

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.02.045

脐血 CIK 细胞抗肿瘤研究及临床应用进展

刘涛 张旒娴 何凤 张丹 项方 卢斌

(第三军医大学新桥医院肿瘤生物治疗中心 重庆 400037)

摘要: 肿瘤的生物治疗尤其是用免疫活性细胞输注的过继免疫治疗是目前研究热点之一,是继手术、放疗、化疗三大常规治疗的又一新的治疗肿瘤的方法。此疗法不仅是常规抗肿瘤治疗的补充,更是为晚期不宜手术或无法承受放疗化疗所带来的副作用的患者开辟了一个新的治疗途径,可取得常规方法无法达到的疗效,成为人类抗击肿瘤最有希望的战略措施之一。细胞因子诱导的杀伤细胞是用于肿瘤过继免疫治疗较为有效的免疫效应细胞之一,是目前所知杀伤活性最高的肿瘤杀伤细胞,具有增殖速度快、杀瘤活性高、杀瘤谱广的特点,对正常骨髓造血前体毒性小,已大量应用于临床。脐血 CIK 细胞增殖速度、杀瘤活性优于外周血 CIK 细胞,移植后移植瘤抗宿主病发生率更低等优点,因而受到广泛关注。本文就脐血 CIK 细胞的抗肿瘤研究的特点及临床应用进展作一综述。

关键词: 脐血;CIK 细胞;抗肿瘤;临床应用

中图分类号:R730.51 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)02-368-04

Antitumor Research and Clinical Application of Cord Blood CIK Cells

LIU Tao, ZHANG Ni-xian, HE Feng, ZHANG Dan, XIANG Fang, LU Bin

(Center For Cancer Biotherapy of XinQiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

ABSTRACT: Adoptive immunotherapy is one of the hottest subject in biotherapy of tumor, which has been a new tumor therapy method followed by surgery, radiotherapy, and chemotherapy three conventional treatment. This treatment is not only the supplement to conventional therapy, but also apply hope to people who can not sustain the side effects of radiotherapy and chemotherapy any longer. Cytokine-induced killer (CIK) is a new generation of adoptive immunocell therapy. CIK cells is known as the highest efficient tumor-killing cell, not only have the characteristics of rapid proliferation, high efficiency, and broad spectrum in killing of tumor cells, but also have small toxicity to hematopoietic progenitor cells of normal marrow. It has been widely used in clinical. The cells proliferation speed, the anti-tumor activity and the incidence of graft-versus-host disease (GVHD) of CIK cells originated from umbilical cord blood are superior to those from peripheral blood. So, it has attracted the worldwide extensive attention. This article reviewed the anti-tumor research progress and clinical application of Cord Blood CIK cells.

Key words: Cord Blood; CIK cells; Anti-tumor; Clinical application

Chinese Library Classification: R730.51 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)02-368-04

前言

CIK(Cytokine- Induced Killer)是细胞因子诱导的杀伤细胞治疗方法的简称,具体制备方法是将病人外周血单核细胞(Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC)进行分离后,在体外用多种细胞因子(如 IFN- γ , anti-CD3mAb、IL-2、IL-1 等)共同培养激活后获得的一群以 CD3⁺CD56⁺、CD3⁺CD8⁺ 为主异质细胞。该细胞又称自然杀伤(Natural Killer, NK)细胞样 T 淋巴细胞,能够同时表达 CD3 和 CD56 两种膜蛋白分子,兼具有 T 淋巴细胞强大的杀瘤活性和 NK 细胞的非主要组织相容性复合体(Major Histocompatibility Complex, MHC)限制性杀瘤特点^[1]。它是迄今发现的所有免疫效应细胞中,增殖能力最强、细胞毒活性较强的细胞。

CIK 细胞在抗肿瘤过继免疫治疗中,具有增殖速度快、杀瘤活性高(杀伤效率约为 LAK 细胞 80 倍)、杀瘤谱广(对化疗

耐药的瘤细胞也能高效杀伤)、副作用小(精确杀伤瘤细胞而不伤及正常细胞)等优点^[2]。目前,CIK 细胞成为新一代肿瘤过继免疫治疗的主力军,应用 CIK 细胞治疗肿瘤已在广泛的临床应用中得到证实,疗效确切,安全性高,副作用极小,被称之为“绿色生物细胞疗法”。

尽管 CIK 细胞在抗肿瘤免疫治疗有前述诸多优点,且已有研究表明自体 CIK 细胞能有效的对抗肿瘤细胞,并已广泛应用于临床治疗。但是不同来源的 CIK 细胞的各组分不同,其疗效及毒副作用可能也不尽相同。近年来,随着脐血的广泛应用,脐血已成为获得 CIK 细胞的一个重要来源,相对于外周血 CIK (Peripheral Blood CIK, PB-CIK) 细胞,脐血 CIK (Cord Blood CIK, CB-CIK)细胞增值更快、杀瘤活性更强,免疫原性低,移植后 GVHD 发生率亦低^[3,4]。已有文献报道脐血 CIK 在体外的扩增能力和杀伤活性两个方面均优于自体 CIK 细胞。本文就 CB-CIK 细胞的来源、免疫特性、增殖能力、抗肿瘤效应特点及临床应用现状作一简述。以期对脐血 CIK 细胞抗肿瘤临床试验和临床应用提供参考。

1 脐血 CIK 细胞的来源及扩增特征

作者简介:刘涛(1984-),男,硕士研究生,主要研究方向:肿瘤细胞免疫治疗,E-mail:peach67@126.com

(收稿日期:2013-03-07 接受日期:2013-03-31)

CIK 细胞在全身均有分布,在肝脏中 CIK 分布最多,其次为外周血,但是 CIK 细胞中的效应细胞 CD3⁺ 和 CD56⁺ 细胞在正常人外周血中极其罕见,仅 1%-5%。脐血 CIK 细胞来源于脐带血,其具体制备过程是:无菌条件下采集足月顺产产妇的胎儿脐带血,待胎儿娩出后,在胎儿端脐带用无菌采血袋依靠重力作用采集,采血量 40-100 mL,采集后 6 h 内处理。对脐带血进行检查,无各种传染病和血液系统疾病后,按常规方法提取脐血单个核细胞,以抗 CD3 单克隆抗体、重组人白细胞介素 -2 和干扰素 - γ 为诱导剂,体外扩增成 CIK 细胞。

国内学者袁碧和等比较脐血与成人外周血的成分发现,脐血中不仅含有高于成人外周血的 RBC、WBC 及 PTL,而且还含有大量的造血干细胞^[9]。国外研究者也发现 CB 中 CIK 前体细胞含量高,易扩增更多的 CIK 细胞;CB 中的淋巴细胞的绝对值较高,有一定比例的幼稚细胞,具有较强的增殖潜力^[6]。朱秋娟等认为脐血单个核细胞在体外可以被培养为 CIK 细胞,且扩增潜能极大,扩增倍数极高,细胞毒活性强,脐血 CIK 细胞在培养 2-3 周后大量增生,扩增约 (64.4 \pm 16) 倍,其中 CD3⁺CD56⁺ 细胞扩增约 900 倍^[7]。

目前,已有大量的实验证明脐血 CIK 比外周血 CIK 具有更强的增殖能力。如:王家祥等研究发现脐血 CIK 与外周血 CIK 在培养过程中,脐血 CIK 增殖能力明显强于外周血 CIK,随时间变化二者比较差异有显著性意义 ($P < 0.05$)^[3]。牟青杰等也发现,脐血来源的 CIK 细胞与患者自体血、正常人外周血相比,初始提取效率高,体外增殖速度明显高于两种外周血,并持续在较高状态。而患者的 CIK 增殖缓慢,呈现高峰延迟^[8]。其原因可能是,肿瘤患者外周血中总淋巴细胞降低,各淋巴细胞亚群比例紊乱,血清中存在众多免疫抑制因子,不利于扩增。

与外周血 CIK 研究结果相似,脐血 CIK 与 DC 共培养,增殖能力显著。翟欣辉等人,采集脐血单个核细胞诱导 DC 和 CIK 细胞,并将 DC 与 CIK 细胞按 1:5 的比例混合培养后,脐血 DC-CIK 细胞的增殖能力显著高于外周血 DC-CIK 细胞 ($P < 0.05$)^[9]。员建民等将 DC 和 CIK 细胞按 1:5 的比例混合培养,脐血 DC-CIK 细胞增殖能力显著,培养 15 d,扩增到原来的 80 多倍^[10]。

2 脐血 CIK 细胞的杀瘤机制及杀瘤活性

CIK 细胞的杀瘤作用是非 MHC 限制性的,因其较高的存活率和较强的增殖能力,具有很强的细胞毒活性。CIK 细胞对肿瘤的杀瘤机制比较复杂,其具体作用机制目前仍未完全明确。

目前研究显示,CIK 可通过下列三种途径对肿瘤进行杀灭,即:(1)CIK 细胞直接杀伤肿瘤细胞,在受到外源性抗 CD3McAB 或某些淋巴因子作用时,CIK 细胞会大量释放颗粒酶/穿孔素等具有细胞毒性的胞浆颗粒到胞外,这些颗粒能穿透靶细胞膜,直接导致肿瘤细胞的裂解;(2)CIK 细胞活化后,可大量分泌多种炎性细胞因子,如:IFN- γ 、TNF- α 和 IL-2 等,不仅对肿瘤细胞有直接抑制作用,而且还可通过调节免疫系统间接杀伤肿瘤细胞;(3)诱导肿瘤细胞凋亡及坏死,CIK 细胞能活化肿瘤细胞凋亡基因,使得 FLIP、Bcl-2、Bcl-xL、DAD1 和 survivin 基因等表达上调;此外,CIK 细胞表达的 Fas L (II 型跨膜糖蛋白)通过与肿瘤细胞膜表达的 Fas (I 型跨膜糖蛋白)结合,

诱导肿瘤细胞凋亡,由于 CIK 细胞有抗凋亡基因表达,因此在体内能抵抗 Fas L 阳性肿瘤细胞对 CIK 的反作用,故 CIK 能对肿瘤细胞持久的发挥溶瘤作用。

Introna 等从脐带血中分离出少量的有核细胞,用抗 CD3 单克隆抗体 (OKT3) 和 IFN- γ 一同刺激单核细胞,再用 IL-2 扩增,产生的 CIK 细胞对 T、B 淋巴瘤和粒细胞白血病等多种肿瘤细胞系都具有很强的细胞毒性,更重要的是,对原始白血病细胞集落也具杀伤作用,并且,高水平表达穿孔素、NKG2D 分子^[11]。国内学者刘刚等认为,脐血 CIK 细胞体外增殖速度快,杀瘤活性高,其对胆囊癌细胞株 GBC-SD 具有明显的细胞毒作用,研究脐血 CIK 细胞对胆囊癌的过继性免疫治疗具有重要的临床意义^[12]。王新帅等用癌胚抗原重组基因疫苗 (CEA-rv) 负荷脐血来源树突状细胞 (DCs) 诱导特异性 CIK 细胞对结肠癌细胞株 Lovo 有很好的杀伤活性^[13]。

相比外周血 CIK 细胞,CB-CIK 细胞对不同的肿瘤细胞系显示出较强的杀伤活性,并且随着效靶比的增高而逐渐增强^[14-16]。CB-CIK 细胞的杀伤活性高于 PB-CIK 细胞,单位体积内的前体细胞 CB 高于 PB,这样单位体积的细胞悬液内就有更高比例的效应细胞,因此 CB-CIK 的杀伤率更高一些^[17-19]。脐血、正常人、淋巴瘤患者外周血来源的单个核细胞 CD3、CD16+56 阳性的细胞比例分别为 46.0% \pm 3.34%、34.3% \pm 2.50%、19.8% \pm 4.63%,脐血来源的单个核细胞 CD3、CD16+56 阳性的细胞比例明显高于其他两种来源 ($P < 0.05$),脐血 CIK 表现的杀伤活性最强,与其他两种来源相比,差异有显著性 ($P < 0.05$)^[8]。王家祥等研究发现,不同来源的 CIK 细胞杀伤肿瘤细胞的机制不同,CB-CIK 细胞的杀伤活性高于外周血 CIK 细胞,从透射电镜下观察 CB-CIK 细胞作用后的肿瘤细胞,一部分发生凋亡,一部分发生坏死,与外周血 CIK 细胞作用后的肿瘤细胞变化相似,但是脐血组中发生坏死的细胞相对比较多,而外周血组中则发生凋亡的细胞相对比较多,二者的差异有统计学意义。所以认为脐血 CIK 细胞以诱导肿瘤细胞坏死为主,外周血 CIK 细胞以诱导肿瘤细胞凋亡为主^[3]。而且,脐血 CIK 与 DC 共培养杀伤活性更强,李贵新等研究证实,脐血 CIK、DC-CIK 细胞对 K562、raji、MCF-7 细胞均具有较强的杀伤作用,DC-CIK 增殖活性和杀伤活性明显高于单纯 CIK^[20]。

3 脐血 CIK 细胞的安全性

为了保障脐血 CIK 细胞的临床应用的安全,脐血 CIK 细胞要进行一系列严格的安全性检测。正常足月妊娠健康产妇,于胎儿娩出断脐消毒后,选较粗脐静脉穿刺,封闭式无菌条件下采血,肝素抗凝。采血量 40-100 mL,平均 80 mL,4 $^{\circ}$ C 存放 <8 h。具体方法是:无菌条件下取脐血 2-3 mL,80 \times g 离心 5 分钟后,用上清液做 HIV1、HIV2、HBsAg、HCV 和梅毒 (TRUST) 检测。即艾滋病、肝炎和梅毒螺旋体全部阴性的脐血标本方可使用。用于制备 CIK 细胞的每份脐血都必须进行病毒检测。回输细胞前,脐血 CIK 细胞要进行,(1)细菌检测:无菌条件下取 CIK 细胞悬液 1 mL,1500 \times g 离心 5 分钟后,取沉淀细胞涂片,瑞氏染液染色,高倍镜下查不到大肠杆菌为合格。(2)病毒检测:方法同脐血的病毒检测。(3)热原(内毒素)检测:按照《中华人民共和国药典》2005 版二部附录 XI E 细菌内毒素检查法,进行体外培养的脐血 CIK 细胞上清液检测,以小于 10EU/ml 为

合格。高倍镜下未见大肠杆菌。脐血 CIK 细胞内未见艾滋病、肝炎和梅毒螺旋体。体外培养的脐血 CIK 细胞上清液中 E 细菌内毒素小于 10EU/ml。表明脐血 CIK 细胞安全、可用于肿瘤病人的过继免疫治疗。

广州医学院附属肿瘤医院从健康产妇足月分娩的脐带血中提取单个核细胞制备 CIK 细胞, 治通过 CIK 细胞输注, 使现有方法治疗无效的 2 例严重型红斑狼疮患者的症状完全恢复, 实验室指标明显好转, 已能进行正常的生活和学习^[21]; 并且, 该医院运用脐血 CD3AK 细胞和脐血 CIK 细胞治疗肿瘤近 10 年, 除了有 5% 患者有轻、中度的发热外, 未见任何不良反应, 实践证明使用安全。

4 脐血 CIK 细胞的临床应用

CIK 细胞等过继免疫疗法可以在不损伤机体免疫系统和功能的前提下, 直接杀伤肿瘤细胞。同时在调节和增强机体的免疫功能、清除微小残余病灶等方面也发挥着重要作用, 因而成为肿瘤手术、放化疗的重要辅助手段, 为预防肿瘤复发, 改善晚期患者的生存质量提供了新途径。近年来, 随着免疫学、分子生物学、细胞生物学技术的快速发展, 国内外越来越多的机构、学者开始尝试应用 CIK 治疗癌症患者, 目前脐血 CIK 细胞过继免疫治疗在抗肿瘤方面的研究已取得了一定的进展。

Niu 等收集了 40 例恶性实体瘤患者, 将其分为 2 组, CB-CIK 细胞联合化疗药物组及化疗药物组, CB-CIK 细胞联合化疗药物组化疗后一周输注 CB-CIK 细胞, 12d 内共输注 6 次。随访结果发现。用 CB-CIK 细胞组的有效率和控制率分别是 30%、80%, 复发及平均存活时间是 3.45 个月、11.17 个月; 而对照组相应的数值分别是 15%、70% 及 2.03 个月、7.52 个月, 且用 CB-CIK 细胞组无进展生存期及总生存数高于化疗组^[22]。罗社文等利用自体肿瘤抗原负载的树突细胞(DCTAA)联合配型脐血来源的细胞因子诱导的杀伤细胞免疫联合治疗 48 例中晚期肺癌, 结果, 48 例接受脐血 DCTAA-CIK 治疗的患者中, 完全缓解(CR)+ 部分缓解(PR)为 37 例, 总缓解率 77.1%, 临床症状评分改善率 78.9%-84.7%; Karnofsky 评分提高率为 89.6% (43 / 48), 1 年生存率 80.6%, 不良反应轻微; 结论, 脐血来源的 DCTAA -CIK 细胞过继性免疫治疗是治疗中晚期肺癌的一种良好的方法, 能显著提高患者免疫功能, 改善患者临床症状, 提高生存质量, 延长生存期^[23]。何伟星等从广州医学院附属肿瘤医院 2003 年 -2006 年期间住院的肿瘤患者中, 选出 15 例中晚期肺癌患者进行脐血 CIK 细胞过继免疫治疗。研究结果显示, 肺癌病人经脐血 CIK 细胞过继免疫治疗后, 其免疫功能有不同程度的改善, 患者外周血的各种淋巴细胞计数有不同程度的升高, PBMC 的杀伤活性较治疗前有明显提高, 且病人无主诉不适^[24]。解放军 463 医院血液消化内科杨晓凤等, 参考外周血分离 CIK 细胞的原理, 在脐带血中分离出 CIK 细胞, 并应用于临床, 先后为 15 例白血病、恶性淋巴瘤、实体瘤等患者输入脐血 CIK 细胞治疗, 取得了较好效果, 各晚期肿瘤均不同程度的延长了生存期, 未发现任何不良反应^[25]。武警总医院的研究小组邓笑伟等, 采用脐血配合自体、同种异体细胞制备 CIK / DC 细胞治疗晚期肺癌患者 21 例, 取得了较明显的疗效。21 例患者, 2 例病情得到完全缓解(CR), 7 例病情部分缓解(PR), 与治疗前相比, 生活质量明显提高^[26]。

目前国内外已广泛开展针对多种肿瘤的 CIK 细胞治疗临床试验, 从中国临床试验注册中心搜索到, 解放军 105 医院呼吸科的王伟等, 正在开展脐血 CIK 细胞输注治疗原发性支气管肺癌疗效和安全性的对照研究 I 期非随机对照试验。该临床试验目的是考察脐血 CIK 细胞输注治疗中晚期原发性支气管肺癌的疗效和安全性, 为原发性支气管肺癌的治疗寻找一种更为安全有效的疗法。

5 问题与展望

肿瘤治疗已经进入了个体化综合治疗时代, 肿瘤个体化治疗需要采用个体化生物治疗。虽然, 自体或脐血 CIK 细胞在抗肿瘤临床治疗上取得了一定的效果。但是, CIK 细胞过继免疫疗法作为一个新的治疗手段, 治疗方案和标准, 需要进一步的探索。

目前, CIK 细胞的制备可以采用脐带血, 也可采用患者的外周血; 但肿瘤患者尤其是晚期肿瘤患者常伴有恶液质、贫血等一系列症状, 如果采集自体外周血制备, 一方面 CIK 细胞数量不足, 另一方面可能会加重上述症状, 外周血的大量采集, 会使机体免疫系统出现 "暂时空虚", 易继发感染。脐血 CIK 细胞在体外的扩增能力和杀伤活性两个方面均优于自体外周血 CIK 细胞; 并且, 脐血具有来源方便、免疫原性弱、含有大量造血干细胞、输注时移植物抗宿主病发生率(graft-versis-host-disease, GVHD)低等优点, 可安全地应用于临床治疗。所以, 采用脐血配合自体、同种异体细胞制备 CIK/DC 细胞进行肿瘤治疗具有独特的优势, 在肿瘤细胞免疫治疗中具有广阔的前景。

参考文献(References)

- [1] Zoll B, Lefterova P, Ebert O, et al. Modulation of cellsurface markers on NK-like T lymphocytes by using IL-2, IL-7 or IL-12 invitro stimulation[J]. Cytokine, 2000, 12(9): 1385-1390
- [2] Piebani a, belussi c, Klein C, et al. Enhanced killing of human B-cell lymphoma targets by combined use of cytokine-induced killer cell (CIK) cultures and anti-CD20 antibodies[J]. Blood, 2011, 117(2): 510-518
- [3] 王家祥, 郑树, 刘秋亮, 等. 不同来源 CIK 细胞的体外扩增和杀伤活性的比较[J]. 第四军医大学学报, 2005, 26(7): 616-618
Wang Jia-xiang, Zheng Shu, Liu Qiu-liang, et al. Comparison of proliferation and cytotoxicity of CIK cells from different tissues[J]. Journal of The Fourth Military Medical University, 2005, 26(7): 616-618(In Chinese)
- [4] 周永春, 王熙才, 苏晓三, 等. 脐带血单个核细胞体外诱导成 CIK 细胞及其抗肿瘤效应的实验研究 [J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12(1): 35-40
Zhou Yong-chun, Wang Xi-cai, Su Xiao-san, et al. Proliferation in vitro from the cord blood mononuclear cells and the anti-tumor effect [J]. China Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2005, 12(1): 35-40 (In Chinese)
- [5] 袁碧和, 马明炎. 脐血与成人外周血成份的比较[J]. 现代医药卫生, 2005, 21(10): 1288-1288
Yuan Bi-he, Ma Ming-yan. Umbilical cord blood and adult peripheral blood ingredient comparison [J]. Modern Medicine Health, 2005, 21(10): 1288-1288(In Chinese)
- [6] Cohen SB, Wolley J, Bojunia Kubik K, et al. Macphage colony stimulating factor (M-CSF) within cord blood sera may be partially

- responsible for the reduced proliferation of cord blood T cell [J]. *Eur Cytokine New*, 2000, 11(4): 608-617
- [7] 朱秋娟, 乔振华, 姜波. 脐血 CIK 细胞的体外扩增特性研究 [J]. *肿瘤研究与临床*, 2005, 17(5): 324-326
Zhu Qiu-juan, Qiao Zhen-hua, Jiang Bo. Study of proliferation profile in cord blood CIK cells[J]. *Cancer Research and Clinic*, 2005, 17(5): 324-326(In Chinese)
- [8] 牟青杰, 王洁, 崔为发, 等. 三种来源 CIK 细胞体外增殖及杀伤活性比较[J]. *山东医药*, 2010, 50(11): 7-9
Mu Qing-jie, Wang Jie, Cui Wei-fa, et al. Comparison of the proliferation and cytotoxicity of CIK cells from three sources [J]. *Shandong Medical Journal*, 2010, 50(11): 7-9(In Chinese)
- [9] 翟欣辉, 魏绪仓, 韩秀蕊, 等. 脐血树突状细胞与细胞因子诱导的杀伤细胞协同抗急性白血病细胞效应及生物学活性研究[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2011, 32(1): 102-106
Zhai Xin-hui, Wei Xu-cang, Han Xiu-rui, et al. Synergic effects of cord blood DCs and homologous CIK cells on acute leukemia cells and their biological activities[J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences)*, 2011, 32(1): 102-106 (In Chinese)
- [10] 员建民, 魏绪仓, 韩秀蕊, 等. 脐血 DC-CIK 细胞增殖及其对淋巴瘤细胞细胞毒作用的研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2010, 25(3): 67-70
Yuan Jian-min, Wei Xu-cang, Han Xiu-rui, et al. Study on proliferation and Cytotoxicity on Lymphoma Cells of DC-CIK Cells from Cord Blood [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2010, 25(3): 67-70(In Chinese)
- [11] Zoll B, Lefterova P, CsiPai M, et al. Generation of cytokine induced Killer cells using exogenous interleukin-2, -7 or -12 [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1998, 47(4): 221-226
- [12] 刘刚, 任宏, 孙学军, 等. 脐血源性 CIK 细胞的体外增殖及其对胆囊癌细胞株 GBC-SD 杀伤活性的实验研究[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2007, (8): 540-543
Liu Gang, Ren Hong, Sun Xue-jun, et al. Proliferation profile and anti-tumor effects of cord blood CIK cells on gallbladder cancer cell strain GBC-SD in vitro [J]. *Chinese Journal of Hepatobiliary Surgery*, 2007, (8): 540-543 (In Chinese)
- [13] 王新帅, 秦玲, 冯笑山, 等. CEA-rv 诱导特异性 CIK 细胞对 Lovo 细胞株杀伤作用的研究[J]. *河南科技大学学报(医学版)*, 2011, 29(2): 88-90
Wang Xin-shuai, Qing Ling, Feng Xiao-shan, et al. Enhancement of Cytotoxic Effect of Cytokine Induced Killers to Colon Cancer cell line by Dendritic Cells Derived from Umbilical Cord Blood with CEA-rv [J]. *Journal of Henan University of Science & Technology (Medical Science)*, 2011, 29(2): 88-90(In Chinese)
- [14] Intnma M, Boderi 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
- [15] Ayello J, van de Ven C, Cairo E, et al. Characterization of natural killer and natural killer-like T cells derived from ex vivo expanded and activated cord blood mononuclear cells: implications for adoptive cellular immunotherapy [J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(10): 1216-1229
- [16] Condiotti R, Zakai YB, Barak V, et al. Ex vivo expansion of CD56+ cytotoxic cells from human umbilical cord blood [J]. *Exp Hematol*, 2001, 29(1): 104-113
- [17] Robinsin KL, Ayello J, Hughes R, et al. Ex vivo expansion, maturation, and activation of umbilical cord blood-derived T lymphocytes with IL-2, IL-12, anti-CD3, and IL-7. Potential for adoptive cellular immunotherapy post-umbilical cord blood transplantation [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(3): 245-251
- [18] Gluckman E, Roch V, Chevret S. Result of unrelated umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplant [J]. *Transfus Clin Biol*, 2001, 8: 146-154
- [19] Ense N, Lu S, Alcid MG, et al. Pooled umbilical cord blood as a possible universal donor for marrow reconstitution and use in nuclear accidents [J]. *Life Sci*, 2001, 69: 1531-1539
- [20] 李贵新, 李鹏鑫, 郭璐, 等. 脐血 DC-CIK 共培养体外抗肿瘤效应及趋化性的实验研究 [J]. *山东医药*, 2010, 20(31): 18-19
Li Gui-xin, Li Peng-xin, Guo Lu, et al. Experimental study for antitumor effective and chemotaxis of co-culture DC and CIK from cord blood in vitro [J]. *Shandong Medical Journal*, 2010, 20(31): 18-19(In Chinese)
- [21] 祁岩超, 王得周, 杨波, 等. 脐血 CD3AK 细胞的制备, 生物活性测定及临床应用初探 [J]. *中国肿瘤临床*, 2004, 31(17): 381-383
Qi Yan-chao, Wang De-zhou, Yang Bo, et al. Preparation and Bio-activeness Assay of CD3AK Cell from Umbilical Blood [J]. *Cancer Research on Prevention and Treatment*, 2004, 31 (17): 381-383 (In Chinese)
- [22] Niu Q, Wang W, Li Y, et al. Cord blood-derived cytokine-induced killer cells biotherapy combined with second-line chemotherapy in the treatment of advanced solid malignancies [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(4): 449-456
- [23] 罗社文, 毛积分, 赵凤翎, 等. 自体肿瘤抗原负载的树突细胞联合细胞因子诱导的杀伤细胞治疗中晚期非小细胞肺癌 [J]. *肿瘤研究与临床*, 2011, 23(9): 588-597
Luo She-wen, Mao Ji-fen, Zhao Feng-ling, et al. Clinical research on DCTAA and CIK from stem in treating patients of moderate and advanced stage lung cancer [J]. *Cancer Research and Clinic*, 2011, 23(9): 588-597
- [24] 何伟星. 脐血 CIK 细胞过继免疫治疗中晚期肺癌病人的临床研究 [D]. 广州: 广州医学院, 2007: 4-6
He Wei-xing. Clinical research of cytokine-induced killer in cord blood being experienced adoptive immunotherapy advanced stage lung cancer patients [D]. Guangzhou: Guangzhou Medical University, 2007: 4-6
- [25] 杨晓凤, 王红梅, 林慧丽. 第三届全国血液免疫学学术大会论文集 [C]. 北京: 中国学术期刊电子出版社, 2003: 47-48
Yang Xiao-feng, Wang Hong-mei, Lin Hui-li. The third session of national blood immunological academic conference [C]. Beijing: China Academic Journal Electronic Publishing House, 2003: 47-48
- [26] 邓笑伟, 徐铭宝, 高锦, 等. 不同来源 CIK 与 DC 细胞联合治疗中晚期肺癌的临床研究 [J]. *科技导报*, 2008, (11): 35-38
Deng Xiao-wei, Xu Ming-bao, Gao Jin, et al. Clinical Studies on Combined CIK and DCs from Different Tissues to Treat Patients of Moderate and Advanced Stage Lung Cancer [J]. *Science & Technology Review*, 2008, (11): 35-38 (In Chinese)