

· 临床研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.04.012

PHA-CD3AK 细胞的制备及其对恶性肿瘤的疗效

郝建峰^{1a}, 夏禾爱^{1b}, 田敏^{1a}, 全红艳^{1c}, 张秀敏² (1. 陕西省友谊医院 a. 肿瘤生物治疗实验室, b. 检验科, c. 肿瘤科, 陕西 西安 710068; 2. 第四军医大学基础医学部病理学与病理生理学教研室, 陕西 西安 710032)

[摘要] 目的: 探讨植物血凝素(PHA)、抗 CD3 单克隆抗体(anti-CD3McAb)和 rhIL-2 共同诱导的 PHA-CD3AK(PHA-CD3McAb actinated killer cell)细胞的临床应用质量控制, 及其对恶性肿瘤的疗效。方法: 选取陕西省友谊医院肿瘤生物诊疗科 53 例中晚期肿瘤患者(宫颈癌 9 例, 肺癌 6 例, 肾癌 6 例, 非霍奇金淋巴瘤 5 例, 肝癌 5 例, 胃癌 7 例, 食道癌 5 例, 恶性黑色素瘤 5 例, 直肠癌 5 例), 分离患者外周血单个核细胞, 加入 PHA、anti-CD3McAb、rhIL-2 体外诱导制备自体 PHA-CD3AK 细胞。质量控制检测细胞数量和活细胞比例、细胞毒活性、内毒素和感染源, 流式细胞术检测免疫表型。将检测合格的自体 PHA-CD3AK 细胞静脉回输至患者体内, 每 2 d 回输 1 次, 每疗程 6 次, 共 2 个疗程, 观察治疗效果和不良反应。结果: 制备的 PHA-CD3AK 细胞符合预期免疫活性细胞质控的各项要求。治疗后患者外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞和 CD16⁺56⁺ 细胞(NK 细胞)比例分别为 (49.36 ± 9.21)%、(34.85 ± 4.35)%、(29.20 ± 5.12)% 和 (21.15 ± 6.50)%, 较治疗前均显著升高(均 $P < 0.05$)。大部分患者治疗后全身症状明显改善(43/53), 其中完全缓解 6 例、部分缓解 14 例、微效 10 例、稳定 14 例、进展 9 例, 总有效率达 56.6%, 临床受益率达 83.0%。所有患者治疗后相关化验指标均未出现异常变化, 也未出现明显的全身毒性反应。结论: PHA-CD3AK 细胞制剂质量控制指标切实可行, 其对恶性肿瘤的疗效确切, 并能有效提高患者的免疫功能。

[关键词] PHA-CD3AK 细胞; 恶性肿瘤; 过继免疫治疗; 质量控制

[中图分类号] R392-33

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2010)04-0424-05

Preparation of PHA-CD3AK cells and their therapeutic effect against malignant tumor

HAO Jian-feng^{1a}, XIA He-ai^{1b}, TIAN Min^{1a}, QUAN Hong-yan^{1c}, ZHANG Xiu-min² (1. a. Tumor Biotherapy Laboratory; b. Department of Clinical Laboratory; c. Tumor Department, Friendship Hospital of Shaanxi Province, Xi'an 710068, Shaanxi, China; 2. Department of Pathology and Pathophysiology, School of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the clinical quality control of PHA-CD3AK cells induced by PHA, anti-CD3 monoclonal antibody and rhIL-2, and their therapeutic effects against malignant tumors. **Methods:** Fifty-three patients with advanced malignant tumor were from Friendship Hospital of Shaanxi Province. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were obtained and induced to differentiate into autologous PHA-CD3AK cells by PHA, anti-CD3mAb and rhIL-2. Quality control indices including quantity, viability, cytotoxicity, endotoxin contaminant and infection source of PHA-CD3AK cells were examined, and the immunophenotypes were studied by flow cytometry. The qualified autologous PHA-CD3AK cells were gathered and infused back to the tumor patients intravenously, once every 2 days; each episode included 6 times, with a total of 2 courses. Therapeutic effects and adverse reactions were observed, and the effective and clinical beneficial rates were calculated. **Results:** The prepared PHA-CD3AK cells met the quality standard of the expected immune activated cells. The ratios of CD3⁺T, CD4⁺T, CD8⁺T and CD16⁺CD56⁺ cells in the peripheral blood were (49.36 ± 9.21)%, (34.85 ± 4.35)%, (29.20 ± 5.12)% and (21.15 ± 6.50)% respectively after treatment with autologous PHA-CD3AK cells, which were significantly higher than those before treatment (all $P < 0.05$). The general

[基金项目] 陕西省自然科学基金资助项目(No. 2007C260)。Project supported by the Natural Science Foundation of Shaanxi Province (No. 2007C260)

[作者简介] 郝建峰(1969-), 男, 陕西省白水人, 硕士, 副主任检验师, 主要从事肿瘤生物治疗基础和临床应用研究

[通信作者] 郝建峰(HAO Jian-feng, corresponding author), E-mail: jfhao69hot@163.com

symptoms of most patients were obviously improved (43/53), with 6 cases reaching CR, 14 cases reaching PR, 10 cases reaching MR, 14 cases reaching SD, 9 cases reaching progression; the total effective rate was 56.6%, and the clinical beneficial rate was 83.0%. There were no abnormal changes of the related chemical indices or toxicity reaction. **Conclusion:** Our quality control method for prepared PHA-CD3AK cells is feasible, and they have definite therapeutic effects against malignant tumor and can efficiently improve the immune function of tumor patients.

[**Key words**] PHA-CD3McAb activated killer cell (PHA-CD3AK); malignant tumor; adoptive immunotherapy; quality control

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(4): 424-428]

从机体内在的免疫系统出发,调整和激发机体的抗肿瘤反应所诞生的肿瘤生物治疗技术是目前的研究热点^[1-5],被称为肿瘤治疗的第四种治疗模式。抗 CD3 单抗活化的杀伤细胞(CD3McAb activated killer cell, CD3AK)过继免疫治疗是继 LAK、CIK 细胞之后肿瘤生物治疗新方法^[6-11]。PHA-CD3AK 细胞较 CD3AK 细胞具有更强的扩增能力和杀伤活性,临床应用效果应更好,但至今仍缺乏大量临床观察病例。本课题探讨以植物血凝素(PHA)、抗 CD3 单克隆抗体(anti-CD3McAb)和基因重组人白细胞介素 2(rhIL-2)共同诱导制备 PHA-CD3AK 细胞的临床应用质量控制,并总结我院 3 年来采用 PHA-CD3AK 细胞过继免疫治疗恶性肿瘤的效果。

1 材料与方 法

1.1 病例资料

2006 年 5 月至 2009 年 5 月对我院肿瘤科 53 例中晚期恶性肿瘤患者采用 PHA-CD3AK 细胞过继免疫治疗,其中男 23 例、女 30 例,年龄 33~80 岁,平均(62.50±12.50)岁。所有患者自愿接受本方案治疗并签署《患者知情同意书》,上报医院免疫细胞治疗技术临床应用与伦理委员会同意,并获陕西省卫生厅审批同意(陕卫医 2005 年 73 号文)。所有病例均经病理或细胞学检查确诊,临床分期 II-IV 期。其中宫颈癌 9 例,肾癌 6 例,非霍奇金淋巴瘤 5 例,肝癌 5 例,肺癌 6 例,胃癌 7 例,食道癌 5 例,恶性黑素瘤 5 例,肠癌 5 例。接受本治疗前,放疗或化疗结束至少 2 周,排除伴严重心、肺、肝、肾功能不全患者,检测细胞免疫功能状况(T 细胞亚群),询问过敏史。

1.2 主要实验材料

AIMV 无血清培养基为美国 Invitrogen 公司产品, rhIL-2 为上海华新生物高科技有限公司产品。抗 CD3 单抗为武汉生物制品研究所提供,淋巴细胞分离液来源于中科院天津血研所。K562 细胞为第四军医大学教学实验中心惠赠。T 细胞亚群试剂盒为军科院邦定生物医学公司产品, PHA 为上海伊华

医学科技有限公司生产。新生小牛血清为杭州四季青生物制品公司产品。

1.3 PHA-CD3AK 细胞的制备

取患者自体外周血 50~80 ml,淋巴细胞分离液密度梯度离心分离出单个核细胞,用无菌生理盐水洗涤 2~3 次,调整细胞密度至 1×10^6 /ml,悬浮于含 PHA(100 μ g/ml)的无血清培养液中,置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养,2 d 后添加含 CD3McAb 0.05 μ g/ml、rh IL-2 300 U/ml 的无血清培养液继续培养,每 2 d 观察并半量换培养液。第 5、7、9 天分别取样显微镜下计数,观察增殖速率;第 10~12 天取样做细胞计数、细胞毒活性体外检测、活细胞比率测定、微生物培养,质控检验合格后收获细胞,洗涤制备成细胞悬液用于治疗。

1.4 PHA-CD3AK 细胞的质量控制

采用以下五方面指标对细胞制剂进行质量控制:(1)细胞数量质控;(2)细胞存活率质控;(3)细胞纯度与均一性质控,检测细胞的免疫表型是否符合 PHA-CD3AK 细胞的表型特征;(4)细胞的生物学功能质控,主要是细胞毒活性;(5)无致热源、感染源质控,主要是内毒素检测、微生物培养和类同输血前化验检查。每批次质控检测报告及记录妥善保存至少 15 年;每次治疗均留样,保存至少 3 个月。

1.5 LDH 释放法检测细胞毒活性

LDH 释放法测定细胞杀伤活性。以 K562 细胞为靶细胞,用含 5% 胎牛血清的 RPMI 1640 完全培养液将细胞密度调整为 5×10^4 /ml,以培养第 10~12 天时的 PHA-CD3AK 细胞为效应细胞,用无血清培养液将细胞密度调至 4×10^6 /ml,效靶比为 80:1,要求此效靶比时的杀伤率 >50%。

1.6 微生物培养

每间隔 3 d 取样进行微生物培养,要求必须为阴性;如果出现阳性立即终止该批培养,重新制备细胞。治疗前 48 h 再取样进行细菌、霉菌等微生物检验,并保存报告单。临用前取培养上清用丫啶橙或革兰染色追加一次污染检测。

1.7 观察细胞增殖倍数和活细胞得率

经 10~12 d 培养后, PHA-CD3AK 细胞数量增幅应在 100~1 000 倍以上, PHA-CD3AK 细胞总数应达 10⁹ 数量级。应用锥虫蓝拒染法检测活细胞比例应超过 95%。

1.8 流式细胞术检测细胞表型

应用人 T 细胞亚群检测试剂盒和流式细胞术检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD16⁺ CD56⁺ T 细胞比例, 要求符合 PHA-CD3AK 细胞的免疫表型特征。

1.9 治疗方案

参照卫生部“人体细胞治疗研究和制剂质量控制技术指导原则”中关于细胞过继性免疫治疗的规范制定治疗方案。每 2 d 回输 PHA-CD3AK 细胞 1 次, 6 次为一疗程, 每例患者治疗 2 个疗程, 每次回输细胞数不低于 1 × 10⁹, 每疗程回输细胞总数大于 6 × 10⁹。收集微生物培养阴性、质控检测合格的 PHA-CD3AK 细胞, 用无菌生理盐水洗 1~2 次后混悬于含 2% 白蛋白的 250 ml 生理盐水中, 加入 rhIL-2 50 万 U, 用输血器静脉回输, 2 h 内输完。输前留取 2 ml 细胞制剂留样冻存。

1.10 疗效观察指标和评定标准

疗效观察指标有如下几项: (1) T 细胞亚群测定, 比较治疗前后患者 T 细胞亚群的变化; (2) 影像学指标, 治疗前及治疗后 CT 检查, 复查对比评价疗效; (3) 血常规、生化及相关肿瘤标志物的化验检查对比; (4) 生活质量及不良反应观察, 观察治疗前后患者食欲、睡眠、精神状况, 有无毒性反应、过敏反应及局部刺激反应。

目前还缺乏针对过继性免疫细胞治疗的疗效评定标准。本课题参照 WHO 制定的肿瘤缓解评定标准来评定细胞过继免疫治疗的疗效: 完全缓解 (complete remission, CR), 指瘤体完全消失维持 4 周以上, 或胸腹水完全消失持续 1 个月以上; 部分缓解 (partial remission, PR), 指肿瘤原发灶及转移灶最大直径之和减少 50% 以上, 并持续 4 周或胸腹水基本消失; 微效 (minimal remission, MR), 指瘤体最大直径之和缩小 25%~50%; 稳定 (stable disease, SD), 指瘤体大小相对稳定 (±25%) 或胸腹水减少不足 50% 维持 1 个月以上; 进展 (progressive disease, PD), 指瘤体增大 25% 以上或胸腹水无减少或有增加。

有效率 (%) = [(CR + PR + MR) / 治疗总人数] × 100%, 临床受益率 (%) = [(CR + PR + MR + SD) / 治疗总人数] × 100%。

1.11 统计学处理

应用 SPSS 10.0 软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用

配对 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PHA-CD3AK 细胞的形态

培养至第 4 天, 细胞呈集落样聚集生长, 同时可见呈圆形、条梭状等不规则形状的散在细胞, 细胞表面有数量不一的突起, 胞体增大。培养到第 10 天, 细胞呈均匀密集生长, 体积明显增大, 约为正常淋巴细胞的 2 倍, 80%~90% 为圆形, 少量呈梭状和不规则形细胞 (图 1)。



图 1 倒置显微镜下第 4 天 (A) 和第 10 天 (B) PHA-CD3AK 细胞的形态 (×800)

Fig. 1 Morphology of PHA-CD3AK cells cultivated for 4 (A) and 10 d (B) under inverted microscope (×800)

2.2 PHA-CD3AK 细胞制剂的质控结果

质控检测结果显示, PHA-CD3AK 细胞制剂应用时达 1 × 10⁹ 数量级, 活细胞比例 > 95%; 免疫表型检测符合以 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞为主的异质细胞群。微生物培养阴性, 内毒素检验阴性, 培养上清肝炎、梅毒、HIV 抗体检测均阴性。LDH 释放法检测显示, 当 E:T 为 80:1 时, PHA-CD3AK 细胞的细胞毒杀伤率 > 50%。

2.3 PHA-CD3AK 细胞治疗肿瘤的疗效

53 例恶性肿瘤 (其中实体瘤 48 例, 淋巴瘤 5 例) 经 2 个疗程治疗后, 完全缓解 6 例, 部分缓解 14 例, 微效 10 例, 稳定 14 例, 进展 9 例, 总有效率达 56.6%, 临床受益率达 83.0% (表 1)。本组患者中有 6 例肺癌患者, 总有效率为 50.0%, 临床受益率为 83.3%。其中病例甲右肺上叶中心型肺癌, 采用放疗联合 PHA-CD3AK 细胞治疗后, 瘤体积缩小达 80% 以上 (图 2)。另一同期单纯放疗患者为左肺上叶纵膈旁型肺癌, 经放疗后瘤体体积缩小 20%~30% (图 2)。

2.4 治疗前后肿瘤患者免疫指标的变化

结果显示, 治疗后肿瘤患者细胞免疫功能明显改善, CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD16⁺ CD56⁺ 较治疗前明显提高, 其中 CD3⁺、CD8⁺ 与治疗前比较差异显著, 有统计学意义 (*P* < 0.05)。

表 1 PHA-CD3AK 细胞治疗 53 例恶性肿瘤的疗效
Tab. 1 Efficacy of PHA-CD3AK cells in treatment of 53 malignant tumor patients

Cancer	Case	CR (n)	PR (n)	MR (n)	SD (n)	PD (n)	CR + PR + MR (%)	CR + PR + MR + SD (%)
Cervix carcinoma	9	1	2	2	3	1	55.6	88.9
Renal cell carcinoma	6	0	2	2	1	1	66.7	83.3
Non-Hodgkin's lymphoma	5	3	1	0	1	0	80.0	100.0
Hepatic carcinoma	5	1	2	0	1	1	60.0	80.0
Lung carcinoma	6	0	2	1	2	1	50.0	83.3
Gastric carcinoma	7	0	1	1	3	2	28.5	71.4
Esophagus carcinoma	5	0	1	1	1	2	40.0	60.0
Malignant melanoma	5	1	2	1	1	0	80.0	100.0
Rectum carcinoma	5	0	1	2	1	1	60.0	80.0
Total	53	6	14	10	14	9	56.6	83.0

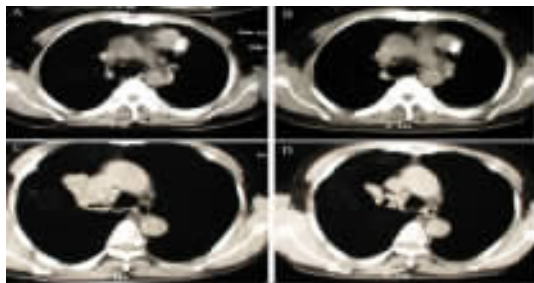


图 2 放疗联合 PHA-CD3AK 细胞治疗肺癌的 CT 结果
Fig. 2 CT images of lung cancer treated with radiotherapy combined with PHA-CD3AK cell therapy

A: Left upper of lobe mediastinum lung cancer before therapy; B: After radiotherapy of A; C: Right upper lobe central lung cancer before therapy; D: After radiotherapy combined with PHA-CD3AK cell therapy of C

2.5 肿瘤患者的生存质量及治疗的不良反应

53 例受治患者中,有 1 例 73 岁女性肺癌患者因属高敏体质,出现胸闷、气短、血压增高等反应,首疗程完成 2 次治疗后终止治疗。其余患者中,51 例患者均顺利完成 2 个疗程,另 1 例 3 年期间已完成 5 个疗程的治疗。

43 例患者治疗后全身症状明显改善,主要表现在面色好转,食欲增加,体力增强,睡眠改善,疼痛减轻,精神好转,免疫功能改善,抗感染能力增强,患者自我感觉良好。10 例患者全身状况改善不明显。

治疗患者中仅 2 例患者在回输当晚出现中度发热,体温 38.5 °C,给予口服消炎痛 25 mg,约 2 h 后缓解。所有患者治疗后各项化验指标(血常规、肝

肾功、血糖、尿酸、电解质等)均未出现异常变化,也未出现其他全身毒性反应。

表 2 PHA-CD3AK 细胞治疗前后 T 细胞亚群的变化 (n = 53, $\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Changes of T cell subsets before and after treatment with PHA-CD3AK cells (n = 53, $\bar{x} \pm s$)

T cell subset	Pre-therapy	Post-therapy
CD3 ⁺	37.64 ± 7.53	49.36 ± 9.21 ^{**}
CD4 ⁺	25.62 ± 4.42	29.85 ± 4.35 [*]
CD8 ⁺	18.55 ± 4.32	29.20 ± 5.12 ^{**}
CD16 ⁺ CD56 ⁺	15.33 ± 4.52	21.15 ± 6.50 [*]

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs pre-therapy

3 讨论

细胞过继免疫治疗是近年来日趋活跃的肿瘤生物治疗方法,目前主要用在术后治疗、进一步抑制复发和转移,以及用于放化疗的辅助治疗,以提高放化疗的耐受力、帮助恢复和增强患者的免疫功能、提高生存质量、延长生存期^[12-16]。PHA-CD3AK 细胞具有抗癌谱宽、来源丰富、扩增能力和杀伤活性更强等特点,更适合临床应用。本研究采用患者自体 PHA-CD3AK 细胞对 53 例恶性肿瘤患者进行细胞过继免疫治疗,有效率为 56.6%,临床获益率为 83.0%,高于 CD3AK 细胞治疗的报道^[11];患者治疗后外周血 T 细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 细胞 以及 CD16⁺

CD56⁺(NK细胞)比例均显著升高;多数患者症状减轻、病情稳定,取得了满意效果。

临床实践中体会到,采用细胞过继免疫治疗想要取得预期的效果,首先要选择杀伤活性高、抗瘤谱广、扩增能力强、易于制备的效应细胞。本研究在 anti-CD3McAb 诱导活化之前先用 T 细胞丝裂原 PHA 对患者自体 PBMC 进行刺激活化,这样可显著增加 CD3AK 细胞的增殖活化率。其次要有一套严格的质量控制体系。细胞免疫治疗的质量控制应该是一个全程的质量控制,包括制备过程的质量控制和细胞制剂的质量控制。本观察研究中初步建立了较为可行的 PHA-CD3AK 细胞制备方法和质量控制指标;第三是选择合适的患者和治疗时机。PHA-CD3AK 细胞适合于肿瘤负荷较小和免疫功能未完全丧失的患者,如中晚期肿瘤术后或放化疗稳定期的患者,杀伤残余瘤组织和瘤细胞,帮助抑制复发和转移;要与其他治疗手段紧密结合,不失时机地进行治疗。

PHA-CD3AK 细胞抗肿瘤的机制,普遍认为其释放多种细胞因子,如 IL-2、IFN、TNF 等对肿瘤细胞进行间接杀伤;同时,CD3AK 细胞能释放颗粒酶蛋白、穿孔素等细胞毒性物质,使肿瘤细胞坏死或者诱导肿瘤细胞凋亡^[18-19]。本课题实验中也发现,K562 细胞被 PHA-CD3AK 细胞攻击后有凋亡和溶解坏死并存的现象。

限于条件,本研究观察的病例数较少,开展多中心大规模的随机对照研究将会得出更客观准确的结论。PHA-CD3AK 细胞过继免疫治疗在抑制肿瘤生长、改善患者免疫功能方面都已初露曙光。2009年3月,T细胞免疫治疗技术已被纳入国家卫生部公布的首批允许进入临床的19项第三类临床医疗技术之一,预示着这一治疗技术将会迎来更加规范的全面发展。

[参 考 文 献]

[1] Berry LJ, Moeller M, Darcy PK. Adoptive immunotherapy for cancer: The next generation of gene-engineered immune cells [J]. *Tissue Antigens*, 2009, 74(4): 277-289.

[2] Hudis CA. Trastuzumab-mechanism of action and use in clinical practice [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(1): 39-51.

[3] Cheson BD, Leonard JP. Monoclonal antibody therapy for B-cell Non-Hodgkin's lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(6): 613-626.

[4] Schmidt-Wolf IG, Finke S, Trojanek B, Denkena A, Lefterova P, Schwella N. Phase I clinical study applying autologous immunological effector cells transfected with the interleukin-2 gene in patients with metastatic renal cancer, colorectal cancer and lym-

phoma [J]. *Br J Cancer*, 1999, 81(6): 1009-1016.

[5] 叶 子, 师建国, 张希国. CD3AK 细胞的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2006, 14(8): 1030-1033.

[6] 孙英勋, 程绍辉, 于 鸣. CD3AK 细胞过继免疫治疗的实验研究 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2005, 21(2): 218-221.

[7] Hongeng S, Petvises S, Worapongpaiboon S, Rerkamnuaychoke B, Pakakasama S, Jootar S. Generation of CD3⁺ CD56⁺ cytokine-induced killer cells and their *in vitro* cytotoxicity against pediatric cancer [J]. *Int J Hematol*, 2003, 77(2): 175-179.

[8] QI YC, Wang YD, Zhang XM. Preparation and bioactivity assay of CD3AK cell from umbilical cord blood: Clinic report of 10 tumor cases [J]. *Chinese-German J Clin Oncol*, 2002, 1(3): 172-174.

[9] Chang AE, Li Q, Jing G. Phase II trial of autologous tumor vaccination anti-CD3 activated vaccine primed lymphocytes, and interleukine-2 in stage IV renal cell cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(5): 884-887.

[10] 祁岩超, 王得周, 杨 波, 卢敏莹. 脐血 CD3AK 细胞的制备、生物活性测定及临床应用初探 [J]. *肿瘤防治研究*, 2004, 31(7): 381-383.

[11] 祁岩超, 李 铮, 田 培, 陈汉奎. 脐血 CD3AK 细胞输注对肿瘤患者 PBMC 的 NK 活性影响 [J]. *肿瘤防治研究*, 2001, 28(1): 36.

[12] 施玲燕, 刘继斌, 刘小玲, 徐 鸣. CIK 细胞实验研究及治疗肿瘤的临床疗效观察 [J]. *肿瘤基础与临床*, 2009, 22(2): 141-143.

[13] 魏 彪, 蒋文军, 唐小兰. 自体 CIK 细胞免疫疗法治疗中晚期非小细胞肺癌的临床研究 [J]. *成都医学院学报*, 2008, 3(3): 196-198.

[14] Marten A, Renoth S, Von Lilienfeld-Toal M, Buttgerit P, Schakowski F, Schmidt-Wolf IG. Enhanced lytic activity of cytokine-induced killer cells against multiple myeloma cells after co-culture with idiotype-pulsed dendritic cells [J]. *Haematologica*, 2001, 86(10): 1029-1037.

[15] Lu PH, Negrin RS. Cellular immunotherapy following autologous hematopoietic progenitor cell transplantation [J]. *Biol Blood Marrow transplant*, 1997, 3(3): 113-121.

[16] Leemhuis T, Wells S, Scheffold C, Edinger M, Negrin RS. A phase I trial of autologous cytokine-induced killer cells for the treatment of relapsed Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphoma [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(3): 181-187.

[17] 胡 伟, 梁 婧, 孙殿水, 刘海荣, 刘晓琳, 李 岩. 自体 CD3AK 细胞治疗晚期恶性肿瘤的近期疗效 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2008, 15(2): 155-158.

[18] Savas B, Kerr PE, Ustun H. Lymphokine-activated killer cell susceptibility and multidrug resistance in small cell lung carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 1998, 18(6A): 4355-4361.

[19] Anderson PM, Blazar BR, Bach FH. Anti-CD3⁺ IL-2- stimulated murine killer cells. *In vitro* generation and *in vivo* antitumor activity [J]. *J Immunol*, 1989, 142(4): 1383-1394.

[收稿日期] 2010-04-20

[修回日期] 2010-05-16

[本文编辑] 韩 丹