

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.05.001

· 专家论坛 ·

## 脑胶质瘤免疫微环境的研究进展

储以微 (复旦大学基础医学院 免疫学系 复旦大学生物治疗研究中心, 上海 200032)



储以微, 免疫学博士, 教授, 博士生导师。中国免疫学会理事, 上海市免疫学会感染与免疫专业主任委员, 复旦大学生物治疗研究中心主任, 基础医学院免疫学系主任。曾在美国华盛顿大学做访问学者, 在美国 EACRI 研究中心做访问教授。主要从事肿瘤免疫及免疫生物治疗、炎癌转化的免疫学机制研究, 在肿瘤患者化疗后体内免疫系统重建及机制研究、TLRs 抗肿瘤免疫效应及机制研究等方面取得了系列成果。作为课题负责人, 承担国家“973”项目、国家自然科学基金、教育部博士点项目、上海市科委重点项目等多项研究课题, 研究成果发表在 *J Immunol*、*Cancer Res*、*Cell Death Differ*、*Cancer Immunol Immunother* 等杂志上, 共 180 余篇。担任《中国免疫学杂志》、《中国肿瘤生物治疗杂志》、《国际免疫学杂志》、《现代免疫学》等杂志编委。负责博士生《现代免疫学》、全英语课程《Medical Immunology》的授课及课程建设, 其中《Medical Immunology》入选教育部首批来华留学英语授课品牌课程; 主编教育部规划教材《免疫学与病原生物学》, 参编《Tumor Immunology Cancer Vaccines》和《实用内科学》等专著。E-mail: yiwei\_chu@126.com。

[摘要] 脑胶质瘤是最常见的中枢神经系统原发性肿瘤, 由于存在血脑屏障及其独特的组织器官区域免疫特性, 对脑组织免疫微环境与疾病发生发展的相关性研究显得尤为重要。本文将聚焦于生理与病理状态下脑局部免疫微环境的改变, 通过对脑胶质瘤局部的各类免疫细胞、免疫分子的作用及机制的介绍, 阐明脑胶质瘤局部免疫微环境的抑制效应促进了肿瘤的生长; 通过对脑胶质瘤局部免疫微环境的调控和干预, 期望改善或逆转上述负性作用, 为脑胶质瘤的免疫及综合治疗提供依据。

[关键词] 脑胶质瘤; 微环境; 免疫抑制

[中图分类号] R739.41; R730.2; R730.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)05-0485-08

## Recent advances in the research on immune microenvironment of glioma

Chu Yiwei (Department of Immunology and Biotherapy Research Center, Fudan University, Shanghai 200032, China)

[Abstract] Glioma is one of the most common primary tumors in the central nervous system. Given the presence and unique immune characteristics of the blood-brain barrier, investigations of the relationship between the immune microenvironment of the brain and glioma development are particularly important. In recent years, significant advances have been made in the research on: (1) changes in the immune microenvironment in physiological and pathological states of the brain, (2) the function of various immune cells and immune molecules in the local microenvironment of glioma, (3) the relationship between local immunosuppression and glioma growth, and (4) the regulation and intervention of the glioma immune microenvironment in light of potential treatment of glioma. The aim of this paper is to review these advances.

[Key words] glioma; microenvironment; immune suppression

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(5): 485-492]

脑胶质瘤是最常见的中枢神经系统原发性肿瘤, 发病率约十万分之五<sup>[1]</sup>, 其中多形性成胶质细胞瘤 (glioblastoma multiforme, GBM) 恶性程度最高, 占成人原发性脑肿瘤的 50%<sup>[2]</sup>。未经治疗的 GBM 患者生存期低于 6 个月, 经手术切除联合化疗等综合治疗后, GBM 患者中位生存期为 14.6 个月, 3 年生存率仅 10%<sup>[3]</sup>。在生理情况下, 由于血脑屏障的存在, 脑实质中极少有来自血液循环的免疫细胞。

当肿瘤发生后, 各类免疫细胞可通过受损或开放的

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 91229110, No. 81273215); 上海市科委重点项目 (No. 13JC1407700)。The National Nature Science Foundation of China (No. 91229110, No. 81273215), and the Key Projects of Science and Technology Commission of Shanghai (No. 13JC1407700)

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20140928.1507.001.html>

血脑屏障迁移至肿瘤区域,或发挥抗肿瘤效应,或受肿瘤细胞影响产生免疫抑制表型,诱导抑制功能,进而促进肿瘤生长。因此,系统阐明脑胶质瘤发生发展过程中组织局部的区域免疫学特性将为疾病的诊治提供依据。

### 1 生理状态下中枢神经系统的免疫监视

中枢神经系统(central nervous system, CNS)长期以来被认为是人体免疫豁免区域,其主要原因是血液循环与 CNS 之间的血脑屏障(blood brain barrier, BBB)对免疫细胞及大分子的通过具有选择性阻碍作用。但是,生理条件下的 CNS 也存在免疫监视功能,这有赖于 CNS 中存在的两群髓系来源细胞:巨噬细胞和小胶质细胞。巨噬细胞主要来源于血液循环,分布于软脑膜、脉络膜、血管周隙等处,能够获取 CNS 血管及脑脊液中的抗原<sup>[4]</sup>;小胶质细胞是定植于脑实质的髓系来源细胞,能够在病原刺激下迅速活化,产生巨噬细胞样反应,分泌促炎因子和趋化因子,在脑实质内发挥免疫监视作用<sup>[5]</sup>。此外,在脑脊液中存在 T 细胞,且大部分为记忆性 T 细胞<sup>[6-7]</sup>,这些 T 细胞能够识别脑膜巨噬细胞所提呈的抗原,发挥免疫监视功能。

### 2 疾病状态下中枢神经系统的免疫应答

在神经系统感染过程中,血管周隙和脑实质中的树突状细胞(dendritic cell, DC)开始出现并且数量显著增多<sup>[8]</sup>。有研究<sup>[9-10]</sup>发现,脑中 DC 能摄取抗原并迁移至引流淋巴结诱导外源性免疫应答。此

外,CNS 抗原可随脑组织间液通过血管外周隙进入脑脊液,这些抗原可被蛛网膜下隙脑膜巨噬细胞识别并提呈,抗原也可随脑脊液在流经鼻黏膜时进入淋巴管,至颈深淋巴结诱导免疫应答<sup>[11]</sup>,即脑脊液从一定意义上取代了淋巴液的作用。

对于脑胶质瘤而言,免疫系统对其识别过程较非 CNS 肿瘤更为复杂。非 CNS 肿瘤,由于外周组织中存在 DC 等经典的抗原提呈细胞,DC 等能够及时获取并提呈抗原,进而激活机体产生抗肿瘤免疫应答。而脑胶质瘤所处的脑实质缺少此类经典抗原提呈细胞,导致脑胶质瘤抗原难以在早期被免疫系统识别。在脑胶质瘤发展的初期,小胶质细胞可获取脑胶质瘤相关抗原,但其作为局部抗原提呈细胞<sup>[12]</sup>,无法越过 BBB 迁移至外周淋巴组织诱导 T 细胞等产生免疫应答;当肿瘤生长引起 BBB 结构功能受损后,来自血液循环的抗原提呈细胞可获取肿瘤相关抗原,并迁移至引流淋巴结诱导免疫应答<sup>[13]</sup>,肿瘤抗原也可直接通过脑脊液进入淋巴循环后诱导免疫应答,但此时免疫系统已错过清除肿瘤的最佳时机。

### 3 脑胶质瘤的免疫微环境

脑胶质瘤组织区域的微环境由肿瘤细胞、免疫细胞及其分泌的各类因子等组成,其中,由肿瘤细胞或免疫细胞分泌的多种因子,如生长因子、趋化因子、促炎因子、抑炎因子等组成了微环境网络,它们之间相互作用,共同调控区域内的免疫效应,并最终决定疾病的转归(图 1)。

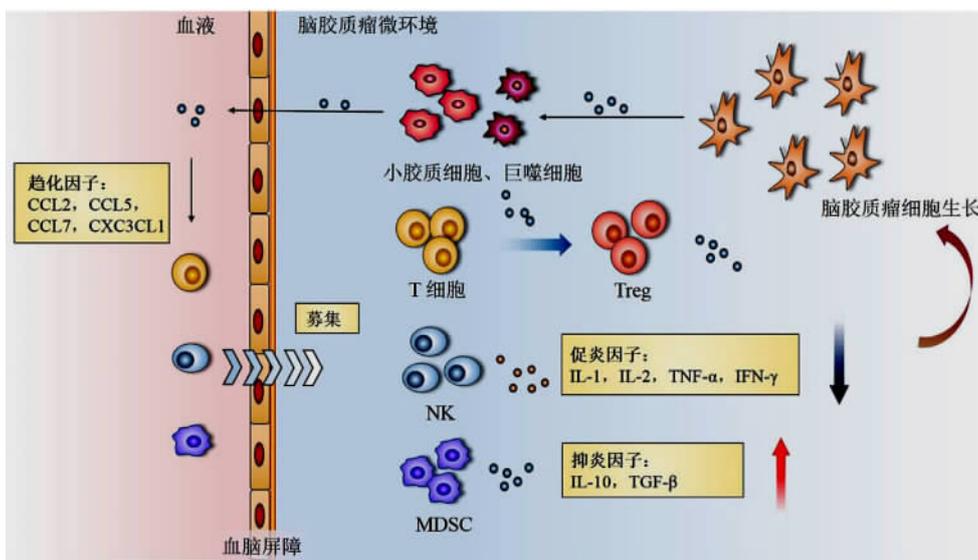


图 1 脑胶质瘤免疫微环境示意图

### 3.1 脑胶质瘤微环境中的常见免疫细胞亚群

3.1.1 巨噬细胞 脑胶质瘤浸润的巨噬细胞主要来自外周血循环中的单核细胞,单核细胞被招募至肿瘤区域分化为肿瘤浸润巨噬细胞<sup>[14]</sup>。此外,脑膜巨噬细胞、血管周巨噬细胞等 CNS 巨噬细胞也可迁移进入肿瘤区域。

肿瘤浸润巨噬细胞可在肿瘤细胞直接或间接的作用下产生免疫抑制表型,如脑胶质瘤可通过 IL-10 自分泌和旁分泌途径上调肿瘤浸润巨噬细胞抑制性共刺激分子 B7-H1 的表达<sup>[15]</sup>;可激活 STAT3 途径,促进巨噬细胞抑制因子( macrophage inhibitory cytokine-1, MIC-1)、转化生长因子( transforming growth factor, TGF- $\beta$ 1)以及可溶性集落刺激因子( soluble colony-stimulating factor, sCSF)的分泌,引起单核细胞的募集、巨噬细胞吞噬功能抑制、肿瘤局部 T 细胞增殖抑制等效应<sup>[16]</sup>。此外,微环境中的表皮生长因子( epidermal growth factor, EGF)可诱导肿瘤细胞表达血管细胞黏附分子-1( vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1),促进巨噬细胞与肿瘤细直接接触,为肿瘤细胞诱导巨噬细胞免疫抑制创造条件<sup>[17]</sup>。

3.1.2 小胶质细胞 小胶质细胞广泛分布于脑和脊髓,约占脑组织胶质细胞总数的 10%,是中枢神经系统防御最主要的形式。当 CNS 发生感染或损伤时,小胶质细胞从静息状态迅速活化、增殖,通过上调 MHC II 类分子的表达,发挥吞噬和抗原提呈作用。研究<sup>[18]</sup>发现,脑胶质瘤中存在大量的小胶质细胞浸润,且其浸润程度与脑胶质瘤的恶性程度呈正相关。脑胶质瘤源性因子可通过增强黏着斑激酶和 PI-3K/Akt 通路,提高小胶质细胞的迁移能力、持续增殖能力,促进小胶质细胞在肿瘤局部聚集<sup>[19]</sup>。

虽然活化的小胶质细胞在感染性疾病或损伤时具有较强的免疫功能,然而在脑胶质瘤微环境中,小胶质细胞却难以启动抗肿瘤免疫应答<sup>[20]</sup>。一方面,脑胶质瘤细胞来源的信号能够激活 ERK/p38 MAPK 通路,抑制 STAT1 和 NF- $\kappa$ B 信号,引起小胶质细胞“免疫失能”<sup>[19]</sup>;脑胶质瘤细胞高表达的晚期糖基化终末产物 S100B 能够诱导小胶质细胞/巨噬细胞 STAT3 活化,从而引起免疫抑制<sup>[21]</sup>。另一方面,小胶质细胞本身可通过分泌基质金属蛋白酶 9 ( metalloprotease-9, MMP-9)、表皮生长因子和血管内皮生长因子( vascular endothelial growth factor, VEGF)促进脑胶质瘤细胞的增殖和侵袭<sup>[22]</sup>。小胶质细胞还可高表达膜结合 I 型金属蛋白酶( membrane type 1 metalloprotease, MT1-MMP),MT1-MMP

能够活化金属蛋白酶原 2( pro-MMP-2),引起基质的降解,从而促进脑胶质瘤侵袭<sup>[23]</sup>。

3.1.3 髓系来源抑制性细胞 髓系来源抑制性细胞( myeloid-derived suppressor cell, MDSC)是一类异质性细胞,包括未成熟的巨噬细胞、粒细胞、DC 和其他处在早期分化阶段的髓系细胞。脑胶质瘤组织中存在 MDSCs 的浸润,可通过多种途径发挥免疫抑制作用,介导肿瘤免疫逃逸。主要表现为吞噬功能下降,免疫抑制分子 IL-10、TGF- $\beta$ 、B7H1 表达升高,抑制 DC 的分化,降低 NK 细胞的细胞毒性,诱导 T 细胞凋亡等<sup>[24]</sup>。

研究<sup>[25]</sup>表明,脑胶质瘤微环境中 GM-CSF 水平升高,可促进 MDSC 表达 IL-4R $\alpha$ , IL-4R $\alpha$  与 IL-13 结合后可激活 STAT6 和 STAT1 信号通路,诱导精氨酸酶-1 的产生,从而上调抑制性细胞因子 TGF- $\beta$  的表达,促进免疫抑制微环境的形成。粒系来源 MDSC 产生的各项免疫抑制表型与 STAT3 通路活化有关,阻断 STAT3 通路能够减少微环境中粒系来源 MDSC 聚集,并且促进 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞在肿瘤局部的浸润<sup>[26]</sup>。流行病学研究<sup>[27]</sup>发现,非固醇类抗炎药(如阿司匹林)可降低脑胶质瘤发病风险,因为多数非固醇类抗炎药为 COX-2 抑制剂,而 COX-2 途径可直接促进系统 MDSC 生成并在微环境中聚集,抑制 CTL 的浸润,从而促进脑胶质瘤生长。

3.1.4 调节性 T 细胞 调节性 T 细胞( regulatory T cell, Treg)的免疫抑制特性是引起胶质瘤免疫逃逸的重要原因。正常人的脑组织中并不存在 Treg,而 GBM 微环境中存在大量免疫抑制性 Treg 细胞,且脑胶质瘤中 Treg 浸润程度与肿瘤来源、病理分级密切相关<sup>[28]</sup>。Treg 肿瘤浸润水平的升高往往都伴随着效应 T 细胞的降低<sup>[29]</sup>。Treg 表面的 CTLA-4 与抗原提呈细胞表面的 CD80、CD86 结合,抑制效应 T 细胞的活化<sup>[30]</sup>。Treg 不仅对效应 T 细胞具有抑制作用,还可通过分泌 IL-10、TGF- $\beta$  等细胞因子抑制其他免疫细胞功能,并刺激肿瘤细胞及其他免疫细胞分泌抑制性细胞因子,诱导 T 细胞向 Treg 转化<sup>[31-32]</sup>。

脑胶质瘤化疗药替莫唑胺可有效降低脑胶质瘤中 Treg 的比例<sup>[33]</sup>,并减少 Treg 在脑胶质瘤局部的聚集,促进机体的抗肿瘤免疫效应。使用 CD25 抗体耗竭胶质瘤荷瘤小鼠体内的 Treg,可显著延长小鼠生存时间<sup>[29]</sup>。Grauer 等<sup>[34]</sup>发现,耗竭 Treg 可增强过继免疫治疗对脑胶质瘤的效果。Treg 耗竭疗法单独或与其他免疫治疗策略的联合使用有望显著改善脑胶质瘤患者预后。

3.1.5 NK 细胞 NK 细胞可分泌穿孔素和颗粒

酶, 诱导靶细胞凋亡或坏死, 其杀伤效应无 MHC 限制性。在脑胶质瘤中, NK 是最早被募集至胶质瘤区域的免疫细胞之一。动物模型研究<sup>[35]</sup>表明, 肿瘤浸润 NK 细胞数量在肿瘤接种后 1 周达到峰值, 占 CNS 全部白细胞数量的 50%, 随后逐渐降低。NK 细胞可被神经元分泌的 CX3CL1 及小胶质细胞或浸润炎性细胞所分泌的 CCL2 和 CXCL10 所募集。

尽管 NK 细胞在脑胶质瘤患者的血液和 TIL 中的比例增加, 但 NK 细胞功能却受到抑制, 并且功能受损现象在高级别脑胶质瘤中更为显著<sup>[36]</sup>。胶质瘤细胞可通过直接接触的方式抑制 NK 细胞的功能。有研究<sup>[37]</sup>发现, 表达于脑胶质瘤表面的凝集素样转录物 1 (lectin-like transcript 1, LLT1) 可与 NK 细胞表面的 CD161 相互作用, 抑制 NK 细胞的细胞毒性和 IFN 分泌。此外, 脑胶质瘤细胞表达的转化生长因子 HLA-E 和 HLA-G 可抑制 NK 细胞抗肿瘤活性<sup>[38-39]</sup>。最近研究<sup>[40-41]</sup>发现, CNS 浸润的 NK 细胞抑制性受体 NKG2A 表达水平升高, 并可产生大量趋化因子 CCL2, 引起单核细胞在肿瘤局部聚集。

### 3.2 脑胶质瘤免疫微环境中的细胞因子

细胞因子是肿瘤微环境中细胞之间或细胞与组织之间的通信介质, 与免疫细胞在肿瘤微环境中的分化和激活等过程密切相关。已有大量研究证实脑胶质瘤细胞可合成分泌 IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等免疫调控细胞因子。细胞因子及其受体在肿瘤局部形成综合调控网络, 对肿瘤的进展和肿瘤免疫反应起着重要作用。

**3.2.1 IL-10** IL-10 在脑胶质瘤的发生发展过程中发挥重要的免疫抑制作用。已有研究<sup>[42]</sup>表明, 脑胶质瘤患者肿瘤局部 IL-10 水平升高, 且 IL-10 水平随肿瘤的进展逐渐升高。除脑胶质瘤自身分泌的 IL-10 外, 肿瘤源性因子还能够诱导巨噬细胞和小胶质细胞分泌 IL-10。目前临床前研究通过 IL-10 抗体、受体、反义寡核苷酸或 siRNA 等方式抑制 IL-10 的活性, 以期改善脑胶质瘤患者的预后。

**3.2.2 TGF- $\beta$**  TGF- $\beta$  作为一种多功能的调节性多肽, 参与多种细胞行为, 包括增殖、凋亡、分化、迁移、黏附、存活、血管生成和免疫监视等。TGF- $\beta$  与其受体结合后启动 Smad 信号级联反应, Smad 复合物在细胞核内调节免疫抑制、血管生成和细胞增殖相关基因的表达<sup>[43]</sup>。1987 年 Wran 等<sup>[44]</sup>首次发现了人 GBM 来源的 TGF- $\beta$  可抑制 T 细胞活性。TGF- $\beta$ 2 在脑胶质瘤中过表达, 并与肿瘤分级呈正相关<sup>[45]</sup>。TGF- $\beta$ 2 除了能够抑制淋巴细胞的增殖, 在免疫系统中还具有多种免疫抑制功能, 如抑制免疫

细胞的活性, 改变免疫抑制的细胞因子平衡, 抑制抗原提呈等。因此, 抑制 TGF- $\beta$ 2 或许能够促进机体的抗肿瘤免疫反应。Trabedersen (AP-12009) 是一种合成的反义寡核苷酸, 能够阻断 TGF- $\beta$ 2 的产生, 在一项随机对照 II 期试验结果表明, 接受 Trabedersen 治疗的脑瘤患者生存率显著高于对照组<sup>[46]</sup>。

**3.2.3 趋化因子** 诸多证据表明, 趋化因子在胶质细胞、巨噬细胞等免疫细胞向肿瘤局部迁移过程中发挥重要作用。使用 CXCR4 拮抗剂 AMD3100 或 CXCR3 拮抗剂 NBI-74330 治疗脑胶质瘤小鼠, 可显著抑制肿瘤细胞的生长和增殖, 延长生存期<sup>[47-48]</sup>。CCL2 抗体可以有效地阻止小胶质细胞/巨噬细胞向肿瘤区域迁移<sup>[49]</sup>。也有研究<sup>[50]</sup>报道, 小胶质细胞/巨噬细胞在肿瘤局部的聚集与 CCL7 有关, CCL7 在脑胶质瘤细胞系中大量表达, 且其表达水平与肿瘤组织中浸润的小胶质细胞/巨噬细胞数量呈正相关。趋化因子家族其他成员也有类似的功能, 脑胶质瘤患者 CCL5 的表达和生存预后具有相关性, CCL5 高表达的患者平均存活时间较短<sup>[51]</sup>。

**3.2.4 集落刺激因子** 集落刺激因子 (colony-stimulating factor, CSF) 在巨噬细胞分化发育过程中发挥重要作用。脑胶质瘤高表达 GM-CSF, 且表达水平与患者预后呈负相关; 肿瘤源性 M-CSF 可促进巨噬细胞向 M2 型分化<sup>[52]</sup>。Pyonteck 等<sup>[53]</sup>使用 GM-CSFR 抑制剂靶向巨噬细胞, 结果表明 GM-CSFR 抑制剂能够有效减缓肿瘤生长, 但并未引起巨噬细胞数量下降。进一步研究发现, 在 GM-CSFR 信号缺失条件下, 包括 GM-CSF、IFN- $\gamma$  在内的脑胶质瘤源性细胞因子可维持巨噬细胞存活, 但巨噬细胞免疫抑制相关表型有所下调, 提示 GM-CSFR 抑制剂虽然无法减少浸润巨噬细胞数量但可减弱其免疫抑制功能。通过 CSF 抑制剂调节脑胶质瘤中浸润的巨噬细胞数量, 或改变浸润巨噬细胞的免疫抑制特征有望改善脑胶质瘤患者的预后<sup>[54]</sup>。GM-CSF 已作为佐剂被广泛应用于多种自体肿瘤细胞和 DC 疫苗相关的临床研究<sup>[55]</sup>。

## 4 脑胶质瘤免疫微环境的调控和干预

上述免疫细胞亚群和细胞因子在脑胶质瘤局部的聚集充分说明了它们共同形成了胶质瘤的免疫抑制微环境, 阻碍了抗肿瘤免疫应答的产生。因此, 如何减轻或逆转这种抑制状态, 已成为研究的热点。

### 4.1 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 激动剂

TLRs 是一类表达于多种免疫细胞的模式识别受体, 通过识别病原相关分子模式 (PAMP) 发挥效

应<sup>[56-57]</sup>。TLRs与相应的激动剂结合后可活化并募集衔接蛋白 MyD88 或 TRIF 进而激活下游信号通路<sup>[58]</sup>。除 TLR3 外所有 TLRs 成员皆可募集 MyD88,并活化下游 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 通路,进而促进炎症细胞因子的转录表达<sup>[58]</sup>;TRIF 可被 TLR3 和 TLR4 募集,激活 IRF3 和 NF- $\kappa$ B 通路,并产生 I 型干扰素和炎症细胞因子发挥免疫效应<sup>[59]</sup>。TLR4 激动剂 LPS 协同 IFN- $\gamma$  活化的小鼠小胶质细胞可通过自噬依赖的方式促进死亡受体抵抗的脑胶质瘤细胞死亡,而对星形胶质细胞瘤和神经元没有毒性<sup>[60]</sup>;TLR3 激动剂 poly I:C 能够促进小胶质细胞分泌 TNF $\alpha$  等细胞因子,对肿瘤产生杀伤效应<sup>[61]</sup>。

在小鼠脑胶质瘤模型中,颅内注射 LPS 能够激活小胶质细胞/巨噬细胞,从而抑制肿瘤生长<sup>[62]</sup>。颅内注射 TLR9 激动剂 CpG 可降低胶质瘤局部浸润的 Treg 数量,并延长生存时间<sup>[63]</sup>。笔者课题组<sup>[64]</sup>研究发现,TLR1/2 激动剂 BLP 能够诱导全身性的抗肿瘤免疫反应,维持效应 T 细胞的存活,增强 T 细胞过继转输治疗的效果,进而延长脑胶质瘤小鼠的存活时间。Prins 等<sup>[65]</sup>使用 TLR7 激动剂咪喹莫特(imiquimod)或 TLR3 激动剂 poly-ICLC 联合 ATL-DC 疫苗进行治疗,结果显示 23 位 GBM 患者中位总生存期为 31.4 个月(自手术确诊开始),1、2、3 年生生存率分别为 91%、55% 和 47%,取得了一定的效果。这些研究结果均表明了 TLRs 激动剂有望成为胶质瘤免疫治疗的一种重要的生物制剂。

#### 4.2 抗体制剂

单克隆抗体等生物大分子药物组织通透性低,进入 CNS 的能力有限,难以在肿瘤局部发挥效应<sup>[66]</sup>。因此,小分子药物在脑胶质瘤治疗中的应用受到了越来越多的关注,其中双特异性抗体(bispecific antibodies, basAbs)是一类很有前景的小分子药物。双特异性抗体是一种含有 2 种特异性抗原结合位点的抗体,组织通透性高,能够在肿瘤细胞和免疫细胞之间架起桥梁,Choi 等<sup>[66]</sup>构建的双特异性抗体 bscEGFRv III xCD3 能够在体外实验中有效促进 T 细胞产生针对 EGFRv III<sup>+</sup> 脑胶质瘤细胞的特异性杀伤。bscEGFRv III xCD3 静脉注射治疗颅内荷瘤小鼠可显著延长小鼠生存期,而肿瘤细胞表面 EGFRv III 阻断后无法发挥该抗肿瘤免疫效应。这些结果表明双特异性抗体能够穿过组织屏障精确地靶向胶质瘤,发挥抗肿瘤效应。

#### 4.3 干扰素

I 型干扰素能够通过各种机制直接抑制肿瘤细胞增殖,诱导 DC 成熟,并促进其抗原提呈功能。研

究<sup>[67]</sup>报道,在脑胶质瘤患者中,外源性给予 IFN- $\alpha$  或- $\beta$  诱导 DC 活化,可引起 TNF- $\alpha$  相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-induced ligand, TRAIL)的表达上调,并且直接通过 TRAIL 促进肿瘤细胞杀伤。IFN- $\beta$  可以单独使用或与其他抗肿瘤制剂联合应用,如作为药物的增敏剂与亚硝基脲联合用于恶性神经胶质瘤的治疗,可提高抗肿瘤药物的细胞毒性<sup>[68-69]</sup>。IFN- $\gamma$  通过诱导肿瘤细胞表达 MHC 分子,从而易化免疫系统对其识别;IFN- $\gamma$  可诱导 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、NK 细胞和抗原提呈细胞的活化<sup>[70]</sup>。IFN- $\gamma$  也被证实在诱导免疫细胞表达死亡配体过程中发挥关键作用,包括 Fas 配体(FasL)和 TRAIL,FasL 和 TRAIL 可通过与肿瘤细胞表面含死亡结构域的受体结合,诱导细胞凋亡<sup>[71]</sup>。目前 IFN $\alpha$ 、IFN- $\beta$  已被应用治疗脑胶质瘤,IFN- $\gamma$  也将是一个有前景的生物制剂。

## 5 展 望

CNS 的免疫微环境不仅难以诱导抗肿瘤免疫应答,而且显著促进脑胶质瘤的发生发展,可谓雪上加霜。因此,改善脑胶质瘤免疫微环境,至少从逆转免疫应答的角度起到了扶正的作用,可以作为抗胶质瘤的一个重要目标。基于此,亟待解决系列关键问题:小胶质细胞在脑胶质瘤发生发展中的免疫学特性改变的动态观察,包括迁移并聚集在脑胶质瘤局部发挥抑制作用的细胞与分子机制;效应性 T 细胞能否通过受损的血脑屏障进入脑胶质瘤局部发挥正向免疫应答作用;免疫增强分子或佐剂如 TLRs 在诱导正向免疫应答中的作用及机制研究;脑胶质瘤治疗药物以及放疗等综合个体化治疗对脑胶质瘤局部区域免疫的贡献以及相关的机制研究等。

通过对上述系列问题的深入探讨,不仅可以在脑胶质瘤的局部区域免疫特性的理论研究上获得若干创新性发现,还为调控和干预脑胶质瘤免疫微环境的综合诊治提供实验依据,更重要的是,“扶正”并优化免疫微环境,联合抗肿瘤细胞的“祛邪”,将有望降低该疾病的病死率,延长患者生存期,真正造福患者。

致谢:杨姣、钱嘉文两位博士和骆菲菲博士后在资料收集、文稿整理等方面做了大量工作,特致谢忱!

## [参 考 文 献]

- [1] Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in

- the United States in 2005-2009 [ J ]. *Neuro-Oncology*, 2012, 14 Suppl 5: v1-49.
- [ 2 ] Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system [ J ]. *Acta Neuropathol*, 2007, 114( 2 ): 97-109.
- [ 3 ] Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma [ J ]. *N Engl J Med*, 2005, 352( 10 ): 987-996.
- [ 4 ] Prinz M, Priller J, Sisodia SS, et al. Heterogeneity of CNS myeloid cells and their roles in neurodegeneration [ J ]. *Nat Neurosci*, 2011, 14( 10 ): 1227-1235.
- [ 5 ] Ford AL, Foulcher E, Lemckert FA, et al. Microglia induce CD4 T lymphocyte final effector function and death [ J ]. *J Exp Med*, 1996, 184( 5 ): 1737-1745.
- [ 6 ] Kivisakk P, Mahad DJ, Callahan MK, et al. Human cerebrospinal fluid central memory CD4<sup>+</sup> T cells: Evidence for trafficking through choroid plexus and meninges via P-selectin [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100( 14 ): 8389-8394.
- [ 7 ] Giunti D, Borsellino G, Benelli R, et al. Phenotypic and functional analysis of T cells homing into the CSF of subjects with inflammatory diseases of the CNS [ J ]. *J Leukoc Biol*, 2003, 73( 5 ): 584-590.
- [ 8 ] Fischer HG, Bonifas U, Reichmann G. Phenotype and functions of brain dendritic cells emerging during chronic infection of mice with toxoplasma gondii [ J ]. *J Immunol*, 2000, 164( 9 ): 4826-4834.
- [ 9 ] Karman J, Ling C, Sandor M, et al. Initiation of immune responses in brain is promoted by local dendritic cells [ J ]. *J Immunol*, 2004, 173( 4 ): 2353-2361.
- [ 10 ] Hatterer E, Davoust N, Didier-Bazes M, et al. How to drain without lymphatics? Dendritic cells migrate from the cerebrospinal fluid to the B-cell follicles of cervical lymph nodes [ J ]. *Blood*, 2006, 107( 2 ): 806-812.
- [ 11 ] Walter BA, Valera VA, Takahashi S, et al. Evidence of antibody production in the rat cervical lymph nodes after antigen administration into the cerebrospinal fluid [ J ]. *Arch Histol Cytol*, 2006, 69( 1 ): 37-47.
- [ 12 ] Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo [ J ]. *Science*, 2005, 308( 5726 ): 1314-1318.
- [ 13 ] Ransohoff RM, Cardona AE. The myeloid cells of the central nervous system parenchyma [ J ]. *Nature*, 2010, 468( 7321 ): 253-262.
- [ 14 ] Sica A, Bronte V. Altered macrophage differentiation and immune dysfunction in tumor development [ J ]. *J Clin Invest*, 2007, 117( 5 ): 1155-1166.
- [ 15 ] Bloch O, Crane CA, Kaur R, et al. Gliomas promote immunosuppression through induction of B7-H1 expression in tumor-associated macrophages [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19( 12 ): 3165-3175.
- [ 16 ] Wu A, Wei J, Kong LY, et al. Glioma cancer stem cells induce immunosuppressive macrophages/microglia [ J ]. *Neuro-Oncology*, 2010, 12( 11 ): 1113-1125.
- [ 17 ] Zheng Y, Yang W, Aldape K, et al. Epidermal growth factor (EGF)-enhanced vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression promotes macrophage and glioblastoma cell interaction and tumor cell invasion [ J ]. *J Biol Chem*, 2013, 288( 44 ): 31488-31495.
- [ 18 ] Ye XZ, Xu SL, Xin YH, et al. Tumor-associated microglia/macrophages enhance the invasion of glioma stem-like cells via TGF-beta1 signaling pathway [ J ]. *J Immunol*, 2012, 189( 1 ): 444-453.
- [ 19 ] Ellert-Miklaszewska A, Dabrowski M, Lipko M, et al. Molecular definition of the pro-tumorigenic phenotype of glioma-activated microglia [ J ]. *Glia*, 2013, 61( 7 ): 1178-1190.
- [ 20 ] Hussain SF, Yang D, Suki D, et al. The role of human glioma-infiltrating microglia/macrophages in mediating antitumor immune responses [ J ]. *Neuro-Oncology*, 2006, 8( 3 ): 261-279.
- [ 21 ] Zhang L, Liu W, Alizadeh D, et al. S100B attenuates microglia activation in gliomas: Possible role of STAT3 pathway [ J ]. *Glia*, 2011, 59( 3 ): 486-498.
- [ 22 ] da Fonseca AC, Badie B. Microglia and macrophages in malignant gliomas: Recent discoveries and implications for promising therapies [ J ]. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013: 264124.
- [ 23 ] Markovic DS, Vinnakota K, Chirasani S, et al. Gliomas induce and exploit microglial MT1-MMP expression for tumor expansion [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106( 30 ): 12530-12535.
- [ 24 ] Rodrigues JC, Gonzalez GC, Zhang L, et al. Normal human monocytes exposed to glioma cells acquire myeloid-derived suppressor cell-like properties [ J ]. *Neuro-Oncology*, 2010, 12( 4 ): 351-365.
- [ 25 ] Kohanbash G, McKaveney K, Sakaki M, et al. GM-CSF promotes the immunosuppressive activity of glioma-infiltrating myeloid cells through interleukin-4 receptor-alpha [ J ]. *Cancer Res*, 2013, 73( 21 ): 6413-6423.
- [ 26 ] Abad C, Nobuta H, Li J, et al. Targeted STAT3 disruption in myeloid cells alters immunosuppressor cell abundance in a murine model of spontaneous medulloblastoma [ J ]. *J Leukoc Biol*, 2014, 95( 2 ): 357-367.
- [ 27 ] Fujita M, Kohanbash G, Fellows-Mayle W, et al. COX-2 blockade suppresses gliomagenesis by inhibiting myeloid-derived suppressor cells [ J ]. *Cancer Res*, 2011, 71( 7 ): 2664-2674.
- [ 28 ] Heimberger AB, Abou-Ghazal M, Reina-Ortiz C, et al. Incidence and prognostic impact of FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells in human gliomas [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14( 16 ): 5166-5172.
- [ 29 ] El Andaloussi A, Lesniak MS. An increase in CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in tumor-infiltrating lymphocytes of human glioblastoma multiforme [ J ]. *Neuro-Oncology*, 2006, 8( 3 ): 234-243.
- [ 30 ] McCoy KD, Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses [ J ]. *Immunol Cell Biol*, 1999, 77( 1 ): 1-10.
- [ 31 ] Camara NO, Seville F, Lechler RI. Human CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory cells have marked and sustained effects on CD8<sup>+</sup> T cell activation [ J ]. *Eur J Immunol*, 2003, 33( 12 ): 3473-3483.
- [ 32 ] Cantini G, Pisati F, Mastropietro A, et al. A critical role for regulatory T cells in driving cytokine profiles of Th17 cells and their

- modulation of glioma microenvironment [ J ]. *Cancer Immunol Immunother* : C II, 2011, 60( 12 ): 1739-1750.
- [ 33 ] Banissi C, Ghiringhelli F, Chen L, et al. Treg depletion with a low-dose metronomic temozolomide regimen in a rat glioma model [ J ]. *Cancer Immunol Immunother* : C II, 2009, 58( 10 ): 1627-1634.
- [ 34 ] Heimberger AB, Crotty LE, Archer GE, et al. Epidermal growth factor receptor VIII peptide vaccination is efficacious against established intracerebral tumors [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9( 11 ): 4247-4254.
- [ 35 ] Alizadeh D, Zhang L, Brown CE, et al. Induction of anti-glioma natural killer cell response following multiple low-dose intracerebral CpG therapy [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16( 13 ): 3399-3408.
- [ 36 ] Dix AR, Brooks WH, Roszman TL, et al. Immune defects observed in patients with primary malignant brain tumors [ J ]. *J Neuroimmunol*, 1999, 100( 1/2 ): 216-232.
- [ 37 ] Aldemir H, Prodhomme V, Dumaurier MJ, et al. Cutting edge: Lectin-like transcript 1 is a ligand for the CD161 receptor [ J ]. *J Immunol*, 2005, 175( 12 ): 7791-7795.
- [ 38 ] Wolpert F, Roth P, Lamszus K, et al. HLA-E contributes to an immune-inhibitory phenotype of glioblastoma stem-like cells [ J ]. *J Neuroimmunol*. 2012, 250( 1/2 ): 27-34.
- [ 39 ] Wiendl H, Mitsdoerffer M, Hofmeister V, et al. A functional role of HLA-G expression in human gliomas: An alternative strategy of immune escape [ J ]. *J Immunol*, 2002, 168( 9 ): 4772-4780.
- [ 40 ] Hao J, Liu R, Piao W, et al. Central nervous system ( CNS )-resident natural killer cells suppress Th17 responses and CNS autoimmune pathology [ J ]. *J Exp Med*, 2010, 207( 9 ): 1907-1921.
- [ 41 ] Hao J, Campagnolo D, Liu R, et al. Interleukin-2/interleukin-2 antibody therapy induces target organ natural killer cells that inhibit central nervous system inflammation [ J ]. *Ann Neurol*, 2011, 69( 4 ): 721-734.
- [ 42 ] Albulescu R, Codrici E, Popescu ID, et al. Cytokine patterns in brain tumour progression [ J ]. *Mediators Inflamm*, 2013: 979748.
- [ 43 ] Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling [ J ]. *Nature*, 2003, 425( 6958 ): 577-584.
- [ 44 ] Wrann M, Bodmer S, de Martin R, et al. T cell suppressor factor from human glioblastoma cells is a 12.5-kd protein closely related to transforming growth factor-beta [ J ]. *EMBO J*, 1987, 6( 6 ): 1633-1636.
- [ 45 ] Kjellman C, Olofsson SP, Hansson O, et al. Expression of TGF-beta isoforms, TGF-beta receptors, and SMAD molecules at different stages of human glioma [ J ]. *Int J Cancer*, 2000, 89( 3 ): 251-258.
- [ 46 ] Bogdahn U, Hau P, Stockhammer G, et al. Targeted therapy for high-grade glioma with the TGF-beta2 inhibitor trabedersen: Results of a randomized and controlled phase IIb study [ J ]. *Neuro-Oncology*, 2011, 13( 1 ): 132-142.
- [ 47 ] Robinson SC, Scott KA, Wilson JL, et al. A chemokine receptor antagonist inhibits experimental breast tumor growth [ J ]. *Cancer Res*, 2003, 63( 23 ): 8360-8365.
- [ 48 ] Liu C, Luo D, Reynolds BA, et al. Chemokine receptor CXCR3 promotes growth of glioma [ J ]. *Carcinogenesis*, 2011, 32( 2 ): 129-137.
- [ 49 ] Platten M, Kretz A, Naumann U, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 increases microglial infiltration and aggressiveness of gliomas [ J ]. *Ann Neurol*, 2003, 54( 3 ): 388-392.
- [ 50 ] Okada M, Saio M, Kito Y, et al. Tumor-associated macrophage/microglia infiltration in human gliomas is correlated with MCP-3, but not MCP-1 [ J ]. *Int J Oncol*, 2009, 34( 6 ): 1621-1627.
- [ 51 ] Pham K, Luo D, Liu C, et al. CCL5, CCR1 and CCR5 in murine glioblastoma: Immune cell infiltration and survival rates are not dependent on individual expression of either CCR1 or CCR5 [ J ]. *J Neuroimmunol*, 2012, 246( 1/2 ): 10-17.
- [ 52 ] Komohara Y, Ohnishi K, Kuratsu J, et al. Possible involvement of the M2 anti-inflammatory macrophage phenotype in growth of human gliomas [ J ]. *J Pathol*, 2008, 216( 1 ): 15-24.
- [ 53 ] Pyonteck SM, Akkari L, Schuhmacher AJ, et al. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression [ J ]. *Nature Med*, 2013, 19( 10 ): 1264-1272.
- [ 54 ] Garris C, Pittet MJ. Therapeutically reeducating macrophages to treat GBM [ J ]. *Nature Med*, 2013, 19( 10 ): 1207-1208.
- [ 55 ] Parney IF, Chang LJ, Farr-Jones MA, et al. Technical hurdles in a pilot clinical trial of combined B7-2 and GM-CSF immunogene therapy for glioblastomas and melanomas [ J ]. *J Neurooncol*, 2006, 78( 1 ): 71-80.
- [ 56 ] Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: Critical proteins linking innate and acquired immunity [ J ]. *Nat Immunol*, 2001, 2( 8 ): 675-680.
- [ 57 ] Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity [ J ]. *Cell*, 2006, 124( 4 ): 783-801.
- [ 58 ] Kagan JC, Medzhitov R. Phosphoinositide-mediated adaptor recruitment controls Toll-like receptor signaling [ J ]. *Cell*, 2006, 125( 5 ): 943-955.
- [ 59 ] Rowe DC, McGettrick AF, Latz E, et al. The myristoylation of TRIF-related adaptor molecule is essential for Toll-like receptor 4 signal transduction [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103( 16 ): 6299-6304.
- [ 60 ] Mora R, Abschuetz A, Kees T, et al. TNF-alpha- and TRAIL-resistant glioma cells undergo autophagy-dependent cell death induced by activated microglia [ J ]. *Glia*, 2009, 57( 5 ): 561-581.
- [ 61 ] Kees T, Lohr J, Noack J, et al. Microglia isolated from patients with glioma gain antitumor activities on poly ( I : C ) stimulation [ J ]. *Neuro-Oncology*, 2012, 14( 1 ): 64-78.
- [ 62 ] Chicoine MR, Zahner M, Won EK, et al. The in vivo antitumoral effects of lipopolysaccharide against glioblastoma multiforme are mediated in part by Toll-like receptor 4 [ J ]. *Neurosurgery*, 2007, 60( 2 ): 372-80, discussion 81.
- [ 63 ] El Andaloussi A, Sonabend AM, Han Y, et al. Stimulation of TLR9 with CpG ODN enhances apoptosis of glioma and prolongs the survival of mice with experimental brain tumors [ J ]. *Glia*, 2006, 54( 6 ): 526-535.
- [ 64 ] Zhang Y, Luo F, Li A, et al. Systemic injection of TLR1/2 agonist improves adoptive antigen-specific T cell therapy in glioma-

- bearing mice [ J ]. Clin Immunol, 2014, 154( 1 ): 26-36.
- [ 65 ] Prins RM, Soto H, Konkankit V, et al. Gene expression profile correlates with T-cell infiltration and relative survival in glioblastoma patients vaccinated with dendritic cell immunotherapy [ J ]. Clin Cancer Res, 2011, 17( 6 ): 1603-1615.
- [ 66 ] Choi BD, Kuan CT, Cai M, et al. Systemic administration of a bispecific antibody targeting EGFRv III successfully treats intracerebral glioma [ J ]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110( 1 ): 270-275.
- [ 67 ] Liu S, Yu Y, Zhang M, et al. The involvement of TNF-alpha-related apoptosis-inducing ligand in the enhanced cytotoxicity of INF-beta-stimulated human dendritic cells to tumor cells [ J ]. J Immunol, 2001, 166( 9 ): 5407-5415.
- [ 68 ] Chawla-Sarkar M, Lindner DJ, Liu YF, et al. Apoptosis and interferons: Role of interferon-stimulated genes as mediators of apoptosis [ J ]. Apoptosis, 2003, 8( 3 ): 237-249.
- [ 69 ] Natsume A, Ishii D, Wakabayashi T, et al. IFN-beta down-regulates the expression of DNA repair gene MGMT and sensitizes resistant glioma cells to temozolomide [ J ]. Cancer Res, 2005, 65( 17 ): 7573-7579.
- [ 70 ] Haque A, Das A, Hajiaghamseni LM, et al. Induction of apoptosis and immune response by all-trans retinoic acid plus interferon-gamma in human malignant glioblastoma T98G and U87MG cells [ J ]. Cancer Immunol Immunother: C II, 2007, 56( 5 ): 615-625.
- [ 71 ] De Rose V, Cappello P, Sorbello V, et al. IFN-gamma inhibits the proliferation of allergen-activated T lymphocytes from atopic, asthmatic patients by inducing Fas/FasL-mediated apoptosis [ J ]. J Leu Biol, 2004, 76( 2 ): 423-432.
- [ 收稿日期 ] 2014-09-01 [ 修回日期 ] 2014-09-15  
[ 本文编辑 ] 阮芳铭

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 常见参考文献著录格式示例

### 1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[ 文献类型标志 ]. 其他责任者( 例如翻译者 ). 版本项( 1 版不著录 ). 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [ 1 ] Abrams WB, Beers MH, Berkow R. 默克老年病手册 [ M ]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

### 2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[ 文献类型标志 ]//专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [ 1 ] Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms [ M ]//Soderman WA Jr, Sodeman WA. Pathologic physiology: Mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

### 3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[ 文献类型标志 ]. 刊名, 出版年, 卷号( 期号 ): 起页-止页.

- [ 1 ] Nobles KN, Guan Z, Xiao K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: Direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and -2 [ J ]. J Biol Chem, 2007, 282( 29 ): 21370-21381.

### 4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[ 文献类型标志 ]. 公告日期或公开日期.

- [ 1 ] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞( PIK )、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839 [ P ]. 2010-10-14.

### 5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[ 文献类型标志 ]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [ 1 ] 曹新广. Cathepsin L 和 Cystatin B 的表达与大肠癌生物学行为的关系 [ D ]. 郑州, 郑州大学, 2007.

### 6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[ 文献类型标志/文献载体标志 ]. 刊名, 出版年, 卷号( 期号 ): 起页-止页( 更新或修改日期 ) [ 引用日期 ]. 获取和访问路径.

- [ 1 ] Christine M. Plant physiology: Plant biology in the genome era [ J/OL ]. Science, 1998, 281: 331-332 [ 1998-09-23 ]. <http://www.sciencemag.org/cgi/collection/anatmorp>.
- [ 2 ] Hopkinson A. UNIMARC and metadata: Dublin core [ EB/OL ]. [ 1999-12-08 ]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.