

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.01.029

DC-CIK 细胞输注对急性白血病患者血清 IL-6 及 TNF- α 水平的影响 *

倪渐凤¹ 岳冬丽² 刘 源¹ 关红梅¹ 马志俊²

(1 南阳市第二人民医院 河南 南阳 473021; 2 郑州大学第一附属医院 河南 郑州 450003)

摘要 目的:探讨 DC-CIK 细胞输注对急性白血病患者血清 IL-6、TNF- α 及血清微量蛋白水平影响研究及临床疗效。**方法:**选取前来我院就诊的已确诊的处于 CR 期的急性白血病患者 68 例,按照随机分配法分为对照组和治疗组,每组 34 例。对照组采用 DA 化疗方案进行巩固治疗;治疗组在对照组基础上给予 DC-CIK 细胞输注治疗。观察记录治疗前后两组患者血清 IL-6、TNF- α 、VEGF、IL-12、LDH、IFN- γ 水平的变化,对两组患者临床疗效及 5 年后生存率情况进行系统比较。**结果:**治疗组在总有效率及 5 年生存率方面优于对照组($P < 0.05$);治疗后两组患者血清 IL-6、TNF- α 、VEGF、LDH 水平均降低,血清 IL-12、IFN- γ 水平升高($P < 0.05$);治疗后,治疗组患者血清 IL-6、TNF- α 、VEGF、LDH 水平低于对照组,血清 IL-12、IFN- γ 水平高于对照组($P < 0.05$)。**结论:**DC-CIK 细胞输注疗法的运用能有效提高急性白血病患者治疗疗效,推测其机制与血清 IL-6、TNF- α 、VEGF、LDH 水平的降低,及血清 IL-12、IFN- γ 水平的升高有关。

关键词:急性白血病;DC-CIK 细胞输注;IL-6;TNF- α ;VEGF

中图分类号:R737.71 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2017)01-115-04

Effects of DC-CIK Cells on the Levels of Serum IL-6, TNF- α and Serum Trace Protein in Patients with Acute Leukemia*

NI Jian-feng¹, YUE Dong-li², LIU Yuan¹, GUAN Hong-mei¹, MA Zhi-jun²

(1 Department of Hematology and oncology, Nanyang Second People's Hospital, Nanyang, Henan, 473021, China;

2 Department of oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450003, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of DC-CIK cells infusion on the levels of serum IL-6, TNF- α and serum trace protein in patients with acute leukemia and clinical efficacy. **Methods:** 68 cases with acute leukemia in CR who were treated in our hospital were selected and randomly divided into experiment group and control group, with 34 cases in each group. The patients in the control group were treated with DA chemotherapy regimen to consolidate treatment; and the patients in the experiment group were treated with DC-CIK cells infusion treatment on the base of the control group. The serum IL-6, TNF- α , VEGF, IL-12, LDH, IFN- γ levels of the two groups before and after treatment were observed, and the clinical efficacy and 5 years survival rate was detected and compared between two groups. **Results:** The total effective rate and the 5-year survival rate of the experiment group were better than that of the control group ($P < 0.05$). After treatment, the serum IL-6, TNF- α , VEGF and LDH levels of the two groups were decreased, and the serum IL-12, IFN- γ levels were increased ($P < 0.05$). After treatment, the serum IL-6, TNF- α , VEGF and LDH levels of the experiment group were lower than those of the control group, and the serum IL-12 and IFN- γ levels were higher than those of the control group ($P < 0.05$). **Conclusions:** DC-CIK cells infusion in the treatment of patients with acute leukemia can effectively improve the success rate of the treatment, and the mechanism might be related with reduction of the serum IL-6, TNF- α , VEGF and LDH levels, and increase of the serum IL-12 and IFN- γ levels.

Key words: Acute leukemia; DC- CIK cells infusion; IL-6; TNF- α ; VEGF

Chinese Library Classification (CLC): R737.71 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)01-115-04

前言

急性白血病是又称血癌,是一种由造血干细胞的恶性克隆性增殖所引起的恶性肿瘤^[1]。其早期发病常伴有感染、高热,出血贫血以及细胞浸润的发生,随着病情进一步发展,患者可伴有骨关节疼痛、活动障碍、肝脾及淋巴结肿大、意识障碍、癫痫的出现^[2]。流行病学调查显示,急性白血病是临床较为常见的恶

性肿瘤之一,近年来受环境的恶化、空气质量下降、电离辐射增高、食品安全性下降等因素的影响,急性白血病的发病率呈上升趋势^[3]。据统计,目前急性白血病占恶性肿瘤发病率的第六位,严重威胁人类身体健康与生命安全^[4]。急性白血病的治疗一般是通过放疗、化疗、造血干细胞移植等手段来实现的,其中化疗是目前国内外针对急性白血病临床治疗的首选疗法,使急性白血病得到完全缓解^[5]。DA 方案是治疗急性白血病的标准化

* 基金项目:河南省科技攻关计划项目(971200208)

作者姓名:倪渐凤(1985-),女,硕士研究生,住院医师,研究方向:血液肿瘤,电话:15203777499

(收稿日期:2016-08-07 接受日期:2016-08-25)

疗方案,对急性白血病患者诱导缓解及缓解后巩固治疗意义重大,疗效确切^[6]。然而,化疗的应用对完全缓解状态下处于休眠期的肿瘤细胞作用并不明显,同时其自身的毒副作用也加大了后期治疗难度^[7]。DK-CIK 细胞输注疗法的应用能有效提高治疗效率,延长患者生存期,同时对减少治疗过程中所产生的毒副作用,遏制白血病复发,清除化疗后残留的微小病变等效果显著^[8],降低机体耐药性,提高治疗疗效^[9]。本实验通过观察治疗前后急性白血病患者血清 IL-6、TNF- α 、VEGF 水平变化,探讨 DK-CIK 细胞输注对急性白血病的疗效及机制。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本研究共收集筛选我院 2009 年 9 月~2011 年 5 月期间收治的诊断为 CR 期的急性淋巴细胞白血病患者 68 例为本次研究对象,预计生存期 3 个月以上。其中男性患者 42 例,女性 26 例,平均年龄(51.93 $\pm$ 3.98)岁。将所有患者进行随机分配,两组患者人数相同,各 34 例,对照组平均年龄为(51.77 $\pm$ 4.12)岁;治疗组平均年龄(52.24 $\pm$ 3.69)岁,2 组患者平均年龄、性别、病程进展等临床资料选择无偏倚性($P>0.05$)。所有对象自主签署知情同意书,无强制性参与的发生。本次研究获得批准,并在市伦理委员会的追踪监督下完成。

1.2 纳入标准

① 所有研究对象符合急性白血病诊断标准,根据自身病情接受过诱导缓解化疗,且取得完全缓解(CR);② 年龄范围在 15~63 岁之间,预计生存期不少于 3 个月;③ 所有患者均符合化学疗法治疗指导标准;④ 患者具有正常肝肾功能。

1.3 排除标准

① 排除患有心肺功能异常、肝肾功能损伤等病史的患者,患者无合并性消化道疾病。② 排除意识障碍明显的患者、排除合并患有其他恶性肿瘤患者;③ 妊娠期及哺乳期患者、无法配合治疗、无依从性患者不纳入本次试验。④ 排除对本研究使用的药物具有过敏史。

1.4 治疗方法

所有患者均接受过急性白血病诱导缓解治疗,并处于完全缓解期。两组患者同时进行缓解后巩固治疗,对照组:每个周期第 1~3 日给予患者注射用盐酸柔红霉素(Actavis Italy S.p.A.,

注册证号 H20100552)40 mg/m²·d 静脉滴注,1 次/d;同时配合注射用阿糖胞苷(Actavis Italy S.p.A.,注册证号 H20100594)180 mg/m²·d 静脉滴注,1 次/d 进行化疗,21 日为一个疗程,连续治疗 4 个疗程后,评估患者治疗情况;治疗组:在对照组基础上,给予患者 DC-CIK 细胞输注治疗,每疗程第一天进行回输,21 日为一个疗程患者,观察患者 4 个疗程后临床状况。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 观察记录两组患者治疗前后血清 IL-6、TNF- α 、VEGF 水平及临床症状的改变 通过酶联免疫吸附法(ELISA)测定患者治疗前后血清 IL-6、TNF- α 、VEGF 水平;观察记录患者临床症状的变化。

1.5.2 观察记录患者 IL-12、LDH、IFN- γ 水平的变化 通过酶联免疫吸附法(ELISA)测定测定患者治疗前后血清 IL-12、LDH、IFN- γ 水平,对患者进行随访,记录到 2016 年 5 月患者的生存率。

1.6 疗效评价标准

治愈:患者急性白血病典型临床症状完全消失,可进行正常生活,血常规、骨髓象均符合标准无异常;显效:患者急性白血病临床症状明显缓解,血常规基本正常,骨髓原粒细胞 I 型和 II 型含量在 5%~20%之间;有效:患者骨髓原粒细胞 I 型和 II 型含量在 5%~20%之间,急性白血病临床症状或血常规其中有一项不达标;无效:骨髓原粒细胞 I 型和 II 型含量超过 20%,患者临床症状无改善或加重,血常规无明显变化。总有效率=(治愈患者数+显效患者数+有效患者数)/本组患者例数。注:所有患者五年后进行回访,记录其生存率及复发情况。

1.7 统计学分析

所有统计数据均统一整理,采用 SPSS17.0 软件包进行分析,符合正态性的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差表示,予以 t 检验,计数资料采用百分率(%)表示,予以卡方检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效的比较

治疗后,对照组患者总有效率 55.88%,显著低于治疗组 73.53%,差异具有统计学意义($P<0.05$)表 1。

表 1 两组临床疗效比较[例(%)]

Table 1 Comparison of the clinical curative effect between two groups[n(%)]

Groups	n	Cure	Excellence	Effective	Invalid	Total effective rate
Control group	34	5(14.71)	10(29.41)	4(11.76)	15(44.12)	19(55.88)
Experiment group	34	8(26.47)	11(38.24)	6(17.65)	9(26.47)	25(73.53)*

Note: Compared with the control group, * $P<0.05$.

2.2 两组患者治疗前后血清 IL-6、TNF- α 、VEGF 水平的对比

治疗后两组患者血清 IL-6、TNF- α 、VEGF 水平较治疗前明显下降($P<0.05$);治疗组患者血清 IL-6、TNF- α 、VEGF 水平低与对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)(表 2)。

2.3 两组患者血清 IL-12、LDH、IFN- γ 水平的比较

治疗后,两组患者血清 IL-12、IFN- γ 水平均明显升高,LDH

水平降低,与治疗前相比,差异均具有统计学意义($P<0.05$);对照组患者血清 IL-12、IFN- γ 水平低于治疗组,LDH 水平高于治疗组,差异具有统计学意义($P<0.05$)(表 3)。

2.4 两组患者治疗后生存率对比

对照组生存率明显较低,两组缓和生存期生存率比较差异具有统计学意义($P<0.05$)(表 4)。

表 2 两组患者治疗前后血清 IL-6, TNF- α , VEGF 水平的比较Table 2 Comparison of the IL-6, TNF- α and VEGF levels between two groups

Groups		IL-6(pg/mL)	TNF- α (ng/mL)	VEGF(ng/L)
Control group(n=34)	Before treatment	48.83 $\pm$ 17.51	2.34 $\pm$ 0.21	742.65 $\pm$ 149.94
	After treatment	32.04 $\pm$ 12.72*	1.05 $\pm$ 0.12*	412.62 $\pm$ 125.87*
Experiment group(n=34)	Before treatment	46.34 $\pm$ 18.73	2.27 $\pm$ 0.38	739.87 $\pm$ 143.39
	After treatment	25.68 $\pm$ 11.59*#	0.97 $\pm$ 0.11*#	379.61 $\pm$ 113.53*#

Note: Compared with before treatment , *P<0.05. Compared with the control group, #P<0.05.

表 3 两组患者治疗前后血清 IL-12, LDH, IFN- γ 水平的比较Table 3 Comparison of the IL-12, LDH and IFN- γ levels between two groups

Groups		IL-12(mg/mL)	LDH(U/L)	IFN- γ (mg/mL)
Control group(n=34)	Before treatment	18.83 $\pm$ 7.51	542.64 $\pm$ 303.21	24.02 $\pm$ 9.14
	After treatment	26.04 $\pm$ 7.72*	227.05 $\pm$ 182.62*	30.55 $\pm$ 11.34*
Experiment group(n=34)	Before treatment	16.34 $\pm$ 8.73	545.57 $\pm$ 311.48	25.93 $\pm$ 8.18
	After treatment	35.68 $\pm$ 11.59*#	183.97 $\pm$ 79.61*#	37.86 $\pm$ 12.42*#

Note: Compared with before treatment , *P<0.05. Compared with the control group, #P<0.05.

表 4 两组患者治疗后五年内生存率对比[例(%)]

Table 4 Comparison of the survival rate between two groups[n(%)]

Groups	n	1 year	2 years	3 years	4 years	5 years
Control group	34	30(88.24)	23(67.65)	17(50.00)	14(41.76)	12(35.29)
Experiment group	34	33(97.06)	28(82.35)	24(70.59)	22(64.27)	18(52.94)*

Note: Compared with the control group, *P<0.05.

3 讨论

有研究证明^[10],受环境恶化、电辐射增高、空气质量下降、饮食结构失衡、老龄化全面到来等因素的影响近年来急性白血病的发病率及死亡率持续增高。发病急、病程进展迅速、复发率高等特点加大了急性白血病的治疗难度,加速患者病情发展。现代统计学显示^[11],化疗是一种应用广泛急性白血病治疗方案,对于各种类型的急性白血病患者疗效较突出。DA 是急性白血病化疗方案标准用药,对于患者诱导缓解及缓解后治疗均具有较好的治疗作用,然而,DA 方案药物的使用,对于缓解后急性白血病的较小疾病的清除并不彻底,同时可增加癌细胞耐药性的发生率,提高复发几率,影响临床治疗^[12]。细胞靶向治疗的出现为临床缓解后急性白血细胞的治疗提供了重要思路。白血病的发生使机体免疫功能下降,不能有效清除发生异常的造血细胞。树突状细胞(DC)可以特异性识别白血病细胞,向杀伤细胞(CIK 细胞)传递信息,提高其对白血病细胞的杀伤力,降低消灭白血病细胞活性,阻止其异常增生。临床研究证明^[13],DC-CIK 细胞输注在灭杀白血病细胞、降低白血病细胞耐药性的发生、提高治疗效率、保障治疗安全性等方面起着关键性作用。有研究显示,DC-CIK 细胞输注的应用,能有效提高对白血病细胞的杀伤力,增强治疗力度,减少治疗时间,使治疗效率与安全性得到保障。我们研究显示,治疗后,对照组相比,治疗组临床总有效率较高,5年后患者生存率较高,证实 DC-CIK 细胞输注对急性白血病的治疗疗效好、安全性高。

研究表明^[14],人体内血管内皮生长因子(VEGF)的水平与

骨髓原始细胞数量呈正相关,为急性白血病病程进展的评估提供重要依据,其主要作用是促进新生血管的正常生长,直接参与肿瘤血管的生成。VEGF 的减少能有效抑制肿瘤细胞的生长和转移,而 IL-6 可通过促进 VEGF 的生成从而加速急性白血病细胞的增殖^[15]。有研究显示,TNF- α 参与体内抗肿瘤抗病毒免疫反应,其浓度变化与白血病细胞浓度呈正相关。本研究证实,患者 IL-6、TNF- α 、VEGF 水平与治疗前相比有了明显的降低(P<0.05)。证实 DC-CIK 细胞输注能有效治疗处于缓解后的急性白血病并对其残余较小白血病有良好的消除作用,能延长急性白血病患者生存期。

临床研究证实,IL-12、IFN- γ 作为 Th1 类细胞因子的主要成分,可参与机体关于抗肿瘤抗病毒等免疫调节。有关研究表明,IFN- γ 具有较强的抗病毒抗增生作用,对 NK 细胞及中性粒细胞的杀伤活性具有明显的促进作用,与白血病的发生密切相关^[16]。而 IL-12 对白血病细胞的灭活作用主要通过促进 IFN- γ 的分泌来实现^[17]。LDH 是一种广泛存在于细胞质内的参与糖酵解过程的代谢酶,白血病细胞的大量增殖导致大量细胞破损,从而引起血液中 LDH 的升高^[18]。本次研究通过监测 IL-12、LDH 及 IFN- γ 水平的变化情况,对急性白血病患者的病情变化进行评估与预测。我们研究显示,治疗后,治疗组患者的血清 IL-12、IFN- γ 水平明显高于对照组,LDH 水平低于对照组,证实 DC-CIK 细胞输注的应用,对改善病情,抑制急性白血病的发展,延长患者生存时间有积极的作用。

综上所述,DC-CIK 细胞输注的应用,能降低急性白血病的复发率,彻底清除微小白血病,缓解临床症状,提高疗效,有较

高的临床推广价值。

参考文献(References)

- [1] Harris J, Freireich E J. In vitro growth of myeloid colonies from bone marrow of patients with acute leukemia in remission[J]. Blood, 2016, 35(1): 61-63
- [2] Martelli M F, Di Ianni M, Ruggeri L, et al. HLA-haploidentical transplantation with regulatory and conventional T-cell adoptive immunotherapy prevents acute leukemia relapse [J]. Blood, 2014, 124(4): 638-644
- [3] McPHEDRAN P, Heath C W. Acute leukemia occurring during chronic lymphocytic leukemia[J]. Blood, 2016, 35(1): 7-11
- [4] Trimarchi T, Bilal E, Ntziachristos P, et al. Genome-wide mapping and characterization of Notch-regulated long noncoding RNAs in acute leukemia[J]. Cell, 2014, 158(3): 593-606
- [5] Cheng Zhen, LAN Zhao, Chen Guanghua. Imatinib, combined with chemotherapy or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of adult Ph chromosome positive acute lymphoblastic leukemia: a clinical study [J]. The blood journal, 2014, 35 (2): 114-119
- [6] Tian Donghua, Gan Silin, Xing Haizhou, et al. The clinical efficacy of IA regimen and DA regimen in the treatment of elderly patients with acute myeloid leukemia in remission induction [J]. Journal of the Chinese Journal of Experimental Hematology, 2014, 22 (05): 1282-1285
- [7] Ye water conservancy. The toxic effect and mechanism of tumor chemotherapy drugs on blood system [J]. China medicine guide, 2014, 21(33): 258-258
- [8] Chang Cheng, Yang Bo, Zhang Lin, et al. The curative effect of 2 cases of elderly patients with acute myeloid leukemia treated by the combination of [J]. Cell line and autologous CIK cells. Journal of Chinese Journal of Experimental Hematology, 2013, 21 (01): 62-67
- [9] Micol J B, Duployez N, Boissel N, et al. Frequent ASXL2 mutations in acute myeloid leukemia patients with t (8; 21)/RUNX1-RUNX1T1 chromosomal translocations[J]. Blood, 2014, 124(9): 1445-1449
- [10] Jabbour E, Dayer N, Champlin R, et al. Allogeneic stem cell transplantation as initial salvage for patients with acute myeloid leukemia refractory to high-dose cytarabine-based induction chemotherapy[J]. American journal of hematology, 2014, 89(4): 395-398
- [11] Lo-Coco F, Hasan S K. Understanding the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia [J]. Best Practice & Research Clinical Haematology, 2014, 27(1): 3-9
- [12] Dombret H, Preudhomme C, Berthon C, et al. A phase 1 study of the BET-bromodomain inhibitor OTX015 in patients with advanced acute leukemia[J]. Blood, 2014, 124(21): 117-117
- [13] Weisberg E, Nonami A, Chen Z, et al. Identification of Wee1 as a novel therapeutic target for mutant RAS-driven acute leukemia and other malignancies[J]. Leukemia, 2015, 29(1): 27-37
- [14] Bleakley M, Heimfeld S, Loeb K R, et al. Outcomes of acute leukemia patients transplanted with naive T cell-depleted stem cell grafts[J]. The Journal of clinical investigation, 2015, 125(7): 2677
- [15] Rossi G, Minervini M M, Melillo L, et al. Predictive role of minimal residual disease and log clearance in acute myeloid leukemia: a comparison between multiparameter flow cytometry and Wilm's tumor 1 levels[J]. Annals of hematology, 2014, 93(7): 1149-1157
- [16] Kermani I A. Immunophenotyping of Acute Leukemia in Northwestern Iran[J]. Iranian Journal of Medical Sciences, 2015, 27(3): 136-138
- [17] Roberts K G, Li Y, Payne-Turner D, et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia[J]. New England journal of medicine, 2014, 371(11): 1005-1015
- [18] Yu Xing, Lu Xiaodong, Wang Yongqing, et al. Clinical significance of detection of serum LDH and HBDH levels in patients with acute leukemia [J]. Journal of Jilin University: Medical Science Edition, 2012, 38 (5): 942-942

(上接第 95 页)

- Dai Chun-qun, Yao Jun, Luo Hong-mei, et al. Influences of different anesthesia methods on postoperative cognitive function in elderly cancer patients [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2012, 21(27): 2967-2968, 2974
- [15] 贾宝森, 刘合年, 米卫东, 等. 脑氧饱和度监测与右美托咪定麻醉术后认知变化的关系[J]. 医疗卫生装备, 2014, 35(10): 69-71, 107
- Jia Bao-sen, Liu He-nian, Mi Wei-dong, et al. Relationship between cerebral oxygen saturation detection and postoperative cognitive function changes under anesthesia by dexmedetomidine [J]. Chinese Medical Equipment Journal, 2014, 35(10): 69-71, 107
- [16] 丁涛, 曲月星, 徐海霞, 等. 右美托咪定与咪达唑仑对前列腺电切术患者术后认知功能的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(24): 4753-4755
- Ding Tao, Qu Yue-xing, Xu Hai-xia, et al. Effects of Dexmedetomidine and Midazolam on the Early Postoperative Cognitive Function of Patients with TURP [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(24): 4753-4755