

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.007

· 基础研究 ·

三氧化二砷负向调控 MDSC 的肿瘤免疫抑制功能

高清敏^{1,2}, 蒋京伟^{1,2}, 林浩^{1,2}, 周鑫莉^{1,2}, 黄若凡^{1,2}, 梁晓华^{1,2} (1. 复旦大学附属华山医院 肿瘤科, 上海 200040; 2. 复旦大学 上海医学院 肿瘤学系, 上海 200040)

[摘要] **目的:** 研究三氧化二砷(arsenic trioxide, As₂O₃)是否通过抑制髓系来源抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)负向调控 MDSCs 诱导的肿瘤免疫耐受作用。**方法:** C57BL/6 小鼠皮下注射黑色素瘤 B16 细胞和肝癌 H22 细胞构建移植瘤模型, As₂O₃ 处理, 观察移植瘤生长情况, 流式细胞术检测荷瘤小鼠脾脏内 MDSCs 和其他免疫细胞的免疫表型, 流式细胞术检测 2 μmol/L As₂O₃ 对 B16 模型小鼠来源的 MDSCs 分化的影响。取 B16 模型小鼠随机分为 As₂O₃ 处理及对照组, 混合淋巴细胞反应检测 MDSCs 对 T 细胞免疫抑制活性的改变, ELISA 检测 B16 模型小鼠血清及 MDSCs 培养上清中 TNF-α、IL-10 的水平。**结果:** As₂O₃ 抑制 B16 和 H22 模型鼠的肿瘤生长, 延长 B16 模型小鼠的生存期, 并可显著下调小鼠脾脏内 MDSCs 的比例。体外经 2 μmol/L As₂O₃ 处理 5 d 后, B16 模型小鼠来源的 MDSCs 中成熟 DCs(CD11c⁺CD40⁺)的比例较对照组显著升高[(27.38 ± 4.57)% vs (17.44 ± 4.51)%, $P=0.0078$]; As₂O₃ 组来源的 MDSCs 对 T 细胞的免疫抑制活性明显低于对照组($P=0.016$); As₂O₃ 组小鼠血清及 MDSCs 培养上清中 TNF-α($F=5.78$, $P=0.014$)和 IL-10($F=17.83$, $P=0.045$)的含量均较对照组显著降低。**结论:** As₂O₃ 可通过诱导 MDSCs 向成熟表型分化、下调其免疫抑制活性等, 负调控 MDSCs 的肿瘤免疫抑制功能。

[关键词] 三氧化二砷; 髓系来源抑制性细胞; B16 细胞; H22 细胞

[中图分类号] R730.51; R730.53; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2016)02-0195-06

Arsenic trioxide negatively regulating tumor immune suppression function of myeloid-derived suppressor cells

GAO Qingmin^{1,2}, JIANG Jingwei^{1,2}, LIN Hao^{1,2}, ZHOU Xinli^{1,2}, HUANG Ruofan^{1,2}, LIANG Xiaohua^{1,2} (1. Department of Oncology, Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China; 2. Department of Oncology, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200040, China)

[Abstract] **Objective:** To explore whether arsenic trioxide (As₂O₃) negatively regulate function of tumor immune tolerance induced with inhibiting myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) through inhibition of the MDSCs. **Methods:** Melanoma B16 cells and liver cancer H22 cells were subcutaneously injected into the C57BL/6 mice respectively to construct xenograft models. Growth of the xenografts was observed after treatment with As₂O₃. Immunophenotypes of MDSCs and other immune cells in spleen tissues of the mice with the xenograft, and effect of As₂O₃ (2 μmol/L) on the differentiation of MDSCs in the mouse models with B16 cells were detected by flow cytometry assay. the mouse models with B16 cells were randomly divided into two groups, namely As₂O₃ treatment group and control group. Changes of immunosuppressive activity of T cell mediated by MDSCs were detected with mixed lymphocytes reaction. Concentrations of TNF-α and IL-10 in serum of the mouse model with B16 cells and supernatant of MDSCs cultures were detected by ELISA. **Results:** As₂O₃ could inhibit growth of the xenografts in the mouse models with B16 and H22 cells, prolong survival periods of the mouse models with B16 cells, and significantly decrease percentages of MDSCs in spleen of the mouse models. After treatment with As₂O₃ (2 μmol/L) *in vitro* for 5 d, the proportion of mature DCs (CD11c⁺/CD40⁺) in MDSCs of the mouse models with B16 cells was significantly higher than that of mice in control group [(27.38 ± 4.57)% vs (17.44 ± 4.51)%, $P=$

[基金项目] 上海市科委自然科学基金资助项目(No.13ZR1405000)。Project supported by the Natural Science Foundation of Science and Technology Committee of Shanghai(No.13ZR1405000)

[作者简介] 高清敏(1988-),女,福建省漳州市人,硕士生,主要从事肿瘤免疫的基础研究, E-mail:gaoqingmin_123321@163.com

[通信作者] 梁晓华(LIANG Xiaohua, corresponding author), E-mail:xhliang66@sina.com

0.0078)。The immunosuppressive activity of MDSCs against T cells in the As_2O_3 treatment group was significantly lower than that in the control group ($P=0.016$), and the concentrations of TNF- α and IL-10 in mouse serum of As_2O_3 treatment group and supernatant of MDSCs cultures were significantly lower than that of the control group. **Conclusion:** As_2O_3 could induce maturation of MDSCs, down regulate its immunosuppressive activity and negatively regulate tumor suppression function of MDSCs.

[**Key words**] arsenic trioxide (As_2O_3); myeloid-derived suppressor cell (MDSC); B16 cell; H22 cell

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(2): 195-200. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.007]

三氧化二砷(arsenic trioxide, As_2O_3) 是中药砒霜的重要有效成分, 现已成为急性早幼粒细胞白血病的重要治疗方案^[1]。另外, 在多种实体瘤动物模型中, As_2O_3 也表现出了一定的抗肿瘤活性。传统理论认为, As_2O_3 的抗肿瘤机制包括抑制肿瘤细胞增殖^[2]、诱导肿瘤细胞凋亡及调控凋亡基因^[3]、诱导肿瘤细胞分化^[1]、抑制肿瘤新生血管的生成^[4]及下调端粒酶活性等。黑素瘤及肝癌患者对传统的以细胞毒药物为主的化疗药并不敏感, 但是免疫治疗却常常获得较好效果。目前, 免疫靶向治疗在黑素瘤治疗中已经取得重大突破, 特别是抗 PD-1 单克隆抗体 MK-3475 和 BMS-936558 的平均有效率约 40%, 而且有约 17% 的完全缓解率, 有效患者的无进展生存期近 2 年^[5]。同样, 化疗对肝癌患者也收效甚微, 同时免疫治疗逐渐受到重视^[6]。本研究旨在探讨 As_2O_3 的抗肿瘤效应是否涉及髓系来源抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)介导的肿瘤免疫抑制。

1 材料与方法

1.1 主要材料及试剂

SPF 级近交 C57BL/6 及 BALB/c 纯系小鼠, 6~8 周龄, 雌性, 体重 16~20 g, 均购于复旦大学上海医学院实验动物部, 实验动物合格证号: SCXK(沪) 2014-0004, 饲养于复旦大学上海医学院实验动物部 SPF 级动物实验室内。小鼠 B16 黑素瘤细胞株和小鼠 H22 肝癌细胞株均购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心, 用含 10% FBS 和双抗的 DMEM 培养基在 37℃、5% CO_2 、饱和湿度的条件下培养。小鼠 CD11b 免疫磁珠分离试剂盒、小鼠 CD90 免疫磁珠分离试剂盒、MACS 磁性分选系统和 CD11b-APC、CD11c-PE、Gr-1-FITC、CD40-FITC、CD86-FITC 抗体均购自 Miltenyi Biotec 公司。TNF- α 、IL-10 ELISA 试剂盒购自 eBioscience 公司。

1.2 H22 细胞的扩增

小鼠肝癌细胞株 H22, 锥虫蓝拒染法测定活细胞数大于 95%, 用 PBS 调整为 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 的细胞悬

液。在无菌条件下, 对 5 只 BALB/c 小鼠进行腹腔注射, 每只小鼠 5 ml, 接种后注意观察小鼠状态, 10 d 后抽取腹水, 每只约可抽取 20 ml, 然后断椎处死小鼠。抽取的腹水离心后 PBS 洗 2 次, 制成密度为 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 的细胞悬液备用。

1.3 B16 黑素瘤和 H22 肝癌荷瘤小鼠模型的建立及给药

分别收集 B16 和 H22 细胞, 调整细胞密度为 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 。无菌条件下 C57BL/6 小鼠右侧腋下皮下注射细胞悬液 0.2 ml, SPF 级环境下饲养。接种 7 d 后, 可以触及皮下肿瘤长至 $1 \sim 3 \text{ mm}^3$, 此时将两种荷瘤小鼠随机分为对照组、 As_2O_3 处理组, 开始腹腔给药。处理组每只给予 As_2O_3 0.2 mg/kg, 1 次/d, 连续 10 d; 对照组给予等量生理盐水。每 2 d 测量一次肿瘤体积。

1.4 荷瘤小鼠 MDSCs 细胞的分选及培养

待荷瘤小鼠肿瘤最长径长至 2 cm 左右时, 颈椎脱臼法处死小鼠, 75% 酒精浸泡 10 min。无菌条件下取脾脏, 5 ml 预冷 PBS 冲洗, 于 200 目过滤网上研磨, 用红细胞裂解液冰上裂解制成细胞悬液, 计数细胞。每 1×10^7 个细胞中加入 10 μl CD11b 免疫磁珠, 混匀后放入 4℃ 冰箱孵育 15~30 min, 通过磁场中的 MS 分离柱, 分别收集阴性及阳性细胞, 进行荧光抗体染色, FCM 检测纯度, 并计数备用。将 MDSCs 置于含 10% FBS、双抗的 RPMI 1640 培养基中, 同时加入 40 ng/ml GM-CSF, 在 37℃、5% CO_2 、饱和湿度的条件下培养。

1.5 H-E 染色和免疫组化法检测 As_2O_3 对 B16 移植瘤 Ki67 表达的影响

取 As_2O_3 处理组和对照组 B16 荷瘤小鼠各 4 只, 断椎处死后取瘤体, 用眼科剪剔除结缔组织、脂肪和坏死组织, 按常规步骤制备石蜡切片, 行 H-E 染色和免疫组化染色。按免疫组化试剂盒说明书操作方法, 检测石蜡切片中 Ki67 蛋白的表达。DAB 显色后, 苏木精复染, 酒精梯度脱水, 中性树胶封片。结果判断: 细胞核或细胞质含棕黄色颗粒者为表达阳性细胞。

1.6 流式细胞术检测

1.6.1 As₂O₃ 处理对荷瘤鼠脾脏内 MDSCs 比例的影响 收集 As₂O₃ 组及对照组的 B16 和 H22 模型小鼠脾脏细胞,调整细胞密度约 1 × 10⁷/ml,每支流式管中加入 100 μl 细胞悬液,按照说明书加入 CD11b-APC 及 Gr-1-FITC 抗体和相关同型 IgG 抗体,4 ℃避光孵育 30 min,每管加入 2 ml PBS 洗涤细胞,离心弃掉上清,加 100 μl PBS 混悬,流式细胞仪检测 MDSCs 比例。

1.6.2 As₂O₃ 处理对 MDSCs 和 DCs 比例的影响 收集体外经 2 μmol/L As₂O₃ 处理 5 d 的 MDSCs,调整细胞浓度为 1 × 10⁶/ml。按以上方法,分别使用 CD11b-APC 和 Gr-1-FITC 以及 CD11c-PE 和 CD40FITC 抗体染色后流式检测 MDSCs(CD11b⁺ Gr-1⁺)和成熟 DCs(CD11c⁺ CD40⁺)的比例。

1.7 混合淋巴细胞反应检测 As₂O₃ 对 MDSCs 抑制 T 细胞增殖能力的影响

取 As₂O₃ 处理组及对照组 B16 荷瘤小鼠的 MDSCs,加入丝裂霉素 C(25 μg/ml),置 37 ℃水浴 30 min 后洗涤 3 次,用 RPMI 1640 培养液悬浮细胞至 2 × 10⁵/ml 作为刺激细胞。取 BALB /c 小鼠脾脏 T 细胞作为效应细胞(加入 CD90.2 免疫磁珠,通过 MACS 磁性分离柱获取表达 CD90.2 分子的 T 细胞,调整 T 细胞密度至 2 × 10⁶/ml),T 细胞中加入羧基荧光素二醋酸盐琥珀酰亚胺脂(5,6-carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester,CFSE)染液,冰水孵育 30 min 后,用 PBS 洗两次。将处理后的 T 细胞以 1 × 10⁵/孔加入六孔板,每 2 只小鼠分离得的 MDSCs 混合后作为一组刺激细胞,以 2 × 10⁵/孔加入六孔板进行实验。每组刺激细胞分成 2 份,一份 T 细胞中加入 As₂O₃ 处理组小鼠的脾脏 MDSCs,一组 T 细胞中加入生理盐水处理组小鼠脾脏的 MDSCs。同时设阴性

对照组(单一的反应细胞)。每一份刺激细胞复 3 孔,共行 6 组实验。共培养 5 d 后收集所有细胞,调整细胞浓度,加入 CD4-FITC 抗体,上机测试。CD4⁺ 细胞设门,流式检测该群细胞 CFSE 荧光强度。

1.8 ELISA 检测 As₂O₃ 对 B16 荷瘤小鼠血清和 MDSCs 培养上清中 IL-10 和 TNF-α 浓度的影响

As₂O₃ 处理 B16 荷瘤小鼠 10 d 后,取 As₂O₃ 组小鼠及对照组小鼠各 6 只,摘眼球取血,分离血清。另外,取 B16 荷瘤小鼠来源的 MDSCs,实验组加入 2 μmol/L As₂O₃,对照组为相应培养液,处理 5 d 后,分别取 2 组的培养上清。按照 ELISA 试剂盒说明书操作,按每孔 100 μl 加入标准品及待测血清及培养上清样品,再依次加入酶联免疫亲和物、底物 I 和 II 和终止液,酶标仪检测 450 nm 波长处的光密度(D)值,计算血清中 IL-10 和 TNF-α 的浓度。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计软件分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间或配对组之间比较均采用 Student' s t 检验,多组间差异比较采用 One way ANOVA 检验。以 P < 0.01 或 P < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 As₂O₃ 抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长

成功建立 B16 黑素瘤和 H22 肝癌荷瘤小鼠模型,观察发现在两种荷瘤小鼠模型中,As₂O₃ 均可明显抑制肿瘤的生长(表 1)。通过对 B16 荷瘤小鼠模型处理组和对照组肿瘤组织的 H-E 染色和 Ki67 免疫组化染色发现,As₂O₃ 可以促进荷瘤组织坏死并抑制其增殖(图 1)。同时 As₂O₃ 还可以明显延长 B16 荷瘤小鼠的生存期,最长达到 33 d,而对照组小鼠最长生存期为 24 d(生存期以治疗开始为第 1 天)(图 2)。

表 1 As₂O₃ 减缓移植瘤的生长 (V/mm³)
Tab. 1 As₂O₃ decreased growth of the xenograft (V/mm³)

Group	Time (t/d)	Control	As ₂ O ₃	F	P
B16 model	1	27.10 ± 1.59	24.44 ± 2.99	3.531	0.4436
	3	2214 ± 84.51	1 049 ± 13.22	40.890	<0.0001
	6	4810 ± 150.20	1 466 ± 74.21	4.095	<0.0001
	10	8 331 ± 347.10	1 793 ± 201.40	2.969	<0.0001
H22 model	1	308.50 ± 35.03	426.60 ± 71.78	4.198	0.1565
	3	930.40 ± 48.73	799.40 ± 86.03	3.117	0.2015
	6	1 588 ± 129.70	1 067 ± 122.50	1.121	0.0091
	10	2 887 ± 158.10	1 865 ± 99.73	2.514	< 0.0001

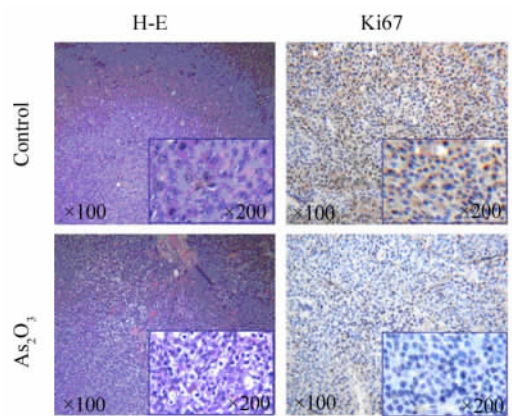


图 1 As_2O_3 抑制 B16 移植瘤细胞的增殖($\times 100$, $\times 200$)

Fig. 1 As_2O_3 inhibited the proliferation of tissue cells of B16 xenograft($\times 100$, $\times 200$)

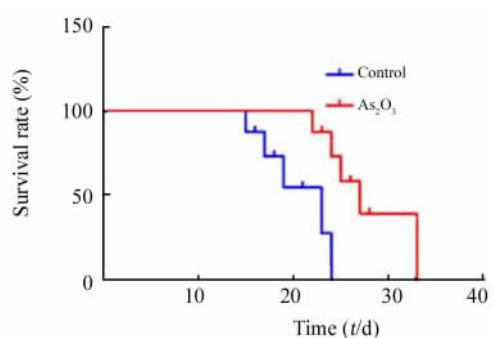


图 2 As_2O_3 延长荷瘤小鼠的生存期

Fig. 2 As_2O_3 prolonged the survival time of tumor-bearing mice

2.2 As_2O_3 可下调荷瘤小鼠体内 MDSCs 的比例

观察 As_2O_3 处理组与对照组小鼠的脾脏发现, 处理组小鼠脾脏的重量明显较对照组小鼠轻(表 2)。流式细胞术检测结果(图 3)发现, 处理组 B16 模型鼠脾脏内 MDSCs 的比例显著低于对照组 [$(4.50 \pm 2.30)\%$ vs $(9.07 \pm 1.13)\%$, $P = 0.006$], H22 模型鼠也有相似结果($P = 0.019$)。

表 2 As_2O_3 抑制荷瘤小鼠的脾脏生长 (m/g)

Tab. 2 As_2O_3 inhibited the growth of spleens in the tumor-bearing mice (m/g)

	Control	As_2O_3	<i>F</i>	<i>P</i>
B16	0.19 ± 0.01	0.12 ± 0.01	2.652	0.0012
H22	0.25 ± 0.02	0.13 ± 0.01	4.0	0.0330

2.3 As_2O_3 在体外可诱导 B16 荷瘤小鼠来源的

MDSCs 向成熟 DCs 分化

MDSCs 具有向成熟 DCs 分化的潜能。 As_2O_3 ($2 \mu\text{mol/L}$) 处理 B16 荷瘤小鼠来源的 MDSCs 细胞 5 d 后, 流式检测发现 $\text{CD11b}^+ \text{Gr-1}^+$ 阳性的 MDSCs 比例较对照组下降(图 4A) [$(80.57 \pm 0.9)\%$ vs $(91.93 \pm 1.88)\%$, $P = 0.065$]; 而 MDSCs 细胞中成熟 DCs ($\text{CD11c}^+ \text{CD40}^+$) 的比例较对照组增加 [$(27.38 \pm 4.57)\%$ vs $(17.44 \pm 4.51)\%$, $P = 0.008$; 图 4B]。

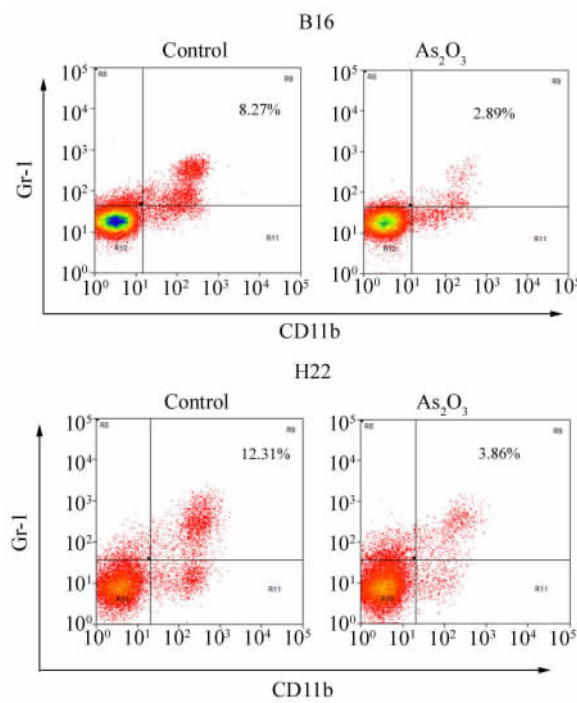


图 3 As_2O_3 降低荷瘤小鼠脾脏内 MDSCs 的比例

Fig. 3 As_2O_3 decreased the proportion of MDSCs in the spleens of tumor-bearing mice

2.4 As_2O_3 减弱 MDSCs 对 T 细胞增殖的抑制能力

混合淋巴细胞反应后利用 CFSE 染色流式检测结果(图 5)显示, As_2O_3 组 CD4^+ T 细胞增殖率明显高于对照组 [$(17.92 \pm 1.29)\%$ vs $(10.23 \pm 0.52)\%$, $P = 0.016$]。

2.5 As_2O_3 下调 MDSCs 分泌的抑制性因子 $\text{TNF-}\alpha$ 和 IL-10

ELISA 检测发现, As_2O_3 组 B16 模型鼠血清标本中, MDSCs 分泌 $\text{TNF-}\alpha$ [(30.54 ± 3.12) vs (64.49 ± 7.49) pg/ml , $F = 5.78$, $P = 0.014$] 和 IL-10 [(6.02 ± 1.94) vs (44.20 ± 8.20) pg/ml , $F = 17.83$, $P = 0.045$] 水平均较对照组降低。

B16 荷瘤小鼠来源的 MDSCs 的培养上清中, As_2O_3 组 MDSCs 分泌的 $\text{TNF-}\alpha$ [(188.3 ± 11.22) vs

(496.4 ± 17.26) pg/ml, $F = 2.367$, $P = 0.004$] 和 IL-10[(18.75 ± 0.30) vs (26.42 ± 0.34) pg/ml, $F = 14.290$, $P = 0.030$] 水平也较对照组降低。

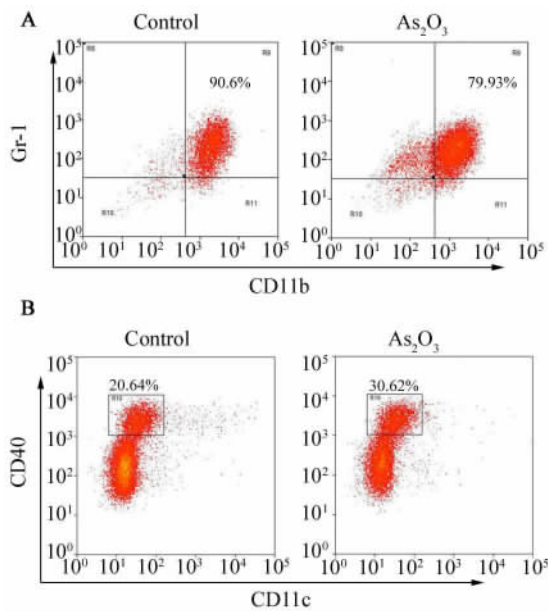


图4 As₂O₃ 促进 MDSCs 向成熟 DCs (CD11c⁺CD40⁺) 分化

Fig. 4 As₂O₃ promoted the differentiation of MDSCs into mature DCs

3 讨论

肿瘤免疫治疗主要是通过激发或调动机体的免疫系统, 增强机体本身的免疫力, 从而达到控制和杀伤肿瘤细胞的目的^[6]。随着对肿瘤免疫和免疫逃逸机制认识的加深, 免疫治疗在肿瘤治疗中的地位逐渐提升。一些特定的靶向分子单抗类药物已经在肿瘤治疗中取得良好疗效, 然而目前能用于免疫治疗的药物仍十分有限^[7]。MDSCs 来源于骨髓祖细胞和未成熟髓细胞 (immature myeloid cells, IMCs), 是一群具有强免疫抑制功能的细胞群, 在鼠体内, MDSCs 被定义为共表达髓系分化抗原 Gr-1 和 CD11b 的双阳性细胞。MDSCs 在正常情况下可向成熟 DCs、巨噬细胞和粒细胞分化, 但在某些病理条件下, 如肿瘤、感染、炎症和外伤等疾病时, 均可以检测到 MDSCs 在体内的扩增^[8]。目前, MDSCs 已经成为抗肿瘤免疫调节中负向免疫调控机制的重要靶点^[9]。针对 MDSCs 的免疫靶向策略有: 剔除 MDSCs、抑制 MDSCs 扩增、促进 MDSCs 分化和下调 MDSCs 的免疫抑制功能。

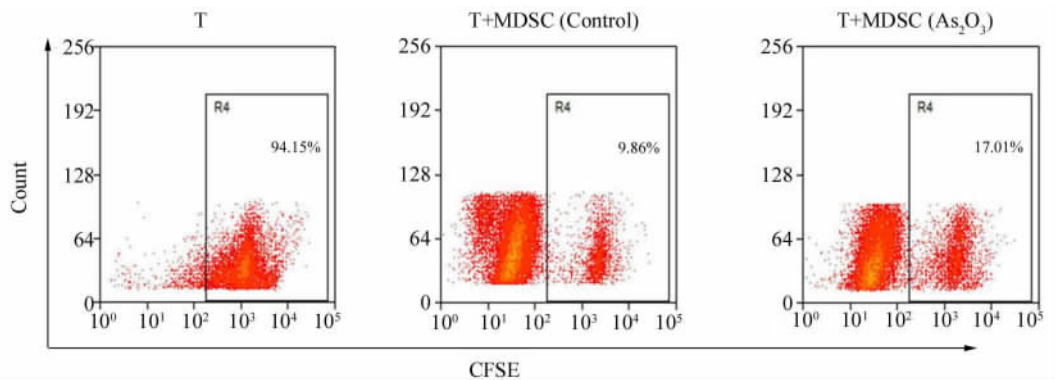


图5 As₂O₃ 降低 MDSCs 对共培养的 T 细胞的抑制能力

Fig. 5 As₂O₃ weakened the inhibitory activity of MDSCs on co-cultured T cells

本研究在黑素瘤荷瘤小鼠模型及肝癌荷瘤小鼠模型中验证了 As₂O₃ 的抗肿瘤活性。As₂O₃ 可以有效抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长, 促进肿瘤组织的坏死, 并有效抑制肿瘤细胞增殖。As₂O₃ 不仅可以降低肿瘤负荷, 还能明显下调荷瘤小鼠脾脏内 MDSCs 的比例。通过进一步的研究发现, 在无肿瘤细胞干预的体外培养条件下, As₂O₃ 可以显著下调 MDSCs 的比例, 并促进其向成熟 DCs 分化。成熟 DCs 也是起源于髓系细胞, 在抗原提呈免疫反应中发挥重要作用,

其主要表面标志为 CD11c 和共刺激分子 CD80、CD86 和 CD40^[10]。髓系细胞的分化障碍是肿瘤免疫逃逸机制中的重要环节, 也是肿瘤治疗失败的因素之一。As₂O₃ 可能通过诱导 MDSCs 向成熟 DCs 表型分化, 来调控机体的免疫监视能力。

MDSCs 最重要的免疫抑制作用是抑制 T 细胞的功能, 也是靶向调控 MDSCs 的最主要的免疫策略^[11]。T 细胞向效应部位的迁移是其发挥免疫功能的重要条件。MDSCs 通过多种机制阻断 T 细胞

向淋巴结迁移并抑制效应 T 细胞向肿瘤内部迁移^[12-13]。MDSCs 还可以通过产生 IL-10、TGF- β 、IFN- γ , 并通过 CD40 与 CD40 受体的相互作用, 促进调节性 T 细胞的扩增^[14-16]。

本研究发现, 经 As₂O₃ 治疗后的小鼠脾脏来源 MDSCs 与 T 细胞共培养 5 d 后, T 细胞的增殖活性明显提高, 说明 MDSCs 对 T 细胞增殖活性和抑制能力明显下调。由 MDSCs 分泌的细胞因子 TNF- α 可以诱导 NO、ROS 等分子的产生, 激活 MDSCs 本身的免疫抑制活性并增强其对 T 细胞的抑制作用^[17]。IL-10 是一个重要的炎性因子, 而 MDSCs 分泌的 IL-10 可以通过诱导调节性 T 细胞的活性进一步导致肿瘤免疫耐受^[18-19]。以上结果提示, As₂O₃ 通过下调 MDSCs 分泌的免疫抑制因子 TNF- α 和 IL-10, 减弱其免疫抑制功能。

本实验证实了在 B16 荷瘤小鼠模型和 H22 肝癌小鼠模型中, As₂O₃ 具有良好的抗肿瘤效应。进一步的体内实验证实, As₂O₃ 通过抑制 MDSCs 的扩增、促进其向 DCs 分化成熟并阻断其免疫抑制活性, 对抗肿瘤的免疫逃逸功能。

【参考文献】

- [1] LAZO G, KANTARJIAN H, ESTEY E, et al. Use of arsenic trioxide (As₂O₃) in the treatment of patients with acute promyelocytic leukemia: the M. D. Anderson experience [J]. *Cancer*, 2003, 97(9): 2218-2224. DOI: 10.1002/cncr.11314.
- [2] ROJEWSKI M T, BALDUS C, KNAUF W, et al. Dual effects of arsenic trioxide (As₂O₃) on non-acute promyelocytic leukaemia myeloid cell lines: induction of apoptosis and inhibition of proliferation [J]. *Br J Haematol*, 2002, 116(3): 555-563. DOI: 10.1046/j.0007-1048.2001.03298.x.
- [3] CHEN C, JIANG X, LAI Y, et al. Resveratrol protects against arsenic trioxide-induced oxidative damage through maintenance of glutathione homeostasis and inhibition of apoptotic progression [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2014, 56(3): 333-346. DOI: 10.1002/em.21919.
- [4] LEE J C, LEE H Y, MOON C H, et al. Arsenic trioxide as a vascular disrupting agent: synergistic effect with irinotecan on tumor growth delay in a CT26 allograft model [J]. *Transl Oncol*, 2013, 6(1): 83-91. DOI: 10.1593/tlo.12322.
- [5] ERRICO A. Immunotherapy: PD-1-PD-L1 axis: efficient checkpoint blockade against cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2015, 12(2): 63. DOI: 10.1038/nrcclinonc.2014.221.
- [6] RIBAS A, FLAHERTY K T. Gauging the long-term benefits of ipilimumab in melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(17): 1865-1866. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.5041.
- [7] YAN L, CHEN H X. Cancer immunotherapy [J]. *Chin J Cancer*, 2014, 33(9): 413-415. DOI: 10.5732/cjc.014.10153.
- [8] GABRILOVICH D I, NAGARAJ S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(3): 162-174. DOI: 10.1038/nri2506.
- [9] TALMADGE J E, GABRILOVICH D I. History of myeloid-derived suppressor cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(10): 739-752. DOI: 10.1038/nrc3581.
- [10] HAMILTON J, BOSILJIC M, LEPARD E, et al. Macrophages are more potent immune suppressors ex vivo than immature myeloid-derived suppressor cells induced by metastatic murine mammary carcinomas [J]. *J Immunol*, 2014, 192(1): 512-522. DOI: 10.4049/jimmunol.1300096.
- [11] YOUNG M R, WRIGHT M A, MATTHEWS J P, et al. Suppression of T cell proliferation by tumor-induced granulocyte-macrophage progenitor cells producing transforming growth factor-beta and nitric oxide [J]. *J Immunol*, 1996, 156(5): 1916-1922.
- [12] HANSON E M, CLEMENTS V K, SINHA P, et al. Myeloid-derived suppressor cells down-regulate L-selectin expression on CD4⁺ and CD8⁺ T cells [J]. *J Immunol*, 2009, 183(2): 937-944. DOI: 10.4049/jimmunol.0804253.
- [13] MOLON B, UGEL S, DEL P F, et al. Chemokine nitration prevents intratumoral infiltration of antigen-specific T cells [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(10): 1949-1962. DOI: 10.1084/jem.20101956.
- [14] HUANG B, PAN P Y, LI Q, et al. Gr-1⁺CD115⁺ immature myeloid suppressor cells mediate the development of tumor-induced T regulatory cells and T-cell anergy in tumor-bearing host [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 1123-1131. DOI: 10.1158/0008-5472.can-05-1299.
- [15] PAN P Y, MA G, WEBER K J, et al. Immune stimulatory receptor CD40 is required for T-cell suppression and T regulatory cell activation mediated by myeloid-derived suppressor cells in cancer [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(1): 99-108. DOI: 10.1158/0008-5472.can-09-1882.
- [16] SERAFINI P, MGEBOFF S, NOONAN K, et al. Myeloid-derived suppressor cells promote cross-tolerance in B-cell lymphoma by expanding regulatory T cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(13): 5439-5449. DOI: 10.1158/0008-5472.can-07-6621.
- [17] HU X, LI B, LI X, et al. Transmembrane TNF-alpha promotes suppressive activities of myeloid-derived suppressor cells via TNFR2 [J]. *J Immunol*, 2014, 192(3): 1320-1331. DOI: 10.4049/jimmunol.1203195.
- [18] MURAI M, TUROVSKAYA O, KIM G, et al. Interleukin 10 acts on regulatory T cells to maintain expression of the transcription factor Foxp3 and suppressive function in mice with colitis [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(11): 1178-1184. DOI: 10.1038/ni.1791.
- [19] WEISS M, SUBLESKI J, BACK T, et al. Regulatory T cells and myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment undergo Fas-dependent cell death during IL-2/alphaCD40 therapy [J]. *J Immunol*, 2014, 192(12): 5821-5829. DOI: 10.4049/jimmunol.1400404.

【收稿日期】 2015-09-13

【修回日期】 2016-02-22

【本文编辑】 黄静怡