

· 综述 ·

# 树突状细胞在肝癌治疗中的应用

田蓝天 刘连新 姜洪池

树突状细胞(dendritic cell, DC)由 Steinman 和 Cohn 于 1973 年首次发现,并使用“树突状”来描绘鼠脾内一群黏附细胞的形态特征<sup>[1]</sup>。DC 是识别内外抗原、调节免疫功能的关键因素,在机体免疫系统中处于中心地位,同时还在机体抗肿瘤免疫中发挥着重要作用。本文就 DC 在肝癌治疗方面的基础进展、临床应用现状作扼要综述。

## 1 DC 基础研究现状

### 1.1 DC 的分离、纯化、培养、扩增及鉴定

DC 能直接活化 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞,产生抗原特异性体液及细胞免疫应答反应,是体内惟一能活化初始 T 细胞的抗原递呈细胞(本文所述 DC 专指与 T 细胞相关的狭义 DC)。体内 DC 分布广、数量少,为痕量细胞群,仅占人外周血单个核细胞总数的 0.5% ~ 1.0%,且难以分离和纯化。DC 的分离、培养、扩增及鉴定一直是临床进行免疫生物治疗需要解决的课题<sup>[2]</sup>。

### 1.2 DC 与肿瘤免疫

DC 具有非特异性免疫效应功能,可杀伤多种新鲜分离或培养的肿瘤细胞。DC 的抗原递呈是 T、B 细胞作用的先决条件,借助 DC 高表达的主要组织相容性复合体 I、II 类分子所递呈的肿瘤抗原肽,联合 B7-1、B7-2、CD40 分子共同作用,充分激活 T 细胞。初始型 T 细胞接受 DC 递呈的抗原后活化并增殖,促进其在肿瘤部位聚集以执行免疫功能。

近年,围绕 DC 建立的旨在增强机体抗肿瘤特异性免疫力的诸多措施已成为肿瘤生物治疗的新前沿。这类措施均以增强 DC 对肿瘤抗原的识别、递呈能力为核心。包括:(1)体外用肿瘤抗原多肽,肿瘤细胞蛋白提取物、裂解物,凋亡肿瘤细胞,已致敏 DC 的分泌物负载 DC,可显著诱导机体产生特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL)、保护性免疫效应,并且已用于治疗荷瘤模型

鼠。(2)基因转染:将肿瘤抗原基因导入 DC,使 DC 自身表达肿瘤相关抗原,可延长免疫刺激作用时间,同时有利于抗原进入 I 类抗原递呈途径,诱发 CTL 反应,该基因工程瘤苗制备方案颇具前景。(3)肿瘤 mRNA:研究提示肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)mRNA 可替代 HCC 抗原刺激 DC,诱发 HCC 的特异性免疫。目前,借助核酸扩增技术从少量的肿瘤组织中即可获取足量 mRNA,再借助差异筛选等技术获取肿瘤中特异性 mRNA 用于负载、激活 DC。(4)细胞融合:肿瘤细胞与 DC 融合后可使肿瘤抗原表达在融合细胞上,共刺激因子作用后可直接活化初始型 T 细胞参与抗肿瘤效应。张浩等<sup>[3]</sup>使用小鼠骨髓 DC 与 H22 肝癌细胞体外融合制备的瘤苗,能抵抗 H22 小鼠肝癌细胞的攻击并诱导较强的 CTL 活性,能显著促进肿瘤组织中 TNF- $\alpha$ 、干扰素- $\gamma$  表达及延长荷瘤小鼠生存期。

## 2 临床研究近况

随着 DC 分离、体外扩增、培养技术的成熟完善,它在感染性疾病、自身免疫性疾病、恶性肿瘤防治及移植排斥反应调控等领域的研究蔚然兴起。特别因其在增强机体特异性抗肿瘤免疫能力的重要作用而成为肿瘤生物治疗的研究重点。

近年,国内外开展了众多应用 DC 治疗 HCC 的研究。Ladhams 等<sup>[4]</sup>用自体肿瘤细胞负载 DC 治疗不能切除的 HCC 取得明显效果。Lee 等<sup>[5]</sup>用破裂的 HCC 细胞产物负载 DC 治疗晚期 HCC 患者,Ⅰ期临床试验效果良好。Chi 等<sup>[6]</sup>发现常规放疗结合瘤内注射过继免疫 DC 治疗难治性 HCC,呈现出良好的应用前景。Kuang 等<sup>[7]</sup>将甲醛固定的自体 HCC 细胞负载 DC 后用于预防术后复发的Ⅱ期随机临床试验,其效果较对照组显著。近年,用 AFP 基因转染 DC 制备 AFP-DC 肿瘤疫苗,成功诱导出 AFP 特异性 CTL,对表达 AFP 的癌细胞呈现出特异性的杀伤。但正常机体内 AFP 也有低表达,有引发自身免疫性疾病的可能。应用 AFP 负载 DC 的临床Ⅰ、Ⅱ期 HCC 治疗试验已于 2006 年在美国匹兹堡完成,效果良好<sup>[8]</sup>。最近,一项应用人类白细胞抗原-A24<sup>+</sup>

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一临床医学院普外科六病房

通讯作者:刘连新, E-mail: liulianxin@medmail.com.cn

限制性 T 细胞表位诱导针对 AFP 特异性 CTL 的试验表明,新证实的 AFP 抗原表位可作为 HCC 免疫治疗的高效靶点,为应用 DC 进行免疫治疗 HCC 提供了新靶标<sup>[9]</sup>。另外,HCC 患者 MAGE-A 基因簇总的异常表达率高达 86%,以 MAGE-1、3 修饰的基因工程 DC 在体外诱导出对人 HCC 细胞株很强的细胞毒作用,可作为肿瘤疫苗用于治疗 HCC<sup>[10]</sup>。叶胜龙等<sup>[11]</sup>以 MAGE-1、IL-12、fms 样酪氨酸激酶受体 3 配体、IL-18 等基因修饰 DC 并体外诱导出较强的对 HCC 细胞特异性杀伤,提示其可望作为一种新型肿瘤疫苗在 HCC 防治中应用。Nakamoto 等<sup>[12]</sup>将自体外周血获得的 DC 体外扩增后行导管肝动脉栓塞术回输,结果发现 DC 在瘤周及瘤体内部存在达 17 d 之久,并伴单核及淋巴细胞的浸润,临床并未见任何血清学及自身免疫不良反应的依据,充分证实 DC 回输方案的安全、高效,展现出良好的应用前景。Evdokimova 等<sup>[13]</sup>发现健康人体内 AFP 特异性 CD4<sup>+</sup> T 细胞反应率较低且为 Th1 型淋巴细胞,该类细胞在 HCC 中含量很低。为更好激活此类细胞,他们选择 AFP 蛋白与 Advh-AFP 工程 DC 进行,结果证实 Advh-AFP 工程 DC 较普通抗原递呈细胞甚至可溶性 AFP 负载过的 DC 的抗原递呈能力更强,为临床治疗提供了很好的研究方向。国内近年围绕 DC 开展的基础性研究亦很多。张毅等<sup>[14]</sup>发现 HCC 中存在较高比例的 P120ctn 异常表达,且与 HCC 的浸润和转移关系密切。这提示可将 P120ctn 负载体外扩增的 DC 并回输对肝癌进行治疗。谢斌等<sup>[15]</sup>证实了 c-met、E-钙黏蛋白、 $\beta$ -连环蛋白在 HCC 侵袭转移中的作用,为将上述蛋白负载 DC 后对肝癌侵袭转移的控制提供了良好思路。大量研究表明:HCC 的免疫治疗利用 DC 递呈肿瘤抗原可明显诱导抗肿瘤的 CTL,临床效果良好且无明确副作用,基于 DC 构建的肿瘤疫苗已经成为理想的治疗肝癌的免疫辅助疗法。

### 3 结语与展望

随着恶性肿瘤抗原的逐步明确,治疗性的 DC 肿瘤疫苗将成为研究重点。免疫疗法的关键是针对肿瘤表达的特定系列蛋白,特异地消除肿瘤。涉及 DC 的各种免疫激活策略充分展示了其在 HCC 治疗方面的生物效能。综合分析发表的试验数据:大部分方案均有良好的临床应用前景。随着制约免疫疗效因素的解决、基因工程疫苗应用的方兴未艾,在今后更标准化的治疗中,DC 必将随其在 HCC 免疫治

疗方面所占据的主体角色的日臻完善而发挥更大的临床效应。

### 参考文献

- [1] Steinman RM, Lustig DS, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med*, 1973, 137 (5): 1142 - 1162.
- [2] Ardavin C, Amigorena S, Reis e Sousa C. Dendritic cells: immunobiology and cancer immunotherapy. *Immunity*, 2004, 20 (1): 17 - 23.
- [3] 张浩,郑树森,蒋国平,等. 小鼠肝癌树突状细胞融合瘤苗抗肿瘤作用的研究. *中华肝脏病杂志*, 2004, 12 (11): 648 - 651.
- [4] Ladhams A, Schmidt C, Sing G, et al. Treatment of non-resectable hepatocellular carcinoma with autologous tumor-pulsed dendritic cells. *J Gastroenterol Hepatol*, 2002, 17 (8): 889 - 896.
- [5] Lee WC, Wang HC, Hung CF, et al. Vaccination of advanced hepatocellular carcinoma patients with tumor lysate-pulsed dendritic cells: a clinical trial. *J Immunother (1997)*, 2005, 28 (5): 496 - 504.
- [6] Chi KH, Liu SJ, Li SP, et al. Combination of conformal radiotherapy and intratumoral injection of adoptive dendritic cell immunotherapy in refractory hepatoma. *J Immunother (1997)*, 2005, 28 (2): 129 - 135.
- [7] Kuang M, Peng BG, Lu MP, et al. Phase II randomized trial of autologous formalin-fixed tumor vaccine for post-surgical recurrence of hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2004, 10 (5): 1574 - 1579.
- [8] Butterfield LH, Ribas A, Disette VB, et al. A phase I/II trial testing immunization of hepatocellular carcinoma patients with dendritic cells pulsed with four alpha-fetoprotein peptides. *Clin Cancer Res*, 2006, 12 (9): 2817 - 2825.
- [9] Mizukoshi E, Nakamoto Y, Tsuji H, et al. Identification of alpha-fetoprotein-derived peptides recognized by cytotoxic T lymphocytes in HLA-A24 + patients with hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 2006, 118 (5): 1194 - 1204.
- [10] 刘彬彬,叶胜龙,贺平,等. MAGE-1 修饰的树突状细胞体外诱导杀伤人肝癌细胞. *中华肝脏病杂志*, 2001, 9 (3): 151 - 153.
- [11] 叶胜龙. 肝癌免疫基因治疗的研究现状. *中华肝脏病杂志*, 2002, 10 (6): 407 - 408.
- [12] Nakamoto Y, Mizukoshi E, Tsuji H, et al. Combined therapy of transcatheter hepatic arterial embolization with intratumoral dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma: clinical safety. *Br Society Immunology. Clin Exp Immunol*, 2007, 147 (2): 296 - 305.
- [13] Evdokimova VN, Liu Y, Potter DM, et al. AFP-specific CD4 + Helper T-cell responses in healthy donors and HCC patients. *J Immunother (1997)*, 2007, 30 (4): 425 - 437.
- [14] 张毅,朱瑾,杨占宇,等. 连环蛋白 P120 在肝细胞癌中的表达及其意义. *消化外科*, 2006, 5 (6): 431 - 434.
- [15] 谢斌,李晓武,董家鸿. c-met、E-钙黏蛋白、 $\beta$ -连环蛋白在肝细胞癌中的表达及意义. *消化外科*, 2006, 5 (1): 62 - 66.

(收稿日期: 2007-05-09)

(本文编辑: 毛蜀)