

细菌免疫调节剂的抗肿瘤作用

黄秀梨

(北京师范大学生物系, 北京 100875)

肿瘤是当代对人类威胁最大的疾病之一。为了战胜它, 人们进行了长期的努力, 想尽各种办法。近年来, 已发现借助自身的免疫力有战胜肿瘤的可能。我们知道, 机体有着强有力的免疫系统, 它具有三大重要功能, 即免疫防御功能, 自身稳定功能和免疫监视功能。机体内每天成千上万个有可能发生变异的细胞出现, 因为机体具有免疫监视功能从而产生消灭这些细胞的能力, 致使大多数人不会发生肿瘤。因此说, 正常机体免疫力在抗肿瘤中可发挥巨大作用。Itoh^[1]等人曾证明, 人类黑色素瘤中的淋巴细胞, 在体外用白细胞介素 2(IL-2) 使其活化后, 发现自身的肿瘤细胞可全部被解体。Rosenberg 等人^[2]在治疗黑色素瘤病人时采用了注入被 IL-2 激活的自身淋巴细胞(或称淋巴因子激活的杀伤细胞)加以 IL-2 的方法取得了效果。另外, 发现用肿瘤细胞免疫动物后, 此动物产生的抗体, 在体外对该肿瘤细胞具有细胞毒作用。在用植物血凝素(PHA)诱导时, 从人外周血淋巴细胞中可产生一种白细胞调节素(Leukoregulin, LR), 能直接溶解和抑制肿瘤细胞, 并能提高肿瘤细胞对自然杀伤细胞(NK细胞)的敏感性^[3]。发现在接种卡介苗(BCG)的小鼠中注入脂多糖(LPS)后, 血清中可产生肿瘤坏死因子(TNF)具有杀伤肿瘤的作用^[4]。

当前在临床和实验室中进行免疫治疗肿瘤, 主要是以下四个方面: (1) 注入免疫活性细胞; (2) 注入淋巴因子或单核因子; (3) 采用细菌来源的免疫调节剂; (4) 利用特异性抗体。实验资料表明, 利用细菌免疫调节剂以及被它们诱导的产物, 具有十分有效的作用。最初发现细菌的抗肿瘤作用是在肿瘤患者伴随细菌感染情况下, 发现其肿瘤自发消失。并进一步获得了具有抗肿瘤作用的细菌产物。实验表明, 最有效的

二类细菌产物是细菌脂多糖(LPS)和胞壁酰二肽(MDP), 由于它们的免疫调节和免疫治疗特性, 近年来引起了人们的重视并进行研究。以下分别简要介绍。

(一) LPS 的抗肿瘤作用

1. LPS 的组成及其抗肿瘤的主要作用: 利用内毒素治疗肿瘤的历史可追溯到 19 世纪末, 从 Colley 开始^[5], 最初是采用细菌培养滤液治疗癌症。从本世纪中叶开始鉴别并分离出了 LPS^[6-8]。LPS 是革兰氏阴性细菌中细胞外壁层的主要成分。是一多糖类脂。其化学组成因不同菌种而有一定差别, 分子结构复杂。它由三部分构成, 包括 O-侧链多糖, 核心多糖和类脂 A, 后者决定着 LPS 的主要免疫激活特性。

研究发现 LPS 具有以下抗肿瘤特性: (1) 使巨噬细胞(M ϕ)活化, 产生肿瘤坏死因子(TNF)、IL-1 和 γ 干扰素(IF- γ)等抗肿瘤物质; (2) 具有免疫佐剂的作用, 可引起 B 淋巴细胞以及 T 辅助细胞的活化; (3) 对淋巴细胞具有促有丝分裂作用; (4) 增强自然杀伤(即 NK)细胞的活性; (5) 使体内肿瘤细胞退化。看来, 细菌产物 LPS 的免疫治疗作用主要是决定于使巨噬细胞活化。以上抗肿瘤实验多是实验条件下在体外进行的, 其作用主要是诱导 M ϕ 产生抗肿瘤因子 TNF 和 IL-1, 从而产生抑制和破坏肿瘤细胞的作用。据推测, 在体内 LPS 的激活作用亦包括淋巴细胞, 使其产生淋巴毒素, 其结构与生理作用与 TNF 相似, 这是基于在鼠脾失去 M ϕ 后产生类似作用才获知的。Chen 和 North 则认为 LPS 能抑制肿瘤主要是通过使肿瘤坏死所致^[9,10]。肿瘤坏死作用是基于在鼠中注入 LPS 后, 引起鼠体肿瘤产生出血性坏死命名的。当 LPS 注入兔体时, 在血清中 2 小时后丧失活性。Sabine 用人外周血中的单核细胞在

体外试验时亦可经 LPS 诱导产生类似 TNF 的因子^[11]。

2. LPS 抗肿瘤作用的条件: 体外实验表明 LPS 的抗肿瘤作用依赖于一系列条件, 包括剂量、方式、鼠系、M ϕ 属性等。

(1) 剂量: 作为免疫调节剂的剂量, 使诱导 M ϕ 具有肿瘤细胞作用时, LPS 浓度在 10ng—100 μ g/ml 范围内^[12]。如用较小剂量 (<1ng/ml) 时, 发现它对激活 M ϕ 产生 IF- γ 和 TNF 具相反的作用^[13], 可能小剂量 LPS 诱导合成前列腺素 (PG), 从而细胞内 cAMP 含量升高, 导致受抑制巨噬细胞的活化。

(2) LPS 的状态: 结合状态的大分子 LPS 具有较高的诱发 M ϕ 杀肿瘤活性。而游离的 LPS 小分子不能刺激 M ϕ 产生 IL-1。

(3) LPS 对不同品系鼠产生的反应不同: 例如 C₃H/HeJ 鼠系对 LPS 无应答, 但发现在某些情况下可产生改变, 若预先使 M ϕ 与 IF- γ 接触, 无应答鼠系亦能在 LPS 激活下使 M ϕ 产生 TNF。

(4) M ϕ 的器官属性不同亦有差异^[14], 如肺中 M ϕ 与腹膜上 M ϕ 不同, 通过 IF- γ 的作用表明, 它不被单一的 LPS 活化。当采用 IF- γ 对 M ϕ 作用时发现使细胞内 Ca²⁺ 水平提高和活化蛋白激酶 C(PKC)^[15], 由此表明, 提高细胞内 Ca²⁺ 的浓度对 M ϕ 接受 LPS 的作用是有必要的。

通过研究发现 M ϕ 具有 LPS 的受体, LPS 与受体结合后可诱导 M ϕ 中的蛋白质磷酸化^[16,17], 并依赖于蛋白激酶 C 的活化。看来, 在使对 LPS 天然无应答的 C₃H/HeJ 鼠系的 M ϕ 活化中, LPS 并不是通过使细胞中 Ca²⁺ 含量提高, 而是使细胞内 IL-1 含量增高, 这同样也有赖于 PKC 的活化。实验表明, 在 PKC 耗竭条件下接受 LPS 刺激, M ϕ 内 TNF α mRNA 的表达也明显增加, 揭示 PKC 对 TNF α 基因的表达可能有负调控作用。在基因调控水平上, 近来有报道认为在 LPS 刺激下产生的某些核因子(核蛋白)能与 TNF α 基因启动的特定碱基序列结合, 导致基因的转录。发现 LPS 可诱导 M ϕ

产生 TNF 的 mRNA 的含量相当于 IF- γ 的 5—8 倍, 说明 LPS 在细胞转录水平上具有其自身的作用。

当前, 临床应用的最大障碍是 LPS 的毒性及其热原性。Ribi 等人^[18], 已成功合成了无毒性的 LPS 衍生物——单磷酸类脂^[9], 但其免疫学活性较低, 在体外不能诱导单核细胞产生 TNF。现已成功地与 MDP 抗体配合应用于免疫治疗肿瘤的实验中。以下对 MDP 作简要介绍。

(二) MDP 的抗肿瘤免疫作用

MDP 是某些细菌如一般称为小棒杆菌 (*Corynebacterium parvum*)* 和分枝杆菌 (*Mycobacterium*) 等细菌细胞壁上具有免疫活性的糖肽——胞壁酰二肽 (muramyl dipeptide), 其组成为 N-乙酰-胞壁酰-L-丙氨酸-D-异谷氨酰胺。它的免疫学作用与 LPS 相似, 能极大地提高 M ϕ 在体内外的杀肿瘤活性^[19,20]。MDP 与 LPS 的不同在于特异地激活肺的 M ϕ 而不是腹膜的 M ϕ , 使其吞噬作用增强^[21]。与脂质体 (liposome) 结合的 MDP 在体外也能导致抗肿瘤活性的提高。包在凝胶小球中的 MDP 活化 M ϕ 的最低浓度比游离的 MDP 低 2×10^3 倍^[22]。类似的活化作用亦发现于 MDP 的衍生物中, 最广泛引人注目的是 MTP-PE, 其组分是胞壁酰三肽-磷脂酰乙醇胺 (muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine)。游离的 MTP-PE, 激活人单核细胞杀伤肿瘤所需的剂量比游离的 MDP 要低 40 倍, 存在于脂质体中的 MTP-PE 的活性更高^[23]。通过对系列 MDP 类似物的研究发现, 亲脂性的 MDP 比 MDP 具有更高的抗肿瘤活性, 例如在体外, 激活小鼠 M ϕ 产生 TNF 的活性是, 葡糖胺-MDP-溶素高于葡糖胺-MDP。实验证实, 某些亲脂性 MDP 衍生物无疑具有比 MDP 更高的疗效和较小的毒性^[20]。实验中发现, MDP 衍生物制成水—油乳剂, 注入豚鼠肿瘤引起了肝癌的缩小, 并增强了鼠对第二次注入时的免疫记忆力。

* 现认为原菌种像一混合菌, 有待纯化属丙酸杆菌属菌株

MDP 引入动物可非特异性地增强器官对感染的抵抗力。看来无论是 MDP 或其衍生物的主要作用机理是系统地活化 $M\phi$ ^[24]。实验说明, 亲脂的衍生物如 MTP-PE, 在体内的作用超过 MDP, 当 MDP 进入动物 60 分钟时, 发现有 90% 从器官中分泌出来, 而 MTP-PE 则能保存在组织中。通过使鼠 C₅₇BL/6 系口服服用 MTP-PE 后, 发现它系统活化 $M\phi$, 并能抑制恶性肿瘤——黑色素瘤 B-16 向肺中转移^[24]。若在体内形成包有 MDP 或其衍生物的脂质体或脂滴, 则它们能被 $M\phi$ 选择性地吞入, 使这一免疫调节剂能定向地达到细胞免疫系统, 这样将更有利于增强效力, 降低毒性。实验已表明, 人工向鼠中引入含有 MTP-PE 的脂质体能迅速活化肺泡 $M\phi$ 与其它部位的网状内皮系 $M\phi$ 的杀肿瘤特性, 在鼠中能达到定向抑制肿瘤的肺转移^[25,26]。实验发现向体内引入此试剂, 4 小时后此免疫调节剂即出现在脑中^[25]。这些研究为定位治疗肿瘤开辟前景。目前利用含 MDP 的脂质体的工作正进入了临床试验阶段。

(三) 其它细菌免疫调节剂

研究较多的是日本的 OK-432 制剂。与 LPS、MDP 的作用相似, 它可在人和鼠中诱导 $M\phi$ 产生 TNF 及 IF- γ ^[26], 已成功地用于实验室免疫治疗肿瘤, 通常与 IL-2 配合使用^[27]。有价值的试剂还有, 如 BCG-PSN 卡介菌多糖核酸^[29], TDM(trehalose dimycolate) 是从卡介菌及结核分枝杆菌 (*Mycobacteria tuberculosis*) 中获得的, 其作用与 LPS、MDP 相似, 是 $M\phi$ 的激活剂^[21,28]。还值得指出的是干酪乳杆菌 (*Lactobacillus casei*) 也具有较强的抗肿瘤作用^[30]。

其它革兰氏阳性杆菌中如丙酸杆菌属和双歧杆菌属^[31-34]的细菌与其细胞壁结构都具有

上述的激活 $M\phi$ 能力, 因而也有抗抑肿瘤的作用, 可以发掘研究。

参 考 文 献

1. Dziarski R: *Cell. Immunol.* 111: 10, 1988.
2. Rosenbeng S A and N Engl: *J. Med.* 313: 1485, 1985.
3. 倪 健: 国外医学免疫学分册, 10(2): 72, 1987.
4. Roche Y: *J. Antimicrob. chemother.* 21: 597, 1988.
5. Colley W B: *Ann. Surg.* 14: 199, 1881.
6. Beutler B: *J. Exptl Med.* 164: 1791, 1986.
7. Shear M J: *J. Nat. Cancer Inst.* 4: 1791, 1986.
8. Fuchs B B: *Period. biol.* 89: 192, 1987.
9. Chen A R: *J. Immunol.* 135: 3978, 1985.
10. North R J: *J. Exptl Med.* 167: 1086, 1988.
11. Sabine B: *Cell. Immunol.* 128: 277, 1990.
12. Justement L B: *J. Immunol.* 136: 270, 1986.
13. Ding A H: *J. Immunol.* 139: 1971, 1987.
14. Takashi Y: *Cell. Immunol.* 128: 79, 1990.
15. Celada A: *J. Immunol.* 137: 2373, 1986.
16. Prpic V: *J. Immunol.* 139: 526, 1987.
17. Wightman P D: *J. Biol. Chem.* 259: 10048, 1984.
18. Rib: W: *Cancer Immunol. and Immunother.* 12: 91, 1982.
19. Bahr G M: *Cell. Immunol.* 107: 443, 1987.
20. Kotani S: *Federat. Proc.* 45: 2534, 1986.
21. Masihi K N: *Internat. Arch. Allergy and Appl. Immunol.* 81: 112, 1986.
22. Tabata Y: *J. Pharmac. and pharmacol.* 39: 698, 1987.
23. Fogler W E: *Internat. J. Immunopharmacol.* 9: 141, 1987.
24. Fidler I J: *J. Immunol.* 138: 4509, 1987.
25. Fogler W E: *J. Immunol.* 135: 1372, 1985.
26. Saito M: *Cell. Immunol.* 68: 187, 1982.
27. Cervical cancer immunotherapy study group: *Cancer.* 60: 2394, 1987.
28. Nolibé D: *Cancer Immunol. and Immunother.* 23: 200, 1986.
29. 高洁生等: 湖南医科大学学报, 17(4): 365, 1992.
30. Matsuzaki T: *Cancer Immunol. and Immunother.* 28: 209, 1980.
31. 朱逢春等: 中国微生物学杂志, 1(1): 143, 1989.
32. 王 跃等: 中国微生物学杂志, 1(1): 21, 1989.
33. 郝维善: 中国微生物学杂志, 1(1): 116, 1989.
34. Sekine K et al.: *Cancer Research.* 45(3): 1300, 1985.

(1991-9-16 收稿)