

- [23] Rollo, R. et al., 1981, *Plant Sci. Lett.*, 20: 347—354.
- [24] Rollo, F. & Hull, R., 1982, *J. Gen. Virol.* 60, 359—363.
- [25] Uchimiya, H. & Harada, H., 1981, *Plant Physiol.*, 68: 1027—1030.
- [26] Ohgawara, T. et al., 1983, *Protoplasma* 116: 145—148.
- [27] Lurquin, P. F., 1979, *Nucleic Acids Res.*, 6: 3773—3784.
- [28] Watanabe, Y. et al., 1982, *Virology.*, 120: 478—480.

淋巴因子激活的杀伤细胞和肿瘤继承免疫治疗的新进展

李兴强

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

1980年, Rosenberg等人首先观察到,小鼠脾脏细胞或新鲜制备的人外周血淋巴细胞与无凝集素的白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)的制备物温育,可诱导产生抗各种新鲜实体瘤细胞的杀伤细胞。这种由IL-2激发的杀伤细胞就称为淋巴因子激活的杀伤(lymphokine activated killer, LAK)细胞^[1,2]。由于LAK细胞能杀伤组织学差异很大的肿瘤细胞如黑色素瘤、肉瘤等,而对正常细胞没有毒性,提示了在肿瘤继承免疫治疗(tumor adoptive immunotherapy)中的潜在价值,因而引起了人们的广泛兴趣。本文对LAK细胞和肿瘤继承免疫治疗研究的新进展做扼要综述。

一、LAK细胞的特征

对LAK细胞深入研究的结果表明, LAK细胞可能是一种不同于体内两种主要的细胞毒细胞——细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)和天然杀伤(natural killer, NK)细胞的杀伤细胞^[3,4,5]。第一,从表型上看,人和小鼠LAK前体细胞缺乏典型的T细胞标志和Ia/DR标志。现在尚未发现LAK细胞特异的表面标志,似乎LAK前体细胞是一种“裸”细胞。但是,经IL-2刺激后, LAK效应细胞获得了典型的CTL表面标志。小鼠LAK效应细胞具有Thy 1⁺Lyt-1⁻2⁺表型,人

LAK细胞的表型为OKT 3⁺4⁻8⁺。LAK细胞在表型上与NK细胞也不同,没有OKM 1和Leu 7等NK细胞的表面标志。人LAK细胞的一些特征列于表1。

第二,从靶细胞来看, LAK细胞、NK细胞和CTL虽都是细胞毒性细胞,但三者的靶细胞特异性有很大差异。CTL的靶细胞特异性很高,只针对带有相同MHC I类抗原的同种异体靶细胞,对NK细胞敏感的主要是培养的淋巴瘤细胞。而LAK细胞杀伤肿瘤细胞的范围相当广泛。研究表明,对LAK敏感的靶细胞包括自身或同种异体的新鲜肿瘤细胞,异种肿瘤细胞。除Con A转化的母细胞外,几乎所有的培养细胞对LAK活性是敏感的。而正常细胞对LAK活性是不敏感的。尤其是LAK细胞也能杀伤对NK相对抵抗的肿瘤细胞如新鲜的实体瘤细胞,提示LAK细胞在机体天然抗肿瘤免疫中可能具有更大的作用。表

表 1 人LAK细胞的特征^[5]

LAK 前体细胞	非粘附性的
	E花环阴性
	OKM1 ⁻ , OKT3 ⁻ , Leu1 ⁻ , Leu7 ⁻
	分布于外周血、脾、淋巴结、骨髓和胸导管
LAK 效应细胞	非粘附性的
	OKM 1 ⁻ , OKT3 ⁺ , OKT4 ⁻ , OKT8 ⁺ , Leu1 ⁺

表2 LAK细胞杀伤各种新鲜人肿瘤细胞

诊断类型	检测标本 数 目	被 LAK 细胞杀 伤的标本数*	溶解 %	
			平均值	范围
软组织肉瘤	20	18	49	0—98
软骨肉瘤	5	5	50	24—65
大肠腺癌	7	4	20	0—62
卵巢癌	2	2	23	15—31
胰腺癌	2	2	34	20—28
淋巴瘤	3	3	41	36—47
食道癌	1	1	78	78
肾上腺癌	1	1	68	68

* 大于 10% 特异性溶解

2 列出了 LAK 细胞对 41 例未经培养肿瘤细胞的杀伤情况, 其中 36 例对 LAK 是敏感的 (88%)^[6]。

第三, LAK 细胞、NK 细胞和 CTL 在诱导动力学和对射线的敏感性诸方面也不相同^[4,7], NK 活性不需要预先诱导; LAK 细胞需要经 IL-2 刺激才能成为肿瘤杀伤细胞。实验表明, LAK 细胞和 IL-2 温育 3—5 天, LAK 活性可达峰值, 而 CTL 诱导需 6—7 天。和 CTL 相反, LAK 细胞激活不需要抗原刺激。有人观察到, 小鼠 NK 细胞对 γ -射线不敏感, 而 LAK 细胞和 CTL 均对 1000 拉德的照射敏感。当用 500 拉德照射时, LAK 细胞有抗性, 但 CTL 仍是敏感的。

尽管 LAK 和 NK 及 CTL 细胞在诸多方面存在很大差异, 也有一些共同之处, 如 LAK 效应细胞具有 CTL 细胞的表面标志; NK 细胞在 IL-2 刺激下, 也可扩大其杀伤肿瘤细胞的范围^[8,9]。因此这些杀伤细胞的本质区别和联系有待于进一步的研究阐明。

二、IL-2 是激活 LAK 细胞的淋巴因子

IL-2 是辅助性 T 细胞在 IL-1 和抗原刺激下释放的一种淋巴因子, 在体内免疫调节中起重要作用。最初实验所采用的刺激剂是富含 IL-2 的制备物(不含凝集素), 因此存在着其它淋巴因子或单核因子单独或协同地与 IL-2

表3 LAK细胞的激活信号

检测的因子	来源	LAK 活性
IL-2		
纯化上清液 I	MLA-144 培养物	+
纯化上清液 II	Jurkat 细胞系	+
重组 IL-2	——	+
其它细胞因子		
IL-1	外周血淋巴细胞	-
MIF(无 IL-2)	淋巴母细胞样细胞	-
IFN- α	外周血淋巴细胞	-
IFN- γ	外周血淋巴细胞	-
重组 IFN- γ	——	-

一起作用的可能性。Rosenberg 等人将富含 IL-2 的制备物与 IL-2 依赖的细胞系细胞一起温育, 然后同时测定上清液中 IL-2 活性和激活 LAK 细胞的能力。结果发现, IL-2 活性的丧失伴随着 LAK 活性诱发能力的下降。在 LAK 细胞培养系统中, 加入 IL-2 的同时, 加入抗 IL-2 受体的单克隆抗体, 可抑制 LAK 细胞的激活。应用纯化的 IL-2 和用重组 DNA 技术制备的 IL-2 证明, IL-2 确是激活 LAK 细胞的淋巴因子(表 3)^[10,11]。

三、LAK 细胞和 IL-2 的肿瘤继承免疫治疗

LAK 细胞研究最令人感兴趣的是, LAK 细胞和 IL-2 在肿瘤继承免疫治疗中的作用。继承免疫治疗可简单地定义为: 向肿瘤宿主输入免疫活性细胞, 如抗肿瘤的免疫杀伤细胞, 使宿主获得抗肿瘤能力, 从而达到治疗肿瘤的目的。此种疗法最大的障碍是如何获得足够数量、合适的免疫效应细胞。理想的情况是, 这些细胞易大量获得($\approx 10^{11}$), 而且对肿瘤是免疫特异性的。同时, 宿主必须能耐受这种细胞的输入。这种免疫效应细胞最好是自体细胞, 在体内, 能向肿瘤生长部位移动。很重要的一点是, 输入的免疫效应细胞在抗原或外源生长因子刺激下, 能在肿瘤生长部位扩增。

LAK 细胞具有许多适合于继承免疫治疗的特征。它们很易从正常或带瘤病人外周血淋巴细胞中产生; 在体外, LAK 细胞对肿瘤细

胞有广泛的杀伤作用,但不损伤正常细胞。此外,已寻找到一种在体外大量扩增 LAK 细胞的方法。重组 IL-2 的出现使深入研究 LAK 细胞继承免疫治疗肿瘤成为可能。最近的工作表明^[12], LAK 细胞输入到体内后仍能对 IL-2 应答。在组织学研究和 ¹²⁵IUdR 掺入试验中观察到,经射线处理并接受 LAK 细胞和 IL-2 的小鼠中有广泛的淋巴样细胞增殖,这些增殖的细胞就是供体小鼠的 LAK 细胞。输入的 LAK 细胞穿入肿瘤基质,随后导致肿瘤细胞溶解。以受体小鼠中重新分离出 LAK 细胞,在 4 小时 ⁵¹Cr 释放试验中,仍可检测到 LAK 活性。这说明, LAK 细胞有可能用于继承免疫治疗肿瘤。

近来,科学工作者应用 LAK 细胞和 IL-2 治疗小鼠恶性肿瘤转移取得了较大进展,确定了此种疗法的若干原则。Rosenberg 等人观察到^[8],采用 LAK 细胞和 IL-2 治疗的效果与输入 LAK 细胞的数量和注入 IL-2 的剂量直接相关; LAK 细胞和 IL-2 一起使用的效果明显高于单独使用 LAK 细胞或 IL-2。同种异体 LAK 细胞和同系 LAK 细胞同样有效;但经射线(3000 拉德)处理过的 LAK 细胞则无治疗作用。他们还发现,在射线照射过的小鼠中也可观察到 LAK 细胞和 IL-2 的治疗效果;在注入 IL-2 的作用下,继承输入的 LAK 细胞能在体内增殖。Rosenberg 等人已成功地治疗了小鼠免疫原性和无免疫原性的肉瘤、黑色素瘤和大肠腺癌,以及小鼠肺和肝的恶性肿瘤转移^[13](表 4)。

目前尚不清楚 LAK 细胞和 IL-2 继承输入治疗肿瘤的机理。一些实验支持这样的假设:输入的 LAK 细胞移动到肿瘤生长部位,杀伤肿瘤细胞。在同时及以后注射的 IL-2 作用下, LAK 细胞不断扩增,扩大杀伤效应,最终导致肿瘤死亡。也有可能,活化的 LAK 细胞产生一些淋巴因子,直接杀伤肿瘤细胞;或者释放趋化因子,吸引其它具杀伤功能的细胞溶解肿瘤细胞。实际上,这些可能性并不是互相排

表 4 LAK 细胞和 IL-2 继承输入免疫小鼠弱/无免疫原性肉瘤

肿 瘤	重组 IL-2, U ^a	平均恶性肿瘤 转移数目 ^b	
		不输入 细胞	输入 LAK 细胞 ^c
MCA-105			
(弱免疫原性肉瘤)	0	240	240
	10,000	87	20
	25,000	100	15
	100,000	50(p<0.05)	10(p<0.05)
MCA-102			
(无免疫原性肉瘤)	0	250	250
	5,000		15
	10,000	180	6(p<0.005)
	25,000	150	4(p<0.005)
	100,000		5(p<0.005)

- 从接种肿瘤起的第 3 天到第 10 天, 约隔 8 小时腹腔注射重组 IL-2 一次。
- 在接种肿瘤的第 14 天, 取出小鼠肝脏, 计数肝表面由于恶性肿瘤转移而形成的白色小结节。
- 接种肿瘤的第 3 天和第 6 天, 静脉注射 LAK 细胞(1×10^6)

斥的^[5]。

LAK 细胞和 IL-2 继承免疫疗法已应用到人类肿瘤的治疗上。由于在人体很难找到相配的免疫活性细胞供体, Rosenberg 等人将传统的继承免疫疗法稍加修改^[14]。他们的方法是,从肿瘤病人外周血中抽取 10 亿白细胞,和 IL-2 一起培养。在 IL-2 刺激下, 3—4 天后, LAK 前体细胞和 IL-2 一起输回病人外周血中。随后不断注射 IL-2, 以维持 LAK 细胞的生长和增殖。Rosenberg 实验室报道了经上述程序治疗 25 例病人的结果。这些晚期肿瘤病人经其它治疗方法均无效, 而且所患肿瘤各不相同, 如黑色素瘤、肺癌和大肠瘤等, 且肿瘤早已扩散。初步的结果是令人振奋的, 25 例病人中有 11 例肿瘤萎缩在 50% 以上, 一位病人的黑色素瘤完全消失。

结 束 语

淋巴因子激活的杀伤细胞是 80 年代初发现的一种新的免疫杀伤细胞。由于重组 IL-

2 可以大量制备, 以及 Rosenberg 实验室在治疗晚期肿瘤病人上的应用, 引起了人们的高度重视。许多科学家相信, 这种疗法在治疗人类肿瘤上是大有希望的。进一步的工作可能是:

1) 改进和完善继承免疫疗法。Rosenberg 等人从肿瘤组织中分离淋巴细胞——浸入肿瘤的淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL), 研究表明, 这些小鼠 TIL 比 LAK 细胞的细胞毒性强 50—100 倍^[15]。还有人准备将继承免疫疗法和传统的抗肿瘤药物一起使用, 以取得更好的效果^[16]。2) 尽管继承免疫疗法已应用于临床治疗, 但对 IL-2 激活 LAK 细胞的机理和 LAK 细胞杀伤肿瘤细胞的机理尚不清楚, 是一个值得探讨的领域。对于这些问题的阐明, 将有助于提高 LAK 细胞和 IL-2 继承免疫疗法的效率。3) 减少或控制此种疗法的副作用, 解决此疗法的耗资费时的问题, 也是当务之急。

摘 要

小鼠脾脏细胞和人外周血淋巴细胞与 IL-2 温育, 可诱导产生抗各种新鲜实体瘤细胞的杀伤细胞。LAK 细胞是一种不同于 NK 细胞和 CTL 的细胞毒系统。IL-2 是激活 LAK 细胞的淋巴因子。LAK 细胞和 IL-2 继承免疫治疗小鼠恶性肿瘤转移已取得成功。初步的临床试验结果表明, 应用 LAK 细胞和 IL-2 治疗人

类肿瘤也大有希望。

参 考 文 献

- [1] Yron, I., et al., 1980, *J Immunol.*, 125: 238—245.
- [2] Lotze, M. T., et al., 1981, *Cancer Res.*, 41: 4420—4425.
- [3] Grimm, E. A., et al., 1983, *J Exp Med.*, 157: 884—897.
- [4] Grimm, E. A. and Rosenberg, S. A., 1984, *Lymphokines.* 9: 279—311.
- [5] Rosenberg, S. A., et al., 1985, *JNCI*, 75: 595—603.
- [6] Rayner, A. A., et al., 1985, *Cancer.*, 55: 1327—1333.
- [7] Merluzzi, V. J., et al., 1985, *Cell. Immunol.*, 95: 95—104.
- [8] Rosenberg, S. A. and Michael T. L., 1986, *Ann. Rev. Immunol.*, 4: 681—709.
- [9] Gordon, F. B., et al., 1985, *Immunol. Today.*, 6: 370—373.
- [10] Grimm, E. A., et al., 1983, *J Exp Med.*, 158: 1356—1361.
- [11] Rosenberg, S. A., et al., 1984, *Science.*, 223: 1412—1415.
- [12] Ettinghausen, S. E., et al., 1985, *J. Immunol.*, 135: 3623—3635.
- [13] Lafreniene, R., et al., 1985, *J. Immunol.*, 135: 4273—4280.
- [14] Rosenberg, S. A., et al., 1985, *New Engl. J. Med.*, 313: 1485—1492.
- [15] Levine J., et al., 1986, *Time, Sept.*, 22: 58.
- [16] Clark, M., et al., 1985, *Newsweek, Dec.*, 16: 40—46.

人 B 淋巴细胞分化的表面标志

朱立平 房芳

(中国医学科学院基础医学研究所)

(中国协和医科大学基础部)

人 B 细胞的分化是一个比较复杂的问题, 不少学者对能标记其分化阶段的表面标志作了探索。以往工作主要集中在表面免疫球蛋白、

HLA-D 相关 Ia 样抗原、C₃ 补体受体、IgG 的 Fc 受体及小鼠红细胞受体的分析。最近几年来, 学者们致力于抗人 B 细胞表面抗原单克隆