

[文章编号] 1007-385X(2007)01-0007-07

淋巴细胞减少状态下的肿瘤免疫格局改变及其意义

Changed pattern of tumor immunity under lymphopenia setting and its significance in cancer biotherapy

储以微,温锦娣,熊思东(复旦大学免疫学系 复旦大学免疫生物学研究所 分子医学教育部重点实验室,上海 200032)



[作者简介] 储以微,免疫学专业博士,副教授,复旦大学上海医学院免疫学系副主任。中国免疫学会理事,上海免疫学会理事。曾在美国华盛顿大学医学院进修,在美国俄勒冈州 EACRI 癌症研究所任访问教授。主要从事肿瘤免疫学研究,在肿瘤抗原弱勢表位优势化、化放疗导致的肿瘤免疫重建和肿瘤免疫生物治疗等方面开展系列研究,参与或承担国家“863”、“973”和国家自然科学基金等多个科研项目。主编教材《免疫学与病原生物学》,参编专著《Tumor Immunology and Cancer Vaccines》(Kluwer Academic Publishers. New York, 2005)。近年来发表论文 88 篇,其中 SCI 收录 27 篇。E-mail: yiwei_chu@126.com。

[摘要] 放化疗导致的淋巴细胞减少,改变了免疫细胞亚群的格局,启动了免疫细胞的内源性增殖,重建了一个新的免疫微环境。其机制主要与抑制肿瘤免疫的调节性 T 细胞比例与功能显著下调;内源性细胞因子 IL-7、IL-15 等供应增多,淋巴细胞高效扩增;抗原提呈细胞功能增强和以非对称性为特点的淋巴细胞自稳性增生的改变等相关。经历了淋巴细胞减少状态下肿瘤免疫格局的改变后,机体消除了抑制肿瘤免疫的重要因素,打破了肿瘤免疫耐受。肿瘤放化疗后选择合适时间点与生物治疗联合治疗,可以诱导出优于单一生物治疗的抗肿瘤效应,部分修正了以往认为放化疗导致的淋巴细胞减少不利于抗肿瘤免疫生物治疗的观念,为临床攻克肿瘤开辟新的治疗途径。

淋巴细胞减少(lymphopenia)是指机体外周淋巴细胞绝对总数的减少,以成人小于 $1\ 000/\mu\text{l}$ 、儿童小于 $3\ 000/\mu\text{l}$ 为特征。淋巴细胞减少常见于肿瘤患者经历全身放射线照射(total body irradiation, TBI)或药物化疗(chemotherapy)后淋巴细胞数量短暂和急剧地下降。随后,机体为维持免疫内环境稳定,启动内源性淋巴细胞的自稳性增殖,最终使淋巴细胞数量恢复到正常水平,淋巴细胞数量从减少到恢复的整个时期被定义为淋巴细胞减少状态(lymphopenic setting)。传统观点^[1-4]认为:放化疗导致淋巴细胞数量减少,免疫功能受损,不利于抗肿瘤免疫应答的诱导。然而,近年来本实验室和其他实验室的研究^[5-7]发现:放化疗导致的淋巴细胞减少状态,不仅改变了淋巴细胞的数量,各淋巴细胞亚群的比例及其功能发生选择性的显著变化;而且对细胞因子诱导的免疫微环境也产生多种影响。进一步研究表明放化疗导致的淋巴细胞减少状态可打破机体对肿瘤的免疫耐受,增强抗肿瘤免疫效应的发挥。基于这些发现,有望利用此种效应,将放化疗与肿瘤生物治疗(如肿瘤特异性淋巴细胞过继转输、肿瘤疫苗等)联合应用,为攻克肿瘤开辟新的治疗途径。

亚群(B、 $\text{CD4}^+\text{T}$ 、 $\text{CD8}^+\text{T}$ 、NK 等)的细胞数量快速下降,在放化疗后第 4~7 天,大量淋巴细胞发生凋亡,数量达到最低谷。可是,不同细胞亚群的细胞数量下降比例不一致,其中以 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}^+$ 的调节性 T 细胞比例下降尤为显著^[8]。淋巴细胞的减少启动了免疫自稳机制,在 IL-2、IL-7、IL-15 和 IL-21 等内源性细胞因子的作用下,体内残余的淋巴细胞发生活跃增生。在此过程中,不同细胞亚群发生自稳性增生的程度不一致,如 $\text{CD4}^+\text{CD25}^-$ T 细胞亚群自稳性增生显著强于 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ T 细胞亚群;细胞表型亦发生改变,如 T 细胞由初始 T 细胞($\text{CD44}^{\text{low}}\text{CD62L}^{\text{high}}$)转变为效应或记忆 T 细胞($\text{CD44}^{\text{high}}\text{CD62L}^{\text{low}}$)^[9]。如果在淋巴细胞数量最低时期给予特异性肿瘤疫苗,则可使体内淋巴细胞选择性地对肿瘤抗原产生高效增殖^[6-10],肿瘤特异性免疫效应细胞比例增高,诱导增强的免疫应答和杀伤效应,最终导致肿瘤消退和生存时间显著延长。同样,如果在淋巴细胞数量最低时期过继转输肿瘤特异性 $\text{CD8}^+\text{T}$ 细胞,则它们与体内残余细胞竞争内源性细胞因子的能力明显增强,特异性 T 细胞大量

1 淋巴细胞减少状态下肿瘤免疫格局的改变

放化疗导致的淋巴细胞减少初期,各淋巴细胞

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No. 30571713, No. 60537030);
上海市科委国际合作重点项目(No. 045407038);
复旦大学学政基金资助项目

扩增,最终杀死肿瘤^[11-12]。

2 淋巴细胞减少状态下肿瘤免疫格局改变的可能机制

放化疗导致的淋巴细胞减少状态下,各淋巴细胞亚群比例、功能和内源性细胞因子的利用等均发生变化,重建了一个原来没有的肿瘤免疫微环境。在此微环境中,抑制肿瘤免疫的调节性 T 细胞的比例和功能下调,供给肿瘤抗原特异性淋巴细胞增殖的细胞因子相应增多,抗原提呈细胞能力增强,肿瘤特异性淋巴细胞优先自稳性增殖,免疫应答朝有利于打破肿瘤免疫耐受、促进抗肿瘤免疫的方向发展。

2.1 以调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)为核心的细胞网络改变

Treg 细胞是表达细胞内转录因子 Foxp3(Forkhead box P3)、CD25(IL-2R α)、CTLA-4 和 GITR 等的 CD4⁺ T 细胞亚群。其中 Foxp3 是 Treg 细胞发育和行使功能的关键分子^[13-14]。Treg 在免疫调节、维持自身耐受中发挥关键作用。但在肿瘤免疫中却通过与效应 T 细胞的接触抑制或分泌细胞因子抑制抗肿瘤免疫应答。

在放化疗导致的淋巴细胞减少状态下,Treg 细胞数量与功能发生明显的改变。动物实验中,小鼠体内注射化疗药物环磷酰胺后,与其他淋巴细胞亚群比较,Treg 细胞绝对数量及其占 CD4⁺ T 细胞百分率显著减少、凋亡细胞数明显增加、体外抑制 CD4⁺ CD25⁻ T 细胞增殖能力下降,GITR 与 Foxp3 的表达量下调^[15-17]。同时,在经历放化疗后淋巴细胞数量恢复过程中,CD4⁺ CD25⁻ T 细胞在注射化疗药物后第 5 天即恢复化疗前水平;而 Treg 细胞数量则到第 28 天才恢复治疗前水平^[18];用放射线处理小鼠后的 Treg 细胞也出现类似改变^[8]。提示 Treg 细胞亚群对放化疗较其他淋巴细胞亚群敏感,在淋巴细胞减少状态下,Treg 细胞无论在数量还是占淋巴细胞亚群的比例始终处于低谷,抑制免疫应答的能力下降。在临床试验方面,Beyer 等^[19]在 73 名慢性 B 淋巴细胞性白血病(CLL)和 42 名健康个体的血液中检测 Treg 细胞数量发现:新近接受氟达拉滨化疗的 CLL 患者的 Treg 细胞数量较 18 个月前接受化疗的患者或从未化疗的患者显著降低。体外将 CLL 患者外周血单核细胞与氟达拉滨共培养后发现超过 70% 的 Treg 细胞表达凋亡标志 Annexin V;而未与氟达拉滨共培养的 Treg 细胞则有超过 70% 的细胞存活。体外混合淋巴细胞反应功能显示, CLL 患者

中 Treg 细胞抑制 CD4⁺ CD25⁻ T 细胞产生 IFN- γ 的能力明显比未经过化疗的 CLL 患者和健康对照低。这些研究均说明放化疗导致的淋巴细胞减少状态下更多地杀伤 Treg 细胞,导致 Treg 细胞比例下降和功能下调,从而使抑制免疫应答的因素减少,有利于诱导抗肿瘤免疫效应。

此外, MSC、NK 细胞的抑制效应削弱也有利于抗肿瘤免疫应答的诱导。CD11b⁺ Gr1⁺ 髓性抑制细胞(MSCs)是一群可以被肿瘤募集的单核细胞和粒细胞,能抑制肿瘤免疫;自然杀伤细胞(NK)与 NKT 细胞对肿瘤抗原特异 T 细胞行使功能也有一定的抑制效应。因此,放化疗导致的淋巴细胞减少状态下对这些细胞与其抑制效应的去除,有助于增强肿瘤抗原特异 T 细胞的抗肿瘤效应^[20]。另外,化疗后肿瘤细胞 Fas 与 TRAIL 表达的上调,及放疗后黏附分子如血管内皮细胞 ICAM-1 的上调^[21]等等,也是促进抗肿瘤免疫的重要因素。

2.2 以细胞因子为基础的肿瘤免疫微环境改变

细胞因子如 IL-2、IL-7、IL-15 等在淋巴细胞自稳性增生中发挥重要作用。其中, IL-2 促进 T 细胞增殖^[22-23]; IL-7 对于初始与记忆性 T 细胞的自稳性增生起关键作用^[24-30];而 IL-15 则对记忆性 CD8⁺ T 细胞的自稳性增生与维持至关重要^[28,30-31]。

放化疗导致淋巴细胞减少状态下,体内淋巴细胞数量显著减少,残余淋巴细胞获得内源性细胞因子的资源相应增多,启动自稳性机制,高效扩增。然而,若体外转输淋巴细胞至放化疗导致的淋巴细胞减少小鼠体内,则这群转输细胞与体内残余的淋巴细胞竞争细胞因子资源。研究发现,过继转输肿瘤抗原特异性淋巴细胞至放化疗导致的淋巴细胞减少状态下小鼠,转输细胞与体内淋巴细胞竞争细胞因子的能力强于未进行放化疗的小鼠。Gattinoni 等^[30,32]应用 TBI 联合过继转输肿瘤特异性细胞治疗(adoptive cell transfer therapy, ACT)荷有黑色素瘤的小鼠,其抗肿瘤效果显著优于仅用 ACT 治疗,并可以成功使肿瘤消退;为排除该疗效是由于 Treg 减少作用所致,在 MHC class II^{-/-}或 CD4^{-/-}荷黑色素瘤小鼠中应用相同疗法获得了类似的结果。进一步分别使用抗 NK1.1 抗体和在 Rag-2^{-/-} γ_c ^{-/-} 小鼠中用 ACT,以去除包括 NK、B、T 细胞在内消耗 γ_c 细胞因子的内源性细胞。结果表明,仅用 ACT 而未用 TBI 治疗的结果与对照组 TBI 和 ACT 联合应用相比,抗肿瘤反应没有显著差异,表明体内细胞与转输淋巴细胞竞争内源性细胞因子,体内淋巴细胞越少,体外

转输特异性 T 细胞在体内获得的细胞因子资源越多, 特异性增殖效应越强, 抗肿瘤效果越佳^[30]。

因此, 在淋巴细胞减少状态下, Treg 细胞和其他非肿瘤抗原特异细胞数目的消减, 除了有助于去除 Treg 细胞对肿瘤特异细胞的抑制效应外, 也增加了自身或肿瘤抗原特异 T 细胞增生所需的细胞因子供应, 为这些细胞在体内的增殖和发挥抗肿瘤效应提供保障。

2.3 以增强抗原提呈细胞活性与功能的改变

放化疗除了导致淋巴细胞减少, 主要是触发肿瘤细胞死亡、释放抗原, 从而促进肿瘤抗原被提呈细胞(APC)摄取, 进而活化肿瘤抗原特异的 T 细胞^[33]。此外, 放化疗还能活化宿主细胞, 释放促炎症介质如 TNF- α 、IL-1、IL-4^[33], 上调树突状细胞(DC)和脾脏 B 细胞表面共刺激分子 CD80 的表达^[34]。研究发现: TBI 后 6 h 脾脏 DC 的 I-A^b 与 CD86 表达上调、体外分泌 IL-2 的量显著上升^[35]。而且, 由于内源性 T 细胞数目下降, 过继转输肿瘤抗原特异 T 细胞被 APC 活化的概率增大^[36]。更为重要的是, 虽然宿主的 APC 于 TBI 后约 5 d 内绝对数显著下降, 但对于其活化供者 T 细胞的能力没有影响^[35]。因此, 放化疗后 APC 摄取、提呈肿瘤抗原, 活化肿瘤特异 T 细胞的总体功能增强, 有利于诱导抗肿瘤免疫。

2.4 以非对称性为特点的淋巴细胞自稳性增生的改变

自稳性增生(hemostatic proliferation)是淋巴细胞减少状态下, 体内残余的少量淋巴细胞为了维持机体免疫内环境的稳定, 进行活化与增殖的过程。在无外来细胞过继转输情况下, 这种自稳性增殖是一个生理性的 T 细胞应答过程, 体内 T 细胞通过其 TCR 与弱亲和力的自身抗原肽-MHC 复合体相互识别, 在细胞因子 IL-7、IL-15、IL-21 等^[37]的驱动下进行自稳性增殖。然而, 这种自稳性增生是非对称的, 不同细胞亚群发生自稳性增生的程度不一致, CD3⁺ T 细胞自稳性增生优于 CD19⁺ B 细胞, CD4⁺ CD25⁻ T 细胞亚群自稳性增生显著优于 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞亚群。同时, 它不仅使 T 细胞的数量扩增, 而且细胞表型发生改变, 由初始 T 细胞(CD44^{low} CD62L^{high})转变为效应或记忆 T 细胞(CD44^{high} CD62L^{low}), 从而有利于诱导免疫应答^[9]。在荷瘤状态下, 放化疗导致的淋巴细胞减少同样可以诱导自稳性增生, 并优先对体内肿瘤抗原刺激产生特异性免疫应答, 促进抗肿瘤免疫。

3 淋巴细胞减少状态下肿瘤免疫格局改变的意义

放化疗由于其对肿瘤的直接杀伤效应, 成为当今治疗肿瘤的主流方法, 而其所导致的淋巴细胞减少状态长期以来被认为不利于机体的抗肿瘤免疫。然而综合上述各点, 放化疗导致的淋巴细胞减少状态导致的肿瘤免疫格局改变实际上是进行了免疫系统的免疫重建(immune reconstitution), 重建了一个原来没有的肿瘤免疫微环境和免疫细胞格局, 并且该新格局有利于诱生增强的抗肿瘤免疫应答。

3.1 以消除抑制肿瘤免疫重要因素为基础的免疫重建

Treg 细胞具有免疫调节、维持自身耐受^[38-39]的功能, 在防治自身免疫病中起关键作用^[40-42]。然而 Treg 细胞抑制抗肿瘤免疫反应^[18, 43]。随着肿瘤的进展, Treg 细胞的比例在脾脏与肿瘤引流淋巴结中上升^[18]。研究表明, 在肺癌患者肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)中 Treg 细胞数量明显升高^[44]。在接受肿瘤疫苗和 ACT 处理的患者中, Treg 细胞的存在对 CD4⁺ CD25⁻ T 细胞有抑制作用, 可削弱后者的抗肿瘤免疫应答^[43, 45]。在卵巢癌与非小细胞肺癌病人中, 肿瘤 Treg 细胞过高表达可抑制肿瘤浸润 T 细胞发挥功能^[46]。而利用抗 CD25 单克隆抗体和环磷酰胺抑制或消除 Treg 细胞, 则可大大促进体内的抗肿瘤免疫^[47-48], 逆转机体对肿瘤细胞的免疫耐受。

淋巴细胞减少状态下除了下调 Treg 细胞外, 还通过其他机制增强抗肿瘤免疫。用 TBI 合并 ACT 处理 Treg 基因缺失的荷瘤小鼠, 仍可取得比未经过 TBI 的对照组更显著的抗肿瘤效果^[30]。应用抗体和基因技术去除消耗 γ_c 细胞因子的内源性细胞后进行 ACT, 获得与 TBI 联合 ACT 类似的抗肿瘤效应, 提示未放疗的宿主中内源性免疫细胞与过继转输的 T 细胞相互竞争细胞扩增所需的细胞因子^[30], 而放化疗导致的淋巴细胞减少状态下消除了这些消耗细胞因子的内源细胞, 就有更充足的细胞因子供给针对自身或肿瘤抗原的特异性 T 细胞自稳性增生所用, 增强抗肿瘤免疫。

3.2 以打破肿瘤免疫耐受为目标的免疫重建

放化疗导致的淋巴细胞减少状态下对免疫微环境的影响, 不仅通过消除抑制性因素、增强 APC 功能等促进体内肿瘤特异淋巴细胞的抗肿瘤功能, 而且诱导这些细胞在细胞因子资源充足的环境下发生高效的自稳性增生^[30]。在自身/肿瘤抗原刺激下, 增殖的是体内残余的初始、效应性和记忆淋巴细胞,

或未被删除的较低亲和力的自身反应性淋巴细胞,这些 T 细胞克隆可最大程度地进行自稳性扩增,占据免疫器官的“空间”^[49]。这种高效增殖多数是由内源性抗原,即自身抗原-MHC 复合物和细胞因子所驱动的^[50-51]。因此,体内淋巴细胞数量不仅可恢复到正常水平,而且体内 T 细胞亚群的构成也发生改变。在此过程中,初始 T 细胞和记忆 T 细胞中特异识别自身抗原的 T 细胞自稳性扩增^[37],虽可能导致自身免疫性疾病^[52-53],但由于肿瘤抗原本质为改变的自身抗原^[54],因此通过表位扩展可打破机体对它的耐受,扩增出肿瘤抗原特异的 T 细胞,重新构建一个朝着抗肿瘤免疫发展的免疫系统,诱导出有效的抗肿瘤免疫^[55-58]。

3.3 以选择淋巴细胞减少状态下最适时机为治疗导向的免疫重建

研究表明,肺癌患者化疗后外周淋巴细胞数量迅速减少至最低水平,随后启动的淋巴细胞自稳性增殖过程中,CD3⁺、CD8⁺ T 细胞亚群比例升高,记忆样表型 T 细胞(CD44^{high}、CD62L^{low})比例增加,且增生的淋巴细胞杀伤能力没有下降,在个别患者中还有所增强^[57]。同样,Treg 细胞在后续的自稳性增殖中可恢复到原有水平^[59]并具备抑制能力^[60],此时给与肿瘤疫苗,则体内诱生效应性 T 细胞的抗肿瘤能力,比淋巴细胞减少时期立即给与肿瘤疫苗的抗肿瘤应答效应显著下降^[61],所以其增殖对抗肿瘤免疫的建立是不利的^[62]。因此,掌握好各个细胞亚群在淋巴细胞减少状态下免疫重建过程的时间顺序,对于后续应用生物治疗,平衡肿瘤和自身免疫,把免疫重建导向抗肿瘤的方向,是非常关键的。

4 淋巴细胞减少状态下肿瘤免疫格局改变的利用

综上所述,放化疗导致的淋巴细胞减少状态,无论在肿瘤免疫细胞格局的改变还是细胞因子营造的免疫微环境的优化,无疑是联合应用肿瘤免疫生物学治疗(肿瘤疫苗、过继转移)的最佳契机。

4.1 放化疗与肿瘤生物治疗的联合应用之一:过继细胞转移治疗

放化疗联合肿瘤特异性细胞过继转移治疗(ACT)是由美国国立癌症中心(NCI)的 Rosenberg 等^[64]倡导,是在体外刺激和大量扩增患者自身肿瘤反应性 T 细胞群后,再回输给经历放化疗后病人的疗法。这些从肿瘤病灶分离出来的肿瘤浸润 T 淋巴细胞,以高剂量 IL-2 体外扩增,自身肿瘤细胞系体外刺激,以 ELISA 筛选分泌高水平 IFN- γ 的 T 细

胞,获取具有高亲和力的肿瘤抗原特异 T 细胞,接着以抗 CD3 抗体和 IL-2 体外大量克隆扩增。病人经历全身性的免疫抑制治疗(放疗、化疗)后过继转移这群肿瘤抗原特异 T 细胞^[20]。

实验证明,在淋巴细胞减少状态下应用 ACT 可以提高其疗效,机制是淋巴细胞减少可驱动过继转移的 T 细胞扩增^[32]。前期临床应用 ACT 发现:在转移高亲和力自体抗肿瘤淋巴细胞群前接受骨髓非清除性化疗的患者比起之前没有化疗就接受 ACT 治疗的患者,转移的 T 细胞群可使肿瘤显著消退^[63]。在临床试验中,35 例次顽固性恶性黑色素瘤病人经过 2 d 的环磷酰胺(60 mg/kg)和 5 d 的氟达拉滨(25 mg/m²)治疗导致淋巴细胞减少状态,然后所有病人接受自体肿瘤反应性 TIL 转移合并高剂量 IL-2 治疗,结果 18 名患者(51%)出现 WHO 传统定义的客观临床疗效,其中 3 名患者(17%)达到完全缓解。说明在淋巴细胞减少状态下转移高亲和力肿瘤特异性淋巴细胞可以诱生显著的肿瘤消退效应^[11-12]。

4.2 放化疗与肿瘤生物治疗的联合应用之二:肿瘤疫苗的应用

由于肿瘤免疫耐受等原因,肿瘤疫苗产生的主动免疫在肿瘤生物治疗中的作用始终不显著。临床试验中虽然诱导出肿瘤特异的 T 细胞,肿瘤消退的比例仍然很低。Rosenberg 等^[64]回顾分析 440 例应用肿瘤疫苗治疗恶性肿瘤的临床试验,发现总体客观临床有效率只有 2.6%。因此,有必要应用其他方法来打破免疫耐受,以促进肿瘤疫苗免疫治疗的效果。

淋巴细胞减少状态下可协助打破肿瘤免疫耐受,为肿瘤疫苗发挥其效应创造有利的环境。本实验室和其他实验室的研究发现,用分泌 GM-CSF 的肿瘤细胞^[65]或肿瘤抗原负载的 DC 细胞(TP-DC)疫苗^[66]免疫事先接受过骨髓清除性治疗的荷瘤小鼠,能诱导出特异、持久的肿瘤免疫反应;另外,首先以化疗药物处理荷瘤小鼠后,再注射基因疫苗^[67]或 GM-CSF 分泌的肿瘤细胞疫苗^[6,10],肿瘤生长显著减小,甚至可成功地使肿瘤消退,实验动物长期存活,并能抵抗致死量肿瘤细胞的再次攻击。其机制是:化疗药物在体内可导致 CD122⁺CD8⁺记忆 T 细胞与 Treg 细胞减少,从而通过竞争细胞因子效应和消除抑制肿瘤免疫的因素,间接提高了被抗原活化的效应 T 细胞的作用和生存率。但若在使用肿瘤疫苗免疫后才进行化疗,抗肿瘤效应就会消失^[6,10]。

因此, 在应用肿瘤疫苗前先用放化疗建立淋巴细胞减少状态可获得比单纯使用肿瘤疫苗更为有效的作用, 并具有良好的临床应用前景。

5 展望: 面临的挑战以及需要解决的问题

放化疗导致的淋巴细胞减少状态对肿瘤免疫格局的改变已经显示出其有利于肿瘤免疫生物治疗的一面, 并且部分修正了以往认为放化疗后不宜开展肿瘤免疫生物治疗的观念, 其增强抗肿瘤免疫效应的作用机制逐步清晰和明了。但是, 还需要更多高质量的临床实验来进一步验证放化疗联合肿瘤免疫治疗的效用^[68], 设计更完善、安全、重复性高的治疗方案: 例如检测淋巴细胞减少后病人体内各淋巴细胞亚群和免疫微环境随时间的变化^[69]以确定应用肿瘤生物治疗的最佳时间点和策略; 制定精确测量肿瘤特异淋巴细胞在体内的扩增和归巢的方法; 验证诱导的抗肿瘤免疫对肿瘤抗原的特异性(病人体内抗原的多元性使该项工作难度增大), 使这些肿瘤特异的淋巴细胞持续存在于肿瘤引流淋巴结和肿瘤局部^[70]等。尽管距离大规模的临床应用仍有相当多的问题需要解决和克服, 但放化疗诱导的淋巴细胞减少状态对肿瘤免疫格局的改变有利于抗肿瘤免疫的提升, 为放化疗联合肿瘤免疫生物治疗开辟了广阔的应用前景。

[关键词] 淋巴细胞减少状态; 肿瘤免疫格局; 免疫重建; 肿瘤免疫生物治疗; 肿瘤疫苗; 细胞过继转移治疗

[中图分类号] R730 **[文献标志码]** A

[参考文献]

- [1] Verastegui EL, Morales RB, Barrera - Franco JL, *et al.* Long-term immune dysfunction after radiotherapy to the head and neck area [J]. *Int Immunopharmacol*, 2003, 3(8): 1093-1104.
- [2] Kempf RA, Mitchel MS. Effects of chemotherapeutic agents on the immune response I [J]. *Cancer Invest*, 1984, 2(6): 459-466.
- [3] Winkelstein A. Immune suppression resulting from various cytotoxic agents [M]// Mitchell M, Fahey J. Immune suppression and modulation clinics in immunology and allergy. 4th ed. London: Saunders, 1984: 295-315.
- [4] Spreafico F, Vecchi A. The immunomodulatory activity of certain cancer chemotherapeutic agents [M]// Mihich E and Sakura Y. Biological responses in cancer immunomodulation by anticancer drugs. 3rd ed. New York: Plenum, 1985: 131-154.
- [5] Yu B, Kusmartsev S, Cheng F, *et al.* Effective combination of chemotherapy and dendritic cell administration for the treatment of advanced-stage experimental breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(1): 285-294.
- [6] Machiels JP, Reilly RT, Emens LA, *et al.* Cyclophosphamide, doxorubicin, and paclitaxel enhance the antitumor immune response of granulocyte/macrophage-colony stimulating factor-secreting whole-cell vaccines in her-2/neu tolerized mice [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(9): 3689-3697.
- [7] 储以微, 刘荣军, 张 镭, 等. 肺癌患者化疗前后免疫细胞格局的改变及其临床意义 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(4): 253-256.
- [8] 刘荣军, 郑秀娟, 熊思东, 等. 小鼠淋巴细胞减少状态下模型的建立及其免疫学意义 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(1): 54-58.
- [9] Min B, Foucras G, Meier-Schellersheim M, *et al.* Spontaneous proliferation, a response of naive CD4 T cells determined by the diversity of the memory cell repertoire [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(11): 3874-3879.
- [10] 郑秀娟, 张 镭, 林 怡, 等. 紫杉醇与肿瘤疫苗联合应用对小鼠 lewis 肺癌皮下移植瘤的治疗效果 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(6): 442-446.
- [11] Dudley ME, Wunderlich JR, Yang JC, *et al.* Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(10): 2346-2357.
- [12] Rosenberg SA, Dudley ME. Cancer regression in patients with metastatic melanoma after the transfer of autologous antitumor lymphocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(suppl 2): 14639-14645.
- [13] Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells [J]. *Nat Immunol*, 2003, 4(4): 330-336.
- [14] 刘荣军, 储以微. 转录因子 foxp3 在免疫调节中的作用 [J]. *现代免疫学*, 2005, 25(1): 75-77.
- [15] Lutsiak MEC, Semnani RT, Pascalis RD, *et al.* Inhibition of CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cell function implicated in enhanced immune response by low-dose cyclophosphamide [J]. *Blood*, 2005, 105(7): 2862-2868.
- [16] Ikezawa Y, Nakazawa M, Tamura C, *et al.* Cyclophosphamide decreases the number, percentage and the function of CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells, which suppress induction of contact hypersensitivity [J]. *J Dermatol Sci*, 2005, 39(2): 105-112.
- [17] Brode S, Raine T, Zaccane P, *et al.* Cyclophosphamide-induced type-1 diabetes in the nod mouse is associated with a reduction of CD4⁺ CD25⁺ foxp3⁺ regulatory T cells [J]. *J Immunol*, 2006, 177(10): 6603-6612.
- [18] Ghiringhelli F, Larmonier N, Schmitt E, *et al.* CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells suppress tumor immunity but are sensitive to cyclophosphamide which allows immunotherapy of established tumors to be curative [J]. *Eur J Immunol*, 2004, 34(2): 336-344.
- [19] Beyer M, Kochanek M, Darabi K, *et al.* Reduced frequencies and suppressive function of CD4⁺ CD25^{hi} regulatory T cells in patients with chronic lymphocytic leukemia after therapy with fludarabine [J]. *Blood*, 2005, 106(6): 2018-2025.
- [20] Gattinoni L, Powell DJ, Rosenberg SA, *et al.* Adoptive immuno-

- therapy for cancer: Building on success[J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(5): 383-393.
- [21] Hallahan DJ, Wyble C. Cell adhesion molecules mediate radiation-induced leukocyte adhesion to the vascular endothelium[J]. *Cancer Res*, 1996, 56(22): 5150-5155.
- [22] Antony PA, Paulos CM, Ahmadzadeh M, *et al.* Interleukin-2 dependent mechanisms of tolerance and immunity *in vivo*[J]. *J Immunol*, 2006, 176(9): 5255-5266.
- [23] Kohm AP, McMahon JS, Podofil JR, *et al.* Cutting edge: Anti-CD25 monoclonal antibody injection results in the functional inactivation, not depletion, of CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells[J]. *J Immunol*, 2006, 176(6): 3301-3305.
- [24] Min B, Yamane H, Hu-Li J, *et al.* Spontaneous and homeostatic proliferation of CD4⁺ T cells are regulated by different mechanisms [J]. *J Immunol*, 2005, 174(10): 6039-6044.
- [25] Lenz DC, Kurz SK, Lemmens E, *et al.* IL-7 regulates basal homeostatic proliferation of antiviral CD4⁺ T cell memory[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(25): 9357-9362.
- [26] Tan JT, Dudl E, LeRoy E, *et al.* IL-7 is critical for homeostatic proliferation and survival of naive T cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(15): 8732-8737.
- [27] Schuler T, Hammerling GJ, Arnold B. Cutting edge: IL-7-dependent homeostatic proliferation of CD8⁺ T cells in neonatal mice allows the generation of long-lived natural memory T cells[J]. *J Immunol*, 2004, 172(1): 15-19.
- [28] Alpdogan O, van den Brink MRM. IL-7 and IL-15: Therapeutic cytokines for immunodeficiency[J]. *Trends Immunol*, 2005, 26(1): 56-64.
- [29] Fry TJ, Mackall CL. Interleukin-7: Master regulator of peripheral T-cell homeostasis? [J]. *Trends Immunol*, 2001, 22(10): 564-571.
- [30] Gattinoni L, Finkelstein SE, Klebanoff CA, *et al.* Removal of homeostatic cytokine sinks by lymphodepletion enhances the efficacy of adoptively transferred tumor-specific CD8⁺ T cells[J]. *J Exp Med*, 2005, 202(7): 907-912.
- [31] Tan JT, Ernst B, Kieper WC, *et al.* Interleukin (IL)-15 and IL-7 jointly regulate homeostatic proliferation of memory phenotype CD8⁺ cells but are not required for memory phenotype CD4⁺ cells [J]. *J Exp Med*, 2002, 195(12): 1523-1532.
- [32] Wang L, Shu S, Plautz G. Host lymphodepletion augments T cell adoptive immunotherapy through enhanced intratumoral proliferation of effector cells[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(20): 9547-9554.
- [33] Klebanoff CA, Khong HT, Antony PA, *et al.* Sinks, suppressors and antigen presenters: How lymphodepletion enhances T cell-mediated tumor immunotherapy[J]. *Trends Immunol*, 2005, 26(2): 111-117.
- [34] Torihata H, Ishikawa F, Kakiuchi T, *et al.* Irradiation up-regulates CD80 expression through two different mechanisms in spleen B cells, B lymphoma cells, and dendritic cells[J]. *Immunology*, 2004, 112(2): 219-227.
- [35] Zhang Y, Louboutin JP, Zhu J, *et al.* Preterminal host dendritic cells in irradiated mice prime CD8⁺ T cell-mediated acute graft-versus host disease[J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(10): 1335-1344.
- [36] Kedl RM, Rees WA, Hildeman DA, *et al.* T cells compete for access to antigen-bearing antigen-presenting cells[J]. *J Exp Med*, 2000, 192(8): 1105-1113.
- [37] Jameson SC. Maintaining the norm-T cell homeostasis[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(8): 547-556.
- [38] Schwartz RH. Natural regulatory T cells and self-tolerance[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(4): 327-330.
- [39] Jiang H, Chess L. An integrated view of suppressor T cell subsets in immunoregulation[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(9): 1198-1208.
- [40] Stephens LA, Gray D, Anderton SM. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells limit the risk of autoimmune disease arising from T cell receptor crossreactivity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(48): 17418-17423.
- [41] 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): 303-309.
- [42] Zwar TD, Read S, Driel IR, *et al.* CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells inhibit the antigen-dependent expansion of self-reactive T cells *in vivo*[J]. *J Immunol*, 2006, 176(3): 1609-1617.
- [43] Sakaguchi S. Naturally arising regulatory foxp3-expressing CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(4): 345-352.
- [44] 刘荣军, 葛 棣, 丁建勇, 等. 肺癌患者 CD4⁺ CD25^{high} foxp3⁺ 调节性 T 细胞的格局变化及意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2006, 22(6): 101-104.
- [45] Antony PA, Piccirillo CA, Rosenberg SA, *et al.* CD8⁺ T cell immunity against a tumor/self-antigen is augmented by CD4⁺ T helper cells and hindered by naturally occurring T regulatory cells[J]. *J Immunol*, 2004, 174(5): 2591-2601.
- [46] Viguier M, Lemaire F, Verola O, *et al.* Foxp3 expressing CD4⁺ CD25⁺ T cells in tumours from patients with early-state non-small cell lung cancer and late-state ovarian cancer[J]. *J Immunol*, 2004, 173(2): 1444-1453.
- [47] Golgher D, Jones E, Powrie F, *et al.* Depletion of CD25⁺ regulatory cells uncovers immune responses to shared murine tumor rejection antigens[J]. *Eur J Immunol*, 2002, 32(11): 3267-3275.
- [48] Tanaka H, Tanaka J, Shu S. Depletion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory cells augments the generation of specific immune T cells in tumor-draining lymph nodes[J]. *J Immunother*, 2002, 25(3): 207-217.
- [49] Stockinger B, Kassiotis G, Bourgeois C. Homeostasis and T cell regulation[J]. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16(6): 775-779.
- [50] Mahajan VS, Leskov IB, Chen J. Homeostasis of T cell diversity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2005, 2(1): 1-10.
- [51] Min B, Paul WE. Endogenous proliferation: Burst-like CD4 T cell proliferation in lymphopenic settings[J]. *Semin Immunol*, 2005, 17(3): 201-207.
- [52] King C, Llic A, Koelsch K, *et al.* Homeostatic expansion of T

cells during immune insufficiency generates autoimmunity [J]. *Cell*, 2004, 117(2): 265-277.

- [53] Baccala R, Theofilopoulos AN. The new paradigm of T-cell homeostatic proliferation-induced autoimmunity [J]. *Trends Immunol*, 2005, 26(1): 5-8.
- [54] Overwijk WW, Theoret MR, Rosenberg SA, *et al.* Tumor regression and autoimmunity after reversal of a functionally tolerant state of self-reactive CD8⁺ T cells [J]. *J Exp Med*, 2003, 198(4): 569-580.
- [55] Baccala R, Gonzalez-Quintal R, Dummer W, *et al.* Tumor immunity via homeostatic T cell proliferation: Mechanistic aspects and clinical perspectives [J]. *Springer Semin Immunopathol*, 2005, 27(1): 75-85.
- [56] Dummer W, Niethammer AG, Theofilopoulos AN, *et al.* T cell homeostatic proliferation elicits effective antitumor autoimmunity [J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(2): 185-192.
- [57] Brown I, Blank C, Kline J, *et al.* Homeostatic proliferation as an isolated variable reverses CD8⁺ T cell anergy and promotes tumor rejection. [J]. *J Immunol*, 2006, 177(7): 4521-4529.
- [58] Mihalyo MA, Doody ADH, McAleer JP, *et al.* *In vivo* cyclophosphamide and IL-2 treatment impedes self-antigen-induced effector CD4 cell tolerization: Implications for adoptive immunotherapy [J]. *J Immunol*, 2004, 172(9): 5338-5345.
- [59] Zhang H, Chua KS, Mackall C. Lymphopenia and interleukin-2 therapy alter homeostasis of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells [J]. *Nat Med*, 2005, 11(11): 1238-1243.
- [60] Vanasek TL, Nandiwada SL, Jenkins MK, *et al.* CD25⁺ foxp3⁺ regulatory T cells facilitate CD4⁺ T cell clonal anergy induction during the recovery from lymphopenia [J]. *J Immunol*, 2006, 176(10): 5880-5889.
- [61] Hu HM, Poehlein CH, Urba WJ, *et al.* Development of antitumor immune responses in reconstituted lymphopenic hosts [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(14): 3914-3919.
- [62] Hakim FT, Gress RE. Reconstitution of the lymphocyte compartment after lymphocyte depletion: A key issue in clinical immunology [J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35(11): 3099-3102.
- [63] Rosenberg SA, Yang JC, Robbins PF, *et al.* Cell transfer therapy for cancer: Lessons from sequential treatments of a patient with metastatic melanoma [J]. *J Immunother*, 2003, 26(5): 385-393.
- [64] Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: Moving beyond current vaccines [J]. *Nat Med*, 2004, 10(9): 909-915.
- [65] Teshima T, Mach N, Hill GR, *et al.* Tumor cell vaccine elicits potent antitumor immunity after allogeneic T-cell-depleted bone marrow transplantation [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(1): 162-171.
- [66] Asavarengchai W, Kotera Y, Mule JJ. Tumor lysate-pulsed dendritic cells can elicit an effective antitumor immune response during early lymphoid recovery [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 99(2): 931-936.
- [67] Eralp Y, Wang XY, Lachman LB, *et al.* Doxorubicin and paclitaxel enhance the antitumor efficacy of vaccines directed against her 2/neu in a murine mammary carcinoma model [J]. *Breast Cancer Res*, 2004, 6(4): 275-283.
- [68] Nowak AK, Lake RA, Robinson BWS. Combined chemioimmunotherapy of solid tumours: Improving vaccines [J]? *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58(8): 975-991.
- [69] Sportes C, McCarthy NF, Gress RE, *et al.* Establishing a platform for immunotherapy: Clinical outcome and study of immune reconstitution after high-dose chemotherapy with progenitor cell support in breast cancer patients [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(6): 472-483.
- [70] Porter D, June C. T-cell reconstitution and expansion after hematopoietic stem cell transplantation: 'T' it up [J]! *Bone Marrow Transplant*, 2005, 35(10): 935-942.

[收稿日期] 2007 - 01 - 06

[修回日期] 2007 - 01 - 19

[本文编辑] 韩 丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中数字用法的要求

本刊严格执行国家标准《出版物上数字用法的规定》，文稿中凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方，均应使用阿拉伯数字。(1) 公历世纪、年代、年、月、日和时、分、秒必须使用阿拉伯数字，如 20 世纪 90 年代、2006 - 02 - 15、5 h、30 min、30 s、14:36:08 等；年份不能用简称，“1998 年”不能写作“98 年”。(2) 物理量量值必须使用阿拉伯数字。(3) 非物理量量词前面数字一般也应使用阿拉伯数字，如 3 支、5 根等。(4) 数值范围的表达要求：5 万至 10 万应写成 5 万 ~ 10 万，不能写成 5 ~ 10 万； 3×10^9 至 5×10^9 应写成 $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ ，或 $(3 \sim 5) \times 10^9$ ，不能写成 $3 \sim 5 \times 10^9$ ；60% 至 70% 不能写成 60 ~ 70%，应写成 60% ~ 70%； 25.5 ± 0.5 mg 应写成 (25.5 ± 0.5) mg。(5) 带单位的量值相乘时，每个数值后单位不能省略，如 4 mm × 2 mm × 3 mm，不能写成 4 × 2 × 3 mm 或 $4 \times 2 \times 3$ mm³。

(本刊编辑部)