维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2002年第11卷第2期
Chin J Regional Anat & Operative Surg, 2002, Vol.11, No.2



·综 述·

# 胶质瘤动物模型的体内免疫治疗

陈文裕* 赵克明*

肿瘤生物学在细胞及遗传水平上取得了很大进展。但胶质瘤的预后仍没有明显改善。传统的手术、放、化疗疗效有限。新的治疗方案有待探索。免疫治疗为肿瘤的治疗提供了又一途径。现就抗体介导的抗肿瘤免疫、细胞因子调节的抗肿瘤免疫、细胞直接参与的抗肿瘤免疫三方面作一概述。

一、抗体介导的抗肿瘤免疫

单克隆抗体抗肿瘤作用通过多机制起作用。如未经修饰的单抗通过效应细胞如巨噬细胞或补体杀伤胶质瘤细胞，也有通过拮抗肿瘤生长刺激因子如 EGF-β 等发挥抑制肿瘤的作用，利用单抗特异性结合靶点的特性导向抗癌药物或药物前体、毒素、放射性核素到瘤体，起到杀伤瘤细胞的作用。

单纯的抗体在动物体内的抗肿瘤作用中，Fc 段起重要作用，仅 Fab 段无治疗作用。可见抗体介导的细胞毒作用在抗肿瘤中的重要性。Bender[1] 等用抗 EGF－R 的单抗 mAb425 治疗荷瘤鼠可抑制 A1207、F39 胶质瘤的生长，其作用不仅因抗体介导效应细胞，而且其拮抗 EGF 对瘤细胞刺激也起非常重要的作用。MAb425 对 U-87MG 胶质瘤无效可能与其不能拮抗 EGF 对 U－87MG 的刺激有关。

以上应用的均为鼠抗，但由于其免疫原性强限制了其临床应用。转基因技术的发展使得利用转基因动物制备人抗体成为可能。Jakobovits[2] 等利用该技术制备的抗人抗体治疗瘤体达 1、2 [3] 的荷瘤鼠达到根治的目的。

抗体在导向治疗中也获得了明显疗效，特别是免疫毒素和放射性核素标记抗体。

免疫毒素是具有导向能力的分子和具有细胞毒性的分子（毒素）偶联而成的具有特异性细胞杀伤能力的杂合分子。免疫毒素在体外实验中取得了良好效果，但由于诸多因素的限制：1、免疫毒素进入瘤内的部分较少，且在瘤内的分布弥散差。2、瘤抗原的异质性；3、非特异性结合于正常组织。4、免疫毒素的快速清除。5. 免疫毒素不稳定性。6. 系统毒性。这使得免疫毒素疗效有限，特别使颅内肿瘤得到治疗。为减少系统毒性，降低血脑屏障的限制，有些学者[3] 采用瘤内或瘤周给药显著提高了其疗效。也可通过高渗性甘露醇暂时开放 BBB 提高瘤内毒素的浓度以增强作用[4]。

免疫毒素最大缺陷是分子量大、免疫原性强。今后发展应是构建低分子量、人原化、高效的免疫毒素以提高其穿透力和杀瘤效率而降低其免疫原性。

免疫毒素大多数都需要内化使毒素转入胞内才能起到杀瘤效果。而放射性核素标记抗体并不要求内化以及与每个靶细胞的直接接触。这弥补了由于肿瘤的异质性如抗原表达、血供、血脑屏障而造成的不利影响。Bender[1] 等用 $^{125}$I 标记的单抗治疗荷瘤鼠，对照组肿瘤全部形成，而治疗组有 2/6 未发现肿瘤。

核素标记抗体的抗肿瘤效果受核素类型，抗体本身及作用靶点的影响。Bender 等实验证实 $^{125}$I 标记的 mAb425 抗 EGF-R 单抗抗胶质瘤疗效优于 $^{131}$I 标记 mAb425，核素标记的 Fab 片段比标记全抗体疗效好。虽然核素标记的单抗片段释放到瘤内的放射性活性有所降低，核素标记片段可快速穿透瘤组织，并迅速从血清及其它器官中清除，从而大大降低了其对宿主的放射性毒性作用。另外抗原在正常组织的表达、游离抗原的出现及抗原在瘤细胞或间质的密度都影响其疗效。细胞外间质抗原比胞膜或胞浆抗原具有更好的治疗潜力。但放射免疫治疗不适于儿童颅内肿瘤治疗，因小儿神经细胞对放射线敏感。

Behr 等[5] 用 $^{131}$I 标记的单抗治疗高度恶性的髓甲状腺癌荷瘤小鼠，并与常规的化疗作了比较。化疗药的联合并不能增加疗效，相反加重了其毒性反应，而放疗治疗与 doxorubicin 化疗其疗效差异不显著，并且剂量均受骨髓毒性反应的限制。骨髓移植（BMT）支持治疗可可提高 RIT 的最大耐受量，但对化疗无效。在 BMT 支持下，放免治疗可与化疗联合其疗效优于任何单独用药。在没有 BMT 的支持下，放免治疗治愈率达 36%，在 BMT 支持下达 85%，BMT 与化疗联合治疗起协同作用。

二、CTL 的抗肿瘤治疗

细胞免疫在机体的抗肿瘤免疫中起着重要作用，但由于中枢神经系统为人体的免疫禁区，缺乏正常的免疫监视和淋巴反应。细胞毒性 T 淋巴细胞在胶质瘤的治疗起初未引起足够的重视。最近研究表明在中枢系统的各类疾病中，如多发性硬化，脑炎、脑肿瘤等很易发现病变区有淋巴细胞浸润，大量实验研究也证实在中枢系统内，用瘤细胞疫苗也可诱发抗肿瘤免疫反应，但整个瘤细胞疫苗有一定的风险，故最近研究多以抗原肽作为疫苗，用于肿瘤的治疗。Liau[6] 等用酸洗脱的肿瘤抗原与树突状细胞体外共孵育，然后皮下注射树突状细胞来治疗颅内荷瘤大鼠。结果显示大鼠的致死率明显下降，31d 后对照组全部死亡，而治疗组存活率为 58%，60d 后，存活率 25%，病理组织切片证实长期存活的大鼠无肿瘤生长。而早期死亡的大

* 作者单位：300060 天津市脑系科中心医院神经外科

维普资讯 http://www.cqvip.com



鼠，细胞毒实验发现治疗组与对照组无明显差异。这说明在早期死亡的大鼠中，可能并未诱发特异性免疫反应，这也解释了实验组部分鼠与对照组死亡时间无明显差异的原因。在荷瘤鼠的免疫治疗中，造成这种不同的抗肿瘤免疫反应的原因可能与先天免疫系统的个体差异，血脑屏障，粗制的肿瘤抗原肽等因素有关。可见如何能诱发持久的强的特异性抗肿瘤免疫反应是免疫治疗的关键。肿瘤抗原的免疫原性弱，为增强肿瘤的免疫原性，Okada[7] 等利用基因工程技术把免疫原性强的合成抗原肽基因导入瘤细胞，再用该抗原肽与树突状细胞共孵育后治疗荷瘤鼠，可使荷瘤鼠长期生存率达67%。

到目前为止，还没有发现一真正的肿瘤特异性抗原。如用单一肿瘤特异性多肽诱导 CTL 反应可能并不现实，诱发最佳的 T 细胞抗肿瘤免疫反应可能需要一系列的抗原表位共同作用，甚至需要细胞因子等其它的辅助因素的参与，而并非单一的抗原决定簇。

Saton 等[8] 用抗 $CD_3$ 活化的 $CD_4^+$ 或 $CD_8^+$ T 细胞亚群治疗皮下荷瘤小鼠，在注射淋巴细胞前给予小剂量的环磷酰胺化疗，随后静脉注射活化淋巴细胞亚群，并腹腔注射 IL-2 5d，给予活化 $CD_4^+$ T 细胞治疗的荷瘤鼠，瘤体生长显著受到抑制，甚至完全消退。环磷酰胺给药的时间对获得最佳抗瘤效果非常关键，环磷酰胺治疗 4d 后，静脉注射 $CD_4^+$ 效果较好，而且小鼠获得了特异性的抗肿瘤免疫反应。

三、细胞因子介导的免疫治疗

细胞因子在抗肿瘤免疫中起重要的调节作用：①辅助特异性细胞毒性 T 淋巴细胞反应；②增强 NK、LAK 细胞的溶解细胞作用；③刺激 T、NK 细胞分泌 IFN-γ；④血管形成抑制剂；⑤增强瘤细胞 MHC 抗原的表达，从而增强肿瘤细胞的免疫原性；⑥抑制部分细胞因子对免疫系统的负性调节（如 IL-10、TGF-β 等）；⑦抑制瘤细胞生长，诱导分化。

体外细胞实验显示出明显的抗肿瘤效应，但体内特别是系统用药，其副作用明显而严重制约了其临床应用。转基因技术的发展为其提供了有效解决办法。把细胞因子基因转入瘤细胞不仅降低了其毒性反应而且增强了其抗肿瘤疗效。

Parker 等[9] 通过用基因工程技术构建表达 IL-12 的单纯疱疹病毒（HSV）治疗荷瘤小鼠，实验组的存活时间由对照组的 19.8d 延长到 50.5d。Horton[10] 等把含有干扰素—α 重组质粒肌肉注射治疗荷瘤小鼠，明显抑制肿瘤的生长，到肿瘤接种的第 53 天，治疗组存活率为 70%，而对照组仅为 10%。进一步 T 细胞亚型分析证实 $CD_8^+$ 在抗肿瘤治疗中起关键作用。

有些学者把细胞因子联合应用，其疗效优于单独运用其中任何一种。Kikuchi 等[11] 把用 IL-2 转染的瘤细胞与系统用 IL-12 相结合治疗荷瘤鼠，治疗组生存期大于 10 周，而对照组均在 5 周之内。实验同时提示给药途径也影响疗效。全身给药时对皮下肿瘤模型有效而对颅内肿瘤模型无作用。如改用颅内给药则疗效明显。另外，转染后的瘤细胞分泌细胞因子的剂量也应适宜，量太大易致严重的血管源性脑水肿。细胞亚型分析证实 IL-2 和 IL-12 联合治疗胶质瘤主要通过 $CD_8^+$ 和 NK 细胞发挥作用，而 $CD_4^+$ 作用不明显。但也有相反的报道，以 IL-4 转染瘤细胞治疗胶质瘤动物模型时，$CD_4^+$ T 细胞是必不可少的。这种不同类型的抗肿瘤免疫反应可能与治疗动物的种系有关；也可能与肿瘤细胞分泌的免疫调节因子有关。

细胞因子可同时诱发细胞、体液免疫，但抗肿瘤效应主要通过细胞免疫来起作用。Giezeman-Smits 等[12] 把细胞因子与 T 细胞免疫相结合取得了良好效果。

也有学者则通过抑制负性免疫负性调节因子提高肿瘤免疫原性，增强抗肿瘤免疫。Fakhrai 等[13] 用反意 TGF-β 重组质粒转染肿瘤细胞并免疫荷瘤鼠。治疗组 12 周存活率为 100%，而对照组仅为 20%，转染 IL-2 的治疗组为 30%。

综之，肿瘤的免疫治疗显现出蓬勃生机。无论是抗体导向治疗还是细胞因子、细胞免疫治疗，均取得了很大进展，并已进入临床实验。但他们并非孤立，而是紧密相连，相互促进。如何使其有机结合，将有可能使免疫治疗发挥更大的抗肿瘤潜力。随着特异性抗肿瘤免疫机制的深入认识，将有可能更加有效地在体内诱发强烈而又持久的特异性抗肿瘤免疫反应为脑瘤的治疗发挥应有的作用。

## 参 考 文 献

1. Bender H, Takahashi H, Adachi K, et al. Immunotherapy of human glioma xenografts with unlabeled, $^{131}I$-, or $^{125}I$-labeled monoclonal antibody 425 to epidermal growth factor receptor. Cancer Res, 1992, 52(1): 121 - 126.
2. Green LL, Jakobovits A. Regulation of B cell development hy variable gene complexity in mice reconstituted with human immunoglobulin yeast artificial chromosomes. J Exp Med, 1998, 188: 483 - 495.
3. Laske DW, Bercil O, Akbasak A, et al. Efficacy of direct intratumoral therapy with targeted protein toxins for solid human gliomas in nude mice. J Neurosurg, 1994, 80: 520 - 526.
4. Kroll RA, Neuwelt EA, Outwitting the blood-brain barrier for therapeutic purposes: osmotic opening and other means. Neurosurgery, 1998, 42: 1083 - 1100.
5. Behr TM, Wult E, Radetzky S, et al. Improval treatment of medullary thyroid cancer in a nude mouse model by combined radioimmunochemotherapy: doxorubicin potentiates the therapeutic efficacy of radiolabeled antibodies in a radioresistant tumor type. Cancer Res, 1997, 57: 5309 - 5319.
6. Liau LM, Black KL, Prins RM, et al. Treatment of intracranial gliomas with bone marrow-derived dendritic cells pulsed with tumor antigens. J Neurosurg, 1999, 90: 1115 - 1124.
7. Okada H, Tahara H, Shurin MR, et al, Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with a tumor-specific peptide elicit effective antitumor immunity against intracranial neoplasms. Int J Cancer, 1198, 78: 196 - 201.
8. Saxton ML, Longo DL, Wetzel HE, et al. Adoptive transfer of anti-$CD_3$-activated $CD_4^+$ T cells plus cyclophosphamide and liposome-en-

维普资讯 http://www.cqvip.com



capsulated interleukin-2 cure murine MC-38 and 3LL tumors and establish tumor-specific immunity. Blood, 1997, 89: 2529 - 2536.

9. Park JN, Gillespie GY, Love CE, et al. Engineered herpes simplex virus expressing IL-12 in the treatment of experimental murine brain tumors. PNAS, 2000, 97: 2208 - 2213.

10. Horton HM, Anderson D, Hernandez P, et al. A gene therapy for cancer using intramuscular injection of plasmid DNA encoding interferon alpha. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96: 1553 - 1558.

11. Kikuchi T, Joki T, Saitoh S, et al. Anti-tumor activity of interleukin-2-producing tumor cells and recombinant interleukin-12 against mouse glioma cells located in the central nervous system. Int J Cancer, 1999, 80: 425 - 430.

12 Giezeman-Smits K, Okada H, Brissette-Storkus CS, et al. Cytokine gene therapy of gliomas: induction of reactive $CD_4^+$ T cells by interleukin-4 transfected 9L gliosarcoma is essential for protective immunity. Cancer Res, 2000, 60: 2449 - 2457.

13. Fakhrai H, Dorigo O, shawler DL, et al. Eradication of established intracranial rat gliomas by transforming growth factor beta antisense gene therapy. Pro Nat Acad Sci USA, 1996, 93: 2909 - 2914.

(收稿日期:2002-01-15)

# 周围神经修复与再生研究进展

段现来* 曾志成*

周围神经修复与再生基础研究涉及到诸多因素:神经营养因子对神经元胞体的保护;神经再生微环境的重建;桥接物与神经缺损的修复与再生;神经末梢及效应器的再生与重建等。为进一步探讨周围神经的修复与再生,现综述如下。

一、神经营养因子对损伤神经元胞体的保护

周围神经损伤虽然局限于神经元轴突的部位,但作为基础研究应分为对神经元胞体、神经轴突、神经末梢和效应器四个部分加以研究。周围神经损伤导致神经轴突中断后,可引起轴突损伤远端发生华氏变性和近端的逆行性溃变。由于神经轴突逆行运输中断,神经元失去赖以生存的基础,逐渐变性甚至部分死亡,一定数量的神经元死亡是神经功能恢复不满意的主要原因之一。作为细胞的营养中心,只有在神经元胞体没有死亡的条件下才有轴突再生。因此设法保护神经元胞体在周围神经损伤后免于或较少发生退变死亡,是恢复神经功能的关键。神经损伤早期给予神经营养物质,它们可作用于细胞表面的相应受体,然后分别通过相应的信号传导通路来调控某些基因的表达,对神经元存活和轴突生长起重要作用[1]。

神经营养因子作为一类小分子肽类物质,主要包括神经生长因子家族(NGF, BDNF, NT-3, NT-4/5, NT-6)及非NGF家族(CNTF, IGF, GDNF, SDNF)等多种物质:①NGF是神经系统最重要的生物活性因子之一,主要对交感神经元、感觉神经元生长、发育、分化、存活和功能特性的表达具有重要调节作用,有防止神经元胞体在周围神经损伤后发生退变死亡的作用,在断端给以外源性的NGF即可取得对周围神经损伤后的脊神经节神经元较好的保护效应,另一方面对运动神经元也有明显的保护作用,促进神经轴突延伸和髓鞘化;②BDNF对神经元存活及轴突再生影响方面的研究也比较多,BDNF和NGF有50%的同源性,参与促进感觉、运动神经元的存活、突起的生长及突触的可塑性调节。在成年大鼠脊髓背神经和新生幼鼠坐骨神经切断后,给以外源BDNF、CTNF、GDNF等可以减少相应运动神经元的死亡[2]。实验则证实啮齿类动物坐骨神经的再生及髓鞘化需要内源性的BDNF;③在阻止损伤后运动神经元死亡的作用上,NT-3和BDNF有相同效应,两者共同作用更有利于髓化纤维的再生,极强地挽救损伤运动神经元的死亡,长期利用有利于轴突再生;④雪旺细胞源性神经生长因子(SDNF)不但具有维持体外培养神经元存活的显著作用,对受损的运动神经元有显著的保护作用;⑤除了上述这些神经营养因子外,还有其它一系列物质:IGF, IL-1β, TNF, FGF, GAP-43, ATP, t-PA, 糖皮质激素,雌激素、褪黑激素等方面的报道[1]。

二、神经再生微环境的重建

神经损伤部位的微环境状况是影响神经再生的重要因素之一,重建最佳神经再生微环境,有利于保护受损神经元,促进轴突的有效再生。基础研究已关注到有关成分的作用:层粘连蛋白、纤维连接蛋白、胶原蛋白、雪旺细胞(SC)、基膜和促神经生长的多种因子,均可促进轴突生长和功能恢复[4,5]。神经再生局部微环境的重建,除了直接加入外源性的神经营养因子或细胞外基质外,SC及其基膜对轴突再生起重要的诱导作用,以前用于移植的SC多采用经培养后,直接将细胞悬液或混入胶体材料注射入损伤部位,这样生长的SC缺乏立体结构和方向性,不利于轴突的再生及髓鞘化,近年人们探索建立了各种有效的立体培养体系,运用组织工程学原理进一步改进,对聚羟基乙酸细丝支架进行化学改性处理,再以层粘连蛋白进行生物学修饰,在模拟微重力条件下SC悬液接种在支架材料上培养,取得了更好的效果。

* 作者单位:410078 长沙市中南大学湘雅医学院解剖学教研室