

细胞因子与肿瘤治疗^①陈 蕾¹ 综述, 李康生² 审校

(1. 汕头大学医学院附属肿瘤医院; 2. 汕头大学医学院微生物免疫教研组, 广东 汕头 515031)

【摘要】细胞因子治疗肿瘤是近年来肿瘤免疫研究的新热点。细胞因子可激发宿主对肿瘤的免疫反应, 细胞因子联合化疗、放疗或手术治疗可提高治疗效果。重组细胞因子融合蛋白治疗肿瘤和细胞因子基因治疗肿瘤技术将为细胞因子治疗肿瘤开辟新的途径。

【关键词】细胞因子; 肿瘤; 基因

中图分类号: R730.51

文献标识码: A

细胞因子(cytokine)是一类由活化的免疫细胞和相关基质细胞分泌, 能作用于本身或其他细胞, 具有介导和调节免疫炎症反应等多种生物学活性的物质。大多数细胞因子为小分子分泌型单链含有糖基

侧链的糖蛋白^[1]。它们调节机体的生理功能, 参与各种细胞的增殖、分化和行使功能。它们能诱导长期的抗肿瘤免疫或消除已形成的肿瘤。细胞因子主要包括6大类: ①白细胞介素(IL1-18); ②集落刺激因子

① 收稿日期: 2002-10-15; 修订日期: 2003-01-07

作者简介: 陈 蕾(1962-), 女, 广东省丰顺人, 副主任医师, 主要从事肿瘤内科的临床防治研究。

E-mail: ligiuli@21cn.com

- 用的研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2000, 12(2): 79-81.
- [12] Wu K, Zhao Y, Liu BH, *et al.* RRR- α -tocopheryl succinate inhibits human gastric cancer SGC-7901 cell growth by inducing apoptosis and DNA synthesis arrest[J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8: 26-30.
- [13] Yu W, Heim K, Qian M, *et al.* Evidence for role of transforming growth factor- β in RRR- α -tocopheryl succinate-induced apoptosis of human MDA-MB-435 breast cancer cells[J]. *Nutr Cancer*, 1997, 27: 267-278.
- [14] Wu K, Liu BH, Zhao DY, *et al.* The effect of vitamin E succinate on the expression of TGF- β ₁, c-Jun and JNK1 in human gastric cancer SGC-7901 cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2001, 17: 83-87.
- [15] Guo YS, Hellmich MR, Wen XD, *et al.* Activator protein-1 transcription factor mediates bombesin-stimulated cyclooxygenase-2 expression in intestinal epithelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 22 941-22 947.
- [16] Herdegen T, Waetzig V. AP-1 proteins in the adult brain: facts and fiction about effectors of neuroprotection and neurodegeneration [J]. *Oncogene*, 2001, 20: 2 424-2 437.
- [17] Fan M, Goodwin ME, Birrer MJ, *et al.* The c-Jun NH(2)-terminal protein kinase / AP-1 pathway is required for efficient apoptosis induced by vinblastine[J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 4 450-4 458.
- [18] Yamaguchi K, Shirakabe K, Shibuya H, *et al.* Identification of a member of the MAPKKK family as a potential mediator of TGF- β signal transduction[J]. *Science*, 1995, 270: 2 008-2 011.
- [19] 李 焱, 吴 坤. 细胞凋亡的效应器[J]. 国外医学卫生学分册, 2001, 28(1): 50-54.
- [20] 李 焱, 吴 坤, 于卫平. 死亡受体 Fas 在人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡过程中的作用[J]. 国外医学卫生毒理学分册, 2002, 16: 29.
- [21] Yu W, Israel K, Liao QY, *et al.* Vitamin E succinate(VES) induces Fas sensitivity in human breast cancer cells: role for Mr 43,000 Fas in VES-triggered apoptosis[J]. *Cancer Res*, 1999, 59: 953-961.
- [22] Yu W, Sanders BG, Kline K. RRR- α -tocopheryl succinate inhibits EL4 thymic lymphoma cell growth by inducing apoptosis and DNA synthesis arrest[J]. *Nutr Cancer*, 1997, 27: 92-101.
- [23] Yu W, Liao QY, Hantash FM, *et al.* Activation of extracellular signal-regulated kinase and c-Jun-NH(2)-terminal kinase but not p38 mitogen-activated protein kinases is required for RRR-alpha-tocopheryl succinate-induced apoptosis of human breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 6 569-6 576.

(CSF); ③干扰素(IFN); ④肿瘤坏死因子(TNF); ⑤趋化因子(chemokine); ⑥生长因子(growth factor)。它们主要由淋巴细胞、单核巨噬细胞等产生,一些肿瘤细胞也可产生某些细胞因子。

细胞因子可作为恶性肿瘤生长的直接调节剂,可以杀伤肿瘤细胞而不影响正常细胞,可以通过作用于肿瘤的血管和营养供应系统影响宿主/肿瘤关系,也可以激发宿主对肿瘤的免疫反应,如IL-2体内外都能诱生具有很强细胞因子的淋巴细胞激活的杀伤细胞(LAK细胞)。LAK细胞能杀伤多种新分离出的肿瘤细胞而对正常细胞几乎无毒性。对造血有调节作用的细胞因子可用于抗肿瘤疗法的辅助治疗。目前应用细胞因子进行肿瘤免疫治疗的动物实验已取得了非常显著的效果,已有越来越多的细胞因子治疗方式引入临床实践中,细胞因子治疗肿瘤已成为细胞因子研究的新热点。

细胞因子治疗肿瘤有以下特点^[2]:无简单的剂量-反应关系,一般长期低剂量给药效果最好;疗效出现缓慢但持久;可延长患者寿命;副作用小而短暂;细胞因子联合化疗、放疗、手术治疗优于单一治疗;局部应用优于全身应用。

1 细胞因子在几种肿瘤治疗中的研究及应用现状

1.1 肾癌

FDA批准IL-2用于转移性肾癌的基础资料是从7个机构参加的多中心性研究的255名病人中获得的。所用方案由NCI外科部提供,具体为:IL-2 $6 \times 10^5 \sim 7.2 \times 10^5$ U/kg,15 min内静脉注射,第1~5 d,第15~19 d。总有效率为14%,包括CR(complete response,完全缓解)率4%。有效部位包括肝、肾上腺、肾原发部位、肺和淋巴结等转移处。总有效率虽然不高,但中位有效时间长达20个月,大部分CR者长期存活。说明了这一疗法可以给一部分晚期病人带来一定好处^[3]。David McDermott在第37届ASCO会议中报告大剂量IL-2可作为晚期肾癌的标准治疗^[4]。III期研究表明,大剂量IL-2与低剂量IL-2/IFN相比有效率分别为25%和11%,中位生存时间分别为15个月和12个月。

1.2 黑色素瘤

1985年12月美国NCI的Stephen Rosenberg在《新英格兰医学杂志》(英文版)上首次报道了25名晚期黑色素瘤和肾癌病人经大剂量IL-2加LAK细胞治疗后,有效率达44%,这一成绩轰动了世界^[3]。IL-2

对黑色素瘤的治疗也处于与肾癌相似的状态。李玉升等^[5]观察了136例恶性黑色素瘤病人术后应用IL-2、IFN、TAK等,并辅以放疗或化疗,总有效率25%,术后生物治疗组MST(中位生存时间)2年8个月,结果证明恶性黑色素瘤病人术后给予生物治疗可明显延长生存。美国的三个临床II期研究表明,用NCI外科部高剂量方案在134名病人中仅获总有效率20%的结果。其中,5名CR率4%,22名PR(partial response,部分缓解)率16%。由于有效率不高,有效持续时间较短,联合其他BRMs(biological response modifiers,生物反应调节剂)和化疗药物的化学免疫学治疗或生物化学治疗正积极开展中。在黑色素瘤所进行的大量临床研究结果表明,生物化学治疗有效率(CR+PR)稳定在45%~60%,是该病种目前有效率最高的治疗手段^[3]。

1.3 胶质瘤

DiMeco等^[6]直接将表达了IL-12的9L胶质肉瘤细胞注入大鼠脑内,发现大鼠的生存期显著延长,这为把细胞因子直接局部输入颅内来进行颅内恶性胶质瘤的临床提供进一步的支持。IL在胶质瘤的免疫治疗上常常是和其它细胞一起联合应用,如Kikuchi等^[7]发现在IL-2和IL-12共同刺激下,可增强杀伤细胞对鼠胶质瘤的抗肿瘤活性。Fathallah等^[8]发现在致命性大鼠恶性胶质瘤模型中,皮质内表达了IFN- γ 的遗传上改变的肿瘤产生了免疫应答,使大鼠的生存期延长。同样Knupfer等^[9]观察了IFN- γ 对人恶性胶质瘤细胞的体外增殖影响,发现IFN- γ 强烈抑制了人恶性胶质瘤的增殖,并使透明质酸的粘度减低。 $\gamma\delta$ T细胞是自体固有的肿瘤特异性杀伤细胞。Suzuki等^[10]研究发现,对恶性胶质瘤患者进行TNF- α 免疫治疗时,在很低浓度(1 μ g/ml)即能增强 $\gamma\delta$ T细胞产生的肿瘤特异性细胞毒作用,且当其于IL-2 50 U/ml应用时, $\gamma\delta$ T细胞产生的肿瘤特异性细胞毒作用进一步增强。Yamamoto等^[11]最近研究发现用TNF-SAM2(recombinant mutant human tumor necrosis factor- α ,重组突变型肿瘤坏死因子 α)结合化疗对恶性胶质瘤进行治疗也是有效而安全的,有利于提高患者生存率。

2 细胞因子治疗研究新策略及应用

2.1 重组细胞因子融合蛋白治疗肿瘤

重组细胞因子融合蛋白治疗肿瘤有以下几种方式:①细胞因子与细胞因子融合;②细胞因子与抗原融合;③细胞因子与抗体融合;④细胞因子与毒素融

合。

将两种细胞因子融合成一种新的蛋白,可发挥其双因子抗癌和增强免疫的综合效应,可能出现双因子简单合用所不具备的生物学效应。IL-2和IL-6在细胞水平有较好的协同作用。Rock等国外学者构建了IL-2和IL-6融合蛋白。体外实验表明,这种融合蛋白既可诱导T、B细胞表达IL-2受体和IL-6受体,还可以作为“分子桥”促进和稳定T、B细胞之间的相互作用,这有可能成为恶性疾病治疗中的免疫调节剂。国内学者赵春华等^[12]也构建了IL-6与IL-2融合蛋白(FPIL-6/2),并对此融合蛋白的分子生物学特性进行了研究。

Tao等^[13]从B淋巴瘤细胞(38C13)分离出Id(独特型免疫球蛋白),将其与GM-CSF基因融合,构建了Id与GM-CSF融合蛋白,Id的免疫原性显著增强,在不用任何载体蛋白和佐剂情况下,就可诱导出具有抗肿瘤作用的特异性抗Id抗体。细胞因子与抗体融合蛋白多采用IL-2。Naramura等构建了抗人表皮生长因子受体(EGFR)的鼠嵌单克隆抗体225与IL-2的融合蛋白Ch225-IL-2。Ch225-IL-2可与EGFR高亲和性结合,且与重组人IL-2有相同的活性,保留了抗体和IL-2两种蛋白的活性。Ch225-IL-2可增强外周血单核细胞、NK细胞和活化T细胞对黑色素瘤细胞系的毒性作用,因而具有良好的抗癌效应。在免疫重建的SCID鼠黑色素瘤肝、肺转移瘤模型中,肿瘤特异性的融合蛋白Ch225-IL-2和Ch14.18IL-2抑制转移灶的生长,甚至在注射肿瘤细胞后8天,肿瘤已形成的情况下,也能完全消退微转移病灶。该研究表明,借助抗体将细胞因子导向到肿瘤部位的免疫治疗方法可有效对抗人类黑色素瘤的播散^[14]。

细胞因子与毒素融合蛋白是以细胞因子取代毒素分子的识别区域,使毒素蛋白能选择地杀伤含有相应细胞因子受体的靶细胞,从而达到治疗的目的。Kreitman等^[15]构建了假单胞外毒素(PE)与IL-4的融合毒素,该融合毒素可杀伤培养的淋巴瘤细胞和恶性胶质瘤细胞。

由于机体很多功能是由细胞因子相互协调完成的,因此,双因子的协同作用能够实现细胞因子与其它功能分子之间作用的优化,细胞因子融合蛋白可能为肿瘤治疗提供了新的途径。

2.2 细胞因子基因治疗恶性肿瘤

肿瘤的基因疗法是应用基因工程技术直接纠正肿瘤细胞的基因结构及(或)功能缺陷,或间接通过

增强宿主对肿瘤的杀伤能力和机体的防御机能来治疗肿瘤。免疫基因治疗多集中在细胞因子基因治疗的研究。细胞因子基因治疗肿瘤的原理主要是利用被导入细胞因子的细胞在体内持续高效产生细胞因子而发挥抗肿瘤作用,从而克服了以往反复多次给肿瘤患者或动物模型注射大剂量细胞因子所带来的副作用,也取得了外源性细胞因子所不具备的治疗作用^[16,17]。

大量的实验研究在一系列动物肿瘤细胞因子基因治疗的基础上,已逐步过渡到对肿瘤病人的应用。IL-12被认为是最强大的具有抗癌作用的细胞因子之一。用IL-12融合基因导入NIH-3T3成纤维细胞后,混合B16黑色素瘤细胞一同注射,取得了良好的抗癌效果^[18]。但NIH-3T3细胞很容易被机体排斥,如把IL-12的基因直接导入自体的正常或肿瘤细胞(带有所有抗原)作为疫苗,将更加有效。上皮起源的肿瘤中,MHC抗原阴性的比例可以高达88%,在鼠未分化型黑色素瘤B8H1模型中,Nanni^[19]用反转录病毒载体将IL-12的融合基因导入B8H1细胞作为疫苗,体内应用可以使80%~90%的荷B8H1肿瘤小鼠体内的肿瘤消退,IL-12的产量 10^6 细胞24h达到了400~2500pg/ml。IL-12基因疫苗在小鼠结肠癌和乳腺癌模型中也同样取得了良好的疗效^[20]。Tahara、Lotze等^[21]用自体成纤维细胞的IL-12基因疫苗治疗了18名黑色素瘤、乳腺癌、胸颈部肿瘤和浅表T淋巴瘤的患者。从患者的腹部切取一小块皮肤培养出成纤维细胞,用反转录病毒将IL-12的融合基因导入,经G418筛选、细胞扩增,经病毒、细菌、支原体检查阴性,照射后分次回输,细胞总数达 10^7 。 10^6 细胞48hIL-12的表达平均120ng/ml。目前,此方案已批准进入临床II期。

Schultz等^[22]将IL-12真核表达质粒注射于肌肉内,发现可以明显抑制恶性黑色素瘤B16、F10的肺转移。Izquierdo等^[23]证明将IFN- γ 基因转入细胞毒性T淋巴细胞(CTL),对瘤细胞的杀伤活性可提高2~3倍。近年来为提高抗肿瘤疗效,选择具有协同/互补作用的细胞因子联合应用。如Vagliani等^[24]将制备的IL-12瘤苗接种到体内后联合全身应用rIL-2(重组IL-2),获得了比单用rIL-12或IL-2瘤苗更为有效的抗癌效果,许多被免疫基因直接注射的淋巴结已表现出明显的免疫调节作用,其中,1例转移性的恶性黑色素瘤病人获得显著的临床治疗效果,肿瘤消退达7个月之久^[25]。

基因治疗是一项生物高技术,它集中了基因分离、基因导入人体、基因在人体内高效表达及其调控。细胞因子基因治疗尚需在肿瘤临床实验中证实其有效性。

综上所述,细胞因子可激发宿主对肿瘤的免疫反应,细胞因子联合化疗、放疗或手术治疗可提高治疗效果。重组细胞因子融合蛋白治疗肿瘤和细胞因子基因治疗肿瘤技术将为细胞因子治疗肿瘤开辟新的途径。随着现代生物技术的发展,通过调动宿主的天然防卫机制或给予机体某些物质来取得抗肿瘤效应的生物治疗,已经成为治疗肿瘤的第四手段了。对抗肿瘤防卫机制的基础理论的深入理解及生物技术的迅速发展使得临床上大规模运用生物反应调节剂成为可能。细胞因子治疗虽然仍是处于发展期,但已有很多典型的病例及其反映出来的理论探索的成功性足以激发人们将这一疗法继续向前推进。面向21世纪的肿瘤治疗,抗癌药物的发展将从细胞毒性药物的攻击转向非细胞毒性药物的调节。其中生物治疗将起到极其重要的作用,而细胞因子治疗作为生物治疗的手段之一,将为肿瘤免疫治疗再添光彩。

参考文献:

- [1] 崔正言. 细胞因子抗肿瘤应用中应注意的问题[J]. 中国肿瘤, 1999, 8(5): 239-240.
- [2] 曹世龙. 肿瘤学新理论与新技术[M]. 上海: 上海科技教育出版社, 1997. 141-142.
- [3] 储大同. 肿瘤生物治疗进展[C] 2001, CSCO会议专题报告(光盘版).
- [4] McDermott D. High-Dose IL-2 Is Standard in Advanced Renal Cell Cancer[N]. *Oncology News International*. 2001, 10, 2-3.
- [5] 李玉生, 李峻岭, 崔成旭, 等. 恶性黑色素瘤的生物治疗和生物化疗[C]. 2000, CSCO会议论文(光盘版).
- [6] DiMeco F, Rhines LD, Hanes J, et al. Paracrine delivery of IL-12 against intracranial 9L gliosarcoma in rats[J]. *J Neurosurg*, 2000, 92(3): 419-427.
- [7] Kikuchi T, Joki T, Abe T, et al. Antitumor activity of killer cells stimulated with both interleukin-2 and interleukin-12 on mouse glioma cell[J]. *J Immunother*, 1999, 22(3): 245-250.
- [8] Fathallah-Shaykh HM, Gao W, Cho M, et al. Priming in the brain, and immunologically privileged organ, elicits anti-tumor immunity[J]. *Int J Cancer*, 1998, 75(2): 266-267.
- [9] Knapfer MM, Knapfer H, Van Gool S, et al. Interferon gamma inhibits proliferation and hyaluronic acid adhesion of human malignant glioma cells *in vitro*[J]. *Cytokine*, 2000, 12(4): 409-412.
- [10] Suzuki Y, Fujimiya Y, Ohno T, et al. Enhancing effect of tumor necrosis factor(TNF)-alpha, but not IFN-gamma, on the tumor-specific cytotoxicity of gammadelta T cells from glioblastoma patients[J]. *Cancer Lett*, 1999, 140.
- [11] Yamamoto M, Fukushima T, Hayashi S, et al. Correlation of the expression of nuclear factor-kappa B, tumor necrosis factor receptor type1(TNFR-1) and c-Myc with the clinical course in the treatment of malignant astrocytomas with recombinant mutant human tumor necrosis factor-alpha(TNF-SAM2) [J]. *Anticancer Res*, 2000, 20(1C): 611-618.
- [12] 赵春华, 唐佩弦, 段然, 等. IL-2和IL-6融合蛋白的分子生物学特性的研究[J]. 免疫学杂志, 1995, 11(3), 154-156.
- [13] Tao MH, Levy R. Idiotype/granulocyte-macrophage colony-stimulation factor fusion protein as a vaccine for B-cell lymphoma[J]. *Nature*, 1993, 362(6422): 755-758.
- [14] Becker JC, Pancock JD, Gillies SD, et al. Eradication of human hepatic and pulmonary melanoma metastases in SCID mice by antibody-interleukin 2 fusion proteins[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93(7): 2702-2707.
- [15] Kreitman RJ, Puri PK, Panstam I. Increased antitumor activity of a circularly permuted interleukin 4-toxin in mice with interleukin 4 receptor-bearing human carcinoma[J]. *Cancer Res*, 1995; 55(15): 3357-3363.
- [16] 周郁, 周仲毅. 肿瘤细胞因子基因治疗的研究现状[J]. 西北国防医学杂志, 2001, 3, 22(1): 66-67.
- [17] 孟箭, 郭伟. 细胞因子基因治疗肿瘤的研究[J]. 肿瘤学杂志, 2001, 7(3): 181-183.
- [18] Salgaller ML, Lodge PA. Use of cellular and cytokine adjuvants in the immunotherapy of cancer[J]. *J Surg Oncol* 1998; 68: 122-138.
- [19] Nanni P, Rossi I, Giovanni CD, et al. Interleukin 12 gene therapy of MHC-negative murine melanoma Metastases[J]. *Cancer Res* 1998; 58: 1225-1230.
- [20] Bramson JL, Hitt M, Addison CL, et al. Direct intratumoral injection of an adenovirus expressing Interleukin-12 induces regression and long-lasting immunity that is associated with highly localized expression of Interleukin-12[J]. *Hum Gene Ther* 1996; 7: 1995-2002.
- [21] Tahara H, Lotze MT. IL-12 gene therapy using direct injection of tumors with genetically engineered autologous fibroblasts[J]. *Hum Gene Ther* 1995; 6: 1607-1624.
- [22] Schultz J, Pavlovic J, Strack B, et al. Long-lasting anti-metastatic efficiency of interleukin plasmid DNA [J]. *Hum Gene Ther*, 1999, 10(3): 407-417.
- [23] Izquierdo M, Contes M, Felipe P, et al. Long-term rat survival after malignant brain tumor regression by retroviral gene therapy [J]. *Gene Ther*, 1995, 2(1): 66-69.
- [24] Vagiani M, Rodolfo M, Cavallo F, et al. Interleukin 12 potentiates the curative effect of a vaccine based on interleukin 2-transduced tumor cells[J]. *Cancer Res*, 1996, 56: 467-470.
- [25] Wong RJ, Patel SG, Kim S. Cytokine gene transfer enhances herpes oncolytic therapy in murine squamous cell carcinoma[J]. *Hum Gene Ther*, 2001, 12(3): 253-265.