

[文章编号] 1007-385X(2007)01-094-03

趋化因子和 B7 分子联合应用抗肿瘤的研究进展

Chemokine combined with costimulatory B7 for tumor gene therapy: An advance

王振发¹综述;王烈¹,卫立辛²审阅(1. 南京军区福州总医院 普通外科,福州 350025;2. 第二军医大学东方肝胆外科医院 肿瘤免疫与基因治疗中心,上海 200438)

[摘要] 恶性肿瘤的发生常常是多个基因改变的结果,单一基因治疗的抗肿瘤效应往往十分有限,联合应用不同特性的细胞因子或趋化因子抗肿瘤是近年来的研究热点。本文着重综述趋化因子和 B7 分子在肿瘤基因治疗中的联合应用。B7 分子是重要的共刺激分子,可为 T 细胞激活提供第二信号;趋化因子可通过趋化免疫活性细胞,部分趋化因子还可抑制肿瘤血管生成,从而产生抗肿瘤效应。共转染趋化因子和 B7 分子除通过“招引-活化”的机制外,还可抑制 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞亚型向肿瘤局部浸润,进而改善肿瘤局部免疫抑制状态;同时可抑制肿瘤血管生成,从而通过多个不同的途径,产生更强的抗肿瘤效应。但趋化因子具有抗肿瘤和促肿瘤双向性,因此选择合适的趋化因子与 B7 分子联合应用是至关重要的。

[关键词] 趋化因子; B7 分子; 基因治疗

[中图分类号] R737.905 **[文献标志码]** A

趋化因子和 B7 分子在肿瘤免疫基因治疗中发挥着重要的作用。B7 分子是重要的共刺激分子,通过与相应受体结合,为 T 细胞激活提供第二信号;趋化因子通过趋化免疫活性细胞产生抗肿瘤效应,其中部分趋化因子还可抑制肿瘤血管的生成。联合基因治疗是目前肿瘤免疫基因治疗的趋势,研究^[1]表明共转染趋化因子和 B7 分子主要通过“招引-活化”的机制,产生更强的抗肿瘤效应。现就趋化因子和 B7 分子在肿瘤基因治疗中的联合应用作一综述。

1 B7 家族及其抗肿瘤作用

1.1 B7 家族

B7 家族属免疫球蛋白类,目前已发现 7 种,即 B7-1、B7-2、B7-H1、B7-H2、B7-H3、B7-H4 和 B7-DC^[2],其中在肿瘤免疫基因治疗中应用较多的是 B7-1 和 B7-2。B7-1 分子,又称 CD80、BB1,主要表达于活化的单核细胞、树突状细胞、B 细胞及 NK 细胞等表面。B7-2 分子也是 IgSF 的一个成员,其结构中有 26% 的氨基酸与 B7-1 相同;B7-2 分子表达于活化的单核细胞、树突状细胞及 T 细胞表面,而在静息 B 细胞表面的表达极低。B7-1 和 B7-2 共同的受体为 CD28 分子和 CTLA-4 分子。CD28 表达于静息的 T 细胞、浆细胞以及 5% 的 CD3 胸腺细胞表面;CTLA-4 主要表达于抗原提呈细胞(APC)如树突状细胞、巨噬细胞和活化的 B 细胞、T 细胞等细胞表面。CD28 作为协同刺激分子的受体,通过与 APC 上 B7 分子的结合,起着传递信号、增强或放大免疫反应的作用;而 CTLA-4 对 T 细胞的活化起负性调节作用。B7-H1 和 B7-H4 通过其相应的抑制性受体 PD-1 和 BTLA 对机体免疫起负性作用^[2-3];B7-DC 则通

过引发 Th1 和 CTL 反应,对机体免疫起正性作用^[4]。

表 1 B7 家族成员及其受体在抗肿瘤免疫中的作用

| B7 家族 | 其他名称 | 受体 | 对免疫反应的影响 |
|-------|-------------------|----------------------|----------|
| B7-1 | CD80, BB1, B7 | CD28/CTLA-4(CD152) | ↑ |
| B7-2 | CD86 | CD28/CTLA-4(CD152) | ↓ |
| B7-H1 | PD-1L, PD-L, PDL1 | PD-1 | ↓ |
| B7-H2 | B7h, B7RP-1 | ICOS | ↑ |
| B7-H3 | B7RP-2 | ? | ↑ |
| B7-H4 | B7x, B7S1 | BTLA | ↓ |
| B7-DC | PD-L2 | PD-1 or ? | ↑ |

1.2 B7 分子的抗肿瘤作用

抗肿瘤免疫以 T 细胞介导的细胞免疫为主, T 细胞的活化需要双信号刺激:第一信号由 T 细胞抗原受体(TCR)与 APC 上的抗原肽-MHC 分子复合物结合提供;第二信号则由共刺激分子与 T 细胞上的相应配体结合提供。只有双信号共同刺激才能有效激活特异性 T 细胞。由于肿瘤细胞表面缺乏或低表达 B7, 机体抗肿瘤免疫反应缺乏共刺激分子的辅助作用,造成 T 细胞克隆凋亡或无能,是肿瘤细胞逃避宿主免疫系统的监视和杀灭的机制之一^[5]。因此,通过转基因使肿瘤细胞表达 B7, 后者和 CD28 相互作用提供第二信号,激

[作者简介] 王振发(1977-),男,福建泉州人,硕士生,主要从事肿瘤基因治疗方面的研究

[通讯作者] 王烈, E-mail: wzf-2004@hotmail.com

活特异性 T 细胞,可产生抗肿瘤效应。B7 分子已应用于小鼠神经胶质瘤、骨肉瘤、乳腺癌、非小细胞肺癌、结肠癌、胃癌及恶性黑色素瘤等肿瘤的基因治疗。

2 趋化因子及其抗肿瘤作用

趋化因子是在生长因子、干扰素、细菌产物、病毒感染等因素的刺激下,由成纤维细胞、巨噬细胞、内皮细胞等分泌的一类炎症前小分子蛋白质。其相对分子质量为 8 000 ~ 12 000,至少有 2 个保守半胱氨酸(Cys)系列并对白细胞有趋化作用的分泌型单链蛋白质。现已发现的 50 余种趋化因子的氨基酸序列和空间结构有高度同源性。根据其 N 端 Cys 顺序可分为:CXC(α)、CC(β)、C(γ)、CX3C(δ)趋化因子中,其中 CXC(α)和 CC(β)最为多见,且在肿瘤基因治疗中的应用也最多。CXC(α)类趋化因子依据第一个 Cys 前是否有 ELR(Glu-Leu-Agr)氨基酸系列可分为 ELR⁺-CXC 趋化因子和 ELR⁻-CXC 趋化因子两组。

理论上凡是能够趋化 T 细胞、NK 细胞、树突状细胞以及巨噬细胞等免疫活性细胞或能抑制肿瘤血管生成的趋化因子都能抑制肿瘤的生长。趋化因子的抗肿瘤效应主要表现为:(1)趋化免疫活性细胞到达肿瘤部位;(2)调节免疫效应细胞的发育与功能;(3)抑制肿瘤血管生成。

IP-10、Mig、RANTES、MCP-1、MCP-2、TCA-3、MIP-1 α 、IL-8、FK、ITAC 及 Lymphotactin(Lptn)等已用于黑色素瘤、结肠腺癌、淋巴瘤、乳腺癌、肝癌及卵巢癌等肿瘤的基因治疗。趋化因子基因治疗今后主要的研究方向是:(1)联合其它细胞因子进行肿瘤的基因治疗,研究筛选出具有广泛有效的最佳组合,以达到更好的抗肿瘤效果;(2)与肿瘤相关抗原协同共刺激分子联合基因治疗肿瘤。

3 B7 分子和趋化因子在抗肿瘤中的联合应用

恶性肿瘤的发生常常是多个基因改变的结果,纠正单个基因的治疗方法疗效不理想。因此,近年来,越来越多的研究转向转染两个或两个以上的基因以诱导更强的抗肿瘤免疫反应,产生相加或协同效应,这是目前基因治疗的发展方向。

目前普遍认为,肿瘤细胞逃逸机体免疫监视的机制主要有:(1)免疫原性低;(2)免疫细胞向肿瘤局部迁移的能力显著减弱^[6];(3)低表达和缺乏表达共刺激分子;(4)肿瘤局部免疫抑制状态的存在和维持,其中 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞亚型是关键因素之一^[7]。联合应用 B7 分子和趋化因子可通过不同的途径,更好地恢复机体对肿瘤细胞的免疫监视功能。肿瘤血管生成在肿瘤的生长、侵袭和演进中起重要作用,因此抑制

肿瘤血管生成也能达到抗肿瘤效应。一些趋化因子,主要为 ELR⁻-CXC,可抑制肿瘤血管生成而产生抗肿瘤作用。共转染 B7 分子和趋化因子能产生更强抗肿瘤作用的主要机制为:(1)“招引-活化”的机制^[1],即通过招引 T 细胞、DC 及 NK 细胞等免疫细胞到肿瘤局部并给予激活,从而增强机体细胞免疫,产生抗肿瘤作用;(2)抑制肿瘤血管生成,即通过与 FGF-2 或 VEGF 竞争结合细胞表面的硫酸肝素蛋白多糖或阻止因子形成二聚体,使其不能与受体结合,同时削弱 p21CIP/WAF 的下调和增强 Rb 蛋白的低磷酸化状态,抑制血管生成;(3)通过抑制 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞亚型向肿瘤局部的浸润,改善肿瘤局部免疫抑制状态。

目前趋化因子和 B7 分子主要联合应用于肝癌、结肠癌、宫颈癌等恶性肿瘤的治疗并取得良好效果。胡锦跃等^[1]用趋化因子 MCP-3 基因和 B7 基因共转染小鼠大肠癌 CMT93 细胞,发现能有效诱导抗大肠癌主动免疫。吴宜林等^[8]观察到趋化因子 MCP-3 增强 B7 基因修饰 U14 细胞瘤苗的抗肿瘤效果。Delman 等^[9]研究显示 RANTES/B7.1/GM-CSF 瘤苗对结肠癌肝转移治疗效果优于单一因子瘤苗。He 等^[10]研究表明通过破坏 PD-1 和配体 PD-L1 或 PD-L2 的相互作用,可增强趋化因子 SLC 的抗肿瘤效应。本课题组也正在进行趋化因子 MIP-1 α 和 B7-1 联合治疗乳腺癌的研究。

趋化因子对肿瘤的发生、发展具有双向性,即抗肿瘤效应和促肿瘤效应。具有促肿瘤效应的趋化因子主要为 ELR⁻-CXC 趋化因子,如 CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、和 CXCL12(SDF-1)^[11];抗肿瘤效应的趋化因子有: CXCL4(PF4)、CXCL9(Mig)、CXCL10(IP-10)、CXCL11、CCL16、CCL20、CCL21(SLC)和 CCL7^[12]。此外,趋化因子对肿瘤的作用与肿瘤细胞表达的趋化因子受体有关^[13];具有抗肿瘤效应的趋化因子可被肿瘤细胞或其他因子转化为促肿瘤效应^[14-16],如 CCL5(RANTES)和 CCL2(MCP-1);趋化因子对肿瘤的作用还与肿瘤类型和免疫系统的活化阶段有关^[17]。因此,根据的肿瘤类型及肿瘤局部微环境,选择合适的趋化因子与 B7 分子联合应用,才能真正达到增强抗肿瘤效应的目的,其机制有待探索。

4 问题和展望

B7 分子和趋化因子在恶性肿瘤基因治疗研究中应用越来越广泛,尤其是趋化因子和 B7 等具有协同效应的两个或两个以上的基因联合治疗,其抗肿瘤效应强于单基因治疗,为恶性肿瘤基因治疗提供了新的策略。B7 分子和趋化因子联合应用于抗肿瘤治疗也面临着一些问题:(1)转染 B7 基因的瘤细胞可能诱导 IL-10 的分泌,从而抑制免疫反应。(2)基因治疗成功与

否的关键是构建理想的基因转移载体,即高效、特异、低毒安全的载体。近年来,非病毒载体越来越多地被人们关注,与病毒载体一起呈现“百家争鸣、百家齐放”的局面,将促使理想的基因治疗载体尽快被构建。(3)趋化因子对肿瘤的作用具有双向性,一种趋化因子对不同类肿瘤的作用或不同趋化因子对同一肿瘤的作用可能完全相反。目前趋化因子对不同类肿瘤的作用了解还不够,且肿瘤局部微环境可能对趋化因子的抗肿瘤作用产生影响。因此,选择合适的趋化因子广泛应用于抗肿瘤治疗仍有一定的难度。目前趋化因子和 B7 分子联合抗肿瘤研究还处于基础实验阶段,随着对肿瘤发生分子机制的不断深入了解、对趋化因子和 B7 分子与肿瘤关系的深入认识及基因治疗技术的日臻完善,趋化因子和 B7 分子联合应用于抗肿瘤治疗将呈现美好的前景,造福于广大肿瘤患者。

[参 考 文 献]

- [1] 胡锦跃,朱建高,李官成,等. 趋化因子 MCP-3 基因和 B7 基因共转染诱导抗大肠癌主动免疫[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2002, 9(2): 77-81.
- [2] Sica GL, Choi IH, Zhu G, *et al.* B7-H4, a molecule of the B7 family, negatively regulates T cell immunity[J]. *Immunity*, 2003, 18(6): 849-861.
- [3] He YF, Zhang GM, Wang YH, *et al.* Blocking programmed death-1 ligand PD-1 interactions by local gene therapy results in enhancement of antitumor effect of secondary lymphoid tissue chemokine[J]. *J Immunol*, 2004, 173(8): 4919-4928.
- [4] Shin T, Yoshimura K, Shin T, *et al.* *In vivo* costimulatory role of B7-DC in tuning T helper cell 1 and cytotoxic T lymphocyte responses[J]. *J Exp Med*, 2005, 201(10): 1531-1541.
- [5] Kaufman HL, Deraffle G, Mitcham J, *et al.* Targeting the local tumor microenvironment with vaccinia virus expressing B7. 1 for the treatment of melanoma[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(7): 1903-1912.
- [6] Kurt RA, Baher A, Wisner KP, *et al.* Chemokine receptor desensitization in tumor-bearing mice[J]. *Cell Immunol*, 2001, 207(2): 81-88.
- [7] Curiel TJ, Coukos G, Zou L, *et al.* Specific recruitment of regula-

tory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival[J]. *Nat Med*, 2004, 10(9): 942-949.

- [8] 吴宜林,陶光实,陆琳,等. 趋化因子 MCP-3 协同 B7 诱导小鼠抗宫颈癌的主动免疫效果[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2001, 8(2): 98-101.
- [9] Delman KA, Zager JS, Bennett JJ, *et al.* Efficacy of multiagent herpes simplex virus amplicon-mediated immunotherapy as adjuvant treatment for experimental hepatic cancer[J]. *Ann Surg*, 2002, 236(3): 337-343.
- [10] He YF, Zhang GM, Wang XH, *et al.* Blocking programmed death-1 ligand-PD-1 interactions by local gene therapy results in enhancement of antitumor effect of secondary lymphoid tissue chemokine[J]. *J Immunol*, 2004, 173(8): 4919-4928.
- [11] Strieter RM, Belperio JA, Phillips RJ, *et al.* CXC chemokines in angiogenesis of cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2004, 14(3): 195-200.
- [12] Ben-Baruch A. The multifaceted roles of chemokines in malignancy[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2006, 25(3): 357-371.
- [13] Goldberg-Bittman L, Sagi-Assif O, Meshel T, *et al.* Cellular characteristics of neuroblastoma cells: Regulation by the ELR-CXC chemokine CXCL10 and expression of a CXCR3-like receptor[J]. *Cytokine*, 2005, 29(3): 105-117.
- [14] Conti I, Rollins BJ. CCL2 (monocyte chemoattractant protein-1) and cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2004, 14(3): 149-154.
- [15] Suyama T, Furuya M, Nishiyama M, *et al.* Up-regulation of the interferon gamma (IFN-gamma)-inducible chemokines IFN-inducible T-cell alpha chemoattractant and monokine induced by IFN-gamma and of their receptor CXC receptor 3 in human renal cell carcinoma[J]. *Cancer*, 2005, 103(2): 258-267.
- [16] Adler EP, Lemken CA, Katchen NS, *et al.* A dual role for tumor-derived chemokine RANTES (CCL5) [J]. *Immunology Lett*, 2003, 90(2-3): 187-194.
- [17] Okada N, Gao JQ, Sasaki A, *et al.* Anti-tumor activity of chemokine is affected by both kinds of tumors and the activation state of the host's immune system; Implications for chemokine-based cancer immunotherapy[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 317(1): 68-76.

[收稿日期] 2006-09-06 [修回日期] 2007-01-30

[本文编辑] 王莹

(上接第 82 页)

- [5] Kendall RL, Rutledge RZ, Mao X, *et al.* Vascular endothelial growth factor receptor KDR tyrosine kinase activity is increased by autophosphorylation of two activation loop tyrosine residues[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(10): 6453-6460.
- [6] Rosen LS. VEGF-targeted therapy: Therapeutic potential and recent advances[J]. *Oncologist*, 2005, 10(6): 382-391

- [7] Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, *et al.* Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer[J]. *Nat Med*, 2004, 10(2): 145-147.

[收稿日期] 2006-12-25 [修回日期] 2007-01-29

[本文编辑] 韩丹