

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.03.021

淋巴细胞浸润肿瘤的调节机制

The regulation mechanisms of lymphocytes infiltrating into tumors

张宗勤^{1,2}, 张小峰¹综述; 施乐华¹, 殷正丰²审阅(1. 第二军医大学 东方肝胆外科医院 肝外四科, 上海 200438; 2. 第二军医大学 东方肝胆外科医院 分子肿瘤实验室, 上海 200438)

[摘要] 淋巴细胞归巢受机体组织微环境的调控, 肿瘤形成时机体微环境的变化影响淋巴细胞的迁移和浸润。肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltration lymphocyte, TIL)作为重要的抗肿瘤免疫细胞, 其分布和浸润程度与肿瘤发生、发展以及预后密切相关。淋巴细胞浸润肿瘤的调节机制可能涉及肿瘤脉管对淋巴细胞浸润的正反两方面的调节, 黏附分子和趋化因子介导淋巴细胞外渗、募集、肿瘤抗原定位淋巴细胞浸润程度以及其他免疫细胞影响淋巴细胞浸润等。如何引导淋巴细胞向肿瘤迁移、能否创造利于瘤内浸润的微环境等, 对于加速 TIL 临床转化, 使肿瘤患者更大程度获益具有重要意义。

[关键词] 肿瘤; 淋巴细胞归巢; 肿瘤浸润淋巴细胞; 调节

[中图分类号] R730.2; R730.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)03-0372-04

淋巴细胞归巢不是随机的, 是受机体组织微环境调控的定向游动。在肿瘤形成过程中, 随着机体微环境的变化, 淋巴细胞向肿瘤部位的迁移和浸润也发生变化。研究^[1]显示, 在不同类型肿瘤、不同个体的同一类型肿瘤, 以及同一肿瘤的不同部位之间, 肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltration lymphocyte, TIL)的分布和浸润程度均有不同。现就肿瘤形成过程中淋巴细胞浸润肿瘤的调节机制做如下综述。

1 肿瘤脉管对淋巴细胞浸润影响的正反两面性

肿瘤脉管指肿瘤组织内异常的血管和淋巴管, 与瘤内正常的脉管相比, 其在结构上可能发生了诸多改变, 表现为弯曲、膨胀、呈囊性、易通透, 内皮细胞形态异常, 周细胞排列松散或缺失, 基底膜增厚或者完全缺失^[2-3]。该类结构异常易导致脉管功能异常, 表现为血液和淋巴液流动改变, 造成瘤内低氧、高酸、高压的肿瘤特异性微环境, 进而影响淋巴细胞向肿瘤归巢。这些结构和功能的改变, 一方面增加瘤内高内皮静脉的形成, 利于淋巴细胞浸润肿瘤; 另一方面导致血管生成调节因子的异常表达, 不利于淋巴细胞浸润。

1.1 肿瘤脉管中的高内皮静脉利于淋巴细胞浸润

淋巴细胞从外周淋巴器官向肿瘤迁移时, 需识别、黏附内皮细胞, 穿越内皮细胞与基膜后进入肿瘤组织。穿越内皮多发生在毛细血管后微静脉, 又称高内皮静脉(high endothelial venule, HEV)。HEV是一种特殊的毛细管后微静脉, 其内皮细胞呈立方形, 利于淋巴细胞外渗。HEV受微环境调控, 炎症

产生的复杂微环境可诱导血管内皮细胞形成 HEV 样内皮细胞^[4]。研究^[5]发现, 在多种人体实体瘤内存在 HEV, 并且在高密度淋巴细胞浸润的部位均存在 HEV 样血管。

1.2 肿瘤脉管中高表达的血管生成调节因子不利于淋巴细胞浸润

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)能刺激内皮细胞增殖、脉管生成以及提高内皮的通透性, 形成利于淋巴细胞浸润的脉管系统^[3]。VEGF在大多数实体瘤内过表达, 促进肿瘤内新生脉管生成, 影响淋巴细胞向肿瘤细胞的浸润^[6]。Stockmann等^[7]的研究显示, 瘤内血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A, VEGF-A)缺失能形成正常脉管, 反之则形成异常脉管。Shrimali等^[8]通过阻断 B16 黑素瘤鼠 VEGF/VEGF-2 信号, 可使荷瘤鼠瘤体内异常脉管正常化, T 淋巴细胞浸润增加。此外, Buckanovich等^[9]发现, 在内皮缩血管肽 B 受体高表达的肿瘤组织中缺乏 TIL; 进一步研究^[10-11]显示, 内皮缩血管肽 B 受体

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81101716); 国家重大科技专项资助项目(No. 2012ZX10002012010-10)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81101716), and the Key Foundation of National Science and Technology of China (No. 2012ZX10002012010-10)

[作者简介] 张宗勤(1984-), 男, 河南省南阳市人, 硕士生, 主要从事肝胆外科方面的临床及基础研究。E-mail: zhangzqgx@yahoo.cn

[通信作者] 殷正丰(Yin Zhengfeng, corresponding author), E-mail: yinzfk@yahoo.com.cn

能通过上调和再定位细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1),阻碍 T 淋巴细胞与内皮细胞的黏附。相反,与正常内皮细胞相比,肿瘤内皮细胞能够抑制 ICAM-1 正常表达。因此认为,内皮缩血管肽 B 受体可能是淋巴细胞向肿瘤归巢的一个主要障碍。

2 细胞因子调节淋巴细胞浸润

淋巴细胞需要与一系列黏附分子和趋化因子等细胞因子结合,才能完成向肿瘤迁移和浸润的过程^[12]。其中,细胞黏附分子介导细胞间或细胞与细胞外基质间相互接触和结合,利于淋巴细胞外渗;而趋化因子通过招募血液中的免疫细胞促进淋巴细胞向炎症肿瘤的迁移。此外,还有其他细胞因子也能够影响淋巴细胞浸润。

2.1 细胞黏附分子介导淋巴细胞外渗

细胞黏附分子包括整合素家族和选择素家族,能介导细胞间或细胞与细胞外基质间的相互接触和结合。其中,整合素 $\alpha 4\beta 7$ 可以和淋巴细胞功能相关抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1, LFA-1)相结合,使淋巴细胞稳定黏附于内皮细胞,从而利于淋巴细胞外渗。选择素家族包括 L-选择素、P-选择素和 E-选择素。L-选择素介导淋巴细胞在 HEV 上滚动、黏附,P-选择素参与中性粒细胞和单核细胞的黏附,E-选择素介导内皮细胞与中性粒细胞、记忆性 T 细胞黏附。Onrust 等^[13]的研究证实,L-选择素和整合素 $\alpha 4\beta 7$ 对于淋巴细胞浸润肿瘤具有正向调控作用。

2.2 趋化因子促进淋巴细胞募集

趋化因子能招募血液中单核细胞、中性粒细胞和淋巴细胞进入炎症部位,在免疫反应中起重要作用。已知的趋化因子有 40 多种,其中 CCL19 和 CCL21 结合 CCR7 受体,促进肿瘤内淋巴细胞募集^[14],而 CX3CR2 受体能增强肿瘤特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T-lymphocyte, CTL)的杀伤^[15]。此外,CXCR3 和(或)CCR5 受体结合 CXCL9/10/11 或 CCL5,P-选择素糖蛋白配体 1 结合 P-选择素和 E-选择素,也参与活化淋巴细胞向肿瘤部位迁移。

2.3 其他细胞因子诱导幼稚 T 淋巴细胞浸润肿瘤

在某些条件下,幼稚 T 淋巴细胞也能够浸润肿瘤,并在肿瘤部位活化^[16]。Schrama 等^[17]的研究发现,淋巴毒素 α 可使瘤内形成 HEV 样结构,成为幼稚 T 细胞可能的浸润途径。Yu 等^[18]报道,TNF 超家族成员 LIGHT 能黏附和激活幼稚 T 淋巴细胞,

使淋巴细胞突破进入肿瘤的内皮障碍。然而,幼稚 T 细胞是定向还是随机向肿瘤部位迁移仍有待进一步研究。

3 肿瘤抗原的存在决定淋巴细胞的浸润程度

肿瘤抗原是细胞在癌变过程中出现的特异性物质。其中黑素瘤抗原基因(melanoma antigen-encoding gene, MAGE)编码的产物是一种肿瘤排斥性抗原,由人类白细胞抗原 I 类分子提呈,可被 CTL 特异性识别。研究^[19]发现,肿瘤分期越晚,MAGE-1 表达率越高,淋巴细胞浸润度越深。Mrass 等^[20]的研究显示,只有在同源肿瘤抗原存在时,TIL 才能保持较高的迁移活性。而 Boissonnas 等^[21]研究证实,肿瘤内不表达相关抗原时,CTL 只存在于肿瘤边缘区域,提示 CTL 浸润肿瘤深部时,必须有肿瘤内相关肿瘤抗原的存在。

4 免疫细胞间相互作用影响淋巴细胞向肿瘤浸润

在免疫应答中,免疫细胞不仅与外来抗原反应,而且免疫细胞之间也存在着相互联系与作用,影响淋巴细胞向肿瘤浸润。其中,树突状细胞(dendritic cell, DC)不仅参与 $CD8^+$ T 淋巴细胞的抗原提呈,还能直接、间接地参与淋巴细胞迁移;而 $CD4^+$ T 细胞、辅助性 T 细胞 17(T help cell 17, Th17)也在淋巴细胞浸润过程中发挥着重要作用。

4.1 DC 影响 $CD8^+$ T 细胞浸润路径

DC 是目前所知功能最强的抗原提呈细胞。DC 参与 $CD8^+$ T 淋巴细胞的抗原提呈,且不同的 DC 亚群能诱导不同的浸润途径^[22-24]。DC 还可以调控血管生长,利于淋巴细胞迁移。Moussion 等^[25]报道,DC 耗竭后血管内皮细胞增殖明显减弱。DC 在外周组织被激活后迁移至淋巴结,诱导 VEGF 表达增加而刺激内皮细胞增殖,利于淋巴细胞迁移。

4.2 $CD4^+$ T 细胞伴随 $CD8^+$ T 细胞浸润的全过程

$CD4^+$ T 细胞不仅参与 $CD8^+$ T 细胞增殖、活化,同时调控 CTL 在炎症组织的浸润。研究^[26]发现, $CD4^+$ T 细胞可以调控炎症组织微环境,促进 CTL 募集,其依赖因素可能包括: $CD8^+$ T 细胞 CXCR3 表达; $CD4^+$ T 细胞分泌 IFN- γ 诱导 CXCL9 和 CXCL10 产生。研究^[27]发现,活化的 $CD4^+$ T 细胞可以通过诱导 $CD8^+$ T 细胞表达 CCR5, 以及 DC 和(或) $CD4^+$ T 细胞产生 CCL3 和 CCL4,促进 $CD8^+$ T 细胞聚集于 $CD4^+$ T 细胞和 DC 反应的部位。在肿瘤微环境中 $CD4^+$ T 细胞同样有重要作用。Wong 等^[28]发现,瘤内存在 $CD4^+$ T 细胞能够促进 $CD8^+$ T 细胞

募集;进一步研究^[29]显示,瘤内 CD4⁺T 细胞产生的 IFN- γ 能刺激趋化因子 CXCL9/10 和 CCL2/3/5 表达增加,进而增强 CD8⁺T 细胞浸润。此外,CD4⁺T 细胞还可以扩张淋巴结的供给微动脉,利于初始 CD8⁺T 淋巴细胞发生免疫反应。然而,DC 和(或) CD4⁺T 细胞介导微动脉重塑的机制目前尚不明确。

4.3 Th17 促进淋巴细胞浸润

Th17 能分泌 IL-6 和 IL-17,对 T 细胞和 NK 细胞向肿瘤部位迁移具有促进作用^[30],这与研究中观察到 IL-17 的作用相一致^[31]。Th17 还能诱导产生利于淋巴细胞归巢的趋化因子 CCL2 和 CCL20^[32]。另外,Kryczek 等^[33]发现,Th17 也可以协同 IFN- γ 产生淋巴细胞募集所需的趋化因子 CXCL9 和 CXCL10。然而,Th17 的具体作用仍存在争论,亟待进一步的研究。

5 结语

综上,淋巴细胞浸润肿瘤与机体免疫反应、患者预后等均重要相关,CD8⁺T 细胞浸润程度高的肿瘤患者有较强的抗瘤能力和良好的预后^[34]。然而,肿瘤微环境的复杂性、免疫细胞间联系的多样性,使淋巴细胞归巢及相应的抗肿瘤免疫的研究仍存在很大挑战。如何引导淋巴细胞向肿瘤迁移,以及能否创造利于瘤内浸润的微环境等,解决这些问题对于加速 TIL 的临床转化,使肿瘤患者受益具有重要意义。

[参考文献]

[1] Rahir G, Moser M. Tumor microenvironment and lymphocyte infiltration [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(6): 751-759.

[2] Jain RK. Normalization of tumor vasculature: An emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. *Science*, 2005, 307(5706): 58-62.

[3] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis [J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 298-307.

[4] Girard JP, Moussion C, Förster R. HEVs, lymphatics and homeostatic immune cell trafficking in lymph nodes [J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(11): 762-773.

[5] Martinet L, Garrido I, Filleron T, et al. Human solid tumors contain high endothelial venules: Association with T- and B-lymphocyte infiltration and favorable prognosis in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(17): 5678-5687.

[6] Greenberg JI, Shields DJ, Barillas SG, et al. A role for VEGF as a negative regulator of pericyte function and vessel maturation [J]. *Nature*, 2008, 456(7223): 809-813.

[7] Stockmann C, Doedens A, Weidemann A, et al. Deletion of vascular endothelial growth factor in myeloid cells accelerates tumorigenesis [J]. *Nature*, 2008, 456(7223): 814-818.

[8] Shrimali RK, Yu Z, Theoret MR, et al. Antiangiogenic agents can increase lymphocyte infiltration into tumor and enhance the effectiveness of adoptive immunotherapy of cancer [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(15): 6171-6180.

[9] Buckanovich RJ, Facciabene A, Kim S, et al. Endothelin B receptor mediates the endothelial barrier to T cell homing to tumors and disables immune therapy [J]. *Nat Med*, 2008, 14(1): 28-36.

[10] Fotis L, Giannakopoulos D, Stamogiannou L, et al. Intercellular cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in children. Do they play a role in the progression of atherosclerosis? [J]. *Hormones (Athens)*, 2012, 11(2): 140-146.

[11] Quezada S, Peggs KS, Simpson TR, et al. Limited tumor infiltration by activated T effector cells restricts the therapeutic activity of regulatory T cell depletion against established melanoma [J]. *J Exp Med*, 2008, 205(9): 2125-2138.

[12] Finlay D, Cantrell DA. Metabolism, migration and memory in cytotoxic T cells [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(2): 109-117.

[13] Onrust SV, Hartl PM, Rosen SD, et al. Modulation of L-selectin ligand expression during an immune response accompanying tumorigenesis in transgenic mice [J]. *J Clin Invest*, 1996, 97(1): 54-64.

[14] Wendland M, Willenzon S, Kocks J, et al. Lymph node T cell homeostasis relies on steady state homing of dendritic cells [J]. *Immunity*, 2011, 35(6): 945-957.

[15] Tang I, Hu HD, Hu P, et al. Gene therapy with CX3CL1/Fractalkine induces antitumor immunity to regress effectively mouse hepatocellular carcinoma [J]. *Gene Ther*, 2007, 14(16): 1226-1234.

[16] Thompson ED, Enriquez HL, Fu YX, et al. Tumor masses support naive T cell infiltration, activation, and differentiation into effectors [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(8): 1791-1804.

[17] Schrama D, Thor Straten P, Fischer WH, et al. Targeting of lymphotoxin-alpha to the tumor elicits an efficient immune response associated with induction of peripheral lymphoid-like tissue [J]. *Immunity*, 2001, 14(2): 111-121.

[18] Yu P, Lee Y, Liu W, et al. Priming of naive T cells in-side tumors leads to eradication of established tumors [J]. *Nat Immunol*, 2004, 5(2): 141-149.

[19] Kulkarni P, Shiraiishi T, Rajagopalan K, et al. Cancer/testis antigens and urological malignancies [J]. *Nat Rev Urol*, 2012, 9(7): 386-396.

[20] Mrass P, Takano H, Ng LG, et al. Random migration precedes stable target cell interactions of tumor-infiltrating T cells [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(12): 2749-2761.

[21] Boissonnas A, Fetler L, Zeelenberg IS, et al. *In vivo* imaging of cytotoxic T cell infiltration and elimination of a solid tumor [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(2): 345-356.

[22] Mora JR, Bono MR, Manjunath N, et al. Selective imprinting of gut-homing T cells by Peyer's patch dendritic cells [J]. *Nature*, 2003, 424(6944): 88-93.

[23] Mora JR, Cheng G, Picarella D, et al. Reciprocal and dynamic

- control of CD8 T cell homing by dendritic cells from skin- and gut-associated lymphoid tissues [J]. J Exp Med, 2005, 201(2): 303-316.
- [24] Mullins DW, Sheasley SL, Ream RM, et al. Route of immunization with peptide-pulsed dendritic cells controls the distribution of memory and effector T cells in lymphoid tissues and determines the pattern of regional tumor control [J]. J Exp Med, 2003, 198(7): 1023-1034.
- [25] Moussion C, Girard JP. Dendritic cells control lymphocyte entry to lymph nodes through high endothelial venules [J]. Nature, 2011, 479(7374): 542-546.
- [26] Nakanishi Y, Lu B, Gerard C, et al. CD8(+) T lymphocyte mobilization to virus-infected tissue requires CD4(+) T-cell help [J]. Nature, 2009, 462(7272): 510-513.
- [27] Castellino F, Huang AY, Altan-Bonnet G, et al. Chemokines enhance immunity by guiding naive CD8⁺ T cells to sites of CD4⁺ T cell-dendritic cell interaction [J]. Nature, 2006, 440(7086): 890-895.
- [28] Wong SBJ, Bos R, Sherman LA. Tumor-specific CD4⁺ T cells render the tumor environment permissive for infiltration by low-avidity CD8⁺ T cells [J]. J Immunol, 2008, 180(5): 3122-3131.
- [29] Kumamoto Y, Mattei LM, Sellers S, et al. CD4⁺ T cells support cytotoxic T lymphocyte priming by controlling lymph node input [J]. Proc Nat Acad Sci U S A, 2011, 108(21): 8749-8754.
- [30] Zou W, Restifo NP. T(H)17 cells in tumour immunity and immunotherapy [J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(4): 248-256.
- [31] Khader SA, Bell GK, Pearl JE, et al. IL-23 and IL-17 in the establishment of protective pulmonary CD4⁺ T cell responses after vaccination and during Mycobacterium tuberculosis challenge [J]. Nat Immunol, 2007, 8(4): 369-377.
- [32] Lee S, Hayashi H, Maeda M, et al. Environmental factors producing autoimmune dysregulation-chronic activation of T cells caused by silica exposure [J]. Immunobiology, 2012, 217(7): 743-748.
- [33] Kryczek I, Banerjee M, Cheng P, et al. Phenotype, distribution, generation, and functional and clinical relevance of Th17 cells in the human tumor environments [J]. Blood, 2009, 114(6): 1141-1149.
- [34] Nunes C, Wong R, Mason M, et al. Expansion of a CD8(+) PD-1(+) replicative senescence phenotype in early stage CLL patients is associated with inverted CD4: CD8 ratios and disease progression [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(3): 678-687.
- [收稿日期] 2013 -01 -24 [修回日期] 2013 -04 -20
- [本文编辑] 周玲玲

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》关于抵制学术不端行为的声明

中国广大科技工作者坚持严谨求实、刻苦钻研、勇于创新的科学精神,取得了举世瞩目的科技成果,代表了中国科技工作者的主流。然而,近年来少数科技人员出现了抄袭剽窃、伪造数据、篡改数据、虚假署名、一稿多投等学术不端行为,影响了科技期刊的正常出版工作,给作者及其所在单位甚至我们国家带来非常负面的影响。《中国肿瘤生物治疗杂志》是中国肿瘤生物治疗领域惟一的高级学术刊物,一贯坚持“学术至上,质量第一”的原则,坚决抵制学术不端行为,努力维护学术纯洁性。为维护学术道德、保证期刊质量和学术声誉,本刊特作以下声明:

1. 作者投稿时须作出稿件无学术不端行为的声明。

2. 稿件审查过程中,本刊编辑部将采用“学术不端文献检测系统”,通过大量国内外学术文献的全文比对,对稿件进行学术不端行为的检查。

3. 本刊已加入“《中国学术文献网络出版总库》删除学术不端文献系统”,该系统协助本刊对已发表论文的学术不端行为进行全面复核。

4. 已发表的论文一经查实有学术不端行为,本刊将立即删除,第一时间刊登撤销声明,终止该论文在各相关数据库、文摘库中的传播,尽快消除不良影响。同时,视情节轻重给该文作者以下处理:书面警告,通知作者所在单位,在本领域相关期刊间通报,2年内本刊不刊登有其署名的稿件,相关学术责任人(通讯作者)署名的其他稿件延缓审稿和刊登等。

(本刊编辑部)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本期广告目录

沈阳三生制药有限责任公司	封二
华威国际(香港)有限公司北京华威中仪科技有限公司	封三
碧迪医疗器械有限公司	封四
上海白泽生物基因发展有限公司	插页