文章编号:1000-5404(2012)24-2449-04

论著

异基因造血干细胞移植联合供者CIK细胞过继免疫治疗复发难治血液肿瘤11例临床分析

陈 林,史丽君,陈 姝,邓建川,周 慷,罗 云,张 颖,沈 燕,胡成琳,娄世锋 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院血液科)

[摘要] **目的** 观察异基因干细胞移植(allogeneic stem cell transplantation, allo-HSCT)联合供者细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine induced killer cells, CIK)过继免疫治疗复发难治血液肿瘤的效果。**方法** 回顾性分析我科2005年3月至2012年3月行供者CIK细胞输注的allo-HSCT后复发难治血液肿瘤患者11例临床资料,其中急性髓系白血病3例,急性淋巴细胞白血病1例,慢性髓系白血病2例,多发性骨髓瘤1例,淋巴瘤4例。患者均进行亲缘allo-HSCT后给予供者CIK输注。**结果** 移植后11例患者造血均重建,CIK细胞输注的中位次数为4(2~7)次,中位细胞总数为11.9×10^6/kg[$(5.8\sim86.5)\times10^6$/kg];11例患者原发肿瘤均获完全缓解。4例移植后2~4个月再次复发(急性髓性白血病髓外复发1例,多发性骨髓瘤2例,慢粒急变1例),经供者CIK输注、停用免疫抑制剂后重获完全缓解3例。4例死亡,其中2例死于特发肺综合征,均为单倍型移植后原发肿瘤复发停用免疫抑制剂所致,另2例死于严重感染。总体中位生存时间9(2~53)个月;7例生存至今,生存时间12~53个月,除1例MM分子复发外,其余仍处于完全缓解。**结论** allo-HSCT联合供者CIK过继免疫治疗血液肿瘤有明显效果,副作用小,值得进一步进行多中心病例对照研究。

[关键词] 造血干细胞移植;肿瘤;细胞因子诱导的杀伤细胞;过继免疫细胞治疗
[中图法分类号] R617;R730.51;R733 [文献标志码] A

Allogeneic stem cell transplantation combined cytokine-induced-killer cells adaptive immunotherapy in treatment of refractory/relapsed hematologic neoplasms

Chen Lin, Shi Lijun, Chen Shu, Deng Jianchuan, Zhou Kang, Luo Yun, Zhang Ying, Shen Yan, Hu Chenglin, Lou Shifeng (Department of Hematology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the clinica1 efficacy of donor-derived cytokine induced killer cells (CIK) after allogeneic stem cell transplantation (allo-HSCT) in the treatment of patients with refractory/relapsed hematologic neoplasms. **Methods** Eleven refractory/relapsed patients, including acute myelogenous leukemia (AML) ($n=3$), acute lymphoblastic leukemia (ALL) ($n=1$), chronic myelomonocytic leukemia (CML) ($n=2$), multiple myeloma (MM) ($n=1$) and non-Hodgkin lymphoma (NHL) ($n=4$), were enrolled in this retrospective analysis. All the patients accepted the infusions of donor-derived CIK after allo-HSCT. **Results** Hematopoietic reconstitution was achieved in 11 patients. The median number of CIK infusions was 4 (range 2 to 7) and the median number of total CIK cells was 11.9×10^6/kg (range 5.8 to 86.5). The primary disease achieved complete responses in all the patients. Four patient relapsed again after allo-HSCT and CIK cell infusion. However, 3 patients of them achieved complete responses after stopping immunosuppressive therapy and accepting the infusions of CIK. Among the 4 died patients, 2 died of idiopathic pulmonary syndrome, and 2 of severe infection. The median time of follow-up was 9 months (ranging from 2 to 53 months). During the follow-up period, 7 patients had always stayed CCR except 1 patient relapsed in molecule biology. **Conclusion** Allo-HSCT combined CIK adaptive immunotherapy is an effective therapy with little side effect for minimal residual disease (MRD) clearance for malignancy, and it is worth of doing a multi-center controlled clinical trail study for its efficiency.

[**Key words**] allogeneic stem cell transplantation; cytokine-induced-killer cells; adaptive immunotherapy

Corresponding author: Lou Shifeng, E-mail: loushifeng@hotmail.com

[通信作者] 娄世峰,E-mail:loushifeng@hotmail.com

血液系统恶性肿瘤的治疗近年已取得较大进展。新的治疗方法,包括靶向治疗、造血干细胞移植等,较大地改善了此类患者预后。但复发难治病例疗效差,病死率高,仍是临床面临的难题。细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced-killer cells, CIK)是一组以$CD3^+CD56^+$ T细胞为主要效应细胞的异质细胞群,兼具T淋巴细胞强大的抗瘤活性和NK细胞非MHC限制性杀瘤特性[1-2],可通过非特异性免疫杀伤作用根治肿瘤患者体内微小残余病灶,是目前肿瘤生物治疗首选细胞之一。肿瘤患者自体外周血CIK细胞治疗技术已用于临床,但效果仍不尽人意,有效率在30%左右。文献[3]报道显示,供者CIK细胞扩增快,$CD3^+CD8^+$、$CD3^+CD56^+$细胞比例高,对肿瘤细胞的杀伤活性强于肿瘤患者自身CIK细胞。异基因造血干细胞移植(allogeneic stem cell transplantation, allo-HSCT)联合供者CIK治疗复发难治血液肿瘤国内外少见报道。本研究就11例复发难治血液肿瘤患者allo-HSCT后联合供者CIK过继免疫细胞治疗效果进行了回顾性分析。

1 资料与方法

1.1 病例资料

收集我科2005年3月至2012年3月行供者CIK细胞输注的allo-HSCT后复发难治血液肿瘤患者11例临床资料,其中男性8例,女性3例,中位年龄45(25~58)岁。患者基本特征见表1。

1.2 allo-HSCT

1.2.1 预处理方案 清髓性预处理9例,非清髓性预处理方案2例,见表2。

1.2.2 移植方式 人类白细胞抗原(HLA)全相合的同胞异基因外周血干细胞移植(PBSCT)2例,骨髓+外周血干细胞移植5例;半相合骨髓+外周血干细胞移植1例;单倍体外周血干细胞移植2例,单倍体骨髓+外周血移植1例。回输单个核细胞(MNC)中位数为6.25×10^8/kg[$(0.54\sim12.45)\times10^8$/kg],$CD34^+$细胞中位数$2.51\times10^6$/kg[$(0.10\sim28.29)\times10^6$/kg]。

1.2.3 移植物抗宿主病(GVHD)预防 同胞HLA全相合移植采用短程甲氨蝶呤(MTX)联合环孢素(CsA)预防GVHD。半相合及单倍体移植在此基础上加用霉酚酸酯(MMF)。

表1 11例复发难治血液肿瘤患者基本特征

患者序号	肿瘤名称	年龄(岁)	性别	移植前情况			
				方案+疗程	高危因素	骨髓情况或淋巴瘤病灶情况	缓解/复发
1	M2	46	男	DA*1	inv(16),AML1/ETO-	原始细胞57%	未缓解
2	M2	14	女	DAE*2+MA*1+DA*1+自体	AML1/ETO- del(9q)	原始细胞65%	复发
3	M2	32	女	DA*1	AML1/ETO(+), c-kit(+), FLT3, NPM1(-), t(8;21)(q22q22)	原始细胞62%	未缓解
4	CML(AP)	26	男	IM*2年		原始细胞19%	复发
5	CML(BP/BC)	48	男	DA*1	ph(+),t(9,22)(q34,q11)	原始细胞36%	未缓解
6	NHL	23	男	hyper-CVAD*4+自体		颈部新生包块	复发
7	CLL/SLL	57	男	FND*2+CHOP*2+自体		淋巴细胞63%	复发
8	DLBCL	58	男	CHOP*6	UGCB	纵隔淋巴结增大	部分缓解
9	MM(IgG-KAP)	45	男	CHOP*1+VAD*4+自体		浆细胞58%	部分缓解
10	ALCL	41	女	CHOP*3+自体		颈部新生包块	复发
11	ALL	30	男	VAD*1		原始细胞49%	复发

表2 11例allo-HSCT+CIK输注患者的治疗方法及结局

患者序号	HLA配型	移植方式	预处理方案	CIK细胞输注		结局
				次数	细胞总数(×10^6/kg)	
1	同胞全相合	骨髓+外周血	BU+CY+Flu+ATG	4	11.7	死亡
2	单倍体	骨髓+外周血	BU+CY+Flu+ATG+L	5	59.0	完全缓解
3	同胞半相合	骨髓+外周血	BU+CY+ATG	2	5.8	完全缓解
4	单倍体	外周血	BU+CY+Flu+ATG	2	6.0	死亡
5	同胞全相合	骨髓+外周血	BU+CY+ATG	4	11.9	完全缓解
6	单倍体	外周血	BU+CY+Flu+ATG+L	7	86.5	完全缓解
7	同胞全相合	骨髓+外周血	BU+CY+Flu+L	4	17.5	完全缓解
8	同胞全相合	外周血	BU+CY+Flu+L	3	7.3	死亡
9	同胞全相合	外周血	BU+Flu+ATG	7	84.0	完全缓解
10	同胞全相合	骨髓+外周血	BU+CY	2	6.1	死亡
11	同胞全相合	骨髓+外周血	BU+CY	5	36.0	完全缓解

BU:白消安;CY:环磷酰胺;Flu:氟达拉滨;ATG:抗胸腺细胞球蛋白;L:洛莫斯汀

1.2.4 巨细胞病毒(CMV)感染和肝静脉闭塞病(VOD)的预防 为预防 CMV 感染,在移植前 9 d,接受 1 周的 10 mg/(kg·d)更昔洛韦治疗;为预防 VOD,低分子肝素 100 U/(kg·d)、持续静脉滴注,前列腺素 E_1 10 μg、每 12 小时 1 次、2 次/d、静脉注射,直到移植后 30 d 左右。

1.2.5 植入成功的标准 连续 3 d 中性粒细胞(ANC)≥0.5×10^9/L,脱离血小板输注后连续 3 d 血小板(PLT)计数≥20×10^9/L。

1.3 CIK 的培养和回输

1.3.1 CIK 的培养 主要参照美国斯坦福大学骨髓移植中心建立的 CIK 细胞培养方法。

1.3.2 CIK 的回输 将培养扩增后的 CIK 经质检合格后在 allo-HSCT 后每月即移植后第 30、60、90 天回输给患者 1 次,输注同时皮下注射 IL-2 50×10^4 U/d 共 5 d。CIK 细胞输注的中位次数为 4(2~7)次,中位总量为 11.9×10^6/kg[(5.8~86.5)$\times10^6$/kg]。

1.4 生存情况

观察患者生存情况及疾病进展情况,定期检测血常规、生化指标、骨髓细胞学、影像学、MRD、STR,以及免疫功能等。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件,对治疗前后的淋巴细胞亚群比较进行配对 t 检验。

2 结果

2.1 造血重建

11 例患者均获得造血重建。ANC 和 PLT 重建的中位时间分别为 12(8~15) d 和 13(8~20) d。

2.2 GVHD 及其他并发症

急性 GVHD(aGVHD)的发生率为 81.8%(9/11),其中皮肤Ⅰ度 aGVHD 3 例,消化道Ⅰ度 aGVHD 6 例。可评估的 7 例患者中,慢性 GVHD 的发生率为 57.1%,主要位于皮肤、消化道、肝脏。严重肺部感染 3 例,VOD 1 例,巨细胞病毒感染 1 例。

2.3 CIK 治疗

输注过程中 3 例患者出现发热(体温 38.5 ℃左右),最后 1 次CIK 输注后有 9 例患者发生 aGVHD,其中皮肤Ⅰ度 aGVHD 3 例,消化道Ⅰ度 aGVHD 6 例,经常规处理后得到控制。对培养后 CIK 作淋巴细胞亚群检测发现以 $CD3^+CD8^+$ 及 $CD3^+CD56^+$ 为主,分别为 40.01%(32.21%~48.13%)、33.24%(16.23%~35.98%)。分别于回输前、1 个疗程后 2 周检测 11 例患者外周血淋巴细胞亚群,显示 $CD3^+CD8^+$ 细胞比例显著增加,差异具有统计学意义($P<0.01$,表 3)。

表 3 CIK 细胞治疗前后患者淋巴细胞免疫分型比较

($n=11$, $\bar{x}\pm s$,%)

时间	$CD3^+$	$CD3^+CD4^+$	$CD3^+CD8^+$	$CD3^-CD19^+$	$CD3^-CD56^+$
治疗前	63.62±10.01	31.92±9.83	26.15±7.83	25.31±10.80	5.77±3.99
治疗后	69.23±6.64	26.54±10.76	39.46±10.48[a]	16.08±6.93	7.46±3.89

a:$P<0.01$,与治疗前比较

2.4 疗效

11 例患者接受 allo-HSCT 以及 CIK 细胞输注,其中原发肿瘤均获完全缓解,4 例移植后 2~4 个月再次复发(急性髓性白血病髓外复发 1 例,多发性骨髓瘤 2 例,慢粒急变 1 例),经供者 CIK 输注、停用免疫抑制剂后重获完全缓解 3 例,1 例未缓解,死于特发肺综合征。4 例死亡,2 例死于特发肺综合征,均为单倍型移植后原发肿瘤复发停用免疫抑制剂所致;另 2 例死于严重感染。总体中位生存时间 9(2~53)个月;7 例生存至今,生存时间 12~53 个月,除 1 例多发性骨髓瘤分子复发外,其余仍处于完全缓解。

3 讨论

难治复发性恶性血液肿瘤,多次常规放化疗不能达到完全缓解,进行挽救性 allo-HSCT 是这类疾病治疗的希望。allo-HSCT 后可发挥移植物抗肿瘤(GVL)效应,清除残留的肿瘤细胞,使部分复发难治患者长期无病存活。但 allo-HSCT 后仍然有部分患者复发,特别是具有高危因素或复发难治患者复发率可高达 40%~70%。本研究尝试在复发难治血液肿瘤患者 allo-HSCT 后给予供者 CIK 细胞分次输注,以期能清除残留病灶,降低复发率,改善患者预后。

CIK 细胞是一类 $CD3^+CD56^+$ 且有别于肿瘤杀伤细胞(NK)及细胞毒性 T 细胞(CTL)的非组织相容性抗原(MHC)限制性细胞毒性 T 细胞的新一代抗肿瘤细胞。该类细胞在体外制备和扩增后,扩增数量更高和肿瘤杀伤活性更强[4],并且可能不会产生类似供体淋巴细胞输注所导致的严重 GVHD[5-9]。文献[10]报道,CIK 细胞对白血病细胞有明显的细胞毒作用,对正常的骨髓造血干细胞无明显抑制作用;同时,CIK 细胞还可减少 allo-HSCT 方面的 GVHD,发挥 GVL 效应。在 1 个 MHC 不匹配的动物模型中发现,A20 白血病或 B 细胞淋巴瘤的小鼠模型经过供者 CIK 细胞治疗后,供者 CIK 细胞大量持续聚集在肿瘤周围,并把已成瘤的肿瘤消灭[11]。Introna 等[12]首次利用供者 CIK 细胞治疗 allo-HSCT 后复发恶性血液病患者,12 例患者中 3 例得到完全缓解,1 例部分缓解,1 例无进展,6 例进展或者死亡,观察重度 GVHD 发生率低。

目前,allo-HSCT 联合供者 CIK 治疗复发难治血液肿瘤国内外报道较少。本研究对 11 例复发难治血液病患者进行了回顾性分析,结果说明本组患者临床疗效主要来自两个方面:(1)HLA 单倍体或全相合造血干细胞移植重建恶性肿瘤患者造血和免疫功能;(2)供者 CIK 细胞输注进一步清除了残留病灶且安全可靠,为临床复杂情况的处置提供了有价值的参考。但由于供者 CIK 在国内外的临床研究开展较少以及本研究样本量较小,对其临床应用价值的评估仍需进一步行大样本量、多中心联合的前瞻性、对照的基础研究及临床应用研究。

参考文献：

[1] Yu X, Xia W, Zhang T, *et al*. Enhanced cytotoxicity of IL-24 gene-modified dendritic cells co-cultured with cytokine-induced killer cells to hepatocellular carcinoma cells[J]. Int J Hematol, 2010, 92(2): 276-282.

[2] Sun J C, Pan K, Chen M S, *et al*. Dendritic cells-mediated CTLs targeting hepatocellular carcinoma stem cells[J]. Cancer Biol Ther, 2010, 10(4): 368-375.

[3] 胡嘉升, 傅晋翔, 张宏. 自体CIK细胞辅助治疗非霍奇金淋巴瘤患者的临床观察[J]. 中国血液流变学杂志, 2007, 17(1): 61-63.

[4] Edinger M, Cao Y A, Verneris M R, *et al*. Revealing lymphoma growth and the efficacy of immune cell therapies using *in vivo* bioluminescence imaging[J]. Blood, 2003, 101(2): 640-648.

[5] Sangiolo D, Mesiano G, Carnevale-Schianca F, *et al*. Cytokine induced killer cells as adoptive immunotherapy strategy to augment graft versus tumor after hematopoietic cell transplantation[J]. Expert Opin Biol Ther, 2009, 9(7): 831-840.

[6] Linn Y C, Niam M, Chu S, *et al*. The anti-tumour activity of allogeneic cytokine-induced killer cells in patients who relapse after allogeneic transplant for haematological malignancies[J]. Bone Marrow Transplant, 2012, 47(7): 957-966.

[7] Dunn G P, Bruce A T, Ikeda H, *et al*. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape[J]. Nat Immumol, 2002, 3(11): 991-998.

[8] Rettinger E, Kuci S, Naumann I, *et al*. The cytotoxic potential of interleukin-15-stimulated cytokine-induced killer cells against leukemia cells[J]. Cytotherapy, 2012, 14(1): 91-103.

[9] Winter J, Barbin K, Bacci C, *et al*. A new bioassay for the immunocytokine L19-IL2 for simultaneous analysis of both functional moieties[J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 54(1): 81-86.

[10] 惠吴函, 徐娟, 万岁桂, 等. CIK细胞对G0期急性髓系白血病细胞的杀伤作用[J]. 首都医科大学学报, 2007, 28(5): 666-667.

[11] Nishimura R, Baker J, Beilhack A, *et al*. *In vivo* trafficking and survival of cytokine-induced killer cells resulting in minimal GVHD with retention of antitumor activity[J]. Blood, 2008, 112(6): 2563-2574.

[12] Introna M, Borleri G, Conti E, *et al*. Repeated infusions of donor-derived cytokine-induced killer cells in patients relapsing after allogeneic stem cell transplantation a phase I study[J]. Haematologica, 2007, 92(7): 952-959.

（**收稿**:2012-08-06;**修回**:2012-11-03）

（编辑　王　红）

经验交流

文章编号:1000-5404(2012)24-2452-01

56例老老年高血压危象患者的急救治疗体会

任慧琴,乔着意,王　梅,王兴志　（400020 重庆,解放军第324医院急诊科）

[**关键词**] 老老年高血压;高血压危象;急救

[**中图法分类号**] R544.1　[**文献标志码**] B

老老年高血压是近几年提出的新名词,其诊断与一般成人高血压病的诊断相同,连续3次非同日血压测定收缩压≥140 mmHg和(或)舒张压>90 mmHg患者,除外假性高血压与继发性高血压,年龄若≥80岁,则符合老老年高血压诊断[1]。高血压危象患者血压急剧升高往往>200 mmHg/120 mmHg[2],临床上具体治疗存在争议[3]。我科2005年10月至2012年6月共收治老老年高血压危象患者56例,临床救治效果满意,现将相关情况报告如下。

1　资料与方法

1.1　临床资料

回顾性选择2005年10月至2012年6月我科收治老老年高血压危象患者56例,男性32例,女性24例,年龄80~91(84.1±4.0)岁,诊断符合2005年高血压防治指南标准[4]。其中单纯性高血压39例,合并脑出血4例,合并脑梗死5例,合并心肌梗死5例,合并急性左心衰1例,合并肾功能不全1例,合并主动脉夹层1例。临床表现为头痛、头晕、胸痛、心悸、呼吸困难、烦躁、意识障碍等,少数患者临床无明显症状,仅查体时发现严重高血压。

1.2　治疗目标及方法

患者进入监护室,常规给氧、心电监护,建立静脉通道,辅以头颅CT、胸部CT、心电图、心肌酶谱等检查,治疗前后行血常规、生化8项、肝功能检查。均以静脉给药为主,静脉泵调节静滴药物速度,必要时辅以口服给药。降压目标[5]<150/90 mmHg;脑卒中、病程长的老年糖尿病、冠状动脉严重狭窄的冠心病、终末期肾脏病、双侧颈动脉严重狭窄患者,血压目标<140/90 mmHg。单纯高血压危象患者可口服卡托普利25~50 mg,或用硝普钠25 mg(避光)以150 μg/min速度静滴,或用硝酸甘油10 mg加入5%葡萄糖或0.9%生理盐水100~250 ml中静滴。合并脑出血、肾功能不全患者用乌拉地尔12.5 mg稀释后静推,继以25 mg滴注。合并脑梗死患者用尼卡地平5 mg静滴。合并急性左心衰竭、心肌梗死、肺水肿患者用硝酸甘油治疗。合并主动脉夹层患者15~30 min内将血压降至正常范围,可用硝普钠、盐酸乌拉地尔或尼卡地平。如果患者颅内压明显增高,可给予20%的甘露醇250 ml快速静脉滴注;急性左心衰患者给予西地兰0.4 mg静推;呼吸困难患者必要时行气管插管术辅助呼吸。

1.3　疗效判断标准[6]

有效:患者用药后1~2 h血压下降10%~25%,2~6 h血压降至目标血压,患者自觉症状缓解;或1~2 h血压下降<20%,但已达目标血压。无效:未达到上述标准,或患者死亡。

1.4　统计学处理

采用SPSS 18.0统计软件,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,对治疗前后白细胞、血钾、尿素氮、谷丙转氨酶、血糖差异行t检验。

（下转2455页）

[**通信作者**] 王　梅,电话:(023)68762120,E-mail:mei_wang0918@hotmail.com