

[文章编号] 1007-385X(2004)01-0067-03

## 红细胞在抗肿瘤治疗中的作用

吴江 综述; 钱宝华 审阅 (第二军医大学长海医院输血科, 上海 200433)

**[摘要]** 红细胞不仅可以运送氧、二氧化碳和清除循环免疫复合物,还能够识别、黏附、提呈肿瘤抗原,此外红细胞能够促进免疫细胞吞噬和杀伤肿瘤细胞的能力,因此红细胞在机体抗肿瘤免疫发挥重要作用。近年来,红细胞也可以开发作为药物载体治疗肿瘤,这与红细胞自身具有生物相容性和半透膜的特性有关。药物可以借助渗透压梯度的不同、抗生素提高膜通透性,膜受体介导连接,以及交联介导连接等方法载入。已载入红细胞的药物半衰期延长,缓慢释放,受液中酶等具有生物活性的物质降解,并且可以减轻药物毒副作用。缺点在于其靶向性单一。

**[关键词]** 红细胞; 药物载体; 治疗; 肿瘤

**[中图分类号]** R730.5 **[文献标识码]** A

过去认为红细胞的生理作用主要是  $O_2$ ,  $CO_2$  的载体。1975年 Ihler 等<sup>[1]</sup> 尝试以重封闭红细胞作为酶在体内转运的载体进行遗传性代谢疾病治疗并取得成功,开创了以红细胞作为药物载体进行临床应用研究的新领域。1981年 Siegel 等<sup>[2]</sup> 提出了红细胞免疫系统的新概念,树立了红细胞在机体免疫系统中的地位。随着生物、基础、临床医学和药理学的研究人们对红细胞免疫及其作为药物载体的技术和临床应用的广泛关注。大量研究表明,红细胞具有多种免疫相关物质,包括 CR1 (CD35), CR3, CD44, CD55 (DAF), CD58 (LFA-3), CD59 (MCP), EKR, SOD, NKEF 等,在机体抗肿瘤免疫和肿瘤治疗方面具有不可忽视的重要作用和广阔的应用前景,本文对红细胞在临床抗肿瘤治疗中可能发挥的作用进行综合介绍。

### 1 识别黏附和提呈肿瘤抗原

郭峰等<sup>[3]</sup> 发现在晚期癌症患者的腹水中红细胞有围绕肿瘤细胞形成花结的现象,并证实红细胞在补体存在的情况下可与多种癌细胞发生黏附。红细胞对自我和非我抗原具有识别功能,其识别、黏附和提呈肿瘤抗原主要是由其膜上的 CD35, CD58, CD59 等表面分子介导完成的。其中 CD35 分子尤为重要,又名补体受体 I 型,作为补体  $C_{3b}$ ,  $C_{4b}$  的受体,是红细胞识别、黏附肿瘤抗原的物质基础,肿瘤细胞及其裂解的碎片可经旁路途径激活补体系统,并与补体  $C_3$  的裂解产物  $C_{3b}$  结合,红细胞借其 CD35 与  $C_{3b}$  结合从而识别和黏附肿瘤抗原,并迅速携至网状内皮系统的肝、脾脏等进行清除,这也是红细胞清除循环免疫复合物 (circulating immune complexes, CIC) 的作用机制。CD58, CD59 是 T 淋巴细胞表面标志 CD2 的天然配体;红细胞识别、黏附肿瘤抗原后,可通过其 CD58, CD59 与 T 淋巴细胞 CD2 分子的结合,拉近肿瘤抗原与辅助性 T 淋巴细胞的距离,将肿瘤抗原提呈给 T 淋巴细胞,从而起到类似抗原提呈细胞样的作用。

### 2 促进吞噬和杀伤肿瘤细胞

Forslid 等<sup>[4]</sup> 发现中性粒细胞对  $C_{3b}$  致敏酵母菌的吞噬率为 15%,吞噬率在加入红细胞后增加一倍,红细胞碎片具有与完整红细胞相同的作用。红细胞表面的 CD35 分子具有辅助 I 因子催化  $C_{3b}$  裂解为  $iC_{3b}$  的作用, $iC_{3b}$  的天然受体 LFA-1 主要分布于吞噬细胞、中性粒细胞和 NK 及 K 细胞表面,红细胞 CD35 与补体调理过的肿瘤抗原黏附后,可通过裂解  $C_{3b}$  为  $iC_{3b}$  而增强与带有 LFA-1 的吞噬细胞等结合,提高吞噬细胞发挥其补体依赖的细胞毒作用。同时红细胞内的 SOD (超氧化物歧化酶) 和过氧化氢酶可清除对吞噬细胞具有氧化作用的  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  和  $OH^-$  等毒性物质;提高吞噬细胞等产生 IL-1 和 TNF 的能力,增强对肿瘤细胞的吞噬和杀伤,阻止肿瘤细胞的血行转移。

Shau 等<sup>[5]</sup> 发现有完整红细胞存在的情况下,当红细胞和效应细胞比例在 2.5-20:1 时, NK 细胞的细胞毒活性明显增强,且无论自体、同种异体或是异种的红细胞均有此作用,并进一步证实这一效应是由红细胞释放的可溶性 NKEF (NK 细胞增强因子) 介导的。NK 细胞是体内重要的免疫监视细胞,对肿瘤细胞具有杀伤和抑制作用。红细胞还可以促进 T 淋巴细胞表达 IL-2R 和分泌 TNF 及  $IFN-\gamma$ <sup>[6]</sup>, Yannelli 等<sup>[7]</sup> 观察到红细胞通过 CD58 与淋巴细胞 CD2 的黏附,对 LAK 细胞杀伤活性有促进作用,红白细胞比在 3-100:1 时,溶解瘤细胞活性逐渐增强,在 100:1 时至少增加 2 倍。LAK 细胞是重要的免疫杀伤性细胞,主要来源于 T 淋巴细胞和 NK 细胞,其杀伤活性是由表面 IL-2R 与 IL-2 的结合诱导出来的,因此又名 IL-2 激活的杀伤性细胞,郝京生等<sup>[8]</sup> 证实红细胞促进 LAK 细胞的细胞毒作用是通过提高 LAK 细胞 IL-2R 表达而增强单个 LAK 细胞的杀伤活性完成的。

红细胞除调节体内多种免疫杀伤性细胞的活性,自身也具有效应细胞样的作用,可通过其膜上的过氧化物酶直接销毁黏附的肿瘤抗原等物质。

### 3 作为抗肿瘤药物载体的研究与发展

临床肿瘤化疗失败的原因常常是药物在有效杀伤肿瘤细胞的同时,对正常细胞特别是造血干细胞也具有较强的毒性作用。制备抗瘤药物的靶向载体,通过其定位的缓释作用而减低药物用量与药物的毒性作用,最大限度地发挥药效作用,使药物的量效作用更为显著,是一种很有前途的治疗方法。红细胞的生物学特点使其基本满足作为药物载体的要求:保存并释放药物、躲避机体免疫攻击、具有一定靶向作用。

#### 3.1 红细胞载体的特点

延长药物半衰期。红细胞平均生命周期长达 120 d,包载药物的缓慢释放可极大延长在体内的半衰期,DeLoach 等<sup>[9]</sup>将阿糖胞苷包载入犬红细胞,药物的半衰期从 2.8 h 增至 4.6 d,药物发挥活性作用的血浆浓度持续超过 10 d。

增加药物稳定性。许多抗肿瘤制剂本身就是具有生物活性的酶、多肽和蛋白质,载入红细胞内可避免过早地被血浆酶降解、灭活,同时红细胞内的还原型谷胱甘肽还可以保护其易氧化的巯基。

提高药物靶向性。衰老、变性的红细胞主要在机体网状内皮系统内清除,通过膜修饰处理可使载体红细胞将药物选择性地定向于肝、脾脏等。

减轻药物毒副作用。红细胞膜为半透膜,载入药物的缓慢释放可以在循环中维持稳定的作用浓度,减低药物的毒性作用。对于具有免疫原性的蛋白制剂,载入红细胞还可减轻机体对异种蛋白免疫反应引发的危害。并且红细胞作为机体自身的组成部分,具有其他合成药物载体无法比拟的生物相容和可降解性。

#### 3.2 红细胞载体的制备

红细胞包载抗肿瘤药物的方式主要有:

借渗透压作用进入膜内。红细胞在低渗介质中因渗透压作用而膨胀,细胞膜出现 200 ~ 500 Å 的孔道,0℃时膜孔打开的时间延长,可使膜内外物质尽可能达到平衡,37℃下增强离子强度可封闭膜孔并恢复红细胞的渗透特性<sup>[10]</sup>。最具代表性、且为目前应用最广的为低渗透析-等渗重封闭法,无需复杂设备,操作简单方便,包载比率良好,载体细胞体内生存周期长。已运用此法包载的抗肿瘤药物有依托泊甙、甲氨蝶呤、L-天门冬酰胺酶、阿霉素等。

抗生素诱导膜通透。某些抗生素是通过增加微生物膜对代谢物和离子通透性而杀伤微生物的,将抗生素与红细胞作用,可使细胞膜受到干扰而通透性增高,使膜外物质进入细胞内<sup>[11]</sup>。代表性方法有两性霉素 B 诱导法,包被效率仅为透析法的 1/3,且不适于包载生物活性物质。应用此法包载的有柔红霉素、天门冬酰胺酶等。

膜表面分子介导连接。EPOR 与 IL-2R 的  $\beta$  链属于同一细胞因子受体超家族,具有高度同源性,EPOR 与 IL-2R 之间可产生交叉反应,可将重组 IL-2 (rIL-2) 连接到红细胞表面的 EPOR 上<sup>[12]</sup>。IL-2 最主要的生物学作用是诱导 T 淋巴细胞

增殖和分化,红细胞表面的 CD58 分子是 T 淋巴细胞表面标志 CD2 分子的天然配体,因此小量 rIL-2 的红细胞载体便可发挥较高疗效,减低了大剂量 IL-2 带来的毒性影响。

交联剂介导连接。戊二醛、聚乙二醇等是常用的细胞固定剂和共价交联剂,Gaudreault 等<sup>[13]</sup>针对柔红霉素等抗肿瘤药物对红细胞膜结构具有破坏作用,尝试使用戊二醛和顺乌头酸作为交联剂将柔红霉素共价连接到红细胞泡影表面,并证实戊二醛比顺乌头酸效果更好。nanoerythroosome 是红细胞的新型衍生物,仅 100 nm 大小,柔红霉素与之共价交联取得了比游离药物更好的抗肿瘤活性,并可以穿透血管壁进入组织,为实体瘤的靶向化疗提供了新方法。Krantz<sup>[14]</sup>还提出建立一个由红细胞表面受体-针对该受体的亲和基团-标记实体-连接臂-药物活性基团组成的模型,将药物共价交联到红细胞膜表面蛋白的设计,极大地拓宽了载体红细胞的制备途径。

#### 3.3 红细胞载体的药物释放

载入红细胞的药物在体外可通过自由扩散渗出,在体内除具有自由扩散作用的同时,还可经红细胞衰老变性被吞噬而释放出来。自由扩散进出细胞的药物,扩散率依赖其分子大小和穿透脂质双层的能力。对于渗出率高的物质可以采用细胞膜封闭修饰的方法进行控制,如以双功能交联剂戊二醛处理包载了甲氨蝶呤的红细胞,既可以减缓药物从细胞的流失率,同时诱导了载体红细胞的肝脏靶向<sup>[15]</sup>。另一种控制药物流失的方法是将药物的不可转运形式的前体(如磷酸化盐形式)包载入红细胞,再借助细胞内正常存在的磷酸酶等去除磷酸基形成可转运药物形式,从而达到药物释放的目的,已成功运用的有阿糖胞苷单磷酸、5-氟-2'-脱氧尿嘧啶核苷单磷酸、双脱氧胞苷单磷酸等。对于载入随机选择红细胞的药物,因这些载体细胞的衰老程度不同,随着每天被吞噬细胞清除,药物会逐渐释放入循环中并保持一定的浓度。

#### 3.4 红细胞载体的靶向

红细胞随循环血流而分布于全身各处,通过一些特殊处理,不仅可以减少包载药物的渗漏和释放比率,同时可以提高载体细胞对特定器官、组织的靶向性。戊二醛和聚乙二醇固定是较常用的处理方法,经戊二醛固定的甲氨蝶呤红细胞载体可以增加其对渗透冲击所引起溶解的耐力,并倾向于被肝、脾等网状内皮组织摄取。ZnCl<sub>2</sub>、bis( sulphosuccinimidyl ) suberate( BS<sup>3</sup> ) 和 3, 3'-dethiobis( sulphosuccinimidyl ) propionate ( DTSSP ) 能使载体红细胞膜上的区带 3 蛋白成簇,从而使载体红细胞更易于为巨噬细胞捕获<sup>[16]</sup>。磁化载体红细胞是解决网状内皮系统以外组织靶向的一种很有前途的方法,利用电穿孔技术将 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 颗粒与抗肿瘤药物共包载入红细胞,通过体外附加电磁场可使载体红细胞指向特定部位,从而减少网状内皮系统的清除,增加肿瘤组织局部的药物浓度。体外电镜观察发现红细胞与肿瘤细胞黏附处有膜断裂现象<sup>[17]</sup>,多种中药成分对红细胞 CD35 活性有促进作用<sup>[18]</sup>,如将中药成分与化疗药物共同包入红细胞,既提高了 CD35 介导的红细胞与肿瘤细胞黏附,又可将药物直接导入肿瘤细

胞内,可望达到点对点的治疗效果。

### 3.5 红细胞载体的发展

红细胞用作抗肿瘤药物载体有其特点和优势,同时还有许多问题需要深入研究解决:作为活的细胞,红细胞自身代谢对抗肿瘤药物,特别是酶、多肽和蛋白类制剂包埋的影响;药物包载对红细胞表面分子及各种功能活性,包括天然免疫黏附功能的影响;多种中药成分证明具有抗肿瘤活性,红细胞载体如何与中医中药相结合;药物载入红细胞后的可控制释放问题等等。

## 4 结 语

随着红细胞天然免疫功能与各种肿瘤疾病发生发展关系研究的深入,以及红细胞在肿瘤免疫及治疗中作用的进一步明确,提高红细胞天然免疫功能,开发红细胞为载体携带适量药物或免疫调节剂,在达到输血最基本需求的同时完成抗肿瘤治疗和控制肿瘤转移,在临床抗肿瘤治疗中具有广阔的应用前景。

### 【参 考 文 献】

- [ 1 ] Ihler G, Lantzy A, Purura J, *et al.* Enzymatic degradation of uric acid by uricase-loaded human erythrocytes[ J ]. *J Clin Inv*, 1975, 56( 3 ): 595-602.
- [ 2 ] Siegel I, Liu TL, Geicher N. The red-cell immune system[ J ]. *Lancet*, 1981, II( 8246 ): 556.
- [ 3 ] 郭 峰, 黄盛东, 赫 丽, 等. 红细胞在肿瘤免疫中的作用[ J ]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1995, 15( 3 ): 183-186.
- [ 4 ] Forslid J, Hed J, Stendahl O. Erythrocyte enhancement of C3b-mediated phagocytosis in human neutrophils *in vitro*: A combined effect of the erythrocyte complement receptor CR1 and erythrocyte scavengers to reactive oxygen metabolites[ J ]. *Immunology*, 1985, 55( 1 ): 97-100.
- [ 5 ] Shau H, Golub SH. Modulation of natural killer mediated lysis by red blood cells[ J ]. *Cell Immunol*, 1988, 116( 1 ): 60-72.
- [ 6 ] Bate CAW, Kwiatkowski DP. Stimulators of tumor necrosis factor

production released by damaged erythrocytes[ J ]. *Immunology*, 1994, 83( 2 ): 256-259.

- [ 7 ] Yannelli JR, Thurman GB, Mrowca - Bastin A, *et al.* Enhancement of human lymphokine activated killer cell cytotoxicity and a method for increasing lymphokine-activated killer cell yields to cancer patients[ J ]. *Cancer Res*, 1988, 48( 20 ): 5696-5700.
- [ 8 ] 郝京生, 赵荣山, 董玉环. 人红细胞对 LAK 细胞 DNA 合成和 IL-2 受体表达影响的研究[ J ]. *上海免疫学杂志*, 2002, 22( 4 ): 267-272
- [ 9 ] DeLoach JR, Barton C. Circulating carrier erythrocytes: Slow release vehicles for an antileukemic drug, cytosine arabinoside[ J ]. *Am J Vet Res*, 1982, 43( 12 ): 2210-2212.
- [ 10 ] Bodemann H, Passow H. Factors controlling the resealing of the membrane of human erythrocyte ghosts after hypotonic hemolysis [ J ]. *J Membr Biol*, 1972, 8( 1 ): 1-26.
- [ 11 ] Meyer HW, Richter W, Winkelmann H. Nystatin- and amphotericin B-induced structural alterations of the erythrocyte membrane: importance of reduced ionic strength[ J ]. *Exp Pathol*, 1983, 24( 2-3 ): 163-166.
- [ 12 ] Sprandel V, Wag JL. Erythrocytes as drug carriers in medicine [ M ]. New York, Plenum Press, 1996, pp1
- [ 13 ] Gaudreault RC, Bellemare B, Lacroix J. Erythrocyte membrane-bound daunorubicin as a delivery system in anticancer treatment [ J ]. *Anticancer Res*, 1989, 9( 4 ): 1201-1205.
- [ 14 ] Krantz A. Red cell-mediated therapy: Opportunities and challenges [ J ]. *Blood Cells Mol Dis*, 1997, 23( 1 ): 58-68.
- [ 15 ] DeLoach JR, Barton C. Glutaraldehyde treated carrier erythrocytes for organ targeting of methotrexate in dogs[ J ]. *Am J Vet Res*, 1981, 42( 11 ): 1971-1974.
- [ 16 ] Lotero LA, Olmos G, Diez JC. Delivery to macrophages and toxic action of etoposide carried in mouse red blood cells[ J ]. *Biochem Biophys Acta*, 2003, 1620( 1-3 ): 160-166.
- [ 17 ] 沙继宏, 叶熙亭, 郑 尊, 等. 红细胞免疫黏附肿瘤细胞的电镜观察[ J ]. *电子显微学报*, 1993, 1: 78.
- [ 18 ] 刘景田, 党小军, 王惠萍, 等. 中药多糖对红细胞膜相 CD35 免疫活性的调节作用[ J ]. *中国现代医学杂志*, 2002, 12( 1 ): 7-9.

【收稿日期】 2003-10-20

【修回日期】 2004-01-10

## 《中国肿瘤生物治疗杂志》征订启事

《中国肿瘤生物治疗杂志》创刊于1994年,经国家科委和国家新闻出版署正式批准,由中国免疫学会和中国抗癌协会联合主办的国家正式医学期刊(刊号为CN31-1725/R)。本刊旨在交流学术、促进科研、面向应用,主要刊登与肿瘤生物治疗有关的基础理论与临床的研究论文、新实验技术及其研究成果等。《中国肿瘤生物治疗杂志》每期定价:8.00元,全年定价:32.00元,邮发代号:4-576,请通过邮局订阅。若错过,可从本刊编辑部补订,请将40.00元(含邮资)寄本刊编辑部并注明详细通讯地址及邮政编码,本刊编辑部将负责如期寄至您的手中。

联系地址:上海市翔殷路800号第二军医大学免疫楼

《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部

联系人:王莹

邮政编码:200433

联系电话:021-55620605×22; 021-25070316×22