

CD4⁺ T 细胞在肿瘤免疫治疗中的作用

曾瑞红^{1*} 房桂珍² 魏林¹(河北医科大学, ¹免疫教研室, ²生物医学工程中心, 石家庄 050017)

摘要 近年来,人们对 CD4⁺ T 细胞在肿瘤免疫治疗中的作用给予了极大的关注,CD4⁺ T 细胞不仅可通过 IFN- γ 依赖性机制直接杀伤肿瘤细胞,而且在 CD8⁺ T 细胞的激活、记忆性的细胞毒性 T 细胞(CTL)应答的产生、维持以及促进其存活等过程中发挥着重要作用,同时激活 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞是免疫治疗的理想策略;另外,CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞(Treg 细胞)可能被肿瘤表达的自身抗原所诱导,与肿瘤免疫耐受的维持和抗肿瘤应答的下调有关,被认为是免疫治疗失败的主要原因,抑制该细胞亚群可增强治疗性肿瘤疫苗的临床效果。现就 CD4⁺ T 细胞在肿瘤免疫治疗中的作用的研究进展作一综述。

关键词 CD4⁺ T 细胞; 肿瘤免疫; CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞; 免疫治疗

对 CD8⁺ T 细胞的研究确立了其在识别和清除肿瘤细胞过程中无可置疑的地位,但近年来,人们对 CD4⁺ T 细胞给予了极大的关注,越来越多的研究发现,CD4⁺ T 细胞不仅可直接杀伤肿瘤细胞,而且在介导肿瘤消退的复合体中,CD4⁺ T 细胞在为 CD8⁺ T 细胞提供“辅助”方面显示了其必要性,同时激活 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞是免疫治疗的理想策略;另外,CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞(Treg 细胞)亚群具有重要免疫调节作用,可抑制机体对自体同源肿瘤细胞的免疫应答,被认为是免疫治疗失败的主要原因,抑制该细胞亚群可增强治疗性肿瘤疫苗的临床效果。本文就 CD4⁺ T 细胞在抗肿瘤免疫治疗中的作用的研究进展作一综述。

1 CD4⁺ T 细胞在适应性免疫应答中的中心地位

Mitchison 等^[1]首先认识到了 CD4⁺ T 细胞具有辅助体液免疫应答的能力,几年后,CD4⁺ T 细胞对 CD8⁺ T 细胞激活和增殖的辅助作用也得到了证实。CD4⁺ T 细胞分为 Th1 和 Th2 两个亚型, Th1 细胞主要分泌 IL-12、IFN- γ 和 IFN- β , 介导细胞免疫,而 Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 和 IL-13 等,介导体液免疫;最近发现,初始 CD4⁺ T 细胞在 TGF- β 和 IL-6 的共同诱导下可分化为 Th17, 该亚群分泌 IL-17 和 IL-6, 介导炎性反应(防御胞外病原菌的感染)、自身免疫性疾病、肿瘤和移植排斥等的发展和发生;在 TGF- β 单独诱导下分化为 Treg 细胞,

分泌 TGF- β 并表达 Foxp3, 参与免疫调节^[2,3]。

2 CD4⁺ T 细胞直接杀伤肿瘤细胞

由于肿瘤细胞不表达 MHC-II, T 细胞在肿瘤免疫中的作用的研究主要集中在 CD8⁺ T 细胞上,然而越来越多的证据表明:在体内,CD4⁺ T 细胞可直接对肿瘤产生细胞毒作用^[4]。利用 CD4⁺ T 细胞基因敲除鼠和过继转移 CD4⁺ T 细胞的模型均证实:在无 CD8⁺ T 细胞的情况下,CD4⁺ T 细胞具有抑制肿瘤的能力^[5]。

CD4⁺ T 细胞对肿瘤的杀伤作用主要是通过 IFN- γ 依赖的机制介导的: (1) IFN- γ 通过介导产生氧衍生物和 NO 对肿瘤细胞的细胞毒作用; (2) 上调 MHC 的表达,从而增强肿瘤细胞的识别和清除; (3) 改变内源性抗原提呈机制; (4) 诱导肿瘤血管生成的抑制。另有一些研究结果提示:激活的 CD4⁺ T 细胞可能诱导迟发型超敏反应,吸引炎症细胞,如巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞以及 NK 细胞到肿瘤细胞附近,如删除 CD4⁺ T 细胞则导致肿瘤浸润的巨噬细胞缺失,肿瘤不能被保护^[6],该实验表明:CD4⁺ T 细胞可以直接激活淋巴结或肿瘤组织中的巨噬细胞。大部分的研究表明 CD4⁺ T 细胞介导肿瘤抑制是 MHC-I 非依赖性的,然而,也有一些证据表明 CD4⁺ T 细胞能够以 MHC 限制性的形式识别肿瘤细胞并且裂解它们(图 1)。

收稿日期: 2007-05-18 接受日期: 2007-09-17

* 通讯作者。Tel: 0311-86265664, E-mail: zengruihong@yahoo.com.cn

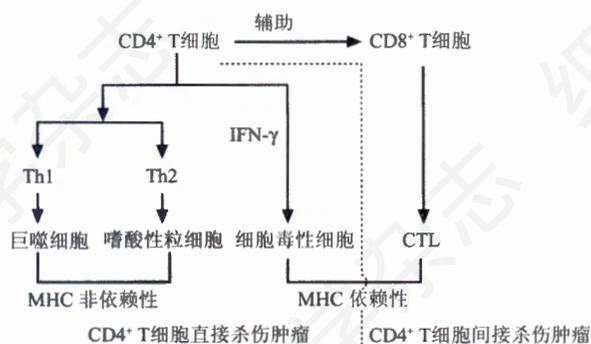


图1 CD4⁺ T 细胞在抗肿瘤免疫中的杀伤作用^[10]

3 在肿瘤免疫治疗中CD4⁺ T细胞对CD8⁺ T细胞的辅助作用

CD8⁺ T细胞的激活阶段是否一定需要CD4⁺ T细胞的辅助呢?有些研究显示:初始CD8⁺ T细胞的激活不需要CD4⁺ T细胞,尤其是病原微生物的感染^[7,8]。也有些研究显示在CD8⁺ T细胞的激活阶段CD4⁺ T细胞的辅助是必需的^[9,10]。最近在肿瘤模型中的研究表明:CD8⁺ T细胞的激活以及对肿瘤的有效清除存在CD4⁺ T细胞依赖性和非依赖性两种情况,所用模型不同,所得结论也各不相同^[11,12]。

CD4⁺ T细胞对于记忆性的CTL应答的产生是必需的,大部分研究均证实了这一观点。另外,CD4⁺ T细胞对于维持CD8⁺ T细胞的记忆和促进其存活也是重要的^[13,14]。共转移CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞可以明显延长过继转移的肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)的寿命^[15]。过继转移未分离的T细胞(包括CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞)可以促进肿瘤的抑制,克隆黑色素瘤反应性CD8⁺ T细胞(这些细胞在体外能与许多肿瘤抗原特异反应)过继转移给13个转移性黑色素瘤病人,同时给与IL-2,在13个病人中均未观察到任何临床应答,而且过继转移后两周,在外周血中就已经检测不到这些细胞了^[16];然而转移同源的TIL,包括CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞,结果35个病人中18个观察到了临床应答(51%),这些T细胞持续了相当长的时间(达2年),而且T细胞的维持与临床应答相关^[17]。CD4⁺ T细胞通过TRAIL依赖的机制控制记忆性CD8⁺ T细胞的产生,在缺乏CD4⁺ T细胞辅助下,激活的CD8⁺ T细胞会上调TRAIL,再次遇到抗原时导致激活诱导的细胞死亡(AICD),而那些在CD4⁺ T细胞辅助下激活的CD8⁺ T细胞不会上调TRAIL,当再次遇到抗原时就会产生大量的克隆扩增^[18]。这代表了一种复杂的机制,通过这种机制免疫系统避免自身免疫,在无CD4⁺ T

细胞辅助的情况下,体内产生的针对自身抗原的CD8⁺ T细胞再次遇到此抗原时,该T细胞则行AICD。

既然CD4⁺ T细胞已经证明在临床上确实有用,那么非特异性的辅助(如乙肝核心抗原是最有效的CTL应答促进剂)还是蛋白特异性T细胞辅助(来自于同一个蛋白质的Th表位)更有效呢?研究表明后者是最有效的,即最有效的CTL应答的产生需要CTL和Th细胞共同识别同一个DC上的MHC-I和MHC-II限制性表位。Ridge等^[19]研究表明:DC能够首先与CD4⁺ T细胞接触,通过CD40-CD40L结合而相互作用,使DC能够激活初始的抗原特异性的CD8⁺ T细胞。Xiang等^[20]的研究表明:携带抗原的APC和CD4⁺ T细胞(表达MHC-II-肽复合物和共刺激分子)首次相遇时,CD4⁺ T细胞也需要来自APC的MHC-I-肽复合物,这些激活的CD4⁺ T细胞然后自己可以作为APC通过表达MHC-I-肽复合物和共刺激分子激活CD8⁺ T细胞。而且,这些CD4⁺的APC能够促进小鼠模型中有效产生CTL和抗肿瘤免疫应答。这也表明CD4⁺ T细胞辅助是表位依赖性的。

在一个疫苗中同时包含CD4⁺ T细胞表位和CD8⁺ T细胞表位,可能是产生长期、持续、强烈的CTL的合理策略。以HER-2/neu的HLA-A2限制性肽p369-377为疫苗免疫表达HER-2/neu的乳腺癌和卵巢癌病人,仅在4个病人中的2个体内检测到肽特异性的CTL应答,但应答是短暂的,最后一次免疫后5个月就已经检测不到了。而用同时包括HER-2/neu的CD4⁺ T细胞表位和CD8⁺ T细胞表位的疫苗免疫19个上述肿瘤患者,产生了强烈的HER-2/neu特异性的CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞应答,肽特异性的CTL可以溶解肿瘤细胞,而且这种免疫应答是长期的,在最后一次免疫后1年还可以检测到对肿瘤的杀伤活性^[21]。这些结果表明,包含MHC-I和MHC-II限制性表位的疫苗可以诱导持久、强烈的抗原特异性的CTL应答。

4 Treg细胞在肿瘤免疫治疗中的作用

Sakaguchi等^[22]报道了Treg细胞是具有免疫调节(负调节)作用的细胞群,Treg细胞主要存在于淋巴组织,另外也存在于外周血和肿瘤浸润淋巴细胞中。

4.1 Treg细胞的亚型

Treg细胞是异质性的,存在着不同的亚型,且不同亚型的抑制机制也不相同:(1)自然发生的Treg细胞:这部分细胞仅占CD4⁺ T细胞的一小部分(5%~6%),

来自于胸腺,不需要特异性抗原的刺激,这些细胞表达高水平的GITR和Foxp3分子,通过细胞与细胞之间的接触机制发挥抑制作用;(2)抗原特异性的Treg细胞:抗原特异性的Treg细胞也高表达GITR和Foxp3,一旦被特异性抗原激活,则通过细胞与细胞接触的机制发挥抑制作用^[23],该亚型的起源还不太清楚,可能来源于肿瘤局部抑制性细胞因子环境中抗原刺激的CD4⁺CD25⁻T细胞,或者CD4⁺CD25⁻T细胞与自然发生的CD4⁺CD25⁺T细胞相互作用之后而产生。研究发现:外周的初始CD4⁺CD25⁻T细胞在激活后,或者TGF-β的刺激下,可转化为CD4⁺CD25⁺T细胞。

4.2 Treg细胞与肿瘤免疫治疗

多种肿瘤患者的外周血和肿瘤局部Treg细胞成分增加,研究结果显示Treg细胞可以显著抑制免疫应答,导致肿瘤的免疫耐受^[24]。Curiel等^[25]证明卵巢癌患者体内Treg细胞的存在与肿瘤特异性CTL活性的下降以及促进肿瘤生长有关。胃癌周围淋巴结(LN)中Treg细胞的浸润率显著高于对照的远端淋巴结,这与胃癌患者削弱的细胞免疫具有相关性^[26]。

Treg细胞被认为是免疫治疗失败的主要原因。用BALB/c小鼠CT26结肠癌模型,删除Treg细胞后,诱导了CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞抗肿瘤免疫应答;删除Treg细胞和CD8⁺T细胞后,CD4⁺T细胞也能通过IFN-γ依赖机制排斥MHC-II阴性的CT26肿瘤细胞;随着Treg细胞的恢复,抗肿瘤应答立即被抑制^[27]。研究显示:用MHC-I肽或黑色素瘤裂解物刺激的抗原提呈细胞免疫黑色素瘤患者,7天后CTL达峰值,28天后CTL应答下降到免疫前的水平,这个下降与免疫后外周血淋巴细胞中Treg细胞的扩增有关^[28]。这些结果表明:Treg细胞与耐受的维持和抗肿瘤应答的下调有关。

恶性肿瘤是一个巨大的自身抗原库,这些抗原与Treg细胞的受体相互作用可能导致Treg细胞的优先扩增。事实上,来自鼠的研究已经表明Treg细胞对自身抗原具有相对高的亲和力^[29]。Nishikawa等^[30-32]鉴定了一种肿瘤-睾丸抗原,用该抗原免疫荷瘤小鼠,结果诱导了自身反应性Treg细胞而导致肿瘤的肺部转移;进一步的研究发现,该抗原可以在多种类型的小鼠中促进甲基胆蒽诱导的肿瘤发展,增强的肿瘤发展由Treg细胞介导,而删除CD4⁺T细胞或CD25⁺T细胞的小鼠的肿瘤以正常的速率发展;这些资料表明Treg细胞可能被肿瘤广泛表达的自身抗原所诱导,

并阻碍肿瘤特异性免疫,如果误以这些抗原来构建肿瘤疫苗则会促进Treg细胞的扩增,因此,对接受候选肿瘤疫苗治疗的病人,同时监测效应性应答和Treg细胞抑制性应答显然是必要的。事实上,被诱导激活的肿瘤抗原特异性Treg细胞可能是导致候选疫苗临床疗效差的重要原因。

4.3 抵消(中和) Treg细胞的抑制功能的方法

第一,用CTLA-4的抗体,给黑色素瘤患者同时施于CTLA-4的抗体(MDX-010)和一个来自黑色素瘤相关抗原gp100的MHC-I限制性肽,3/14病人中观察到了肿瘤抑制,这种效应可能通过阻碍CTLA-4转导的抑制信号,从而介导T细胞激活,也可能通过阻断Treg细胞表面CTLA-4的表达,而干扰T细胞介导的免疫调节,但该方法可能会引起自身免疫性疾病^[33]。

第二,糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体家族相关蛋白(glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor family-related protein, GITR)是Treg细胞表面高表达的另一个分子标志,抗GITR抗体治疗可抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长,小鼠体内产生大量的CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞,这些细胞可浸润性抑制肿瘤生长;另外,激活的T细胞也高表达GITR,但它们的活性似乎未受影响^[34]。

因此,阻断CTLA-4和GITR可能被用作肿瘤免疫治疗,但是还需要进一步的研究去防止其副作用。关键的问题是寻找一个平衡,既避免自身免疫病的产生以维持组织的完整性,又能诱导潜在的肿瘤特异性的免疫应答,成功地抑制肿瘤。

另外,Nishikawa等^[31]发现:一个重组野生型肿瘤抗原既能被Treg细胞识别,又能被CD4⁺CD25⁻Th细胞识别,用编码该类自身抗原的DNA疫苗免疫后,用同种肿瘤细胞攻击被免疫动物,结果肺转移增加,即加速了甲基胆蒽诱导的原发性癌的发展,研究证实:这些效应是由于Treg细胞抑制了NKT和NK细胞的活性和CD4⁺CD25⁻T细胞、CD8⁺T细胞的增殖。另一方面,当用该DNA疫苗和肿瘤特异性的CD8⁺T细胞表位共免疫时,对肿瘤的抵御增加了,以一种CD4⁺T细胞依赖的方式增加细胞毒性应答。后来的研究证明其机制是通过CD8⁺T细胞产生IFN-γ来阻断Treg细胞的产生和活性,使得效应性CTL和Th细胞抵御肿瘤发展^[35]。可见,在构建肿瘤疫苗时,除了避免使用可能诱导Treg细胞的MHC-II限制性表位外,还可通过合并IFN-γ来防止Treg细胞的激活(图2)。

总之,CD4⁺T细胞不仅独自可以导致肿瘤清除,

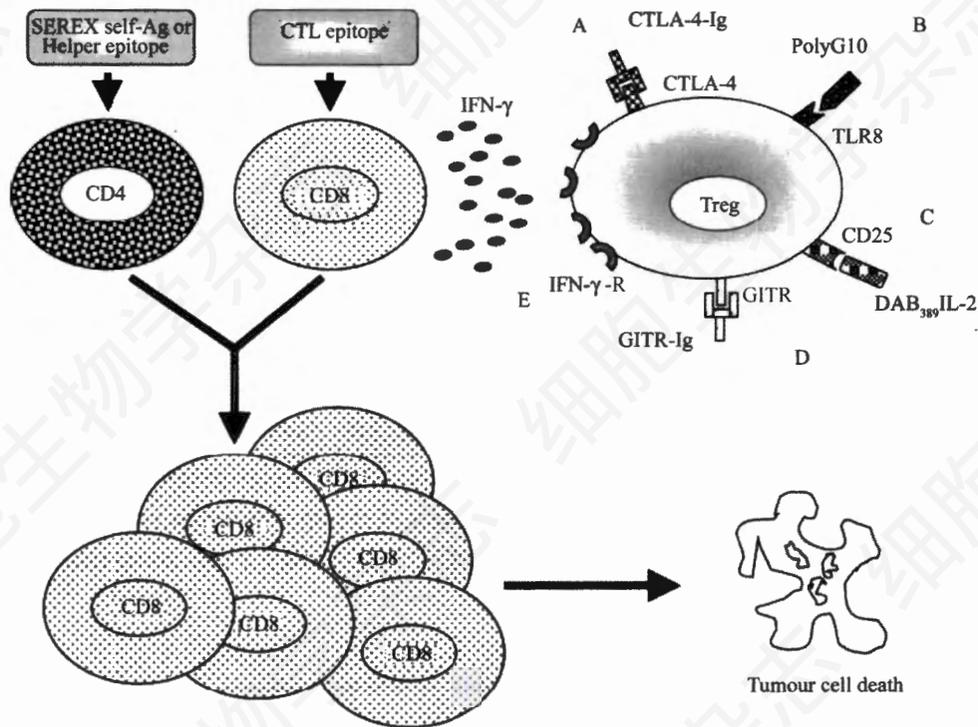


图2 抑制 Treg 细胞活性而提高 CD8⁺ T 细胞和 CD4⁺ T 细胞活性的机制^[4]

而且它们最重要的作用在于辅助激活 CD8⁺ T 细胞、促进产生和维持长期的记忆性 CTL 应答; 但需要小心选择适当的 MHC-II 类抗原, 否则可能导致 Treg 细胞的激活。一种有效的抗肿瘤免疫治疗, 应该可以激活 CD4⁺ T 细胞和 CTL, 同时可以抑制 Treg 细胞的活化。

参考文献 (References)

- [1] Mitchison NA. *Eur J Immunol*, 1971, **1**: 18
- [2] Park H et al. *Nat Immunol*, 2005, **6**: 1133
- [3] Bettelli E et al. *Nature*, 2006, **441**: 235
- [4] Deepak PA et al. *Cancer Immunol Immunother*, 2006, **55**: 1135
- [5] Segal BM et al. *J Immunol*, 2002, **168**: 1
- [6] Hung K et al. *J Exp Med*, 1998, **188**: 2357
- [7] Shedlock DJ et al. *Science*, 2003, **300**: 337
- [8] Sun JC et al. *Science*, 2003, **300**: 339
- [9] Sun JC et al. *Nat Immunol*, 2004, **5**: 927
- [10] Mara G et al. *Springer Semin Immun*, 2005, **27**: 37
- [11] Peng L et al. *J Immunol*, 2000, **165**: 5738
- [12] Zhan Y et al. *J Immunol*, 2000, **165**: 3612
- [13] Schirmacher V. *Cancer Immunol Immunother*, 2005, **54**: 587
- [14] Lin CT et al. *Vaccine*, 2006, **24**: 6199
- [15] Blattman JN et al. *Nat Med*, 2003, **9**: 540
- [16] Dudley ME et al. *J Immunother*, 2002, **25**: 243
- [17] Rosenberg SA et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(Suppl 2): 14639
- [18] Janssen EM et al. *Nature*, 2005, **434**: 88
- [19] Ridge JP et al. *Nature*, 1998, **393**: 474
- [20] Xiang J et al. *J Immunol*, 2005, **174**: 7497
- [21] Knutson KL et al. *J Clin Invest*, 2001, **107**: 477
- [22] Sakaguchi S et al. *J Immunol*, 1995, **155**: 1151
- [23] Wang HY et al. *J Immunol*, 2005, **174**: 2661
- [24] Ghiringhelli F et al. *Eur J Immunol*, 2004, **34**: 336
- [25] Curiel TJ et al. *Nat Med*, 2004, **10**: 942
- [26] Kawaida H et al. *J Surg Res*, 2005, **124**: 151
- [27] Casares N et al. *J Immunol*, 2003, **171**: 5931
- [28] Chakraborty NG et al. *Hum Immunol*, 2004, **65**: 794
- [29] Hsieh CS et al. *Immunity*, 2004, **21**: 267
- [30] Nishikawa H et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 10902
- [31] Nishikawa H et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 9253
- [32] Nishikawa H et al. *J Exp Med*, 2005, **201**: 681
- [33] Phan GQ et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 8372
- [34] Ko K et al. *J Exp Med*, 2005, **202**: 885
- [35] Nishikawa H et al. *J Immunol*, 2005, **175**: 4433

CD4⁺ T Cells in Cancer Immunotherapy

Rui-Hong Zeng^{1*}, Gui-Zhen Fang², Lin Wei¹

(¹Department of Immunology, ²Biomedical Engineering Center, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract In recent years the realization that CD4⁺ T cells play a critical role in cancer immunotherapy has received growing attention. CD4⁺ T cells have been shown capable of mediating tumor regression on their own by IFN- γ . CD4⁺ T helper cells are important for activating CD8⁺ T cells, *in vivo* survival as well as expansion of tumor-reactive memorial CTL. To induce both CD4⁺ and CD8⁺ anti-tumoral response may be perfect for cancer immunotherapy. CD4⁺CD25⁺ regulatory T (Treg) cells might normally be elicited against self-antigens expressed by tumors. Treg cells are involved in the maintenance of tolerance and the down-regulation of the anti-tumor response. Treg cells have been also pointed out as one of the major reasons for the failure of immunotherapies. Counteracting Treg cells activity may significantly enhance clinical efficiency of therapeutic tumor vaccine.

Key words CD4⁺ T cell; tumor immunity; CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell; immunotherapy

Received: May 18, 2007 Accepted: September 17, 2007

*Corresponding author. Tel: 86-311-86265664, E-mail: zengruihong@yahoo.com.cn