

放疗联合树突状细胞治疗恶性肿瘤的研究进展

姚伟荣* 综述, 马 林 审校

关键词: 放射治疗; 树突状细胞; 肿瘤

中图分类号: R730.55 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2012)01-0113-03

0 引言

放射治疗是当今恶性肿瘤三大经典治疗手段之一, 对肿瘤细胞具有直接和间接细胞毒作用。近年来, 发现放射线通过诱发肿瘤细胞凋亡和微环境改变, 与免疫治疗联合应用可能产生协同作用^[1]。树突状细胞(DC)是体内最重要的免疫细胞之一, 参与肿瘤免疫的数个关键环节, 对打破体内的免疫抑制状态、诱导针对肿瘤细胞的特异性免疫发挥着重要的作用。本文就放射治疗和树突状细胞联合应用治疗恶性肿瘤的研究现状作以下综述。

1 放射治疗对肿瘤和机体免疫系统的影响

恶性肿瘤接受放射治疗后在肿瘤局部产生一系列变化, 与机体自身细胞死亡所诱发的非免疫原性细胞死亡不同, 经放射线诱导的凋亡肿瘤细胞可能呈现不同的死亡特征, 称之为免疫原性死亡^[2]。经历免疫原性死亡的肿瘤细胞与免疫系统中一些细胞成分相互作用(其中以树突状细胞的识别最为关键), 最终导致免疫系统的激活。免疫系统激活后肿瘤的微环境发生改变, 在免疫细胞和细胞因子的共同作用下, 肿瘤杀伤效应得以放大, 并可能随免疫细胞在体内的迁移将局部产生的免疫反应扩大到全身^[3]。

经射线照射后的恶性肿瘤至少经历了以下变化: (1) 某些胞膜蛋白的暴露, 如热休克蛋白 70、Cal-reticulin 蛋白, 使肿瘤细胞更容易被免疫系统所识^[4-6]; (2) 释放炎症因子, 吸引 DC 到达肿瘤部位, 引发后续的免疫反应^[7]; (3) 上调某些免疫相关受体, 如 Fas、MHC-I 等; (4) 微环境改变, 如 Tregs 细胞数量减少和活性减低^[8-9]。尽管放疗能引起机体的免疫反应, 但尚未观察到单纯放疗导致远处转移肿瘤消退的现象^[10]。但是, 当联合一些免疫调节剂(如

IFN- α 等)或免疫细胞(如 DC)治疗后, 免疫反应和抗肿瘤效应均较单纯放疗明显增强^[11-14], 提示可能单独放疗对肿瘤宿主免疫系统的影响有限, 需要一些协同因子共同作用以激发更为强大的抗肿瘤效应。

2 放疗与 DC 联合治疗的临床前研究

DC 具有强大的免疫调节作用, 已被证实参与了放疗后诱发免疫应答的关键过程。放疗后所诱发的肿瘤免疫原性死亡可为 DC 提供良好、稳定、全面的抗原来源, 促进 DC 的成熟。早期研究发现^[15], 在多种肿瘤组织中, DC 的浸润程度与临床预后直接相关, 提示 DC 与肿瘤细胞的近距离接触是诱导机体抗癌免疫的重要条件。国内王煜等^[16]将未成熟 DC 瘤内注射观察到了全身的特异性免疫反应。瘤内注射未成熟 DC 的方式使 DC 尽可能地接近肿瘤抗原, 可能增加递呈的效率。

2003 年, Teitz-Tennenbaum 等^[17]首先报道了放疗联合肿瘤内注射未成熟 DC 的动物实验研究结果。他们选用了小鼠 D5 黑素瘤和 MCA205 肉瘤模型, 分次放疗(8.5 Gy $\times$ 5 次)联合瘤内注射小鼠骨髓来源的未成熟 DC($10^6 \times 4$ 次)后发现, 原位肿瘤的生长受到明显抑制(抑制率 65.9%), 肺转移的发生率减少。这一效应较放疗与未成熟 DC 单独应用或负载肿瘤裂解物的 DC 皮下注射所引起的治疗效应均明显增强, 而且具有免疫记忆能力, 对后续攻击的同种肿瘤细胞具有特异性保护作用^[17]。

DC 的修饰能进一步提高治疗效果, 现有的修饰方法主要是围绕着促进 DC 吞噬抗原和成熟迁移, 联合一些经典的免疫佐剂、细胞因子和基因转染来进行的。2004 年 Kim 等^[18]将 TNF- α 或 LPS 作为刺激因子和 DC 一同瘤内注射, 观察到抗肿瘤效果较放疗联合单独 DC 时进一步加强。2009 年 Tatsuta 等^[19]采用放射性抗拒且免疫原性很弱的神经胶质母细胞瘤 c1300 细胞系建立移植瘤模型, 发现当放疗和转染 IFN- β 基因的 DC 联合治疗后, 即使已建立的 7~9 mm 直径的 c1300 肿瘤也完全消失,

收稿日期: 2011-02-28; 修回日期: 2011-07-25

作者单位: 100853 北京, 中国人民解放军总医院放射治疗科(*: 现工作单位: 330006 南昌, 江西省人民医院肿瘤科)

通信作者: 马林, E-mail: malinpharm@sohu.com

作者简介: 姚伟荣(1978-), 女, 博士在读, 副主任医师, 主要从事恶性肿瘤放射治疗的研究和临床工作

荷瘤小鼠长期生存,且对后续的肿瘤攻击产生了保护性免疫,虽然该研究纳入的动物数较少,但产生的效果十分满意。另外,IL-2、GM-CSF 和 TNF- α 基因转染也被证明能进一步加强放疗联合未成熟 DC 瘤内注射的效果,这一作用可能是通过增加协同刺激分子的表达来达到的^[20-21]。

此外,2009 年 Teitz-Tennenbaum 等^[22]使用了多方面的联合治疗方案,首先建立黑色素瘤 D5 肝转移动物模型,再以氟尿嘧啶和环磷酰胺联合化疗诱导小鼠的淋巴细胞减少状态,然后以放疗联合未成熟 DC 瘤内注射,发现能明显延缓肿瘤转移的发生,生存时间明显延长,但遗憾的是最终所有小鼠产生病灶播散而死于黑色素瘤。当在放疗联合 DC 后再给予过继性 T 细胞静脉输注联合 IL-2 腹腔输注时,疗效有了巨大的转变,有 46% 的动物达到长期无病生存。流式细胞分析发现放疗联合 DC 能大大激发输注的 CD4⁺ T 细胞的增殖和集聚,提示在这种方式的联合治疗中,CD4⁺ T 细胞的扩增起到了关键的作用^[22]。提示将细胞和细胞因子治疗等免疫治疗手段联合现有的化疗、放疗可能对改善恶性肿瘤的治疗效果有意想不到的协同相加作用。

3 放疗与 DC 联合治疗的临床研究

鉴于放射治疗联合 DC 在动物实验中的效果鼓舞人心,近年来人们开始进行一些放疗联合 DC 瘤内注射的临床研究。2005 年 Chi 等^[23]首次报道了放疗联合 DC 瘤内注射治疗难治性肝细胞癌的 I 期临床试验。14 例不适合手术和介入治疗的进展期或转移性肝细胞癌患者参加该试验,在肿瘤局部单次 8Gy 放疗后给予自体未成熟 DC 瘤内注射,DC 分为 5×10^6 、 1.5×10^7 、 3×10^7 、 5×10^7 四个剂量水平,3 周后重复上述免疫一次。结果所有剂量水平均耐受良好,少数患者出现轻微一过性发热、寒战或轻度疲劳和肌肉、关节疼痛,未见明显自身免疫现象发生。疗效评价 2 例病灶达 PR,4 例略有缩小但未达 PR。3 例患者血清 AFP 水平下降大于 50%,末次免疫 2 周后 10 例患者中的 8 例呈现特异性 AFP 免疫反应,6 例显示 NK 细胞毒增加。提示放疗联合 DC 治疗不良反应轻微,患者耐受性好,同时显示了初步的抗肿瘤作用。2009 年 Mann 等^[24]报道了另一项基于放化疗、未成熟 DC 瘤内注射和体外激活的 T 细胞回输联合治疗的临床研究。37 例进展期癌症患者被分入 5 个治疗方案组,前 4 组患者接受化疗—放疗—未成

熟 DC 瘤内注射—体外激活的 T 细胞回输这一总体序贯治疗策略中的部分步骤,第 5 组患者顺序接受所有 4 种治疗方法,结果所有患者均耐受治疗,大部分患者疗效显示 SD。在第 5 治疗组患者中大部分出现区域淋巴结肿大、注射部位和远处转移部位的疼痛、注射局部的肿胀和短暂的 38℃ 以上的发热。值得注意的是,第 5 组 2 例入组患者中有 1 例出现持续的注射部位和转移病灶的完全缓解,且至少持续了 9 月,显示了联合治疗的强大效果。但该研究不足之处在于多种方法联合治疗病例数太少,只有 2 例,故结果还需更大样本量的临床试验确认^[24]。

4 问题与展望

放疗联合 DC 治疗在动物实验和临床研究中均显示了一定的疗效和良好的发展前景,但两者协同作用的具体机制尚还不清楚,存在问题需要深入探讨:(1)放射治疗的给予方式:动物实验中放疗多是大分割或单次放疗,而临床上多采用常规分割,而且放疗总剂量的不同可能也会影响与 DC 的联合治疗疗效^[9],究竟哪种放疗方式更适合与 DC 的联合治疗尚需深入研究。(2)DC 的剂量和免疫程序:现有的研究均未发现 DC 的最大耐受剂量,反映了 DC 对机体的毒性作用很轻微,但是从免疫学的角度来说,DC 的用量也不是越大越好,能产生最大效果的合适剂量目前尚未确定。DC 的免疫次数和最适间隔时间目前也并不清楚。(3)DC 的修饰方法:现已证明放疗与 DC 联合使用时,当加入一些协同刺激因子或基因转染能进一步提高疗效,提示改变肿瘤微环境将有利于提高联合治疗疗效,这将是十分有前景的研究方向。(4)DC 的双面调控能力:DC 不仅具有免疫激活能力,而且在一定条件下还能诱导免疫耐受,在临床研究中尤其要意识到免疫调控网络的复杂性。

放射治疗具有良好的与 DC 联合应用的理论基础,为 DC 提供了扩增和活化所必需的肿瘤抗原和肿瘤微环境,瘤内注射未成熟 DC 使抗原负载的过程完全在体内完成,方法简单易行,易于临床推广。放疗和 DC 联合治疗恶性肿瘤是多学科综合治疗理念的结果,有利于达到个体化治疗,其研究方向十分有前景。

参考文献:

- [1] Demaria S, Ng B, Devitt ML, et al. Ionizing radiation inhibition of distant untreated tumors (abscopal effect) is immune media-

- ted [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 58(3): 862-870.
- [2] Tesniere A, Panaretakis T, Kepp O, et al. Molecular characteristics of immunogenic cancer cell death [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(1): 3-12.
- [3] Delgado FG, Martínez E, Céspedes MA, et al. Increase of human papillomavirus-16 E7-specific T helper type 1 response in peripheral blood of cervical cancer patients after radiotherapy [J]. *Immunology*, 2009, 126(4): 523-534.
- [4] Shi Y, Thomas JO. The transport of proteins into the nucleus requires the 70-kilodalton heat shock protein or its cytosolic cognate [J]. *Mol Cell Biol*, 1992, 12(5): 2186-2192.
- [5] Doody AD, Kovalchin JT, Mihalyo MA, et al. Glycoprotein 96 can chaperone both MHC class I- and class II-restricted epitopes for in vivo presentation, but selectively primes CD8⁺ T cell effector function [J]. *J Immunol*, 2004, 172(10): 6087-6092.
- [6] Schild H, Arnold-Schild D, Lammert E, et al. Stress proteins and immunity mediated by cytotoxic T lymphocytes [J]. *Curr Opin Immunol*, 1999, 11(1): 109-113.
- [7] Bell CW, Jiang W, Reich CF, et al. The extracellular release of HMGB1 during apoptotic cell death [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 291(6): C1318-C1325.
- [8] Liu R, Xiong S, Zhang L, et al. Enhancement of antitumor immunity by low-dose total body irradiation is associated with selectively decreasing the proportion and number of T regulatory cells [J]. *Cell Mol Immunol*, 2010, 7(2): 157-162.
- [9] Battaglia A, Buzzonetti A, Martinelli E, et al. Selective changes in the immune profile of tumor-draining lymph nodes after different neoadjuvant chemoradiation regimens for locally advanced cervical cancer [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2010, 76(5): 1546-1553.
- [10] Demaria S, Bhardwaj N, McBride WH, et al. Combining radiotherapy and immunotherapy: a revived partnership [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005, 63(3): 655-666.
- [11] Schmidt J, Jäger D, Hoffmann K, et al. Impact of interferon- α in combined chemoradioimmunotherapy for pancreatic adenocarcinoma (CapRI): first data from the immunomonitoring [J]. *J Immunother*, 2007, 30(1): 108-115.
- [12] Chakravarty PK, Guha C, Alfieri A, et al. Flt3L therapy following localized tumor irradiation generates long-term protective immune response in metastatic lung cancer: its implication in designing a vaccination strategy [J]. *Oncology*, 2006, 70(4): 245-254.
- [13] Perez CA, Fu A, Onishko H, et al. Radiation induces an antitumor immune response to mouse melanoma [J]. *Int J Radiat Biol*, 2009, 85(12): 1126-1136.
- [14] He J, Yin Y, Luster TA, et al. Antiphosphatidylserine antibody combined with irradiation damages tumor blood vessels and induces tumor immunity in a rat model of glioblastoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(22): 6871-6880.
- [15] Zong YS, Zhang CQ, Zhang F, et al. Infiltrating lymphocytes and accessory cells in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1993, 84(8): 900-905.
- [16] Wang Y, Lei T, Niu HQ, et al. A experimental research about treatment of malignant glioma by combining intratumoral injection of dendritic cells and chemotherapy [J]. *Chin J Neurosurg*, 2006, 26(3): 184-186. [王煜, 雷霆, 牛洪泉, 等. 树突状细胞瘤内注射和化疗联合治疗脑胶质瘤的实验研究 [J]. *中华神经外科杂志*, 2006, 26(3): 184-186.]
- [17] Teitz-Tennenbaum S, Li Q, Rynkiewicz S, et al. Radiotherapy potentiates the therapeutic efficacy of intratumoral dendritic cell administration [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(23): 8466-8475.
- [18] Kim KW, Kim SH, Shin JG, et al. Direct injection of immature dendritic cells into irradiated tumor induces efficient antitumor immunity [J]. *Int J Cancer*, 2004, 109(5): 685-690.
- [19] Tatsuta K, Tanaka S, Tajiri T, et al. Complete elimination of established neuroblastoma by synergistic action of gamma-irradiation and DCs treated with rSeV expressing interferon-beta gene [J]. *Gene Ther*, 2009, 16(12): 240-251.
- [20] Wang YS, Tsang YW, Chi CH, et al. Synergistic anti-tumor effect of combination radio- and immunotherapy by electro-gene therapy plus intra-tumor injection of dendritic cells [J]. *Cancer Lett*, 2008, 266(2): 275-285.
- [21] Mulé JJ. Dendritic cell-based vaccines for pancreatic cancer and melanoma [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1174: 33-40.
- [22] Teitz-Tennenbaum S, Li Q, Davis MA, et al. Radiotherapy combined with intratumoral dendritic cell vaccination enhances the therapeutic efficacy of adoptive T-cell transfer [J]. *J Immunother*, 2009, 32(6): 602-612.
- [23] Chi KH, Liu SJ, Li CP, et al. Combination of conformal radiotherapy and intratumoral injection of adoptive dendritic cell immunotherapy in refractory hepatoma [J]. *J Immunother*, 2005, 28(2): 129-135.
- [24] Mann DL, Celluzzi CM, Hankey KG, et al. Combining conventional therapies with intratumoral injection of autologous dendritic cells and activated T cells to treat patients with advanced cancers [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1174: 41-50.

[编辑: 刘红武; 校对: 杨 卉]