

[文章编号] 1007-385X(2006)03-0227-03

## 吲哚胺 2,3 双加氧酶与肿瘤免疫耐受

### Indoleamine 2,3-dioxygenase and tumor immunotolerance

张文颖 综述; 楼国良 审阅 (第二军医大学附属长海医院特需诊疗科, 上海 200433)

[摘要] 肿瘤可诱导机体免疫系统对其产生免疫耐受, 而免疫调节酶吲哚胺 2,3 双加氧酶(Indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)可能参与了这种免疫耐受。IDO 是色氨酸代谢的限速酶, IFN 能影响 IDO 的表达。IDO 可能通过初始免疫应答和效应阶段两个环节来调节肿瘤免疫耐受。在初始免疫应答反应阶段, 可能活化的调节性 T 细胞表达的 CTLA4 诱导了 IDO 的表达, 肿瘤可能通过 IDO 来破坏机体的免疫系统从而对其产生免疫耐受。在效应阶段, 肿瘤细胞自身表达的 IDO 可对肿瘤产生局部免疫耐受, 其机制可能主要是通过降解局部组织微环境中的色氨酸来抑制效应 T 细胞的增殖, 这两个环节对肿瘤免疫耐受的调节是相辅相成的。IDO 抑制剂 1-MT 可使 T 细胞增殖抑制得到恢复, 有望成为一种有效的抗肿瘤药物。

[关键词] 吲哚胺 2,3 双加氧酶; 肿瘤; 免疫耐受

[中图分类号] R730 [文献标识码] A

吲哚胺 2,3 双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)是一种细胞内含亚铁血红素的酶, 是肝脏以外唯一可催化色氨酸分子中吲哚环氧化裂解, 从而沿犬尿酸途径分解代谢的限速酶。在人和动物的许多组织和细胞中可以表达, 特别是在抗原提呈细胞(APC)和胎盘组织<sup>[1,2]</sup>。健康人 IDO 的表达水平低, 但在感染、炎症和细胞因子的作用下可显著增加表达, 而且脂多糖(LPS)、细胞因子如 IFN- $\gamma$  等均可诱导其表达<sup>[3]</sup>。IDO 通过降解色氨酸使其浓度降低, 从而抑制病毒及真核细胞内病原体的增殖<sup>[4,5]</sup>。最近的研究表明, IDO 除了预防病原体外, 还参与调节 T 细胞反应<sup>[5]</sup>。IDO 的表达细胞主要分布在胸腺髓质和次要淋巴器官的 T 细胞区, 并散见于一些获免疫特赦(immune privilege site)组织中, 如胸腺、胃肠道黏膜、附睾、胎盘及眼前房等。Mellor 等<sup>[2,5]</sup>在体外研究表明, T 细胞对色氨酸耗竭特别敏感, 在色氨酸浓度较低时, T 细胞增殖会静止在 G<sub>1</sub> 期。Munn 等<sup>[6,7]</sup>的研究证实, IDO 在胎盘中的表达可保护胎儿免遭母体排斥。由于胎儿相对于母体的免疫系统是由许多新抗原构成, 所以有研究认为 IDO 可能也参与了肿瘤免疫耐受<sup>[7]</sup>。本文就 IDO 和肿瘤免疫耐受的关系作一综述。

#### 1 IDO 的一般生物学特性

IDO 是一种含铁的血红素单体蛋白, 广泛分布于人和其它哺乳类动物(大鼠、小鼠和兔)除肝脏以外的组织中, 在胎盘、肺和小肠组织中该酶的活性相对较高, 主要由胎盘组织和外周血单核-巨噬细胞分泌。在体内外, IDO 在超氧阴离子(O<sup>2-</sup>)作为辅助因子的作用下, 通过酶解吡咯环, 代谢吲哚胺的衍生物, 如色氨酸、色胺、5-甲基色氨酸、5-羟色胺等, 但动力学研究表明该酶的最适底物是 L-色氨酸<sup>[8]</sup>。它是色氨酸沿犬尿酸途径代谢的限速酶, 色氨酸最终代谢产物是喹啉酸。可通过高效液相色谱仪(HPLC)检测底物色氨酸(Trp)浓度或其代谢产物(犬尿酸和喹啉酸等)的浓度来

解其活性。

人类 IDO 的相对分子质量约 42 000, 由 403 个氨基酸残基组成。小鼠 IDO 的相对分子质量是 45 639, 由 407 个氨基酸残基组成, 其氨基酸序列与人 IDO 有 61% 的同源性。人 IDO 基因位于第 8 号染色体上, 长约 15 kb, 包括 10 个外显子和 9 个内含子, 为单拷贝基因。IDO 基因启动子长 1 245 bp, 含有 2 个干扰素刺激反应元件(ISRE), 这 2 个 ISRE 序列间隔为 1 kb, 它们在 IFN- $\gamma$  诱导 IDO 基因转录中必不可少。此外, 5'端还包括 X-box 和 Y-box。X-box 和 Y-box 是主要组织相容性复合物 II 类基因启动子中干扰素反应区域的必要组成部分。该区域还有与干扰素调节因子-1(IRF-1)结合序列一致或互补的 6 个序列, 表明 IFN 能影响 IDO 的表达, 基因表达的调节区位于 5'端。

#### 2 IDO 诱导肿瘤免疫耐受的作用

自 Taylor 等<sup>[9]</sup>提出 IFN- $\gamma$  对肿瘤生长的抑制作用是由其诱导色氨酸代谢所致的观点后, 与色氨酸代谢相关的 IDO 和肿瘤的关系开始倍受关注。Mellor 等<sup>[10]</sup>发现经转染后表达 IDO 的小鼠肿瘤细胞能使其与其共培养的 T 细胞表达活化标志物如 CD69, 但却抑制 T 细胞增殖。而近期在小鼠中的研究表明, 在肿瘤浸润部位的抗原提呈细胞如巨噬细胞、DC 等, 均可以通过分泌 IDO 来诱导 T 细胞对肿瘤抗原刺激的免疫耐受, 进而间接抑制由 T 细胞介导的抗肿瘤免疫效应<sup>[5,11]</sup>。Uyttenhove 等<sup>[11]</sup>通过对 P815 小鼠肥大细胞瘤细胞系的研究发现, P815 在正常宿主中可形成致死性肿瘤, 在经免疫接种的宿主中肿瘤却遭到排斥。但如果给 P815 转染 IDO 后, 可预防免疫接种的宿主对肿瘤细胞的排斥反应。而

[作者简介] 张文颖(1975-), 女, 内蒙古鄂尔多斯市人, 硕士生, 主要从事血液系统恶性疾病治疗方面的研究

[通讯作者] 楼国良, E-mail: GLlou@hotmail.com

这种免疫抑制是可逆的,如果给予 IDO 的抑制剂 1-甲基色氨酸(1-MT),则肿瘤的生长又可被抑制。近期研究<sup>[12-13]</sup>发现小鼠体内肿瘤引流淋巴结区的类浆细胞 DC( plasmacytoid dendritic cells, PDCs) 过表达 IDO, 并可使其局部产生免疫抑制和 T 细胞无反应。进一步用 CTLA4-Ig 或大剂量 CpG 刺激 PDCs 可诱导其高表达 IDO, 并同样可诱导免疫耐受<sup>[14-15]</sup>。

Uyttenhove 等<sup>[11]</sup>发现多种人肿瘤细胞表面表达 IDO, 并通过 IDO 抑制局部 T 细胞的活化, 从而保护肿瘤组织免遭机体免疫系统的攻击。Okamoto 等<sup>[16]</sup>的研究发现人卵巢癌细胞表面表达 IDO, 临床预后较差可能与肿瘤细胞表达 IDO 有关。但是肿瘤组织直接表达 IDO 可能不是其逃避机体免疫监视的唯一途径, 宿主细胞特别是 APC 表达 IDO 可能也参与了肿瘤的免疫耐受。许多实验研究<sup>[17-18]</sup>都表明, 肿瘤细胞不能直接提呈自身抗原给机体的免疫系统, 只能通过宿主 APC 提呈肿瘤抗原给初始型 T 细胞。而表达 IDO 的宿主 APC 可能来自肿瘤引流淋巴结区<sup>[19]</sup>。对人恶性黑色素瘤的研究发现, 在其肿瘤引流淋巴结区有大量表达 IDO 的 APC<sup>[20]</sup>。进一步对小鼠模型的研究也表明, 表达 IDO 的 DC 有诱导机体对肿瘤产生免疫耐受的潜能<sup>[21]</sup>。

### 3 IDO 诱导肿瘤免疫耐受的可能机制

IDO 是色氨酸代谢的限速酶, 而色氨酸是 T 细胞增殖所必需的氨基酸。Mellor 等<sup>[2]</sup>在体外研究发现 T 细胞对色氨酸耗竭特别敏感, 在色氨酸浓度较低时 T 细胞增殖会静止在 G<sub>1</sub> 期, 从而抑制了抗原特异性 T 细胞的增殖反应。IDO 可通过初始免疫应答和效应阶段两个环节来调节肿瘤免疫耐受。在初始免疫应答反应阶段, 肿瘤可能通过 IDO 来破坏机体的免疫系统从而对其产生免疫耐受。机体对肿瘤产生免疫反应的初始阶段发生在肿瘤引流淋巴结区( tumor-draining lymph nodes, TDLNs ), 因为 T 细胞首先在 TDLNs 接触肿瘤抗原<sup>[22]</sup>。在 TDLNs, B220<sup>+</sup>、CD19<sup>+</sup>、C11c<sup>+</sup> PDCs 可表达 IDO<sup>[12]</sup>。在正常淋巴结( lymph nodes, LNs ) 和脾脏也有 CD19<sup>+</sup> PDCs, 但其不表达 IDO。因此, 在 TDLNs, CD19<sup>+</sup> PDCs 持续表达 IDO 可能与肿瘤抗原的刺激和诱导有关, 这种机制还不是很清楚, 可能是通过活化的调节性 T 细胞( Tregs ) 表达的 CTLA4 来诱导其 IDO 的表达<sup>[14, 23]</sup>。在体外, 从 TDLNs 分离的 PDCs 可使反应性 T 细胞对特异性抗原不产生反应<sup>[13]</sup>。在体内, 注射 IDO<sup>+</sup> PDCs 使正常引流淋巴结区( LNs ) 的抗原特异性 T 细胞不产生反应<sup>[12-13]</sup>。而这种由 IDO 介导的免疫抑制会影响到邻近 T 细胞, 使其对 IDO-APC 提呈的抗原也产生免疫耐受<sup>[12]</sup>。另有研究表明, IDO + DC 可能诱导机体的全身免疫系统对肿瘤抗原产生免疫耐受, 在体内甚至少量的 IDO<sup>+</sup> PDCs 也可抑制大量的抗原特异性 T 细胞的增殖<sup>[20]</sup>。因此, IDO 可能给 TDLNs 提供了一个免疫耐受的微环境。为了验证在 TDLNs 中 IDO 的表达可能是影响肿瘤病人预后的重要因素的假说, Munn<sup>[12]</sup>等从黑色素瘤病人中的 TDLNs 中取活组织进行免疫组化分析发现, 在 TDLNs 中细胞表达 IDO 的患者临床预后较差。最近也有研究表明, 有 IDO

表达的黑素瘤病人临床预后差<sup>[24]</sup>。Uyttenhove<sup>[11]</sup>等研究发现, 在效应阶段, 肿瘤细胞自身表达 IDO 可对肿瘤产生局部免疫耐受, 其机制可能主要是通过降解局部组织微环境中的色氨酸来抑制效应 T 细胞的增殖。这种抑制作用是可逆的, 用 IDO 抑制剂 1-MT 可使 T 细胞增殖抑制得到恢复。

IDO 在初始免疫反应阶段和效应阶段诱导肿瘤免疫耐受的过程是相辅相成的。肿瘤细胞表达 IDO 可能是由于在机体免疫系统的驱动作用下, 使肿瘤细胞产生基因突变而产生的。Muller<sup>[25]</sup>等通过对小鼠自发的乳腺癌肿瘤模型的研究发现, 在这个模型中, 有些随机突变成良性上皮增生, 有些直接突变成恶性肿瘤。进一步的研究发现, *Bin1* 基因在调控 IDO 表达中起着重要作用, 敲除 *Bin1* 基因后, 突变的细胞可通过表达 IDO 来逃避 T 细胞的抗肿瘤免疫。在恶性肿瘤中, 可能因 *Bin1* 基因的缺失, 促使 IDO 的表达提高, 从而逃避机体的免疫监视。

最近的研究<sup>[26]</sup>表明, 调节性 T 细胞( Tregs ) 可能通过提高自身分泌 IDO 的活性直接参与了 DC 诱导的肿瘤免疫耐受。Tregs 细胞表面持续表达 CTLA4, 而 CTLA4 能与 DC 细胞表面的 B7 结合, 并且这种亲和力明显高于 CD28 与 B7 的结合。DC 提呈抗原至 Tregs 细胞时, 如果它是通过 CTLA4( 而不是 CD28 ) 与 B7 结合, Tregs 表现为无应答或抑制免疫功能<sup>[27]</sup>。大量研究发现, 可溶性 CTLA4 可诱导 DC 表达 IDO, 可溶性 CTLA4 和 CTLA4<sup>+</sup> Tregs 细胞均可上调 B220<sup>+</sup> DC 表达 IDO, 通过耗竭色氨酸来抑制 CD8<sup>+</sup> T 细胞增殖。如果给予 IDO 抑制剂或增加色氨酸含量, T 细胞增殖抑制作用可恢复<sup>[14, 28]</sup>。

### 4 展望

目前对 IDO 诱导肿瘤免疫耐受的研究正步入一个新的阶段。通过对 IDO 诱导肿瘤免疫耐受机制的研究, 可为临床预防和治疗肿瘤提供新的思路, 抑制 IDO 的药物有望能够成为新的免疫调节剂。Muller 等<sup>[25]</sup>通过对 IDO 的抑制剂 1-MT 联合化疗药物环磷酰胺治疗乳腺癌小鼠的研究发现, 1-MT 能够提高机体对肿瘤的免疫反应。IDO 抑制剂可能在化疗的微环境中能更有效的预防肿瘤免疫耐受<sup>[29]</sup>。因此, IDO 抑制剂可能成为一种有效的免疫治疗方法之一, 与化疗药物联合应用起到协同抗肿瘤作用<sup>[30]</sup>。

### 【参考文献】

- [1] Yoshida R, Nukiwa T, Watanabe Y, *et al.* Regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase activity in the small intestine and the epididymis of mice[ J ]. Arch Biochem Biophys, 1980, 203( 1 ): 343-351.
- [2] Mellor AL, Munn DH. Tryptophan catabolism and T-cell tolerance: immunosuppression by starvation[ J ]? Immunol Today, 1999, 20( 10 ): 469-473.
- [3] Bianchi M, Bertini R, Ghezzi P. Induction of indoleamine dioxygenase by interferon in mice: a study with different recombinant interferons and various cytokines[ J ]. Biochem Biophys Res Com-

- mun, 1988, 152(1): 237-242.
- [ 4 ] Bodaghi B, Goureau O, Zipeto D, *et al.* Role of IFN- $\gamma$  induced indoleamine 2,3 dioxigenase and inducible nitric oxide synthase in the replication of human cytomegalovirus in retinal pigmen epithelial cells[ J ]. *J Immunol*, 1999, 162(2): 957-964.
- [ 5 ] Munn DH, Shafizadeh E, Attwood JT, *et al.* Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism[ J ]. *J Exp Med*, 1999, 189(9): 1363-1372.
- [ 6 ] Munn DH, Zhou M, Attwood JT, *et al.* Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism[ J ]. *Science*, 1998, 281(5380): 1191-1193.
- [ 7 ] Mellor AL, Munn DH. Immunology at the maternal-fetal interface: lessons for T cell tolerance and suppression[ J ]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18: 367-391.
- [ 8 ] Shimizu T, Nomiyama S, Hirata F, *et al.* Indoleamine 2,3-dioxygenase. Purification and some properties[ J ]. *J Biol Chem*, 1978, 253(13): 4700-4706.
- [ 9 ] Taylor MW, Feng GS. Relationship between interferon-gamma, indoleamine 2,3-dioxygenase, and tryptophan catabolism[ J ]. *FASEB J*, 1991, 5(11): 2516-2522.
- [ 10 ] Mellor AL, Keskin DB, Johnson T, *et al.* Cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase inhibit T cell responses[ J ]. *J Immunol*, 2002, 168(8): 3771-3776.
- [ 11 ] Uyttenhove C, Pilote L, Theate I, *et al.* Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase[ J ]. *Nat Med*, 2003, 9(10): 1269-1274.
- [ 12 ] Munn DH, Sharma MD, Hou D, *et al.* Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase by plasmacytoid dendritic cells in tumor-draining lymph nodes[ J ]. *J Clin Invest*, 2004, 114(2): 280-290.
- [ 13 ] Munn DH, Sharma MD, Baban B, *et al.* GCN2 kinase in T cells mediates proliferative arrest and anergy induction in response to indoleamine 2,3-dioxygenase[ J ]. *Immunity*, 2005, 22(5): 633-642.
- [ 14 ] Mellor AL, Chandler P, Baban B, *et al.* Specific subsets of murine dendritic cells acquire potent T cell regulatory functions following CTLA4-mediated induction of indoleamine 2,3 dioxigenase[ J ]. *Int Immunol*, 2004, 16(10): 1391-1401.
- [ 15 ] Mellor AL, Baban B, Chandler PR, *et al.* Cutting edge: CpG oligonucleotides induce splenic CD19<sup>+</sup> dendritic cells to acquire potent indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent T cell regulatory functions via IFN Type 1 signaling[ J ]. *J Immunol*, 2005, 175(9): 5601-5605.
- [ 16 ] Okamoto A, Nikaido T, Ochiai K, *et al.* Indoleamine 2,3-dioxygenase serves as a marker of poor prognosis in gene expression profiles of serous ovarian cancer cells[ J ]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(16): 6030-6039.
- [ 17 ] Sotomayor EM, Borrello I, Rattis FM, *et al.* Cross-presentation of tumor antigens by bone marrow-derived antigen-presenting cells is the dominant mechanism in the induction of T-cell tolerance during B-cell lymphoma progression[ J ]. *Blood*, 2001, 98(4): 1070-1077.
- [ 18 ] Heath WR, Carbone FR. Cross-presentation, dendritic cells, tolerance and immunity[ J ]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19: 47-64.
- [ 19 ] MartIn-Fontecha A, Sebastiani S, Hopken UE, *et al.* Regulation of dendritic cell migration to the draining lymph node: impact on T lymphocyte traffic and priming[ J ]. *J Exp Med*, 2003, 198(4): 615-1621.
- [ 20 ] Lee JR, Dalton RR, Messina JL, *et al.* Pattern of recruitment of immunoregulatory antigen-presenting cells in malignant melanoma [ J ]. *Lab Invest*, 2003, 83(10): 1457-1466.
- [ 21 ] Mellor AL, Baban B, Chandler P, *et al.* Cutting edge: induced indoleamine 2,3 dioxigenase expression in dendritic cell subsets suppresses T cell clonal expansion[ J ]. *J Immunol*, 2003, 171(4): 1652-1655.
- [ 22 ] Spiotto MT, Yu P, Rowley DA, *et al.* Increasing tumor antigen expression overcomes "ignorance" to solid tumors via crosspresentation by bone marrow-derived stromal cells[ J ]. *Immunity*, 2002, 17(6): 737-747.
- [ 23 ] Fallarino F, Grohmann U, Hwang KW, *et al.* Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells[ J ]. *Nat Immunol*, 2003, 4(12): 1206-1212.
- [ 24 ] Lee JH, Torisu-Itakara H, Cochran AJ, *et al.* Quantitative analysis of melanoma-induced cytokine-mediated immunosuppression in melanoma sentinel nodes[ J ]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(1): 107-112.
- [ 25 ] Muller AJ, DuHadaway JB, Donover PS, *et al.* Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy [ J ]. *Nat Med*, 2005, 11(3): 312-319.
- [ 26 ] Grohmann U, Orabona C, Fallarino F, *et al.* CTLA4-Ig regulates tryptophan catabolism *in vivo*[ J ]. *Nat Immunol*, 2002, (11): 1097-10101.
- [ 27 ] Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, *et al.* Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 [ J ]. *J Exp Med*, 2000, 192(2): 303-310.
- [ 28 ] Boasso A, Herbeval JP, Hardy AW, *et al.* Regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophanyl-tRNA-synthetase by CTLA4-Fc in human CD4<sup>+</sup> T cells[ J ]. *Blood*, 2005, 105(4): 1574-1581.
- [ 29 ] Munn DH. Indoleamine 2,3-dioxygenase, tumor-induced tolerance and counter-regulation[ J ]. *Curr Opin Immunol*, 2006, 18(2): 220-225.
- [ 30 ] Lake RA, Robinson BW. Immunotherapy and chemotherapy-a practical partnership[ J ]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(5): 397-405.