

•肿瘤介入 Tumor intervention•

细胞因子诱导杀伤细胞灌注治疗原发性肝癌
临床应用

史 跃, 高从敬, 董生良, 陈复兴, 徐永茂

【摘要】 目的 探讨肝动脉细胞因子诱导杀伤细胞(CIK 细胞)灌注 + 超液化碘油栓塞治疗原发性肝癌的疗效。方法 采用超选择段性肝动脉灌注 CIK 细胞 + 超液化碘油栓塞治疗原发性肝癌及经皮肝穿刺瘤体内多点注射 CIK 细胞共 38 例(研究组);将同期采用常规剂量经肝动脉段性化疗栓塞(C-TACE)联合经皮肝瘤体内注入无水乙醇 80 例(双介入组);单纯经皮肝动脉常规剂量 C-TACE 134 例(单纯组)相比较。结果 研究组、双介入组和单纯组近期显效率分别为 76.3%、41.3%和 14.9%,研究组的 AFP 降至正常及明显下降率则显著高于双介入组和单纯组,3 组血清 AFP 变化差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 采用超选择段性肝动脉灌注 CIK 细胞+超液化碘油栓塞综合治疗原发性肝癌,可以提高患者的免疫功能、生存质量,延长带瘤生存期。

【关键词】 肝癌;细胞因子诱导的杀伤细胞;介入治疗;随访

中图分类号:R657.32 文献标识码:A 文章编号:1008-794X(2007)-04-0235-05

Cytokine-induced killer cell for interventional chemotherapy of hepatocellular carcinoma SHI Yue, GAO Cong-jing, DONG Sheng-liang, CHEN Fu-xing, XU Yong-mao. Department of Radiology, The 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, China

【Abstract】 **Objective** To evaluate the clinical effect of hepatocellular carcinoma treatment with a combination therapy of transcatheter arterial super liquefied lipiodol embolization and cytokine-induced killer cell (CIK) infusion. **Methods** There were 3 groups in this study, group 1: 38 cases of HCC patients treated with a combination therapy of transcatheter arterial super liquified lipiodol embolization and CIK infusion; group 2: 80 cases of HCC patients treated with a combination therapy of transcatheter arterial super liquefied lipiodol embolization and percutaneous intratumoral ethanol injection; group 3: 134 cases of HCC patient treated with transcatheter arterial super liquefied embolization. Finally, the outcomes of the 3 groups were compared. **Results** The short term effective rates of group 1,2 and 3 were 76.1%,41.3% and 14.9% respectively, simultaneously with significant difference of changes concerning AFP value among the three groups especially in group 1 the AFP decrease to normal level while those of the other two groups still remain in higher levels. **Conclusions** The living quality and survival rate of HCC patients could be improved by a combination therapy of transcatheter arterial super liquefied lipiodol embolization and CIK infusion. (J Intervent Radiol, 2007, 16: 235-239)

【Key words】 Hepatocellular carcinoma;Cytokine-induced killer cell;Intervention chemotherapy;Follow-up

经肝动脉途径行肝癌化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)和经皮肝穿刺瘤灶内无水乙醇注射(percutaneous ethanol injection, PEI)双重介入治疗中晚期 HCC 取得了较好疗效^[1,2]。我科 2002 年以来应用细胞因子诱导杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK 细胞)肝动脉内灌注+

超液化碘油栓塞综合介入术治疗原发性肝癌(HCC)38 例,取得了较好疗效,报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

自 2002 年 1 月 - 2005 年 1 月,我科采用肝动脉内灌注 CIK 细胞联合超液化碘油栓塞综合介入方法治疗原发性肝癌 38 例。另外将同期在我科单纯采用经皮段性肝动脉化疗栓塞(C-TACE)134 例(单纯组)、C-TACE 联合经皮肝瘤体内注射无水乙

作者单位:221004 江苏徐州解放军第九七医院放射科(史 跃、高从敬),实验科(陈复兴),肿瘤科(徐永茂);江苏宿迁中医院(董生良)
通讯作者:史 跃

醇(PEI)80 例(双介入组)治疗 HCC 作为比较组。全部病例均经超声、CT、数字化血管造影以及经皮肝穿刺细胞学检查证实(表 1)。符合“中国常见恶性肿瘤诊治规范”中 HCC 的诊断标准。

1.2 方法

CIK 细胞培养^[3]:抽患者静脉血 200 ml 置于含血液保存液 II 一次性使用塑料血袋中(生产商:上海输血技术有限公司,生产许可证号:沪药管械生产许 2000466 号),分离出单个核细胞(单个核细胞数为 $0.5 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$),经生理盐水洗涤后,用 RPMI-1640 完全培养液(含 INF- γ 2×10^6 U/L)配成 5×10^8 /L 的细胞悬液于 75 cm² 培养瓶中,置 37℃、5% CO₂ 孵箱中培养 24 h。然后加入抗 CD3 mAb 和 rhIL-2 至 1 mg/L 和 5×10^4 U/L,置 37℃、5%CO₂ 孵箱中培养。一次培养需培养液 800 ~ 2 000 ml。收集培养第 7 天的 CIK 细胞经细菌和真菌培养阴性后,用无菌生理盐水洗 3 次,将细胞悬浮于自身血浆中,加入 5×10^4 U rhIL-2,配制成 120 ml 的细胞悬液备用。

全部病例于西门子公司 Siregraph CF 800 mA 数字化血管造影机器下,采用 Seldinger 改良法行肝动脉插管造影(以 7 ml/s 注入 75%泛影葡胺 20 ml),以 4 帧/s 采集速率连续采集至肿瘤血管不再染色。造影后各组分别采用下列介入技术治疗。

1.2.1 研究组 经导管超选择段性灌注 CIK 细胞后用超液化碘油栓塞(CIK 细胞 + C-TACE)38 例。

1.2.2 双介入组 应用常规剂量化疗药物经导管选择阶超液化碘化油 C-TACE+PEI 80 例,然后于超声引导下经皮肝穿刺注射无水乙醇(每周 1 次,共 3 次多点式注射,用量为 5 ~ 35 ml)。

1.2.3 单纯组 经导管 C-TACE 常规剂量肝动脉化疗和超液化碘油栓塞 134 例。C-TACE 一般间隔 4 周进行 1 次。

C-TACE + PEI 在 C-TACE 后 5 ~ 7 d 行 PEI 治疗,2 次/周,连续 4 ~ 6 次,每次用量依据肿瘤体积大小,尽量采取多点注射。C-TACE 经段性肝动脉灌注 5-Fu + ADM + MMC + DDP/HCPT 后,用超液化

碘油 10 ~ 20 ml 栓塞。研究组分别于灌注前 7 d 和 1 d 各抽静脉血 1 次,每次 200 ml,经 7 d 培养,培养的细胞数 $1.3 \times 10^9 \sim 1.5 \times 10^9$,抽静脉血培养在 4 ~ 6 次;CIK 细胞 + C-TACE 经导管超选择阶段性肝动脉灌注 120 ml 静脉血制备的 CIK 细胞后用 10 ~ 20 ml 超液化碘油栓塞,5 ~ 7 d 后将 CIK 细胞悬液浓缩成 10 ~ 15 ml,在 B 超引导下经皮肝穿刺瘤体内多点注射,2 次/周,连续 4 ~ 6 次;4 周后行小剂量 C-TACE + PEI 术。观察治疗前后肿瘤大小、甲胎蛋白(AFP)及 T 细胞亚群的变化。

3 组 HCC 例数及其临床一般资料见表 1。对 HCC 并发症的介入治疗采用以下 2 种方式:①明胶海绵颗粒栓塞用于 HCC 合并肝内动-静脉瘘(AVS)的患者;栓塞后的肿瘤血管走行基本正常,AVS 消失。②经导管注入明胶海绵颗粒部分脾动脉栓塞术,用于 HCC 合并脾功能亢进患者。

1.3 疗效评定

疗效评定主要依据术后 CT 或(和)MRI 检查所见。按国内外适用化疗近期疗效评定标准^[4],肿瘤完全消失为完全缓解(CR),缩小 50%以上为部分缓解(PR),缩小不及 25%或无变化为未缓解(NC),进展为(PD)。

1.4 统计学方法

治疗前后 T 细胞亚群变化各组数据以平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$);肿块改变及血清 AFP 变化组间比较采用 χ^2 检验;肿瘤坏死程度的组间比较用 Fisher 精确概率法检验。

2 结果

2.1 HCC 病灶介入疗效及 T 细胞亚群变化

2.1.1 疗效评估 研究组 38 例,CR 5 例,PR 24 例,NC 9 例,PD 0 例,CR + PR = 29 例,近期显效率为 76.3%。双介入组 80 例,CR 3 例,PR 30 例,NC 16 例,PD 31 例,CR + PR = 33 例,近期显效率为 41.3%。单纯组 134 例,CR 1 例,PR 19 例,NC 38 例,PD 76 例,CR + PR = 20 例,近期显效率为 14.9%。研究组和双介入组的显效率均显著高于单

表 1 HCC 患者一般临床资料

分组(n)	肿瘤分型				Okuda分期			肿瘤供血	
	小瘤型*	弥漫型	多结节型	巨块型	I	II	III	富血	少血
单纯组(134)	5	23	59	47	2	106	26	115	19
双介入组(80)	6	11	15	48	14	48	18	78	2
研究组(38)	5	1	9	23	8	13	7	37	1

* 小瘤型:单枚肿块<5 cm 或 2 枚肿块直径之和<5 cm

单纯组,而研究组显效率又显著高于双介入组。

2.1.2 T 细胞亚群变化 单纯组及双介入组治疗后,CD3 较前升高显著 ($P < 0.05$), 而 CD4 升高、

CD8 下降明显。研究组治疗后除 CD3 较治疗前显著升高 ($P < 0.01$) 外,CD4 亦显著升高 ($P < 0.05$), 此外 CD8 下降明显 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 3 种介入技术治疗后的 T 细胞亚群变化 ($\bar{x} \pm s$)

分组(n)	CD3	CD4	CD8	CD4/CD8
单纯组				
治疗前(134)	0.50 ± 0.05	0.32 ± 0.05	0.32 ± 0.03	0.94 ± 0.57
治疗后(134)	0.62 ± 0.07*	0.36 ± 0.06	0.28 ± 0.04*	1.20 ± 0.65
双介入组				
治疗前(80)	0.52 ± 0.05	0.31 ± 0.05	0.32 ± 0.04	0.96 ± 0.56
治疗后(80)	0.68 ± 0.07*	0.39 ± 0.06	0.28 ± 0.04	1.42 ± 0.45
研究组				
治疗前(38)	0.51 ± 0.05	0.31 ± 0.05	0.32 ± 0.04	0.96 ± 0.54
治疗后(38)	0.74 ± 0.05**	0.42 ± 0.06*	0.27 ± 0.04*	1.75 ± 0.35

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 比治疗前

2.2 3 组血清 AFP 变化

研究组中 AFP 降至正常者 16 例, 占 42.1% (16/38); 明显下降者 18 例, 占 47.4% (18/38)。双介入组中 AFP 降至正常 11 例, 占 13.8% (11/80); 明显下降者 27 例, 占 33.8% (27/80)。而单纯组中 AFP 降至正常者 8 例, 占 6.0% (8/134); 明显下降者 34

例, 占 25.4% (34/134)。双介入组 AFP 降至正常及明显下降率高于单纯组, 但差异无统计学意义; 研究组 AFP 降至正常及明显下降率则显著高于单纯组和双介入组。3 种技术治疗后, 肝内肿块大小、血清 AFP 变化、手术切除率和随访 1 ~ 3 年生存率等见表 3、4。

表 3 3 种介入技术后近期疗效比较

分组(n)	影像学显示肿块大小改变				RR(%)	P 值	血清 AFP 变化				P 值
	CR	PR	NC	PD			降至正常	下降	无变化	增高	
单纯组(134)	1	19	38	76	20/134(19.4)		8	34	31	61	
双介入组(80)	3	30	16	31	33/80(41.3)	< 0.01*	11	21	27	20	< 0.05*
研究组(38)	5	24	9	0	29/38(76.3)	< 0.01**	16	18	2	2	< 0.01**

* 为双介入组与单纯组比较 ** 为研究组与双介入组比较

表 4 3 种介入技术治疗后生存率比较

组别(n)	生存率							
	6个月		1年		2年		≥3年	
	n	%	n	%	n	%	n	%
单纯组(134)	63	47	15	11.2	0	0	0	0
双介入组(80)	62	77.5	36	45	4	5	1	1.25
研究组(38)	38	100	32	84.21	9	23.68	3	7.89

2.3 HCC 各种并发症及其治疗

2.3.1 3 种方法治疗后患者均出现化疗、栓塞综合征 表现为恶心、呕吐、发热及肝区疼痛, PEI 后表现为持续性肝区隐痛并伴有面部潮红等轻度乙醇中毒症状, 尤其是多点 PEI 后; 经对症治疗 3 ~ 5 d, 症状消失。

2.3.2 动静脉瘘(AVS)变化 AVS 在灌注前应用明胶海绵进行瘘口封堵 AVS 消失后, 再行肝动脉内灌

注、栓塞(图 1、2)。

2.3.3 脾脏改变 65 例 HCC 合并脾功能亢进患者, 经导管注入明胶海绵颗粒行部分脾动脉栓塞后, 全部病例脾脏于近期内进行性缩小, 白细胞和血小板半年内维持在正常范围者分别占 90.7% (59/65) 和 95.4% (62/65)。

3 种治疗方法显示肿块大小的影像学改变及近期疗效见表 3, 远期疗效见表 4。

3 讨论

3.1 肝动脉灌注 CIK 细胞的临床意义

生物治疗正在成为肿瘤治疗的一种重要手段, 其中过继免疫治疗是临床应用较多的一种方法。CIK 细胞 + C-TACE, 可以通过直接的靶向肿瘤细胞进行杀伤或诱导其凋亡, 其分泌的细胞因子也可以增强机体受化疗影响的免疫功能; 超液化碘化油

栓塞可以充分堵塞肿瘤血管床,还可以达到肝动脉和门静脉的双重栓塞。瘤体内注射 CIK 细胞,可以使肿瘤局部的 CIK 细胞数量显著提高,进一步杀灭 C-TACE 与 PEI 治疗后残余的癌细胞(图 3~8)。超选择节段性肝动脉灌注 CIK 细胞外加 B 超引导下瘤体内注入 CIK 细胞,可使肿瘤局部的 CIK 细胞总数提高,CIK 是患者外周血单个核细胞体外经过多种细胞因子共同诱导而获得的一群以 CD3⁺ CD8⁺ CTL 和 CD8⁺ CD56⁺ 为主的异体细胞群^[3],CIK 细胞中

还兼具 T 淋巴细胞强大的抗肿瘤活性和 NK 非 MHC 限制性杀瘤细胞,且体外增生能力强,是一类广谱杀瘤活性和杀瘤活性更强的一类新型抗肿瘤效应细胞^[5],细胞总数大于 5×10^9 才具有治疗作用;与小剂量 C-TACE + PEI 术联合应用时,一般应在 C-TACE + PEI 术 2 周后抽血培养,这样既可以避免化疗后细胞不易生长,又可避免回注的细胞受化疗药物的损害。

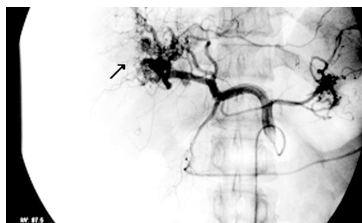


图 1 栓塞前肝门区肝癌,造影显示 AVS 或肝动脉-门静脉瘘(APS)(↗)



图 2 栓塞后灌注前应用 1 mm × 1 mm × 1 mm 的明胶海绵进行封堵,AVS 门区巨块型肝癌瘘消失(↗)



图 3 治疗前 CT 检查发现肝

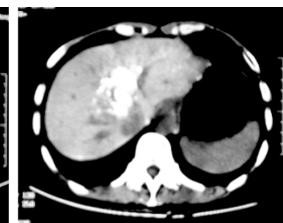


图 4 治疗后 CT 显示超液化碘油在瘤体内的弥散沉积



图 5 治疗前肝脏右叶肿块为 7.17 cm × 7.65 cm



图 6 治疗后肝动脉内灌注 CIK 细胞+超液化碘油 20 ml 栓塞介入治疗四个疗程,原肿块变成条索状瘢痕组织充填,并向肝内凹陷,综合评价为 CR,已存活 2.5 年



图 7 治疗前肝右前叶肿块为 12.0 cm × 11.0 cm,肝右叶及肝左叶见多个肿块影,最小 1.0 cm

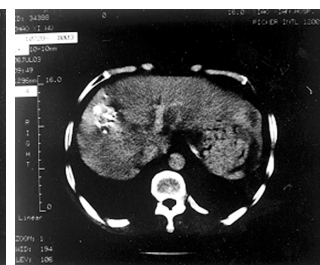


图 8 治疗后肝动脉内灌注 CIK 细胞+超液化碘油 30 ml 栓塞介入治疗 3 个疗程,半年后肿块变为条索状瘢痕样,并向肝内收缩,综合评价为 CR,已存活 3 年

3.2 药物及剂量

有学者主张 TACE 中使用小剂量的化疗药物,甚至不加化疗药物的单纯治疗 HCC 亦可取得良好的疗效,TACE 疗效栓塞主要是通过化疗栓塞作用使肿瘤细胞大量坏死,而未坏死的肿瘤细胞发生凋亡,亦达到抗肿瘤的目的^[6]。在 C-TACE 基础上,应用无水乙醇在超声引导下经皮肝穿刺瘤体内多点注射,以及超选择节段性肝动脉灌注 CIK 细胞联合超液化碘油栓塞,可增加肿瘤细胞坏死程度并提高疗效。所用化疗药物及剂量为常规剂量:顺铂 60~80 mg 或 CBP 100~300 mg,表柔比星 40~60 mg 或 EPI 40~80 mg,MMC 10~20 mg,5-Fu 1 000 mg 等,通常采用 3 种以上药物联合应用。小剂量化疗药物及剂量:MMC 2~8 mg,表柔比星 10~20 mg,卡铂(CBP)80~100 mg 等^[6],并根据肿瘤大小酌情增减。肝动脉灌注与栓塞治疗肝癌后引起一系

列并发症,化学性刺激与栓塞引起肝脏损害,并发胆囊炎、胆管狭窄等^[7,8]。应用超选择节段性肝动脉灌注 CIK 细胞联合超液化碘油栓塞术以及小剂量化疗药物 C-TACE + PEI 术治疗 HCC 与常规剂量介入治疗相比,可减少不良反应。我们采用超选择节段性肝动脉灌注 CIK 细胞联合超液化碘油栓塞术以及小剂量化疗药物 C-TACE + PEI 术后,在超声引导下,经皮肝穿刺肿瘤内多点注射 CIK 细胞 38 例,结果显示血清 AFP 与常规剂量组差异有统计学意义($P < 0.01$)。

本研究上述 3 种治疗技术的疗效经处理差异有统计学意义($P < 0.01$),双介入组优于单纯组,而研究组又明显优于双介入组,可明显提高 HCC 患者的存活时间,研究组生存率也明显提高。因此,对中晚期 HCC 应进行综合治疗。尤其是采用介入性 CIK 细胞过继免疫综合治疗术,可以弥补单一疗法

的不足,增强了抗癌效果,有助于提高疗效。不仅可以提高患者的免疫功能、生存质量,而且可以延长生存期。

[参 考 文 献]

- [1] 侯鲁强,朱世平,王建平,等. 中晚期肝癌的综合介入治疗[J]. 介入放射学杂志, 2002, 11: 106 - 107.
- [2] 于永江,范 荣,王丽英,等. 亚段性经导管动脉化疗栓塞术治疗中晚期肝癌的临床研究[J]. 介入放射学杂志, 2002, 5: 348 - 350.
- [3] 陈复兴,刘军权,张南征,等. 自身细胞因子诱导的杀伤细胞过继性免疫治疗恶性肿瘤的临床观察[J]. 癌症, 2002, 21: 797 - 801.
- [4] 徐燮渊,俞受程,曾逸闻,等. 肿瘤综合治疗学[M]. 北京:人民军医出版社, 2001: 571.
- [5] Lowdell, MW, Lafmb L, Hoyle C, et al. Non-MHC-restricted cytotoxic cells: Their roles in the control and treatment of leukaenias [J]. Br J Haem, 2001, 114: 11 - 24.
- [6] 卢 伟,李彦豪,陈 勇,等. 小剂量和常规剂量化疗药物经导管动脉内化疗栓塞后肝癌细胞坏死及凋亡的比较研究 [J]. 中华放射学杂志, 2003, 37: 232 - 236.
- [7] 王茂强,唐文捷,林汉英,等. 经导管肝动脉化疗栓塞术后胆管损伤的临床意义[J]. 介入放射学杂志, 2005, 5: 493 - 497.
- [8] Tarazov PG, Polysalov VN, Prozorovskij KV, et al. Ischemic complications of transcatheter arterial chemoembolization in liver malignancies[J]. Acta Radiol, 2000, 41: 156 - 160.

(收稿日期:2005-11-21)

·消 息·

第十四届全国临床医学影像学术会议 暨医学影像学及介入放射学新进展继续教育学习班征文通知

第十四届全国临床医学影像学术会议暨医学影像学及介入放射学新进展继续教育学习班拟定于 2007 年 10 月在深圳市举办。届时将邀请国内著名专家前来讲学。征文通知如下:

征文内容:

1. 医学影像学诊断:普通 X 线、CT、MRI、DR、CR、PET、ECT、超声、短篇报道、病例讨论;
2. 介入放射学;
3. 影像的传输和存储管理系统;
4. 医学影像学诊断设备的改良、维修、管理的经验和总结 and 介绍。

征文要求:

1. 论文全文 2500 字以内,需附 500~800 字的摘要。
2. 请附单位介绍信,写清作者单位、详细通讯地址及邮编,录用与否均不退稿。
3. 已在全国公开发行人物上发表的论文不再采用。
4. 请在信封上注明“会议征文”寄至:沈阳市和平区三好街 36 号《中国临床医学影像杂志》编辑部 王丽萍。

邮政编码:110004

电话(传真):024-23925069

E-mail:jccmisy2005@yahoo.com.cn

截稿日期:2007 年 7 月底

会议形式:会议将以专家讲座、专家答疑、专家报告、继续教育项目为主,同时进行优秀论文交流。会议将根据听课及考试情况颁发国家级继续医学教育学分证书(医学影像学及介入放射学新进展继续教育课程 10 学分)

《中国临床医学影像杂志》编辑部