中反复冻融3次,光镜检查未见有肿瘤细胞,存储备用。

1.4.2 外周血 DC、CIK 细胞的诱导培养 分别采集 Hp 阳性和 Hp 阴性两组患者外周静脉血 50 ml,用生理盐水稀释、混匀,加入淋巴细胞分离液。利用密度梯度离心法纯化分离,取细胞层,用无血清培养基调整细胞浓度至 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 个/ml,贴壁的细胞添加 GM-CSF、IL-4、TNF- α 等因子,促进其往 DC 方向分化;悬浮的细胞添加 IFN- γ 、CD3 单抗、IL-2 等因子,促进其往 CIK 方向分化。第 5 天将制备好的肿瘤抗原用缓冲液稀释成 0.1 mg/ml。按体积比 3:1 加入 DC 培养基中,4 h 后再加入 TNF- α 分别诱导培养 8、24、48、72 h,收获悬浮成熟 DC,倒置显微镜观察两组 DC 形态。第 9 天收获成熟 CIK 细胞,与人血白蛋白配置成 100 ml 混悬液。

1.5 流式细胞术检测 DC 表面成熟标记分子

采用直接免疫荧光标记、流式细胞仪检测。每管取待测 DC 悬液 100 μl ,共 5 管,其中 1 管作为空白对照,余 4 管分别加入荧光抗体 PE-CD86 20 μl 、FITC-CD83 20 μl 、PE-HLA-DR 5 μl , 4°C 静置 30 min; PBS 洗涤后加入 4% 多聚甲醛固定液室温固定 15 min, PBS 洗涤,加入 1 ml PBS 重悬细胞,流式细胞仪检测 DC 表面 CD83、CD86 及 HLA-DR 的表达,应用 WinMDI Version 2.9 软件分析结果。

1.6 DC-CIK 细胞治疗方案

患者在放化疗结束 1 个月后接受 DC-CIK 细胞免疫治疗。共治疗 2 个疗程,每个疗程均于 12 d 内回输完毕,休息 16 d 后开始下一疗程。采血当日记为第 0 天,第 1~7 天为细胞培养阶段,第 8、9、10、11、12 天每天收集 DC 1 ml(含 1×10^6 个细胞),于双侧锁骨上区、双侧腹股沟淋巴结区域分别皮下注射 0.25 ml,1 次/d。第 9、10、11、12 天静脉回输 CIK 细胞混悬液 100 ml(含 1×10^9 个细胞),1 次/d。

1.7 疗效评价

1.7.1 临床疗效评估 分别于细胞采集前及 2 疗程治疗结束时记录各项临床指标情况。

1.7.2 生活质量评价 采用体能状态卡氏评分(Karnofsky performance status, KPS) 标准^[3]。

1.7.3 瘤体评价标准 2 周期治疗前后做影像学检查(CT/MRI/PET-CT),测量靶病灶大小,参照实体瘤疗效评价标准^[4](response evaluation criteria in solid tumor, RECIST) 进行疗效评价。

1.7.4 肿瘤标志物、T 细胞亚群指标检测 分别采集患者外周血,送检验科,通过流式细胞术检测肿瘤标志物(CEA、CA199、CA724) 表达情况及 T 细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺) 比例,并计算 CD4⁺/CD8⁺ 比值。

1.8 统计学处理

采用 SPSS14.0 统计软件分析,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,治疗前后差异的比较采用配对资料的 *t* 检验,组间差异比较采用方差检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Hp 阳性和 Hp 阴性的两组 DC 形态学的比较

用倒置显微镜观察两组 DC 形态学差异,结果(图 1) 显示,起初两组贴壁的细胞均为体积小、圆形的单核细胞,培养第 3 天起,细胞体积逐渐增大,表面可见细小毛刺突起,并聚集成大小不等的细胞集落,部分贴壁,部分悬浮生长。第 5 天两组分别加入 Hp 阳性、Hp 阴性的胃癌抗原,在细胞因子的刺激下,两组细胞均从聚集状态变为分散状态,细胞胞体增大,大小不等,表面有大量毛刺状突起,呈悬浮状生长。第 8 天均呈现成熟 DC 形态。两组 DC 在培养成熟过程中形态学无明显差异。

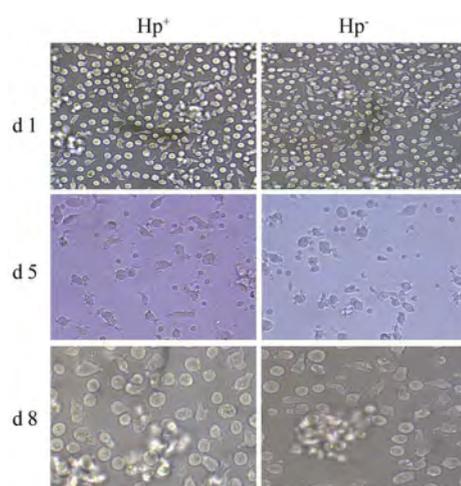


图 1 Hp⁺ 组和 Hp⁻ 组 DC 成熟过程的形态改变($\times 400$)

Fig. 1 Morphological change of DCs during the maturation process in Hp⁺ and Hp⁻ groups($\times 400$)

2.2 两组 DC 的表型鉴定

待第 8 天 DC 成熟,用流式细胞仪检测两组 DC 表面 CD83、CD86 及 HLA-DR 的表达百分率,结果(表 2) 显示, Hp 阳性组 DC 表面 CD83、CD86 分子表达水平均明显高于 Hp 阴性组($P < 0.05$), 两组

HLA-DR 阳性率无显著差异($P > 0.05$)。

表 2 Hp 阳性组和 Hp 阴性组 mDC 的表型表达情况(%)

Tab.2 Expression of surface marker molecules on mDC in Hp⁺ and Hp⁻ groups(%)

Group	CD83	CD86	HLA-DR
Hp ⁻	62.13 ± 3.81	67.13 ± 3.70	81.91 ± 4.22
Hp ⁺	68.96 ± 3.94*	76.01 ± 3.95*	83.05 ± 3.98*

* $P < 0.05$ vs Hp⁻ agent group

2.3 两组 DC-CIK 细胞治疗的疗效

2.3.1 生活质量比较 细胞回输前 Hp 阴性组与 Hp 阳性组患者 KPS 评分间无显著差异 [(78.67 ± 6.40) vs (79.33 ± 5.94) 分, $P = 0.138$]。2 疗程 DC-CIK 细胞治疗后 Hp 阴性组 KPS 评分(80.67 ±

5.94) 分,较回输前无明显变化($P = 0.167$),Hp 阳性组 KPS 评分(86.67 ± 4.88) 分,较回输前显著增加($P < 0.01$),较阴性组 KPS 回输后也有明显增加($P < 0.05$)。

2.3.2 瘤体指标评估 细胞回输后 Hp 阴性组 PR 2 例、SD 18 例、PD 7 例,瘤体稳定率为 74% (20/27); Hp 阳性组 PR 5 例、SD 30 例、PD 10 例,瘤体稳定率为 77.8% (35/45),两组相比差异无统计学意义($P = 0.274$)。流式细胞术检测结果(表 3)显示,两组间回输前 CEA、CA199、CA724 表达水平无明显差异($P > 0.05$),两组回输后 CEA、CA199、CA724 表达水平均较回输前降低($P < 0.05$)。治疗后两组间 CEA、CA199 表达有显著差异($P < 0.05$),CA724 差异无统计学意义($P = 0.091$)。

表 3 Hp 阳性和 Hp 阴性患者 DC-CIK 治疗前后肿瘤标志物的表达 [$\rho_B / (ng \cdot ml^{-1})$]

Tab.3 Expression of the tumor markers between Hp⁺ and Hp⁻ groups before and after DC-CIK treatment [$\rho_B / (ng \cdot ml^{-1})$]

Group	CEA	CA199	CA724
Hp ⁻			
Pre-treatment	42.353 ± 17.792	60.080 ± 32.850	43.148 ± 26.108
Post-treatment	36.61 ± 17.229*	52.015 ± 29.033*	37.177 ± 21.741*
Hp ⁺			
Pre-treatment	41.385 ± 16.786	56.958 ± 36.076	42.738 ± 29.880
Post-treatment	29.443 ± 15.444** Δ	43.388 ± 24.925** Δ	28.835 ± 19.068** Δ

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs pre-treatment in the same group; $\Delta P < 0.05$ vs post-treatment in the Hp⁻ group

2.3.3 免疫功能评估 流式细胞术检测结果(表 4)显示,两组患者治疗前外周血中被检测的 T 细胞亚群均无明显差异($P > 0.05$);接受 2 疗程 DC-CIK 细胞免疫治疗后,两组患者外周血 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞均较治疗前明显增多,CD8⁺ T 细胞含量

明显减少,CD4⁺/CD8⁺ 比值增大,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。其中回输后 Hp 阳性组 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞数量显著高于 Hp 阴性组($P < 0.05$),CD8⁺ T 细胞数量、CD4⁺/CD8⁺ 比值两组间无明显差异($P > 0.05$)。

表 4 Hp 阳性和 Hp 阴性患者 DC-CIK 治疗前后 T 细胞亚群的表达(%)

Tab.4 Expression of T cell subset in Hp⁺ and Hp⁻ patients before and after DC-CIK treatment (%)

Group	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
Hp ⁻				
Pre-treatment	56.934 ± 8.811	29.519 ± 9.339	27.116 ± 7.199	1.173 ± 0.560
Post-treatment	60.279 ± 9.883*	31.795 ± 9.899*	24.484 ± 6.226**	1.425 ± 0.696**
Hp ⁺				
Pre-treatment	57.092 ± 7.998	29.708 ± 8.635	27.105 ± 7.827	1.195 ± 0.626
Post-treatment	64.288 ± 8.849** Δ	36.175 ± 8.875** Δ	25.374 ± 7.376*	1.543 ± 0.622**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs pre-treatment in the same group; $\Delta P < 0.05$ vs post-treatment in the Hp⁻ group

2.3.4 不良反应观察 治疗过程中,72 例患者仅 1 例 56 岁男性患者在第 1 疗程第 9 天 CIK 细胞回输后出现低热,体温达 38.1 °C,经物理降温方法处理后退热,后回输前口服吲哚美辛片 12.5 mg,未再出现不适反应。其他患者细胞回输过程均顺利。

2.3.5 随访 对入组治疗患者进行跟踪随访 2 年, Hp 阳性组中位生存期(median survival time, MST) 12.64 个月; Hp 阴性组 MST 为 11.42 个月, Hp 阳性组 MST 较阴性组延长($P=0.031$)。

3 讨论

Hp 通过促进炎症因子释放、调控酶类、激活癌基因、抑制抑癌基因^[5]等途径促进胃黏膜病变向慢性萎缩性胃炎、胃溃疡、肠上皮化生、胃癌^[6]方向发展,因此被联合国卫生组织定义为 I 类致癌因子。流行病学调查^[7]显示,中年人群中 Hp 感染率在发达国家和发展中国家分别为 58% 和 74%,而且 63.4% 的胃癌归因于 Hp 感染。临床研究^[8]证实,根除 Hp 可以提高早期胃癌的治愈率,但对于晚期胃癌,亚组分析显示 Hp 感染阳性患者的治疗预后明显好于阴性组。甘露等^[9]发现, Hp 阳性胃癌患者的中位生存期为 68.5 个月,明显高于 Hp 阴性患者的 36.4 个月,特别是 Hp 感染的肠型胃癌患者预后优于 Hp 阴性者。这可能与 Hp 感染后高表达蛋白激酶 D2(protein kinase D2, PKD2)^[10]、乙酰化脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶-1(apurinic/apyrimidinic endonuclease-1, APE-1)^[11]、热激蛋白 60(*helicobacter pylori* heat shock protein 60, HPHSP60)^[12]等介质有关,这些蛋白能够诱导细胞增殖、血管生成、转移,促使细胞进入有丝分裂期,改善缺氧环境,增加癌细胞对化、放疗的敏感性。在接受高强度的放化疗后敏感的胃癌细胞数量迅速减少,从而提高临床有效率。

Hp 感染细胞后,其自身携带的鞭毛蛋白、脂多糖、空泡毒素、尿素酶等都可成为抗原,刺激机体产生免疫反应^[13]。DC 能够率先识别、捕捉、处理并提呈抗原,激活初始 T 细胞,启动特异性免疫应答^[14-15]。但 DC 在人体内含量少,不足以承载大量抗原信息。通过体外培养 DC 细胞,不仅能够在增加 DC 数量,更能够促进 DC 活化成熟。目前,许多学者将不同菌株的 Hp、Hp 的不同成分对 DC 分化成熟及其功能的影响进行实验研究。Kranzer 等^[16]将 Hp 活菌与外周血单核细胞诱导的未成熟 DC (immature DC, iDC) 共培养,发现 Hp 能够诱导 DC 成熟,并促使其高表达 CD80、CD83、CD86、HLA-DR 分子。Hafsi 等^[17]发现, Hp 膜蛋白致敏 DC 可显著

诱发 Th1 效应反应。然而 Tanaka 等^[18]等发现, Cag A⁺ 菌株组 DC 表面共刺激分子 CD86 低于 Cag A⁻ 菌株, VacA 蛋白可抑制大肠杆菌脂多糖诱导 DC 的成熟。说明 Hp 作为抗原能够刺激促进 DC 分化成熟,但携带不同蛋白基因的抗原诱导出的 DC 其表面分子表达存在差异。本研究分别用 Hp 阳性和阴性的胃癌抗原与 iDC 共培养, DC 成熟后检测表面分子发现, Hp 阳性组 DC 表面 CD83、CD86 显著高于 Hp 阴性组,而两组 HLA-DR 表达水平相似。再将成熟 DC 回输至患者体内发现, Hp 阳性组患者外周血中的 T 淋巴细胞的 CD3⁺、CD4⁺ 比例和 CD4⁺ / CD8⁺ 比值均高于 Hp 阴性组。证实经 Hp 阳性胃癌抗原刺激成熟 DC 能够促进 T 细胞活化,捕捉携带抗原分子与 MHC-II 类分子结合,提呈给 CD4⁺ T 细胞,发挥免疫效应杀伤癌细胞。

本研究临床结果显示, Hp 阳性组经细胞回输后患者生活质量较前明显改善,肿瘤标志物(CEA、CA19-9、CA724) 表达下降($P < 0.05$)。 Hp 阴性组细胞回输前后肿瘤标志物表达下降($P < 0.05$),但生活质量未见明显改善($P > 0.05$),两组患者瘤体稳定率相似。随访 2 年, Hp 阳性组 MST 较阴性组延长,均较报道晚期胃癌 MST 为 9.64 个月^[19]延长。说明体外培养 DC 能够提高自体免疫监视功能,在一定程度上、一定时间内有效抑制肿瘤生长,从而带来生活质量和生存期的获益。Knon 等^[20]曾报告 HER-2 多肽致敏 DC 疫苗治疗 9 名胃癌患者,也观察到部分患者 CEA 和 CA19-9 下降、瘤体缩小的临床疗效。目前,国内外报道的自体 DC-CIK 细胞免疫治疗的不良反应发生率均较低,常见反应有皮肤瘙痒、寒颤、低热等,一般可自行缓解。本项研究仅发现 1 例患者一过性发热,余病例回输过程均顺利。因此,按照规范的操作规程开展 DC-CIK 细胞治疗,安全性较好,不良事件发生率明显低于传统放、化疗^[21]。

综上所述,选择不同个体的特异性抗原制备特种 DC 疫苗能够充分体现个体化治疗理念,能够提高临床疗效,是充满前景的临床研究领域。

[参考文献]

- [1] 刘爱民,赵金扣. 幽门螺旋杆菌感染与胃癌 Meta 分析 [J]. 中国肿瘤,2006,15(9): 583-586.
- [2] Gonzalez CA, Agudo A. Carcinogenesis, prevention and early detection of gastric cancer: Where we are and where we should go [J]. Int J Cancer, 2012, 130(4): 745-753.
- [3] Kano Y, Wang XJ, Junko S, et al. Pharmacological properties of galenic preparation (XXH), Pharmacokinetics study of 6,7-dim-

- ethyleculetin in rats [J]. *J Tradit Med*, 1994, 11(3): 176-180.
- [4] Dancy JE, Dodd LE, Ford R, et al. Recommendations for the assessment of progression in randomised cancer treatment trial [J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(2): 281-289.
- [5] 张亮, 范博, 李骢. 幽门螺杆菌与胃癌发生发展机制的研究 [J]. *肿瘤研究与临床*, 2011, 23(7): 500-502.
- [6] Correa P. Helicobacter pylori and gastric carcinogenesis [J]. *Am J Surg Pathol*, 1995, 19(Suppl 1): s37-s43.
- [7] Rathbone M, Rathbone B. Helicobacter pylori and gastric cancer [J]. *Recent Results Cancer Res*, 2011, 185(1): 83-97.
- [8] Qiu HB, Zhang LY, Keshari RP, et al. Relationship between H. Pylori infection and clinicopathological features and prognosis of gastric cancer [J/OL]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 374 [2014-08-15]. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/10/374>.
- [9] 甘露, 张霞, 潘军, 等. 幽门螺杆菌感染状态与胃癌预后的关系 [J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32(12): 1300-1305.
- [10] Azoitei N, Pusapati GV, Kleger A. Protein kinase D2 is a crucial regulator of tumour cell-endothelial cell communication in gastrointestinal tumours [J]. *Gut*, 2010, 59(10): 1316-1330.
- [11] Chattopadhyay R, Bhattacharyya A, Crowe SE. Dual regulation by apurinic/aprimidinic endonuclease-1 inhibits gastric epithelial cell apoptosis during Helicobacter pylori infection [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(7): 2799-2808.
- [12] Lin CS, He PJ, Tsai NM, et al. A potential role for helicobacter pylori heat shock protein 60 in gastric tumorigenesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 392(2): 183-189.
- [13] Mitchell P, Germain C, Fiori PL, et al. Chronic exposure to helicobacter pylori impairs dendritic cell function and inhibits Th1 development [J]. *Infect Immun*, 2007, 75(2): 810-819.
- [14] Mesiano G, Todorovic M, Gammaitoni L, et al. Cytokine induced killer (CIK) cells as feasible and effective adoptive immunotherapy for the treatment of solid tumors [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2012, 12(6): 673.
- [15] Bernatchez C, Radvanyi LG, Hwu P. Advances in the treatment of metastatic melanoma: Adoptive T-cell therapy [J]. *Semin Oncol*, 2012, 39(2): 215.
- [16] Kranzer K, Eckhardt A, Aigner M, et al. Induction of maturation and cytokine release of human dendritic cells by helicobacter pylori [J]. *Infect Immun*, 2004, 72(8): 4416-4423.
- [17] Hafsi N, Voland P, Schwendy S, et al. Human dendritic cells respond to helicobacter pylori, promoting NK cell and Th1-effector responses in vitro [J]. *J Immunol*, 2004, 173(2): 1249-1257.
- [18] Tanaka H, Yoshida M, Nishiumi S, et al. The CagA protein of Helicobacter pylori suppresses the functions of dendritic cell in mice [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2010, 498(1): 35-42.
- [19] 曹妮达, 赵爱光, 杨金坤. 中西医结合治疗晚期胃癌生存期分析 [J]. *中西医结合学报*, 2010, 8(2): 116-120.
- [20] Kono K, Takahashi A, Sugai H, et al. Dendritic cells pulsed with HER-2/neu-derived peptides can induce specific T-cell responses in patients with gastric cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(11): 3394-4000.
- [21] 蔡俊霞, 谭洁, 王彬. DC-CIK 治疗 43 例晚期非小细胞癌的近期疗效观察 [J]. *现代肿瘤医学*, 2014, 22(1): 67-70.
- [收稿日期] 2014-10-08 [修回日期] 2014-12-09
[本文编辑] 黄静怡

• 科技动态 •

固有淋巴细胞影响肠道稳态

美国西奈山医学院的 Merad 教授及其研究团队发现, 肠道内的固有淋巴细胞(innate lymphoid cell, ILC) 能通过巨噬细胞、树突状细胞发挥作用, 影响肠道的耐受和稳态。相关工作发表在 2014 年 3 月份的 *Science* 杂志上。

ILC 是于 2009 年被科学家发现和定义的, 这些细胞数目稀少, 一只成年小鼠约有 2 亿个淋巴细胞, 却只有数千个 ILC。然而 ILC 在人体的免疫系统中却有着举足轻重的作用。ILC 一经成熟便分布于人体的肺脏、肠道和皮肤的黏膜层, 成为人体抵抗外界病原微生物侵袭的第一道防线。根据转录因子活性和分泌细胞因子的不同, ILC 被划分为 3 大类, Merad 教授研究的对象是以转录因子维甲酸相关核孤儿受体 γ t(retinoid-related orphan nuclear receptor γ t, ROR γ t) 阳性和分泌 IL-17、IL-22 为主要特征的第 3 类 ILC(ILC3)。

Merad 团队发现, 随着人体内肠道菌群的增加, 肠道巨噬细胞产生 IL-1 β , IL-1 β 进而作用于肠道孤立淋巴滤泡(isolated lymphoid follicle, ILF) 中的 ILC3。ILC3 受到 IL-1 β 刺激后分泌巨噬细胞集落刺激因子(原称 GM-CSF, 现更名为 CSF2)。CSF2 诱导肠道内的巨噬细胞和树突状细胞释放 IL-1、维甲酸和 TGF- β , 这些因子共同作用能够诱导未成熟的 T 细胞成熟, 成为 Treg 细胞。Treg 细胞对抑制炎症, 维持肠道稳态具有至关重要的作用。

Treg 细胞介导了主要的人体肠道对于食物的耐受作用, 因此 Merad 团队也做了相关研究: 给缺少 ILC3 及其所分泌的 CSF2 的小鼠喂食卵清蛋白素后, 不能产生特异性的 Treg 细胞, 再次接触到卵清蛋白素就会产生炎症反应。这也充分证实了 ILC3 在肠道中的重要作用。

然而, Merad 团队将 CSF2 相关的药物用于肠炎患者, 治疗效果却不尽人意。Merad 教授解释说, 这是因为临床样本中只有部分肠炎患者是因为 ILC3 的功能异常或者 CSF2 失活导致的, 还有一部分患者则是由于其他原因引起。因此, 如果能够先对患者分型, 然后进行针对性治疗, 或能带来较好的疗效。

[胡翔 摘译, 韩超峰 审阅. Mortha A, Chudnovskiy A, Hashimoto D, et al. *Science*, 2014, 343(6178): 1249-1288]