维普资讯 http://www.cqvip.com

综 述 文章编号:0253-3626(2007)07-0776-03

树突状细胞为基础的肾癌免疫治疗进展

刘世会 综述,胡自力 审校

(重庆医科大学附属第二医院泌尿外科,重庆 400010)

【中国图书分类法分类号】R737.11 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-01-11

肾癌(Renal cell carcinoma,RCC)约占全身恶性肿瘤的3%,是泌尿外科常见的恶性肿瘤,其发病率近年来有逐渐增加的趋势,死亡人数逐年提高。肾癌早期无明显症状,待出现症状后约30%的患者已到晚期,就诊时肿瘤已发生转移,手术效果差或丧失了手术机会;对这部分病人尽管采用了放疗、化疗和激素治疗等辅助方法,但收效甚微,其5年生存率仍不足10%[1]。由于肾癌是一种免疫原性极强的肿瘤,通过诱导或扩大宿主防御功能、提高机体免疫系统对肿瘤的特异杀伤能力已成为肾癌免疫治疗的研究热点。树突状细胞(Dendritic cell,DC)是目前已知的功能最为强大的抗原提呈细胞,开展DC疫苗抗肿瘤研究,有望使肾癌免疫治疗取得新的突破。

1 DC的生物学特性

DC起源于骨髓的$CD34^+$多能干细胞,在体内散在分布、数量极少,约占外周血白细胞总数的1%。作为体内的专职抗原提呈细胞(Antigen presenting cell,APC),其生物学功能有[2]①抗原提呈:DC可以通过受体介导的内吞作用,以吞噬、吞饮等方式摄取抗原,并对抗原进行处理加工和提呈抗原给T淋巴细胞。②激活T淋巴细胞:DC表面表达多种协同刺激分子,通过与T细胞表面相应配体结合提供激活T细胞的协同刺激信号。DC分泌的多种细胞因子也可参与T细胞的激活。③免疫调节作用:DC可分泌IL-12、IL-1β、INF-α、TNF-α和GM-CSF等多种细胞因子,参与免疫功能的调节。④免疫监视:某些前体DC对各种化学信号十分敏感,且能敏锐地察觉组织损伤,在体内发挥免疫监视的作用。

2 DC与肾癌的关系

2.1 肾癌微环境对DC的影响

肾癌患者体内的微环境和正常人相比已经发生了很大改变,其中的DC表面主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex,MHC)分子及共刺激分子不表达或低表达,这种缺陷的DC无法有效递呈肾癌抗原,激活T细胞识别和杀伤肾癌细胞。Troy等[3]检测了肾癌组织中肿瘤浸润性DC(Tumor infiltrating dendritic cells,TiDC)发现,肾癌组织中DC数量较正常组织减少,且绝大多数为静息状态的DC,不表达或低表达CD80、CD86等共刺激分子,而且$CD83^+$激活状态的DC数目更少,仅占TiDC数量的5%~10%。Almand等[4]也发现肾癌患者外周血中DC的数目、形态、表型异常。此外肾癌可使DC功能失常、DC凋亡及免疫反应中的信号传导缺失;也可分泌多种细胞因子(如IL-10、TGF、VEGF等),这些因子能抑制DC分化、成熟[5]。而未成熟DC对肾癌微环境中富含的此类抑制性因子特别敏感,使得DC无法呈递抗原,使得肾癌细胞得以逃避免疫监视。

2.2 DC与肾癌的预后

肾癌的预后是肿瘤的生物学特性和机体的免疫状态等多种因素的综合效应,DC是重要的抗原提呈细胞,有潜在的能力去引发身体中的免疫反应。一般来说,人体肿瘤微环境中DC的数量、功能与肿瘤的预后呈正相关,肿瘤的免疫激活与免疫耐受都与TiDC有密切关系。Hamda等[6]采用S-100标志肾癌组织中DC发现,TiDC的数量是RCC,尤其是转移性RCC的预后参数之一。DC的浸润与肿瘤淋巴结的转移,临床分期成负相关。浸润DC的功能不全、数量越少,淋巴结转移的可能性就越大。其原因可能是肿瘤局部浸润的DC细胞数量较少时,肿瘤抗原无法被有效提呈,不能有效诱导肿瘤局部的特异性细胞毒性T淋巴细胞(CTL)反应,最终肿瘤细胞突破机体的防御屏障,导致其它器官或淋巴结转移。国内陈彤等[7]也探讨了肾癌患者微环境中肿瘤浸润性DC与肾癌淋巴结转移及预后的关系,结果发现术后未复发组癌组织内DC的数量明显高于复发组,有淋巴结转移的患者癌组织内DC的数量明显低于无淋巴结转移的患者。这些研究结果表明DC在宿主对肿瘤免疫防御机制中起重要作用,肿瘤组织中树突状细胞浸润数量越多,其疾病预后越好。

3 DC在肾癌免疫治疗研究中的应用

机体抗肿瘤免疫是以T淋巴细胞为主的细胞免疫过程,

作者介绍:刘世会(1981-),男,硕士生,
主要研究方向:泌尿男生殖系肿瘤。

维普资讯 http://www.cqvip.com

在此过程中,T 淋巴细胞的活化需要双信号刺激:一是来自 MHC 递呈的特异性肿瘤抗原与 T 淋巴细胞受体结合;二是来自抗原递呈细胞表面的共刺激分子与 T 淋巴细胞表面的特异受体结合。肾癌细胞本身可分泌多种免疫抑制物或因子,促进肿瘤细胞增生,下调对于激活 T 淋巴细胞所必需的信号表达,引起宿主免疫功能明显受抑;而 DC 是体内功能最强的抗原提呈细胞,可以通过 MHC-Ⅰ和 MHC-Ⅱ两种途径提呈抗原,上调 T 淋巴细胞活化所必需的细胞因子,从而诱导抗肿瘤免疫反应。因而 DC 用于抗肾癌免疫治疗具有极大的临床意义。

3.1 肿瘤裂解物或肿瘤粗体抗原致敏 DC

用超声、紫外线或反复冻融等方法对肿瘤细胞进行捣碎、灭活处理制成肿瘤细胞悬液,然后与 DC 混合培养制成细胞疫苗,回输入体内后可刺激机体产生抗肿瘤免疫效应。Kugler 等[8]利用 RCC 鼠肿瘤分解产物致敏 DC 输入人患鼠体内,结果发现接受此治疗的荷瘤鼠在 12~14 天肿瘤明显缩小,同时体外实验发现正常鼠脾细胞明显增生。Gitlitz 等[9]从 14 例 RCC 病人的外周血液中 $CD14^+$ 前体细胞获取 DC,并在含有 GM-CSF、IL-4 和 10% 自体血清的培养液中培养,然后添加经 3 次冷冻-融解循环得到的自身肿瘤裂解产物制备疫苗,治疗 12 例病人,结果显示疫苗有很好的耐受。最近,Pandha 等[10]运用肿瘤裂解物构建的 DC 疫苗治疗了 5 例转移性肾癌病人,随访 6 个月后均存活,其中 2 例肿瘤转移灶消失。

3.2 肾癌抗原负载 DC

经肿瘤抗原在体外冲击致敏的 DC,回输体内或接种到荷瘤机体可诱导肿瘤抗原特异性 CTL 应答,产生保护性免疫反应并能使荷瘤动物肿瘤缩小。因为实体肿瘤的抗原成分非常复杂,而且很多的肿瘤特异性抗原(TSA)和相关抗原(TAA)仍不确定,所以对肿瘤抗原的研究有助于肿瘤的免疫治疗。就肾癌而言,肾癌是一种免疫原性极强的肿瘤,但肾癌的相关或特异性抗原目前知之不多,其 TSA、TAA 仍在不断探索中。G250 是一种广泛表达于 RCC 的肿瘤相关抗原,Tso 等[11]用 G250 与 GM-CSF 进行融合形成 G250-GM-CSF 融合蛋白,将这种融合蛋白加入到外周血单个核细胞的培养体系中,能够培养出带有 RCC 相关抗原的成熟 DC 疫苗。这种 DC 高表达 CD83 等成熟表面分子,能够产生强大的 CTL 效应。Brossart 等[12]用 MUCI 多肽冲击构建的 DC 疫苗治疗了 1 例转移性 RCC 患者,以 3×10^6 剂量皮内注射,每周 1 次,病人未出现明显的不良反应,肿瘤转移灶明显缩小。肿瘤抗原负载 DC 靶向性好,肿瘤抗原浓度高,但肾癌的 TSA 或 TAA 目前难以鉴定、证实,所以限制了其广泛应用。

3.3 肾癌 mRNA 转染 DC

从大量肿瘤标本中提纯得到肿瘤细胞 mRNA,或通过体外核酸扩增法(PCR)从来源有限的肿瘤组织中扩增到足够数量的 mRNA,以肿瘤 mRNA 冲击 DC,接种体内后可产生明显的抗肿瘤反应,而且还可避免肿瘤细胞产物致敏的 DC 所引起的机体免疫毒性反应。Gilboa 等[13]认为转染 mRNA 的 DC 在产生免疫原性的 DC 方面优于其他抗原负载技术。Garderet 等[14]通过体外实验证明,提取肾癌组织 mRNA 转染的 DC 能够明显地诱导肿瘤特异性 T 细胞免疫应答;同种异体肿瘤组织 mRNA 转染同样也可引起这种免疫应答,而正常组织 mRNA 则不能。这说明了在 RCC 患者中有共同的肿瘤抗原存在。利用正常组织提取的 mRNA 转染的 DC 不会引起机体对肿瘤及正常组织产生 T 细胞应答,提示这种免疫治疗方法是相对安全的。Su 等[15]将患者肿瘤组织总 mRNA 转染自体 DC 后用于治疗转移性 RCC,亦取得了较好的治疗效果。

3.4 肾癌细胞与 DC 融合

目前对大多数实体瘤的肿瘤抗原基因尚未能清楚了解,得到明确鉴定的肿瘤抗原数量仍非常少。而且已知的肿瘤相关抗原是否能真正代表肿瘤排斥抗原缺乏体内实验依据,肾癌亦是如此。所以将肿瘤细胞与 DC 融合,提供全部细胞性抗原,融合后的细胞拥有肿瘤细胞抗原性及 DC 的抗原提呈性和 T 细胞激活功能,充分发挥 DC 的肿瘤抗原摄取、加工及提呈功能。Wang 等[16]采用 GM-CSF、IL-4、TNF-α 等细胞因子培养患者的外周血和骨髓单核细胞获得大量的树突状细胞,与 RCC 进行体外融合,融合后的细胞能同时表达 DC 的表面分子及肿瘤相关抗原,注入人体后观测到 T 淋巴细胞明显增殖、活化能有效激发肿瘤特异的 CTL 杀伤效应。Alexander 等[17]采用电融合技术将同种异体的 DC 和 RCC 病人自身的癌细胞融合成 DC 疫苗,用皮下接种法治疗 17 例转移性 RCC 病人,随访 6 个月后,疗效显著,其中 4 例肿瘤完全消退,2 例肿瘤缩小 50% 以上,除个别病人有低热反应外,无明显不良反应。这表明 DC 融合疫苗治疗肾癌病人是安全有效的。Barbuto 等[18]通过研究也证实 DC 与肾癌细胞杂交融合制取的疫苗能够影响晚期肾癌患者的病情进展。

4 前景展望

树突状细胞在肿瘤免疫治疗中的基础地位确立以来,肾癌的免疫治疗取得了很大的进展,各种形式的 DC 疫苗已在 RCC 的免疫治疗中开始尝试,其疗效显著、副作用小,显示了明显的优势。随着分子生物学、免疫学、基因工程学的飞速发展,科学家们尝试着通过基因工程技术利用肿瘤抗原基因[19]、细胞因子基因修饰 DC[20],或对 RCC 肿瘤细胞进行基因修饰[21],再将修饰后的 DC 和肿瘤细胞进行融合,制成 DC 融合疫苗。这种疫苗不仅可以增强肿瘤抗原性,而且可增加 DC 的抗原提呈能力,应该是最有效的 DC 疫苗,也是最具有发展前景的肿瘤疫苗。选择合适的剂量、筛选有效的 RCC 抗原、摸索赋予 DC 抗原的方式及最佳的注射途径等将是今后 DC 免疫治疗研究的重要组成部分。相信随着 DC 疫苗技术的成熟,以 DC 为基础的 RCC 免疫治疗将显示出美好的应用前景。

维普资讯 http://www.cqvip.com

(通讯作者:胡自力,男,主任医师,Tel:63693575,E-mail:huzili6767@163.com)

参 考 文 献

[1] Bleumer I,Ooserwijk E,De Mulder P,et al. Immunotherapy for renal cell carcinoma[J]. Eur Urol,2003;44(1):65-75.

[2] Strome S,Wilcox R, Kawakami Y,et al. Strategies for antigen loading of dendritic cell to enhance the antitumor immune response [J]. Cancer Res,2002; 62(6):1844-1889.

[3] Troy AJ,Davidson PJ,Atkinson CH,et al.CD1a dendritic cells predominate in transition cell carcinoma of bladder and kidey but are minimally activated[J].J Urol,1999;161(6):1962-1967.

[4] Almand B,Resser JR,Lindman B,et al. Clinical significance of defective dendritic cell differentiation in cancer [J].Clinical Cancer Research,2000; 6(5):1755-1766.

[5] Menetrier-Caux C,Thomachot MC, Alberti L,et al. IL-4 prevents the blockade of dendritic cell differentitation induced by tumor cells[J].Cancer Research,2001;61(7):3096-3104.

[6] Hamada,Ikuto.A clinical study on tumor-associated monocyte lineage cells in renal cell carcinoma [J].Acta Urologica Japonica, 2002;48(4):213-220.

[7] 陈 彤,郑少斌,谭万龙,等.癌组织树突状细胞浸润与肾癌预后及转移的关系[J].第一军医大学学报,2002;22(9):833-834.

[8] Kugler A,Stuhler G,Walden P,et al. Regression of human metastatic renal cell carcinoma after vaccination with tumor cell-dendritic cell hybrids[J].Nat Med,2000;6:332-336.

[9] Gitlitz BJ,Belldegrun AS,Zisman A,et al.A pilot trial of tumor lysate-loaded dendritic cells for the treatment of metastatic renal cell carcinoma[J]. Immunotherapy,2003;26:412-419.

[10] Pandha,Hardev S,Menard S,et al.dendritic cell immunotherapy for urological cancers using cryopreserved allogenein tumor lysate-pulsed cell[J].BJU International,2004;94(3): 412-418.

[11] Tso CL,Zisman A,Pantuck A,et al. Induction of G250-targeted and T-cell-mediated antitumor activity against renal cell carcinoma using a chimeric fusion protein consisting of G250 and granulocyte/monocyte-conlony stimulating factor [J]. Cancer Reseach, 2001;61(21):7925-7933.

[12] Brossart MD.Dendritic cells and the control of immunity [J]. Transfus Apheresis SCI, 2002;27(2):183-186.

[13] Gilboa E,Vieweg J.Cancer immunotherapy with mRNA-transfected dendritic cells[J].Immunol Rev,2004;1999(11):251-263.

[14] Garderet L,Cao H,salamero J,et al. In vitro production of dendritic cells from human blood monocytes for therapeuticuse [J].J Hematother Stem Cell Res,2001;10(4):553-567.

[15] Su Z,Dznnull,Heiser A,et al. Immunological and clinical responses in metastatic renal cancer patients vaccinated with tumor RNA-transfected dendritc cells[J].Caner Res,2003;63(9):2127-2133.

[16] Wang J,Saffold S,Barsoum A,et al. Induction of antitumor activity by immunization with fusions of dendritic and carcinoma cells[J]. Immunol,1998;161:5516-5524.

[17] Alexander H,Margaret L,Juzan M,et al.A cancer research[J]. Immunol,2001;61:3388-3393.

[18] Barbuto JA,Ensina LF,Neves AR,et al. Dendritic cell-tumor cell hybrid vaccination for metastatic cancer [J].Cancer Immunol Immunother,2004;53(12):1111-1118.

[19] José M. Hernández,Matthew H. T. Bui,Ken-ryu Han,et al. Novel Kidney Cancer Immunotherapy Based on the Granulocyte-Macrophage Colony-stimulating Factor and Carbonic Anhydrase IX Fusion Gene[J].Clin Cancer Res,2003;9(5):1906-1916.

[20] Ogawa F,Iinuma H, Baatar D,et al.Dendritic cell vaccine therapy by immunization with cell of interleukin-2 Gene-Transdused [J]. Scandinavian Journal of Immunology,2004;59(5):432-439.

[21] Loskog A,Totterman TH, Boehle A,et al. In vitro activation of cancer patient derived dendritic cells by tumor cells genetically modified to express CD154 [J].Cancer Gene Therapy,2002;9(10): 846-853.

(上接第 750 页)

变,从而提高患者的生活质量,降低医疗费用,使得我国有限的卫生资源得到充分利用,积极应对我国老龄化社会的挑战。

(通讯作者: 重庆医科大学附属第一医院护理部赵庆华主任)

(第一作者单位:湖北民族学院医学院附属医院)

参 考 文 献

[1] DavidsonK,JonasBS,DixonKE,et al.Do depression symptoms predict early hypertension incidence in young adults in the CARDIA study.Coronary Artery Risk Development in Young Adults [J]. Arch Intern Med,2000;160(10):1495-1500.

[2] PaternitiS,AlperovitchA,DucimetiereP,et al.Anxiety but not depression is associated with elevated blood pressure in a community group of French elderly[J].Psychosom Med,1999;61(1):71-83.

[3] RozanskiA,BlumenthalJA,KaplanJ.Impact of psychological factors on the pathogenesis of cardiovascular disease and implications for therapy[J].Circulation,1999;99(16):2192-2217.

[4] 张作记.行为医学量表手册[J].中国行为医学科学,2001;10(特刊):122-142.

[5] 解亚宁.简易应对方式量表的信度和效度的初步研究[J].中国临床心理学杂志,1998;6(2):114-115.

[6] LevensteinS,SmithMW,KaplanGA.Psychosocial predictors of hypertension in men and women[J]. Arch Intern Med,2001;161(10): 1341-1346.