



药 理 学 新 论 丛 书

免疫药理学新论

◎ 主 编 李 晓 玉 李 俊



人 民 卫 生 出 版 社



药 理 学 新 论 丛 书

免疫药理学新论

◎ 主 编 李晓玉 李 俊



人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

免疫药理学新论/李晓玉等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2004. 4

(药理学新论丛书)

ISBN 7-117-06052-2

I. 免… II. 李… III. 免疫学: 药理学
IV. R967

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 024801 号

药 理 学 新 论 丛 书
免疫药理学新论

主 编: 李晓玉 李 俊

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: [pmph @ pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

印 刷: 北京铭成印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 850×1168 1/32 印张: 14.625

字 数: 345 千字

版 次: 2004 年 5 月第 1 版 2004 年 5 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-06052-2/R·6053

定 价: 25.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

编 委

(以姓氏笔画为序)

- | | |
|-----|-------------------|
| 于君丽 | 中国医学科学院药物研究所 |
| 邓杨梅 | 浙江大学医学院呼吸药理研究室 |
| 冯永红 | 中国科学院上海生命科学院药物研究所 |
| 左建平 | 中国科学院上海生命科学院药物研究所 |
| 刘 静 | 中国科学院上海生命科学院药物研究所 |
| 齐晔会 | 军事医学科学院毒物药物研究所 |
| 何佩岚 | 中国科学院上海生命科学院药物研究所 |
| 吴庆莉 | 中国科学院上海生命科学院药物研究所 |
| 应 康 | 复旦大学遗传研究所 |
| 张永祥 | 军事医学科学院毒物药物研究所 |
| 张俊平 | 第二军医大学药学院药理学教研室 |
| 张洪泉 | 扬州大学医药研究所 |
| 李 岚 | 浙江大学医学院呼吸药理研究室 |
| 李 俊 | 安徽医科大学药系 |
| 李 静 | 中国海洋大学海洋药物与食品研究所 |
| 李晓玉 | 中国科学院上海生命科学院药物研究所 |
| 李晓辉 | 第三军医大学基础部药理教研室 |
| 李淑慧 | 第三军医大学基础部药理教研室 |
| 杨 雁 | 安徽医科大学药理学教研室 |
| 杨以卓 | 中国科学院上海生命科学院药物研究所 |
| 肖振宇 | 第二军医大学药学院药理学教研室 |
| 陈飞虎 | 安徽医科大学药系 |

陈晓红 中国医学科学院药物研究所
陈艳艳 上海中医药大学
陈敏珠 安徽医科大学药理学教研室
周 斌 第二军医大学药学院药理学教研室
林志彬 北京大学医学部基础医学院药理系
姜远英 第二军医大学药学院药理学教研室
祝晓玲 北京大学医学部基础医学院药理系
赵红卫 河南省人民医院
桂 敏 第二军医大学药学院药理学教研室
耿美玉 中国海洋大学海洋药物与食品研究所
程桂芹 中国医学科学院药物研究所
谢强敏 浙江大学医学院呼吸药理研究室

《药理学新论丛书》编委会

主任委员 张洪泉

副主任委员 卞如濂 朱兴族

委员 (以姓氏笔画为序)

卞如濂	李晓玉	李俊	朱兴族
孙瑞元	张永祥	张洪泉	罗质璞
郑青山	胥彬	顾振纶	唐法娣
戴德哉	魏伟		

《药理学新论丛书》编写说明

药理学在医学与药学发展中起着重要作用,与人类社会的实际需要有着紧密的联系。人们对药理学重要作用的认识越来越深刻,无论药学,还是基础医学、临床医学,都越来越需要药理学。药品研制单位开发新药需要药理学;临床医生提高医疗水平,正确用药需要药理学;药品监督管理部门加强药品管理需要药理学;各方面的迫切需要赋予了药理学旺盛的生命力与迅猛发展的动力。近年来,药理学的进展很快,不论理论研究还是新药研究、临床用药研究等都有很大的进步,每年都有大量新的理论、新的知识出现。为了及时反映药理学方面这些新的理论和知识,多年来我们就有编撰《药理学新论丛书》的愿望,将药理学各分支的进展情况汇集成册,献给药理学同道与临床学科关心药理学进展的同志作为参考,帮助大家了解药理学发展的前沿与趋势。经过组织与协商,我们邀请了国内多年从事药理学研究的老、中、青专家,组成了《药理学新论丛书》编委会,经过 2003 年一年的努力,完成了九个分册的编写任务,具体品种书目如下:

- | | | |
|-------------|---------|----|
| 1. 肿瘤药理学新论 | 胥 彬 | 主编 |
| 2. 免疫药理学新论 | 李晓玉 李 俊 | 主编 |
| 3. 心血管药理学新论 | 顾振纶 戴德哉 | 主编 |
| 4. 数学药理学新论 | 孙瑞元 郑青山 | 主编 |

- | | | |
|-------------|---------|----|
| 5. 临床药理学新论 | 魏 伟 | 主编 |
| 6. 中药药理学新论 | 张永祥 | 主编 |
| 7. 神经药理学新论 | 朱兴族 罗质璞 | 主编 |
| 8. 抗衰老药理学新论 | 张洪泉 | 主编 |
| 9. 呼吸药理学新论 | 卞如濂 唐法娣 | 主编 |

我们衷心希望《丛书》的出版会带给读者新的理论、新的知识、新的讯息。并请提出宝贵意见。本《丛书》的出版工作得到了人民卫生出版社药学分社的大力支持和帮助,为此表示衷心感谢。

张洪泉 卞如濂 朱兴族

二〇〇四年三月

序

免疫药理学是药理学的一个重要分支学科。最初，它是药理学与免疫学相结合形成的一个交叉学科。但是随着分子生物学理论和技术的迅速发展，学科的渗透赋予了免疫药理学全新的面貌，今天的免疫药理学已进入分子免疫药理学的时代。当代免疫学技术的发展与应用，许多细胞因子和单克隆抗体的大力研制及生产，生物疗法乃至基因治疗已成为人类与疾病作斗争的一股新潮流。国外在研发新的疗效好、低毒、选择性高的免疫抑制剂和免疫增强剂方面，我国在中西医结合采用某些中药治疗多种自身免疫性疾病方面，都取得了丰硕的成果。在开展免疫药理学研究的同时，不断从中药中分离提纯各种免疫调节活性成分，如多糖类、皂苷类，使得研究工作的内涵更加丰富多彩。

中国科学院上海药物研究所免疫药理组李晓玉教授组织全国药理学的同行共同编写了药理学新论系列丛书之一——《免疫药理学新论》，并得到了人民卫生出版社的鼎力支持。该书内容涉及基因芯片在免疫药理学中的应用、趋化因子及其受体与疾病的研究、硫氧还蛋白与免疫调节等，积极地反映了近年来免疫药理学理论研究和临床治疗的最新概况，是一本很值得从事免疫和免疫药理学研究的工作者参考的书籍。谨以此序祝贺本书面世。

刘耕陶

2004年元月于北京

目 录

第一章	祝晓玲 林志彬	1
细胞因子诱导的杀伤细胞及其活性增强剂研究进展		
第二章	陈晓红 于君丽 程桂芳	17
免疫性炎症中细胞因子的信号传导和药物的调控作用		
第三章	李淑慧 李晚辉	44
影响自体活性物质药物的研究与展望		
第四章	邓杨梅 谢强敏	88
趋化因子及其抑制剂的研究动向		
第五章	杨以卓 左建平	120
趋化因子及其受体与疾病的研究		
第六章	张俊平 肖振宇 桂敏 周斌 姜逸英 应康	130
基因芯片在免疫药理学中的应用		
第七章	张洪泉	163
呼吸免疫药理学进展		
第八章	杨雁 陈敏珠	200
肝纤维化防治的研究进展		

第九章	齐春会 张永祥	229
中药及其活性成分的免疫药理研究进展		
第十章	李 静 耿美玉	287
多糖与免疫调节		
第十一章	赵红卫 李晚玉	316
阿尔采末病的炎症免疫机制及银杏叶提取物的防治作用		
第十二章	陈艳艳 李晚玉 左建平 何佩霞	351
树突状细胞的免疫活性及临床应用前景		
第十三章	李 霞 谢强敏	370
VLA-4 及其拮抗剂在炎症和自身免疫性疾病中的研究进展		
第十四章	冯永红 左建平 李晚玉	397
硫氧还蛋白与免疫调节		
第十五章	刘 静 李晚玉 杨以卓 左建平	413
雷公藤内酯醇及其衍生物的免疫药理研究进展		
第十六章	陈飞虎 李 健	433
白细胞介素 10 治疗银屑病研究进展		
第十七章	吴庆莉 李晚玉 杨以卓 左建平	444
一类新型的免疫抑制剂 S-腺苷-L-高半胱氨酸水解酶抑制剂的进展		

第一章

细胞因子诱导的杀伤细胞及其活性增强剂研究进展

20 世纪 80 年代初, Rosenberg 等人发现^[1], 小鼠的脾细胞经过含 IL-2 的培养液培养后, 能产生针对肿瘤细胞而不针对正常细胞的高度杀伤活性。正常人和肿瘤患者的外周血淋巴细胞经 IL-2 刺激短期培养后, 能够杀伤 NK 细胞所不能杀伤的多种组织类型的肿瘤细胞。1982 年, Grimm 等人首次称这种杀伤细胞为淋巴因子激活的杀伤细胞 (lymphokine-activated killer cells, LAK), 它们不需要其它细胞的辅佐, 不需抗体参与, 识别和杀伤靶细胞也不受 MHC 的限制。LAK 细胞的细胞毒需要预先激活, 这些细胞表达多种表型, 包括由淋巴因子激活的细胞毒 T 淋巴细胞 (CTL) (CD_3^+ 、 CD_8^+) 和 NK 细胞 (CD_3^- 、 CD_{56}^+ 、 CD_{25}^+ 、 CD_{16}^+), 而 CTL 也常表达 CD_{56} 标志。LAK 细胞与 CTL 和 NK 细胞均不同, 其识别和杀伤靶细胞的范围远远大于 CTL 和 NK 细胞, 能够非特异地杀伤多种抵抗 NK 细胞的肿瘤细胞。后来有人直接从肿瘤组织中分离出淋巴细胞, 称肿瘤浸润性淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocyte, TIL), TIL 在 IL-2 诱导下, 大量扩增, 对肿瘤细胞的杀伤能力和范围高于 LAK, 对原发肿瘤有一定的特异性。LAK、TIL 被运用于肿瘤过继免疫治疗 (adoptive immunotherapy, AIT)。该方法将具有免疫活性的淋巴细胞输入患病机体, 促进患者重建免疫功能, 对于消除残留肿瘤细胞、净化白血病患者骨髓、辅助治疗恶性肿瘤和严重感染有良好的效果。除了

LAK、TIL 以外,还报道了 A-LAK(粘附性 LAK)、 CD_3 AK(IL-2 和抗 CD_3 抗体共同诱导激活淋巴细胞)、TAK(在前者基础上加入肿瘤抗原提取物)、CINK(细胞因子诱导的自然杀伤细胞)、CHAK(趋化因子活化的杀伤细胞)。近年,AIT 成为肿瘤生物治疗中最活跃的领域之一。获得增殖力强、细胞毒活性高的杀伤细胞是过继免疫治疗成功的关键。尽管 LAK、TIL 对一些肿瘤有抑制作用,但因 LAK 细胞增殖能力差及其抗肿瘤活性仍有待提高,且需大量 IL-2 回输给病人,引起严重毒副作用,限制了其临床应用^[2]。20 世纪 90 年代初,有人将人外周血淋巴细胞在体外经多种细胞因子共同刺激培养一段时间后获得了一群异质细胞,即多种细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cells, CIK),具有增殖力强、杀瘤活性高、杀瘤谱广、对多重耐药肿瘤细胞同样敏感、以非 MHC 限制性方式杀伤肿瘤细胞,对正常的造血祖细胞影响不大等特点,CIK 细胞的高杀伤活性与 CIK 细胞中主要效应细胞 $CD_3^+ CD_{56}^+$ 细胞的扩增相关。体内实验表明,CIK 细胞能够清除在严重联合免疫缺陷小鼠(severe combined immune deficient, SCID)体内构建的人 B 细胞淋巴瘤,在抑制肿瘤转移,延长生存期方面的作用明显优于 LAK 细胞^[3],因此有望取代 LAK 细胞,成为新一代抗肿瘤过继细胞免疫治疗的首选方案。

一、CIK 细胞

(一) CIK 细胞的经典制备方法

1991 年, Schmidt-wolf 等人首次报道了 CIK 细胞^[3], CIK 细胞能够大量增殖,具有较 LAK 细胞更强大的增殖力和肿瘤杀伤活性,对自身组织没有细胞毒作用^[4]。产生 CIK 的一般方法是制备外周血淋巴细胞悬液,以 2×10^6 个/ml 细胞浓度重悬于含 10% 胎牛血清的完全培养液,并加入 IFN- γ

(1000U/ml), 次日用抗 CD_3 单抗 (25ng/ml)、重组 IL-2 (300U/ml) 刺激细胞, 以后每 3 ~ 5 天, 用含 IL-2 (300U/ml) 的新鲜培养基换液 (细胞密度为 $1.5 \times 10^6 \sim 2.0 \times 10^6$ 个/ml), 共培养 28 天。CIK 体外培养第 21 ~ 28 天, 可获得大量扩增和最大的肿瘤细胞杀伤活性。CIK 细胞含有不同种类的活化 T 细胞, 而那些具有抗肿瘤活性的细胞均表达 CD_3 以及 NK 细胞的表面标志 CD_{56} 。静息的外周血淋巴细胞只有 1% ~ 5% 为 $CD_3^+ CD_{56}^+$ 细胞, 在 CIK 培养体系中, $CD_3^+ CD_{56}^+$ 细胞扩增了 1000 倍, 占到培养细胞的 10% ~ 40%^[5,11]。

(二) CIK 细胞抵抗 Fas 介导的细胞凋亡

近来研究表明, 很多肿瘤细胞表达 Fas 配体 (FasL), 可诱导肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL) 凋亡, 从而逃避免疫监视和免疫效应^[6]。研究发现, 通过刺激 CD_3 /TCR 复合物, 静息的外周血 T 淋巴细胞得以活化, Fas 受体和 FasL 表达上调^[7], 但在免疫反应的早期, 它们不会发生 Fas 介导的细胞凋亡。因此, 免疫反应的最初阶段, T 细胞快速扩增, 一旦入侵的异物被消灭, 或者 TCR 受到长期刺激, T 细胞变得对以自分泌或旁分泌形式分泌的 FasL 易感, 而发生凋亡^[8-10]。Verneris MR 等人研究了 CIK 细胞对经 Fas 介导的凋亡的易感性, 发现 CIK 中活化的 $CD_3^+ CD_{56}^+$ T 细胞能够抵抗 Fas 介导的细胞凋亡^{〔11〕}。运用流式细胞仪分选培养 28 天的 CIK 细胞, 分成两群纯的细胞群 (>95%): $CD_3^+ CD_{56}^+$ 和 $CD_3^+ CD_{56}^-$ 细胞, 及未分选的 CIK 细胞, 分别加入抗 Fas 受体抗体, 诱导细胞凋亡, 结果显示, $CD_3^+ CD_{56}^+$ 细胞、 $CD_3^+ CD_{56}^-$ 细胞以及未分选的 CIK 细胞绝大部分 (>90%) 均能抵抗 Fas 介导的细胞凋亡。进一步研究发现, 利用 SU-DHL4 肿瘤细胞系作为靶细胞, 该细胞表达 Fas 受体但能够抵抗 Fas 介导的凋亡, CIK 作为效应细胞, 加入抗 Fas 受体抗体, 对细胞介导的细胞毒性 (cell-mediated cytotox-

icity, CMC) 没有影响。继而又采用 FasL⁺ 结肠腺癌细胞系 SW620 细胞和 FasL⁻ 细胞系 HT-29 细胞作为靶细胞, 发现 CIK 对 FasL⁺ 或 FasL⁻ 肿瘤靶细胞的杀伤没有显著差别, CIK 细胞主要经由颗粒酶/穿孔素途径发挥抗肿瘤活性, 证实肿瘤细胞表达的 FasL 对 CIK 细胞的抗肿瘤细胞活性没有明显影响^[11]。

Fas 受体和 FasL 或抗 Fas 受体抗体的寡聚体化, 产生 Fas 信号, 募集 FADD (Fas associated protein with death domain, FADD), 进而募集 caspase-8, 启动凋亡^[12]。为研究 CIK 抵抗 Fas 介导凋亡的机制, Verneris MR 等人发现, 从培养开始至培养第 28 天, 能够检测到 CIK 细胞 caspase-8 mRNA 的表达, 未能检测到 FADD mRNA 的表达, 在培养过程中, Fas 受体或其邻近的结合分子 FADD、caspase-8 mRNA 的表达均无变化, 说明并非由于 Fas 受体或其结合分子 FADD、caspase-8 表达的变化而使 CIK 抵抗 Fas 介导的凋亡, FADD 的低水平表达可部分解释 CIK 对 Fas 介导凋亡的抵抗^[11]。他们进而检测了抑制 Fas 信号转导蛋白基因的转录情况 (例如: 干扰 FADD/caspase-8 相互作用的 Fas 相关磷酸酶 FAP 和 cFLIP), 结果显示, CIK 不表达 FAP mRNA, 但表达 cFLIP mRNA, 而 cFLIP 可阻断凋亡信号的转导。另外, 在 CIK 培养过程中, 抗凋亡基因 Bcl-2、Bcl-xL 和 survivin 表达均上调 (survivin 能够抑制 caspase-3 和 caspase-7 的活性)^[13,11]。

尽管培养中的 CIK 细胞上调 Fas 受体和 FasL, 但在获得最大的抗肿瘤细胞活性时期 (培养第 21 ~ 28 天), 绝大多数 CIK 能够抵抗 Fas 受体交联介导的凋亡。将外周血淋巴细胞先经 IFN- γ 刺激, 再加入抗 CD₃ 抗体、IL-2, 从而产生 CIK 细胞, 这种细胞因子组合可能有利于选择那些能够抵抗 Fas 介导凋亡的细胞。因为 IFN- γ 可增加肿瘤细胞对 Fas 介导凋亡的敏感性^[14], 刺激活化 T 细胞的 TCR, 同样也能增加其对

Fas 介导凋亡的敏感性,因此,在 CIK 细胞培养体系中,外周血中那些先前已被活化的 T 细胞和对 Fas 敏感的细胞,在培养早期阶段,通过 IFN- γ 和/活化诱导的细胞死亡(activation-induced cell death, AICD)途径被消除。CIK 培养上清含有可溶性 FasL,该 FasL 具有生物活性,能够诱导 Jurkat 细胞凋亡。另外,CIK 也可分泌其它能够诱导凋亡的物质,如:在培养过程中,CIK 上调 TNF 相关的凋亡诱导配体 TRAIL 表达(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL),研究表明 TRAIL 可以诱导 Jurkat 细胞凋亡^[15]。因此,CIK 细胞表达 TRAIL 或其它 TNF 超家族成员,就可以解释为什么 CIK 细胞培养上清的细胞毒活性不能被可溶性 Fas 受体完全抑制。

目前的研究显示,适时加入 IFN- γ 、抗 CD₃ 单抗、IL-2,活化 T 淋巴细胞,培养 21 ~ 28 天后,可获得最大的抗肿瘤细胞效应,这些 CIK 细胞不需要肿瘤细胞致敏,不依赖 TCR,能够抵抗 Fas 介导的自身凋亡,对很多肿瘤细胞系包括 FasL⁺ 肿瘤细胞发挥细胞毒作用^[5,16~18],其抗肿瘤机制主要经由穿孔素途径^[11]。有报道,CIK 细胞和化疗药物阿霉素联合作用,能够提高对乳腺癌耐药细胞系的杀伤活性^[19]。

(三) 细胞因子促进粘附分子在 CIK 细胞的表达

CIK 识别和粘附靶细胞的过程中,粘附分子起了重要作用,最重要的粘附分子有:CD₁₁a、CD₁₁b、CD₁₁c/CD₁₈和 CD₂(CD₁₁a 表达于全部白细胞,CD₁₁b 在 NK 和 CD₈⁺ 杀伤 T 细胞均有表达,CD₁₁c 在 NK 和活化 T 细胞上表达,CD₁₈,表达于全体白细胞,与 CD₁₁a、CD₁₁b、CD₁₁c 是共同的 β 链,CD₂ 表达于全体 T 和 NK 细胞),其肿瘤细胞上的对应受体为 CD₅₄和 CD₅₈^[20]。研究表明,IL-12、IL-2 单独作用可增强淋巴细胞活性,但二者协同作用 18 小时,能够使淋巴细胞对 NK 抵抗的 Saos-2 肿瘤细胞杀伤活性增加更为显著,并随时间延长而增

强。应用流式细胞仪检测表明,IL-12 和 IL-2 共同作用,上调淋巴细胞表达 CD_{18} 、 CD_2 分子的作用比单一细胞因子的更强,表明 IL-12 和 IL-2 共同刺激 CIK 细胞,能够上调效应细胞上粘附分子的表达,由此加强与肿瘤细胞上受体的结合,增强对肿瘤细胞的杀伤活性^[21,63]。

(四) CIK 细胞应用现状

Wang FS 等人发现,来源于原发性肝癌患者外周血单个核细胞制备的 CIK 细胞对荷瘤小鼠 BEL-7402 的抑瘤作用显著大于 LAK,提示原发性肝癌患者自体 CIK 细胞也可应用于过继免疫治疗^[22]。SCID 动物模型和人淋巴瘤模型实验证明,CIK 细胞对于骨髓净化和肿瘤过继治疗效果显著,其强大的抗肿瘤效应和扩增能力,清除荷瘤小鼠体内的肿瘤病灶,延长生存期的作用均优于 LAK,使 CIK 成为过继免疫治疗中引人瞩目的效应细胞^[5],并已开始进行 I/II 期临床实验,临床应用 CIK 治疗时,不需要同时注射 IL-2,从而减低 IL-2 的毒副作用^[3,23,24]。有研究显示,自身 CIK 细胞可用于慢性粒细胞白血病(chronic myelocytic leukemia, CML)骨髓的体外净化^[25]。37 例急性白血病患者接受自体 CIK 细胞治疗,显示 CIK 细胞具有明显清除微小残留白血病细胞,防止复发的作用,静脉输注安全^[26]。用自体 CIK 过继性回输治疗能够明显提高癌症患者细胞免疫功能,改善临床体征,无毒副作用^[27]。目前,相关的临床 I、II 期实验还不够多,需要继续开展,才能获得更多的临床资料,扩大临床应用范围。

二、细胞因子诱导的自然杀伤细胞

(cytokine-induced natural killer cells, CINK)

CIK 以 CD_3^+ T 细胞为主,其中 30% 共表达 CD_{56} ,而在 CIK 细胞中,从单个细胞水平比较, $CD_3^-CD_{56}^+$ NK 细胞抗肿瘤