

树突状细胞肿瘤免疫研究进展

Research Progress in Tumor Immunity and Dendritic Cells

LIU Xiao-ling, SONG Zhen-chuan

刘晓玲¹ 综述, 宋振川² 审校

(1. 沧州中西医结合医院, 河北 沧州 061001;

2. 河北医科大学第四医院, 河北 石家庄 050035)

摘要:树突状细胞(DC)是目前已知机体内功能最强大的抗原提呈细胞,能诱导特异性的细胞毒性T淋巴细胞生成。大量研究表明,DC在机体免疫应答及抗肿瘤免疫中发挥重要作用。目前,以DC为基础的肿瘤免疫治疗及DC疫苗等方面已取得较大进展,作为一种新的抗肿瘤治疗手段显现出良好的临床应用前景。

关键词:树突状细胞;肿瘤;肿瘤免疫

中图分类号:R730.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2012)11-0870-05

树突状细胞(dendritic cell, DC)首先由美国学者 Steinman 等^[1]于 1973 年从小鼠脾脏中分离出,因其具有树突样或伪足样突起而命名,是目前已知的功能最强的抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC),参与抗原的捕捉、加工、处理和提呈。成熟的 DC 是惟一能激活幼稚 T 淋巴细胞的专职抗原提呈细胞,能激活针对该病原体的特异性 T 淋巴细胞反应,是机体细胞免疫应答的始动者,是连接先天性免疫反应和获得性免疫反应的桥梁^[2]。以 DC 为基础的肿瘤疫苗可以有效地增强诱导机体特异性抗肿瘤免疫反应,被公认为最具潜能的肿瘤免疫治疗手段^[3]。成熟 DC 能点状放大激活静息 T 细胞,一个成熟的 DC 可激活 100~3 000 个 T 细胞,是巨噬细胞和 B 细胞的 100~1 000 倍^[4],进而产生免疫应答,在移植排斥、抗肿瘤、抗感染和自身免疫疾病中发挥重要作用。自 20 世纪 90 年代开始由于 DC 体外扩增方法的不断改进,现有技术可从外周血、脾脏及骨髓诱导并培养大量 DC。DC 疫苗在众多的动物肿瘤模型的治疗中取得了显著的效果,应用此方法对 DC 进行肿瘤抗原修饰,可以解决因 DC 功能缺陷造成的肿瘤免疫逃逸问题。本文就 DC 的生物学特性、抗肿瘤免疫机制及其疫苗的研究及临床应用

收稿日期:2012-05-29;修回日期:2012-07-01

作一综述。

1 DC 的来源与分类

1.1 DC 的来源

DC 起源于髓系(myeloid DC, DC₁)和淋系(lymphoid DC, DC₂)。髓系起源于外周血单个核细胞的前体细胞(PDC₁),淋系起源于血液或扁桃腺中某种浆细胞的前体细胞(PDC₂)。大多 DC 起源于骨髓 CD34⁺细胞,除大脑以外广泛分布于全身各脏器,但数量极微,仅占外周血单核细胞的 0.5%~1%以下^[5]。

1.2 DC 的分类

根据 DC 来源、部位、形态、功能和表型可有不同的分类方法^[6]。根据刺激 T 细胞增殖能力的不同,按成熟情况分为:未成熟 DC (immature dendritic cell, imDC)和成熟 DC(mature dendritic cell, mDC)。根据诱导幼稚 T 细胞分化及分泌不同细胞因子效应细胞的功能分为:诱导分化 T 辅助 1 细胞(Th1)的 DC₁和诱导分化 T 辅助 2 细胞(Th2)的 DC₂。根据其分布部位不同大致分为:淋巴样组织中的 DC、非淋巴样组织中的 DC 和循环 DC。各组织中最常见的主要为浆细胞样 DC (plasmacytoid DCs, PDCs) 和常见 DC (conventional DCs, CDCs)^[7]。

2 DC 的生物学特性

2.1 未成熟 DC 与成熟 DC 生物学特性的差异

髓系 DC 的分化发育分为 4 个阶段:造血干细胞、DC 前体细胞、未成熟 DC 和成熟 DC^[8]。不同发育阶段的 DC 具有不同甚至可能完全相反的功能。外周血中的未成熟 DC 具有强大的内吞作用,通过吞噬外来抗原等,转变为成熟 DC,并向前哨淋巴结等淋巴器官迁移,同时吞噬能力减弱,抗原提呈能力增强。早期未成熟的 DC 表达高水平的与抗原摄取有关的分子,成熟 DC 高表达能和 T 淋巴细胞特异性结合的分子如细胞间黏附因子、共刺激分子等,高表达抗原提呈限制分子(MHC)-I、II 类分子、淋巴细胞功能相关抗原等。这些 MHC 分子和共刺激分子在肿瘤免疫过程中发挥重要作用。体外培养获得的 DC 具有和体内成熟 DC 同样的抗原提呈功能,所以 DC 有应用于临床治疗恶性肿瘤的基础。

2.2 DC 在抗原提呈与免疫激活中的作用

DC 通过提呈的 MHC 抗原肽复合物结合 TCR 提供第一信号,其表达的 B7 分子通过 CD28 提供第二信号,此外 DC 还通过自身分泌或诱导其他细胞大量合成和分泌一些重要细胞因子如 IL-12 和 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)等,提供第三信号,从而激发 T 细胞增殖,使 T 细胞被充分激活,诱导特异性 CD8⁺细胞毒 T 细胞(CTL)生成。

在摄取抗原与接受某些刺激因素后,未成熟 DC 经输入淋巴管引流迁移至次级淋巴器官。在这个转移过程中,DC 趋于成熟,向 T 细胞提供第一、第二信号,促进 T 细胞激活,引发免疫反应。

3 DC 抗肿瘤免疫机制

3.1 DC 抗肿瘤免疫分类

机体抗肿瘤免疫的机制包括细胞免疫和体液免疫,细胞免疫是机体抗肿瘤免疫的主要形式,而产生 CD8⁺的 CTL 是有效的抗肿瘤细胞免疫的关键。在肿瘤患者体内,只有 APC 捕获并加工处理呈递肿瘤抗原后,才能形成针对肿瘤抗原的特异性 T 细胞克隆,从而形成有效的抗肿瘤免疫效应^[9]。目前认为,DC 主要通过 4 种淋巴细胞(CD8⁺ CTL、CD4⁺ T、

NK、NKT)相互作用,激活这 4 种淋巴细胞直接杀伤肿瘤细胞,并分泌大量 IL-12。DC 可以逆转肿瘤患者体内发生的 Th1/Th2 漂移,使机体免疫由 Th2 介导的体液免疫为主扭转为 Th1 介导的细胞免疫为主^[10]。

3.2 DC 抗肿瘤免疫机制

3.2.1 DC 增强细胞毒性淋巴细胞(CTL)的抗肿瘤作用

成熟 DC 高表达的 MHC 分子与抗原结合后,形成 MHC-I-抗原复合物及 MHC-II-抗原复合物。前者将抗原呈递给 CD8⁺细胞,使其分化成具杀伤能力的 CTL;后者将抗原呈递给 CD4⁺细胞,使其分化成 Th 细胞。Th 细胞一方面可产生 IL-2 以促进 CD8⁺细胞的增殖和分化,另一方面可以分化为 Th1 或 Th2 细胞,从而引发相应的免疫应答^[11]。

3.2.2 DC 可通过合成和分泌一些细胞因子发挥抗肿瘤作用

DC 受到肿瘤相关抗原刺激后分泌 IL-12,与 Th 表面的 IL-12 受体结合,使 Th0 向 Th1 方向分化并分泌 IFN- γ ,IFN- γ 又反作用于 DC,促进 DC 分泌 IL-12,这种正反馈机制可使机体在短时间产生强大的抗肿瘤细胞免疫应答^[12]。同时,DC 提供高水平的协同共刺激分子 B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、CD40 分子等,使 T 细胞被充分激活^[13]。

3.2.3 DC 分泌趋化因子

DC 能分泌趋化因子 DC-CK1 专一趋化初始型 T 细胞,促进 T 细胞在肿瘤部位的聚集,增强对 T 细胞的激活^[14]。Troy 等^[15]证明,DC 与 T 细胞之间相互作用及滤泡型 DC 对抗原的保留,都可以促使 DC 分泌某些生存因子促进 T 细胞的生长,维持 T 细胞反应。

3.2.4 DC 通过 NK 细胞的杀肿瘤作用

DC 能激活穿孔素 P/颗粒酶 B 和 FasL/Fas 介导的途径,增强 NK 的细胞毒作用^[16]。DC 可以使 NK 细胞处于安静状态,若 NK 细胞被激活则能诱导 DC 成熟。

3.2.5 DC 通过其他途径诱导和启动免疫应答

DC 可通过分泌一种具有抗原提呈能力的 Exosomes 小体来诱导 T 细胞免疫反应。可通过吞噬凋亡的肿瘤细胞获得肿瘤抗原,从而启动免疫应答。DC 可能通过分泌血管抑制因子如 IL-12、IFN- γ 及前血管生成因子,影响肿瘤血管形成而抑制肿瘤生长^[17]。

4 DC 与肿瘤免疫逃逸

4.1 来自肿瘤细胞及肿瘤抗原本身的改变

肿瘤免疫的基础研究表明, 肿瘤细胞低表达或不表达 MHC 分子及共刺激分子、肿瘤抗原的免疫原性减低、抗原提呈相关基因(*TAP*、*LMP* 等)表达的下调、肿瘤细胞 MHC 分子表达异常, 使 T 细胞不能识别肿瘤抗原等均可导致肿瘤免疫逃逸。

4.2 肿瘤对机体免疫系统功能的改变

肿瘤宿主的 DC 功能缺陷, 使其无法有效提呈肿瘤抗原激活 T 细胞以识别和杀伤肿瘤细胞^[18]。肿瘤细胞可以通过 VEGF、IL-10 及 TGF- β 等使 DC 成熟和分化发生障碍, 改变 DC 抗原提呈能力, 减弱激活 T 细胞的能力^[19]。

4.2.1 肿瘤细胞释放细胞因子影响机体肿瘤免疫

目前有学者认为, 肿瘤细胞释放的一些可溶性因子 IL-10 可抑制 DC 表面共刺激分子的表达, VEGF 可在 DC 的成熟过程中早期影响其造血前体细胞, 而分化为功能缺陷的 DC, 使之无法有效的诱导抗肿瘤反应, 从而导致肿瘤的免疫逃逸^[20]。

4.2.2 肿瘤趋化因子缺乏影响免疫应答

研究表明, 肿瘤组织中 DC 密集浸润的肿瘤分化程度高, 预后好; 而 DC 轻度浸润者则分化程度低预后差。说明在一些恶性肿瘤中 TNF- α 、IL-1 等趋化因子的缺乏, DC 向肿瘤病灶和局部淋巴结的迁移减少, 导致免疫应答缺陷^[21]。

4.3 诱导 DC 凋亡

诸多研究表明肿瘤可以诱导 DC 发生凋亡。DC 凋亡使能够提呈肿瘤抗原的 DC 数目减少, 促进了肿瘤的免疫逃逸^[22,23]。

5 DC 抗肿瘤疫苗

近年来将不同形式的肿瘤抗原负载的 DC 制成疫苗, 可以在体内诱导特异杀伤性 T 细胞的生成, 以激发人体有效的特异性抗肿瘤免疫功能。在体外产生加载了抗原的成熟 DC, 用以刺激产生具有长时效的体内 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞反应。因为不同的负载形式会极大地影响主要组织相容性复合体 Ⅱ 型 (MHC-Ⅱ) 和 MHC-Ⅰ 型抗原呈递途径, 继而分别诱

导不同的 T 淋巴细胞反应。目前 DC 疫苗已广泛用于荷瘤动物模型基础研究中, 某些疫苗也进入 I 期或 II 期临床试验阶段, 如对黑色素瘤、非霍奇金 B 细胞淋巴瘤以及某些预后不良的恶性肿瘤的治疗^[24]。

目前用于肿瘤特异性主动免疫治疗的 DC 疫苗大致分为两类: DC 多肽疫苗和 DC 基因疫苗。其中多肽疫苗有以下几种: 肿瘤特异性表位肽刺激的 DC、肿瘤细胞溶解物致敏 DC、肿瘤细胞与 DC 融合 Exosomes 小体负载 DC。DC 基因疫苗主要包括负载 DNA 的 DC 疫苗、负载蛋白质的 DC 疫苗、负载 RNA 的 DC 疫苗、导入编码肿瘤相关抗原的 DC 疫苗、导入编码细胞因子基因的 DC 疫苗, 通过提高其对抗原的摄取、加工、呈递能力, 从而提高机体对肿瘤的抵抗能力^[25]。

6 DC 治疗肿瘤的临床应用

近年来, DC 的临床研究已广泛展开, 大量体外荷瘤动物模型研究表明 DC 免疫疗法具有确切的肿瘤治疗效果。Yamanaka 等^[26]发现经 *IL-12* 基因修饰的 DC 瘤内直接注射后在体内持续产生 IL-12, 荷瘤小鼠生存期得到显著延长。在人类临床应用研究中 DC 抗肿瘤作用也初见其潜力和价值。Kobayashi 等^[27]利用乳腺组织的融解产物致敏 DC 后回输, 部分患者获得了显著疗效。Krause 等^[28]用患者自身单核细胞起源的 DC 与肿瘤细胞融合, 在标准化疗无效的扩散性黑色素瘤患者的治疗中取得了显著疗效。Ni 等^[29]采用自体肿瘤裂解液处理的 DC 疫苗瘤内注射治疗 10 例淋巴瘤患者, 有 1 例完全缓解、4 例部分缓解。代国知等^[30]对 17 例晚期肾癌患者用 DC 融合疫苗进行治疗, 结果表明 41% 的患者获得疗效, 其中 4 例完全缓解。最近, Kvistborg 等^[31]用自体单核细胞来源的 DC 来负载在肿瘤或睾丸中富集的同种异体肿瘤细胞裂解物抗原研发了一种新疫苗, 目前这种疫苗已经在 III 期临床试验中测试活性, 包括 2 组结肠癌患者和 1 组晚期非小细胞肺癌患者, 测试结果显示出良好的靶向特异性抗癌疗效。近年来, DC 疫苗作为肿瘤生物治疗的方案已获得美国 FDA 批准正式进入临床试验, DC 疫苗的研究显示了极好的发展和临床应用前景。

7 问题与展望

DC 是机体内免疫反应的始动子和调节子,能够有效地将抗原呈递给静止 T 细胞,促进 CTL 和 Th 细胞的生成,从而启动 T 细胞介导的肿瘤特异性的免疫反应。虽然 DC 的抗肿瘤机制部分明确,但并不完善。DC 功能缺陷及 DC 凋亡所致的 DC 数量减少以致肿瘤免疫逃逸现象的出现,最终可导致肿瘤发生、发展。

理想的肿瘤抗原 DC 疫苗应当能够诱导针对不同肿瘤抗原表位的多克隆反应,包括 CD8⁺ T 和 CD4⁺ T 细胞反应;不诱导自身免疫反应,没有安全隐患;不受受治者 MHC 型别的限制;易于制备和应用。但事实上无论用何种方法制备的 DC 疫苗都很难完全满足以上条件。需要解决的问题有:①疫苗迁移效率低。有研究表明,DC 疫苗注射后,大约只有 1%能迁移到引流淋巴组织中,所以需要改进注射方法以提高 DC 的迁移率,譬如在疫苗部位注射 TNF 等。②所负载的肿瘤抗原类型有限。许多 DC 疫苗仅负载了一种或几种肿瘤抗原,结果不能有效抑制肿瘤细胞的免疫逃逸。③对 DC 疫苗的质量控制不够。④未同步开展免疫监测。因为保护性淋巴细胞的产生与肿瘤退化和生存改善有关,因此 DC 疫苗治疗需要与免疫监测同步进行,以检测其保护性淋巴细胞的水平。

DC 疫苗作为一种特异性的细胞免疫治疗方法,由于修饰的是自体 DC,因此对机体而言更为安全,而且疫苗作用机制主要是通过纠正肿瘤患者的免疫缺陷,启动患者自身特异性杀瘤免疫反应,在消灭肿瘤细胞的同时将对正常细胞的伤害降到了最低限,所以在临床应用上有非常大的潜力。随着早期的临床试验 DC 疫苗质量、研究设计方案、疗效评价标准及患者适应证选择等方面的规范化,随着统一的免疫治疗评价标准的建立,尽管目前大多数的临床研究尚处于论证其可行性阶段,或应用于 I 期、II 期临床,但其前景是极其广阔的,DC 疫苗终究会在人类与恶性肿瘤的抗争中发挥重要作用。

参考文献:

[1] Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice [J]. J Immunol,

2007, 178(1):5-25.

- [2] Steinman RM, Hemmi H. Dendritic cells: translating innate to adaptive immunity [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2006, 311:17-58.
- [3] 徐榕, 江虹虹, 宋海峰. 树突状细胞疫苗研究的新策略 [J]. 中国肿瘤, 2011, 20(2):92-97.
- [4] Paglia PC, Chiodoni M, Rodolfo MP, et al. Murine dendritic cells loaded in vitro with soluble protein prime cytotoxic T lymphocytes against tumor antigen in vivo [J]. J Exp Med, 1996, 183(1):317-322.
- [5] Caux C, Massacrier C, Vanbervliet B, et al. CD34⁺ hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to granulocyte macrophage colony-stimulating factor plus tumor necrosis factor: functional analysis [J]. Blood, 1997, 90 (4):1458-1470.
- [6] Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes [J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(3):151-161.
- [7] Liu YJ. Dendritic cell subsets and lineages and their functions in innate and adaptive immunity [J]. Cell, 2001, 106 (3):259-262.
- [8] 刘秀红, 付萍. 树突状细胞表面标志及功能研究进展 [J]. 皮肤病与性病, 2009, 31(3):22-24.
- [9] Sheng KC, Pietersz GA, Wright MD, et al. Dendritic cells: activation and maturation-applications for cancer immunotherapy [J]. Curr Med Chem, 2005, 12(15):1783-1800.
- [10] Harada N, Kodama H, Nanba H, et al. Relationship between dendritic cell and D-fraction-induced Th1 dominant response in BALB/c tumor-bearing mice [J]. Cancer Lett, 2003, 192(2):181-187.
- [11] Inaba K, Turley S, Iyoda T, et al. The formation of immunogenic MHC class II-peptide ligands in lysosomal compartments of dendritic cells is regulated by inflammatory stimuli [J]. J Exp Med, 2000, 191(6):927-936.
- [12] 王强, 陈德玉. 以树突状细胞疫苗为基础的肿瘤免疫治疗 [J]. 现代肿瘤医学, 2008, 16(12):2201-2204.
- [13] Ranieri E, Gigante M, Storkus WJ, et al. Translational mini-review series on vaccines: dendritic cell based vaccines in renal cancer [J]. Clin Exp Immunol, 2007, 147 (3):395-400.
- [14] Adema GJ, Hartgers F, Verstraten R, et al. A dendritic-cell-derived C-C chemokine that preferentially attracts naive T cells [J]. Nature, 1997, 387(6634):713-717.
- [15] Troy AJ, Davidson PJ, Atkinson CH, et al. CD1a dendritic cells predominate in transitional cell carcinoma of bladder and kidney but are minimally activated [J]. J Urol,

- 1999, 161(17):1962-1967.
- [16] Yu Y, Hagihara M, Ando K, et al. Enhancement of human cord blood CD34⁺ cell-derived NK cell cytotoxicity by dendritic cell[J]. *J Immunol*, 2001, 166(3):1590-1600.
- [17] Numasaki M, Lotze MT, Tahara H. Interleukin 17 gene transfection into murine fibrosarcoma cell line MCA205 increase tumorigenicity correlated with enhanced tumor microvasculature[J]. *Cell Immunol*, 1997, 20(6):399.
- [18] 马晓凯, 伊焕发, 唐国民. 树突状细胞研究进展[J]. *解剖学杂志*, 2002, 24(1):307-309.
- [19] Berthier-Vergnes O, Gaucherand M, Péguet-Navarro J, et al. Human melanoma cells inhibit the earliest differentiation steps of human Langerhans cell precursors but failed to affect the functional maturation of epidermal langerhans cells [J]. *Br J Cancer*, 2001, 85(12):1944-1951.
- [20] 于益芝, 曹雪涛. 树突状细胞研究进展[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 307-413.
- [21] 贾建军, 王自能. 树突状细胞与抗肿瘤免疫[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2006, 14(11):128-130.
- [22] Kaufman HL, Disis ML. Immune system versus tumor: shifting the balance in favor of DCs and effective immunity[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(5):664-667.
- [23] Pivtskhalashvili G, Shurin GV, Gambotto A, et al. Transduction of dendritic cells with Bcl-xl increases their resistance to prostate cancer-induced apoptosis and antitumor effect in mice[J]. *J Immunol*, 2000, 165(4):1956-1964.
- [24] 葛莲英. 树突状细胞与肿瘤免疫及其肿瘤生物治疗应用[J]. *肿瘤学杂志*, 2005, 11(2):111-133.
- [25] Ohno S, Takano F, Ohta Y, et al. Frequency of myeloid dendritic cells can predict the efficacy of Wilms' tumor 1 peptide vaccination [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(7):2447-2452.
- [26] Yamanaka R, Zullo SA, Ramsey J, et al. Marked enhancement of antitumor immune responses in mouse brain tumor models by genetically modified dendritic cells producing Semliki Forest virus mediated interleukin-12 [J]. *J Neurosurg*, 2002, 97(3):611-618.
- [27] Kobayashi T, Shinohara H, Toyoda Y, et al. Regression of lymph node metastases by immunotherapy using autologous breast tumor-lysate pulsed dendritic cells: report of a case [J]. *Surg Today*, 2001, 31(6):513-516.
- [28] Krause SW, Neumann C, Soruri A, et al. The treatment of patients with disseminated malignant melanoma by vaccination with autologous cell hybrids of tumor cells and dendritic cells [J]. *J Immunother*, 2002, 25(5):421-428.
- [29] Ni X, Duvic M. Dendritic cells and cutaneous T-cell lymphomas [J]. *G Ital Dermatol Venereol*, 2011, 146(2):103-113.
- [30] 代国知, 袁红霞, 陈虹亮. 基于树突状细胞的肿瘤免疫研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(2):409-411.
- [31] Kvistborg P, Bechmann CM, Pedersen AW, et al. Comparison of monocyte-derived dendritic cells from colorectal cancer patients, non-small-cell-lung-cancer patients and healthy donors [J]. *Vaccine*, 2009, 28(2):542-547.