

在肿瘤的生物学治疗方面具有良好而广阔的前景。

### 参考文献

- [1]耿长山,丁雁,王葛英等.枸杞子粗提物对小鼠T淋巴细胞免疫增强作用.军事医学研究院院刊,1987;11(6):476
- [2]马学清,周勇,严宣佐等.中药多糖的免疫增强作用.中国实验临床免疫学杂志,1996;8(2):40
- [3]Wang BK, Xing ST, Zhou JH et al. Effect of lycium barbarum polysaccharides on the immune responses of T, CTL and NK cells in normal and cyclophosphamide-treated mice. 中国药理学与毒理学杂志,1990;4(1):39
- [4]钱玉昆, Cheng HT, Richardson A. 中药(苦参及枸杞子)对免疫细胞和细胞因子的实验调节. 中华微生物学和免疫学杂志,1988;8(5):312
- [5]黎雪如,吴慰萱,周娅等.枸杞多糖对小鼠腹腔巨噬细胞C<sub>3</sub>b和Fc受体的影响.中国实验临床免疫学杂志,1990;2(5):29
- [6]余上才,章育正,赵慧娟等.枸杞子和白朮免疫调节作用的实验研究.上海免疫学杂志,1994;14(1):12
- [7]Geng, cs, Xing, ST, Zhou JH et al. Enhancing effect of Lycium barbarum polysaccharides on the interleukin-2 activity in mice. 中国药理学与毒理学杂志,1989;3(3):175
- [8]曹广文.生药活性多糖对淋巴细胞/细胞素的调节与抗肿瘤作用.免疫学杂志,1992;8(4):273
- [9]刘杰麟,章灵华,钱玉昆.枸杞多糖对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠的免疫抑瘤作用.中国免疫学杂志,1996;12(2):115
- [10]王柏昆,邢善田,周金贵等.枸杞多糖对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠细胞免疫功能的影响及其抑瘤作用.中国药理学与毒理学杂志,1988;2(2):127
- [11]Zhang YX, Xing ST, Zhou JH. Effects of Lycium barbarum polysaccharides and their combination with corynebacterium parvum on the tumorigenic activity of peritoneal macrophages in mice. 中国药理学与毒理学杂志,1989;3(3):169
- [12]王玲,李俊,李欣等.枸杞多糖2对辐射损伤小鼠免疫功能恢复的影响.上海免疫学杂志,1995;15(4):204
- [13]杨贵贞,对中药免疫药理学研究的思考.中国免疫学杂志,1996;12(2):3
- [14]王玲,杜守英.枸杞多糖的免疫调节研究进展.上海免疫学杂志,1995;15(2):118

## LAK 细胞与 IL-2 的临床应用

时华富 徐书显

(北京军区医学研究所 石家庄市 050081)

1982年 Grimm 等将白细胞介素-2(IL-2)激活的能够杀伤对自然杀伤细胞(NK)有抵抗性的肿瘤细胞的杀伤细胞称作淋巴因子激活杀伤细胞,简称LAK细胞(LAK)。

LAK细胞是具有相似细胞毒活性的细胞群体,其前体可能源于T淋巴细胞和NK细胞,其表面标志呈多样性<sup>[1]</sup>。LAK的最大特点是无需抗原致敏即具有杀伤活性,且是非特异,非主要组织相容性复合体(MHC)限制性的,因此LAK具有广泛杀伤肿瘤细胞的能力,对正常细胞无毒性。LAK细胞的发现和白细胞介素-2的批量生产为肿瘤的生物学治疗提供了新的可能性。

### 一、LAK细胞的制备

目前人体LAK细胞多从PBL制备,骨

髓细胞,淋巴结细胞,扁桃体淋巴细胞,脾的淋巴细胞可以培养成具有LAK活性的细胞。

(一)临床上一般采用的方法 给患者持续静注IL-2,5d后收集PBL,此时PBL增多,采用血液自动分离仪分离淋巴细胞,以 $1.5 \times 10^6/\text{ml}$ 的浓度在体外培养(培养液为RPMI-1640,抗菌素,2% AB血清,IL-2/1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )在37 $^{\circ}\text{C}$  5% CO<sub>2</sub>条件下培养3~5d,即可获得LAK细胞,将LAK细胞用无Ca<sup>++</sup>、Mg<sup>++</sup>的Hanks液冲洗2次,然后用含5%正常人血清蛋白的生理盐水200ml悬浮,再加上5000 $\mu\text{g}$ 的IL-2。用110目的不锈钢网过滤备用。

(二)异体血LAK 收集同种异体血型

相对应的健康献血者白膜,用淋巴细胞分离液将 PBL 分离,培养条件同上。此种方法操作烦琐,费时费力,易污染,稍有疏忽容易出现输液不良反应。

(三) 胎儿 LAK 细胞 使用胎龄 24wk 以上水囊引产,离体 4h 之内胎儿,用其脾、肝、胸腺制成单细胞悬液,常规制备 LAK 细胞输注,临床上尚未见不良反应。

## 二、LAK 疗法临床应用方案及给药途径

### (一) 全身给药

1. 大剂量静脉注射 IL-2 合用 LAK 有人提出 IL-2 用量为  $2 \times 10^5 \mu/\text{kg} \cdot \text{d}$  或  $3 \times 10^6 \mu/\text{kg} \cdot \text{d}$ , 连续 5d, 休息 7~10d 后重复 1 次。Hersh 研究了晚期转移癌病人静脉注射 IL-2 和毒性关系,认为 IL-2 最大耐受量为  $12 \times 10^6 \mu/\text{m}^2 \cdot \text{d}$ , IL-2 量大于  $0.5 \times 10^6 \mu/\text{m}^2 \cdot \text{d}$  时,淋巴细胞和嗜酸性细胞计数增加,  $4 \times 10^6 \sim 8 \times 10^6 \mu/\text{m}^2 \cdot \text{d}$  时达到高峰,过之则降低。故认为 IL-2 量  $4 \times 10^6 \sim 8 \times 10^6 \mu/\text{m}^2 \cdot \text{d}$  最理想。

2. 低剂量持续静脉注射 IL-2 合用 LAK 大剂量 IL-2 可引起严重的副作用,虽远没有放疗化疗那样严重持久,但影响 LAK 疗法实施。有人用低剂量静脉注射 IL-2 合用 LAK 治疗 40 例放疗和化疗无效的癌转移病人,有效率达 40%。方法是静脉注射 IL-2  $5 \times 10^4 \mu/\text{d}$ , 持续 5 天,休息 3d 后静脉注射 LAK 1~2 个疗程,期间仍肌注 IL-2。治疗后病人免疫学和血清学指标与大剂量相同, PBL 中活化 T 细胞增多, 100h 后 LAK 活性仍很强。

### (二) 局部给药

全身给药 IL-2/LAK 在体内扩散,聚集肿瘤部位的少, IL-2 在血中易降解,需持续给药。局部给药增加 IL-2/LAK 在肿瘤部位的浓度,可增强疗效,减轻毒副作用。

1. 腹腔给药 适用于腹部肿瘤,腹腔淋巴结转移,腹水形成者。

2. 胸腔给药 适用于晚期肺癌,间皮

瘤,伴有胸水形成者。注入 IL-2  $210000 \mu$ , 每天一次,连续 10~15d, 期间隔天一次 LAK 细胞 ( $6 \times 10^8$  个细胞), 使 11 例恶性胸水, 9 例胸水和胸腔内肿瘤消失。

3. 淋巴路给药 适用于易通过淋巴路转移的肿瘤。在两侧胸锁乳突肌乳突附着端下 1.5cm 深的淋巴总管交叉处注入  $2000 \mu$  IL-2, 每天 1 次, 连续 10d 可治疗头颈癌转移。

4. 瘤体内注射 IL-2/LAK 注入肿瘤组织可解除肿瘤局部的免疫抑制, 活化 TIL。此法对难以切除的肿瘤有效。

5. 椎管内给药 中枢神经系统肿瘤扩散到蛛网膜下腔时, 可行椎管内注射 LAK。

6. 肝脾动脉内给药 适用于原发性或转移性肝癌, 可以和肝动脉栓塞法合用。

## 三、LAK/IL-2 的临床应用

治疗癌症 LAK 是通过直接和间接的杀伤机制来杀伤肿瘤细胞的, 前者包括对肿瘤细胞的识别、杀伤和裂解过程, 后者是通过 LAK 所分泌的一些细胞毒性因子来实现的。

1. 结直肠癌 Roseuberg 等先后采用 LAK/IL-2 累计治疗 65 例患者, 2 例完全恢复 (CR)、9 例部分恢复 (PR), 有效率约 17%。Steis<sup>[2]</sup>以腹腔局部注射 LAK/IL-2 共治疗 17 例, 结果有 9 例得到 PR。田志刚等<sup>[3]</sup>采用 LAK/IL-2“3 周方案”治疗 5 例癌患者, 结果 2 例达 PR, 3 例治后无变化。

2. 卵巢癌 谭氏用病人腹水白细胞制备的 LAK 回输治疗 10 例患者, IL-2 和 LAK 均使用小剂量, 结果 4 例达 CR, 4 例 PR, 另 2 例恶化。Stewart 等以腹腔内注射 LAK/IL-2 对 10 例患者进行为期 28d 的治疗, 结果全部病人的存活期延长, 肿瘤结节缩小。

3. 肾细胞癌 Roseuberg 等首次用 LAK/IL-2 治疗 25 例转移性癌患者, 其中 3 例肾细胞癌获得部分缓解。此后报道用不同剂量 LAK/IL-2 共治疗 108 例, 结果 12 例 CR, 25 例 PR, 总有效率 35%。金一等<sup>[4]</sup>为 5

例病人输注异体 LAK, 经 4 次治疗后获 1 例 CR, 4 例 PR, 疗效持续约半年, 但缺乏对照病例。

4. 恶性黑色素瘤 1985 ~ 1989 年 Roseuberg 等累计治疗 81 例, 其中 7 例达 CR, 13 例 PR。金一等治疗 7 例获得了 2 例 CR, 5 例 PR 的好结果。

5. 肺癌 1987 年 Roseuberg 等用 LAK/IL-2 治疗的可评价的 106 例患者中有 5 例肺癌, 结果仅 1 例有轻微反应(MR)。刘江秋等<sup>[5]</sup>治疗 84 例患者, 其中 42 例(Ⅲ期 24 例, Ⅳ期 18 例)接受 LAK/IL-2 治疗, 经治 4mo 后病人的一般症状及体征明显改善, 生存时间延长, 获 3 例 CR, 24 例 PR, 总有效率高达 64%。而对照组仅 3 例 PR(7%)。

6. 肝癌 中西正树等用 OK432 联合 LAK/IL-2 治疗 24 例, 其中 4 例为原发性肝癌, 20 例为转移性肝癌, 结果获 3 例 CR, 6 例 PR, 总有效率为 38%。韩福刚等<sup>[6]</sup>采用自体或异体加自体 LAK 并联用 nIL-2 治疗晚期患者 10 例, 结果获 2 例 CR, 4 例 PR, 2 例 MR, 2 例癌瘤无明显变化。祁岩超等<sup>[7]</sup>用胎儿脾制备 LAK, 以静脉输注(10 例)或肝动脉插管灌注(8 例), 治疗中晚期患者 18 例, 结果 CR 2 例, PR 14 例, 2 例无改变。

7. 治疗癌性胸、腹水 许祥裕等<sup>[8]</sup>用异体脾 LAK/nIL-2 治疗 8 例转移性恶性胸腹水患者, 每周 1 次, 每例注入 LAK 总计  $(0.9 \sim 4) \times 10^9$ , nIL-2  $3 \times 10^4$ U, 经治 1~4 次后, 8 例胸腹水均消失, 其中 7 例在 1~6 月内未复发。刘江秋等<sup>[9]</sup>采用胸腔或腹腔注射 LAK/rIL-2 治疗多种癌性胸水患者 84 例, 腹水患者 20 例, 经 1~5 次治疗, 前者有 44 例胸水完全消失, 38 例明显减少; 后者有 6 例腹水完全消失, 11 例明显减少。推测其治疗机制可能是 LAK 进入胸、腹腔直接杀伤转移的癌细胞, 以及触发癌细胞表达肿瘤限制性抗原。

总之, I、II 期临床试治表明, 卵巢癌、肾

细胞癌对 LAK 疗法敏感, 恶性黑色素瘤、结肠癌比较敏感, LAK 对肝和肺癌的疗效尚待进一步确证, 胸腹腔内注入 LAK 对消除胸腹水有显著效果; 自体 and 异体 LAK 有相似的杀瘤活性, 临床应用异体 LAK 不会诱发移植物抗宿主病(GVHD)<sup>[10]</sup>; 国外 LAK/IL-2 疗法多采用大剂量(耐受剂量), 国内则偏重小剂量( $\leq 10^9$  LAK, IL-2  $\leq 10^6$ /U), 但临床结果表明小剂量有同样的生物学效应, 且减轻了副反应; 影响 LAK 杀瘤活性的因素很多<sup>[11]</sup>, 消除抑制因素, 联用增强因素可提高 LAK 的疗效, LAK 疗法对多种肿瘤, 甚至对放疗无效的晚期肿瘤都具有一定的疗效。根据各种给药方案的疗效, 本文认为全身给药对肿瘤广泛转移或转移不明者适用, 大剂量 IL-2 全身应用虽很必要, 但没有小剂量持续应用效果好, 局部给药消除局部肿瘤, 改善局部症状效果较佳, 但不能很好地改善全身状况控制整个病程, 因此提出, 低剂量持续静脉注射 IL-2/LAK 合并局部给药疗效会更好, 临床上为了提高 LAK 疗效, 人们在寻找适用的 LAK 活性, 现在比较肯定的是 IL-2 在 LAK 疗效中有协同作用, 而且毒性很低, 化疗药 MC, Cy 在一定剂量下增强 LAK 疗效。生物多糖在体内可刺激内源性抗癌因子的产生, 改善病人全身状况, 增强 LAK 活性。

#### 参考文献

- [1]陶加献. 细胞生物学杂志, 1994;16(1):1
- [2]Steis RG, Vrba SW, Vandermolten LA, et al. Jclin Oncol, 1990;18(10):1618
- [3]田志刚. 中国肿瘤临床, 1994;21(1):13
- [4]金一. 实用肿瘤杂志, 1991;5(3):45
- [5]刘江秋. 实用肿瘤学杂志, 1991;5(3):42
- [6]韩福刚. 中华肿瘤杂志, 1991;13(2):145
- [7]祁岩超. 中国肿瘤临床, 1994;21(6):405
- [8]许祥裕. 中华消化杂志, 1991;11(1):35
- [9]刘江秋. 实用肿瘤学杂志, 1992;6(4):80
- [10]张发堂. 中华肿瘤杂志, 1988;10(5):342
- [11]牛桂莲. 国外医学(肿瘤学分册), 1944;21(2):65