

铜绿假单胞菌制剂在恶性肿瘤中的辅助治疗作用

王浦华, 沈通一, 葛海燕

王浦华, 沈通一, 葛海燕, 同济大学附属第十人民医院胃肠外科 上海市 200072

葛海燕, 教授, 主要从事胃肠道肿瘤外科综合治疗的研究.

作者贡献分布: 本文综述由王浦华完成; 沈通一与葛海燕审核.

通讯作者: 葛海燕, 教授, 主任医师, 博士生导师, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院胃肠外科. gesurgery@163.com

收稿日期: 2010-08-30 修回日期: 2010-10-08

接受日期: 2010-10-18 在线出版日期: 2010-10-28

Role of PA-MSHA vaccine in adjuvant therapy for malignant tumors

Pu-Hua Wang, Tong-Yi Shen, Hai-Yan Ge

Pu-Hua Wang, Tong-Yi Shen, Hai-Yan Ge, Department of Gastrointestinal Surgery, the 10th People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China

Correspondence to: Professor Hai-Yan Ge, Department of Gastrointestinal Surgery, the 10th People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China. gesurgery@163.com

Received: 2010-08-30 Revised: 2010-10-08

Accepted: 2010-10-18 Published online: 2010-10-28

Abstract

Nowadays, malignant tumors have increasingly tended to be treated in a comprehensive manner. *Pseudomonas aeruginosa*-mannose sensitive hemagglutinin (PA-MSHA) vaccine is a class of immunotherapeutic agents that are being trialed for tumor treatment. This paper focuses on the research on the effect of PA-MSHA vaccine in adjuvant therapy for malignant tumors.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*-mannose sensitive hemagglutinin vaccine; Malignant tumor; Immunotherapy

Wang PH, Shen TY, Ge HY. Role of PA-MSHA vaccine in adjuvant therapy for malignant tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(30): 3171-3174

摘要

当前, 恶性肿瘤已越来越趋向于多方面的综合治疗. 带有甘露糖敏感性血凝菌毛的铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*-mannose sensitive hemagglutinin, PA-MSHA)制剂是一类用于免疫治疗的生物制剂, 正被应用于恶性

肿瘤的治疗过程中. 本文重点介绍PA-MSHA制剂对恶性肿瘤辅助治疗作用的研究进展.

关键词: 带有甘露糖敏感性血凝菌毛的铜绿假单胞菌; 恶性肿瘤; 免疫治疗

王浦华, 沈通一, 葛海燕. 铜绿假单胞菌制剂在恶性肿瘤中的辅助治疗作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(30): 3171-3174

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3171.asp>

0 引言

随着肿瘤免疫治疗的兴起, 以其为基础的生物治疗(biotherapy)正逐步被接受, 并受到人们的重视. 生物治疗是指调节和增强机体固有的抗癌能力, 抑制和杀伤肿瘤细胞, 或使其转化为良性组织细胞, 已成为恶性肿瘤综合治疗中重要的一部分. 带有甘露糖敏感性血凝菌毛的铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*-mannose sensitive hemagglutinin, PA-MSHA)制剂是一种通过基因工程开发和制备的生物制剂^[1], 目前已广泛应用于多种恶性肿瘤的免疫辅助治疗. 我们就PA-MSHA在常见恶性肿瘤综合治疗中的辅助作用作一综述.

1 PA-MSHA简介及其免疫作用机制

早在几个世纪前, 人们从感染可以使肿瘤消退的临床病例中意识到, 微生物及其产物可以用来治疗肿瘤. 其中最典型的代表是“Coley疗法”, 美国外科医生Coley应用杀死的化脓性链球菌及灵杆菌滤液治疗癌症患者, 成为第1代肿瘤生物疗法. 但由于不良反应大, 限制了他的临床应用. 20世纪50年代以来, 卡介苗、短小棒状杆菌、免疫核糖核酸等相继应用于临床, 并取得了一定的疗效^[2].

PA-MSHA由我国著名的微生物学者牟希亚教授所创建, 是以铜绿假单胞菌为载体, 通过诱导隐性的甘露糖敏感性血凝(mannose sensitive hemagglutination, MSHA)菌毛基因的表达, 使铜绿假单胞菌表面表达丰富的MSHA菌毛, 经过灭活和传代后制成. PA-MSHA菌苗是普通 I 型菌

■背景资料

PA-MSHA由我国著名的微生物学者牟希亚教授所创建, 是以铜绿假单胞菌为载体, 通过诱导隐性的甘露糖敏感性血凝(MSHA)菌毛基因的表达, 使铜绿假单胞菌表面表达丰富的MSHA菌毛, 经过灭活和传代后制成. 目前已广泛应用于多种恶性肿瘤的免疫辅助治疗.

■同行评议者

邹小明, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外科

■研发前沿

恶性肿瘤的免疫治疗是当前研究的热点,以手术、放化疗、免疫治疗等为主的综合治疗是肿瘤的主要治疗手段。铜绿假单胞菌制剂作为目前广泛应用的生物制剂之一,越来越受到人们的重视。

毛与铜绿假单胞菌自身菌毛及菌体结合在一起的综合性抗原物质,高效和广谱免疫原性是其特征,因而有诱导产生多种抗体的作用^[3]。实验证明,该菌苗能激活小鼠自然杀伤(nature killer, NK)细胞和巨噬细胞,提高获得性免疫系统的细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTL)细胞活性,诱导小鼠脾细胞产生干扰素,诱导巨噬细胞产生IL-1,激发小鼠多克隆B淋巴细胞产生能与多种细菌如大肠杆菌、肺炎克雷白氏杆菌、变形杆菌、绿脓杆菌发生反应的高效价交叉抗体,从而有效地防治细菌感染^[4]。PA-MSHA对于移植S180肉瘤小鼠,较对照组明显延长了其生存时间,与通过提高机体对病原体的免疫防御能力有关^[5]。

CTL和固有免疫系统的NK细胞是负责机体肿瘤免疫监视职能的最重要的两种效应细胞,CTL和NK细胞的有效活化是肿瘤免疫治疗成败的关键^[6]。相关实验表明,PA-MSHA可以在体外刺激淋巴细胞活化,促使外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)细胞群表达CD2+、CD69+和CD25+细胞明显增加,CD69+和CD25+都是活化T淋巴细胞的标志,表明PA-MSHA具有活化T淋巴细胞的功能^[7]。而另一项实验发现,随着PA-MSHA浓度梯度的上升,小鼠NK细胞的靶细胞杀伤率显著提高,说明该菌苗可以刺激增强小鼠NK细胞杀伤活性^[8]。

2 PA-MSHA在恶性肿瘤治疗中的作用

2.1 乳腺癌 乳腺癌全身治疗的主要手段是化疗,但化疗在非特异性杀死肿瘤细胞的同时,对机体免疫功能产生了抑制作用。因此具有特异性杀伤作用,同时增强机体免疫功能的生物治疗逐步受到重视。

Liu等^[9]发现PA-MSHA在体外可以显著抑制乳腺癌细胞的增殖,促进其凋亡,经PA-MSHA作用后能显著提高G₀-G₁期细胞比例;通过电镜可以观察到肿瘤细胞表面吸附着铜绿假单胞菌样的棒状物,并使得肿瘤细胞的生物学行为发生改变,包括细胞增殖减慢、细胞体积缩小、细胞膜结构破坏、细胞器破坏、细胞内出现大量空泡、微绒毛减少等一系列改变,表明PA-MSHA可以特异地与肿瘤细胞结合并且引起细胞凋亡。他们认为,引起肿瘤细胞凋亡主要是通过表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)通路和死亡受体信号转导通路,使得肿瘤细胞内高表达caspase3, 8, 9和Fas蛋白。王

浩等^[10]也通过体外实验发现了PA-MSHA对人乳腺癌细胞(MCF-7)有着抑制增殖、诱发细胞凋亡的作用。

新辅助化疗是乳腺癌进行手术及局部放疗前的一种全身化疗手段,可以明显降低分期,提高手术切除率,还可以使潜在的微小转移得以控制,减少远处播散的可能。陈卫东等^[11]和徐峰等^[12]在临床试验中发现,接受新辅助化疗的患者同时使用PA-MSHA,可以增加乳腺癌患者的化疗疗效,并且试验组对于化疗的不良反应呈现良好的耐受。乳腺癌术后发生的常见并发症,如皮下积液、皮瓣坏死等,发生率较对照组明显降低,可能与术前使用新辅助化疗和PA-MSHA后肿块缩小,从而使手术切除范围变小,组织损伤减小有关。也可能PA-MSHA具有广谱、较强的免疫原性,不仅调节体内的体液免疫功能,使机体获得了不同菌属的高效价广谱抗体,同时调整机体的细胞免疫功能,诱导辅助性T淋巴细胞1型(helper T cells type 1, Th1)和NK细胞的活化,使机体抗感染能力增强。王浩等^[13]通过给予乳腺癌癌性溃疡的患者联合使用化疗和PA-MSHA,有效率明显高于单纯化疗组,其能防止乳腺癌溃疡面感染的发生,同时杀伤溃疡面浸润的肿瘤细胞,诱导创伤修复过程中的炎症反应,从而促进溃疡创面的愈合。

2.2 胃肠道恶性肿瘤 胃肠道恶性肿瘤的治疗已趋向于手术、化疗、放疗、靶向治疗、免疫治疗等联合的综合治疗为主。PA-MSHA作为免疫治疗的一种生物制剂,已经应用于胃肠道恶性肿瘤的临床治疗过程中。

在一项关于PA-MSHA对胃癌细胞体外杀伤作用的实验中^[14],PA-MSHA作用下的胃癌细胞株MKN45,其反映活细胞增殖程度的MTT值显著下降,且随着用药浓度的增加,细胞存活数下降更为明显。由于PA-MSHA表面表达丰富的MSHA菌毛,不仅与胃癌细胞发生特异性结合,还可以穿透细胞膜进入到肿瘤细胞内,使肿瘤细胞的生物学行为发生改变,包括细胞增殖减慢、细胞数量减少、细胞体积缩小、细胞膜结构破坏、微绒毛明显减少。透射电镜观察和TUNEL法检测也证实了上述细胞凋亡的一系列表现。这一体外杀伤胃癌细胞的实验,为PA-MSHA的临床作用提供了依据。NK细胞作为细胞免疫的非特异性成分,不依赖于抗原和补体,可直接发挥其在抗肿瘤细胞和调节机体免疫功能上的作用。胃癌动物模型实验证实,NK细胞降

■相关报道

凌伟等发现,与常规腹腔内化疗相比,PA-MSHA作为腹腔内化疗的手段之一,用药组的腹膜复发和腹水脱落癌细胞阳性率方面显著低于对照组。

低术后发生肝癌转移及腹膜转移率明显升高^[15]. PA-MSHA可诱导NK细胞活化, 临床试验证实, PA-MSHA可以帮助改善患者的细胞免疫和NK细胞状况. 胃癌患者使用PA-MSHA进行创面及腹腔喷洒, 术后继续给予皮下注射, 外周血检测CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺和NK细胞的数量较术前明显上升, 与对照组相比也均显著上升. 研究认为, 胃癌的发生发展等与其对免疫系统的抑制和逃避有着十分密切的关系. PA-MSHA不仅可以提高胃癌患者术后的T淋巴细胞和NK细胞的数量, 改善免疫功能, 而且PA-MSHA特异性的与胃癌细胞结合后, 放大肿瘤细胞的抗原信号以刺激抗原提呈细胞(树突状细胞、单核巨噬细胞等), 重新建立免疫监视和免疫应答^[16]. PA-MSHA更能刺激T淋巴细胞向Th1转化, 并诱导IL-2、INF- γ 等细胞因子的产生, 进一步增强NK细胞活性^[17,18].

胃癌侵及或突出于浆膜就有可能发生肿瘤细胞脱落于腹腔, 手术本身也可促使肿瘤细胞脱落, 形成亚临床病灶或微转移灶, 是胃癌术后腹腔复发和转移的重要原因. 腹腔内化疗是一种局部化疗措施, 可以有效地预防肿瘤在腹腔脏器和腹膜上种植, 杀灭微转移灶、控制癌性腹水. 但腹腔化疗也有其明显不足之处: 化疗药物分子量大, 难以渗入腹膜; 此外还可能造成一定的组织损伤, 比如粘连性肠梗阻、肠麻痹、一过性肝肾功能损伤、化学性腹膜炎等. 凌伟等^[16]发现, 与常规腹腔内化疗相比, PA-MSHA作为腹腔内化疗的手段之一, 用药组的腹膜复发和腹水脱落癌细胞阳性率方面显著低于对照组. 表明了PA-MSHA可以有效控制和预防腹腔复发和转移. PA-MSHA通过对胃癌患者免疫功能的调节, 在特异性结合并诱导肿瘤细胞凋亡的基础上, 帮助发挥机体自身的免疫功能, 加强对胃癌细胞的杀伤作用和免疫监视作用, 对胃癌的复发和转移起到了一定的抑制效果. 比传统的腹腔内化疗, PA-MSHA更好地与肿瘤细胞发生反应, 不良反应小这一优点, 更能被医生和患者所接受.

PA-MSHA在结直肠癌方面的研究尚不及胃癌, 仅有一项临床试验表明, 晚期结直肠癌患者术中使用PA-MSHA, 具有提高1年生存率和延长中位生存期的倾向^[19]. 该制剂在结直肠癌中的应用还有待人们进一步试验.

2.3 肺癌 杨彦卓等^[20]在肺癌患者手术结束前胸腔内注射PA-MSHA, 并在术后第4天开始连续

皮下注射10 d, 观察到试验组患者的T淋巴细胞和NK细胞数量显著高于对照组, 提示患者的肿瘤免疫功能在术后得到了有效的重建. 而且试验组的患者均无术后感染发生, 对于肺癌患者术后的预后具有重要的意义. 在一项关于化疗联合PA-MSHA的临床试验中, 实验组的CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、NK细胞活性和IL-2水平均高于对照组, 试验组治疗的有效率与对照组的差异显著, 进一步说明了PA-MSHA对于肺癌患者的免疫功能有着正向调节作用, 并且依靠其产生的多价菌苗抗体滴度, 使得肺癌合并感染的感染率和感染程度下降^[21].

恶性胸腔积液是晚期肺癌严重的并发症之一, 预后很差. 但如采用积极的局部治疗和全身治疗可提高患者的生活质量和延长生存期. 局部治疗的关键是尽量引净胸腔积液, 这对中等量或大量恶性胸腔积液显得尤为重要, 然后注入化疗药物或生物反应调节剂等. 顾洪兵等^[22]应用了微管引流胸腔积液, 引净后灌注PA-MSHA和顺铂进行治疗, 其有效率为78%, 中位生存期248 d, 长于恶性胸腔积液的自然生存期4-6 mo. 他们认为PA-MSHA和顺铂在治疗上有协同作用或相加作用, 并且由于PA-MSHA特异性与肿瘤细胞结合并诱导其凋亡, 可以起到控制恶性胸腔积液的作用. 通过单独使用PA-MSHA胸膜腔注射后, 也可达到令人满意的治疗效果^[23].

3 结论

PA-MSHA是一种新兴的免疫调节制剂, 具有特异性高、调节和重建机体免疫功能、安全性好、不良反应低等优点. 大量实验和临床研究表明, PA-MSHA与手术、化疗、放疗等联合应用, 对于多种恶性肿瘤均有积极的作用, 其作用机制也逐渐地被人们揭示.

对于一些难以手术切除、或者行姑息性切除的晚期肿瘤患者, 我们在手术中直接将PA-MSHA注射入残余肿瘤内部, 以及喷洒在转移灶和血管淋巴丰富的区域, 可以起到有效地抗肿瘤作用和刺激免疫应答. PA-MSHA已得到了良好的效果, 但是仍然有一些问题需要进一步探讨和解决: (1)就目前而言, PA-MSHA使用的剂量仍不确定, 大多为经验用药, 是否有可能采取统一的剂量以达到更好的效果, 推出规范化的使用剂量、方法? (2)PA-MSHA一般在术中及术后短期使用, 作为一种免疫治疗的生物制剂, 是否可以在手术前就给肿瘤患者使用, 改善其内

■创新盘点

本文紧扣铜绿假单胞菌制剂作为恶性肿瘤治疗中的新兴方法, 分别介绍了该制剂在几种常见恶性肿瘤综合治疗中的应用.

■同行评价

本文内容全面,可读性及科学性较好。

在的免疫环境,对于抑制肿瘤进一步生长和转移是否更有帮助?(3)对于恶性肿瘤的治疗,规范的放化疗是手术以外的一种常规且重要的治疗措施,但是由于放化疗所引起的免疫抑制等不良反应一直困扰着我们,是否可以将PA-MSHA联合放化疗进行按疗程使用,从而改善因放化疗而引起的一系列不良反应?我们相信,通过更多的基础实验以及临床研究,PA-MSHA在不久的将来可以更多地应用于恶性肿瘤的临床治疗中。

4 参考文献

- 1 牟希亚. 绿脓杆菌甘露糖敏感血凝菌毛株的建立. 微生物学报 1986; 26: 176-179
- 2 曹广文, 杜平. 现代癌症生物治疗学. 第1版. 北京: 北京人民军医出版社, 1995: 3-4
- 3 牟希亚, 郭雁群, 付宏文. PA菌毛株疫苗的应用研究. 大连医学院学报 1990; 12: 63-68
- 4 李志平, 郝德治, 任莉, 杨玉琼, 李丽云, 周喜荣. PA-MSHA菌苗辅助治疗肺癌临床研究. 四川医学 2000; 21: 193-195
- 5 张明策, 潘兴瑜, 李宏伟. PA-MSHA、BCG分别联合S-180瘤苗对荷瘤小鼠治疗作用的比较. 锦州医学院学报 1997; 18: 27-30
- 6 Chan CW, Housseau F. The 'kiss of death' by dendritic cells to cancer cells. *Cell Death Differ* 2008; 15: 58-69
- 7 廖伟娇, 朱彤, 郑曲波, 贡玉川. 绿脓杆菌菌毛制剂对人PBMC表达CD2、CD25、CD69抗原的促进作用. 广州医学院学报 2003; 31: 46-48
- 8 张明策, 金艳书. PA-MSHA菌苗对小鼠淋巴细胞增殖和NK细胞活性的影响. 锦州医学院学报 1994; 15: 1-3
- 9 Liu ZB, Hou YF, Di GH, Wu J, Shen ZZ, Shao ZM. PA-MSHA inhibits proliferation and induces apoptosis through the up-regulation and activation of caspases in the human breast cancer cell lines. *J Cell Biochem* 2009; 108: 195-206
- 10 王浩, 唐利立. 铜绿假单胞菌注射液对人乳腺癌细胞的体外杀伤及促凋亡作用研究. 中南药学 2010; 8:

307-310

- 11 陈卫东, 唐中华, 徐峰. TAC方案联合使用绿脓杆菌制剂在乳腺癌新辅助化疗中的应用研究. 南方医科大学学报 2009; 29: 1204-1207
- 12 徐峰, 唐中华, 李允山, 陈干农, 周恩相, 陈显玉, 易文君. 铜绿假单胞菌制剂在乳腺癌新辅助化疗中的应用. 中南药学 2009; 7: 626-629
- 13 王浩, 罗以, 唐利立. 铜绿假单胞菌注射液治疗乳腺癌癌性溃疡的临床研究. 中南药学 2010; 8: 64-66
- 14 凌伟, 刘骅, 曹晖, 郁丰荣, 徐佳. 铜绿假单胞菌注射液对胃癌细胞体外杀伤作用的观察. 中华肿瘤防治杂志 2008; 15: 1381-1385
- 15 Furukawa T, Kubota T, Watanabe M, Kuo TH, Kitajima M, Hoffman RM. Differential chemosensitivity of local and metastatic human gastric cancer after orthotopic transplantation of histologically intact tumor tissue in nude mice. *Int J Cancer* 1993; 54: 397-401
- 16 凌伟, 刘骅, 曹晖, 郁丰荣, 徐佳. 铜绿假单胞菌注射液预防胃癌术后腹腔复发与转移的研究. 中国实用外科杂志 2009; 29: 933-936
- 17 Jia L, Wang C, Kong H, Yang J, Li F, Lv S, Xu G. Effect of PA-MSHA vaccine on plasma phospholipids metabolic profiling and the ratio of Th2/Th1 cells within immune organ of mouse IgA nephropathy. *J Pharm Biomed Anal* 2007; 43: 646-654
- 18 刘昀, 范艳莹, 李丽, 尹凌凡, 杨滨燕, 张宜俊, 吴长有. 绿脓杆菌制剂与IL-12在诱导人NK细胞IFN- γ 产生中的协同作用. 现代免疫学 2007; 27: 488-492
- 19 林涛, 宋纯, 王辉. 晚期结直肠癌术中应用铜绿假单胞菌制剂的生存期观察. 中国肺癌杂志 2009; 12: 639-641
- 20 杨彦卓, 齐大亮, 张帆, 尤健, 张振, 黄崇标, 岳杰. 铜绿假单胞菌注射液对非小细胞肺癌患者术后免疫功能的影响. 中华肿瘤防治杂志 2010; 17: 464-466
- 21 郑琴, 孙依萍, 蔡蓉, 王春燕, 俞静. 绿脓杆菌制剂辅助治疗肺癌临床研究. 实用医学杂志 2007; 23: 2487-2489
- 22 顾洪兵, 朱亚芳, 姚卫东, 宋诸臣, 陆俊国, 谭清和, 吉志固, 李明. 微管引流灌注绿脓杆菌制剂联合顺铂治疗恶性胸腔积液临床观察. 肿瘤防治研究 2008; 35: 823-824
- 23 徐虹, 杨雨田, 卢慧宇. 铜绿假单胞菌制剂治疗肺癌伴恶性胸水40例. 军医进修学院学报 2009; 30: 841, 843

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE 权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)