

肿瘤靶向治疗的新型细胞载体*

杨 智 魏旭斌 蔡 荣** 钱 程**

(浙江理工大学生命科学院新元医学与生物技术研究所, 杭州 310018)

摘要 肿瘤靶向性病毒作为一种特殊的肿瘤治疗药物和基因治疗载体近年来已得到长足发展, 许多高效、靶向性病毒载体已被相继研究开发, 但仍不能满足临床上肿瘤靶向治疗的需要, 如何将这些靶向病毒准确而高效地运输到肿瘤病变部位仍然没有得到充分解决. 细胞因子诱导杀伤细胞 (cytokine-induced killer cells, CIK) 作为肿瘤的细胞治疗方法之一已成功地在临床上得到了广泛应用. 最近科学家使用 CIK 细胞作为病毒运载工具, 成功地将病毒运送到肿瘤组织部位并显示出高效的抗肿瘤作用, 该方法为病毒运输定位于肿瘤病变部位找到了突破口, 实验资料显示其具有潜在的应用价值.

关键词 CIK 细胞, 肿瘤靶向性细胞载体, 肿瘤靶向性病毒载体

学科分类号 R730.5

肿瘤靶向性病毒是一种具有肿瘤限制性的病毒, 无论是用于单纯的病毒治疗直接杀伤肿瘤细胞, 还是在肿瘤基因治疗中充当靶向性载体均显示出广阔的应用前景.

目前在肿瘤基因治疗中许多高选择、高杀伤、低免疫原性的病毒已被相继研究开发, 如来源于腺病毒的 ONYX015、OV798、CV706 和 PSG500, 来源于 HSV1 的 1716 和 G207, 以及来源于新城疫病毒的 PV701 和 MTH-68/H 等. 传统的病毒载体给药方法是: a. 瘤体注射. 即将病毒直接注射到肿瘤组织部位. 这种方法通常能够获得较好的治疗效果, 病毒能最大限度地到达肿瘤细胞; b. 静脉注射. 该方法简单易行, 能够解决已高度全身弥漫转移的恶性肿瘤无法进行原位注射的难题. 然而这些方法仍存在很多不足之处: a. 虽然肿瘤组织原位注射效果令人满意, 但对患者自身损伤较大, 有些手术操作难度大、风险高, 且许多恶性肿瘤呈弥散性生长或全身转移而难以进行直接注射. b. 病毒通过静脉注射将直接暴露于血循环中, 由于体内血液环境相对复杂, 病毒通常被大量非特异性粘附在血管内皮细胞和血细胞表面^[1, 2]或直接被血液中的抗体中和而失去侵染能力, 再者病毒侵入非肿瘤组织细胞造成病毒被大量损耗而导致其难以到达肿瘤组织 (图 1).

传统的病毒给药方式虽然简单易行, 但无法达到预期效果. 因此, 人们逐步研究开发出通过细胞

载体靶向肿瘤组织的给药方法, 即将病毒包被于具有肿瘤识别能力的细胞中, 经静脉注射这些感染病毒的细胞, 通过细胞对肿瘤组织的趋向性, 帮助病毒越过复杂的血液环境将病毒带至肿瘤组织附近. 目前使用的细胞载体存在诸多问题, 如安全性低、血管穿透性差、肿瘤识别能力单一等而无法完全满足病毒安全高效运载的要求. 因此, 寻求一种能够对肿瘤组织广谱识别、“掩护”病毒逃逸免疫监视、穿透血管和肿瘤组织屏障的新型细胞载体已迫在眉睫.

最近, Thorne 等^[3]在非免疫缺陷小鼠实验模型中, 运用细胞因子刺激杀伤细胞 (cytokine-induced killer cells, CIK) 作为病毒运载工具, 成功地逃机体免疫监视并通过血管内皮和瘤体组织屏障, 将病毒准确地运载定位于肿瘤组织部位, 效果明显优于其他种类细胞载体 (图 2), 本文就 CIK 细胞作为病毒运载工具在肿瘤基因治疗领域内的应用作一全面阐述.

* 国家重点基础研究发展计划(973) (2004CB518804), 国家高技术研究发展计划(863) (20060102Z1107), 浙江省留学回国基金(116153A4I05038)和浙江省重点发展项目基金(116153A4E06009)资助项目.

** 通讯联系人. Tel: 0571-86843182, Fax: 0571-86843185

蔡荣. E-mail: Cairong801@hotmail.com

钱程. E-mail: cqian@unav.es

收稿日期: 2007-01-12, 接受日期: 2007-06-28

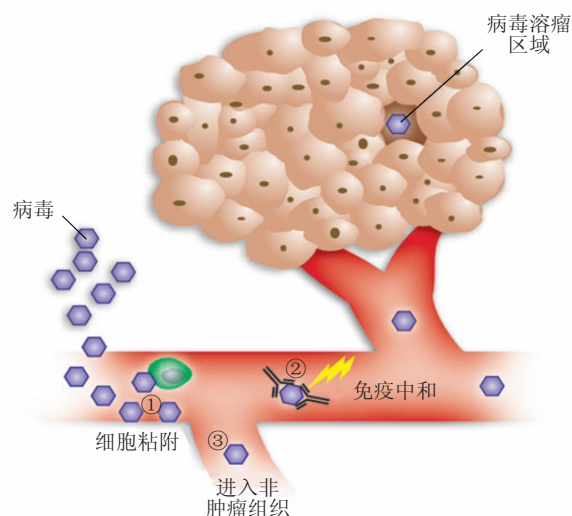


Fig. 1 Naked virus injected intravenously targeting tumor tissue ^[4]

图 1 病毒单纯静脉注射靶向肿瘤组织^[4]

①一些病毒被血管壁或血细胞非特异粘附失去感染能力; ②一些被抗体结合失去活性; ③部分病毒感染非肿瘤细胞, 造成病毒损失, 最终到达肿瘤部位的病毒数量较少。

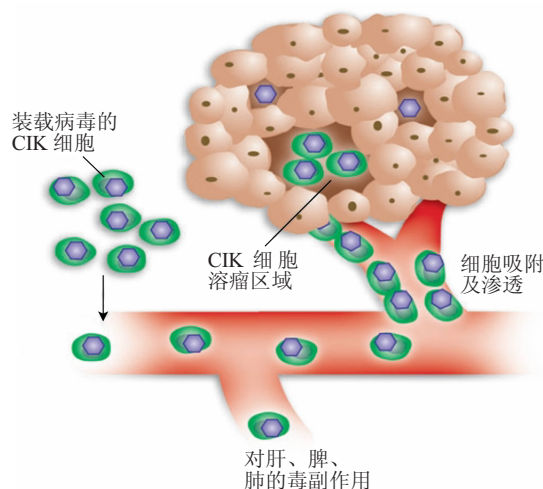


Fig. 2 Virus loaded in the CIK cells injected intravenously targeting tumor tissue ^[4]

图 2 病毒装载于 CIK 细胞中静脉注射靶向肿瘤组织^[4]

病毒能够逃过抗体识别中和, 避免血管内皮细胞和血细胞非特异性吸附, 能识别并穿越应激的血管内皮进入肿瘤组织, 杀伤肿瘤细胞并产生 CIK 细胞溶解区。病毒释放后进入肿瘤组织的病毒颗粒明显增多。

1 细胞载体靶向肿瘤治疗

为了克服传统病毒给药方法的不足, 人们逐渐研究开发出以细胞为运载工具的新型给药方式, 利用某些细胞具有靶向肿瘤部位这一特性通过系统给

药将所携带的病毒载体运送到瘤体组织部位。到目前为止已使用的细胞载体种类有: a. 具有肿瘤特征的细胞. 如 Coukos 等^[5]曾使用经放射性照射后的人 PAI 畸胎瘤细胞运载 HSV 病毒进行对卵巢瘤的治疗. b. 具有干细胞特性的细胞. 如纤维原细胞^[6]、肝实质细胞^[7]、成肌细胞^[8]、神经原细胞^[9]和间叶细胞^[10]等. c. 具有淋巴细胞特性的细胞. 如肿瘤特异性细胞毒性 T 淋巴细胞 (tumor-specific cytotoxic T lymphocytes, CTLs)^[11]和抗原特异性 T 淋巴细胞等^[12]。

实验结果虽然显示这些细胞载体可进一步增强病毒靶向肿瘤部位的能力, 提高治疗效果, 但是仍存在许多缺陷: a. 这些细胞仅能识别单一组织类型的肿瘤细胞, 不具有广谱的肿瘤识别能力. b. 某些具有肿瘤特性的细胞可能在体内进一步发展为新的肿瘤组织, 因此存在着一定的安全隐患. c. 除淋巴细胞外, 其他组织类型细胞穿透能力差, 很难帮助病毒穿越血管内皮和肿瘤组织中某些物理屏障到达肿瘤细胞. d. 多数用于病毒运载的细胞在体外难以培养且扩增能力较差, 很难获得足够的细胞数量. e. 这些细胞通常具有表面抗原递呈能力, 因此自身可将病毒蛋白递呈给抗原识别细胞, 而无法逃避免疫系统的识别监视, 在非免疫缺陷的患者体内使用将受到极大限制。

2 CIK 细胞载体靶向肿瘤治疗

CIK 细胞是单个核细胞在体外经多种细胞因子共同刺激、诱导培养产生的一群异质细胞, 其中 CD3 和 CD56 双阳性的细胞拥有最强的细胞毒性^[12]。与已使用的细胞载体相比, CIK 细胞具有以下优点: a. 体外扩增能力较强容易培养获得. 通常临床制备 CIK 细胞的方法是患者自身外周血经密度梯度离心分离纯化出单个核细胞, 再经体外利用 TNF- γ 、CD3 单克隆抗体、IL-2 和 IL-1 α 等细胞因子共刺激培养获得. b. 安全性高. 目前 CIK 细胞作为过继免疫疗法的一种杀伤细胞已在临床上被广泛使用^[13]。由于 CIK 细胞来自患者自身外周血单个核细胞, 因此不会引起机体的免疫排斥反应. 另一方面, 该细胞为非肿瘤组织细胞, 因此在体内不会发展成新的肿瘤组织, 具有较高的安全性. c. 具有广谱的肿瘤识别和杀伤能力^[14]。CIK 细胞表面表达的受体能够识别趋向肿瘤组织细胞的趋化因子, 引导 CIK 细胞穿透血管壁进入肿瘤组织内部, 并且通过与肿瘤表面特异的配体结合定位于肿瘤组织部位发

挥肿瘤杀伤作用, 其中 NKG2D 的配体是主要的识别配体之一^[15]. NKG2D 为 NK 细胞活化受体, 可表达于多种免疫细胞表面, 参与适应性及固有性免疫应答、调节 NK 细胞、T 细胞、巨噬细胞以及树突状细胞的功能. NKG2D 配体为 HLA- I 类相关基因产物, 在受到应激的细胞、肿瘤细胞以及被病毒感染的细胞表面普遍上调表达^[16, 17]. CIK 细胞通过其表面 NKG2D 与肿瘤表面的配体结合, 特异地刺激 CIK 细胞分泌肿瘤杀伤因子从而可识别和杀伤肿瘤细胞. d. 对病毒的掩护作用. CIK 细胞源自 T 淋巴细胞, 其本身不具备抗原递呈能力, 因此能够在一定程度上“掩护”病毒不被免疫系统识别从而到达肿瘤组织. e. 具有血管和组织穿透能力. 淋巴细胞在特异趋化因子的刺激下, 能够改变自身形态穿透血管上皮细胞, 进入组织内部, 另一方面 CIK 细胞自身具有肿瘤杀伤能力, 可在病毒释放之前对外周肿瘤组织细胞实行杀伤作用, 从而可进一步帮助所携带的病毒渗透到肿瘤组织内部, 更好地减少病毒因释放后对非肿瘤细胞感染而导致的损失.

3 适用于 CIK 细胞载体的病毒

目前用于肿瘤治疗的病毒可分为增殖型与非增殖型 2 大类. 就增殖型病毒而言, 其肿瘤杀伤作用通常来自于以下 2 个方面: a. 通过病毒自身增殖作用造成肿瘤细胞裂解; b. 通过表达病毒内装载的抗癌基因诱导瘤细胞凋亡. 由于病毒自身增殖作用将对载体细胞造成一定的影响, 因此传统给药方式的增殖型病毒虽然已具有肿瘤靶向特性, 但仍不能直接将其导入 CIK 细胞用于治疗, 病毒还需进一步改造使其增殖能力受载体细胞调控. 用于 CIK 细胞运载的增殖型病毒必须满足以下条件: 第一, 同传统给药方式的增殖型病毒一样, 必须具备肿瘤限制性, 能够优先地在肿瘤细胞中复制并且尽可能对正常细胞有较小的影响. 这些病毒通常具有以下特征: a. 病毒能够选择性感染处于不同生长周期阶段的肿瘤细胞, 在其内增殖并消灭之. b. 病毒对正常细胞的复制能力缺失或低下, 具有一定的安全性. c. 当病毒临床使用出现严重副反应时能够采取二级防范措施加以控制. Thorne 等^[3]使用的病毒为一种增殖型重组牛痘病毒, 牛痘病毒曾被充当疫苗使用预防天花, 因此其对人体的危害性较小. 为了进一步增强病毒的肿瘤特异性, 他们将病毒的胸腺嘧啶核苷激酶(TK)基因和病毒生长因子(VGF)基因删除改造为双删除牛痘病毒(double-deleted mutant vaccinia

virus), 简称 vvDD^[18]. 由于 TK 基因的缺失, 病毒 DNA 合成受到 TTP 含量的限制, 使得病毒只能在分裂期的细胞中复制. VGF 是病毒感染细胞初期合成的一种外分泌蛋白, 能够刺激周围细胞进行分裂, 删除后使得病毒对正常细胞影响减小. 这 2 个基因的删除使得病毒复制仅限于分裂期的细胞, 因此很大程度上增强了病毒的肿瘤选择性. 第二, 病毒必须对载体细胞具有感染能力. 以腺病毒为例, 目前常用的腺病毒为 5 型 (Adenovirus type 5, Ad5), 其对宿主细胞的感染依赖于宿主细胞表面柯萨奇病毒-腺病毒受体 (coxsackievirus-adenovirus receptor, CAR)、整联蛋白 $\alpha_v\beta_5$ 和整联蛋白 $\alpha_v\beta_3$ 的表达. 然而 CIK 细胞表面 CAR、 $\alpha_v\beta_5$ 、 $\alpha_v\beta_3$ 表达量很低, Ad5 对 CIK 细胞的侵染能力非常有限. 为提高病毒对淋巴细胞的感染能力, 科学家们对病毒进一步改造重组出 Ad5/F35 和 Ad5/F11 型病毒^[19-21], 试验表明改造后的病毒对淋巴细胞的感染率大为提高. 第三, 病毒必须能在载体细胞中具有可调控复制能力. 病毒杀伤肿瘤细胞需要一定的滴度, 病毒含量少则杀伤效果差, 因此需要病毒在释放之前产生大量的拷贝, 但是病毒过早地复制必然会导致运载细胞死亡, 将无法保证病毒成功到达肿瘤靶位点, 这就需要病毒增殖作用受到载体细胞调控, 使其复制时间能够与载体细胞到达靶位点的时间相吻合. 用于病毒增殖调控的手段有: a. 利用启动子调控. 由于 CIK 细胞通过表面受体识别肿瘤细胞后自身将被活化, 活化后细胞能特异地表达一些蛋白质, 例如, 当 CIK 细胞表面 NKG2D 分子与肿瘤细胞表面相应配体结合后将引发 CIK 细胞中细胞毒性颗粒蛋白表达^[22], 这些蛋白质的表达严格受到 CIK 细胞状态调控, 只有当 CIK 细胞进入肿瘤组织被特异激活后蛋白质的表达才能被启动, 因此使用这些特异蛋白的启动子调控病毒增殖将能够很好地控制病毒复制及释放时间, 并且限制未达肿瘤组织的载体细胞中的病毒增殖能力, 降低病毒在非肿瘤组织中扩增的风险. 如 Yotnda 等^[11]曾以 CD40 配体分子的启动子调控腺病毒 E1 区限制病毒增殖能力, 并利用毒性 T 淋巴细胞作为载体细胞携带该腺病毒靶向由 EB 病毒 (Epstein Barr virus, EBV) 引起的恶性淋巴瘤, 取得非常理想的治疗效果. b. 利用 CIK 细胞自身细胞周期调控. 病毒 DNA 的复制依赖于细胞提供物质基础, 只有当宿主细胞进入分裂周期才能有利于病毒增殖. 通过对病毒进行改造, 删除病毒基因组中编码能促使细胞进入分裂周

期的蛋白基因后, 病毒的复制完全依赖于宿主细胞自发进入分裂周期. CIK 细胞的增殖能力依赖于自身活化状态和 IL-2 等细胞因子的存在, 当体外扩增的 CIK 细胞装载病毒被注射回体内后, 细胞增殖将受到限制, 只有当其进入肿瘤组织并被特异激活, 才能促使自身进入分裂周期而启动病毒增殖, 从而将病毒增殖时间严格控制在 CIK 细胞到达肿瘤位点之后, 能够较有效地将病毒定位于肿瘤组织. Thorne 等^[9]利用 CIK 细胞自身细胞周期的变化作为调控手段对病毒增殖进行调控, 装载于 CIK 细胞中的 vvDD 病毒由于缺失 TK 基因, 不能合成 TTP 用于病毒 DNA 复制, 因此需要 CIK 细胞进入复制周期合成 TTP 供病毒复制使用. VGF 基因的缺失保证了 CIK 细胞进入复制周期与否不受病毒影响而受细胞活化状态调控, 使病毒尽可能在 CIK 细胞到达肿瘤组织附近后开始大量复制, 释放后定位于肿瘤组织. Thorne 等^[9]试验结果很好地证明了调控的准确性, 将携带荧光素酶(luciferase)基因的 vvDD 病毒装载于 CIK 细胞后经尾静脉注射入小鼠体内, 通过活体荧光成像系统检测发现, vvDD 病毒在感染 CIK 细胞后的 48 h 内不会复制或仅有少量病毒复制不影响运载细胞正常功能, 而其后 24 h 病毒将发生爆发式的增殖, 该时间与 CIK 细胞注射后在肿瘤区聚集的时间非常吻合.

对于非增殖型病毒, 肿瘤杀伤作用很大程度上仅依赖于病毒所携带的抗癌基因, 病毒自身不具备细胞裂解能力, 因此只需具备 CIK 细胞感染能力即可直接用于 CIK 细胞运载.

4 CIK 细胞装载病毒靶向肿瘤治疗的效果及机制分析

CIK 细胞和病毒均具有杀伤肿瘤细胞的能力, 为了验证 CIK 细胞装载病毒后的肿瘤杀伤效果, Thorne 等^[9]对单纯 vvDD 病毒治疗、CIK 细胞治疗以及两者结合疗法分别进行了疗效观察, 发现, 单纯病毒或 CIK 细胞治疗虽然在注射初期的确有较好的肿瘤抑制效果, 但是停止给药一段时间后肿瘤会出现复发现象, 而采用病毒-CIK 细胞联合治疗后肿瘤不再复发, 说明两者联合使用的效果非常明显. 分析认为, 虽然 CIK 细胞具有以下强大的杀伤肿瘤机制: a. CIK 细胞对肿瘤细胞的直接杀伤. 在体内通过与效应细胞接触或受某些淋巴因子作用后, CIK 细胞大量释放具有细胞毒性的胞浆颗粒到胞外, 这些颗粒直接破坏肿瘤细胞. b. CIK 细胞通

过表达 FasL 诱导肿瘤细胞凋亡, CIK 细胞由于自身有抗凋亡基因表达, 因此在体内能抵抗 FasL 阳性肿瘤细胞对 CIK 细胞的反作用. c. 进入体内活化的 CIK 细胞分泌多种细胞因子如干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子(TNF- α)和白介素-2(IL-2)等, 不仅对肿瘤细胞有直接抑制作用, 而且还可通过调节免疫应答系统间接杀伤肿瘤细胞. 但是用于治疗 CIK 细胞数量和寿命有限, 不能长久地对肿瘤进行抑制, 因此在停止给药后体内残余的肿瘤细胞可能再次形成病灶, 出现复发现象. 若单独通过静脉注射病毒, 病毒将被抗体大量中和或粘附于血细胞表面而丧失感染活力, 最终到达肿瘤组织的病毒数量十分有限, 很难发挥病毒强大的抗癌功能, 其治疗效果将严重受限. 而将病毒装载于 CIK 细胞中与具有肿瘤识别和杀伤能力的 CIK 细胞联合使用恰好弥补了二者单独使用的缺陷, 携带病毒的 CIK 细胞通过识别趋向肿瘤组织的趋化因子, 穿透血管壁进入肿瘤组织, 避免病毒被抗体中和及非特异性吸附而丧失活力, 并通过 CIK 细胞自身溶瘤作用大量溶化肿瘤组织为病毒深入感染肿瘤组织块内部细胞创造条件. 病毒在瘤体内释放后, 由于病毒自身具有针对肿瘤的高复制、高杀伤能力能够继续对肿瘤实施持久的杀伤作用且病毒可携带高效的肿瘤杀伤因子基因, 如 IL-24, TRAIL 等^[23], 这些基因通过病毒在肿瘤细胞内复制而大量表达, 能够有效地增强抗癌效果延长抗癌作用时间.

除病毒和载体 CIK 细胞的杀伤效果外, 体内免疫系统在 CIK 细胞和病毒共同调节下也能被激活并产生较持久的抗肿瘤效果, 其机制为: a. 由于体外激活的 CIK 细胞能够产生大量的细胞因子从而激活体内免疫系统, 产生相应的具有抗肿瘤活性的效应细胞. Walker 等^[24]研究发现体外刺激的 CIK 细胞能表达多种促炎-抗炎因子, 这些因子有利于激活机体抗肿瘤反应. 最近 Joshi 等^[25]研究发现, 体外被 CD3 单克隆抗体激活的 CIK 细胞对树突状细胞(DC)的成熟有选择作用, 且成熟的 DC 细胞能进一步刺激其他淋巴细胞的抗肿瘤活性. b. 病毒溶瘤作用产生的肿瘤细胞溢出物可以激发疫苗反应、促进细胞因子的释放和巨噬细胞、中性粒细胞以及 NK 细胞的浸润, 这些反应能产生局部或全身的抗肿瘤作用. c. 病毒基因组中可通过插入免疫活化因子基因如: IL-2、IL-7、IL-12 等^[26, 27]刺激机体产生更多抗癌免疫细胞并增强这些细胞的抗癌活性. 通过上述抗癌机制的共同作用, 使得病毒与 CIK 细

胞联合使用的抗癌效果显著提高.

5 问题与展望

虽然 Thorne 等^[3]利用 CIK 细胞作为病毒靶向肿瘤的运载工具已在小鼠实验模型中获得较好的抗癌效果,但要真正应用于临床治疗仍需做大量的研究工作,原因有以下几个方面: a. 虽然 CIK 细胞不具备病毒抗原递呈能力,但机体可能存在其他途径对被感染的 CIK 细胞进行免疫监视,使细胞中装载的病毒在运输过程中被清除. b. Thorne 等^[3]使用的小鼠实验模型在给药前未曾用牛痘病毒进行机体免疫,因此不具备对牛痘病毒的免疫能力.而在人群中则不相同,由于疫苗接种工作的普及以及人群中体内天然抗体的存在,机体对目前使用的绝大多数病毒载体都具有较强的识别和清除能力,CIK 细胞运载病毒的效率必将受到影响.为检测体内病毒抗体对病毒系统运输的影响,Ong 等^[28]在对荷瘤小鼠治疗前预先在其体内注入抗麻疹病毒抗体,再将麻疹病毒装载于 T 淋巴细胞中对小鼠进行治疗,发现小鼠的治愈率明显下降,显示体内病毒抗体的存在对病毒系统运输有较大影响. c. 初次体内给药后,CIK 细胞将被病毒裂解,其溢出物可能引起针对 CIK 细胞的疫苗反应,影响再次给药的效果. d. 当病毒在肿瘤组织释放后,将被淋巴细胞识别引起机体免疫系统产生大量的抗体,势必影响病毒在机体内对肿瘤细胞持续杀伤的效果. e. 病毒增殖的调控程度仍有待于提高,用作载体细胞运载的病毒,其增殖能力需严格受控于载体细胞,且病毒能在肿瘤细胞中大量复制.然而 Thorne 等^[3]使用的病毒增殖限制条件较为简单,体内可能存在其他满足该限制条件的非肿瘤细胞,如外周血中存在其他处于分裂周期的淋巴细胞,病毒在这些细胞中同样具有复制能力,将难以避免病毒对这些正常细胞的损伤.

虽然 Thorne 等^[3]的实验未能就上述问题给出答案,但却创造性地针对病毒体内系统运输效率低下问题提出了一个切实可行的思路,实验结果表明,利用对肿瘤具有识别和杀伤能力的 CIK 细胞作为载体工具,系统性运载高杀伤性病毒靶向肿瘤位点的治疗方法具有非常理想的治疗效果.该方法在肿瘤免疫治疗与病毒基因治疗间找到完美的结合点,巧妙地运用二者的优势弥补各自的不足,为肿瘤治疗找到新的突破口.以 Thorne 等的工作为基础在以下几个方面可做进一步研究: a. 通过改造病毒的衣

壳粒或 fiber 区,减少病毒免疫原性^[29]避免病毒释放后被机体免疫系统识别和清除从而进一步延长病毒杀伤肿瘤细胞的持续时间. b. 优化病毒在载体细胞中增殖的调控手段,通过深入研究 CIK 细胞抗癌机制,在病毒释放时机与 CIK 细胞溶瘤作用之间寻求平衡,如利用 CIK 细胞特异性启动子替换病毒自身启动子等手段^[30],准确控制病毒裂解 CIK 细胞的时间充分发挥 CIK 细胞抗癌作用,同时精确限制病毒释放位点并尽可能地避免病毒在非肿瘤组织中释放以减少其对正常细胞的损伤. c. 寻找较 CIK 细胞更适合病毒运载的肿瘤靶向性细胞载体.随着对肿瘤微环境和肿瘤转移机制认识加深,最近科学家们发现,巨噬细胞^[30]以及与肿瘤转移相关的细胞具有充当病毒细胞载体的可能,科学工作者正在特征性地研究这些具有充当病毒运载工具靶向肿瘤组织潜力的细胞,试图研究开发出更新一代的细胞载体.相信用于肿瘤靶向治疗的细胞载体在科研工作者共同努力下,定能高效、安全地运载相关病毒到达肿瘤位点发挥强大的抗癌作用.

参考文献

- 1 Lyons M, Onion D, Green N K, *et al.* Adenovirus type 5 interactions with human blood cells may compromise systemic delivery. *Mol Ther*, 2006, **14** (1): 118~128
- 2 Cole C, Qiao J, Kottke T, *et al.* Tumor-targeted, systemic delivery of therapeutic viral vectors using hitchhiking on antigen-specific T cells. *Nat Med*, 2005, **11** (10): 1073~1081
- 3 Thorne S H, Negrin R S, Contag C H. Synergistic antitumor effects of immune cell-viral biotherapy. *Science*, 2006, **311** (5768): 1780~1784
- 4 Harrington K, Vile R. Virus smuggling, tax evasion and tumor assassination. *Nat Med*, 2006, **12** (5): 507~509
- 5 Coukos G, Makrigiannakis A, Kang E H, *et al.* Use of carrier cells to deliver a replication-selective herpes simplex virus-1 mutant for the intraperitoneal therapy of epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res*, 1999, **5** (6): 1523~1537
- 6 Naffakh N, Henri A, Villeval J L, *et al.* Sustained delivery of erythropoietin in mice by genetically modified skin fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92** (8): 3194~3198
- 7 Overturf K, Al-Dhalimy M, Finegold M, *et al.* The repopulation potential of hepatocyte populations differing in size and prior mitotic expansion. *Am J Pathol*, 1999, **155** (6): 2135~2143
- 8 Rinsch C, Quinodoz P, Pittet B, *et al.* Delivery of FGF-2 but not VEGF by encapsulated genetically engineered myoblasts improves survival and vascularization in a model of acute skin flap ischemia. *Gene Ther*, 2001, **8** (7): 523~533
- 9 Taylor R. Cell vehicles for gene transfer to the brain. *Neuromuscul Disord*, 1997, **7** (5): 343~351
- 10 Pereboeva L, Komarova S, Mikheeva G, *et al.* Approaches to utilize

- mesenchymal progenitor cells as cellular vehicles. *Stem Cells*, 2003, **21** (4): 389~404
- 11 Yotnda P, Savoldo B, Charlet-Berguerand N, *et al.* Targeted delivery of adenoviral vectors by cytotoxic T cells. *Blood*, 2004, **104** (8): 2272~2280
 - 12 Lu P H, Negrin R S. A novel population of expanded human CD3+CD56+ cells derived from T cells with potent *in vivo* antitumor activity in mice with severe combined immunodeficiency. *J Immunol*, 1994, **153** (4): 1687~1696
 - 13 Shi M, Zhang B, Tang Z R, *et al.* Autologous cytokine-induced killer cell therapy in clinical trial phase I is safe in patients with primary hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2004, **10** (8): 1146~1151
 - 14 Dudley M E, Wunderlich J R, Robbins P F, *et al.* Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science*, 2002, **298** (5594): 850~854
 - 15 Chang C C, Ferrone S. NK cell activating ligands on human malignant cells: molecular and functional defects and potential clinical relevance. *Semin Cancer Biol*, 2006, **16** (5): 383~392
 - 16 Gasser S, Raulet D. The DNA damage response, immunity and cancer. *Semin Cancer Biol*, 2006, **16** (5): 344~347
 - 17 Smyth M J, Swann J, Kelly J M, *et al.* NKG2D recognition and perforin effector function mediate effective cytokine immunotherapy of cancer. *J Exp Med*, 2004, **200** (10): 1325~1335
 - 18 McCart J A, Ward J M, Lee J, *et al.* Systemic cancer therapy with a tumor-selective vaccinia virus mutant lacking thymidine kinase and vaccinia growth factor genes. *Cancer Res*, 2001, **61** (24): 8751~8757
 - 19 Persson B D, Reiter D M, Marttila M, *et al.* Adenovirus type 11 binding alters the conformation of its receptor CD46. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, **14** (2): 164~166
 - 20 Yotnda P, Onishi H, Heslop H E, *et al.* Efficient infection of primitive hematopoietic stem cells by modified adenovirus. *Gene Ther*, 2001, **8** (12): 930~937
 - 21 Segerman A, Lindman K, Mei Y F, *et al.* Adenovirus types 11p and 35 attach to and infect primary lymphocytes and monocytes, but hexon expression in T-cells requires prior activation. *Virology*, 2006, **349** (1): 96~111
 - 22 Hayakawa Y, Smyth M J. NKG2D and cytotoxic effector function in tumor immune surveillance. *Semin Immunol*, 2006, **18** (3): 176~185
 - 23 Zhao L, Dong A, Gu J, *et al.* The antitumor activity of TRAIL and IL-24 with replicating oncolytic adenovirus in colorectal cancer. *Cancer Gene Ther*, 2006, **13** (11): 1011~1022
 - 24 Walker D, Jason J, Wallace K, *et al.* Spontaneous cytokine production and its effect on induced production. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002, **9** (5): 1049~1056
 - 25 Joshi P S, Liu J Q, Wang Y, *et al.* Cytokine-induced killer T cells kill immature dendritic cells by TCR-independent and perforin-dependent mechanisms. *J Leukoc Biol*, 2006, **80** (6): 1345~1353
 - 26 Zoll B, Lefterova P, Ebert O, *et al.* Modulation of cell surface markers on NK-like T lymphocytes by using IL-2, IL-7 or IL-12 *in vitro* stimulation. *Cytokine*, 2000, **12** (9): 1385~1390
 - 27 Bastos K R, Barboza R, Sardinha L, *et al.* Role of endogenous IFN-gamma in macrophage programming induced by IL-12 and IL-18. *J Interferon Cytokine Res*, 2007, **27** (5): 399~410
 - 28 Ong H T, Hasegawa K, Dietz A B, *et al.* Evaluation of T cells as carriers for systemic measles virotherapy in the presence of antiviral antibodies. *Gene Ther*, 2007, **14** (4): 324~333
 - 29 Roberts D M, Nanda A, Havenga M J, *et al.* Hexon-chimaeric adenovirus serotype 5 vectors circumvent pre-existing anti-vector immunity. *Nature*, 2006, **441** (7090): 239~243
 - 30 Lewis C E, Pollard J W. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res*, 2006, **66** (2): 605~612

A New-typed Cell Vehicle for Tumor Targeting Therapy*

YANG Zhi, WEI Xu-Bin, CAI Rong**, QIAN Cheng**

(Xinyuan Institute of Medicine and Biotechnology, College of Life Science, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract With a persisting development in tumor targeting viruses as a special anti-tumor agent and therapeutic gene vector for the recent years, a number of highly effective, targeting virus vectors have been exploited, which still did not satisfy the requirement for cancer targeting therapy in clinic. However, it has remained unsolved in how to effectively and veraciously deliver these targeting viruses to the tumor tissues. The cytokine-induced killer cells (CIK) as one of the cell therapy methods in tumor therapy have been widely applied in clinic. Recently, scientists have used the CIK cell as a vehicle to successfully carry viruses to the tumor tissues, which showed a robust anti-tumor effect. Meanwhile, the experiment method made a great breakthrough in systemic virus delivery and data figured a potential application for the treatment of cancers.

Key words CIK cell, tumor targeting cell vehicle, tumor targeting virus vectors

*This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2004CB518804), Hi-Tech Reserch and Development Program of China (20060102Z1107), Zhejiang Funds for The Returned Students (116153A4I0538) and Zhejiang Province Grant (116153A4E06009).

**Corresponding author . Tel: 86-571-86843182, Fax: 86-571-86843185

CAI Rong. E-mail: Cairong801@hotmail.com

QIAN Cheng. E-mail: cqian@unav.es

Received: January 12, 2007 Accepted: June 28, 2007