

# 自体 DC - CIK 细胞治疗晚期肺癌患者前后 T 淋巴细胞亚群表面分子的表达

何剑营 续力云 陈冬冬 竺王玉 方可欣 周吉航 刘晓光 乐涵波 陈志军 吴国清 张永奎

**摘要** 目的 探讨自体 DC - CIK 细胞治疗晚期肺癌患者前后 T 淋巴细胞亚群表面分子表达情况。方法 抽取 63 例肺癌晚期患者的外周血分离获得外周血单个核细胞(PBMC),将与患者病理分类相同的肺癌细胞株经反复冻融处理获得可溶性抗原,制备肿瘤相关抗原肽负载 DC - CIK 细胞,并进行质量控制后回输。应用流式细胞术检测 DC - CIK 细胞治疗晚期肺癌患者前后 T 淋巴细胞表面 CD3<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> 细胞百分比及对比治疗前后表达情况。结果 成功获得成熟 DC 细胞,流式细胞术检测证实 DC 细胞成熟的标志分子 CD11c、CD83、CD86 及 HLA - DR 的表达均较高,分别为 51.6% ± 10.3%、50.8% ± 9.7%、48.9% ± 11.4%、61.2% ± 6.5%;成功获得 CIK 细胞,流式细胞术结果显示,CD3 + CD56 + 双阳性细胞比例占 21.3% ± 7.6%。与治疗前相比,DC - CIK 细胞治疗后 CD3<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup> (12.71 ± 1.54 vs 11.44 ± 4.13,  $P < 0.05$ )、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup> (7.48 ± 1.01 vs 5.20 ± 1.01,  $P < 0.01$ )、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> (8.27 ± 1.71 vs 6.47 ± 1.99,  $P < 0.01$ ) 表达明显升高,CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (5.38 ± 1.47 vs 6.12 ± 0.67,  $P < 0.05$ ) 表达明显降低。结论 采用自体 DC - CIK 免疫细胞治疗晚期肺癌可以明显提高患者免疫力。

**关键词** DC 细胞 CIK 细胞 肺癌 T 淋巴细胞亚群 免疫治疗

中图分类号 R734.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.03.024

**Surface Molecules Expressions on T Lymphocyte Subsets before and after Treatment with Autologous DC - CIK Cells in Patients with Advanced Lung Cancer.** He Jianying, Xu Liyun, Chen Dongdong, et al. Cell and Molecular Biology Laboratory, Zhoushan Hospital, Zhejiang 316021, China

**Abstract Objective** To investigate the surface molecules expressions on T lymphocyte subsets before and after treatment with autologous DC - CIK cells in patients with advanced lung cancer. **Methods** Peripheral blood mononuclear cells(PBMCs) were derived from 63 patients with advanced lung cancer. And the tumor soluble antigen were derived from repeatedly frozenthawed lung cancer cell line with the corresponding pathological subtype. The DC - CIK cells were induced by the tumor - associated antigen peptide in vitro, and quality of the induced cells was assured for back transfusion. CD3<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup> and CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> expressions on T lymphocyte subsets before and after treatment with autologous DC - CIK cells were analyzed by flow cytometry in advanced lung cancer patients. **Results** After 2 weeks of in vitro inducing PBMCs, mature DC cells and CIK cells were established. The expressions of CD11c, CD83, CD86 and HLA - DR, the molecular markers for DC cells maturation proved to be high expressed by flow cytometry, were 51.6% ± 10.3%, 50.8% ± 9.7%, 48.9% ± 11.4%, 61.2% ± 6.5%, respectively. And CD3 + CD56 + double positive cells were showed to be 21.3% ± 7.6% among mature CIK cells by flow cytometry. Compared with pretreatment with DC - CIK cells, CD3<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup> (12.71 ± 1.54 vs 11.44 ± 4.13,  $P < 0.05$ ), CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup> (7.48 ± 1.01 vs 5.20 ± 1.01,  $P < 0.01$ ), CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> (8.27 ± 1.71 vs 6.47 ± 1.99,  $P < 0.01$ ) expressions on T cells were significantly higher after treatment, and CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (5.38 ± 1.47 vs 6.12 ± 0.67,  $P < 0.05$ ) expression was significantly lower after treatment with DC - CIK cells.

**Conclusion** After treatment with autologous DC - CIK cells, immunity of patients with advanced lung cancer was greatly improved.

**Key words** DC cells; CIK cells; Lung cancer; T lymphocyte subsets; Immunotherapy

基金项目:浙江省重大科技专项重点社会发展项目(2012C13015 - 1, 2012C13015 - 3)

作者单位:316021 舟山医院细胞分子生物学实验室(何剑营、续力云、陈冬冬、竺王玉、方可欣、周吉航、刘晓光),胸心外科(乐涵波、陈志军、张永奎);310014 杭州,浙江省人民医院肿瘤科(吴国清)

通讯作者:张永奎,电子信箱:zhoushanzhang1@126.com

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,全球范围内肺癌发生率和病死率均居恶性肿瘤之首,严重危害人类健康和生命<sup>[1]</sup>。在目前的肺癌治疗中,传统疗法分手术、放疗和化疗等,然而,这些传统的治疗方法并不能很好的抑制肿瘤活性<sup>[2,3]</sup>。树突状细胞(dendritic cells, DC)联合细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine in-

duced killer, CIK) 细胞治疗, 是将患者外周血单个核细胞在体外分离出来, 经过特异性抗原作用及大量扩增培养, 再回输到体内, 是过继性细胞免疫治疗的首选方案<sup>[4,5]</sup>。本研究在常规治疗基础上采用自体 DC - CIK 细胞治疗晚期肺癌患者, 通过监测治疗前后患者 T 淋巴细胞亚群表面分子表达变化, 探讨 DC - CIK 细胞治疗对晚期肺癌的免疫调节作用, 为进一步提高免疫细胞治疗疗效提供依据。

### 材料与方 法

1. 患者选择及治疗前后检查: 2012 年 6 月 ~ 2014 年 6 月收治的肺癌晚期患者 63 例, 患者年龄为 43 ~ 71 岁, 平均年龄 64.6 岁。所有患者均满足年龄  $\leq 75$  岁、卡氏评分  $> 60$ 、预计生存期  $> 6$  个月。排除以下情况: 怀孕或哺乳期女性、器官衰竭者、脏器移植者、严重自身免疫系统疾病患者、不可控制的感染性疾病、对治疗中所用生物制剂过敏者、T 细胞淋巴瘤。此外, 所有患者治疗前均完成以下检查: 血常规、肝肾功能、凝血酶原时间、T 淋巴细胞亚群、肿瘤标志物、乙肝三系、丙肝抗体、艾滋抗体、梅毒抗体。治疗后均进行了安全性的评估, 评估指征包括: 发热、头晕、过敏、胸闷、乏力、贫血、白细胞计数减少、血小板计数减少、恶心或呕吐、腹泻、谷草转氨酶和谷丙转氨酶、肌酐和尿素氮。在本研究中仅见 2 例患者有发热, 1 例患者有头晕, 其余未见有上述症状。所有患者均在签署知情同意后实施治疗。此外, 笔者医院医学伦理审查委员会对患者、研究者、具体的临床实施方案、知情同意、利益冲突等方面进行了仔细审查, 审查通过后方实施治疗。

2. 主要试剂及仪器: Alys - 505 培养液购自日本株式会社细胞科学研究所, GM - CSF、IL - 4、TNF -  $\alpha$ 、IL - 2 和 IFN -  $\gamma$  购自美国 R&D 公司, 荧光素标记抗体 APC - IgG1、FITC - IgG2a、PE - IgG1、PerCP - Cy5.5 - IgG1、APC - CD83、FITC - CD11c、PE - HLA - DR、PerCP - Cy5.5 - CD86、PE - CD3/APC - CD3、APC/FITC - CD4、FITC/PE - CD8、FITC - CD56、PE - CD25、PE - CD38 及红细胞裂解液购自 BD 公司。细胞培养箱及离心机为 Thermo 公司产品, BD FACSCalibur<sup>TM</sup> 流式细胞仪为 BD 公司产品。

3. 方法: (1) 肿瘤相关抗原肽负载成熟 DC 制备: 抽取肺癌晚期患者外周血 75ml, 肝素抗凝, 取自体血浆 4℃ 保存备用。分离外周血单个核细胞, 用含 10% 自体血浆的 Alys - 505 培养液培养, 2h 后, 洗涤并收集未贴壁的细胞进行 CIK 细胞培养。保留贴壁细

胞, 加入 DC 完全培养液 (含 100ng/ml GM - CSF、10ng/ml IL - 4 及 10% 自体血浆的 Alys - 505 培养液), 置于饱和湿度、37℃、5.0% CO<sub>2</sub> 培养箱中继续培养, 第 3 天, 收集贴壁细胞, 即为未成熟 DC。将与患者病理分类相同的肺癌细胞株, 经反复冻融法, 获得可溶性抗原, 于 -20℃ 保存备用。按肿瘤细胞与 DC 比例为 3:1, 加入冻融抗原, 于培养第 6 天, 加入 TNF -  $\alpha$  (1000U/ml) 促进 DC 成熟, 第 7 天收获细胞, 即为肿瘤相关抗原肽负载的成熟 DC。(2) 肿瘤相关抗原肽负载 DC - CIK 细胞制备: 取(1)中的未贴壁细胞, 用含 1000U/ml IL - 2 和 0.5% 自体血浆的 Alys - 505 培养液培养, 同时添加 1000U/ml 的 IFN -  $\gamma$ , 置于饱和湿度、37℃、5.0% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。每 3 天调整细胞密度为  $1 \times 10^6$ /ml, 添加含 1000U/ml IL - 2 和 0.5% 自体血浆的 Alys - 505 培养液。第 7 天, 将采用肿瘤相关抗原肽负载成熟 DC 制备方法中制备出的肿瘤相关抗原肽负载的成熟 DC 与 CIK 细胞共同培养 (DC: CIK = 1: 10), 每两天补充含 0.5% 自体血浆、1000U/ml IL - 2、100ng/ml GM - CSF 的 Alys - 505 培养液, 培养 7 天后即为肿瘤相关抗原肽负载的成熟 DC - CIK 细胞。(3) 肿瘤相关抗原肽负载 DC - CIK 细胞质量控制及回输: 收集(2)中最终制备细胞, 观察是否为白色均匀悬浊液, 有无沉淀, 有无异物; 计数细胞数目是否达到  $\geq 5 \times 10^9$  个; 细胞存活率是否达到  $\geq 85\%$ ; 细菌、真菌、支原体检测是否为阴性; 细菌内毒素是否  $\leq 1$ EU/ml。检测合格后, 细胞溶于 150ml 生理盐水中, 经静脉滴注患者体内。患者于常规治疗后 1 个月静脉回输 CIK 细胞, 每个疗程分 2 次回输, 2 次回输间隔 2 天, 连续治疗 4 个疗程及以上。(4) DC 及 CIK 细胞表型检测: 取培养的肿瘤相关抗原肽负载的成熟 DC 细胞  $2 \times 10^6$  个, 重悬于 200 $\mu$ l PBS, 均分入 A、B 管, A 管添加 1 $\mu$ l 荧光素标记的同型对照抗体 (APC - IgG1、FITC - IgG2a、PE - IgG1 及 PerCP - Cy5.5 - IgG1), B 管添加 1 $\mu$ l 荧光素标记的抗人抗体 (APC - CD83、FITC - CD11c、PE - HLA - DR 及 PerCP - Cy5.5 - CD86); 取最终培养的 CIK 细胞  $4 \times 10^6$  个, 重悬于 400 $\mu$ l PBS, 均分入 a、b、c、d 管, a 管添加 1 $\mu$ l 荧光素标记的同型对照抗体 1 (PE - IgG1、FITC - IgG2a), b 管添加 1 $\mu$ l 荧光素标记的同型对照抗体 2 (FITC - IgG2a、APC - IgG1、PE - IgG1), c 管添加 1 $\mu$ l 荧光素标记的抗人抗体 (PE - CD3、FITC - CD56), d 管添加 1 $\mu$ l 荧光素标记的抗人抗体 (FITC - CD3、APC - CD4、PE - CD8)。室温避光

孵育 30min,以上各管各添加 1ml PBS,混匀,1000r/min,10min,洗 3 次,500 $\mu$ l PBS 重悬沉淀,应用 BD FACSCalibur<sup>TM</sup> 流式细胞仪进行检测及 FlowJo 软件进行数据分析。(5) 治疗前后 T 淋巴细胞亚群表面分子检测:所有患者于治疗前 1 周及自体免疫细胞治疗后 1 个月空腹抽取静脉血 2ml,于 6h 内处理。于每个流式管中分别加入 50  $\mu$ l 新鲜全血,并且分为以下几组添加相应抗体:并且分为以下几组添加相应抗体:A 组 3 个流式管分别添加 5 $\mu$ l 同型对照抗体 (APC - IgG1、PE - IgG1)、荧光素标记的抗人抗体 (APC - CD3、PE - HLA - DR) 及荧光素标记的抗人抗体 (APC - CD3、PE - CD25); B 组 2 个流式管分别添加 5 $\mu$ l 同型对照抗体 (APC - IgG1、FITC - IgG2a、PE - IgG1)、荧光素标记的抗人抗体 (APC - CD3、FITC - CD4、PE - CD25); C 组 3 个流式管分别添加 5 $\mu$ l 同型对照抗体 (APC - IgG1、FITC - IgG2a、PE - IgG1)、荧光素标记的抗人抗体 (APC - CD3、FITC - CD8、PE - HLA - DR) 及荧光素标记的抗人抗体 (APC - CD3、FITC - CD8、PE - CD38)。以上流式管

室温避光孵育 30min 后,加入 2ml 红细胞裂解液,室温孵育 10min,1200r/min 离心 5min,洗 3 次,500 $\mu$ l PBS 重悬沉淀,应用 BD FACSCalibur<sup>TM</sup> 流式细胞仪进行检测及 FlowJo 软件进行数据分析。

4. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计软件对治疗前后各项免疫指标进行分析,采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 肿瘤相关抗原肽负载 DC 及 CIK 细胞表型鉴定:外周血淋巴细胞培养平均时间为 13.39  $\pm$  1.6 天,最终培养细胞数目为 (5.2  $\pm$  0.68)  $\times$  10<sup>9</sup> 个。于培养的第 7 天,流式细胞术分析肿瘤相关抗原肽刺激的 DC 细胞表型 (DC 细胞形态见图 1A),结果显示,DC 细胞成熟的标志分子 CD11c、CD83、CD86 及 HLA - DR 的表达均较高,分别为 51.6%  $\pm$  10.3%、50.8%  $\pm$  9.7%、48.9%  $\pm$  11.4%、61.2%  $\pm$  6.5% (图 1B)。于 CIK 细胞培养的第 13 天,收获细胞,流式细胞术检测其中 CIK 细胞表面分子 CD3、CD56 的表达,结果显示,CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> 双阳性细胞比例占 21.3%  $\pm$  7.6% (图 1C、D)。

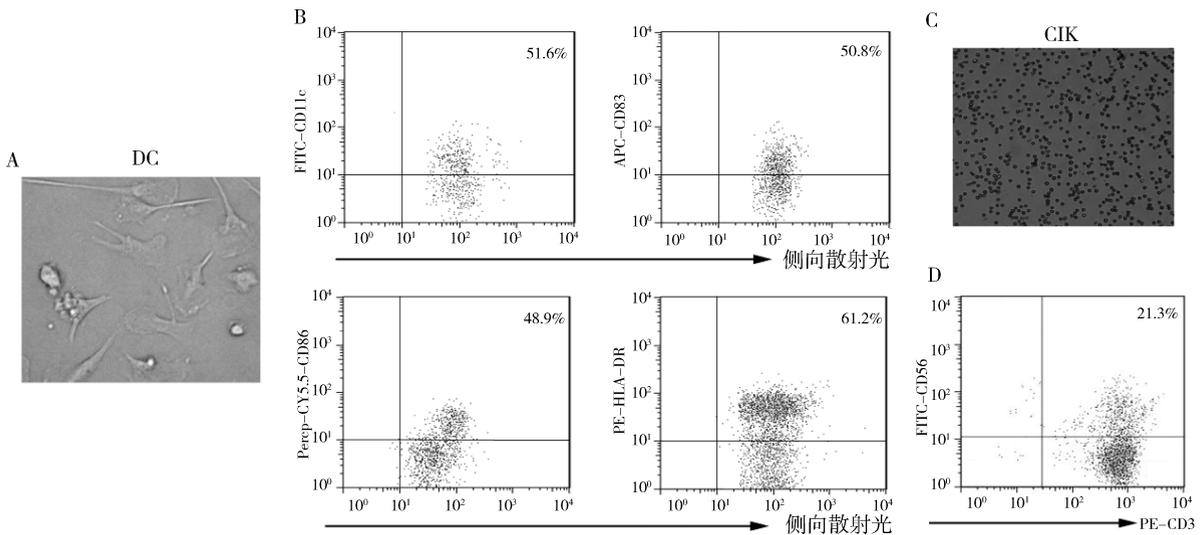


图 1 采用流式细胞术对肿瘤相关抗原肽刺激的 DC 细胞和 CIK 细胞表型分析

A. DC 细胞形态 ( $\times$ 200); B. DC 细胞成熟的标记分子 CD11c、CD83、CD86 及 HLA - DR 的表达;

C. 经台盼蓝染色的 CIK 细胞形态 ( $\times$ 50); D. CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> 双阳性细胞

2. 自体 DC - CIK 细胞治疗前后 T 淋巴细胞表面分子表达的对比:分别于治疗前 1 周及治疗后 1 个月抽取外周血,流式细胞术分别检测 CD3<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> 细胞表达,结果显示,与治疗前相比,治疗后 CD3<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup> (12.71  $\pm$

1.54 vs 11.44  $\pm$  4.13, *P* < 0.05)、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>HLA - DR<sup>+</sup> (7.48  $\pm$  1.01 vs 5.20  $\pm$  1.01, *P* < 0.01)、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> (8.27  $\pm$  1.71 vs 6.47  $\pm$  1.99, *P* < 0.01) 细胞表达明显升高,CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (5.38  $\pm$  1.47 vs 6.12  $\pm$  0.67, *P* < 0.05) 表达明显降低 (图 2 和表 1)。

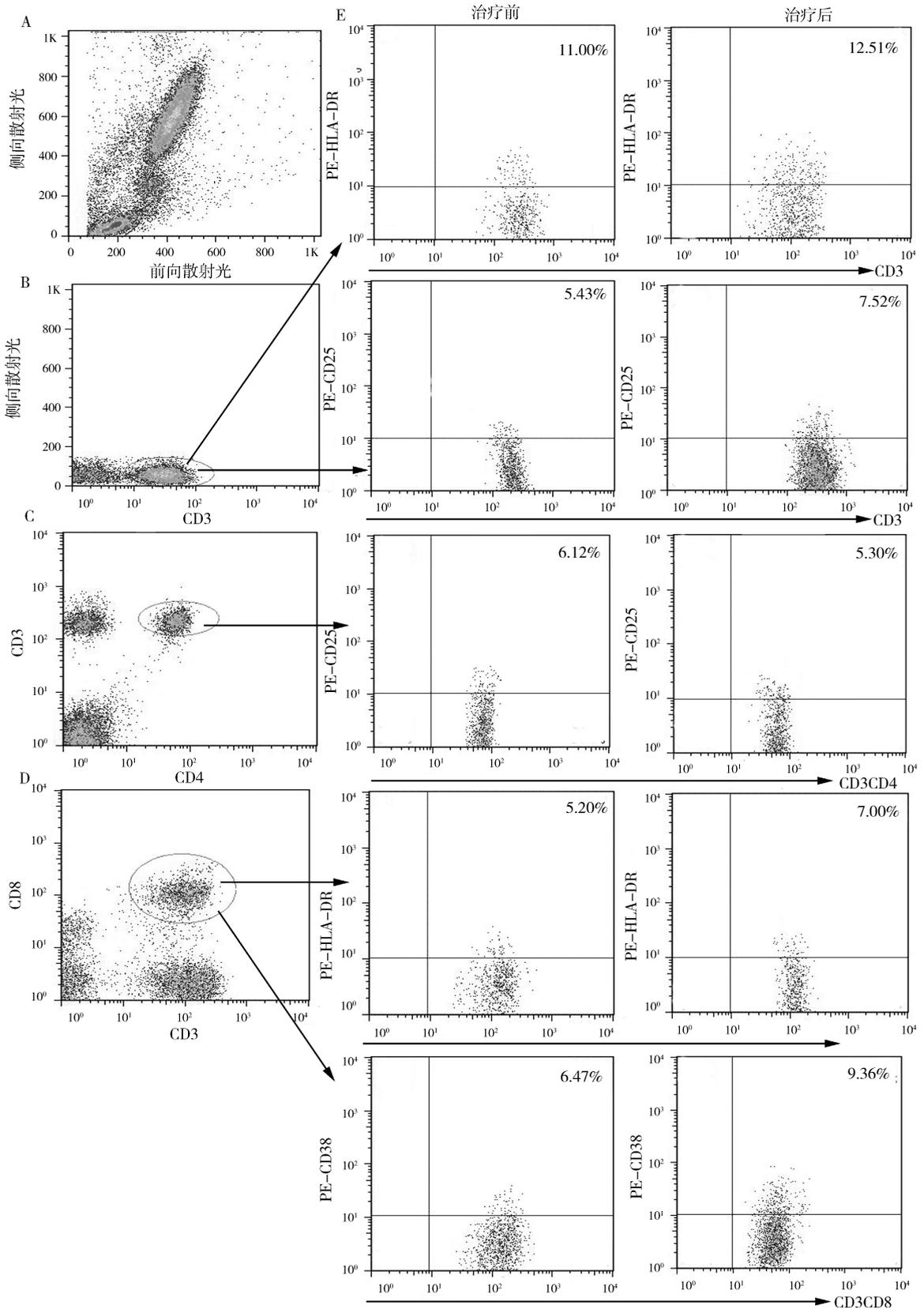


图2 自体DC-CIK细胞治疗前后T淋巴细胞表面分子表达的对比如

A. 前向散射光 × 侧向散射光分布的散点图; B. APC-CD3 (FL3) × 侧向散射光分布的散点图; C. FITC (FL1) - CD4 × APC-CD3 (FL3) 分布的散点图; D. APC-CD3 (FL3) × FITC-CD8 (FL1) 分布的散点图; E. 治疗前后T淋巴细胞表面分子的反相表达

表 1 治疗前后外周血 T 淋巴细胞表面分子表达的对比

组别	CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup>
治疗前	11.44 ± 4.13	7.70 ± 1.43	6.12 ± 0.67	5.20 ± 1.01	6.47 ± 1.99
治疗后	12.71 ± 1.54*	8.05 ± 1.76	5.38 ± 1.47**	7.48 ± 1.01**	8.27 ± 1.71**

与治疗前比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

## 讨 论

近年来,肺癌的发生率和病死率增长迅速,对人类健康和生命造成了巨大威胁。男性肺癌发生率和病死率均占有恶性肿瘤的第 1 位,女性发生率占第 2 位,病死率占第 2 位<sup>[6,7]</sup>。目前对肺癌的治疗有外科手术治疗、放疗、化疗等,然而,一经发现,往往处于晚期,失去了最佳治疗时机。寻找新的治疗手段,延长带瘤生存时间,已成为迫在眉睫的问题。

CIK 细胞是在多种细胞因子即 IL-2、IL-1、IFN- $\gamma$ 、抗 CD3 单克隆抗体等存在的条件下,应用外周血、骨髓或脐血中分离出的单个核细胞,经过一定时间培养而获得的一种具有细胞毒作用的免疫活性细胞<sup>[3,8]</sup>。1986 年, Schmidt-Wolf 等和 Lanier 等先后报道从外周血单个核细胞中诱导出 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> 细胞。此后, Ortaldo 等和 Lu 等进一步对 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> 细胞的特性和来源作了详细研究。CIK 细胞的经典诱导程序首先由 Schmidt-Wolf 等于 1991 年首先提出,它兼具有 T 淋巴细胞强大的抗肿瘤活性和 NK 细胞的非 MHC 限制性杀瘤特点。CIK 细胞具有较高的增殖能力和较强的杀伤活性,在肿瘤过继免疫治疗中起到了不可替代的作用<sup>[9-11]</sup>。目前临床无论是 DC 疫苗还是 CIK 细胞单独应用于抗肿瘤治疗,效果都不是特别理想,存在一定的欠缺。如果把负载肿瘤抗原的 DC 细胞与 CIK 细胞联合起来治疗肿瘤,二者具有一定的互补作用,用 DC 来增强 CIK 细胞的抗肿瘤应答,而用 CIK 细胞的非 MHC 限制性来弥补 DC 的 MHC 限制性的不足,利用 DC 细胞独特的抗原递呈功能以及 CIK 细胞强大的杀瘤活性,产生双重抗肿瘤效应,联合应用可取得“1 + 1 > 2”的治疗实效,达到更好的抗肿瘤效果。

恶性肿瘤的预后与免疫功能密切相关,肺癌患者外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 等免疫指标是反映细胞免疫功能的重要指标,晚期患者可出现不同程度免疫功能抑制,在外周血中表现为细胞亚群功能的异常,表现为 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 数目的减少<sup>[12]</sup>。崔洪泉等<sup>[13]</sup>报道,CIK 细胞治疗转移性肾细胞癌可以提高 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> T 细胞比例,增强患者的免疫功能。然

而,自体 DC-CIK 细胞治疗肺癌后 T 细胞亚群表面分子的表达是否改变,还未见报道。本研究结果显示晚期肺癌患者治疗后 CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> 表达明显升高,CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 表达明显降低,与治疗前相比均有统计学意义。现有研究报道证实,HLA-DR 及 CD38 分子均为 T 细胞活化的标志分子<sup>[14,15]</sup>。结合笔者的结果提示,自体 DC-CIK 细胞治疗后,患者 T 细胞表面活化分子表达上调,而免疫细胞功能的实施与细胞活化状态密切相关,HLA-DR 及 CD38 分子表达升高,利于肿瘤细胞的清除。此外,T 淋巴细胞中存在具有调节功能的 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 细胞亚群,发挥免疫抑制效应,甚至使免疫细胞功能失活<sup>[16]</sup>。现有研究报道证实,CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 细胞与肿瘤的免疫逃逸密切相关<sup>[17]</sup>。笔者的研究结果表明,自体 DC-CIK 细胞治疗后,CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 比例明显下调,提示机体免疫抑制状态得到了一定缓解,有利于肿瘤免疫环境的改善。

综上所述,自体 DC-CIK 细胞治疗可提高肺癌患者免疫细胞活化状态,缓解患者免疫抑制,提高患者免疫功能,对于防止肿瘤细胞免疫逃逸及癌细胞扩散有积极作用,提示了良好的发展前景。未来,随着多种基因修饰技术的发展,将使细胞治疗具有广阔的应用前景。

## 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90
- 2 Azzoli CG, Baker S, Temin S, et al. American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline update on chemotherapy for stage IV non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(36): 6251-6266
- 3 D'Addario G, Felip E. Non-small-cell lung cancer; ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up[J]. Ann Oncol, 2009, 20(Suppl 4): 68-70
- 4 Jäkel CE, Schmidt-Wolf IGH. An update on new adoptive immunotherapy strategies for solid tumors with cytokine-induced killer cells[J]. Expert Opin Biol Ther, 2014, 14(7): 905-916
- 5 Thanendrarajan S, Kim Y, Schmidt-Wolf I. New adoptive immunotherapy strategies for solid tumours with CIK cells[J]. Expert Opin Biol Ther, 2012, 12(5): 565-572

- 6 全国肿瘤防治研究办公室, 全国肿瘤登记中心, 卫生部疾病预防控制中心. 中国部分市、县恶性肿瘤的发病与死亡, 第3卷(1998~2002) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007, 26-164
- 7 陈万青, 张思维, 孔灵芝, 等. 中国肿瘤登记处2004年恶性肿瘤死亡资料分析[J]. 中国肿瘤, 2008, 17(11): 913-916
- 8 Cooper MA, Fehniger TA, Fuchs A, et al. NK cell and DC interactions[J]. Trends Immunol, 2004, 25(1): 47-52
- 9 Olioso P, Giancola R, Di Riti M, et al. Immunotherapy with cytokine induced killer cells in solid and hematopoietic tumours: a pilot clinical trial[J]. Hematol Oncol, 2009, 27(3): 130-139
- 10 Ma Y, Zhang Z, Tang L, et al. Cytokine-induced killer cells in the treatment of patients with solid carcinomas: a systematic review and pooled analysis[J]. Cytotherapy, 2012, 14(4): 483-493
- 11 Tao L, Huang G, Shi S, et al. Bevacizumab improves the antitumor efficacy of adoptive cytokine-induced killer cells therapy in non-small cell lung cancer models[J]. Med Oncol, 2014, 31(1): 777
- 12 张斌, 吴远杰. 中晚期肺癌患者手术前后T淋巴细胞亚群和TNF的变化及其意义[J]. 肺癌杂志, 1999, 2(2): 67-69
- 13 崔洪泉, 赵俊峰, 李保东, 等. CIK细胞免疫治疗对转移性肾细胞癌患者免疫功能的影响[J]. 中国现代医生, 2014, 52(29): 132-133
- 14 Palacios R. Mechanism of T cell activation: role and functional relationship of HLA-DR antigens and interleukins[J]. Immunol Rev, 1982, 63(1): 73-110
- 15 Deterrea P, Berthelie V, Bauvois B, et al. CD38 in T- and B-cell functions[J]. Chem Immunol, 2000, 75: 146-168
- 16 Kohm AP, McMahon JS, Podojil JR, et al. Cutting Edge: Anti-CD25 monoclonal antibody injection results in the functional inactivation, not depletion, of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T regulatory cells[J]. J Immunol, 2006, 176(6): 3301-3305
- 17 Facciabene A, Motz GT, Coukos G. T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis[J]. Cancer Res, 2012, 72(9): 2162-2171

(收稿日期:2015-07-22)

(修回日期:2015-08-20)

# 阿加曲班在危重症患者血液净化中的临床疗效分析

徐智会 张文军 代越 刘永富 王林恒 龚光远 颜晓佳 王艳

**摘要** **目的** 研究阿加曲班在危重症患者连续性血液净化治疗中的临床疗效。**方法** 将笔者医院收治的150例危重症患者随机分为普通肝素组(48例)、枸橼酸钠组(50例)和阿加曲班组(52例)。检测各组治疗前后血常规、生化指标、血流动力学指标、血凝指标及凝血程度情况,进一步观察不良反应发生情况。**结果** 各组患者治疗后血红蛋白、血小板计数及白蛋白水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但阿加曲班组血清肌酐水平较普通肝素组和枸橼酸钠组降低更明显( $P < 0.05$ )。与普通肝素组和枸橼酸钠组比较,阿加曲班组治疗后凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)及国际标准化比值(INR)显著升高,纤维蛋白原(FBG)则显著降低( $P < 0.05$ );同时阿加曲班组滤器及管路凝血程度明显降低即0级凝血明显增多,I级和II级凝血明显减少( $P < 0.05$ );3组出血评分比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 阿加曲班在危重症患者血液净化治疗过程中显示出显著的临床效果,值得临床进一步应用推广。

**关键词** 阿加曲班 血液净化 普通肝素 枸橼酸钠

**中图分类号** R5 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.03.025

**The Clinical Efficacy of Argatroban in Critically Patients with Blood Purification Treatment.** Xu Zhihui, Zhang Wenjun, Dai Yue, et al. Department of Intensive Care Unit, Qijiang People's Hospital, Chongqing 401420, China

**Abstract Objective** To study the clinical efficacy of argatroban in critically patients with continuous blood purification treatment. **Methods** A total of 150 cases critically patients in our hospital were randomly divided into common heparin group (48 cases), sodium citrate group (50 cases), argatroban group (52 cases). The routine blood test, biochemical indicators, hemodynamics, blood coagulation index level before and after treatment were measured, and the adverse effect were further observed. **Results** The hemoglobin, platelet count and albumin levels after treatment in each group had no significantly difference ( $P > 0.05$ ), but the serum creatinine levels in argatroban group were reduced more than the common heparin group and sodium citrate group ( $P < 0.05$ ). Compared with the common heparin group and sodium citrate group, the PT, APTT, TT and INR after treatment in argatroban group was significantly higher, but FBG was

基金项目:重庆市卫生与计划生育委员会医学科研计划项目(20143062)

作者单位:401420 重庆市綦江区人民医院重症医学科

通讯作者:张文军,电子邮箱:zhangwenjuncq01@163.com