

3A1-柔红霉素对急性 T 细胞白血病的 效果与安全性初探^①

林学颜^{1,①} 石磊² 闭兰² 汪东海²

(1 中山医科大学免疫学教研室,广州,510089 2 卫生部武汉生物制品研究所,武汉,430060)

提 要 应用单克隆抗体 3A1-柔红霉素结合物(3A1-DM)临床治疗 8 例急性 T 淋巴细胞白血病患者。经初步验证,鼠源性单克隆抗体制备的导向药物输入人体内未发生严重过敏反应与毒副作用。疗程完毕后,以骨髓象为标准评价临床治疗效果,获完全缓解者 3/8 例(37.5%),部分缓解 4/8 例(50%),无效 1/8 例(12.5%)例,总有效率达 87.5%。初步验证了微量导向药物在临床治疗中的效果。

主题词 白血病,T 细胞,急性/治疗;免疫毒素类/免疫学;柔红霉素/药理学;抗体,单克隆

中图分类号 R730

应用单克隆抗体作为免疫导向药物的载体,携带化学药物进行选择治疗,避免了正常组织细胞的损伤^[1,2]。本研究采用抗 CD₃ 抗原决定簇的单克隆抗体 3A1,通过低分子右旋糖苷作为交联剂,与柔红霉素(daunomycin,DM)连接成单抗 3A1-DM 免疫结合物,经过体外、体内效应与安全试验,证明该导向药物有选择性杀伤相对应白血病淋巴瘤细胞的效应^[3~5]。为了进一步在临床上开展安全性和治疗效应的研究,作者在广州医学院附属第二医院选择无法进行化疗的急性 T 淋巴细胞白血病患者 8 例,应用本导向药物进行治疗,初步获得可喜的效果。现将治疗研究的初步结果报告于下。

1 材料与方法

1.1 杂交瘤细胞株的建立

采用 T 细胞白血病患者血液,滴加于 Ficoll-Hypaque 分层液之上,离心,分层,取单核细胞层,经 E-玫瑰花结实验,用低渗盐液溶解花结的绵羊红细胞,即得 T 细胞,用

于免疫 BALB/c 小鼠,每周 1 次,第 4 周加强免疫 1 次,3 d 后杀鼠取脾,制备脾细胞悬液,在融合剂 PEG 存在下,与小鼠 SP2/0 细胞进行融合,经 HT(次黄嘌呤-胸腺嘧啶)和 HAT(次黄嘌呤-氨基嘌呤-胸腺嘧啶)选择培养液筛选,扩大,获得纯的杂交瘤细胞,命名为 3A1 细胞。

1.2 单克隆抗体

抗 3A1 杂交瘤细胞株从液氮罐取出复苏后,按常规接种于 BALB/c 小鼠腹腔,2 周后待腹部膨胀,取腹水经饱和硫酸铵沉淀,DEAE-32 离子交换层析纯化,备用。

1.3 单抗 3A1-DM 免疫结合物的制备^[3~6]

采用低分子右旋糖苷(dextran T 10)经 NaIO₄ 氧化后作为交联剂,将柔红霉素与单抗 3A1 连接成 3A1-DM 免疫结合物,其中的抗体和药物含量分别以 Folin 法和光吸收法测定。

1.4 细胞分离法

急性 T 细胞白血病(ALL)细胞的分离
ALL 病人外周血经 Ficoll-Hypaque 细胞分层液(比重为 1.077)分离,收集单个核

① 本课题由加拿大国际发展研究中心(IDRC)和广东省科委提供资助;② 第一作者,1934 年出生,男,教授

细胞,调整细胞数为 $(3\sim 5)\times 10^9$ 个/L,供细胞毒试验用。

1.5 细胞毒试验^[4,5]

ALL 细胞 0.1 ml 加等量 3A1-DM 免疫结合物,置 37℃ 孵育 1 h,离心洗 2 次,加培养液 37℃ 孵育 24 h 后,加 1 滴 0.4% 台盼蓝染液,混匀,置显微镜下观察,着色者为死细胞,同时分别以单抗 3A1 和 DM 对 ALL 细胞进行细胞毒试验作对照,并以下式计算细胞毒效应:

$$\text{细胞毒效应}\% = \frac{\text{实验组死亡细胞数} - \text{对照组死亡细胞数}}{100 - \text{对照组死亡细胞数}} \times 100$$

1.6 治疗方法

1.6.1 病例选择 住院病人 8 例,男 5 例,女 3 例。FAB 分类 L1 7 例(其中 1 例合并非霍奇金淋巴瘤),初诊 5 例,其中 L2 者 1 例,复诊 3 例,年龄 18~26 岁。

1.6.2 治疗前处理 抽取患者血液 5 ml,用 Ficoll-Hypaque 分离单核细胞进行体外细胞毒试验,选择细胞毒效应达 50% 以上的病例。

1.6.3 用药方法 单抗 3A1-DM 免疫结合物,每日 1 次,计 3A1 单克隆抗体量为每毫升含 500~2 000 μg (内含 DM 每毫升 500~1240 μg),加至 200 ml 5% 葡萄糖注射液中,静脉滴注,10 次为 1 疗程。其中 4 例单用 3A1-DM 免疫结合物,4 例加长春新碱(VCR)1 mg,于滴注前 1 d 开始口服泼尼松(prednisone)40 mg/d,共 10 d。

2 结 果

应用单克隆抗体 3A1-DM 免疫结合物导向治疗 T 细胞白血病 8 例,疗程完毕后 7~10 d 以骨髓象为主要标准评价治疗效应。

2.1 疗效观察

治疗后完全缓解者 3 例(初诊 2 例,复诊 1 例),临床症状与体征完全消失,血象显示白血病细胞消失,骨髓象(原始淋巴细胞加幼稚淋巴细胞) $<5\%$;部分缓解 4 例(初诊 2

例,复诊 2 例),症状完全消失,血象白血病细胞减少,骨髓象(原始淋巴细胞加幼稚淋巴细胞) $<30\%$ 。无效 1 例,症状不变,血象与骨髓象与治疗前相比无大差异。

2.2 副作用

导向药物治疗 8 例患者,除 2 例畏寒发热和 1 例心肌劳累和骨髓抑制外,其他均未见肾功能、肝功能与心电图异常改变以及血压降低等毒副作用。

3 讨 论

本研究应用低分子右旋糖苷(dextran T 10 作交联剂,将柔红霉素分子与单抗 3A1 交联成 3A1-DM 免疫结合物,经体外细胞毒试验证明该结合物能特异性杀伤白血病 T 淋巴母细胞 CEM,但不损伤骨髓干细胞,并以¹²⁵I-3A1 核素标志物注入带瘤裸鼠体内,经 ECT 扫描显示¹²⁵I-单抗标志物明显浓集在 T 淋巴母细胞瘤(CEM 细胞瘤)部位。为了使单抗 3A1-柔红霉素结合物在体外和动物体内实验的基础上能够进一步用于临床研究,在初步的治疗实践中我们认识到如下几点:

3.1 毒副反应较少

鼠源性单克隆抗体输入人体内,在短期内未发现严重的毒副作用。在临床初步应用中,只见少数病例有畏寒和发热反应,经处理或加少量 prednisone 可以防止毒副反应的发生,说明少量鼠源性单抗可被人体所耐受,而不引起严重的过敏反应。

3.2 治疗效应具有特异性

抗体-药物结合物有选择性治疗效应。由于治疗白血病的化疗药物缺乏选择性杀伤白血病细胞的特性,与此相反,单抗导向药物却能特异地针对白血病细胞,而未见正常组织细胞损伤的征象^[5],与化学药物相比确具有较为优越的特异效应。而且不受临床发热、出血和血小板减少的限制,因此在白血病治疗中,可作为化学药物治疗过程中间歇使用,或

与化学药物交替使用,可减少由于化学药物治疗所产生的毒副作用。

3.3 量效关系需进一步探讨

必须进一步探讨剂量和效应的关系。本文应用导向药物单抗 3A1-DM 免疫结合物治疗的剂量仅为单用柔红霉素治疗剂量的数百分之一,实际用量仅为 500~1240 $\mu\text{g}/\text{d}$,但临床上已经观察到症状、血象、骨髓象改善的效果。由于柔红霉素的用量太少,因此改善症状效应尚未达到理想的效果。为了提高治疗效果,务必适当增加剂量并进一步探索剂量效应。

3.4 应用前景

本导向药物由于单克隆抗体的导向作用,携带化学药物选择性地结合于相应的白血病细胞而发挥其治疗效应,这是单纯应用化学药物所不可媲美的。特别是临床收治的病人多数是严重出血,血小板减少或骨髓受抑制而不能继续应用化学药物者,因此导向药物可能成为治疗白血病的一种辅助治疗手段。此外,本导向药物还可以在体外净化骨髓,杀伤T细胞,而不伤害骨髓干细胞,这些特性有助于骨髓移植和器官移植的开展。

(本文承广州医学院附属第二医院刘泽霖教授

的协助,特此致谢)

参 考 文 献

- 1 David MG. New developments in monoclonal antibodies for cancer detection and therapy. *CA Cancer J Clin*, 1994, 44 : 43
- 2 Kubota T, Yamamoto T, Takahara T, et al. Targeting cancer chemotherapy using a monoclonal antibody (NCC-LU-243) conjugated with mitomycin C. *Surg Oncology*, 1992, 51 : 75
- 3 张 玲, 丁洪波, 林学颜. 单克隆抗体免疫结合物治疗裸鼠 CEM T 淋巴瘤的研究. *中国生物制品学杂志*, 1993, 6(3) : 101
- 4 林学颜、鄂学平、石 磊. 单克隆抗体免疫结合物在体内和体外对 T 源性淋巴瘤的作用. *中华微生物学与免疫学杂志*, 1989, 9 增刊 : 58
- 5 林学颜, 石 磊. 单抗导向药物 3A1-Dextran-DM 对白血病 CEM 细胞特异性杀伤的观察. *中国生物制品学杂志*, 1992, 5(4) : 145
- 6 Yen MY, Roffer SR, Yu MH. Doxorubicin-monoclonal antibody conjugate for therapy of human cervical carcinoma. *Int J Cancer*, 1992, 51 : 274

(1994-11-28 收稿 1995-09-13 修回)

PRELIMINARY STUDY ON THE EFFECT AND SAFETY OF McAb 3A1-DAUNOMYCIN IMMUNOCONJUGATE IN CLINICAL TREATMENT OF ALL

Lin Xueyan¹ Shi Lei² Bi Lan² Wan Donghai²

(1 Department of Immunology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089

2 Wuhan Institute for Biological Products of the Ministry of Public Health, Wuhan, 430060)

The immunoconjugate of monoclonal antibody (McAb) 3A1 linking with daunomycin (DM) was used clinically for eight cases of acute T lymphocyte leukemia (ALL). The preliminary results demonstrated that 3A1-DM of mouse-origin McAb did not show serious hypersensitivity and toxicity. Bone marrow phase was used for the effect evaluation of treatment.

(下转第 15 页)

- ease locus within 13q14-21. Am J Hum Genet, 1988,43:664
- 4 Yuzbasiyan-Gurkan V, Brewer GJ, Boerwinkle E, *et al.* Linkage of Wilson's disease gene to chromosome 13 in North American pedigrees. Am J Hum Genet, 1988,42:825
- 5 Wiggs J, Nordenskjold M, Yanden D, *et al.* Prediction of the risk of hereditary retinoblas-
ma; using DNA polymorphisms within the retinoblasma gene. N Engl J Med, 1988, 318: 151
- 6 魏 军,杜传书. 视网膜母细胞瘤基因的 BamH I 和 Rsa I 限制性片段长度多态性. 中华肿瘤杂志, 1994, 16(2):115
- (1995-02-10收稿 1995-10-10修回)

CARRIER DETECTION AND EARLY DIAGNOSIS OF WILSON DISEASE AND THE USE OF POLYMORPHISM OF P^{68RS2.0}

Xu Pingyi Liang Xiulin

(Department of Neurology, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen
University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

In this paper, we examined the utility of copper biochemical data and introduced the use of molecular genetics for screening siblings of affected patients for WD in 6 pedigrees. 2 presymptomatic patients were diagnosed and 6 carriers and 1 normal homozygote were ruled out in 13 siblings of these families. The data showed that a probe P^{68RS2.0} from the linked retinoblastoma (Rb) gene can be very helpful in identifying sibling of affected patients, but it wasn't the only definitive diagnostic criterion.

Subject headings hepatolenticular degeneration/diagnosis; linkage (genetics); restriction fragment length polymorphisms; heterozygote detection; DNA probes/diagnostic use



(上接第11页)

After treatment with 3A1-DM, 3 cases got complete response (CR), 4 cases got partial response, and one case had no response. The response rate was 87.5% (7/8). The data suggested that 3A1-DM immunoconjugate might be used clinically for ALL treatment.

Subject headings leukemia, T-cell, acute/therapy; immunotoxins/immunology; daunorubicin/pharmacology; antibodies, monoclonal