

- tion of MEK1[J]. *Exp Cell Res*,2011,317(4): 452-463
- 11 Hu J, Yu H, Kornev AP, *et al.* Mutation that blocks ATP binding creates a pseudokinase stabilizing the scaffolding function of kinase suppressor of Ras, CRAF and BRAF[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011,108(15): 6067-6072
 - 12 Brennan DF, Dar AC, Hertz NT, *et al.* A Raf-induced allosteric transition of KSR stimulates phosphorylation of MEK[J]. *Nature*, 2011,472(7343): 366-369
 - 13 Llobet D, Eritja N, Domingo M, *et al.* KSR1 is overexpressed in endometrial carcinoma and regulates proliferation and TRAIL-induced apoptosis by modulating FLIP levels[J]. *Am J Pathol*,2011,178(4): 1529-1543
 - 14 Xing HR, Cordon-Cardo C, Deng X, *et al.* Pharmacologic inactivation of kinase suppressor of ras-1 abrogates Ras-mediated pancreatic cancer[J]. *Nat Med*,2003,9(10): 1266-1268
 - 15 Kortum RL, Lewis RE. The molecular scaffold KSR1 regulates the proliferative and oncogenic potential of cells[J]. *Mol Cell Biol*,2004, 24(10): 4407-4416
 - 16 Wang X, Studzinski GP. Oncoprotein Cot1 represses kinase suppressors of Ras1/2 and 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced differentiation of human acute myeloid leukemia cells[J]. *J Cell Physiol*,2011, 226(5): 1232-1240
 - 17 Fernandez MR, Henry MD, Lewis RE. Kinase suppressor of Ras 2 (KSR2) regulates tumor cell transformation via AMPK[J]. *Mol Cell Biol*,2012,32(18): 3718-3731
 - 18 Giamas G, Filipovic A, Jacob J, *et al.* Kinome screening for regulators of the estrogen receptor identifies LMTK3 as a new therapeutic target in breast cancer[J]. *Nat Med*,2011,17(6): 715-719
 - 19 Giurisato E, Lin J, Harding A, *et al.* The mitogen-activated protein kinase scaffold KSR1 is required for recruitment of extracellular signal-regulated kinase to the immunological synapse[J]. *Mol Cell Biol*, 2009,29(6): 1554-1564
 - 20 Zhang Y, Li X, Carpinteiro A, *et al.* Kinase suppressor of Ras-1 protects against pulmonary pseudomonas aeruginosa infections[J]. *Nat Med*,2011,17(3): 341-346
 - 21 Xue F, Li H, Zhang J, *et al.* miR-31 regulates interleukin 2 and kinase suppressor of ras 2 during T cell activation[J]. *Genes Immun*, 2013,14(2): 127-131

(收稿日期:2014-08-31)

(修回日期:2014-09-24)

树突状细胞疫苗抗肿瘤免疫研究进展

段丽芳 张晓芹

摘 要 树突状细胞(dendritic cell,DC)生物学功能的进一步研究显示了其在免疫系统中的关键作用,也为以DC为基础的肿瘤免疫疗法提供了理论依据。但DC疫苗还处于初级阶段,近年来,已经发现了许多扩增DC及其负载抗原的方法,使DC疫苗在肿瘤患者身上开始临床研究成为可能。本文就DC疫苗的临床应用及进展做一综述。

关键词 树突状细胞疫苗 肿瘤免疫疗法 临床研究

中图分类号 R730.51

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.004

随着肿瘤免疫疗法的深入研究,已经证实树突状细胞(dendritic cell,DC)在起始免疫应答、诱导免疫记忆以及破坏免疫耐受方面发挥重要的作用,成为肿瘤免疫研究中重要的细胞工具,因此DC疫苗成为近年来的研究热点。随着对DC的扩增及抗原负载方法的深入研究,使得DC疫苗在肿瘤患者身上开始临床研究成为可能。

一、DC的生物学特性

DC的生命周期可以分为两个阶段:不成熟阶段和成熟阶段。在不成熟阶段,DC通过各种机制识别抗原后,不成熟(iDC)递呈抗原给T细胞同时转变为

成熟的DC(mDC)。iDC表面特征性的低表达MHC分子、共刺激分子、黏附分子和DC的标志,同时高表达炎性趋化因子受体,以使它们到达炎症组织。mDC高表达MHC分子、黏附分子、共刺激分子(CD40、CD54、CD58、CD80、CD83和CD86)和DC的标志DC-LAMP,但部分也在iDC表面也低水平的表达,CD83在iDC表面不表达可以用来区分iDC和mDC^[1]。

DC分为CD11c⁺CD123lo髓系DC(mDC)和CD11c-CD123hi浆细胞DC(pDC),pDC是固有免疫的重要介质,也是体内产生INF- γ 的重要细胞,pDC定居在血液和淋巴器官中。mDC既停留在血液和淋巴器官也存在于皮肤的真皮和大多数器官的组织间隙中,朗格汉斯细胞作为一种特殊亚型的mDC,存在

于表皮和含黏液的组织。因此在 DC 疫苗领域的研究大多集中在单核细胞来源的 mDC,本篇综述主要指 mDC。

DC 可以从血液中直接分离,也可通过 DC 的特殊标志分离,还可以通过的第 2 个来源是 CD34⁺ 祖细胞,在 G-CSF 与 IL-3 刺激下,大量的 CD34⁺ 祖细胞转移至外周血中,分离后出的祖细胞与 GM-CSF 和 TNF- α 共培养两周后,转化为 iDC,进一步发育为成熟 mDC。但最常用的分离的 DC 的方法是通过外周血单核细胞来分离,单核细胞与 GM-CSF 和 IL-4 共培养 5~7 天获得 iDC,在不同的刺激物下转变为 mDC。在 GM-CSF 和 IFN- γ 存在时,单核细胞也能迅速分化为 DC。

二、DC 疫苗的临床应用现状

在肿瘤免疫疗法中,DC 疫苗的已经成为研究热点。Jonulei 等^[2] 比较了 GM-CSF/IL-4 刺激下单核细胞来源的 iDC 和 mDC,负载不同的肽和抗原至黑色素瘤患者,使用 mDC 疫苗时,CTL 和抗原特异性 CD4⁺ T 细胞应答均增高,说明 mDC 疫苗优于 iDC 疫苗。Ymanaka 等^[3] 将 mDC 和 iDC 用肿瘤溶液和 KLH 制备成疫苗给予神经胶质瘤患者,相比 iDC 的患者,mDC 患者表现出肿瘤特异性 DTH 反应并且血液中出现肿瘤特异性 CD8⁺ T 细胞。上述实验揭示:在肿瘤患者诱导肿瘤特异性免疫应答 mDC 优于 iDC。

另一个影响 DC 疫苗疗效的是疫苗的给药途径。Trumpfheller 等^[4] 把血液来源的 DC 疫苗通过静脉注射、皮内注射、淋巴管内给药的方式给予前列腺癌转移的患者,所有患者均表现出肿瘤特异性 T 细胞的增殖反应。仅仅静脉注射能观察到 TNF- α 的分泌并能检测到抗原特异性抗体。而在皮内注射和淋巴管给药仅能观察到 IFN- γ 得分泌,所有组均检测不到 IL-4。因此,皮内注射和淋巴管给药时产生 Th1 免疫,而静脉注射主要引起体液免疫。Schiavoni 等^[5] 报道,IFN- β /IL-3 单核细胞来源的 mDC 皮下给药、皮内给药、淋巴管内给药,DC 迁移仅仅在皮内注射后观察到。这些结果揭示:静脉注射主要诱发体液免疫应答,而皮内注射、淋巴管内注射介导 Th1 免疫应答,皮内主要介导 DC 的移动。

接种后抗原表位的扩散参与调节肿瘤逃逸。Brossart 等^[6] 用单核细胞来源的 mDC 接种 7 例乳腺癌患者和 3 例卵巢癌患者,两例疾病稳定而其他进展,5 例患者出现抗原特异性 T 细胞应答,其中 2 例表现出抗原表位的扩散,而这 2 例患者表现为疾病稳

定,这表明表位的扩散与临床反应有关。Trefzer 等^[7] 用放射过的同种异体的 mDC 接种黑色素瘤患者,11 例患者肿瘤特异性 CD8⁺ T 细胞应答增加,其中 3 例出现表位扩散,没有表达 TAA 或缺乏抗原递呈分子或均缺乏时,均检测到免疫逃避。这些数据显示抗原表位的扩散也与有效的临床反应有关,并可以作为疫苗疗效的预测因子。

抑制性介质的也会影响 DC 疫苗介导抗肿瘤免疫如 Treg。Treg 能抑制抗原特异性效应 T 细胞,相比正常人,肿瘤患者外周血中 Treg 明显增多。研究证实应用 ONTAK(重组 IL-2 和白喉毒素)提高肿瘤 RNA 转染的 mDC 疫苗能进一步消除 Treg,CD8⁺ T 细胞应答在仅接受 DC 疫苗的患者增加 2.7 倍,而在给予 DC 和 ONTAK 组却能增加 7.9 倍;单独给予 DC 疫苗时 CD4⁺ T 应答增加 2 倍,而在给予 DC 和 ONTAK 组却能增加 7.2 倍,这提示联合应用 ONTAK 和 DC 疫苗清除 Treg 能提高抗肿瘤免疫^[8]。Holtl 研究也发现联合 DC 疫苗和环磷酰胺通过下调 Treg 的活性,促进抗肿瘤免疫应答。

Mayer 等^[9] 研究指出,肿瘤大小和 DC 疫苗的抗肿瘤免疫之间呈相关性:用 IV 期黑色素瘤患者血液中 S-100B 的蛋白来衡量肿瘤负荷的大小,在疫苗注射前低 S-100B 浓度相比高 S-100B 浓度的患者表现出更高的存活率。大的肿瘤负荷可以阻止 DC 介导的抗肿瘤免疫,并且指出 DC 疫苗治疗前通过外科手术降低肿瘤负荷能改进 DC 疫苗的疗效。亦有研究比较了 2 期黑色素瘤患者 MRD 高复发患者的和 VI 期的大体积的黑色素瘤患者的临床结果,指出疫苗诱导的 CD8⁺ T 细胞的扩增和分化在 II 期患者更为显著^[10]。这些结果表明高肿瘤负荷对降低 DC 疫苗疗效。

三、DC 疫苗的发展前景

对 DC 疫苗在小鼠模型中能介导抗肿瘤免疫应答和肿瘤的消退,取得了令人鼓舞的结果。但临床试验中,虽提高了 DC 疫苗的抗肿瘤特异性免疫应答,但很少能达到持久的临床反应,并且肿瘤特异性免疫应答和临床反应之间的相关性也很难观察到。可能归因于以下几点:①治疗的患者一般都是在疾病进展期,前期治疗影响其免疫功能,进一步影响 DC 疫苗;②部分患者的肿瘤负荷太大,提示早期患者或 MRD 的患者才是 DC 疫苗的理想人群;③使用的 DC 疫苗亚型及抗原负载方法不同,已有报道有些 DC 亚型能诱导产生 Treg;④可能与抑制性肿瘤微环境的存在有

关。以下机制共同参与肿瘤介导免疫抑制:①肿瘤细胞过度消耗葡萄糖,葡萄糖缺乏,抑制效应 T 细胞的功能^[11];②肿瘤细胞表达的 B7 - H1/PD - L1 通过活性 T 细胞上表达的 PD - 1 抑制 T 细胞应答;③肿瘤细胞表达和激活 IDO,通过抑制细胞周期导致细胞凋亡^[12];④肿瘤微环境中的可溶性免疫抑制介质(TGF - β 、VEGF、IL - 10、IL - 23)干扰效应 T 细胞的功能,动员 Treg 诱导肿瘤,并且对效应细胞有直接的免疫抑制作用^[13]。

总之,免疫疗法以其恢复甚至重建免疫系统、安全、不良反应小等独特的优势已经成为继手术治疗、放、化疗之后的非常重要的治疗办法,并有望根治肿瘤,而众多研究已经证实 DC 疫苗在抗肿瘤免疫中的地位。但是,DC 疫苗的研究还处于初级阶段,受肿瘤类型、大小、疫苗类型及给药途径等影响,临床差异也很大,且临床中也缺乏判断其临床疗效的统一标准。尽管大量研究已经证实了 DC 疫苗强大的抗肿瘤免疫能力,部分研究也观察到了肿瘤的消退,但关于疫苗的剂量、重复给药间隔及联合其他疫苗等问题仍无合理的定论,需要进一步研究。

参考文献

- Steinman RM. Decisions about dendritic cells: past, present, and future[J]. *Annu Rev Immunol*, 2012,30(1):1 - 22
- Jonuleit H, Giesecke - Tuettenberg A, Tuting T, *et al.* A comparison of two types of dendritic cell as adjuvants for the induction of melanoma - specific T - cell responses in humans following intranodal injection[J]. *Int J Cancer*, 2008,93(2):243 - 251
- Yamanaka R, Homma J, Yajima N, *et al.* Clinical evaluation of dendritic cell vaccination for patients with recurrent glioma: results of a clinical phase I / II trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2005,11(11):4160 - 4167
- Hamidi S, Chen CR, Murali R, *et al.* Probing structural variability at the N terminus of the TSH receptor with a murine monoclonal antibody that distinguishes between two receptor conformational forms[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(1):562 - 571
- Morshed SA, Latif R, Davies TF. Characterization of thyrotropin receptor antibody induced signaling cascades [J]. *Endocrinology*, 2009, 150:519 - 529
- Smith BR, Bolton J, Young S, *et al.* A new assay for thyrotropin receptor autoantibodies[J]. *Thyroid*, 2004, 14: 830 - 835
- Li Y, Kim J, Diana T, *et al.* A novel bioassay for anti - thyrotrophin receptor autoantibodies detects both thyroid - blocking and stimulating activity[J]. *Clin Exp Immunol*, 2013, 173(3): 390 - 397
- van Zeijl CJ, van Koppen CJ, Surovtseva OV, *et al.* Complete inhibi-

- Trumpfheller C, Longhi MP, Caskey M, *et al.* Dendritic cell - targeted protein vaccines: a novel approach to induce T - cell immunity [J]. *Intern Med*,2012,271(12): 183 - 192
- Schiavoni G, Mattei F,Gabriele L. Type I interferons as stimulators of DC - mediated cross - priming: impactonanti - tumor response[J]. *FrontImmunol*,2013, 4(12):483 - 490
- Brossart P, Wirths S, Stuhler G, *et al.* Induction of cytotoxic T - lymphocyte responses in vivo after vaccinations with peptide - pulsed dendritic cells[J]. *Blood*,2009,96(9):3102 - 3108
- Trefzer U, Herberth G, Wohlan K, *et al.* Tumour - dendritic hybrid cell vaccination for the treatment of patients with malignant melanoma: immunological eVects and clinical results [J]. *Vaccine*, 2005, 23(17):2367 - 2373
- Ganguly D, Haak S, Sisirak V, *et al.* and B. Reizis, the role of dendritic cells in autoimmunity[J]. *Nature Reviews Immunology*,2013, 13(8):566 - 577
- Mayer CT, Berod L, Sparwasser T. Layers of dendritic cell - mediated T cell tolerance, their regulation and the prevention of autoimmunity[J]. *Frontiers in Immunology*, 2012,3(3):183 - 187
- Nuyts AH, Lee WP, Bashir - Dar R, *et al.* Dendritic cells in multiple sclerosis: key players in the immunopathogenesis, key players for new cellularimmunotherapies? [J]. *Multiple Sclerosis*, 2013, 19(8):995 - 1002
- Pletinckx K, Dohler A, Pavlovic V, *et al.* Role of dendritic cell maturity/costimulation for generation, homeostasis, and suppressive activity of regulatory Tcells[J]. *Front Immunol*,2011,27(2):39 - 44
- You CX, Shi M, Liu Y, *et al.* AAV2/IL - 12 gene delivery into dendritic cells(DC) enhances CTL stimulation above other IL - 12 applications:evidence for IL - 12 intracrine activity in DC[J]. *Oncoimmunology*,2012,1(2):847 - 855
- Konduri V, Decker WK, Halpert MM, *et al.* Modeling dendritic cell vaccination for influenza prophylaxis: potential applications for niche populations[J]. *Infect Dis*,2013,207(9):1764 - 1772

(收稿日期:2014 - 07 - 28)

(修回日期:2014 - 08 - 29)

(上接第 3 页)

- tion of rhTSH - , Graves' disease IgG - , and M22 - induced cAMP production in differentiated orbital fibroblasts by a low - molecular - weight TSHR antagonist [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(5):E781 - 785
- Kumar S, Nadeem S, Stan MN, *et al.* A stimulatory TSH receptor antibody enhances adipogenesis via phosphoinositide 3 - kinase activation in orbital preadipocytes from patients with Graves' ophthalmopathy [J]. *J Mol Endocrinol*, 2011, 46(3):155 - 163
- Turcu AF, Kumar S, Neumann S, *et al.* A small molecule antagonist inhibits thyrotropin receptor antibody - induced orbital fibroblast functions involved in the pathogenesis of Graves ophthalmopathy [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(5): 2153 - 2159

(收稿日期:2014 - 07 - 12)

(修回日期:2014 - 09 - 22)