

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.03.001

· 专家论坛 ·

肿瘤免疫微环境在肿瘤常规治疗效应中的作用

王盛典, 贾明明(中国科学院生物物理研究所, 中国科学院感染与免疫重点实验室, 北京 100101)



王盛典, 中国科学院生物物理研究所研究员, 博士生导师, 中国科学院感染与免疫重点实验室副主任。1988年毕业于河南医科大学医疗系, 获医学学士学位; 1998年获中国医学科学院协和医科大学免疫学博士学位; 而后到美国 Mayo Clinic 和 Johns Hopkins 大学进行博士后研究, 主要从事 T 细胞共刺激信号的研究; 2005 年入选中国科学院“百人计划”。课题组主要从事慢性炎症恶性化分子机制、肿瘤免疫治疗和 T 细胞免疫调控等研究, 相继发现了 CD24、CD137 共刺激信号在慢性乙型肝炎易感性、疾病进程及肝癌发生中的重要作用, 结直肠癌引流淋巴结中 Treg 细胞与患者的病理分期和 CD8⁺T 细胞功能下降相关等。此外, 与本研究所客座研究员傅阳心教授合作研究发现, 抗 HER2/neu 抗体的肿瘤靶向治疗不仅需要 FcR⁺ 先天性免疫细胞参与的抗体依赖细胞介导的细胞毒作用 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC), 而且还依赖于宿主的先天性免疫和获得性免疫; 抗 HER2/neu 抗体与化疗联合应用时, 化疗药的剂量和用药时间会影响抗体诱导的抗肿瘤免疫记忆反应, 进而影响肿瘤的复发。这一研究成果发表在全球癌症权威期刊 *Cancer Cell* 上, 杂志同期配发的、由国际著名专家撰写的述评文章指出: 该研究为提高肿瘤治疗疗效提供了新的途径, 更重要的是给只关注药物本身对肿瘤的杀伤活性, 而忽略机体免疫反应的联合治疗提出了警示。E-mail: sdwang@moon.ibp.ac.cn

[摘要] 机体免疫系统能识别和杀伤恶变的细胞, 从而清除肿瘤细胞或控制其生长。在机体免疫选择压力下, 肿瘤细胞可以依靠自身的高突变特性, 逃避免疫监视, 逐步建立起免疫抑制微环境, 以抵抗和抑制机体抗肿瘤免疫反应, 从而能够突破限制而持续扩增, 最终发展成为临床可见的肿瘤。目前肿瘤治疗的策略主要是着眼于直接抑制肿瘤细胞增殖以及杀伤和清除肿瘤细胞, 然而越来越多的研究表明, 常规治疗导致的肿瘤细胞免疫原性死亡, 可以激活先天性免疫信号通路, 诱发机体内在的抗肿瘤免疫反应, 在肿瘤治疗效应中起着关键作用, 尤其对防止残存肿瘤细胞的复发具有非常重要的意义。本文概述肿瘤发生、发展和常规治疗过程中, 机体抗肿瘤免疫反应与肿瘤免疫抑制微环境的细胞和分子机制, 重点讨论两者在肿瘤常规治疗效应中的作用, 解析以肿瘤免疫微环境为靶点的治疗策略, 讨论该策略对提高目前肿瘤常规治疗疗效和发展新的肿瘤治疗方案的积极意义。

[关键词] 肿瘤免疫监视; 肿瘤治疗; 肿瘤微环境; 免疫抑制

[中图分类号] R730.2; R730.3; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)03-0229-10

Effects of tumor immune microenvironment on conventional cancer therapies

WANG Sheng-dian, JIA Ming-ming (CAS Key Laboratory of Infection and Immunity, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

[Abstract] The immune system can eliminate malignant cells or prevent tumor growth by recognizing and destroying malignant cells. Under the strong selective pressure from the host immune system, malignant cells can rapidly acquire new phenotypes through high somatic mutations to evade immune surveillance. The selected tumor cell variants make use of all kinds of immunosuppressive mechanisms to establish an immunosuppressive microenvironment to resist and suppress anti-tumor immune response, allowing the tumors expand and become clinically detectable. The current tumor therapies mainly focus on the direct inhibition of tumor cell proliferation, as well as the killing and elimination of tumor cells. However, the growing evidence suggests that the conventional tumor therapies can elicit specific cellular responses that render tumor-cell

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(No. 2012CB917100); 国家自然科学基金重大资助项目(No. 91029719)。Project supported by the Grant from the National Basic Research Development Program of China (973 Program) (No. 2012CB917100), and the Major Research Plan of the National Natural Science Foundation of China (No. 91029719)

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120529.1705.008.html>

death immunogenic, which may activate the innate immune signaling pathways and then induce the intrinsic anti-tumor immune responses. This potential mechanism plays a key role in the therapeutic effects of the conventional anticancer treatments, especially in preventing the recurrence of residual tumor cells. Here, we intend to demonstrate the molecular and cellular mechanisms of the anti-tumor immune responses and the immunosuppressive tumor microenvironment in the process of tumor development and the conventional anticancer treatments, especially focusing on their effects on the therapeutic effects of the conventional anticancer treatments. We also attempt to explore the rational therapeutic strategies targeting the components of tumor immune microenvironment, which may shed light on the improvement of the current conventional anticancer therapies and the development of new anticancer treatments.

[**Key words**] tumor immunosurveillance; tumor therapy; tumor microenvironment; immune suppression

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(3): 229-238]

随着科学技术的快速发展,肿瘤临床诊断和治疗技术有了很大进步。临床上越来越多的肿瘤被早期诊断,并通过手术、化疗、放疗、生物靶向治疗以及它们之间的联合治疗而被治愈或控制。但是,对于大多数肿瘤患者来说,这些治疗手段常常使肿瘤暂时缩小或消失;由于隐匿(dormant)的微小转移灶的存在和具有治疗抗性肿瘤细胞的产生,最终因肿瘤复发而导致治疗失败。尽管肿瘤的诊疗技术得到了快速发展,但我国恶性肿瘤患者死亡率呈持续增长趋势,癌症已成为我国居民的第二死因、城市居民的首位死因。因此,有效提高各种肿瘤治疗手段的效应,从而提高肿瘤治愈率,降低肿瘤患者死亡率,是肿瘤研究的迫切任务。

由恶变的肿瘤细胞发展成为临床可见肿瘤的过程,实际上是肿瘤细胞与机体相互作用的过程。在这一过程中,肿瘤细胞必须克服机体免疫系统对其的识别和杀伤,逐步建立起强大的免疫抑制网络,同时还需要能为其提供充足营养和适合其快速生长的肿瘤微环境。肿瘤生物学家倾向于把肿瘤组织看作一个特殊的器官。在肿瘤组织中,恶性肿瘤细胞除了被脉管系统缠绕外,还被成纤维细胞、免疫细胞、髓源抑制性细胞(myeloid derived suppressor cell, MDSC)等肿瘤基质细胞,以及包括各种功能性分子在内的细胞外基质所包围。肿瘤微环境是动态的,随着肿瘤的发生、发展以及治疗干预而发生变化,同时具有显著的异质性^[1]。肿瘤微环境,尤其是肿瘤免疫微环境,包括抗肿瘤的免疫效应细胞和分子以及免疫抑制性细胞和分子,对于肿瘤的发生、发展和临床转归具有重要作用,对于肿瘤的临床分期和预后诊断也具有重要意义。

肿瘤治疗传统上着眼于肿瘤细胞本身,在进行肿瘤手术切除、化疗、放疗以及靶向治疗和免疫治疗时,都是瞄准快速增殖的恶性肿瘤细胞进行攻击和杀伤,而对机体内在的抗肿瘤免疫反应在肿瘤治疗

效应中的作用缺乏认识,同时还忽略了这些治疗对机体抗肿瘤免疫反应的影响,尤其是这种影响对于肿瘤治疗效应和肿瘤发展、转归的意义。近几年,笔者实验室在肿瘤治疗的免疫机制和对肿瘤免疫微环境在肿瘤治疗效应中的作用积累了一定的认识和思考,本文将对此进行梳理和总结,希望能为有效提高抗肿瘤的治疗效应、发展新的肿瘤治疗策略提供有益的思路和参考。

1 肿瘤免疫监视和肿瘤免疫微环境

1.1 肿瘤免疫监视学说

早在1909年,Paul Ehrlich就提出机体细胞恶变是一个常见现象,免疫系统可以保护机体,防止肿瘤的发生。50年后,随着对移植免疫和肿瘤免疫的细胞基础认识的加深,Sir. Macfarlane Burnet和Lewis Thomas提出了“肿瘤免疫监视(tumor immunosurveillance)”学说,认为机体免疫系统时刻都在监视着正常细胞恶变的发生,一旦细胞发生癌变,机体免疫系统能对其进行识别,并将其清除,从而阻止肿瘤的发生。然而,在随后的几十年间,肿瘤免疫监视学说受到诸多实验结果的挑战,包括当时利用免疫缺陷裸鼠进行的研究。该类研究发现,无论是化学诱导肿瘤还是自发肿瘤的发生率,在裸鼠和正常小鼠之间都没有区别^[2-3],一度导致人们对于肿瘤免疫监视学说的怀疑。直到20世纪90年代,随着小鼠基因操作技术和单克隆抗体技术的出现,肿瘤免疫监视学说在各种免疫缺陷小鼠实验模型和特异性免疫细胞或因子删除实验中得到了证实^[3]。

1.2 肿瘤免疫监视的细胞和分子机制

机体免疫系统对恶变细胞的排斥反应与抗病原微生物感染的免疫反应一样,需要先天性免疫和获得性免疫的协同作用。肿瘤细胞的侵袭性生长,伴随着血管的生成和肿瘤基质的重建,并造成局部正常组织的破坏,大量的促炎细胞因子、趋化因子和系

列危险信号(danger signal)被释放出来,继而招募先天免疫细胞浸润,其中包括NK细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、NKT细胞以及巨噬细胞等,通过与肿瘤细胞表面相应分子结合,从而对肿瘤细胞进行识别(比如通过表达于肿瘤细胞表面的NKG2D配体、糖脂/CD1复合物等分子进行识别),继而发挥抗肿瘤作用。这些先天免疫细胞除了对肿瘤细胞直接的细胞毒作用外,还分泌多种效应分子,其中最为重要的是IFN- γ ,其对抗肿瘤免疫反应的发生具有关键作用。IFN- γ 不仅能通过抗细胞增殖、促凋亡和抑制血管生成发挥肿瘤抑制作用,还具有广泛的免疫调节功能。IFN- γ 可以激活巨噬细胞产生NO等杀肿瘤细胞产物;激活NK细胞,通过TRAIL或穿孔素依赖机制攻击肿瘤细胞。IFN- γ 还可刺激巨噬细胞分泌大量IL-12,IL-12反过来又能够刺激NK细胞分泌更多的IFN- γ ,这些正反馈机制的存在,使得肿瘤部位先天免疫效应逐渐放大^[4]。许多动物实验也证明了免疫效应分子在抗肿瘤机制中的重要作用:对很多免疫效应分子(如IFN- γ 、穿孔素、IFN- γ R1、IL-12、TNF- α)缺陷小鼠进行化学致癌诱导时,肿瘤发生率显著上升^[5];大于1年龄穿孔素缺陷小鼠自发B细胞淋巴瘤的发生率要远远高于正常同龄小鼠(40%~60% vs 0~6%)^[6];TRAIL或FasL缺陷小鼠中也发现自发淋巴瘤发生率的升高^[3]。

先天免疫效应机制的激活和放大,导致肿瘤细胞的死亡,释放出大量肿瘤抗原。肿瘤组织浸润的树突状细胞摄取肿瘤抗原,继而迁移到引流淋巴结,激活肿瘤抗原特异性CD4⁺和CD8⁺T细胞,活化的肿瘤特异性T细胞再迁移到肿瘤部位,通过识别肿瘤细胞上的肿瘤抗原,发挥抗肿瘤作用。CD4⁺T细胞分泌一系列细胞因子,如IL-2、IL-21等,和其他细胞产生的IL-15一起维持CD8⁺T细胞的功能和存活。CD8⁺T细胞通过TCR有效识别和直接杀伤肿瘤,同时也产生大量IFN- γ 等效应分子,发挥抗肿瘤作用。在Rag1^{-/-}、Rag2^{-/-}以及SCID等获得性免疫组分缺陷的小鼠中进行的大量研究,有力地证明了针对肿瘤的获得性免疫应答具有重要的抗肿瘤作用^[3]。而且,当把在Rag2^{-/-}免疫缺陷小鼠中诱导的肿瘤接种至正常小鼠时,有40%的肿瘤不能生长。相对地,把肿瘤重新接种于Rag2^{-/-}小鼠或者特异性地删除CD8⁺T细胞(或CD4⁺T细胞)的野生型小鼠时,肿瘤则会快速生长^[7]。可见,先天性免疫和获得性免疫反应协调作用,相互配合,共同发挥肿瘤免疫监视作用。

除了来自动物模型的实验证据之外,肿瘤免疫

监视学说还得到了大量临床证据的支持。在免疫功能严重缺陷的艾滋病患者中,非病毒感染相关恶性肿瘤(如肺鳞状细胞癌)的发生率增高。器官移植患者由于免疫抑制药物的使用,也会导致实体瘤的发生率显著增加。手术切除原位肿瘤,会导致转移瘤的消失;放射治疗也会显现“异位效应”(abscopal effect),导致未照射转移灶的减小或消失。更直接的证据在于,肿瘤患者体内可检测到抗肿瘤免疫反应的存在,如肿瘤特异性CTL和抗体,而且肿瘤浸润淋巴细胞的密度、位置和表型,与肿瘤进程和预后密切相关^[3,8]。

1.3 免疫监视在控制体内肿瘤生长中的重要作用

近年来随着分子生物学技术,尤其是基因组测序技术的快速发展,大量研究结果显示:肿瘤组织内的肿瘤细胞存在巨大的异质性,这种异质性表现在细胞、蛋白和基因水平。肿瘤细胞基因组的不稳定性和高突变性,已成为肿瘤的显著特性之一^[1,9]。这些研究结果提示:肿瘤细胞不会轻易被机体免疫监视机制所清除,它会利用自己的高突变性改变自己,从而逃脱免疫监视机制的攻击。就像达尔文的“进化选择”学说,即在机体强大、持续的免疫选择压力下,肿瘤细胞发生突变,产生新的肿瘤细胞变种,逃避已有的抗肿瘤免疫反应的攻击;但机体免疫系统会继续识别新的变种细胞,对其产生免疫应答,进而导致携带新突变基因的变种细胞的出现。由于肿瘤细胞的不断进化以及肿瘤免疫抑制微环境的建立,某些变种肿瘤细胞最终不再被机体免疫监视机制所完全控制,而成长为临床可见的肿瘤。恶变的肿瘤细胞和机体免疫系统之间的这种动态的相互作用是一个长期过程,在人体中可能持续许多年。据估计,从一个个体接触致癌物到临床检测到实体肿瘤,可能需要20年时间^[10]。

传统理论认为,肿瘤免疫监视机制通过识别和清除恶变肿瘤细胞以防止肿瘤发生。但是,大多数情况下肿瘤细胞并不能被完全清除,机体免疫监视通过与肿瘤细胞之间动态的平衡来阻止肿瘤生长,这对于控制体内肿瘤细胞发展成临床可见肿瘤具有决定性作用,因而具有十分重要的现实意义。免疫监视和肿瘤细胞之间相互作用的平衡状态已在动物实验中得到证实。在化学致癌物甲基胆蒎(methylcholanthrene, MCA)诱导小鼠肉瘤模型中,给小鼠注射MCA后200d内,部分小鼠出现恶性生长的肉瘤,其余无瘤小鼠在200d后也很少再有肿瘤生长。如果给这些没有肿瘤生长的小鼠注射抗体以删除CD4⁺和CD8⁺T细胞或者中和IFN- γ 或IL-12,其中

近 50% 的小鼠很快就会出现恶性肿瘤生长^[11], 说明那些注射 MCA 200 d 后仍没有肿瘤生长的小鼠体内是有肿瘤细胞存在的。临床器官移植将供者的肿瘤传递给受者的现象, 说明在人体内也存在着肿瘤细胞与免疫监视之间的平衡。例如 2 例来自同一供者的肾移植患者, 在移植后 1~2 年均出现转移性黑素瘤, 而供者在 16 年前进行过原发性黑素瘤治疗, 之后一直处于无瘤状态^[12]。再例如, 来自一个无肿瘤病史供者的 2 例肾移植患者和一例肝移植患者, 在移植后 1 年内出现供者来源的黑素瘤^[13-14]。这些现象提示: 由于供者健全的免疫功能, 体内肿瘤细胞与抗肿瘤免疫反应处于平衡状态, 而当肿瘤细胞随器官移植到受者体内后, 由于免疫抑制药物对受者免疫功能的抑制作用, 打破了平衡, 隐藏的肿瘤细胞在失去足够的免疫压力后就会快速生长出来。

1.4 肿瘤免疫抑制微环境的建立

机体的免疫监视机制能够识别肿瘤细胞, 有效地清除或者控制肿瘤细胞的生长, 维持机体长期处于无瘤状态, 但是, 还是有相当数量免疫系统健康的个体发生了恶性生长的肿瘤。大量研究发现, 肿瘤细胞在与机体免疫系统相互作用过程中, 除了通过不断发生突变, 产生新的肿瘤细胞变种来逃避机体免疫的攻击外, 还会获得对免疫监视的抗性, 甚至是对机体抗肿瘤免疫反应的抑制能力, 从而不受限制地快速扩增, 以至最终发生临床可见的肿瘤。大量临床证据显示: 临床肿瘤组织处于免疫抑制环境, 浸润的免疫效应细胞表现为不同程度的免疫功能低下, 甚至是严重缺陷。大量研究结果表明, 肿瘤细胞几乎可以利用免疫系统自身的所有负调控机制, 建立起肿瘤微环境的免疫抑制网络^[15]。概括起来主要包括以下几种途径: (1) 下调免疫细胞对肿瘤细胞的识别能力。肿瘤细胞下调肿瘤抗原和 MHC I 类分子的表达, 缺失抗原提呈途径组成成分 (TAP1、LMP2 和 LMP7) 的表达, 从而降低 CTL 对肿瘤细胞的识别; 脱落 NKG2D 配体在肿瘤细胞表面的表达, 减少和阻断 NK 细胞对肿瘤细胞的识别和攻击。(2) 高表达免疫抑制分子。高表达抑制性共刺激分子 B7-H1 (PD-L1) 等, 与 T 细胞上的抑制性受体结合, 抑制 T 细胞的反应和功能, 导致 T 细胞耐受或功能衰竭; 还有一些肿瘤细胞表面 Fas 表达水平低下, 却高表达 FasL, 并与免疫细胞表面的 Fas 结合, 激活免疫细胞的凋亡信号途径, 从而损伤机体的抗肿瘤免疫效应。(3) 分泌多种免疫抑制分子, 如分泌 TGF- β 、IL-10、IDO、VEGF, 通过直接或间接的方式, 抑制肿瘤抗原提呈, 以及 T 细胞的活化、增殖、

分化和效应功能; 表达可溶性 TNF 结合蛋白, 阻断 TNF 对肿瘤细胞的杀伤作用。(4) 诱导免疫抑制细胞分化、增殖以及向肿瘤部位聚集, 主要包括调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg)、MDSC 以及 M2 型肿瘤相关巨噬细胞 (tumor associated macrophage, TAM) 等。已知 Treg 通过多种直接或间接的机制抑制 T 细胞的反应和功能, 对维持机体免疫稳态 (homeostasis) 具有非常重要的作用, 删除小鼠体内 Treg 会引起自身免疫病^[16]。针对各种肿瘤的大量研究显示, 肿瘤患者的外周血、肿瘤组织以及引流淋巴结中 Treg 细胞的数量和比例均有不同程度上升, 以肿瘤组织最为显著, 而且 Treg 数量和功能与肿瘤患者的病程和预后相关^[15, 17]。在正常人, MDSC 只占外周血单个核细胞的 1%, 而在肿瘤患者体内则增加 4~10 倍, 随着肿瘤的发展会大量聚集在肿瘤部位。MDSC 既可抑制 NK 细胞和 NKT 细胞的细胞毒作用, 也可抑制 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的反应和功能^[18]。TAM 是肿瘤组织浸润炎症细胞的主要成分, 主要表型为 M2 型, 具有促进肿瘤生长、转移、血管生成和免疫抑制的作用。

在与机体免疫细胞相互作用的过程中, 肿瘤细胞在周围环境免疫压力下, 利用自己的高突变性, 一方面下调与免疫识别和攻击相关的蛋白分子的表达, 发生免疫逃逸; 另一方面, 还异常或过表达与免疫抑制相关的蛋白分子, 直接抑制抗肿瘤免疫反应, 或者诱导各种免疫抑制细胞的分化和浸润, 从而在肿瘤微环境中建立起强大的免疫抑制网络。肿瘤免疫抑制微环境具有显著的异质性和动态变化特征。不同个体的同种肿瘤、同一个体的不同部位肿瘤 (原发瘤和转移瘤)、同一肿瘤的不同部位 (肿瘤中心和外周), 免疫抑制微环境都是不同的; 在肿瘤不同发展阶段, 或对肿瘤进行不同的干预治疗时, 肿瘤免疫抑制微环境也会随之发生变化。临床数据显示, 肿瘤微环境的免疫抑制状态与肿瘤的病程发展、病理分期、常规治疗反应和预后密切相关。例如, 肿瘤组织和引流淋巴结中 Treg 的比例、肿瘤细胞上 B7-H1 表达水平与患者生存率呈负相关^[15, 17, 19], 乳腺癌组织中巨噬细胞的比例与化疗疗效呈负相关^[20]。

2 抗肿瘤免疫反应在肿瘤常规治疗效应中的作用

尽管早在 100 年前, 人们就认识到机体免疫系统在肿瘤发生和发展中的重要作用, 肿瘤免疫监视学说也逐渐被广泛接受, 但机体免疫系统在肿瘤治疗中的作用却一直没有受到重视。目前临床上常规

的手术、放疗、化疗和生物治疗,主要着眼于如何最大程度地杀死肿瘤细胞,却忽略了机体免疫反应这个内在因素在肿瘤常规治疗中的变化和作用,也很少考虑这些常规治疗对机体抗肿瘤免疫反应的影响,以及这些影响对肿瘤治疗效应和肿瘤发展、患者预后的意义,而且在很多情况下,肿瘤治疗是以损害机体免疫系统为代价的。例如,抗癌药物筛选和评价一直采用免疫缺陷小鼠移植人肿瘤的模式,这一策略从根本上忽略了免疫反应在抗肿瘤药物治疗中的作用。放疗和许多化疗药物具有免疫抑制作用,尤其在剂量高时,会造成淋巴细胞减少;有些化疗药,如环磷酰胺、甲氨蝶呤等,能够损害T细胞的增殖和效应功能。即使是肿瘤手术切除,为了进行肿瘤的病理分期以及根除可能存在的局部转移灶,常常会进行局部淋巴结清扫,而淋巴结是免疫反应启动和发生的场所。

近几年越来越多的证据表明:机体先天和获得性免疫反应在肿瘤常规治疗的抗肿瘤效应中发挥决定性作用。常规肿瘤治疗导致大量肿瘤细胞死亡,释放肿瘤抗原及一系列“危险因子”,激活抗原提呈细胞的先天免疫信号通路,促进对肿瘤抗原的吞噬、加工、提呈,从而诱发抗肿瘤特异性CTL反应,消除残存肿瘤细胞,或者控制机体残存肿瘤细胞的复发。

2.1 放疗和化疗诱导抗肿瘤免疫反应的机制及其在肿瘤治疗效应中的作用

细胞坏死(necrosis)表现为胞质肿胀,细胞质膜碎裂,释放促炎细胞因子,包括IL-8、IL-10、TNF- α 和HMGB1等“危险信号”,刺激局部炎症反应和诱导DC成熟。与细胞坏死不同,细胞凋亡(apoptosis)表现为细胞核染色质固缩或呈片段状、胞质收缩、形成凋亡小体,细胞质膜会发生一系列精细改变,包括吸附补体成分C1q和血小板反应蛋白;将磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)和钙网蛋白(calreticulin, CRT)由胞内转运到胞膜;下调细胞膜上细胞吞噬抑制信号(如CD47分子)的表达等,诱发吞噬细胞对凋亡细胞的识别和吞噬,从而被“无炎症性”清除。长期以来,普遍认为凋亡导致的细胞死亡是非免疫原性(甚至是致免疫耐受性的),而坏死性细胞死亡是免疫原性的。然而,几乎所有的抗癌药和放射线都是通过激活肿瘤细胞的凋亡程序而发挥抗肿瘤作用的。因此,按照传统的观点,抗癌药和放射线一般认为不会诱发抗肿瘤免疫反应。然而,这种关于免疫原性坏死和免疫耐受性凋亡的分类似乎过于简单,因为研究^[21]发现,坏死肿瘤细胞也可以诱导局部免疫抑制;而凋亡肿瘤细胞也可以诱导机体

免疫反应,诱发免疫反应的能力取决于凋亡诱导剂的选择。因此,肿瘤细胞凋亡可分为免疫原性和非免疫原性凋亡^[22-23]。将蒽环类化疗药(如多柔比星、米托蒽醌)、奥沙利铂或重离子体外放疗处理过的肿瘤细胞皮下注射(不加佐剂)到正常小鼠,会激起强烈的抗肿瘤免疫反应,而且能保护小鼠抵抗同种肿瘤的再次攻击^[23-24]。如果将处理过的肿瘤细胞注射到裸鼠、CD4⁺和CD8⁺T淋巴细胞删除小鼠或者暂时性删除DC的CD11c-DTR转基因小鼠皮下,就不会产生抗肿瘤免疫反应^[23-25]。而且,在用这些化疗药或者放疗给荷瘤小鼠治疗的同时,给小鼠注射抗IFN- γ 、IL-1 β 中和抗体或者它们受体的阻断性抗体,阻断IFN- γ 或者IL-1 β 的生物学功能,会显著减弱这些化疗药和放疗的肿瘤治疗作用;同样,在IFN- γ 或IL-1 β 基因敲除小鼠中,这些化疗药和放疗也失去了肿瘤治疗作用^[24-26]。这些研究结果提示:这些化疗和放疗手段可诱导肿瘤细胞免疫原性凋亡,通过DC和T细胞之间的相互作用,诱发机体抗肿瘤免疫反应,对于肿瘤治疗效应具有决定性作用。

为了研究抗癌剂导致的肿瘤细胞凋亡诱发抗肿瘤免疫反应的分子机制,Obeid等^[24]对抗癌剂处理的死亡肿瘤细胞进行了系统的胞膜蛋白质组学分析,发现与抗癌剂诱导的非免疫原性死亡肿瘤细胞相比,发生免疫原性死亡的肿瘤细胞,在凋亡前会出现CRT由胞内向胞膜的快速转运。进一步研究发现:CRT在胞质膜的表达是DC吞噬死亡肿瘤细胞并诱导抗肿瘤免疫反应所必需的;如果用抗体中和CRT活性或通过siRNA敲除肿瘤细胞CRT的表达,就会抑制DC对死亡肿瘤细胞的吞噬,消除经抗癌剂处理的肿瘤细胞的免疫原性。可见,化疗剂诱导的肿瘤细胞CRT在凋亡早期向胞膜快速转运,为DC提供了吞噬信号,促进DC对肿瘤抗原的加工、提呈。

DC吞噬死亡肿瘤细胞本身不足以诱导机体产生肿瘤特异性免疫反应,吞噬的抗原必须被DC有效地加工,以MHC/抗原肽复合物的形式表达在细胞表面,提呈给特异性T淋巴细胞,触发特异性T细胞反应。未成熟DC吞噬肿瘤抗原后,含有抗原的吞噬小体与溶酶体融合,溶酶体水解酶将抗原蛋白降解。当DC表面的Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)识别了病原相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)或危险相关分子模式(damage associated molecular pattern, DAMP),激活胞内先天免疫信号通路,最终抑制吞噬小体和溶

酶体融合, 转而促进抗原加工、提呈^[27]。Apetoh 等^[25]利用正常小鼠和各种 TLR 基因敲除小鼠骨髓来源的 DC, 负载经化疗药或放射处理的肿瘤细胞, 系统研究了不同 TLR 在 DC 介导的肿瘤抗原提呈中的作用, 发现除了 TLR4^{-/-}和 MyD88^{-/-} DC 不能有效提呈肿瘤抗原外, 其他基因缺失的 DC 在体外和体内都能有效诱导抗原特异性 T 细胞反应, 说明死亡肿瘤细胞抗原的交叉提呈依赖于 DC 内 TLR4/MyD88 先天免疫信号通路的激活。进一步分析发现, DC 是通过细胞表面 TLR4 结合死亡/应激肿瘤细胞释放的“危险信号”——HMGB1, 激活 MyD88 依赖的信号通路。与正常荷瘤小鼠相比, 化疗药(表柔比星、奥沙利泊)和局部 X 射线照射对 TLR4^{-/-}或 MyD88^{-/-}的荷瘤小鼠的肿瘤治疗效果显著下降。此外, TLR4 信号通路在肿瘤治疗中的重要作用在临床上也得到了证实, 对白种人群乳腺癌患者进行 TLR4 基因多态性分析发现, 具有 TLR4 Asp299Gly 等位基因变异的患者, 放、化疗后肿瘤复发显著快于其他患者, 而发生 Asp299Gly 突变的 TLR4 分子与 HMGB1 的结合显著下降^[25]。Ghiringhelli 等^[26]在不同基因敲除或特定分子功能缺失小鼠肿瘤模型中, 分析化疗药诱发机体特异性 CD8⁺T 细胞反应的能力, 发现 Nlrp3^{-/-}及 caspase-1^{-/-} 敲除小鼠, 或 IL-1 β R 拮抗剂处理的小鼠, 对可诱导肿瘤细胞免疫原性肿瘤死亡的化疗, 不能产生有效的抗肿瘤免疫反应。深入研究发现, 免疫原性死亡的肿瘤细胞能够释放 ATP, 作用于 DC 上的 P2X7 受体, 触发 DC 胞内 NLRP3 炎性体的装配和活化, 从而激活 caspase-1, 通过蛋白酶解加工 IL-1 β 前体, 分泌成熟的 IL-1 β 。IL-1 β 是免疫原性死亡肿瘤细胞诱发肿瘤特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺T 淋巴细胞反应所必需的, IL-1 β 阻断性抗体或 IL-1 β R 拮抗剂均能抑制免疫原性死亡肿瘤细胞在体外和体内诱发的抗肿瘤 T 细胞反应; 如果将重组 IL-1 β 蛋白和免疫原性死亡肿瘤细胞一起注射到 Nlrp3^{-/-} 或 caspase-1^{-/-} 荷瘤小鼠皮下, 可以恢复这些小鼠产生抗肿瘤 T 细胞反应的能力。

放射治疗除了通过直接的细胞杀伤造成肿瘤细胞免疫原性死亡, 诱发抗肿瘤免疫反应外, 还能刺激组织和细胞产生多种反应, 增强抗肿瘤免疫反应。低剂量的电离辐射能上调肿瘤细胞上 MHC I 类分子、肿瘤相关抗原和 CD95 的表达, 从而增强 CTL 活性, 促进 T 细胞向照射肿瘤部位聚集^[28]。电离辐射与 T 细胞过继治疗或者 CpG 具有很强的协同抗肿瘤作用。此外, 临床上的肿瘤热疗异位效应, 即照射

单一肿瘤可使远处未照射的转移瘤缩小, 也说明肿瘤照射治疗可以诱导系统性的抗肿瘤免疫反应。

2.2 抗肿瘤免疫反应在肿瘤靶向治疗中的作用

肿瘤抗体靶向治疗, 以其高特异性、低毒性作用以及和化疗之间很好的协同作用而成为快速发展的肿瘤治疗方法。目前已有 9 种抗肿瘤细胞和组织的抗体用于临床治疗, 其中 5 种抗体结合高表达在血液肿瘤细胞上的 3 种蛋白, 包括慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphatic leukemia, CLL)细胞上的 CD52、急性骨髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)细胞上的 CD33、霍奇金淋巴瘤(non-hodgkin's lymphoma, NHL)和 CLL 细胞上的 CD20; 另外 4 种抗体结合高表达在实体瘤细胞/组织上的 3 种蛋白, 包括表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)、EGFR 相关蛋白 HER2/neu、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)^[29]。抗 HER2/neu 抗体是其中的一个典型代表, 其肿瘤治疗机制传统认为主要包括两方面^[30-31]: 一是阻断 HER2/neu 受体与家族其他成员间的二聚化, 抑制受体分子胞质内酪氨酸磷酸化; 此外, 还可以促进 HER2/neu 受体的胞吞, 降低细胞表面的表达, 从而阻断或抑制 HER2/neu 受体的胞内信号; 二是通过抗体 Fc 段结合先天免疫细胞(包括中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、NK 细胞等)表面的 FcR, 激活抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)。

笔者最近动物实验发现^[32], 抗 HER2/neu 抗体的肿瘤治疗效应除了需要 FcR⁺ 先天免疫细胞外, 还依赖于“危险信号”HMGB1、TLR 信号通路、CD8⁺T 细胞反应。用抗体中和 HMGB1、删除 CD8⁺ 细胞, 或者在 Rag-1^{-/-}(无 T、B 淋巴细胞)、MyD88^{-/-} 小鼠中, 抗 HER2/neu 抗体的肿瘤治疗作用都显著降低。这些结果提示: 抗 HER2/neu 抗体的肿瘤治疗机制和放、化疗导致的免疫原性肿瘤细胞死亡类似。抗 HER2/neu 抗体通过 ADCC 作用和阻断受体信号导致肿瘤细胞死亡, 释放“危险信号”HMGB1, 激活 DC 细胞内 MyD88 依赖的先天免疫信号通路, 促进 DC 吞噬肿瘤抗原, 进行加工、交叉提呈, 触发抗肿瘤免疫反应。活化的肿瘤特异性 T 细胞再迁移到肿瘤部位, 最终消除残存的肿瘤细胞, 或者控制残存肿瘤细胞的生长。目前, 抗 HER2/neu 抗体在临床上主要与化疗药联合应用, 对 HER2/neu⁺ 肿瘤患者具有良好的治疗效果, 抗体对 HER2/neu⁺ 肿瘤的化疗增敏效应被认为是主要作用机制之一^[30], 而化疗是否会影响抗 HER2/neu 抗体的肿瘤治疗作用, 还没

有被研究过。笔者在小鼠移植乳腺癌模型中对抗体和化疗的不同联合应用方案进行研究,惊奇地发现,虽然两者联合应用能够显著促进原位肿瘤消退,但是,与单独抗体治疗或先用化疗后用抗体的联合治疗方案相比,先用抗体后用化疗的联合治疗方案明显降低了机体产生的记忆性抗肿瘤免疫反应,能够降低治愈小鼠对肿瘤细胞再攻击的免疫保护作用。此外,抗 CD20 抗体对淋巴瘤的治疗,也被证明能诱导机体产生特异性抗肿瘤 T 细胞免疫反应,而且治愈小鼠能产生长期的免疫记忆保护反应,可以抵抗肿瘤细胞的再攻击^[33]。这些研究结果说明了机体内在的抗肿瘤免疫反应在肿瘤治疗中的重要作用,尤其是在使用目前常规治疗手段杀伤和清除大部分肿瘤细胞后,对机体最终控制残存肿瘤细胞的生长,直至消除肿瘤起着决定性作用,对于机体控制肿瘤复发和转移可能具有更重要的意义。上述发现也为只关注如何有效杀伤肿瘤细胞,而忽视肿瘤治疗引起的机体反应及其对肿瘤治疗影响的各种肿瘤治疗策略提出了警示^[32,34]。

选择复制型溶瘤病毒代表了另一种肿瘤靶向治疗方法,通过细胞内病毒复制,释放子代病毒导致肿瘤细胞裂解。病毒具有极强的免疫原性,病毒感染可诱导显著的抗病毒免疫反应。抑制机体免疫系统可增强溶瘤病毒的治疗效果。然而,近来有临床前和临床证据提示,溶瘤病毒的肿瘤治疗效应部分是由机体免疫反应介导的。笔者与英国实验室合作建立了溶瘤腺病毒可感染的、具有正常免疫功能的小鼠肿瘤模型,对机体免疫反应在溶瘤病毒肿瘤治疗中的作用进行了研究。笔者发现,用抗体删除 CD8⁺T 细胞,可显著抑制溶瘤腺病毒的肿瘤治疗效果,说明溶瘤腺病毒的肿瘤治疗效应依赖于 CD8⁺T 细胞反应。而且,与可以增强肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞反应的抗 4-1BB 抗体联合应用,可以显著增强溶瘤腺病毒的肿瘤治疗效应^[35]。可见,机体 T 细胞反应在溶瘤病毒治疗中起着重要作用。

最新研究^[36]表明,肿瘤细胞离开肿瘤灶进入循环系统是肿瘤发生、发展过程中一个常见的早期事件。大量证据显示,旨在直接破坏和清除肿瘤细胞的常规治疗策略(包括手术切除),不可能彻底地清除体内所有肿瘤细胞。由于残存的微小肿瘤转移灶和休眠肿瘤细胞的存在,肿瘤复发已成为肿瘤治疗的主要问题。大量研究及临床证据显示,肿瘤常规治疗能够诱发机体抗肿瘤免疫反应,机体内在抗肿瘤免疫反应对于清除残存的肿瘤细胞和微小的转移灶或者控制它们的复发起着决定性作用。

3 肿瘤免疫抑制微环境限制了机体的抗肿瘤免疫反应

由于机体免疫系统在肿瘤发生和发展中的重要作用,肿瘤免疫治疗一直是肿瘤研究的一个热点,产生了各种旨在增强抗肿瘤免疫反应(主要 T 细胞免疫反应)的肿瘤免疫治疗策略和方法。绝大多数免疫治疗对小的动物移植肿瘤具有良好的治疗效果,但对晚期移植肿瘤或者原发肿瘤治疗效果却不理想,临床试验的肿瘤治疗效果更不如人意。笔者研究中也发现,虽然抗 HER2/neu 抗体的肿瘤治疗可以诱发抗肿瘤免疫反应的产生,而且在抗体的肿瘤治疗效应中起着重要作用,但是,旨在提高 T 细胞免疫反应的联合治疗,如联合应用抗 4-1BB (CD137) 抗体、抗 CD40 抗体、抗 PD-1 抗体、IL-15R/IL-15 融合蛋白等,均不能显著提高抗 HER2/neu 抗体对晚期乳腺癌移植肿瘤的治疗效果(未发表结果)。造成这一局面的原因很多,主要的原因可能是肿瘤免疫抑制微环境对抗肿瘤免疫反应的抑制作用(待发表)。

肿瘤免疫抑制微环境是肿瘤细胞为了生存和发展,在逃逸肿瘤免疫监视的基础上,为了对抗机体抗肿瘤免疫反应,充分利用机体免疫系统自身的负调控机制,在肿瘤微环境中建立的全方位免疫抑制网络。它是一个在抗肿瘤免疫选择压力作用下的动态免疫抑制网络,是随抗肿瘤免疫反应的变化而变化。无论是肿瘤疫苗免疫、抗体治疗、还是肿瘤反应性淋巴细胞过继治疗等,仅单方面地诱发和增强抗肿瘤免疫反应,肿瘤细胞会在抗肿瘤免疫压力作用下发生变化和调整,发生免疫逃逸,并增强相应的免疫抑制信号,最终在另一层面建立起足以抑制抗肿瘤免疫、使肿瘤细胞不被杀伤的免疫抑制微环境。因此,只增强抗肿瘤免疫,而不改善或解除肿瘤免疫抑制,就难以取得良好的治疗效果。

大量研究证据显示,无论是肿瘤快速生长期,还是肿瘤发展晚期,荷瘤机体内均有抗肿瘤免疫反应的存在,但是被肿瘤免疫抑制微环境不同程度地控制。越来越多的靶向肿瘤免疫抑制机制的研究结果,说明了肿瘤免疫抑制微环境对促进肿瘤发展和抵抗肿瘤治疗效应的关键作用。虽然肿瘤免疫抑制微环境是各种免疫抑制机制参与的网络调控,但在很多情况下仅靶向一种免疫抑制分子或者细胞就可以显著提高机体抗肿瘤免疫反应。例如,在多个肿瘤模型中,用抗 CD25 抗体消除 Treg 细胞可以排斥随后接种的肿瘤细胞的生长^[37];在小鼠模型或者临

床试验中,用抗体或者 IL-2/白喉毒素删除 Treg 细胞的联合治疗,可显著增强肿瘤疫苗、肿瘤局部照射以及 T 细胞过继治疗的抗肿瘤免疫反应^[38-39]。

CTLA-4 是表达在活化 T 细胞和 Treg 细胞上的抑制性共刺激分子受体,抗 CTLA-4 抗体(ipilimumab)2011 年被美国 FDA 批准用于晚期有转移的黑素瘤患者的治疗。Ⅲ期临床试验显示,抗 CTLA-4 抗体单独或者与 gp 100 蛋白联合治疗组患者,较 gp 100 蛋白单独治疗组患者的生存率显著延长(gp 100 蛋白单独治疗组为 6.4 个月,单独使用抗 CTLA-4 抗体治疗组为 10.1 个月,抗 CTLA-4 抗体与 gp100 蛋白联合治疗组为 10.0 个月),而且抗 CTLA-4 抗体治疗组患者生存率延长与 CD8⁺ T 细胞活化增加和 Treg 细胞减少相关^[40]。抗 CTLA-4 抗体还能显著提高肿瘤化疗的治疗效果,抗 CTLA-4 抗体与达卡巴嗪(dacarbazine)联合治疗黑素瘤患者,联合治疗和单用达卡巴嗪治疗的 1 年生存率分别为 47.3% 和 36.3%, 2 年生存率分别为 28.5% 和 17.9%, 3 年生存率分别为 20.8% 和 12.2%^[41]。

PD-1 是另一个表达在活化 T 细胞上的抑制性共刺激分子受体,其配体 B7-H1(PD-L1)高表达在肿瘤组织细胞上,表达水平与患者的病程和预后相关。PD-1 信号抑制 T 细胞功能,导致肿瘤患者中抗原特异性 T 细胞耐受或功能衰竭。动物实验^[42-43]证明,阻断 B7-H1/PD-1 信号可以显著提高抗肿瘤免疫反应。抗 B7-H1、PD-1 抗体的肿瘤治疗临床试验已进入Ⅱ期,并取得良好的临床治疗效应。

T 细胞过继治疗通过给患者直接输入体外活化、扩增的肿瘤反应性 T 细胞,来克服肿瘤患者体内的 T 细胞耐受机制,但临床治疗效果并不理想。然而,在给肿瘤患者输入 T 细胞之前,用化疗药进行非骨髓性淋巴细胞清除,可以显著提高 T 细胞过继治疗的肿瘤治疗效应,目前已成为肿瘤反应性 T 细胞过继治疗的通用方法^[44]。非骨髓性淋巴细胞清除彻底改变了机体免疫环境,除了消除内源性细胞对 T 细胞激活因子的竞争,增加抗原提呈细胞的数量和功能外,主要原因是消除了肿瘤免疫抑制微环境,包括清除免疫抑制性细胞和因子^[45]。可见,全面控制肿瘤免疫抑制微环境对抗肿瘤免疫细胞的功能发挥具有非常重要的作用。

虽然在很多情况下仅靶向一种免疫抑制分子或细胞就可以显著提高机体抗肿瘤免疫反应,但肿瘤免疫抑制微环境是一个动态的、多种免疫抑制信号参与的调控网络,阻断或删除一两个免疫抑制信号,肿瘤会代偿性地增强其他免疫抑制机制。在维持机

体抗肿瘤免疫的基础上,全面控制肿瘤免疫抑制微环境,将会显著提高目前临床常规肿瘤治疗的效应,从而极大提高肿瘤患者的治愈率和生存时间,这也是肿瘤免疫研究必须面对的极大挑战。

4 结 语

肿瘤常规治疗能够有效杀伤和清除肿瘤细胞,导致临床肿瘤的缩小和消失,具有明确的临床疗效,因此,目前的常规治疗方法一直是、将来也一定是肿瘤治疗首选的治疗手段。但是,这些治疗手段并不能完全清除机体内的肿瘤细胞。而由于肿瘤细胞高度的变异性,在环境压力作用下会产生具有治疗抗性的肿瘤细胞,导致肿瘤复发。对于中晚期肿瘤,目前的常规治疗往往不能发挥有效的治疗效果。由于传统认为肿瘤常规治疗,尤其是放疗和化疗,对机体免疫具有损伤和抑制作用,肿瘤常规治疗主要着眼于如何尽可能有效杀伤和清除肿瘤细胞,对治疗机制的研究也一直集中于对肿瘤细胞内在分子的调控作用上。近来研究结果显示,肿瘤细胞外在因素,特别是机体内在的抗肿瘤免疫反应,在肿瘤常规治疗效应中具有重要作用,尤其是在清除和控制残存肿瘤细胞、延缓和防止肿瘤复发上发挥着尤为关键的作用。因此,对机体抗肿瘤免疫反应具有主导抑制作用的肿瘤免疫抑制微环境,必定在肿瘤常规治疗效应中起着更为重要的作用。深入系统地研究肿瘤免疫微环境,尤其是肿瘤常规治疗导致的肿瘤免疫微环境变化,可以加深对肿瘤、抗肿瘤免疫反应和肿瘤免疫抑制微环境之间的相互作用及其作用机制的理解,从而建立更为合理的肿瘤治疗方案,发展有效的肿瘤治疗新策略。

[参 考 文 献]

- [1] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation [J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [2] Stutman O. Tumor development after 3-methylcholanthrene in immunologically deficient athymic-nude mice [J]. Science, 1974, 183(4124): 534-536.
- [3] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoeediting [J]. Annu Rev Immunol, 2004, 22(3): 329-360.
- [4] Bancroft GJ, Schreiber RD, Unanue ER. Natural immunity: A T-cell-independent pathway of macrophage activation, defined in the SCID mouse [J]. Immunol Rev, 1991, 12(1): 5-24.
- [5] Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, et al. Natural innate and adaptive immunity to cancer [J]. Annu Rev Immunol, 2011, 29: 235-271.
- [6] Smyth MJ, Thia KY, Street SE, et al. Perforin-mediated cytotoxicity is critical for surveillance of spontaneous lymphoma [J]. J

- Exp Med, 2000, 192(5): 755-760.
- [7] Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, et al. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumor immunogenicity [J]. Nature, 2001, 410(6832): 1107-1111.
- [8] Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome [J]. Science, 2006, 313(5795): 1960-1964.
- [9] Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer [J]. Nature, 2012, 481(7381): 306-313.
- [10] Loeb LA, Loeb KR, Anderson JP. Multiple mutations and cancer [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(3): 776-781.
- [11] Koebel CM, Vermi W, Swann JB, et al. Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state [J]. Nature, 2007, 450(7171): 903-907.
- [12] MacKie RM, Reid R, Junor B. Fatal melanoma transferred in a donated kidney 16 years after melanoma surgery [J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 567-568.
- [13] Elder GJ, Hersey P, Branley P. Remission of transplanted melanoma—clinical course and tumor cell characterisation [J]. Clin Transplant, 1997, 11(6): 565-568.
- [14] Suranyi MG, Hogan PG, Falk MC, et al. Advanced donor-origin melanoma in a renal transplant recipient: Immunotherapy, cure, and retransplantation [J]. Transplantation, 1998, 66(5): 655-661.
- [15] Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells [J]. Annual Rev Immunol, 2007, 25: 267-296.
- [16] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases [J]. J Immunol, 1995, 155(3): 1151-1164.
- [17] Deng L, Zhang H, Luan Y, et al. Accumulation of foxp3⁺ T regulatory cells in draining lymph nodes correlates with disease progression and immune suppression in colorectal cancer patients [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(16): 4105-4112.
- [18] Ostrand-Rosenberg S, Sinha P. Myeloid-derived suppressor cells: Linking inflammation and cancer [J]. J Immunol, 2009, 182(8): 4499-4506.
- [19] Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(49): 17174-17179.
- [20] Denardo DG, Brennan DJ, Rexhepaj E, et al. Leukocyte complexity predicts breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy [J]. Cancer Discov, 2011, 1(1): 54-67.
- [21] Vakkila J, Lotze MT. Inflammation and necrosis promote tumor growth [J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(8): 641-648.
- [22] Blachere NE, Darnell RB, Albert ML. Apoptotic cells deliver processed antigen to dendritic cells for cross-presentation [J]. PLoS Biol, 2005, 3(6): e185.
- [23] Casares N, Pequignot MO, Tesniere A, et al. Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death [J]. J Exp Med, 2005, 202(12): 1691-1701.
- [24] Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death [J]. Nat Med, 2007, 13(1): 54-61.
- [25] Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy [J]. Nat Med, 2007, 13(9): 1050-1059.
- [26] Ghiringhelli F, Apetoh L, Tesniere A, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome in dendritic cells induces IL-1 β -dependent adaptive immunity against tumors [J]. Nat Med, 2009, 15(10): 1170-1178.
- [27] Shiratsuchi A, Watanabe I, Takeuchi O, et al. Inhibitory effect of Toll-like receptor 4 on fusion between phagosomes and endosomes/lysosomes in macrophages [J]. J Immunol, 2004, 172(4): 2039-2047.
- [28] Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, et al. The anticancer immune response: Indispensable for therapeutic success ? [J]. J Clin Invest, 2008, 118(6): 1991-2001.
- [29] Dougan M, Dranoff G. Immune therapy for cancer [J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27(1): 83-117.
- [30] Hudis CA. Trastuzumab—mechanism of action and use in clinical practice [J]. N Engl J Med, 2007, 357(1): 39-51.
- [31] Spector NL, Blackwell KL. Understanding the mechanisms behind trastuzumab therapy for human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(34): 5838-5847.
- [32] Park S, Jiang Z, Mortenson ED, et al. The therapeutic effect of anti-HER2/neu antibody depends on both innate and adaptive immunity [J]. Cancer Cell, 2010, 18(2): 160-170.
- [33] Abes R, Gelize E, Fridman WH, et al. Long-lasting antitumor protection by anti-CD20 antibody through cellular immune response [J]. Blood, 2010, 116(6): 926-934.
- [34] Smyth MJ, Stagg J. Her 2 in 1 [J]. Cancer Cell, 2010, 18(2): 101-102.
- [35] Yang Y, Li X, Wang Y, et al. CD8⁺ T cell response mediates the therapeutic effects of oncolytic adenovirus in an immunocompetent mouse model [J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57(1): 48-53.
- [36] Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells [J]. Cell, 2009, 139(7): 1315-1326.
- [37] Casares N, Arribillaga L, Sarobe P, et al. CD4⁺/CD25⁺ regulatory cells inhibit activation of tumor-primed CD4⁺ T cells with IFN- γ -dependent antiangiogenic activity, as well as long-lasting tumor immunity elicited by peptide vaccination [J]. J Immunol, 2003, 171(11): 5931-5939.
- [38] Morse MA, Hobeika AC, Osada T, et al. Depletion of human regulatory T cells specifically enhances antigen-specific immune responses to cancer vaccines [J]. Blood, 2008, 112(3): 610-618.
- [39] Kudo-Saito C, Schlom J, Camphausen K, et al. The requirement of multimodal therapy (vaccine, local tumor radiation, and reduc-

- tion of suppressor cells) to eliminate established tumors [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(12): 4533-4544.
- [40] Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma [J]. N Engl J Med, 2010, 363(8): 711-723.
- [41] Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma [J]. N Engl J Med, 2011, 364(26): 2517-2526.
- [42] Wang S, Chen L. Immunobiology of cancer therapies targeting CD137 and B7-H1/PD-1 cosignal pathways [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2011, 344(3): 245-267.
- [43] Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: Safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates [J]. J Clin Oncol, 2010, 28(19): 3167-3175.
- [44] Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes [J]. Science, 2002, 298(5594): 850-854.
- [45] Gattinoni L, Powell DJ, Jr Rosenberg SA, et al. Adoptive immunotherapy for cancer: Building on success [J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6(5): 383-393.
- [收稿日期] 2012-04-27 [修回日期] 2012-05-15
- [本文编辑] 韩丹

· 科技动态 ·

吲哚 2,3-双加氧酶作为信号分子参与免疫耐受的调节

吲哚 2,3-双加氧酶 1(Indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO1)是酪氨酸代谢过程中重要的限速酶,在包括树突状细胞(dendritic cell, DC)在内的多种细胞中能催化酪氨酸降解。最近发现 IDO1 是一个重要的免疫调节分子,参与多种生理和病理过程,包括感染、过敏、自身免疫性疾病、慢性炎症、移植排斥反应以及肿瘤免疫逃逸等。

CD11cIcloB220hi 浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid DC, pDC)是一类重要的 DC,在病毒感染时可释放大量的 I 型干扰素(IFN- α 和 IFN- β)。同时在不同环境和细胞因子作用时,能调节 T 细胞的分化。

该作者发现 IFN- γ 刺激能促进 pDC 表达 IDO1, IDO1 通过降解酪氨酸,促进 T 细胞凋亡。转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)也能促进 pDC 中 IDO1 的表达,但是 IDO1 不依赖于其酶活性,而是作为一个信号分子参与信号的传递,介导免疫耐受。

首先,作者将 TGF- β 刺激的 CD8⁻ DC(即 pDC)与 naive T 细胞共孵育。TGF- β 刺激的 pDC 能促使 T 细胞向 Treg 分化。用 siRNA 干扰 IDO1 的表达后, TGF- β 的这种作用消失,用 IDO1 酶活性抑制剂 1-MT 抑制 IDO1 时 TGF- β 的这种作用依然存在。正常情况下, TGF- β 刺激 pDC 能诱导膜型 TGF- β 表达的升高,在 IDO1 敲除的 pDC 中 TGF- β 的这种作用消失。同时在共培养上清中促炎因子 IL-6 表达上升、抑炎因子 IL-27 表达下降,促使 T 细胞向 Treg 分化。

在体内实验中,作者采用了小鼠足底皮肤试验(一种迟发型超敏反应的模型), CD4⁺ T 细胞会对自身抗原产生免疫反应。TGF- β 刺激的 pDC 通过 IDO1 促进 Treg 的生成,诱导免疫耐受,且不依赖于 IDO1 的酶活性。该研究接着讨论了 TGF- β 通过 IDO1 介导免疫耐受的分子机制。研究发现, IDO1 分子中存在着免疫受体酪氨酸抑制性基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM)。ITIM 的重要功能之一就是能招募 SHP-1、SHP-2, 并使其磷酸化。TGF- β 刺激 pDC 后,通过 PI3K 通路和酪氨酸激酶 Fyn 使 IDO1 磷酸化, IDO1 的 ITIM 磷酸化后,与 SHP-1、SHP-2 结合。IDO1 和 SHP-1、SHP-2 结合后通过非经典 NF- κ B 通路 p52 和 RelB, 导致了下游基因的表达,包括 IDO1 自身的表达、I 型干扰素的释放、膜型 TGF- β 的表达。I 型干扰素能促进膜型 TGF- β 的表达,导致 naive T 细胞向 Treg 分化。此外, TGF- β 刺激的 pDC 能通过 IDO1 诱导长时程的免疫耐受。体内实验发现, TGF- β 刺激 pDC 能诱导 Treg 产生,介导免疫耐受,这种作用在 3 个月后依然存在。

该研究的主要亮点是发现 IDO1 作为信号分子参与了免疫耐受的调节,且不依赖于 IDO1 的酶活性,揭示了 TGF- β 诱导免疫耐受的分子机制。

[杨阳 摘译,于益芝 审阅. Pallotta MT, Orabona C, Volpi C, et al. Nat Immunol, 2011, 12(9): 870-878.]