

自体细胞因子诱导杀伤细胞治疗恶性肿瘤致发热、寒战的原因分析及预防

汪碧琼,傅少志,张 艳,郭德芬(泸州医学院附属医院肿瘤科,四川泸州 646000)

【摘要】 目的 探讨自体细胞因子诱导杀伤细胞(CIK 细胞)治疗恶性肿瘤致发热寒战的原因及预防措施。**方法** 回顾性分析该院肿瘤科自体 CIK 细胞治疗恶性肿瘤 768 例患者的临床资料。**结果** 768 例患者中,发生体温低热,无寒战 26 例;体温中度发热,无寒战 14 例;体温高热,伴寒战 7 例,细菌培养致病菌阳性 5 例,及时对症治疗与护理后好转。发热发生率 6.12%;高热伴寒战发生率 0.91%;致病菌阳性发生率 0.65%。**结论** 自体 CIK 细胞治疗恶性肿瘤致发热寒战与多种因素有关,采取相应有效的预防措施,能避免发热寒战的发生。

【关键词】 诱导杀伤细胞; 发热; 寒战; 原因; 预防措施

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.07.027 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)07-0933-02

Analysis on reasons of autologous CIK cells for treating pyrexia and shiver caused by malignant tumor and its prevention
WANG Bi-qiong, FU Shao-zhi, ZHANG Yan, GUO De-fen (Department of Oncology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

【Abstract】 Objective To explore the reasons of autologous cytokine induced killer (CIK) cells for treating malignant tumor caused pyrexia and shiver and its prevention measures. **Methods** The clinical data of 768 cancer patients treated by autologous CIK cells in the oncology department of our hospital were retrospectively analyzed. **Results** Among 768 cases, 26 cases developed low pyrexia without shiver, 14 cases of middle pyrexia occurred without shiver, 7 cases of high pyrexia complicating shiver occurred, 5 cases were positive pathogenic bacteria in the bacterial culture and improved by timely symptomatic treatment and nursing. The pyrexia occurrence rate was 6.12%; the occurrence rate of high pyrexia complicating shiver was 0.91%; occurrence rate of pathogenic bacterial positive was 0.65%. **Conclusion** Pyrexia and shiver caused by autologous CIK cells treating malignant tumor are related with the multiple factors, Adopting corresponding effective prevention measures can avoid the occurrence of pyrexia and shiver.

【Key words】 CIK cell Treatment; pyrexia; shiver; reason; prevention measures

细胞因子诱导杀伤细胞(CIK 细胞)对消除患者体内残留的肿瘤细胞,特别是手术后清除残留微小的转移病灶,防止癌细胞的扩散和复发,提高患者自身免疫力,改善肿瘤患者的生存质量等具有重要作用^[1-3]。大量的临床试验肯定了 CIK 的临床价值^[4-6]。本院在用自体 CIK 细胞治疗恶性肿瘤患者过程中,少部分患者出现发热寒战的症状,有 5 例患者的细菌培养致病菌阳性。作者对 768 例患者的临床资料进行分析,寻找自体 CIK 细胞治疗恶性肿瘤致发热、寒战的原因,探讨其预防措施。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 5 月至 2013 年 12 月住院行 CIK 细胞治疗的恶性肿瘤患者 768 例,其中男 348 例,女 420 例,年龄 18~73 岁,中位年龄 48 岁。均经病理学或细胞学检查确诊。治疗前相关检查:血常规、血生化、输血前全套,检查符合 CIK 细胞治疗标准。

1.2 CIK 细胞培养 将采集的单个核细胞,用 GIBCO 公司生产 AIM-V 无血清的培养基调细胞数 $(4\sim6)\times10^6$,置培养瓶于 37℃、5% CO₂ 培养箱在饱和湿度下培养,并于当日加入 γ -干扰素 1 000 U/mL 悬浮培养,24 h 后加入 1 μ g/mL 的 CD3 单

克隆抗体、1 000 U/mL 的白细胞介素(IL)-2、100 U/mL 的 IL-1 α ,每隔 3 d 半量换液 1 次,补充 IL-2。细胞培养在药品生产质量管理规范(GMP)标准下的无菌实验室进行。经常观察细胞生长状态,培养期间取样进行微生物检测(细菌、真菌、支原体),检测结果阴性方能继续培养。阳性则终止该批培养,重新制备细胞。

1.3 CIK 细胞输注 培养的 CIK 细胞达到一定数量后,常规于 14 d 左右开始收集细胞,收集的细胞用生理盐水洗涤 2 次,将细胞团吹散,均匀悬浮于含 2% 清蛋白的生理盐水 100 mL 中,加入 IL-2 10 万单位,在 30~60 min 内经静脉输注给患者,每天输注 1 次,连续输注 4 次,输注 CIK 细胞前后均用生理盐水冲洗,输注前 30 min 肌肉注射盐酸异丙嗪 25 mg。

2 结 果

2.1 768 例自体 CIK 细胞治疗患者发热寒战情况 在 768 例患者中,有 7 例患者输注过程中出现高热($>39.0\sim41.0^\circ\text{C}$)寒战,经静脉推注地塞米松,肌肉注射盐酸异丙嗪,吸氧,抗感染治疗后好转;输注结束后 4 h 内有 14 例患者体温中度发热($>38.0\sim39.0^\circ\text{C}$),无寒战,给予肌肉注射盐酸异丙嗪处理后好转;有 26 例体温低热($37.3\sim38.0^\circ\text{C}$),无寒战,观察病情,

未做处理,3~4 h 后体温正常($<37.3^{\circ}\text{C}$);721 例患者无任何不适。768 例患者发热发生率 6.12%,高热伴寒战发生率 0.91%。

2.2 高热寒战患者的血培养结果 通过对 7 例高热寒战患者进行血培养,有 5 例培养出现阳性,致病菌阳性发生率 0.65%。致病菌分别为金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和枯草杆菌。

3 讨 论

3.1 原因分析

3.1.1 由 IL-2 及 CIK 回输后释放的细胞因子有关^[7-8]。CIK 细胞在培养及回输时均加入 IL-2。有 32 例患者在细胞回输治疗前,遵医嘱肌肉注射了盐酸异丙嗪,治疗几个疗程后,没有发热、寒战等反应。由于盐酸异丙嗪的嗜睡作用,患者就拒绝再用。之后的疗程 CIK 细胞治疗在没有使用盐酸异丙嗪的情况下,32 例患者中有 20 例患者体温出现了低热,6 例中度发热,6 例体温正常。

3.1.2 在输注细胞治疗前,患者体内存在潜在感染。有 2 例患者在输注 CIK 细胞前白细胞较入院时升高,尤其中性粒细胞升高明显,但白细胞总数在正常范围内,分别在输注 CIK 细胞的第 1、3 天体温出现中度发热,患者诉咽部疼痛明显,查体扁桃体红肿。有 3 例患者在输注 CIK 细胞的第 3、4 天体温出现中度发热,询问病史,患者有感冒症状。有 2 例患者在输注 CIK 细胞第 1、2 天过程中出现高热寒战,抽患者静脉血培养,结果为致病菌阳性,将输注 CIK 细胞取样检测,结果为致病菌阴性,2 例患者均为化疗后,白细胞低,属Ⅲ度骨髓抑制,正在提升白细胞治疗中。有文献报道,肿瘤患者医院感染率高于医院内其他病区患者^[9]。

3.1.3 CIK 细胞纯度不够及老化,细胞碎片过多,短时间回输大量细胞,输注滴速控制不好。老化的细胞及细胞碎片对机体不再有免疫作用,而是一种异物,输入大量异物后,机体出现应激反应。6 例患者在回输时发现细胞培养基颜色变淡,倒置相差显微镜下观察细胞数目多,细胞碎片多。输注结束后患者体温出现低热。

3.1.4 患者在输入 CIK 细胞,同时也输入了其他药物。有 1 例患者在输注 CIK 细胞,同时输入了 3 组其他液体。在输注 CIK 细胞时出现了高热寒战,将 CIK 细胞和 CIK 细胞前一组液体分别取样检测,结果 CIK 细胞前的一组液体有致病菌。

3.1.5 工作不认真,责任心不强,未看检验科送回的取样培养液微生物检测结果。有 1 例患者取样培养液检测结果为微生物阳性,说明细胞在培养过程中已污染,而且是致病性细菌,而工作人员没有将细胞及时从培养箱拿出,回输工作人员又未看检测报告,将有菌细胞回输给患者,在输注过程中出现了高热寒战。

3.1.6 细胞制备培养期间无污染,回输前培养液取样检测阴性,在细胞回输制备过程中无菌操作不严导致细胞污染。有 3 例患者在输注 CIK 细胞过程中出现高热寒战,立即停止输注,将输注的 CIK 细胞取样检测,结果为致病菌阳性。

3.2 预防措施

3.2.1 在细胞治疗中加入 IL-2,常见的不良反应是发热、寒战,一般是一过性发热 38°C ,亦可有寒战高热,停药后 3~4 h 体温可自行恢复。这是正常的一种反应。CIK 细胞回输后释

放细胞因子,也会引起发热反应。为了防止这一反应输注前 30 min 肌肉注射盐酸异丙嗪 25 mg,必要时静脉推注地塞米松。对盐酸异丙嗪引起嗜睡者口服消炎痛 25 mg。对不配合治疗的患者给予耐心解释。

3.2.2 肿瘤患者免疫力低下,放、化疗后白细胞下降,比其他病区的患者更容易发生医院感染。做好病区的环境消毒,防止交叉感染。放化疗患者及时查白细胞,防止发生重度骨髓抑制。做好患者保护措施,减少探视人员,重度骨髓抑制患者进行保护性隔离。

3.2.3 质控检测细胞数量、活细胞比率和细胞表型,输注前用流式细胞术检测细胞表型,CD3⁺ 和 CD56⁺ 细胞比例,要求符合 CIK 细胞的免疫表型特征。细胞治疗数量达到 $10^9 \sim 10^{10}$ 数量级,活细胞比例要超过 95%^[10]。若细胞老化,那么细胞碎片相应增多,回输制备时采用低速离心,这样细胞碎片大部分就悬浮在培养液里,弃上清液,减少细胞碎片输入体内,输注时必须用输血器,开始时输注速度每分钟 15 滴,患者无反应,再将输注速度增加为每分钟 60 滴。

3.2.4 细胞治疗回输,最好是与其他药物组分开输注。

3.2.5 加强工作责任心,把好质控关 工作人员及时关注微生物检测结果,若检测结果阳性则终止该批培养,从培养箱拿出。在回输 CIK 细胞之前,先看检测报告单结果,结果阴性,无任何污染才能回输,或者细胞培养室跟检验科沟通,培养过程中发现有异常情况,及时电话告知细胞治疗室。

3.2.6 严格无菌操作,定期做细胞培养室空气培养,检测菌落数。培养室每天用含氯消毒剂擦拭,定期对 CO₂ 培养箱消毒灭菌,每次操作前紫外线照射房间和安全柜 1 h,定时更换紫外线灯管,所用耗材均是无菌一次性。在进入 GMP 无菌间前,所有物品在传递窗内紫外线照射 1 h,细胞在培养过程中定期取样送检验科做微生物(细菌、真菌、支原体)检测。细胞培养微生物检测是阴性,而在细胞洗涤回输制备完毕,给患者回输治疗前,还要取回输细胞液做微生物培养检测。

总之,CIK 细胞的制备在 GMP 标准的细胞实验室完成,操作人员要严格地进行质量控制,加强责任心,保障细胞培养期间及回输制备的无菌。输注前检测细胞数量、活细胞比率及表型。在临床方面,也要注意引起感染的因素控制,护理人员在输注过程的无菌操作、输注速度的掌控。输注细胞前遵照医嘱肌肉注射盐酸异丙嗪,必要时静脉推注地塞米松,及早发现医院感染。免疫细胞治疗作为三类医疗技术,现在还没有统一标准,为了确保治疗的安全性,应继续探讨,不断完善。

参考文献

- [1] 任秀宝. 关于肿瘤免疫治疗疗效评价的思考[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18(1): 7-11.
- [2] 姜文奇, 张晓实. 肿瘤生物治疗[M]. 广州: 科技出版社, 2006: 1.
- [3] Hoffman DM, Gitlitz BJ, Beldegrum A, et al. Adoptive cellular therapy[J]. Semin Oncol, 2000, 27(2): 221-223.
- [4] Li JJ, Gu MF, Pan K, et al. Autologous cytokine induced killer cell transfusion in combination with gemcitabine plus cisplatin regimen chemotherapy for metastatic nasopharyngeal carcinoma[J]. J Immunother, (下转第 937 页)

细菌感染的早期诊断指标,但对病毒感染的鉴别价值不大。如何有效区分细菌感染还是病毒感染对临床诊断和治疗显得尤为重要。有研究发现 SAA 在细菌和病毒感染的早期均可明显升高^[4]。SAA 是一类多基因编码的多形态蛋白家族,组织淀粉样蛋白 A 的前体物质,和 CRP 均为主要的急性时相性反应蛋白,当机体受病原体感染时,会出现急性时相性反应,导致 CRP、SAA 等在肝内的合成增加,其血清中的水平也将发生明显改变。尽管上述变化是机体对外界因子刺激的非特异性反应,但是疾病的类型和严重程度不同,血清 CRP、SAA 水平的变化也不同。目前,细菌、病毒感染、动脉粥样硬化、冠心病、急性移植排斥反应、肿瘤等疾病中均检测到血清 SAA 升高。某些疾病,如病毒感染、移植排斥反应、冠心病等,SAA 的敏感性高于 CRP,可为临床提供更好的参考价值。作为一项新的检测指标,SAA 正受到人们越来越多的关注^[2,5]。PCT 作为一个急性的参数来鉴别诊断细菌性和非细菌性感染和炎症。当严重细菌、真菌、寄生虫感染及脓毒血症和多脏器功能衰竭时它在血浆中的水平升高。自身免疫、局部有限的细菌感染、过敏和病毒感染时 PCT 不会升高^[3]。本文根据血清中 CRP、SAA、PCT 水平探讨 CRP、SAA 和 PCT 对感染性疾病的早期鉴别诊断价值。

本研究表明,细菌感染组血清 CRP、SAA、PCT 及 WBC 均明显高于病毒感染组和健康对照组,尤其是脓毒血症和全身炎症反应患者中 PCT 水平变化更为显著^[6]。另外,作者发现在病毒感染组只有 SAA 水平明显增高,CRP、PCT 水平增高不明显,但 SAA/CRP 明显高于细菌感染组。提示在病毒感染时,血清 SAA 变化较 CRP 变化更为敏感,因此血清 SAA 水平可作为判断病毒感染灵敏而可靠的监测指标^[7]。Logistic 回归分析结果显示 SAA、WBC、CRP 和 PCT 为细菌感染的独立危险因素,可作为判断早期细菌感染的指标之一。SAA 和 WBC 为病毒感染的独立危险因素,而 CRP 和 PCT 非病毒感染的独立危险因素,说明病毒感染中 CRP 和 PCT 水平变化不明显或仅有轻微变化,与健康对照组水平差异不大,无法作为病毒感染的判断依据。由于细菌脂多糖短时间内能诱导大量 PCT 生成,故细菌内毒素是诱导 PCT 产生的最主要的刺激因子;病毒感染时因干扰素- γ 的释放阻断 PCT 的合成,故不会导致 PCT 升高^[8]。细菌感染组 ROC 曲线下面积 CRP>

SAA>PCT>WBC,且 CRP、SAA 和 PCT 的 ROC 曲线下面积均在 0.900 以上,说明以上指标诊断细菌感染有较高准确性。病毒感染组 ROC 曲线下面积仅 SAA 达到 0.859,具有较好的诊断准确性,其他指标对病毒感染的诊断缺乏敏感性。

综上所述,在细菌感染中 CRP、SAA 和 PCT 水平均可明显增高,而病毒感染中只有 SAA 水平明显增高。因此,在临床感染性疾病诊疗过程中,应在血常规和 CRP 等常规检查项目上,联合检测血清 SAA 和 PCT 的动态变化情况,有助于细菌感染与病毒感染的早期鉴别诊断、病情监测及预后判别。

参考文献

- [1] Korppi M, Kroger L. C-reactive protein in viral and bacterial respiratory infection in children[J]. Scand J Dis, 1993, 25(2): 207-213.
- [2] 陈长强, 顾志冬, 樊绮诗. 血清淀粉样蛋白 A 在疾病应用中的研究进展[J]. 检验医学, 2012, 27(9): 776-779.
- [3] 降钙素原急诊临床应用专家共识组. 降钙素原(PCT)急诊临床应用的专家共识[J]. 中华急诊医学杂志, 2012, 21(9): 944-951.
- [4] Yamada T. Serum amyloid A(SAA): a concise review of biology, assay methods and clinical usefulness[J]. Clin Chem Lab Med, 1999, 37(4): 381-388.
- [5] 邓文蓉, 肖桃源, 沈宝茗. 血清淀粉样蛋白 A 与疾病的相关性[J]. 现代医药卫生, 2013, 29(7): 1032-1034.
- [6] 朱星成, 段勇, 王冬菊, 等. PCT、hs-CRP、SAA 检测在脓毒血症早期诊断的临床应用价值[J]. 实用检验医师杂志, 2014, 6(1): 27-30.
- [7] 戴利成, 沈水荣, 吴阶明, 等. 联合检测 SAA 和 CRP 对小儿感染性疾病的早期鉴别诊断价值[J]. 上海医学检验杂志, 2003, 18(4): 227-228.
- [8] Azoulay E, Mokart D, Lambet J, et al. Diagnostic strategy for hematology and oncology patients with acute respiratory failure: randomized controlled trial[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 182(8): 1038-1046.

(收稿日期: 2015-07-28 修回日期: 2015-11-25)

(上接第 934 页)

- 2012, 32(2): 189-195.
- [5] 罗虎, 宫亮, 陈水峰, 等. CIK 维持治疗中晚期肺癌的临床观察及影响因素分析[J]. 第三军医大学学报, 2012, 35(6): 569-572.
- [6] 蒋敬庭. 细胞因子诱导的杀伤细胞抗肿瘤机制及应用[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(10): 837-841.
- [7] 赵和泰, 李丁, 李江涛, 等. DC-CIK 细胞治疗中晚期恶性肿瘤的临床疗效分析[J]. 肿瘤药学, 2012, 2(1): 54-56.
- [8] 兰大华, 谭文霞, 王林娟, 等. 恶性肿瘤患者 DC-CIK 治

- 的 269 例护理体会[J]. 重庆医学, 2012, 41(11): 1078-1079.
- [9] 候彩妍, 徐丽丽, 吴琼, 等. DC-CIK 细胞治疗恶性肿瘤的感染因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(13): 3126-3127.
- [10] 夏禾爱, 郝建峰, 陈玲, 等. DC-CIK 细胞的制备及其对恶性肿瘤的疗效观察[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(10): 2194-2197.

(收稿日期: 2015-05-30 修回日期: 2015-12-10)