

TSA-DC-CTL 细胞免疫治疗联合 PD-L1 抗体治疗高龄晚期结肠癌 1 例报道并文献复习



胡时栋¹, 李松岩¹, 晏阳¹, 滕达¹, 柳辛墨¹, 何长征¹, 邢晓伟¹, 李宇轩¹, 王玉锋², 杜晓辉¹

1. 解放军总医院第一医学中心普通外科(北京 100853)
2. 解放军总医院第一医学中心住院管理科(北京 100853)

【摘要】 目的 报道 1 例肿瘤特异性抗原(TSA)刺激诱导树突状细胞(DC)及细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)过继治疗联合程序性死亡配体 1(PD-L1)抗体治疗高龄晚期结肠癌患者。方法 2018 年 2 月笔者所在医院对 1 例 90 岁高龄女性患者因“回盲部癌伴梗阻”行剖腹探查、回盲部切除、小肠部分切除、末端回肠造瘘、腹膜活检术,肿瘤广泛转移,患者基础条件差,术后无法耐受常规治疗。经与患者家属充分沟通知情同意及解放军总医院伦理委员会批准,于术后 4 个月开始行 4 次 TSA-DC 细胞皮内多点注射,4 次 TSA-CTL 细胞静脉滴注,2 次 TSA-CTL 细胞腹腔注入,1 次 PD-L1 抗体 1 200 mg 静脉滴注。结果 行 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 治疗后 7 d(治疗中期),患者的 KPS 评分升至 80 分(治疗前 40 分),外周血循环肿瘤细胞计数降至 7 个/3.2 mL(治疗前 16 个/3.2 mL),肿瘤标志物 CA125 降至 155.5 u/mL(治疗前 224.4 u/mL),治疗过程中未见相关不良反应。行 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 治疗后 36 d 患者突然出现血压和血氧饱和度下降,给与升压、兴奋呼吸等治疗,情况好转,因家属要求患者自动出院。结论 TSA-DC-CTL 细胞免疫治疗联合 PD-L1 治疗本例高龄患者安全可行,能在一定程度上改善患者生活质量及部分生物学指标,但 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 抗体的安全性及近远期疗效有待进一步研究论证。

【关键词】 细胞免疫治疗; 程序性死亡配体 1; 晚期结肠癌

最新研究数据^[1]表明,世界范围内,结直肠癌已成为男性第 3、女性第 2 的常见恶性肿瘤,年死亡人数高达 861 663 人次,严重威胁人们的健康。转移是导致结直肠癌患者死亡的首要原因^[2]。高龄晚期结直肠癌患者由于基础条件差,往往无法耐受常规治疗,目前临床尚无有效的治疗方法。

近年来,肿瘤的免疫治疗发展迅速,免疫治疗已成为继手术、化疗、放疗之后的第 4 大主流治疗方式^[3-4]。肿瘤免疫治疗可以调动机体全身的免疫功能,以此抑制肿瘤细胞的继续增殖或将肿瘤的残留病灶清除干净,对全身肿瘤细胞进行杀伤,2013 年《Science》杂志将免疫治疗列为年度十大科学突破之首,2016 年美国临床肿瘤学会年会(ASCO)年报将免疫治疗确定为肿瘤年度重要进展,ASCO 主席给予了高度评价^[5-7]。笔者所在医院 2018 年 2 月对 1 例高龄晚期结肠癌患者实施了肿瘤特异性

抗原(TSA)刺激诱导体外扩增树突状细胞(DC)及细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)过继免疫细胞治疗联合免疫检查点抑制剂程序性死亡配体 1(PD-L1)抗体治疗,现总结报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

患者女,90 岁,因脐周疼痛 2 月余并停止肛门排气排便 4 d(2018 年 2 月)就诊于笔者所在医院,腹部增强 CT 示:回盲部肠壁增厚,增强后呈均匀性明显强化,分层结构消失,距回盲部约 20 cm 处近段回肠腔内见大量滞留物,近侧回肠及空肠扩张,腔内见积气积液及气液平,考虑回盲部癌伴梗阻。

1.2 治疗

1.2.1 手术治疗 患者于 2018 年 2 月 9 日在全麻下行剖腹探查术。术中见腹腔内少量淡黄色腹水,腹壁散在乳白色结节,升结肠近回盲部见一约 5 cm×5 cm×2 cm 大肿块,质硬;横结肠近脾曲见大网膜转移结节侵犯结肠浆膜,结肠系膜、小肠系膜及小肠多处见可疑结节,距回盲部约 2 m 处小肠局部转移,肠腔梗阻。遂行回盲部切除、小肠部分切除、

DOI: 10.7507/1007-9424.201901002

基金项目:国家自然科学基金项目(项目编号:81871317);解放军总医院科技创新苗圃基金项目(项目编号:18KMM14)

通信作者:杜晓辉,博士,主任医师,教授,博士生导师,Email:duxiaohui301pw@163.com

末端回肠造瘘、腹膜活检术。术后病理报告：①回盲部溃疡型中-低分化腺癌，局部黏液分泌明显及黏液湖形成，肿瘤 6 cm×4.5 cm×2 cm 大，癌组织浸润肠壁全层，回肠及结肠断端未见癌细胞，阑尾未见癌；肠壁淋巴结见转移癌 (2/12)。②免疫组化结果示 Ki-67 (+80%)，HER-1 (EGFR) (+)，MSH6 (+90%)，MSH2 (+90%)，PDGFR-α (+)，MLH1 (+20%)，PMS2 (+20%)，HER-2 (2+)，CK (+)，Syn (-)，CD56 (-)。③送检小肠壁见中分化腺癌，肿瘤结节 2.5 cm×1.5 cm×0.5 cm 大，癌组织侵犯肠壁全层，双侧切缘 (小肠吻合口近端、远端切缘) 未见癌组织；小肠周围淋巴结见转移癌 (3/3)。④送检 (腹膜结节) 未见癌。术后行肿瘤组织 NGS 基因检测 (世和基因)，结果：BRAF p.V600E 突变，KRAS p.G12V 突变，MMR 未见突变；MS 分析 MSI 及 NRAS 未见突变，TMB 68.9 个突变/Mb。查体：卡氏功能状态评分 (KPS)^[8] 为 40 分，患者精神萎靡，腹膨隆，全腹轻压痛，余无特殊。

1.2.2 细胞免疫 (TSA-DC-CTL) 联合 PD-L1 治疗 术后 4 个月，经解放军总医院伦理委员会批准，并与患者家属充分沟通后，同意进行 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 治疗。具体治疗方案：① 4 次 TSA-DC 细胞皮内多点注射，细胞数目依次为 7.0×10⁷ 个 (2018-6-21)、7.5×10⁷ 个 (2018-6-22)、5.0×10⁷ 个 (2018-7-18) 和 5.0×10⁷ 个 (2018-7-19)；② 4 次 TSA-CTL 细胞静脉滴注，细胞数目依次为 3.0×10⁹ 个 (2018-6-25)、6.5×10⁹ 个 (2018-6-27)、3.4×10⁹ 个 (2018-7-24) 和 3.8×10⁹ 个 (2018-7-25)；③ 2 次 TSA-CTL 细胞腹腔注入，细胞数目依次为 1.1×10¹⁰ 个 (2018-6-26) 和 1.25×10¹⁰ 个 (2018-7-23)；④ 2018-6-29 给予自备 PD-L1 抗体 (atezolizumab) 1 200 mg 静脉滴注 1 次。行 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 治疗后 7 d (治疗中期)，患者的 KPS 评分为 80 分，精神可，腹稍膨隆，全腹无压痛，余无特殊；患者于治疗后 36 d (2018 年 7 月 27 日) 突然出现血压和血氧饱和度下降，给与升压、兴奋呼吸等积极治疗，血压及血氧有所好转，因家

属要求患者自动出院，出院后患者失访。

1.3 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 治疗前后各观察指标的变化

1.3.1 血常规及肿瘤标志物检测结果 结果见表 1。由表 1 可见：血红蛋白有下降趋势，白细胞治疗前期有明显上升、后期出现下降，淋巴细胞比率无明显变化、血小板治疗前期动态改变，后期出现下降，肿瘤标志物有下降趋势。

1.3.2 外周血循环肿瘤细胞数检测结果 外周血循环肿瘤细胞计数在 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 治疗前 (2018-06-11) 为 16 个/3.2 mL，治疗后 (2018-06-28) 为 7 个/3.2 mL，有所下降。

2 讨论

肿瘤免疫治疗范围广泛，主要包括主动免疫治疗、细胞因子免疫治疗、免疫检查点抑制剂治疗和免疫细胞治疗。国际免疫治疗权威专家 Rosenberg 认为，过继免疫细胞与过度依耐患者体内免疫功能的其他免疫治疗相比，具有独特的优势^[9]。

细胞免疫治疗主要包括 3 类：① 非特异性细胞免疫治疗，目前国内临床应用较普遍，如 CIK、DC-CIK 或 NK 细胞，对复发、难治性肿瘤的疗效非常有限。② 特异性细胞免疫治疗，国际上流行，主要利用非个体化、肿瘤常见抗原及未经筛选的肿瘤抗原群获得 DC、DC-CTL 及 TIL 进行治疗，其对部分晚期患者有显著疗效，因抗原的非特异性，免疫效应强度有限，易诱发患者的免疫性疾病，以致出现过敏、发热等不良反应。③ 肿瘤特异性基因突变导致肿瘤出现的抗原称为 TSA，TSA 可出现在肿瘤细胞表面，增强 T 细胞与 MHC 分子的结合能力，精准细胞免疫治疗是通过获得针对癌细胞的 TSA 和具有高效应的精准 T 细胞，扩增精准 T 细胞对肿瘤患者进行精准免疫治疗，免疫效应强，精准 T 细胞特异性识别 TSA，可避免对正常组织的杀伤。

笔者所在团队与合作团队通过蛋白组学技术分析了 3 万余份肿瘤组织标本，筛选建立了肿瘤靶标肽质谱库与特异性靶标液相芯片，可以高通量筛

表 1 患者行 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 治疗前后血常规及肿瘤标志物检测结果

检测日期	血红蛋白 (g/L)	白细胞 (×10 ⁹ /L)	淋巴细胞比率	血小板 (×10 ⁹ /L)	CEA (μg/L)	CA125 (U/mL)
2018-06-21	105	6.77	0.143	190	6.87	224.4
2018-06-28	101	7.76	0.119	156	6.53	155.5
2018-07-04	93	9.37	0.169	199	5.91	136.10
2018-07-18	85	5.87	0.102	144	4.75	173.70
2018-07-23	87	3.07	0.114	101	5.33	165.80

选 TSA。该例患者在行细胞免疫治疗前,我们通过高通量液相芯片筛选获得了该患者的 4 条特异性多肽 (BHC00310、BHC00510、BHC01108 和 BHC00910),体外诱导扩增获得个体化 DC 和 CTL。该患者在接受 TSA-DC-CTL 期间,未出现由于抗原的非特异性引起的过敏反应、发热等不良反应,血象平稳。治疗中期,检测患者外周血循环肿瘤细胞,数目由治疗前的 16 个/3.2 mL 降至 7 个/3.2 mL,肿瘤标志物水平有明显下降,KPS 评分上升至 80 分,改善明显。提示 TSA-DC-CTL 治疗在一定程度上改善了患者的一般状况和生活质量,外周血循环肿瘤细胞及肿瘤标志物的降低可能与特异性免疫细胞对肿瘤细胞靶向杀伤有关。精准免疫细胞治疗是一个全新的研究领域,目前国内外正在开展探索性的研究,已经取得了一些令人振奋的结果。Robbins 等^[10]采用外显子测序技术及 MHC 分子-抗原表位亲和算法,筛选出了经特异性 CTL 治疗出现进展的黑色素瘤患者的新抗原,新抗原能够引起 T 细胞发挥效应。Tran 等^[11]发现了 1 例经化疗及特异性 TIL 治疗出现进展的胆管癌伴全身多发转移患者的 Neo-antigen (ERBB2IP),患者经 ERBB2IP 刺激得到的精准 T 细胞治疗后,1 年内肝肺转移灶明显缩小,病情稳定。国内学者吴孟超、钱其军团队^[12],搭建了高通量测序平台,采用患者循环肿瘤细胞的富集与单细胞分离技术、免疫新靶点的生物信息学筛选技术等,正在开展精准细胞免疫治疗相关研究。

PD-L1 属 I 型跨膜蛋白,肿瘤细胞和免疫细胞 (DC 细胞、巨噬细胞、B 细胞、T 细胞等) 表面均可表达 PD-L1^[13-14]。PD-L1 与活化的免疫细胞 (T 细胞、B 细胞、DC 细胞等) 表达的程序性死亡蛋白 1 (PD-1) 结合引起免疫抑制,导致肿瘤细胞免疫逃逸^[15]。靶向 PD-L1 或 PD-1 抗体在黑色素瘤、肾细胞癌、非小细胞肺癌等肿瘤中治疗效果明显^[16-18]。本例患者治疗后期,联合应用 PD-L1 抗体,未出现相关不良反应,观察时间受限,患者情况无明显变化。由于患者高龄,基础条件差,突发血压、血氧饱和度下降,积极处理,血压、血氧饱和度好转,患者要求自动出院,后失访。

该例患者高龄,一般情况差,肿瘤广泛转移,无法耐受常规治疗,采用 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 治疗,一定程度上改善了患者的生活质量,未出现相关不良反应,目前未见相关报道。该例患者行 TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 治疗时间 1 个多月,患者自动出院,疗效观察时间短,TSA-DC-CTL 联合 PD-L1 抗体的安全性及近远期疗效有待进一步研究。

参考文献

- 1 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- 2 Kemeny NE. Treatment of metastatic colon cancer: "the times they are a-changing". *J Clin Oncol*, 2013, 31(16): 1913-1916.
- 3 王广伟, 顾元龙, 胡森焱. 人热休克蛋白 70-肽复合物/树突状细胞对肝癌的免疫治疗效果研究. *中国普外基础与临床杂志*, 2017, 24(2): 222-227.
- 4 邹一丰, 吴小剑, 兰平. 结直肠癌免疫治疗. *中国普外基础与临床杂志*, 2006, 13(3): 358-361.
- 5 Gopal S. Moonshot to Malawi. *N Engl J Med*, 2016, 374(17): 1604-1605.
- 6 Cohen RL, Settleman J. From cancer genomics to precision oncology—tissue's still an issue. *Cell*, 2014, 157(7): 1509-1514.
- 7 Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy. *Science*, 2013, 342(6165): 1432-1433.
- 8 de Kock I, Mirhosseini M, Lau F, et al. Conversion of Karnofsky Performance Status (KPS) and Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG) to Palliative Performance Scale (PPS), and the interchangeability of PPS and KPS in prognostic tools. *J Palliat Care*, 2013, 29(3): 163-169.
- 9 Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science*, 2015, 348(6230): 62-68.
- 10 Robbins PF, Lu YC, El-Gamil M, et al. Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells. *Nat Med*, 2013, 19(6): 747-752.
- 11 Tran E, Turcotte S, Gros A, et al. Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4⁺ T cells in a patient with epithelial cancer. *Science*, 2014, 344(6184): 641-645.
- 12 钱其军, 吴孟超. 肿瘤精准细胞免疫治疗: 梦想照进现实. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015, 22(2): 151-158.
- 13 Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26: 677-704.
- 14 Chakravarti N, Prieto VG. Predictive factors of activity of anti-programmed death-1/programmed death ligand-1 drugs: immunohistochemistry analysis. *Transl Lung Cancer Res*, 2015, 4(6): 743-751.
- 15 Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, et al. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med*, 2012, 209(6): 1201-1217.
- 16 Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*, 2015, 373(19): 1803-1813.
- 17 Schachter J, Ribas A, Long GV, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab for advanced melanoma: final overall survival results of a multicentre, randomised, open-label phase 3 study (KEYNOTE-006). *Lancet*, 2017, 390(10105): 1853-1862.
- 18 Ramos-Esquivel A, van der Laet A, Rojas-Vigott R, et al. Anti-PD-1/anti-PD-L1 immunotherapy versus docetaxel for previously treated advanced non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *ESMO Open*, 2017, 2(3): e000236.

收稿日期: 2019-01-01 修回日期: 2019-03-04

本文编辑: 李缨来