

胶质瘤免疫治疗的研究进展

赵晨辉¹, 苗旺¹, 李晋虎¹ 综述 王桂琴², 范益民^{1*} 审校

1. 山西医科大学附属第一医院神经外科, 山西 太原 030001

2. 山西医科大学免疫学教研室, 山西 太原 030001

摘要: 随着人们对胶质瘤免疫学认识的深入, 胶质瘤的免疫治疗愈加倍受关注。新近针对胶质瘤研究最多的免疫治疗包括胶质瘤疫苗、过继性细胞免疫治疗、放射免疫治疗、细胞因子治疗以及免疫检查点阻断剂治疗等。免疫治疗凭借其独特的优势被越来越广泛地应用于胶质瘤的基础和临床研究, 并进行了大量的临床试验。本文就新近胶质瘤免疫治疗的研究进展作一综述。

关键词: 胶质瘤; 免疫治疗; 肿瘤疫苗; 过继性免疫治疗; 免疫检查点阻断剂

人脑胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤, 约占所有颅内肿瘤的 40%^[1]。传统的以手术切除辅助放化疗的治疗方法, 疗效差, 治愈率低, 复发率高, 预后极差, 其中高级别胶质瘤平均生存期只有 16~19 个月, 2 年生存率仅 25%~30%, 5 年生存率不足 5%^[2]。这就迫切需要寻求一种新的治疗策略, 近年来, 随着肿瘤免疫学、分子生物学基因及细胞工程技术的迅速发展, 研究者针对胶质瘤提出了一种新的治疗方法, 即免疫疗法。本文就胶质瘤免疫治疗的最新进展作一综述。

1 胶质瘤的免疫学特点

由于人们观察到移植于实验动物脑内的移植瘤排斥反应明显滞弱于其它部位, 所以很多学者认为脑组织是一个免疫特免器官, 并将其归因于脑组织存在血脑屏障, 缺乏抗原提呈细胞 (antigen presenting cells, APC), 以及神经元和胶质细胞不表达主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 等^[3]。

但是, 自 20 世纪 90 年代初, 有研究证实小胶质细胞和星形胶质细胞在中枢神经系统中可能起免疫监视作用, 其中小胶质细胞可以表达一些巨噬细胞相关的表面标志物, 包括 MHC 抗原等^[4]。越来越多的临床资料和试验表明 T 细胞和抗体可以进入中枢神经系统与相应的抗原结合, 并可启动针对胶质瘤细胞的免疫应答^[5]。甚至有研究表明, 血管内皮细胞、星形胶质细胞、血管周围的巨噬细胞、平滑肌细胞均可递呈抗原^[6]。T 细胞、自然杀

伤细胞 (natural killer cell, NK) 和巨噬细胞等免疫细胞可在病理条件下突破血脑屏障而向脑内浸润^[7]。这提示中枢神经系统存在免疫反应的物质基础。胶质瘤的发生和演进与机体的免疫反应密不可分。机体对胶质瘤免疫反应表现不足的部分原因已被证实, 例如胶质瘤细胞能够合成、分泌多种抑制免疫细胞活性的分子, 如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、白介素-10 (interleukin-10, IL-10)、前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) 等^[8]。而且, 胶质瘤微环境中的一些免疫细胞, 比如髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC)、调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg), 以及肿瘤相关性巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM) 等可以通过表达多种蛋白质, 促进抑制性 T 细胞活化、增殖和发挥效应等^[8]。

在上述胶质瘤免疫学特征的作用下, 机体的免疫细胞、分子等免疫效应物质与胶质瘤的发生、发展之间存在复杂的相互影响和联系。因此, 通过各种手段来增强或调节机体免疫系统对胶质瘤的靶向作用, 不失为一种极具前景的治疗策略。总的来说, 新近胶质瘤的免疫治疗主要包括以下五种类型。

2 胶质瘤疫苗

2.1 树突状细胞疫苗

作为功能最强的专职 APC, 树突状细胞 (dendritic cells, DC) 受抗原激活后胞膜上 MHC 分子、协同刺激分子及黏附分子的表达大大增加。DC 疫苗即是通过使用肿瘤抗原、肿瘤提取物或肿瘤细胞致

收稿日期: 2015-04-10; 修回日期: 2015-08-03

作者简介: 赵晨辉 (1990-), 男, 七年制本硕连读。研究方向: 颅脑胶质瘤的基础和临床。

通讯作者: 范益民 (1963-), 男, 主任医师, 教授, 博士生导师, 博士, 主要从事恶性胶质瘤、颅底肿瘤的基础与临床研究。

敏 DC,以启动抗肿瘤的 T 细胞免疫反应^[9]。Cho 等^[10]利用自体胶质瘤裂解产物制备 DC 疫苗实施了一项临床 II 期试验,18 例患者接受了传统治疗(手术及放化疗),并接种 DC 疫苗,16 位患者只接受传统治疗,结果疫苗组中位生存期达 31.9 个月,而对照组仅 15 个月($p < 0.002$)。

近年来,肿瘤干细胞(tumor stem cell, TSC)理论的提出和胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSC)的成功分离使 GSC 的 DC 疫苗成为新的研究热点^[11,12]。胶质瘤的发生、发展和复发很大程度上可能取决于这种为数不多的 GSC,它们具有强大的 DNA 修复能力,表达抗凋亡蛋白,能够自我更新、多向分化并具有对放、化疗抵抗等特性^[12,13]。因此,胶质瘤远期疗效的提高可能有赖于 GSC 的彻底清除,而传统的治疗模式似乎很难达到此种目的。研究表明 GSC 能够表达种类繁多的抗原表位,而通过免疫治疗的方式试图清除 GSC 可能为胶质瘤的根治提供诱人的前景^[12]。动物试验发现,接受 GSC 裂解物制备的 DC 疫苗荷瘤鼠的中位生存期较对照组明显延长,并能引发更强的 T 细胞反应^[14]。ICT-107 就是利用 GSC 中高表达的 6 种 HLA-A1/2 限制性多肽制备的 DC 疫苗,其 I 期试验显示中位生存期达 38.4 个月^[8]。Einar 等^[15]通过提取 GSC 的 mRNA 制备 DC 疫苗,为 7 例接受传统治疗后的患者皮下注射,试验组的无进展生存期达对照组的 2.9 倍。

2.2 肽类疫苗

肽类疫苗是通过从肿瘤溶解物中提取特异性多肽,选择合适的靶点经人工合成制备而成^[8]。研究发现 30%~40% 的胶质瘤患者存在表皮生长因子受体突变体 III(epidermal growth factor receptor variant III, EGFRvIII)的异常表达,而它只表达于胶质瘤细胞,且 CD133⁺ 的 GSC 中 EGFRvIII 表达较普通胶质瘤细胞更加丰富^[16,17],这使其成为胶质瘤肽类疫苗和 GSC 免疫治疗的理想靶点。Rindopepimut 是一种包含 EGFRvIII 14 个氨基酸序列并结合了高分子载体蛋白的多肽疫苗,Sampson 等^[18]报道手术后放化疗联合应用 rindopepimut 及粒细胞巨噬细胞刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)治疗恶性胶质瘤,可将其平均生存期提高到 20.5 个月。其他一些针对胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)的靶蛋白多肽疫苗正处于积极研发之中,如靶向于 Wilms Tumor1 蛋白的

肽类疫苗等。

2.3 肿瘤细胞疫苗

早期的肿瘤细胞疫苗是通过理化手段将肿瘤细胞灭活制备而成,但总体疗效不理想。热休克蛋白(heat shock proteins, HSP)家族如 HSP-70、HSP-96,是活细胞内的一类分子伴侣,它能够上调肿瘤细胞的 MHC-I、II 及协同刺激分子的表达,增强肿瘤细胞的免疫原性^[19]。因此,通过提取肿瘤细胞中结合有肿瘤抗原的 HSP,可以制备个性化的多价肿瘤细胞疫苗。一项利用 HSP-96 疫苗治疗复发胶质瘤的多中心临床 II 期试验,结果显示该肿瘤细胞疫苗将二次手术后 6 个月的存活率提高到 90.2%,中位生存期延长到 42.6 周^[20]。Steiner 等^[21]使用新城病毒修饰自体胶质瘤细胞制备的疫苗,临床 I 期试验发现 39% 的试验组患者生存期超过 2 年,且瘤组织内可见明显的 CD8⁺ 肿瘤浸润淋巴细胞以及活化 T 细胞的浸润。

3 效应细胞为基础的过继免疫治疗

过继性免疫治疗是通过收集患者自身的免疫细胞经体外活化、增殖后再转输患者体内,或取对肿瘤有免疫力的供者淋巴细胞转输给肿瘤患者,从而达到增强抗肿瘤效应的免疫疗法^[9]。Sasaki 等^[22]发现利用晚期抗原-4(very late antigen-4, VLA-4)活化的过继性 T 细胞治疗,可以通过 VLA-4/血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)途径增强胶质瘤原位模型小鼠的抗肿瘤免疫。淋巴细胞因子激活的杀伤细胞(lymphocyte-activated killer cells, LAK)是 NK 细胞或 T 细胞经体外培养,经高剂量 IL-2 等细胞因子诱导而形成,它能够杀伤耐受 NK 的肿瘤细胞,目前过继性 LAK 治疗正处于积极的临床前期试验之中。然而如何从胶质瘤中获取足够的细胞源,怎样更好地透过血脑屏障等问题还有待进一步的研究。

4 放射免疫疗法

放射免疫疗法(radioimmunotherapy, RIT)是通过单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)结合肿瘤表面的特异性抗原,以放射性核素为“武器”,实现对胶质瘤的近距离内照射。Zalutsky 等^[23]应用抗细胞外基质 mAb 耦连发射 α 射线的 ²¹¹At 应用于复发胶质瘤的治疗,使其平均生存期延长到 12 个月,较常规应用替莫唑胺或抗血管内皮生长因子 mAb 大幅延长。

5 细胞因子疗法

细胞因子(cytokines)在固有免疫和适应性免疫

反应中均发挥着十分重要的作用,它可以非特异地刺激 T 细胞的激活、增殖和分化。IL-2 可以加促 T 细胞克隆的扩增,逆转由 TGF- β 介导的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)抑制从而增强 CTL 介导的抗肿瘤免疫^[9]。研究表明 IL-2、IL-7、IFN- γ 能明显延长胶质瘤模型的生存期^[24, 25]。IL-21 因具有诱导和扩增细胞毒性 CD8⁺ T 细胞、NK 细胞和 NKT 细胞,下调叉头状转录因子(fork-head box P3, FOXP3)的表达,降低 Tregs 增殖等功能,目前已进入黑色素瘤的临床 II 期试验^[26]。其他细胞因子如 IL-15, TNF- α , IFN- α_2 a, IFN- α_2 b, GM-CSF 等也已被用于临床并取得了一定的成果^[9]。然而,除了这些能够刺激机体免疫系统的细胞因子之外,还存在一些免疫抑制性细胞因子,如 IL-10, TGF- β 等^[8]。胶质瘤组织常伴随 TGF- β 2 的异常升高,而 TGF- β 2 能抑制 CTL 的增殖与活化,抑制 NK 细胞的活性^[27]。一项临床 II 期试验示靶向于 TGF- β 2 mRNA 的药物可以延缓胶质瘤的进展^[28]。因此胶质瘤的细胞因子疗法,应该是通过增强前者的功能抑制后者的活性,以使机体产生更强的抗肿瘤免疫反应,而细胞因子的具体作用机制还需进一步阐明。

6 免疫检查点阻断剂治疗

新近研究发现免疫系统中存在一些抑制性信号通路称为免疫检查点(immune checkpoint),肿瘤细胞可以通过它试图逃避免疫杀伤^[8]。因此,进一步研究如何通过免疫检查点克服肿瘤的免疫抑制同样具有十分重要的意义。目前研究最多的当属细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)以及程序性死亡蛋白-1(programmed death protein-1, PD-1)。

6.1 CTLA-4

CTLA-4 是表达于活性 T 细胞表面的抑制分子,与 CD28 同源,与配体 CD80 及 CD86 结合后,逆转 TCR 活化导致的信号分子磷酸化,从而抑制 T 细胞活化^[29]。Ipilimumab 是针对 CTLA-4 的人源性 I_gG₁ mAb,一项恶性黑色素瘤随机临床试验中已经证实,ipilimumab 治疗组能明显改善总体生存率,另外在伴发脑转移的恶性黑色素瘤患者中,ipilimumab 也显示了良好的疗效^[30]。它是首个被 FDA 批准的靶向于免疫检查点药物。

6.2 PD-1 / PD-L1

PD-1 常表达于包括 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞

在内的多种免疫细胞表面,其表达上调会减弱局部组织的免疫能力。Nivolumab 是针对 PD-1 的人源性 I_gG₄ mAb,可以阻断 PD-1 通路逆转免疫抑制状态^[29]。PD-L1 是 PD-1 的配体,研究表明在 GBM 组织、循环单核细胞以及肿瘤浸润的巨噬细胞中常常存在 PD-L1 的过表达,它能抑制 IFN- γ , IL-2 和 IL-10 的生成,诱导肿瘤特异性 T 细胞的凋亡^[31]。

针对其他免疫检查点比如 T 细胞免疫球蛋白粘蛋白-3(T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3, Tim-3)、淋巴细胞活化基因-3 分子(lymphocyte activation gene 3, LAG-3)等阻滞剂的临床前期试验在多种肿瘤中已经取得令人鼓舞的结果^[32]。然而,免疫检查点治疗的核心仍在于胶质瘤免疫学特性的进一步揭示以及新靶点的探索。

7 小结与展望

越来越多的研究表明在免疫反应的多种层次上联合治疗,比如联合主动免疫以及免疫调节等以共同促进并增强抗胶质瘤的效应可能是胶质瘤免疫治疗的最佳策略。虽然很多 I 期甚至 II 期临床试验均显示了令人激动的临床潜力,真正评估其临床效果还需 III 期及 IV 期临床试验,如何将这些成果转化为胶质瘤的临床治疗还要克服很多困难。胶质瘤的免疫疗法仍处于起步阶段,相信随着肿瘤免疫生物学及相关学科的发展,免疫疗法将为胶质瘤的治疗带来策略性的变革。

参 考 文 献

- [1] Okada H, Scheurer ME, Sarkar SN, et al. Integration of epidemiology, immunobiology, and translational research for brain tumors. *Ann N Y Acad Sci*, 2013, 1284(1): 17-23.
- [2] Weller M, van den Bent M, Hopkins K, et al. EANO guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma. *Lancet Oncol*, 2014, 15(9): e395-403.
- [3] Saunders NR, Dreifuss JJ, Dziegielewska KM, et al. The rights and wrongs of blood-brain barrier permeability studies: a walk through 100 years of history. *Front Neurosci*, 2014, 8: 404.
- [4] Fabry Z, Raine CS, Hart MN. Nervous tissue as an immune compartment: the dialect of the immune response in the CNS. *Immunol Today*, 1994, 15(5): 218-224.
- [5] Giometto B, Bozza F, Faresin F, et al. Immune infiltrates and cytokines in gliomas. *Acta Neurochir (Wien)*, 1996, 138(1): 50-56.
- [6] Dunn GP, Dunn IF, Curry WT. Focus on TILs: Prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human glioma.

- Cancer Immun , 2007 ,7: 12.
- [7] Takeshita Y ,Ransohoff RM. Inflammatory cell trafficking across the blood-brain barrier: chemokine regulation and in vitro models. Immunol Rev , 2012 ,248(1) : 228-239.
- [8] Ahn BJ ,Pollack IF ,Okada H. Immune-checkpoint blockade and active immunotherapy for glioma. Cancers (Basel) , 2013 ,5(4) : 1379-1412.
- [9] Galluzzi L ,Vacchelli E ,Bravo-San Pedro JM ,et al. Classification of current anticancer immunotherapies. Oncotarget , 2014 ,5(24) : 12472-12508.
- [10] Cho DY ,Yang WK ,Lee HC ,et al. Adjuvant immunotherapy with whole-cell lysate dendritic cells vaccine for glioblastoma multiforme: a phase II clinical trial. World Neurosurg , 2012 ,77(5-6) : 736-744.
- [11] Ghebeh H ,Bakr MM ,Dermime S. Cancer stem cell immunotherapy: the right bullet for the right target. Hematol Oncol Stem Cell Ther , 2008 ,1(1) : 1-2.
- [12] Binello E ,Germano IM. Targeting glioma stem cells: a novel framework for brain tumors. Cancer Sci , 2011 ,102(11) : 1958-1966.
- [13] 陈志杰 ,石松生 ,陈春美. 脑胶质瘤干细胞靶向免疫治疗研究进展. 国际神经病学神经外科学杂志 , 2014 , 41(2) : 181-184.
- [14] Xu Q ,Yuan X ,Yu JS. Glioma stem cell research for the development of immunotherapy. Adv Exp Med Biol , 2012 , 746: 216-225.
- [15] Vik-Mo EO ,Nyakas M ,Mikkelsen BV ,et al. Therapeutic vaccination against autologous cancer stem cells with mRNA-transfected dendritic cells in patients with glioblastoma. Cancer Immunol Immunother , 2013 ,62(9) : 1499-1509.
- [16] Ohno M ,Natsume A ,Ichiro Iwami K ,et al. Retrovirally engineered T-cell-based immunotherapy targeting type III variant epidermal growth factor receptor , a glioma-associated antigen. Cancer Sci , 2010 ,101(12) : 2518-2524.
- [17] Hatiboglu MA ,Wei J ,Wu AS ,et al. Immune therapeutic targeting of glioma cancer stem cells. Target Oncol , 2010 ,5(3) : 217-227.
- [18] Sampson JH ,Heimberger AB ,Archer GE ,et al. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. J Clin Oncol , 2010 ,28(31) : 4722-4729.
- [19] Binder RJ ,Srivastava PK. Essential role of CD91 in re-presentation of gp96-chaperoned peptides. Proc Natl Acad Sci U S A , 2004 ,101(16) : 6128-6133.
- [20] Bloch O ,Crane CA ,Fuks Y ,et al. Heat-shock protein peptide complex-96 vaccination for recurrent glioblastoma: a phase II , single-arm trial. Neuro Oncol , 2014 ,16(2) : 274-279.
- [21] Steiner HH ,Bonsanto MM ,Beckhove P ,et al. Antitumor vaccination of patients with glioblastoma multiforme: a pilot study to assess feasibility , safety , and clinical benefit. J Clin Oncol , 2004 ,22(21) : 4272-4281.
- [22] Sasaki K ,Zhu X ,Vasquez C ,et al. Preferential expression of very late antigen-4 on type 1 CTL cells plays a critical role in trafficking into central nervous system tumors. Cancer Res , 2007 ,67(13) : 6451-6458.
- [23] Zalutsky MR ,Reardon DA ,Akabani G ,et al. Clinical experience with alpha-particle emitting 211At: treatment of recurrent brain tumor patients with 211At-labeled chimeric antitenascin monoclonal antibody 81C6. J Nucl Med , 2008 , 49(1) : 30-38.
- [24] Mineharu Y ,Muhammad AK ,Yagiz K ,et al. Gene therapy-mediated reprogramming tumor infiltrating T cells using IL-2 and inhibiting NF-kappaB signaling improves the efficacy of immunotherapy in a brain cancer model. Neurotherapeutics , 2012 ,9(4) : 827-843.
- [25] Fritzell S ,Eberstal S ,Sanden E ,et al. IFNgamma in combination with IL-7 enhances immunotherapy in two rat glioma models. J Neuroimmunol , 2013 ,258(1-2) : 91-95.
- [26] Santegoets SJ ,Turksma AW ,Powell Jr DJ ,et al. IL-21 in cancer immunotherapy: At the right place at the right time. Oncoimmunology , 2013 ,2(6) : e24522.
- [27] Hau P ,Jachimczak P ,Schlingensiepen R ,et al. Inhibition of TGF-beta2 with AP 12009 in recurrent malignant gliomas: from preclinical to phase I/II studies. Oligonucleotides , 2007 ,17(2) : 201-212.
- [28] Christofides A ,Kosmopoulos M ,Piperi C. Pathophysiological mechanisms regulated by cytokines in gliomas. Cytokine , 2015 ,71(2) : 377-384.
- [29] Callahan MK ,Postow MA ,Wolchok JD. CTLA-4 and PD-1 Pathway Blockade: Combinations in the Clinic. Front Oncol , 2014 ,4: 385.
- [30] Hodi FS ,O' Day SJ ,McDermott DF ,et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. N Engl J Med , 2010 ,363(8) : 711-723.
- [31] Brahmer JR ,Tykodi SS ,Chow LQ ,et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. N Engl J Med , 2012 ,366(26) : 2455-2465.
- [32] Anderson AC. Tim-3: an emerging target in the cancer immunotherapy landscape. Cancer Immunol Res , 2014 ,2(5) : 393-398.