

树突状细胞与肿瘤细胞融合疫苗的研究进展

何晓娟 尹列芬

摘 要 树突状细胞是专职的抗原递呈细胞,随着肿瘤免疫治疗的发展,研究人员对融合树突状细胞与肿瘤细胞形成抗肿瘤疫苗有了新的认识,本文从树突状细胞生物学特性、肿瘤细胞免疫逃逸、融合细胞的优势及抗肿瘤应用的最新研究进展进行综述。

关键词 树突状细胞 肿瘤细胞 融合 疫苗

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.04.003

恶性肿瘤一直是人类面临的巨大挑战,传统治疗已无法满足人们的要求,随着对肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAAs)的认识,国内外研究者开始尝试各种以树突状细胞为基础的免疫治疗,包括树突状细胞装载抗原多肽、肿瘤细胞溶解产物、RNA编码的肿瘤抗原,转染共刺激分子基因,联合细胞因子等,但临床疗效并不理想^[1~3]。由于肿瘤细胞表面特异的 TAAs 使具有不同的生物特性,为了克服树突状细胞转载肿瘤抗原的局限性及肿瘤细胞免疫逃逸机制,最终获得具有肿瘤抗原特异性的抗体,关键是如何将 TAAs 有效递呈给树突状细胞。融合树突状细胞与肿瘤细胞可形成针对肿瘤的特异性疫苗,增强抗肿瘤免疫反应^[4]。

一、树突状细胞

骨髓及外周血的单个核细胞经粒-巨噬细胞集落刺激因子与白细胞介素-4 共同作用 1 周即可分化成成熟树突状细胞。然而,体内大部分树突状细胞处于非成熟态,来源于骨髓的树突状细胞进入循环以不成熟态定居于外周组织^[5]。这些细胞并不是免疫静止的,在体内可诱导形成无免疫效应的 T 细胞,不成熟树突状细胞摄取抗原后可分泌吸引 T、B 细胞的趋化因子,上调主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)和其他共刺激分子的表达,快速聚集 MHC-多肽复合物,激活淋巴细胞发挥更强的免疫反应。交联的共刺激分子 CD40、肿瘤坏死因子- α 和脂多糖等被证明是刺激树突状细胞进

一步成熟的重要物质^[6]。在肿瘤微环境中,不成熟树突状细胞容易转化为免疫抑制细胞,即使与肿瘤细胞融合后获得杂交瘤细胞,也不会像成熟树突状细胞那样表达相应的表面标志^[7]。因此,成熟树突状细胞是强效抗肿瘤免疫反应的前提。Kandalaft 等^[2]报道在无血清培养基中单个核细胞经粒-巨噬细胞集落刺激因子、白细胞介素-4 作用 4 天就可获得成熟树突状细胞,与经典的 7 天培养法相比,其表型和吞噬能力更具优势。Zhang 等^[8]用电融合仅培养了 3 天的树突状细胞和乳腺癌细胞,这不但缩短了培养时间而且能降低所耗费用,使我们在短期内获得足够数量的树突状细胞成为可能。

二、肿瘤细胞的免疫逃逸机制

肿瘤细胞的生物学特性非常复杂,在各生长阶段都可逃避机体的免疫攻击,因此,要实现抗肿瘤的免疫治疗,成功将 TAAs 递呈给成熟树突状细胞并刺激免疫系统产生特异性抗 TAAs 抗体是关键所在,但肿瘤细胞弱表达 MHC 及黏附分子、抗原递呈细胞分化成熟异常、大量调节性 T 细胞的生成都利于肿瘤细胞逃脱宿主的免疫监视^[9]。促使许多新的干预措施不断涌现,由于免疫抑制分子可抑制融合细胞的生物活性,导致调节性 T 细胞聚集,减弱免疫反应, Koido 等^[10]联合融合疫苗与阻断抑制因子生成共同诱导细胞毒性 T 淋巴细胞反应。许多研究表示肿瘤细胞溶解产物不仅抑制树突状细胞分化成熟,而且容易产生免疫抑制影响机体抗肿瘤能力,Chen 等^[11]通过对比树突状细胞融合肺癌细胞和肺癌凋亡细胞导入树突状细胞的两类疫苗后发现,前者更能有效的发挥抗肿瘤保护作用。从开始的回输单一树突状细胞到后来的树突状细胞导入 TAAs 相关基因,研究方法虽不断改进但仍存在许多不足,不过可以确定的是肿瘤抗原

基金项目:云南省应用基础研究基金资助项目(2013FB151)

作者单位:650101 昆明医科大学第二附属医院血液内科

通讯作者:尹列芬,主任医师,硕士生导师,电子信箱:ylfynkm@

126.com

信息越完整越容易获得肿瘤相关的临床反应,因此与树突状细胞融合是降低肿瘤逃逸发生的理想选择。

三、肿瘤细胞与树突状细胞融合的特点

1. 肿瘤细胞与树突状细胞融合的优势:树突状细胞与肿瘤细胞融合后,不仅拥有肿瘤细胞所有抗原信息,而且能表达树突状细胞源性的 MHC II、细胞间黏附分子等,形成 MHC-复合物,有效激活 T 淋巴细胞,所有这些是有效处理抗原的关键。结合多肽的树突状细胞治疗肿瘤时,机体仅对特定的 TAAs 发挥作用,肿瘤细胞与树突状细胞融合却能诱导强烈的并针对多种 TAAs 的免疫反应^[12]。无论是动物研究还是人类临床试验的早期研究,都证实了肿瘤细胞与树突状细胞的融合疫苗在刺激抗肿瘤免疫反应中取得了一定的临床效果,促使此类疫苗不断发展^[13]。当融合疫苗作用于机体后可产生有效效应的记忆 T 淋巴细胞,当到同类抗原再次刺激时就可以迅速扩增,获得长期的抗肿瘤免疫,这不但可以控制已形成的肿瘤而且可以抑制肿瘤复发^[14]。

2. 融合细胞处理 TAAs 并激活特异性的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞:不成熟树突状细胞具有表达高水平 MHC I、II 和共刺激分子的能力,但不表达 TAAs;成熟树突状细胞能表达更高水平的 MHC II、CD80、CD86 和 CD83。几乎所有的肿瘤都表达丰富的 TAAs 和 MHC I,但没有 MHC II 和共刺激分子。肿瘤细胞与树突状细胞融合后可形成细胞膜完整的异核体,独立的胞核有助于保持各自原有的功能,合成 TAAs、MHC I/II 和共刺激分子,在共刺激分子的帮助下,经 MHC I 和 MHC II 途径处理融合细胞合成的 TAAs。融合细胞的抗原主要通过两个途径来处理:①内生性合成蛋白,捕获融合细胞表面的抗原经 MHC I 限制性途径处理,递呈给 CD8⁺ T 细胞;②从细胞的外环境中捕获外生性抗原,递呈给核内体或溶酶体,蛋白酶和多肽酶将抗原降解成多肽,最终被 MHC II 分子结合并被 CD4⁺ T 细胞识别。此外,树突状细胞可通过交叉递呈途径启动 CD8⁺ T 细胞反应。作为肿瘤疫苗,目的是患者体内树突状细胞所装载的抗原能有效并持续刺激 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞反应,生成大量记忆 T 细胞,降低肿瘤转移风险,延长患者生存时间。

四、融合细胞疫苗在动物试验中的应用

在动物试验中,细胞融合疫苗优于树突状细胞装载抗原蛋白、多肽、肿瘤溶解产物或被照射的肿瘤细胞。Koido 等^[15]证实了转染人黏蛋白的小鼠腺癌细胞融合骨髓源性的树突状细胞治疗肿瘤能获得理想

效果,虽然这个可移植的肿瘤模型有助于肿瘤融合疫苗的发展,但仍不够规范,因为肿瘤细胞在模型中生长太快,未出现人类癌症发展的几个阶段。融合疫苗不但能处理并呈递肿瘤抗原给宿主,刺激 CD4⁺ 和 CD8⁺ 的 T 细胞发挥有效的免疫反应,而且能对抗已经形成的肿瘤^[16]。Xu 等^[17]使用 50% 聚乙二醇融合人外周血源性树突状细胞与结肠癌肝转移的肿瘤细胞,作用联合免疫缺陷的小鼠,证实了融合细胞可表达高水平的 MHC,诱导免疫反应并抑制肿瘤生长。事实上,融合树突状细胞与肿瘤细胞很早就动物肿瘤模型上获得了成功,关于黑色素瘤的报道是最早的。为提高融合疫苗的治疗效果,细胞因子和肿瘤表面特异性抗原成为新的候选者。Tan 等^[18]证明在黑色素瘤的动物模型中与单用融合疫苗相比,融合抗 CD25 单克隆抗体后可降低肺转移的概率。随后,在动物模型中大量研究证明了融合疫苗能诱导肿瘤(包括肾、结肠、肺、乳腺、肝、宫劲癌、黑色素瘤、恶性肉瘤、神经系统和造血系统的肿瘤)产生特异性免疫反应,增强免疫系统抗肿瘤效应。

五、融合细胞疫苗在临床试验中的应用

在动物试验中已经证明树突状细胞与肿瘤细胞融合可以刺激潜在的抗肿瘤免疫反应,因此,研究者寻求治疗肿瘤的新方法而致力于临床试验。Andoh 等^[19]将外周血源性的树突状细胞与多种胰腺癌细胞系融合均可诱导细胞毒性 T 淋巴细胞。Galea Lauri 等在评价 3 种针对急性髓细胞性白血病的树突状细胞疫苗时发现,杂交瘤细胞诱导细胞毒性 T 淋巴细胞反应的能力高于树突状细胞负载白血病抗原及其凋亡细胞。许多研究表明自体或异基因树突状细胞与肿瘤细胞(包括黑色素瘤、肾细胞癌、多发性骨髓瘤等)融合所诱导的免疫反应是安全的,几乎所有 I、II 期临床试验都取得了较好的临床反应。Trefzer 等报道 17 例 III/IV 期的黑色素瘤患者用自体肿瘤细胞与同种异体的树突状细胞融合形成的疫苗治疗后,其中 1 例完全缓解,1 例部分缓解,6 例病情稳定。相似的,Avigan 等将 21 例肾细胞癌患者中用自体肿瘤细胞融合异体树突状细胞的疫苗治疗后,2 例获得部分临床反应,8 例病情稳定。Rosenblatt 等^[20]将 1×10^6 、 2×10^6 、 4×10^6 3 种浓度的自体树突状细胞与多发性骨髓瘤细胞的融合疫苗治疗 3 组患者($n=17$),其中 11 例病情稳定,3 组患者均可耐受且未产生剂量毒性,同时可诱导机体产生特异性的细胞及体液免疫反应,表明融合细胞疫苗在抗肿瘤免疫反应中是可

行的。Garcia - Marquez 等^[21]在前人的基础上将与骨髓瘤细胞的融合疫苗治疗自体干细胞移植后的多发性骨髓瘤患者,证明融合疫苗可以增强机体抗肿瘤的免疫力,提高临床治疗反应。近来研究者们为了提高临床反应,试图将佐剂(如白细胞介-12/2/18)与融合细胞疫苗联合作用,旨在提高疫苗的治疗潜力^[22]。Homma 等在 15 例恶性胶质瘤患者中,第 1 天皮内注射融合疫苗,第 3、7 天在相同位置皮下注射重组人白细胞介素-12,磁共振检查后发现其中有 4 例肿瘤体积缩小大于 50%,比单用融合疫苗相比可显著提高治疗效果,由于全身使用白细胞介素-12 会产生严重的毒性不良反应。因此,Tan 等认为仅在肿瘤局部使用,不但降低全身毒性不良反应,还可提高融合疫苗的治疗作用,有研究者提出融合肿瘤细胞的 RNA 比融合整个肿瘤细胞更能诱导细胞毒性 T 淋巴细胞反应,这就突破了传统的仅细胞融合的思路,从 TAA 的表达途径入手,为探索融合疫苗提供新途径。

六、融合细胞疫苗存在的问题及展望

随着树突状细胞体外扩增与细胞融合技术的发展,树突状细胞与肿瘤细胞融合疫苗已经逐渐从实验室走向临床,但要想在临床上广泛应用仍有许多困难需要解决:①短期内如何获得足够数目的树突状细胞;②如何克服低融合率及融合成功后存活时间短;③体外标准化分离培养融合细胞。为了解决这些问题,许多研究者考虑缩短培养时间,建立同种异体肿瘤细胞系等。Toll 样受体是激活树突状细胞、促进细胞产物释放的关键,Koido 等将结合有 Toll 样受体-2 和受体-4 活性的树突状细胞与肿瘤细胞融合可以诱导强大的细胞毒性 T 淋巴细胞。尽管研究者在融合树突状细胞与肿瘤细胞的方法及条件上不断创新,抗肿瘤治疗的有效性、安全性和持久性仍然是目前面临的主要挑战。要想融合疫苗在临床试验中获得良好的疗效,还有很长的路要走,相信在大家的共同努力下融合疫苗会很快进入临床,联合传统治疗给肿瘤患者带来福音。

参考文献

- Buonaguro L, Petrizzo A, Tornesello ML, *et al.* Translating tumor antigens into cancer vaccines [J]. Clin Vaccine Immunol, 2011, 18(1): 23-34
- Kandalafi LE, Chiang CL, Tanyi J, *et al.* A phase I vaccine trial using dendritic cells pulsed with autologous oxidized lysate for recurrent ovarian cancer [J]. J Transl Med, 2013, 11(1): 149-162
- Suso EMI, Dueland S, Rasmussen AM, *et al.* HTERT Mrna dendritic cell vaccination: complete response in a pancreatic cancer patient associated with reaponse against several Htert epitopes [J]. Cancer Immunol, Immun, 2011, 60(6): 809-918
- Shirwan H, Yolcu ES, Sharma RK, *et al.* The direct display of costimulatory proteins on tumor cells as a means of vaccination for cancer immunotherapy [J]. Methods Mol Biol, 2014, 1139: 269-85
- Yanofsky VR, Mitsui H, Felsen D, *et al.* Understanding dendritic cells and their role in cutaneous carcinoma and cancer immunotherapy [J]. Clin Dev Immunol, 2013: 6241233
- Brunekeert KL, Strohm C, Gooden MJ, *et al.* Targeted delivery of CD40L promotes restricted activation of antigen-presenting cells and induction of cancer cell death [J]. Mol Cancer, 2014, 13: 85-98
- Aranda F, Vacchelli E, Eggermont A, *et al.* Trial watch: peptide vaccines in cancer therapy [J]. Oncoimmunology, 2013, 2(12): e26621
- Zhang P, Yi SH, Li X, *et al.* Preparation of triple-negative breast cancer vaccine through electrofusion with day-3 dendritic cells [J]. PLoS One, 2014, 9(7): e102197
- 张银粉, 周航. 肿瘤的免疫逃逸机制研究进展[J]. 免疫学杂志, 2011, 27(4): 346-349
- Koido S, Homma S, Okamoto M, *et al.* Improved immunogenicity of fusions between ethanol-treated cancer cells and dendritic cells exposed to dual TLR stimulation [J]. Oncoimmunology, 2013, 2(8): e25375
- Chen X, Liu Z, Huang Y, *et al.* Superior anti-tumor protection and therapeutic efficacy of vaccination with dendritic cell/tumor cell fusion hybrids for murine Lewis lung carcinoma[J]. Autoimmunity, 2014, 47(1): 46-56
- Katz T, Avivi I, Benyamini N, *et al.* Dendritic cell cancer vaccines: from the bench to the bedside [J]. Rambam Maimonides Med J, 2014, 5(4): e0024
- Koido S, Homma S, Okamoto M, *et al.* Fusions between dendritic cells and whole tumor cells as anticancer vaccines[J]. Oncoimmunology, 2013, 2(5): e24437
- Koido S, Enomoto Y, Apostolopoulos V, *et al.* Tumor regression by CD4 T-cells primed with dendritic/tumor fusion cell vaccines[J]. Anticancer Res, 2014, 34(8): 3917-24
- Koido S, Hara E, Homma S, *et al.* Cancer vaccine by fusions of dendritic and cancer cells [J]. Clin Dev Immunol, 2009: 657369
- Koido S, Homma S, Okamoto M, *et al.* Strategies to improve the immunogenicity of anticancer vaccines based on dendritic cell/malignant cell fusions [J]. Oncoimmunology, 2013, 2(9): e25994
- Xu F, Ye YJ, Liu W, *et al.* Dendritic cell/tumor hybrids enhances therapeutic efficacy against colorectal cancer liver metastasis in SCID mice [J]. Scand J Gastroenterol, 2010, 45(6): 707-13
- Tan C, Reddy V, Dannull J, *et al.* Impact of anti-CD25 monoclonal antibody on dendritic cell-tumor fusion vaccine efficacy in a murine melanoma model[J]. J Transl Med, 2013, 11: 148
- Andoh Y, Makino N, Yamakawa M, *et al.* Dendritic cells fused with different pancreatic carcinoma cells induce different T-cell responses [J]. Onco Targets Ther, 2013, 6: 29-40
- Rosenblatt J, Vasir B, Uhl L, *et al.* Vaccination with dendritic cell/tumor fusion cells results in cellular and humoral antitumor immune responses in patients with multiple myeloma[J]. Blood, 2011, 117(2): 393-402
- Garcia - Marquez MA, Shimabukuro - Vornhagen A, Theurich S, *et al.* Vaccination with dendritic cell-tumor fusion cells in multiple myeloma patients: a promising strategy? [J]. Immunotherapy, 2013, 5(10): 1039-1042
- Koido S, Homma S, Okamoto M, *et al.* The combination of TLR2 and TLR4 agonists promotes the immunogenicity of dendritic cell/cancer cell fusions [J]. Oncoimmunology, 2013, 2(7): e24660

(收稿日期:2015-04-05)

(修回日期:2015-06-07)