

A- NK 细胞联合 IL- 2, IL- 12 在肿瘤免疫治疗中的作用

哈尔滨医科大学附属肿瘤医院

(150081) 蓝毓滨 蓝毓进 蓝毓新

哈尔滨医科大学肿瘤防治研究所肿瘤生物治疗研究室 (150081) 王志华

摘要: 本文对 A- NK 细胞联合 IL- 2 和 IL- 12 在抗肿瘤免疫治疗中的作用进行了论述。强调联合应用可高效激活 A- NK 细胞, 提高对肿瘤细胞的杀伤活性。减少 IL- 2 和 IL- 12 的用量及副作用, 提高疗效。

关键词: A- NK 细胞; 肿瘤免疫治疗; 联合应用

The Function on Tumor Immunotherapy with A- NK Cells Combined with IL- 2 and IL- 12

LAN Yu- bin, WANG Zhi- hua, LAN Yu- jin, et al

The Affiliated Tumor Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, China

Cancer Research Institute, Harbin Medical University, Harbin 150081, China

ABSTRACT: This article talks about the function on tumor immunotherapy with A- NK cells combined with IL- 2 and IL- 12. It stresses upon the combined utilization may activate A- NK cells with higher effectiveness and improve the killing activation for the tumor cells. It may decrease the usage and toxic effect of the IL- 2 and IL- 12, and also raise the treatment effect.

Key words: A- NK cells; Tumor immunotherapy; Combined Utilization

1988 年 Vujanovic 等分离出一种新的淋巴细胞亚群, 由于其有粘附于塑料表面的特性, 被命名为粘附性淋巴因子激活的杀伤细胞(A- LAK)。由于其多数为 CD3- CD56+ 的 NK 细胞, 90 年代后学者以 A- NK(adherent natural killer cells) 代替这个名称。它具有体外增殖力强, 抗肿瘤能力强等特点。成为更有前途的一类免疫细胞。

A- NK 来源于外周血单个核细胞、脾细胞、骨髓、淋巴结等。而脾细胞是最好的来源。用单核细胞通过尼龙柱去除 B 细胞和单核细胞, 用负免疫吸附法纯化 NK 细胞, 然后与 IL- 2 培养 3- 5 小时即得到粘附在塑料瓶壁的 A- NK 细胞。

Triozi 等^[1]采用苯丙氨酸甲脂去除单核巨噬细胞, 获得肾癌患者的 A- NK 细胞。其增殖活性和杀伤力有所增强。Kitson RP 证实苯丙氨酸在人体内的自然代谢产物之一的苯乙酸, 能起协同作用, 增强 A- NK 细胞活性^[2]。

目前, 我们采用无血清培养基取代完全培养基添加血清的方法, 二者所得培养物的数目和功能相当。

A- NK 细胞的前体细胞不同于人类绝大多数的 NK 细胞, 表达低水平 CD16 和 CD56, 细胞毒性较低, 几乎不引起自身免疫。透射电镜证实 A- NK 细胞高度极化, 颗粒丰富。其表面有许多粘附分子。其粘附血管内皮、浸润细胞外间质、杀伤肿瘤细胞等生物学功能均依赖这些成分。其中 CD11c、CD11b、CD18 在 A- NK 细胞与靶细胞相互识别和杀伤靶细胞中起重

要作用。

A- NK 细胞具有强大的体外扩增能力和较高的抗肿瘤作用。在 IL- 2 参与下 96 小时 A- NK 细胞增殖比 NA- NK 细胞高 3- 8 倍, 其增殖快于 LAK 细胞, 到第 14 天可达 23- 243 倍。

A- NK 有广谱体外抗肿瘤活性, 对 NK 敏感和非敏感细胞均显示出强大的杀伤能力。其杀瘤机制可能是: A- NK 介导的 ADCC 作用, 释放穿孔素/ 粒酶 B, 使肿瘤细胞溶解坏死。其中存在一种浆膜相关溶解因子, 通过使 DNA 断裂和胞膜大面积肿胀而致靶细胞死亡, 部分肿瘤细胞凋亡在杀伤中起重要作用。分泌 IL- 2、IL- 4、INF- γ 、TNF- α 等细胞因子激活机体的免疫系统。

A- NK 细胞能识别“自己”和“非己”对自身细胞无杀伤作用。当 MHC I 类分子缺失或异常(如肿瘤)时, 其活性恢复裂解肿瘤细胞。Kim 等证实 A- NK 细胞向肿瘤聚集时能分泌多种基质金属蛋白酶 MMPs, 使 A- NK 细胞能降解细胞外基质, 聚集到肿瘤周围。

IL- 12 具有促进 NK 细胞、T 细胞增殖, 增强 NK 细胞、淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)、T 细胞以及巨噬细胞等效应细胞的溶细胞活性。调节 Th0 细胞向 Th1 细胞发育, 促进 Th1 细胞分泌 INF- γ 和 IL- 2, 介导细胞免疫应答; 诱导 T 细胞和 NK 细胞产生 INF- γ ; 增强髓外造血功能。

作者简介: 蓝毓滨, 男, 硕士研究生

收稿日期: 2005- 12- 06, 接受日期: 2005- 12- 29

IL-12 可激活 A-NK 细胞,部分替代 IL-2 细胞生长的刺激和成熟作用,增强 A-NK 细胞的杀伤肿瘤的能力。应用 IL-2 联合 IL-12 诱导激活 A-NK 细胞获得较高杀伤活性,不但降低 IL-2 的用量也降低了大量应用 IL-2 所引起的毒副作用。有人用 rhIL-15 诱导激活 A-NK 细胞取得比 rIL-2 更好的效果。

Melder^[3] 最早使用 A-NK/IL-2 治疗肾癌和黑色素瘤,发现 A-NK 细胞有强大的抗肿瘤作用。Munari 用 PBL 源性 A-NK/IL-2 治疗恶性胶质瘤,认为肿瘤原发部位直接注射效应细胞是有效的方法^[4]。Ribeiro 等用 A-NK/IL-2 治疗大肠癌 HT-29 明显抑制了肿瘤生长。Gu 等发现 A-NK 细胞能迅速聚集到肿瘤周围。Yang 等用 A-NK/IL-2 治疗小鼠 B16 转移瘤有效率 65%–90%。

目前,有人用脐血分离 A-NK 细胞治疗小细胞肺癌,高于 LAK 细胞组。在肿瘤供应动脉直接输入 A-NK/IL-2,取得理想疗效^[5]。由于 A-NK 细胞有较强的杀瘤和血管粘附能力,将 A-NK/IL-2 用介入法直接注射到肝癌瘤组织内可能获得更好的疗效。

有学者指出健康人外周血分离出的 A-NK 细胞增殖能力和杀伤能力均高于肿瘤患者外周血 A-NK 细胞。如预先注射弗氏佐剂或其它免疫增强剂,能增强 A-NK 细胞聚集,提高抗癌活性。Quintieri L 等将偶联有阿霉素的 A-NK 细胞注入患者体内,提高了 A-NK 细胞的靶向性。Lister J 等采用 A-NK/IL-2 联合大剂量化疗和造血干细胞移植的方法,治疗复发淋巴瘤和乳腺癌产生良好耐受性,使外周血中 A-NK 细胞的数量和活性有所提高^[6]。

肿瘤患者免疫功能常处于抑制状态,向肿瘤患者转输具有抗肿瘤活性的免疫细胞,可直接杀伤肿瘤或激发机体免疫反应杀伤肿瘤细胞,与传统的三大治疗手段相辅,可提高疗效和改善患者生存质量。A-NK 细胞由于体外增殖和抗肿瘤能力强,对正常细胞无杀伤作用,成为肿瘤过继免疫疗法的研究热点^[7,8,9]。

IL-12 是目前已知激活 NK 细胞和 CTL 细胞生物活性最强的细胞因子。IL-12 主要由单核细胞、巨噬细胞产生,此外树突状细胞、中性粒细胞、朗格汉斯细胞、角朊细胞也可产生 IL-12。

IL-12 可明显提高 NK 细胞杀伤靶细胞的细胞毒活性,是有效的免疫调节因子,与 IL-2 和 IFN- γ 相比,抗癌效应更强,毒副作用低。促进 NK 细胞杀伤所需的 IL-12 浓度低于 IL-2。Wigginton 发现 IL-12 能诱导肿瘤细胞 Fas 和 Fas 配体表达相互作用诱导肿瘤细胞凋亡^[11,12,13]。

IL-12/IL-2 联合应用在体外可使淋巴细胞毒作用明显增强,体内联合应用 IL-12/IL-2 对鼠原发和转移性肾癌模型的治疗结果显示,具有更强的抗癌能力,可引起肾癌原发灶及转移灶迅速,完全消退^[7]。

IL-2 联合 IL-12 可高效激活 A-NK 细胞,提高体外杀

伤活性,其瘤苗有效诱导 A-NK 细胞抗肿瘤免疫,提高疗效。但也有关于 IL-12 毒副作用的报道,美国遗传研究所的临床 I 期实验结果表明:IL-12 的安全剂量方案必须符合个体化原则。而另一小组对肾癌患者的临床 II 期研究的 17 人中有 15 人出现严重毒副作用,累及器官和系统,如胃肠道出血、肝毒性和贫血,其中两人死亡。造成耐受性差异的原因可能与剂量应用方案有关。

参考文献

- [1] Triozi PL, Aidrich W, Kim J, et al. Biologic effects of the adoptive transfer of cells depleted of monocytes with L-phenylalanine methyl ester [J]. Immunopharmacology, 1994, 28(1): 37
- [2] Kitson RP, Ohashi M, Brunson KW, et al. Flavone acetic acid enhances accumulation of IL-2 activated NK cells within established metastases [J]. In Vivo, 1998, 12(6): 593
- [3] Melder RJ, Whiteside TL, Vujanovic NL, et al. A new approach to generating antitumor effectors for adoptive immunotherapy using human adherent lymphokine-activated killer cells [J]. Cancer Res, 1988, 48(12): 3461
- [4] Munari L, Silvani A, Passerini CG, et al. Adoptive immunotherapy with adherent lymphokine-activated killer (A-LAK) cells in glioblastoma multiforme [J]. J Neurosurg Sci, 1990, 34(3–4): 283
- [5] Hagenaars M, Ensink NG, Koelemij JR, et al. Regional administration of natural killer cells in a rat hepatic metastasis model results in better tumor infiltration and anti-tumor response than systemic administration [J]. Int J Cancer, 1998, 75(2): 233
- [6] Lister J, Rybka WB, Donnerberg AD, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation and adoptive immunotherapy with activated natural killer cells in the immediate posttransplant period [J]. Clin Cancer Res, 1995, 1(6): 607
- [7] Wigginton JM, Komschlies KL, Back TC, et al. Administration of interleukin 12 with pulse interleukin 2 and the rapid and complete eradication of murine renal carcinoma [J]. J Natl Cancer Inst, 1996, 88(1): 38
- [8] 郑晓东. 人类 NK 细胞亚群的分类及意义 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2000, 9(2): 140–143
- [9] 王志华, 申宝忠, 史历. IL-4 增强 IL-2 活化的 A-NK 细胞对人直肠癌 CC95 的抗肿瘤作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(9): 1375–1377
- [10] Endsley JJ, Endsley MA, Estes DM. Bovine natural killer cells acquire cytotoxic/effector activity following activation with IL-12/13 and reduce Mycobacterium bovis BCG in infected macrophages [J]. J Leukoc Biol, 2005, 11(7): 1–2
- [11] Cho D, Lee WJ, Halloran PJ, et al. Enhancement of porcine natural kill activity by recombinant human and murine IL-12 [J]. Cell Immunol, 1996, Aug25; 172(1): 29–34
- [12] 张彦, 张春艳, 王志华, 等. A-NK/IL-2 抗肿瘤作用的研究 [J]. 实用肿瘤学杂志, 2003, 17(1): 20–23
- [13] 房静, 田志刚, 张彩, 等. 重组人 IL-15 诱导的粘附性 NK 细胞及其免疫学特性初探 [J]. 中华肿瘤杂志, 2001, 23(6): 444–447