

基于树突状细胞的肿瘤免疫治疗临床应用方式的研究进展*

沈季敏¹ 刘欣¹

[关键词] 树突状细胞;肿瘤;免疫治疗

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2018.01.016

[中图分类号] R730.51 [文献标志码] A

Research progress in clinical application of tumor immune therapy based on dendritic cells

Summary Dendritic cells (DCs) are professional antigen-presenting cells which play a key role in both immunity induction and tolerance maintenance. DC is the strongest and the only one antigen presenting cell which can directly activate the initial T cells in vivo, initiating the adaptive immune response. In this paper, we discuss the new understanding of DC-based tumor immunotherapy, and the clinical studies of DCs that have been carried out so far in combination with other therapies.

Key words dendritic cells; tumor; immunotherapy

树突状细胞(dendritic cell, DC)于1973年被发现,在抗肿瘤免疫治疗中的应用始于上个世纪80年代。从前体细胞产生DC制造了足够数量的抗原呈递细胞的方法,快速用于临床,从而产生了首个基于DC的疫苗接种研究。一般来说,这种形式的免疫治疗需要离体产生的DC负载肿瘤抗原,随后重新注射入患者,以刺激由CD8⁺和CD4⁺T淋巴细胞介导的抗肿瘤免疫应答。首次报道的关于DC的临床研究于1996年出版,且以DC为基础的肿瘤免疫治疗相关的实验与临床研究在国内外不断开展,尤其是将DC与其他治疗手段相结合,这显示出肿瘤免疫治疗的强大优势,免疫治疗在当今时代已成为潮流。

1 DC的生物学特性与功能

DC被称为“专职”抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC),由于DC具有最广泛的抗原呈递范围,并参与介导抗肿瘤免疫,因此它们已经成为大多数抗肿瘤细胞免疫治疗研究中的首选APC,尤其是抗肿瘤应答依赖于传统的树突状细胞(conventional dendritic cell, cDC)的特异性亚型。cDC激活T细胞的优先能力是Chen和Mellman所概述的“癌症免疫循环”的基础^[1]。尽管存在多种其他专职抗原呈递细胞,包括其他DC亚型,但是cDC特别适合于引发T细胞应答,指导T细胞极化,以及在MHC I或MHC II上呈递外源和内源性抗原^[2]。DC分为2个主要的分化阶段:未成熟DC

和成熟DC。为了引发有效的免疫应答,必须刺激未成熟DC摄取抗原并发育成高度有效的成熟DC。除了负责抗原呈递外,这些成熟DC能够分泌促炎症细胞因子如IL-12,进一步促进免疫应答。肿瘤的恶性生长在开始时通常是缓慢且沉默的,其不能引发免疫系统激活所必需的“危险信号”,此外肿瘤细胞可压制免疫应答的启动以允许肿瘤生长。利用DC治疗的目的是通过提供离体“训练”的DC,适当地激活和负载肿瘤抗原,从而能够诱导较强的肿瘤T细胞免疫应答来修复免疫系统的这种疏忽。

2 DC疫苗

2.1 DC疫苗培养过程

目前以DC诱导的特异性免疫治疗已成为恶性肿瘤生物治疗研究的热点。DC疫苗培养的一般过程是:首先获取DC前体细胞(外周血CD14⁺单核细胞或者CD34⁺的造血干细胞),然后运用一些细胞因子混合物如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和白细胞介素-4(IL-4)诱导其分化,随后采用促DC成熟因子如使用某些细胞因子组合,如TNF- α /IL-1 β /IL-6/PGE2或者Toll样受体(TLR-4、TLR-6和TLR-9)激动剂或电穿孔的方式^[3],使DC成熟后再负载相应的肿瘤抗原,最后接种入患者体内。近年来也有研究从外周血分离DC用于免疫治疗。

2.2 DC疫苗的肿瘤抗原负载

随着现代肿瘤免疫治疗学的发展,普遍认为肿瘤抗原的负载决定了DC疫苗应用的成败,抗原肽、肿瘤相关蛋白、肿瘤细胞、自体肿瘤裂解物和肿瘤衍生的mRNA已被验证可作为抗原的良好来源。用活的或凋亡的肿瘤细胞、肿瘤细胞裂解物等

*基金项目:安徽省自然科学基金项目(No: 1508085MH195)

¹安徽医科大学附属省立医院,安徽省立医院血液科(合肥, 230001)

通信作者:刘欣, E-mail: lxinahf@sina.com

使 DC 同时负载多种肿瘤抗原,可以采用多个循环的冻融或者用聚乙二醇将自体肿瘤细胞融合于 DC 中,从而诱导针对不同抗原决定簇的特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL),可提供大量抗原表位,缺点是比较费时,且难以进行免疫检测。另外细菌或病毒载体可靶向具有肿瘤抗原的 DC,这些载体在以下方面具有明显的优势:能插入编码肿瘤相关抗原(TAA)的基因,为了安全而除去编码毒力或复制因子的基因,和(或)具有诱导 DC 成熟的能力。也可以用编码 TAA 的 mRNA 转染 DC,如使用阳离子脂质,即 DOTAP 或电穿孔完成。较新的抗原包括磷酸肽、瓜氨酸化的肽和在肿瘤细胞中表达的非编码 DNA 的抗原。值得一提的是,最近在 DC 疫苗接种策略中细胞穿透肽(CPPs)与抗原的偶联显得较为突出,CPPs 与抗原的结合将增加 DC 对 MHC II 类和 MHC I 类分子上抗原的摄取、加工和呈递,从而导致抗原特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞应答。由于增强了 CTL 反应,基于 CPPs 抗原的 DC 疫苗接种被认为是用于肿瘤免疫治疗的具有前景的途径^[4]。

2.3 在体内靶向 DC

在体内靶向抗原的 DC 将是优先选择。体内靶向可在更大规模上生产疫苗,更重要的是,能在体内多个位点直接刺激天然 DC 亚型的活化。离体 DC 的操作昂贵而耗时,由于离体操作不是完全模仿体内情况,因此由于操作失误导致培养错误的 DC 的风险将会增加。体内靶向 DC 的早期方法包括辐射肿瘤细胞分泌 GM-CSF,以刺激 APC 的募集和增强 APC 的功能。临床上有显著进展的第一种肿瘤疫苗之一是 GVAX,其涉及经修饰而表达 GM-CSF 的辐射肿瘤细胞,从而在接种部位招募 DC 并使之成熟以促进抗原摄取和递送。

2.4 DC 疫苗的临床应用

目前 DC 疫苗可用于全身各个系统的肿瘤免疫治疗,不仅在实体肿瘤的治疗上具有划时代意义,如 2010 年美国食品药品监督管理局(FDA)批准 DC 治疗晚期前列腺癌,在黑色素瘤、胶质瘤、结直肠癌肿瘤、乳腺肿瘤、肾细胞癌方面的实验研究正在大量进行,而且在血液肿瘤免疫治疗方面具有广泛的前景,特别是能有效清除肿瘤细胞微小残留病灶,预防疾病复发。此外为了评价免疫治疗的疗效,国际上已推出免疫治疗疗效评价标准(irRC),并于 2015 年得到进一步补充^[5]。

3 与 DC 有关的其他免疫治疗方式

在迄今为止进行的临床试验中,DC 疫苗的安全性已经得到很好的确立,但该治疗的临床成效已经不是最佳的,这提示 DC 的单独应用存在着局限性,研究人员正在开发与 DC 有关的其他肿瘤治疗模式。

3.1 与药物联合运用

联合治疗是提高 DC 功效的关键。①与免疫检查点抑制剂联合:人细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)单克隆抗体 Ipilimumab 和程序性死亡因子-1(PD-1)阻断抗体 Nivolumab 已经被美国 FDA 批准上市^[6],并且更多的免疫检查点抑制剂目前正在临床试验中。最近有研究显示,导入了编码有 CD40 配体、CD70 的 mRNA 的 DC,与伊匹单抗的组合在预处理的晚期黑色素瘤患者中获得了非常令人振奋的结果,总体反应率为 38%^[7]。②与针对肿瘤免疫逃避机制的药物联合:肿瘤逃避机制包括通过肿瘤抗原表达缺失或下调 MHC I 类表达,免疫抑制性细胞因子的分泌,调节性 T 细胞(Treg)和骨髓源性抑制细胞(MDSC)的扩增和募集来逃避免疫识别,以及负调节途径的激活。此外,肿瘤血管本身可以形成重要屏障阻止 T 细胞到达肿瘤部位^[8]。如 COX-2 抑制剂和精氨酸酶抑制剂造成 MDSC 的消耗或抑制^[9],从而可导致 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤活性的恢复。吡哆胺 2,3-双加氧酶(IDO)途径的抑制剂形成一类新的免疫调节剂,其可失活 Treg 和 MDSC 而不损害抗肿瘤反应产生的实质性免疫效应^[10]。IDO 抑制剂和 DC 疫苗接种的组合目前正在前列腺和乳腺癌中进行 II 期临床试验(NCT01560923; NCT01042535-II 期)。③与免疫佐剂或细胞因子联合增强 DC 功效:目前已有铝盐、乳剂、病毒颗粒、霍乱肠毒素和 CpG ODN 等佐剂获得批准用于人类疫苗或进入临床试验阶段^[11],细胞因子包括 IL-2, GM-CSF, IFN- α , IFN- γ 和 IL-12。④与靶向治疗的结合:如维罗非尼(一种 BRAF 抑制剂)具有抑制 Treg 功能^[12],曲妥珠单抗(一种抗 Her2 的单克隆抗体)可恢复肿瘤细胞上的 MHC I 型表达。舒尼替尼是靶向多种受体的酪氨酸激酶抑制剂,减少肿瘤微环境中 MDSC 的数量,下调 DC 表面 PD-1 的表达,并在临床前研究中减少免疫抑制性细胞因子的分泌^[13]。

3.2 与细胞因子诱导的杀伤细胞联合(DC-CIK)应用

DC 和 CIK 细胞皆是肿瘤免疫治疗的重要细胞,两者具有协同抗肿瘤作用。DC 和 CIK 自体外周血单核细胞诱导共同培养,再将 DC 和 CIK 重新融入患者体内,这既可促进 DC 细胞成熟,又加强了 CIK 细胞杀瘤活性,是一种新一代过继性 T 细胞免疫治疗方式。Jung 等^[14]用于治疗患有肝癌的小鼠实验研究显示,DC 联合 CIK 疫苗接种比 DC 或 CIK 单独治疗更有效。Mao 等^[15]研究表明 DC-CIK 免疫治疗联合化疗能够提高转移性乳腺癌患者的生活质量,延长患者的寿命。Wang 等^[16]用基于基因修饰的 DC 与细胞因子诱导的杀伤细胞(gmDCs-CIK)联合治疗肾细胞癌患者,取得了良好

的疗效,该临床试验显示了 39% 的客观响应率和 75% 的疾病控制率。

3.3 负载多肽的 DC 的免疫治疗

以多肽为靶抗原,DC 为抗原载体可激发 CTL 反应。多肽抗原具有具有良好的靶向性,对免疫反应的检测更准确。有研究表明^[17],与蛋白质相比,合成长肽能被 DC 更快速和更有效地加工,诱导出更强的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞免疫效应,其中 pDCs 能有效加工合成长肽以诱导功能性病毒和肿瘤特异性 T 细胞应答^[18]。Fukuda 等^[19]用 WT1、gp100、酪氨酸酶、MAGE-A3 或 MAGE-A2 多肽冲击的 DC 疫苗与化疗联合治疗 IV 期黑色素瘤,来证实多肽抗原的有效性;Shigetaka 等^[20]用 WT1 肽冲击的 DC 用于治疗晚期结直肠癌患者的 I 期研究,证实了其具有安全性和免疫原性;其他多肽抗原还有 NY-ESO-1、HER-2/neu、HSP70L1^[21-23]。

3.4 与其他治疗手段相联合

虽然免疫治疗作为单一疗法具有临床成功的先例,但是与其他治疗手段结合,具有更大的临床应用前景。最近的研究已经确定了可能更有效的基于 DC 疫苗的策略,例如与抗肿瘤剂协同应用可增强 DC 功能。通过消耗免疫细胞,化学疗法创造了用于抗肿瘤效应细胞最佳扩增的细胞因子环境,因此通常与过继性 T 细胞转移联合应用^[24]。此外,各种化疗剂能够诱导免疫原性细胞死亡,使这些细胞更易于接受由 DC 接种引起的抗肿瘤免疫。在黑色素瘤 III 期试验中,化疗和 DC 疫苗接种加入 COX-2 抑制剂的试验出现令人鼓舞的结果。Wang 等^[25]用 DC 疫苗结合放射治疗以激活食管癌患者的特异性免疫反应,结果表明研究组放疗联合 DC 免疫治疗 1 年时存活比例 82.1%,2 年时存活比例 67.8%;对照组单纯放疗 1 年时存活比例 50.0%,2 年时存活比例 33.3%,且研究组随访 2 年时的生存比例大于对照组。表明负载热休克蛋白肿瘤细胞抗原的 DC,对食管癌患者的特异性免疫治疗在一定程度上可防止疾病的进展。

4 结语

迄今为止,对基于 DC 的抗肿瘤免疫治疗的研究提供了这种 APC 可有效诱导抗原特异性免疫的有力证据,并且它们可以安全地使用而无不良反应。未来 DC 的免疫治疗势必是从体外到体内,由单一走向联合的道路。关于 DC 和淋巴细胞如何工作,以及我们如何最好地将它们用于免疫治疗的许多问题仍然是开放的,很多新技术,包括基因组分析方法,可能有助于设计针对患者个体免疫系统和肿瘤抗原谱的疫苗接种方案。细胞免疫治疗是肿瘤治疗的一个新的发展方向,为肿瘤治疗提供了一种新的有效的治疗策略,必将使更多的肿瘤患者生存获益。

参考文献

- [1] Chen D, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle[J]. *Immunity*, 2013, 9: 1-10.
- [2] Mildner A, Jung S. Development and function of dendritic cell subsets[J]. *Immunity*, 2014, 40: 642-656.
- [3] 郭振红, 曹雪涛. 肿瘤免疫细胞治疗的现状及展望[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2016, 23(2): 149-160.
- [4] Lim S, Koo JH, Choi JM. Use of cell-penetrating peptides in dendritic cell-based vaccination[J]. *Immune Netw*, 2016, 16: 33-43.
- [5] Hoos A, Wolchok JD, Humphrey RW, et al. CCR 20th anniversary commentary: immune-related response criteria-capturing clinical activity in immuno-oncology[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 4989-4991.
- [6] Guo L, Zhang H, Chen B. Nivolumab as programmed death-1 (PD-1) inhibitor for targeted immunotherapy in tumor[J]. *J Cancer*, 2017, 8: 410-416.
- [7] Wilgenhof S, Corthals J, Heirman C, et al. Phase II study of autologous monocyte-derived mRNA electroporated dendritic cells (TriMixDC-MEL) plus ipilimumab in patients with pretreated advanced melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34: 1330-1338.
- [8] Lanitis E, Irving M, Coukos G. Targeting the tumor vasculature to enhance T cell activity[J]. *Curr Opin Immunol*, 2015, 33: 55-63.
- [9] Wesolowski R, Markowitz J, Carson WE. Myeloid derived suppressor cells-a new therapeutic target in the treatment of cancer[J]. *J Immunother Cancer*, 2013, 1: 10.
- [10] Prendergast GC, Smith C, Thomas S, et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase pathways of pathogenic inflammation and immune escape in cancer[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63: 721-735.
- [11] Ursu R, Taillibert S, Banissi C, et al. Immunotherapy with CpG-ODN in neoplastic meningitis: A phase I trial[J]. *Cancer Sci*, 2015, 106: 1212-1218.
- [12] Ilieva KM, Correa I, Josephs DH, et al. Effects of BRAF mutations and BRAF inhibition on immune responses to melanoma[J]. *Mel Cancer Ther*, 2014, 13: 2769-2783.
- [13] Amin A, Dudek AZ, Logan TF, et al. Survival with AGS-003, an autologous dendritic cell-based immunotherapy, in combination with sunitinib in unfavorable risk patients with advanced renal cell carcinoma (RCC): Phase 2 study results[J]. *J Immunother Cancer*, 2015, 3: 14.
- [14] Jung NC, Lee JH, Choi HJ, et al. Dendritic cell immunotherapy combined with cytokine-induced killer cells effectively suppresses established hepatocellular carcinomas in mice[J]. *Immunol Invest*, 2016, 45: 553-565.
- [15] Mao Q, Li L, Zhang C, et al. Clinical effects of immunotherapy of DC-CIK combined with chemotherapy in treating patients with metastatic breast cancer[J]. *Pak*

- J Pharm Sci, 2015, 28: 1055–1058.
- [16] Wang D, Zhang B, Gao H, et al. Clinical research of genetically modified dendritic cells in combination with cytokine-induced killer cell treatment in advanced renal cancer[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 251.
- [17] Rosalia RA, Quakkelaar ED, Redeker A, et al. Dendritic cells process synthetic long peptides better than whole protein, improving antigen presentation and T-cell activation[J]. Eur J Immunol, 2013, 43: 2554–2565.
- [18] Aspod C, Leloup C, Reche S, et al. pDCs efficiently process synthetic long peptides to induce functional virus- and tumour-specific T-cell responses[J]. Eur J Immunol, 2014, 44: 2880–2892.
- [19] Fukuda K, Funakoshi T, Sakurai T. Peptide-pulsed dendritic cell vaccine in combination with carboplatin and paclitaxel chemotherapy for stage IV melanoma[J]. Melanoma Res, 2017, 27: 326–334.
- [20] Shigetaka S, Kenji S, Koichi H, et al. Dendritic cell-based adjuvant vaccination targeting Wilms' tumor 1 in patients with advanced colorectal cancer[J]. Vaccines, 2015, 3: 1004–1018.
- [21] Fonteneau JF, Brilot F, Münz C, et al. The tumor antigen NY-ESO-1 mediates direct recognition of melanoma cells by CD4+ T cells after intercellular antigen transfer[J]. J Immunol, 2016, 196: 64–71.
- [22] Fracol M, Xu S, Mick R, et al. Response to HER-2 pulsed DC1 vaccines is predicted by both HER-2 and estrogen receptor expression in DCIS[J]. Ann Surg Oncol, 2013, 20: 3233.
- [23] Liu S, Yi L, Ling M, et al. HSP70L1-mediated intracellular priming of dendritic cell vaccination induces more potent CTL response against cancer[J]. Cell Mol Immunol, 2016 Jun 27. doi: 10.1038/cmi.2016.33. [Epub ahead of print].
- [24] Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer[J]. Science, 2015, 348: 62–68.
- [25] Wang C, Pu J, Yu H, et al. A dendritic cell vaccine combined with radiotherapy activates the specific immune response in patients with esophageal cancer[J]. J Immunother, 2017, 40: 71–76.

(收稿日期: 2017-04-20)