

疗 MDR 的逆转方法还是任重道远。努力寻找高效低毒并能推广临床使用的逆转剂,或开发新型的、肿瘤细胞对其不会产生 MDR 的抗癌药物,如免疫制品和基因技术是解决这一问题的关键。尽管学者们为肿瘤化疗 MDR 的逆转策略研究了 30 多年,但目前临床上仍然没有十分有效的逆转方法<sup>[20]</sup>。但坚信,随着人类对肿瘤产生机制的深入研究和分子生物技术的不断成熟,定能解决膀胱肿瘤 MDR 这一难题。

参考文献

[1] Burgués Gasi6n JP ,Pontones Moreno JL ,Vera Donoso CD ,et al. Cell cycle and apoptosis mechanisms implicated in intravesical chemotherapy resistances in superficial bladder cancer [J]. Actas Urol Esp 2005 29(9) : 846-859.  
 [2] 王森,任来成.膀胱肿瘤多药耐药性形成机制[J].山西医药杂志 2004 33(12) : 1053-1056.  
 [3] Featherstone JM ,Lwaleed BA ,Speers AG ,et al. Time-lapse live cell imaging and flow analysis of multidrug resistance reversal by verapamil in bladder cancer cell lines [J]. Urology 2009 74(2) : 378-384.  
 [4] Nomura T ,Yamamoto H ,Mimata H ,et al. Enhancement by cyclosporin A of taxol-induced apoptosis of human urinary bladder cancer cells [J]. Urol Res 2002 30(2) : 102-111.  
 [5] 李永生,张炎,杨罗艳.粉防己碱逆转 P-gP 介导的膀胱肿瘤多药耐药的实验研究[J].中国现代医学杂志,2003,13(20) : 82-83 90.  
 [6] Sagara Y ,Miyata Y ,Nomata K ,et al. Green tea polyphenol suppresses tumor invasion and angiogenesis in N-butyl-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced bladder cancer [J]. Cancer Epidemiol , 2010 34(3) : 350-354.  
 [7] Lewin J ,Cooper A ,Birch B. Progesterone: a novel adjunct to intravesical chemotherapy [J]. BJU Int 2002 90(7) : 736-741.  
 [8] Enokida H ,Gotanda T ,Oku S ,et al. Reversal of P-glycoprotein-mediated paclitaxel resistance by new synthetic isoprenoids in human bladder cancer cell line [J]. Jpn J Cancer Res 2002 93(9) : 1037-1046.  
 [9] 张炎,鲁功成.阿霉素纳米粒的制备及体外逆转人膀胱癌细胞

多药耐药的实验研究 [J]. 临床泌尿外科杂志 2002 ,17(3) : 122-123  
 [10] Kunze D ,Wuttig D ,Fuessel S ,et al. Multitarget siRNA inhibition of antiapoptotic genes( XIAP ,BCL2 ,BCL-X(L) ) in bladder cancer cells [J]. Anticancer Res 2008 28(4B) : 2259-2263.  
 [11] Yang D ,Song X ,Zhang J ,et al. Suppression of livin gene expression by siRNA leads to growth inhibition and apoptosis induction in human bladder cancer T24 cells [J]. Biosci Biotechnol Biochem , 2010 74(5) : 1039-1044.  
 [12] 吕艳秋,石刚刚.反义寡核苷酸技术研究进展 [J]. 广东医学 , 2006 27(8) : 1270-1272.  
 [13] Ma C ,Zhou GY ,Xiao Y ,et al. Reversion the multidrug resistance of human breast carcinoma cells by RNA interference targeting HIF-1 alpha gene [J]. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi ,2006 35(6) : 357-360.  
 [14] Ayre BG ,K6hler U ,Turgeon R ,et al. Optimization of trans-splicing ribozyme efficiency and specificity by in vivo genetic selection [J]. Nucleic Acids Res 2002 30(24) : e141.  
 [15] Irie A ,Kashani-Sabet M ,Scanlon KJ ,et al. Hammerhead ribozymes as therapeutic agents for bladder cancer [J]. Mol Urol ,2000 4(2) : 61-66.  
 [16] Irie A ,Matsumoto K ,Anderegg B ,et al. Growth inhibition efficacy of an adenovirus expressing dual therapeutic genes ,wild-type p53 , and anti-erbB2 ribozyme ,against human bladder cancer cells [J]. Cancer Gene Ther 2006 13(3) : 298-305.  
 [17] Guo H ,Lu G ,Xiong X ,et al. Establishment of doxorubicin-resistant human bladder cancer cell line( BUI-87/ADMR) and its mechanism of multidrug resistance [J]. Chin Med J( Engl) ,1997 110(3) : 167-172.  
 [18] Niethammer AG ,Wodrich H ,Loeffler M ,et al. Multidrug resistance-1( MDR-1) : a new target for T cell-based immunotherapy [J]. FASEB J 2005 19(1) : 158-159.  
 [19] Papageorgiou A ,Lashinger L ,Millikan R ,et al. Role of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in interferon-induced apoptosis in human bladder cancer cells [J]. Cancer Res 2004 64(24) : 8973-8979.  
 [20] Hall MD ,Handley MD ,Gottesman MM. Is resistance useless? Multidrug resistance and collateral sensitivity [J]. Trends Pharmacol Sci 2009 30(10) : 546-556.

收稿日期:2010-07-12 修回日期:2010-09-10

## 树突状细胞在抗肿瘤免疫中的研究进展

张宇<sup>1\*</sup>,崔晓靛<sup>1</sup>,段鹏<sup>2</sup>(综述),宋晓凯<sup>1</sup>(审校)

(南京农业大学<sup>1</sup>动物医学院,<sup>2</sup>食品科学技术学院,南京 210095)

中图分类号:R329.21

文献标识码:A

文章编号:1006-2084(2010)21-3262-03

**摘要:** 树突状细胞(DC)是目前已知的体内功能最强,且惟一能激活静息型 T 细胞的抗原递呈细胞,它能有效摄取加工肿瘤抗原,分泌多种细胞因子,活化免疫应答,在机体抗肿瘤免疫中发挥重要作用。发挥 DC 的功能活性,增加肿瘤抗原免疫原性,有助于诱导机体有效的抗肿瘤免疫反应。目前,以 DC 为基础的肿瘤免疫治疗已取得较大进展,展示出良好的临床应用前景。

**关键词:** 树突状细胞; 肿瘤; 免疫疗法

**Advances of Dendritic Cell in Anti-tumor Immunoreaction** ZHANG Yu<sup>1</sup>, CUI Xiao-jing<sup>1</sup>, DUAN Kun<sup>2</sup>, SONG Xiao-kai<sup>1</sup>. (1. College of Veterinary Medicine; 2. College of Food Science & Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Dendritic cell(DC) is the strongest antigen-presenting cell in human body. It has some special functions such as initiating T cells and inducing immune responses. Extensive studies show that DC plays an important role in the process of anti-tumor immune response. In recent years, the practice of tumor immunotherapy by DC has attracted much attention and achieved great progress. This article reviews DC regarding its biological properties, immune mechanism and applications in anti-tumor immunoreaction.

**Key words:** Dendritic cell; Tumor; Immunotherapy

树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前所知的人体内功能最强大的抗原递呈细胞,它能激活静息 T 细胞,影响 B 淋巴细胞增殖活性,活化免疫应答,在机体抗肿瘤免疫中发挥重要作用。近年来,应用肿瘤的各种抗原,以各种手段修饰 DC 制成的瘤苗免疫荷瘤宿主,以诱导特

异性杀伤 T 细胞的生成和激发机体抗肿瘤免疫功能,在肿瘤免疫治疗中展现出良好的应用前景。现就其研究进展予以综述。

### 1 DC 的生物学特性

DC 广泛分布于除脑、心、角膜中央部以外的血液、肝、脾、淋巴结及其他免疫器官免疫组织中,是一类具有典型树突状形态,膜表面高表达主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) II 类分子,诱导初级免疫应答的抗原递呈细胞。它能点状放大激活静息 T 细胞,一个成熟的 DC 可激活 100~3000 个 T 细胞,是巨噬细胞和 B 细胞的 100~1000 倍<sup>[1]</sup>,并能活化 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>和 CD<sub>8</sub><sup>+</sup>T 细胞,摄取各类抗原,诱导 MHC I 类限制性的 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 细胞毒性 T 淋巴细胞的生成<sup>[2]</sup>。

DC 表型随其成熟及活化的不同阶段而不同。外周血中的未成熟 DC 通过吞噬外来抗原等,转变为成熟 DC,并向前哨淋巴结等淋巴器官迁移,同时吞噬能力减弱,抗原递呈能力加强。早期未成熟的 DC 表达高水平的与抗原摄取有关的分子,如 Fc $\gamma$ R、甘露醇受体分子等。成熟 DC 高表达能和 T 淋巴细胞特异性结合的分子,如共刺激 CD<sub>80</sub> (B7-1)、CD<sub>86</sub> (B7-2)、CD<sub>54</sub>、CD<sub>4</sub> 等,黏附分子如 CD<sub>11a</sub>、CD<sub>11c</sub>、CD<sub>58</sub>、CD<sub>54</sub>、CD<sub>102</sub> 等<sup>[3]</sup>。一般认为成熟 DC 的细胞表型特征是高表达 MHC I、MHC II、CD<sub>80</sub>、CD<sub>86</sub>、CD<sub>40</sub> 等<sup>[4]</sup>,人 DC 的主要特征标志为 CD<sub>1a</sub>,经体外激活的 DC 也可表达 CD<sub>83</sub><sup>[5]</sup>。

### 2 DC 抗肿瘤的作用机制

DC 抗肿瘤的机制有多种途径:①依靠细胞表面高水平的 MHC I、MHC II 类分子递呈丰富的肿瘤抗原肽,同时提供高水平的 CD<sub>80</sub>、CD<sub>86</sub>、CD<sub>40</sub> 分子,来充分激活相应的 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 细胞和 CD<sub>8</sub><sup>+</sup>T 细胞。DC 表面的黏附分子(如 CD<sub>80</sub>/CD<sub>86</sub>)与 T 淋巴细胞表面的配体(如 CD<sub>28</sub>)也可结合活化 Th 细胞,并使 Th 细胞产生大量的细胞因子,如 Th1 型细胞可分泌白细胞介素 2 和干扰素  $\gamma$ , Th2 型细胞可分泌白细胞介素 4、白细胞介素 5 和白细胞介素 10,从而进一步增强机体的细胞免疫和体液免疫,以助机体清除肿瘤病灶。②DC 通过分泌细胞因子(如白细胞介素 8)和趋化因子选择性趋化初始型 T 细胞,促进 T 细胞在肿瘤部位的聚集。Troy 等<sup>[6]</sup>证明,DC 与 T 细胞之间的相互作用及滤泡型 DC 对抗原的保留,都可以促使 DC 分泌某些生存因子促进 T 细胞的生长,维持 T 细胞反应。③法国和意大利合作小组还发现 DC 通过分泌一种具有抗原递呈能力的小体,诱导 T 细胞免疫反应,这种小体称为 exosomes<sup>[7]</sup>。④DC 可以逆转肿瘤患者

体内发生的 Th1/Th2 漂移,使机体免疫由 Th2 介导的体液免疫为主扭转为 Th1 介导的细胞免疫为主<sup>[8]</sup>。

### 3 DC 疫苗的负载方法及在肿瘤免疫治疗中的应用

20 世纪 90 年代开始,DC 在肿瘤免疫治疗中的作用逐渐受到重视。近年来,针对肿瘤的低免疫原性和机体对肿瘤的低免疫反应性,用不同形式的肿瘤抗原,如肿瘤特异性抗原、肿瘤相关抗原及完全性细胞抗原等,负载 DC 或以各种手段修饰 DC,如将编码肿瘤抗原的基因通过腺病毒、反转录病毒介导转入 DC,制成疫苗,以此免疫荷瘤宿主,可激发机体有效的特异性抗肿瘤免疫功能,为肿瘤治疗带来希望。

**3.1 肿瘤抗原肽致敏 DC** 此方法在体外和动物模型中得到广泛应用,而且已用于人类临床试验。张晓娟等<sup>[9]</sup>用从胰腺癌瘤块中获得的热休克蛋白 70 多肽复合物修饰 DC,回输荷瘤小鼠体内能显著抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长,延长荷瘤小鼠存活期。但该方法尚有不足,如已确定的肿瘤抗原少,白细胞抗 MHC 限制,肿瘤细胞易通过抗原变异逃避针对单一抗原表位的免疫作用等。

**3.2 用肿瘤全细胞抗原负载或致敏 DC** 较之于用肿瘤抗原肽致敏 DC,该方法的优点在于不必清除肿瘤细胞的肿瘤特异性抗原、肿瘤相关抗原即可诱导机体产生多克隆的 CD<sub>8</sub><sup>+</sup>和 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>细胞毒 T 细胞,但肿瘤抗原成分复杂,可能含有机体自身抗原,容易诱发自身免疫性疾病,且需要一定来源的肿瘤组织。钟国成等<sup>[10]</sup>试验表明,负载自体肿瘤细胞裂解物的 DC 疫苗联合细胞因子诱导的杀伤细胞,在体外培养能明显增强对乳腺癌细胞的杀伤作用,亦能增强乳腺癌患者的细胞免疫功能。有研究表明,凋亡的肿瘤细胞免疫复合物能和 DC 表面的 Fc $\gamma$ R 结合,诱导 DC 成熟,增强 DC 疫苗的免疫应答<sup>[11]</sup>。李金凤等<sup>[12]</sup>将脐血来源的 DC 与人卵巢癌细胞株 SKOV3 细胞相融合,获得 SKOV3/DC 融合细胞,其体外增殖活性明显降低,失去亲本肿瘤的恶性生长特性,并且高量表达 CD<sub>1a</sub>、CD<sub>80</sub>、CD<sub>86</sub>和 MHC I 类分子。

**3.3 用肿瘤细胞来源的 DNA/RNA 修饰 DC** ①用肿瘤细胞 RNA 修饰 DC 的优点是通过体外扩增转录可获取足量的肿瘤细胞 RNA,且 RNA 半衰期短,不会整合到基因中,提高了临床应用的安全性。Gholamin 等<sup>[13]</sup>发现,经电穿孔负载食管鳞状细胞癌细胞 RNA 后的 DC 可显著刺激自体 T 淋巴细胞增殖,诱导的特异性细胞毒性 T 淋巴细胞对靶细胞的杀伤率显著高于单纯淋巴细胞和未经转染的 DC。②用肿瘤细胞 DNA 修饰 DC 即将肿瘤抗原基因导入 DC,主要采用病毒载体的方法,包括反转录病毒、腺病毒、慢

病毒及痘病毒等。Frolkis 等<sup>[14]</sup> 把人的端粒酶反转录酶基因插入质粒和腺病毒 转染 DC 疫苗不同程度地激起了 T 细胞反应 而且用腺病毒作为载体的 DC 激起的细胞毒 T 细胞反应效率更高。

**3.4 在体外用细胞因子、趋化因子基因修饰 DC** 经细胞因子、协同因子和趋化因子等基因修饰的 DC 可增强细胞免疫原性, 如将白细胞介素 12 基因与黑色素瘤抗原基因通过质粒共同转染 DC 后, 抗原特异性细胞毒 T 细胞反应显著增强。Naka 等<sup>[15]</sup> 将粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子的 mRNA 与肿瘤的 mRNA 共转染 DC 后, 抑制小鼠肿瘤生长的作用也明显增强。

**3.5 在体外用 Exosome 负载 DC(即无细胞疫苗)** 肿瘤细胞与 DC 体外共培养后, 在培养上清中可分离出大量 exosomes 小体, 该结构同时表达 MHC I、MHC II 类分子和共刺激分子 CD<sub>86</sub>, 在体内外均能诱导产生特异性细胞毒 T 细胞, 消退已有肿瘤。廖贵清等<sup>[16]</sup> 用舌癌 Tca8113 细胞分泌的 exosomes 负载 DC 后, 可以诱导细胞毒 T 细胞产生。理论上 exosomes 可以取代 DC 发挥激发 MHC 限制性 T 细胞应答和肿瘤排斥作用, 而且由于其非细胞性, 用于人体后产生的不良反应可能更小, 效果优于用肿瘤裂解物或凋亡体负载 DC, 开创了无细胞免疫治疗的新途径。

**3.6 体内 DC 肿瘤抗原负载** 以上介绍的方法均需要在体外培养 DC, 比较费时费力, 并增加了污染的概率。因此人们着手研究体内直接用肿瘤抗原负载 DC 的方法。体内负载 DC 的策略有: ①通过对脂质体的改良, 制备 pH 敏感脂质体或在脂质体中加入针对 DC 的特异性抗体或配体分子, 可以使脂质体携带抗原载体经皮下途径到达局部淋巴组织进一步提高对 DC 负载抗原的靶向性。②通过转基因使肿瘤细胞大量表达 Fas 而凋亡, DC 在体内通过吞噬凋亡体而负载肿瘤抗原<sup>[7]</sup>。③通过体内联合给予 3'-氟胸苷配体、ISS(一种含有 CpG 序列的 DNA 分子) 及肿瘤抗原、体内活化和抗原负载 DC<sup>[17]</sup>。

#### 4 存在的问题及展望

近 10 年来, DC 疫苗作为肿瘤免疫治疗的一项重要手段已显示出巨大的临床应用价值, 特别是在乳腺癌<sup>[10]</sup>、卵巢癌<sup>[10]</sup>、口腔癌<sup>[16]</sup> 等方面的研究更为广泛深入, 然而 DC 疫苗在临床应用中仍有较多问题, 如为实现增强 DC 抗原递呈的目的, 如何优化肿瘤抗原疫苗, 促进 DC 向抗肿瘤亚型分化以及 DC 疫苗的最佳应用剂量、次数、途径与时间, 疫苗佐剂联合应用等, 均需进一步探讨。相信随着相关研究的

不断深入, 以 DC 为基础的肿瘤免疫治疗将会日趋完善, DC 疫苗在抗肿瘤治疗中也将会有广阔的应用前景。

#### 参考文献

- [1] Paglia PC, Chiodoni M, Rodolfo MP, et al. Murine dendritic cells loaded in vitro with soluble protein prime cytotoxic T lymphocyte against tumor antigen in vivo [J]. *Exp Med*, 1996, 183 (1): 317-322.
- [2] Mohamadzadeh M, Duong T, Hoover T. Targeting mucosal dendritic cells with microbial antigens from probiotic lactic acid bacteria [J]. *Expert Rev Vaccines* 2008, 7(2): 163-174.
- [3] Shortman K. Burnetoration: dendritic cells: multiple subtypes multiple origins, multiple functions [J]. *Immunol*, 2000, 78 (2): 161-165.
- [4] Ma C, Wu F, Kong F, et al. Culture of dendritic cells in vitro and its anti-tumor immunotherapy [J]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi* 2010, 13(5): 483-487.
- [5] Poindexter NJ, Sahin A, Hunt KK, et al. Analysis of dendritic cells in tumor-free and tumor-containing sentinel lymph nodes from patients with breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2004, 6(4): 408-415.
- [6] Troy AJ, Davidson PJ, Atkinson CH, et al. CD<sub>1</sub>a dendritic cells predominate in transitional cell carcinoma of bladder and kidney but are minimally activated [J]. *Urol*, 1999, 161(17): 1962-1967.
- [7] Thery C, Regnault A, Garin J, et al. Molecular characterization of dendritic cell-derived exosomes: selective accumulation of the heat shock protein hsc73 [J]. *Cell Biol*, 1999, 147(3): 599-610.
- [8] Harada N, Kodama H, Nanba H, et al. Relationship between dendritic cell and D-fraction-induced Th-1 dominant response in BALB/c tumor-bearing mice [J]. *Cancer Letters*, 2003, 192(2): 181-187.
- [9] 张晓娟, 董坚, 吴振林, 等. HSP70 多肽复合物修饰 DCs 疫苗抗胰腺癌荷瘤小鼠的实验研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2009, 25(9): 792-796.
- [10] 钟国成, 敬新蓉, 李莉, 等. 负载自体肿瘤抗原的树突状细胞联合细胞因子诱导的杀伤细胞在乳腺癌的临床研究 [J]. *泸州医学院学报*, 2008, 31(2): 130-134.
- [11] Signorino E, Brusa D, Granata R, et al. Contribution of dendritic cells' FcγR I and FcγR III to cross-presentation of tumor cells opsonized with the anti-MHC class I monoclonal antibodies [J]. *Cancer Biol Ther* 2007, 6(12): 1932-1937.
- [12] 李金凤, 张震宇, 王淑珍, 等. 卵巢癌细胞和脐血树突状细胞融合疫苗的体外培养与免疫原性的研究 [J]. *首都医科大学学报*, 2007, 28(5): 604-608.
- [13] Gholamin M, Moaven O, Farshchian M, et al. Induction of cytotoxic T lymphocytes primed with tumor RNA-loaded dendritic cells in esophageal squamous cell carcinoma: preliminary step for DC vaccine design [J]. *BMC Cancer* 2010, 7(10): 261-262.
- [14] Frolkis M, Fischer MB, Wang Z, et al. Dendritic cell reconstituted with human telomerase gene induce potent cytotoxic T-cell response against different types of tumors [J]. *Cancer Gene Ther* 2003, 10(3): 239-249.
- [15] Naka T, Iwahashi M, Nakamura M, et al. Tumor vaccine therapy against recrudescing tumor using dendritic cells simultaneously transfected with tumor RNA and granulocyte macrophage colony-stimulating factor RNA [J]. *Cancer Sci* 2008, 99(2): 407-408.
- [16] 廖贵清, 李金, 冯炼强, 等. Tca8113 细胞 exosomes 的制备、鉴定及体外抗肿瘤作用观察 [J]. *口腔颌面外科杂志*, 2009, 19(6): 390-394.
- [17] Merad M, Sugie T, Engleman EG, et al. In vivo manipulation of dendritic cells to induce therapeutic immunity [J]. *Blood*, 2002, 99(5): 1676-1682.

收稿日期: 2010-07-20 修回日期: 2010-09-19