

肿瘤微环境与免疫治疗研究进展*

陈雪曼^{1,2)} 宋尔卫^{1,2)**}

(¹)中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤中心, 广州 510120;

(²)广东省恶性肿瘤表观遗传与基因调控重点实验室, 广州 510120)

摘要 肿瘤的发生和发展包括了一系列复杂的生物学过程, 其中与免疫系统的相互抗衡, 直接决定了这场健康保卫战的成败. 由“种子与土壤”学说展开的肿瘤微环境的研究, 为解开肿瘤形成与侵袭转移之谜提供了新视角, 为肿瘤免疫治疗的临床应用提供了理论依据. 本文综述了肿瘤微环境的主要成分及其介导的免疫耐受, 及肿瘤免疫治疗的研究现状.

关键词 肿瘤微环境, 免疫耐受, 免疫治疗

学科分类号 R73

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0260

恶性肿瘤作为人类健康的第二大杀手, 仍是现代医学研究的焦点问题和极大挑战. 肿瘤“种子与土壤”学说是肿瘤生物学最具影响力的理论之一, 自提出以来就受到广泛认可和延伸. 该理论认为肿瘤的发生发展不仅是肿瘤细胞遗传学和表观遗传学方面的改变, 还有肿瘤微环境作为恶性种子生长繁育的“肥沃土壤”, 彼此相互影响, 共同进化, 促进了肿瘤的产生^[1]. 肿瘤微环境由除了肿瘤细胞以外的众多免疫细胞、间质细胞、细胞外基质及活性介质组成, 大体上可分为免疫细胞为主的免疫微环境和成纤维细胞为主的非免疫微环境. 肿瘤免疫治疗作为 2013 年国际十大科学突破评选的首位^[2], 是继手术、放化疗和靶向治疗之后的新兴且前景远大的治疗方法. 但大量临床研究也证实了仍有一大部分肿瘤患者对免疫治疗不敏感. 这与肿瘤微环境异质性有着密不可分的关系. 在肿瘤发生发展过程中, 肿瘤微环境与肿瘤细胞相互作用, 共同介导了肿瘤的免疫耐受, 从而影响了免疫治疗的临床效果. 解除肿瘤微环境的免疫抑制有利于人体正常抗肿瘤免疫防御能力的恢复和重建, 从而增强包括免疫治疗在内的各种肿瘤治疗方法的综合疗效, 肿瘤微环境也由此成为肿瘤治疗的靶标. 本文就肿瘤微环境和免疫耐受以及免疫治疗进展展开综述.

1 免疫微环境

在肿瘤的发生发展过程中, 免疫系统主要经历以下三个过程的演变: a. 免疫监察. 肿瘤细胞被免疫细胞识别并清除, 处于劣势一方; b. 免疫平衡. 肿瘤与免疫系统分庭抗礼, 数量与实力处于均衡状态; c. 免疫摧毁. 肿瘤细胞突破免疫防线, 打开拉锯战的缺口并多处转移. 这其中免疫系统呈现出特有的两面性, 免疫细胞既在肿瘤入侵的最初发挥天然抗肿瘤作用, 又在肿瘤进展过程中一反常态变成促肿瘤表型, 协助肿瘤免疫逃逸及远处转移. 肿瘤免疫微环境中免疫细胞浸润并分泌炎性介质, 形成炎性微环境, 具有高度的异质性. 免疫细胞成分复杂多样, 包括适应性免疫系统的 T 淋巴细胞(70%~80%) 和 B 淋巴细胞(10%~20%), 固有免疫防御系统的巨噬细胞(5%~10%)、自然杀伤

* 国家重点研发计划项目(2016YFC1302300), 国家自然科学基金项目(81621004, 81490750, 81230060), 广东省自然科学基金研究团队项目(S2012030006287), 广东省协同创新与平台环境建设专项资金项目(2015B050501004).

** 通讯联系人.

Tel: 020-81332507, E-mail: songew@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2017-07-06, 接受日期: 2017-07-07

(NK)细胞 (< 5%) 和发挥抗原提呈作用的树突状细胞(dendritic cell, DC). 浸润在肿瘤局部的淋巴细胞通常称为肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltration lymphocytes, TILs). 在与肿瘤细胞的相互影响中, 以调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)和肿瘤相关巨噬细胞(cancer associated macrophages, TAMs)为代表的肿瘤免疫微环境组分介导了免疫抑制, 为肿瘤发展保驾护航.

1.1 调节性 T 细胞

Tregs 是 CD4⁺ T 淋巴细胞的一个亚群, 组成性地表达白介素 2(IL-2)受体(CD25)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(cytotoxic T lymphocyte antigen-4, CTLA-4)以及最为重要的谱系分化特异因子 Foxp3, 具有免疫无能和免疫抑制两大功能^[3-4]. Tregs 自身具有免疫无能性, 表现为对 IL-2 以及共刺激分子的反应低下, 而其免疫抑制能力, 则通过抑制 T 细胞的增殖、分化, 阻碍抗原提呈细胞的抗原呈递作用和直接介导靶细胞死亡等方式来实现. 对许多不同肿瘤的研究表明, Tregs 大量存在于肿瘤间质中, 其高密度浸润往往预示着不良的临床预后^[5-6]. 许多恶性肿瘤细胞表达自身抗原, 而 Tregs 的存在能够有效地削弱自身抗原引起的抗肿瘤免疫, 协助肿瘤细胞逃避免疫侦查和杀伤^[7]. Nishikawa 等^[8]研究者发现, 从黑色素瘤和卵巢癌患者中分离出来的白细胞在去除了 Tregs 之后, 能对选择性肿瘤抗原产生反应; Tan 等^[9]发现 Tregs 也能直接促进肿瘤细胞的增殖和转移. 体内研究已经证实 Tregs 对抗肿瘤免疫功能的负向调节作用. 单纯在严重免疫缺陷小鼠身上过继回输病人来源的 CD3⁺CD25⁺ T 细胞即可阻止肿瘤生长, 而同时回输 Tregs 则能逆转这种保护作用^[10]. Tregs 介导的肿瘤免疫逃逸机制复杂, 包括分泌可溶性或膜结合的抑制性细胞因子抑制效应细胞的功能、以颗粒酶和穿孔素依赖的方式介导效应细胞溶解以及通过阻断代谢影响效应细胞的功能等^[11-12]. 目前认为 Tregs 的起源有两种, 分别是由天然发生的 Tregs (natural Tregs, nTregs) 和外周诱导产生的 Tregs(induced Tregs, iTregs). 前者在胸腺髓质发育, 在维持免疫稳态和在预防自身免疫疾病方面发挥重要的作用; 后者则是对外源抗原产生反应, 在免疫抑制性细胞因子和 DC 共同诱导下由外周幼稚 CD4⁺ T 细胞(naive CD4⁺ T cells)衍生而来^[12]. 肿瘤局部浸润 Tregs 主要是在肿瘤微环境诱导下产生, 一方面, 微环境中存在大量的趋化因子, 如 CCL22 和 CCL28 等, 可以招募 nTregs

至肿瘤周边^[10, 13]. 另一方面, 肿瘤和其他间质细胞通过分泌 IL-10, 转化生长因子(TGF- β) 和吲哚 2, 3 双加氧酶(indoleamine-2, 3-dioxygenase, IDO)等调节因子影响 DC 的分化和增殖, 进而诱导微环境中的幼稚 CD4⁺ T cells 向 iTregs 转化^[12, 14-15]. 目前关于何种方式主要介导了肿瘤微环境中 Tregs 的产生仍众说纷纭^[11, 16-17]. 笔者单位在研究乳腺癌浸润性 Tregs 的来源时发现, 大部分的 Tregs 是由迁移至肿瘤局部的幼稚 CD4⁺ T 细胞转化而来^[18]. 而源于笔者单位更早期研究发现的一个重要趋化因子 CCL18^[19], 由 TAMs 大量产生, 通过与细胞表面受体 PITPNM3 相结合, 发挥趋化幼稚 CD4⁺ T 细胞到肿瘤组织的功能. 我们的研究也首次证明幼稚 CD4⁺ T 细胞在肿瘤局部的高密度浸润是影响乳腺癌患者长期生存的一个独立预后因子. 由此, 阻止幼稚 CD4⁺ T 细胞被招募到肿瘤局部并向 iTregs 转化, 为控制 Tregs 进行肿瘤免疫治疗提供了新的思路.

1.2 巨噬细胞

癌症相关炎症是肿瘤十大生物学特性之一^[20]. 现在普遍认为, 炎症是肿瘤微环境的重要组成部分. 肿瘤相关巨噬细胞作为肿瘤中浸润白细胞的最主要成分, 在介导肿瘤炎症的发生和肿瘤进展方面发挥极其重要的作用. 与 Tregs 不同, 组织和炎症中浸润的巨噬细胞是由骨髓单核细胞前体发育而来^[21]. 这些前体细胞从血管渗透到各个组织器官中, 并可由不同微环境中的刺激信号诱导活化为不同亚型^[22]. 根据功能表型不同, 巨噬细胞主要分为 M1 型(经典活化巨噬细胞)和 M2 型(替代活化巨噬细胞). M1 型经典活化巨噬细胞主要由 Th1 细胞因子如 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)诱导产生, 其通过分泌促炎因子如 IL-1、IL-12、TNF- α 以及众多趋化因子配体, 参与炎症反应和抗肿瘤免疫过程^[23]. 反之, Th2 细胞因子 IL-4 和 IL-13、免疫复合物及抗炎性细胞因子 IL-10 等能诱导巨噬细胞向 M2 型极化^[22]. M2 型巨噬细胞下调免疫刺激因子 IL-12, 高表达免疫抑制因子 IL-10, 不仅本身肿瘤杀伤活性低下, 并且抑制肿瘤中 CD8⁺ T 细胞的细胞毒性. 人乳腺癌组织基质中 TAM 的浸润与 CD8⁺ T 细胞数量呈负相关^[24].

浸润在肿瘤局部的巨噬细胞通常称为肿瘤相关巨噬细胞(TAMs), 其更接近 M2 型巨噬细胞的功能表型. 肿瘤微环境中多种刺激因子如趋化因子

CCL2 将巨噬细胞募集至肿瘤局部, 并促使其表型向 TAM 转化, 从而助力肿瘤恶性进展^[25]. 在刺激肿瘤血管生成方面, TAMs 分泌多种因子, 包括碱性成纤维细胞生长因子、血管内皮生长因子(VEGF)-A、尿激酶型纤溶酶原激活剂(urokinase-type plasminogen activator, uPA)、肾上腺髓质素(adrenomedullin, ADM)等. 此外, TAMs 通过释放基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)-9 等物质降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM), 不仅促进血管内皮迁移, 诱导血管新生, 为肿瘤生长提供丰富的营养, 而且促进 ECM 重塑, 加速转移前微环境的形成, 为肿瘤转移到远处器官提供支持. 以往研究表明, TAMs 与肿瘤细胞之间的相互作用对肿瘤侵袭转移过程有着至关重要的作用. 血管周围的 TAMs 通过表皮生长因子(EGF)的分泌增强乳腺癌细胞侵入血管并进一步扩散, 而肿瘤细胞来源的集落刺激因子(colony-stimulating factor-1, CSF-1)与巨噬细胞表面的 CSF-1 受体结合, 从而激活 TAMs, 使得 EGF 分泌增加, 由此形成加速肿瘤进程的恶性循环. 笔者单位在研究乳腺癌中 TAMs 的作用时发现, TAMs 大量分泌趋化因子 CCL18, 其通过结合功能受体 PTPN3, 增强肿瘤细胞对 ECM 的黏附和侵袭^[26]. 后续研究发现, CCL18-PTPN3 的相互结合通过促发细胞内核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 通路, 诱导肿瘤细胞表型的上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 从而获得更高的迁移和侵袭能力. 而发生了 EMT 的肿瘤细胞分泌粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF), 又引起巨噬细胞向 TAM 表型转变, 因而形成一条介导乳腺癌转移的正反馈环路^[27]. 越来越多的临床研究证实, TAMs 浸润与肿瘤患者的不良预后相关. 鉴于 M1 型巨噬细胞的抗肿瘤免疫功能, 以及巨噬细胞的可塑性, 逆转 TAM 由 M2 向 M1 表型转化对增强肿瘤免疫疗法具有巨大潜力. 此外, 阻断 TAMs 在肿瘤局部的募集, 杀灭清除 TAMs 有望成为未来肿瘤治疗的新靶点.

2 非免疫微环境

肿瘤微环境除了多种类型的炎性/免疫细胞, 还有成纤维细胞、血管平滑肌细胞、内皮细胞等基质细胞. 不仅为肿瘤的发生发展提供保护和支撑, 而且主动参与到肿瘤进程.

2.1 成纤维细胞

肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)是实体肿瘤微环境中最丰富的宿主细胞, 在微环境作用下获得一种活化表型. 区别于正常成纤维细胞, CAFs 以表达 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)和成纤维细胞激活蛋白(FAP)为特征, 能分泌大量生长因子, 如 VEGF、TGF- β 、肝细胞生长因子等, 能合成和沉积 ECM 及产生各种胶原、黏连蛋白, 介导 ECM 重塑. 目前关于 CAF 的来源尚不明确, 已知可能的机制包括 EMT 或内皮-间质转化, 骨髓来源间充质干细胞(MSC)由肿瘤分泌因子招募和分化作用, 以及周围组织中静止的成纤维细胞被激活并募集进入肿瘤局部. 其详细的分子机制和信号转导通路尚待深入研究.

此外, 越来越多的研究反复验证了 CAFs 在肿瘤发生发展及转移复发过程中的重要性. Olumi 等^[28]首次在体内实验中证实, 前列腺癌上皮细胞单独或者与正常成纤维细胞共接种均不具备致瘤性, 而与 CAFs 联合接种则能形成巨大的实体瘤, 揭示了 CAFs 主导的肿瘤微环境对肿瘤生长的作用. 在介导微环境形成方面, CAFs 释放基质细胞衍生因子 1 (SDF-1)/CXCL12 及其他细胞因子、MMPs 和促血管生成因子等, 募集各种炎性细胞和内皮细胞到肿瘤组织, 从而促进乳腺癌细胞生长和肿瘤血管新生^[29]. Crawford 等^[30]发现, CAFs 通过上调血小板衍生生长因子(PDGF)-CC 的表达, 抵消抗 VEGF 疗法导致的 VEGF 缺失对血管形成的抑制作用, 从而介导肿瘤细胞对抗 VEGF 治疗的耐受性. 鉴于 CAFs 具有高度异质性, 不同亚群中的 CAFs 对肿瘤发生发展意义也不尽相同. 其特异标志物的缺乏一定程度上限制了对 CAFs 特性的进一步研究和肿瘤新型治疗靶标的发展. 此外, CAFs 还通过介导多种机制影响肿瘤免疫. 体外研究发现, CAFs 来源的 IL-6 和 IL-8 可能诱导单核-巨噬细胞的分化, CXCL14 可以影响巨噬细胞募集至肿瘤组织. Kraman 和 Wen 等^[31-32]发现, 靶向清除转基因小鼠原位移植瘤的 FAP⁺CAF 可以反过来增强小鼠抗肿瘤免疫效应. CD8⁺T 细胞被更多地募集到肿瘤局部并发挥杀伤肿瘤的功能. 因此, 特异可靠的 CAF 标志物的发现, 相关信号通路的进一步研究, 对发展针对 CAFs 的肿瘤靶向治疗和提高肿瘤免疫治疗疗效极其有意义.

2.2 血管内皮细胞

前面提到, 肿瘤微环境中 TAMs、CAF 等通

过多种机制介导肿瘤新生血管形成, 为肿瘤生长和转移提供氧气和营养. 肿瘤血管形成过程主要包括: 内皮细胞激活、基底膜与 ECM 降解、内皮细胞迁移和增殖、血管腔形成并延伸至实体瘤内部. 其中, 内皮细胞是肿瘤血管生成的基础. 长期以来的研究发现, 肿瘤微环境可以修饰内皮细胞基因的表达, 使其向有利于血管形成方向发展, 比如肿瘤内皮细胞中丛生蛋白、原纤维蛋白 1 等抑制血管形成的基因表达受到抑制^[33]. 而与肿瘤、成纤维细胞体外共培养发现, VEGF-1 受体、FGF 受体等肿瘤细胞特有的基因在内皮细胞中表达上调, 内皮细胞形成血管的能力也显著增强^[34]. 以 VEGF-A 为代表的 VEGF 家族是迄今发现最有效的促血管因子, 其表达受到肿瘤微环境的调控. VEGF 通过结合内皮细胞上的 VEGF 受体诱导血管渗漏, 促进内皮细胞的增殖和迁移^[35]. 目前, 抗血管生成治疗已成为临床上常规的肿瘤治疗方法之一. 近十几年来, 陆续已有 10 类抗肿瘤血管生成药物被批准进入临床. 不过, 与其他抗肿瘤药物一样, 抗血管生成治疗也存在耐药现象. 其诱导肿瘤微环境多种细胞与信号通路的反应性改变尚不明确, 亟待进一步研究. 此外, 抗肿瘤血管生成治疗联合免疫治疗也开始在一系列肿瘤中展开临床试验.

3 NF- κ B 介导炎症信号参与肿瘤进程

作为肿瘤十大生物学特性之一, 肿瘤相关炎症与其他细胞生物学标志性改变密切相关^[20]. 尽管机制错综复杂, 但大量研究证实, NF- κ B 作为这其中关键的调控因子, 不仅介导炎症的产生, 也参与调节肿瘤一系列生物学过程众多的基因(包括炎症基因)的表达和功能^[36]. NF- κ B 组成性激活于各类血液肿瘤或实体肿瘤中, 炎症反应中活化的 NF- κ B 进一步促进了肿瘤的发生和发展. 在生理条件下, NF- κ B 与其抑制分子(inhibitor-kappa B, I κ B)结合, 以无活性的复合物形式存在于细胞浆中. 而在细胞外刺激信号作用下, I κ B 激酶 β (I κ B kinase β , IKK β)活化导致 I κ B 的磷酸化降解, NF- κ B 得以解离入核, 与 DNA 上的 κ B 转录位点相结合, 从而激活编码细胞因子、生长因子、促血管因子、细胞黏附因子、ECM 调节酶以及影响凋亡的基因等靶基因的表达^[37]. 近年来, 长非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA)成为研究热点, 而参与炎症调控的 lncRNA 鲜有报道. 笔者研究室通过研究 NF- κ B 激活状态下 lncRNA 的表达谱变化, 鉴定出一条由

NF- κ B 诱导上调同时又参与 NF- κ B 负性调节的 lncRNA NKILA^[38]. 与以往发现的 NK- κ B 抑制机制不同, NKILA 可以直接与 NF- κ B/I κ B 结合形成稳定的三体复合物, 在构象上直接阻断 IKK 对 I κ B 的磷酸化, 进而抑制 NF- κ B 信号通路的激活, 从而发挥抑癌作用. 我们的研究表明, NKILA 的存在 / 高表达抑制乳腺癌的进展和转移, 而侵袭性乳腺癌中 NKILA 下调与预后不良相关. 长非编码 RNA NKILA 的发现为控制乳腺癌中 NF- κ B 信号介导的炎症反应提供了新的思路, 也提示了 RNA 疗法可能揭开乳腺癌治疗选择的新篇章.

4 免疫治疗

近年来, 对肿瘤微环境和抗肿瘤免疫的研究为肿瘤免疫治疗的发展提供了理论支持. 肿瘤免疫疗法主要分为过继细胞治疗 (adoptive cell therapy, ACT) 和靶向药物治疗两类. 1988 年 Rosenberg 等^[39]首次提出 ACT 的概念, 它是指给肿瘤患者输注经体外激活和扩增的自体免疫细胞, 包括 $\alpha\beta$ T 细胞、 $\sigma\gamma$ T 细胞及 TILs, 并辅以生长因子, 促使这些免疫效应细胞发挥杀伤或杀灭肿瘤细胞的作用, 从而达到抗肿瘤的目的. 研究表明传统的 ACT 在某些肿瘤, 尤其是恶性黑色素瘤中有不错的疗效, 对大多数肿瘤则疗效欠佳^[40]. 主要原因是内源性 T 细胞存在“主要组织相容性复合物 (compatibility complex, MHC) 限制性”, 使得 T 细胞识别并杀伤肿瘤的效果大打折扣. 在此基础上, 具有高效特异性、杀伤活性和持久性的嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR) 修饰的 T 细胞治疗应运而生. CAR-T 细胞技术是将肿瘤抗原的高亲和性和 T 细胞的细胞毒活性相结合, 通过基因重组获得表达 CAR 的 T 细胞, 经体外活化扩增再回输进肿瘤患者体内以行使特异性杀灭肿瘤细胞的功能. 目前 CAR-T 细胞技术已经在 B 细胞恶性肿瘤的治疗上取得了重大突破^[41], 也逐渐在实体瘤的临床试验中崭露头角^[42-43]. 不过许多肿瘤缺乏特异性抗原, 这极大地限制了 CAR-T 细胞疗法的广泛应用和深入研究, 肿瘤微环境介导的免疫抑制也一定程度上影响了 CAR-T 细胞治疗的临床效果. 肿瘤免疫靶向药物治疗主要是细胞因子如干扰素和白介素、免疫检查点 (如 PD-1/PD-L1 和 CTL-4 等) 抑制剂和肿瘤疫苗等, 通过各种机制刺激或增强人体自身免疫应答来抵抗肿瘤. 2010 年, 靶向前列腺酸性磷酸酶 (prostatic acid phosphatase, PAP) 的树突细胞疫苗 provvenge

(sipuleucel-T)获美国 FDA 批准成为首个肿瘤治疗性疫苗, 用于前列腺癌的治疗^[44]. 临床试验证实, 乳腺癌抗原疫苗 HER 2/neu (E75)与 GM-CSF 融合蛋白的被动免疫治疗在预防肿瘤复发, 使乳腺癌患者

生存获益方面也有不俗的成绩^[45]. 随着越来越多的肿瘤免疫靶点被发现, 已有相当一部分的治疗药物通过临床试验应用于临床. 代表性的免疫制剂见表 1.

Table 1 Representative tumor immunotherapeutic agents
表 1 代表性的肿瘤免疫制剂

免疫药物	靶标	效应细胞	制剂类型	应用状态	肿瘤类型
IFN α -2b	IFN- α 受体	肿瘤细胞	重组肽	FDA 认证 (BLA 103132)	黑色素瘤等
Aldesleukin	IL-2	肿瘤细胞	重组肽	FDA 认证(BLA 103293)	晚期肾癌和黑色素瘤
Sipuleucel-T	PAP	T 细胞	树突状细胞疫苗	FDA 认证(BLA 125197)	前列腺癌
Ipilimumab	CTLA-4	T 细胞	封闭抗体	FDA 认证(BLA 125377)	难治性黑色素瘤
Trastuzumab	HER2、Fc γ 受体	NK 细胞、巨噬细胞	双向特异性抗体	FDA 认证(BLA 103792)	HER2 阳性乳腺癌
Atezolizumab	PDL-1	肿瘤细胞	封闭抗体	FDA 认证(BLA 761034)	非小细胞肺癌
Pembrolizumab	PD1	T 细胞	封闭抗体	FDA 认证(BLA 125514)	晚期黑色素瘤
Nivolumab	PD1、OX40	T 细胞	封闭抗体	FDA 认证(BLA 125554)	晚期黑色素瘤和非小细胞肺癌等
Blinatumomab	CD3、CD19	B 细胞、T 细胞	双特异性抗体	FDA 认证(BLA 125557)	B 细胞型急性淋巴细胞白血病
CP-870, 893	CD40	巨噬细胞	激动剂抗体	Phase I (NCT00711191, NCT01008527, NCT00607048, NCT01456585, NCT01103635)	胰腺癌

* BLA: Biological license application(生物制剂许可申请); CTLA-4: Cytotoxic T lymphocyte antigen-4(细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4); FDA: Food and drug administration(美国食品药品监督管理局); IFN- α : Interferon- α (干扰素 α); IL-2: Interleukin 2(白介素 2); PAP: Prostatic acid phosphatase(前列腺酸性磷酸酶); PD-1: Programmed death-1(程序性死亡受体 1); PDL1: Programmed death ligand 1(程序性死亡配体 1).

此外, 由于肿瘤微环境中存在大量免疫抑制性细胞, 针对这些细胞进行肿瘤免疫治疗是肿瘤治疗的新策略. 近年来, 通过靶向表面标志物如 CTLA-4 和 CD25 来清除 Tregs 的药物已经在临床上取得了一定的疗效^[46-47]. IL-2 和白喉毒素的融合蛋白利用 IL-2 与其受体 CD25 结合的特性, 将具有毒性作用的白喉毒素靶向到 Tregs, 以达到特异性清除体内 Tregs 的目的, 目前用于 CD25⁺ T 淋巴瘤和白白血病的治疗. 而随着研究的深入, 清除 Tregs 的局限性逐渐显露, 比如肿瘤患者体内的 Tregs 被清除后会很快恢复到原有水平, 尽管患者的抗肿瘤免疫功能在一定程度上有所增强, 但长期的临床疗效欠佳. 据此, 靶向 Tregs 的策略逐渐从“清除”转变为“控制”, 即控制体内 Tregs 的数量和功能. 这可以通过靶向 Tregs 相关分子等途径来实现, 更有待进一步的研究. 另外, 基于 TAMs 介导的免疫耐受, 清除 TAMs 可以使一些药物的抗肿瘤治疗作用得到增强. 比如, 在转移性肝肿瘤模型中, 氯膦酸盐脂质体清除 TAMs 可增强索拉

非尼抑制肿瘤血管形成和肿瘤转移的能力^[48]. 不过, 也有研究表明, TAMs 表达的 Fc γ 受体参与治疗性单克隆抗体(如妥珠单抗 trastuzumab、利妥昔单抗 rituximab 等)Fc 片段介导的抗体依赖性细胞毒性 / 细胞吞噬作用 (antibody dependent cellular cytotoxicity/phagocytosis, ADCC/ADCP), 因此清除 TAMs 会反过来阻止效应 T 细胞应答, 从而限制这些单抗的临床疗效^[49-50]. 如何调控 TAMs 在不同肿瘤类型中的功能表型向抗肿瘤免疫的方向发展, 仍是亟需解决的重点问题.

5 结语与展望

综上所述, 肿瘤微环境对肿瘤发生和发展过程有着举足轻重的作用(图 1). 其中复杂交错的细胞 / 分子调控机制仍有待进一步深入研究. 肿瘤免疫治疗作为肿瘤临床治疗手段的新星, 有着巨大的潜力. 有效解除肿瘤微环境介导的免疫抑制将极大地促进肿瘤免疫治疗的临床疗效和广泛应用. 传统肿瘤治疗方式的联合应用可以取得显著的临床效果.

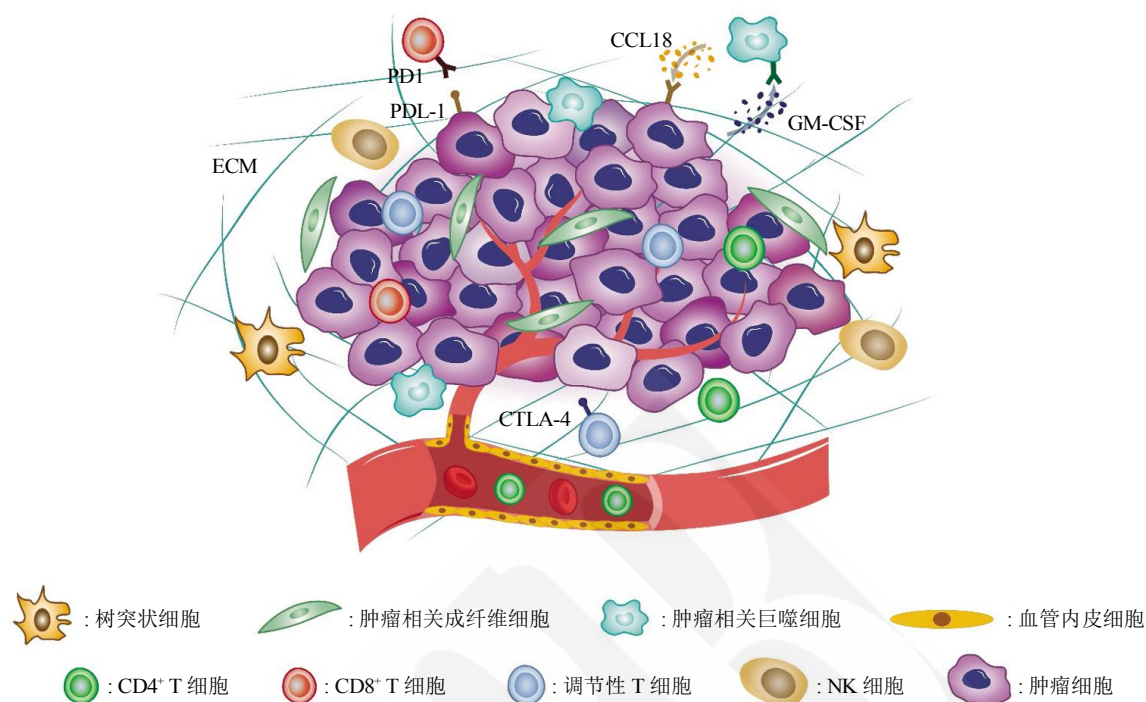


Fig. 1 The co-evolution of neoplastic cells and tumor microenvironment

图 1 肿瘤细胞与肿瘤微环境共同进化

根据“种子与土壤”学说,肿瘤的发生发展是肿瘤细胞与其微环境相互影响、共同进化的结果.肿瘤微环境由不同种类的间质细胞和炎性介质以及细胞外基质(ECM)组成.其中,肿瘤相关成纤维细胞是最主要的间质细胞;血管内皮细胞介导的血管新生为肿瘤生长和转移提供必需的营养;免疫浸润包括树突状细胞、巨噬细胞、NK 细胞及不同亚型的 T 细胞等等.肿瘤相关巨噬细胞与肿瘤细胞可以通过分泌特殊的细胞因子形成正反馈循环促进肿瘤恶性表型的形成和维持.针对肿瘤免疫微环境的各种组分有望发展不同类型的肿瘤免疫疗法.目前,以免疫检查点 PD1/PDL-1 抑制剂和 CAR-T 细胞疗法为代表的免疫疗法已经成为肿瘤临床治疗的新星.

随着越来越多靶向各种微环境组分的治疗药物/策略的出现,联合疗法将成为未来肿瘤治疗的发展目标.当然深入解析药物的作用机理并联合使用不同药物使其发挥最大功效是临床试验的最大挑战.长非编码 RNA 的研究热潮也有望为增强肿瘤免疫治疗的疗效提供新型靶标.我们有理由相信,日益增多的研究成果会在不久的将来为肿瘤治疗带来新的重大突破,为肿瘤患者带来生存福音.

参 考 文 献

- [1] Langley R R, Fidler I J. The seed and soil hypothesis revisited—The role of tumor-stroma interactions in metastasis to different organs. *International Journal of Cancer*, 2011, **128**(11): 2527–2535
- [2] Couzin-Frankel J. Cancer immunotherapy. *American Association for the Advancement of Science*. 2013, **342**(6165): 1432–1433
- [3] Josefowicz S Z, Lu L F, Rudensky A Y. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu Rev Immunol*, 2012, **30**: 531–564
- [4] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 2003, **299**(5609): 1057–1061
- [5] Bates G J, Fox S B, Han C, *et al.* Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *Journal of Clinical Oncology*, 2006, **24**(34): 5373–5380
- [6] Curiel T J, Coukos G, Zou L, *et al.* Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nature Medicine*, 2004, **10** (9): 942–949
- [7] Nishikawa H, Sakaguchi S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol*, 2014, **27**: 1–7
- [8] Nishikawa H, Jäger E, Ritter G, *et al.* CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells control the induction of antigen-specific CD4⁺ helper T cell responses in cancer patients. *Blood*, 2005, **106**(3): 1008–1011
- [9] Tan W, Zhang W, Strasner A, *et al.* Tumour-infiltrating regulatory T cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signalling. *Nature*, 2011, **470**(7335): 548–553
- [10] Curiel T J, Coukos G, Zou L, *et al.* Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med*, 2004, **10**(9): 942–949
- [11] Zitvogel L, Tanchot C, Granier C, *et al.* Following up tumor-specific regulatory T cells in cancer patients. *Oncoimmunology*,

- 2013, **2**(7): e25444
- [12] Facciabene A, Motz G T, Coukos G. T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis. *Cancer Res*, 2012, **72** (9): 2162–2171
- [13] Facciabene A, Peng X, Hagemann I S, *et al.* Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis *via* CCL28 and T(reg) cells. *Nature*, 2011, **475**(7355): 226–230
- [14] Sharma M D, Baban B, Chandler P, *et al.* Plasmacytoid dendritic cells from mouse tumor-draining lymph nodes directly activate mature Tregs *via* indoleamine 2,3-dioxygenase. *J Clin Invest*, 2007, **117**(9): 2570–2582
- [15] Belkaid Y, Oldenhove G. Tuning microenvironments: induction of regulatory T cells by dendritic cells. *Immunity*, 2008, **29** (3): 362–371
- [16] Beyer M, Schultze J L. Regulatory T cells in cancer. *Blood*, 2006, **108**(3): 804–811
- [17] Savage P A, Leventhal D S, Malchow S. Shaping the repertoire of tumor-infiltrating effector and regulatory T cells. *Immunol Rev*, 2014, **259**(1): 245–258
- [18] Su S, Liao J, Liu J, *et al.* Blocking the recruitment of naive CD4⁺ T cells reverses immunosuppression in breast cancer. *Cell Research*, 2017, **27**(4): 461–482
- [19] Chen J, Yao Y, Gong C, *et al.* CCL18 from tumor-associated macrophages promotes breast cancer metastasis *via* PITPNM3. *Cancer Cell*, 2011, **19**(4): 541–555
- [20] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, **144**(5): 646–674
- [21] Davies L C, Jenkins S J, Allen J E, *et al.* Tissue-resident macrophages. *Nature Immunology*, 2013, **14**(10): 986–995
- [22] Qian B-Z, Pollard J W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*, 2010, **141**(1): 39–51
- [23] Mosser D M, Edwards J P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews Immunology*, 2008, **8**(12): 958–969
- [24] Denardo D G, Barreto J B, Andreu P, *et al.* CD4⁺ T cells regulate pulmonary metastasis of mammary carcinomas by enhancing protumor properties of macrophages. *Cancer Cell*, 2009, **16** (2): 91–102
- [25] Hao N-B, Lü M-H, Fan Y-H, *et al.* Macrophages in tumor microenvironments and the progression of tumors. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012, **2012**: 1–11
- [26] Chen J, Yao Y, Gong C, *et al.* CCL18 from tumor-associated macrophages promotes breast cancer metastasis *via* PITPNM3. *Cancer Cell*, 2011, **19**(4): 541–555
- [27] Su S, Liu Q, Chen J, *et al.* A positive feedback loop between mesenchymal-like cancer cells and macrophages is essential to breast cancer metastasis. *Cancer Cell*, 2014, **25**(5): 605–620
- [28] Olumi A F, Grossfeld G D, Hayward S W, *et al.* Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. *Cancer Res*, 1999, **59**(19): 5002–5011
- [29] Orimo A, Gupta P B, Sgroi D C, *et al.* Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell*, 2005, **121**(3): 335–348
- [30] Crawford Y, Kasman I, Yu L, *et al.* PDGF-C mediates the angiogenic and tumorigenic properties of fibroblasts associated with tumors refractory to anti-VEGF treatment. *Cancer Cell*, 2009, **15**(1): 21–34
- [31] Kraman M, Bambrough P J, Arnold J N, *et al.* Suppression of antitumor immunity by stromal cells expressing fibroblast activation protein- α . *Science*, 2010, **330**(6005): 827–830
- [32] Wen Y, Wang C T, Ma T T, *et al.* Immunotherapy targeting fibroblast activation protein inhibits tumor growth and increases survival in a murine colon cancer model. *Cancer Science*, 2010, **101**(11): 2325–2332
- [33] Hellebrekers D M, Melotte V, Viré E, *et al.* Identification of epigenetically silenced genes in tumor endothelial cells. *Cancer Research*, 2007, **67**(9): 4138–4148
- [34] Khodarev N N, Yu J, Labay E, *et al.* Tumour-endothelium interactions in co-culture: coordinated changes of gene expression profiles and phenotypic properties of endothelial cells. *Journal of Cell Science*, 2003, **116**(6): 1013–1022
- [35] Scavelli C, Vacca A, Di Pietro G, *et al.* Crosstalk between angiogenesis and lymphangiogenesis in tumor progression. *Leukemia*, 2004, **18**(6): 1054–1058
- [36] Ben-Neriah Y, Karin M. Inflammation meets cancer, with NF- κ B as the matchmaker. *Nature Immunology*, 2011, **12** (8): 715–723
- [37] Zhang Q, Lenardo M J, Baltimore D. 30 Years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell*, 2017, **168**(1): 37–57
- [38] Su F, Li D, Zeng M, *et al.* A Cytoplasmic NF- κ B interacting long noncoding RNA blocks I κ B phosphorylation and suppresses breast cancer metastasis. *Cancer Cell*, 2015, **27**: 370–381
- [39] Rosenberg S A, Packard B S, Aebersold P M, *et al.* Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. *New England Journal of Medicine*, 1988, **319**(25): 1676–1680
- [40] Rosenberg S A, Restifo N P, Yang J C, *et al.* Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 2008, **8**(4): 299–308
- [41] Lee D W, Kochenderfer J N, Stetler-Stevenson M, *et al.* T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *The Lancet*, 2015, **385**(9967): 517–528
- [42] Whilding L M, Maher J. ErbB-targeted CAR T-cell immunotherapy of cancer. *Immunotherapy*, 2015, **7**(3): 229–241
- [43] Louis C U, Savoldo B, Dotti G, *et al.* Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in patients with neuroblastoma. *Blood*, 2011, **118**(23): 6050–6056
- [44] Fong L, Carroll P, Weinberg V, *et al.* Activated lymphocyte recruitment into the tumor microenvironment following preoperative sipuleucel-T for localized prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 2014, **106**(11): dju268

- [45] Mittendorf E A, Clifton G T, Holmes J P, *et al.* Clinical trial results of the HER-2/neu (E75) vaccine to prevent breast cancer recurrence in high-risk patients. *Cancer*, 2012, **118**(10): 2594–2602
- [46] Hodi F S, O'day S J, McDermott D F, *et al.* Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*, 2010, **363**(8): 711–723
- [47] Telang S, Rasku M A, Clem A L, *et al.* Phase II trial of the regulatory T cell-depleting agent, denileukin diftitox, in patients with unresectable stage IV melanoma. *BMC Cancer*, 2011, **11**: 515
- [48] Zhang W, Zhu X D, Sun H C, *et al.* Depletion of tumor-associated macrophages enhances the effect of sorafenib in metastatic liver cancer models by antimetastatic and antiangiogenic effects. *Clinical Cancer Research*, 2010, **16**(13): 3420–3430
- [49] Bianchini G, Gianni L. The immune system and response to HER2-targeted treatment in breast cancer. *The Lancet Oncology*, 2014, **15**(2): e58–e68
- [50] Chao M P, Alizadeh A A, Tang C, *et al.* Anti-CD47 antibody synergizes with rituximab to promote phagocytosis and eradicate non-Hodgkin lymphoma. *Cell*, 2010, **142**(5): 699–713

The Role of Tumor Microenvironment in Cancer Immunotherapy*

CHEN Xue-Man^{1,2)}, SONG Er-Wei^{1,2)**}

⁽¹⁾Breast Tumor Center, Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China;

⁽²⁾Guangdong Provincial Key Laboratory of Malignant Tumor Epigenetics and Gene Regulation,
Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract Cancer pathogenesis in human is comprised by a series of complicated biological processes, whereby the rivalry between foreign tumor and inherent immunity determines the success or failure of this defense battle. As the “seed and soil” hypothesis implicated, tumor initiation and progression are not only driven by (epi) genetic abnormalities, but also influenced by surrounding tumor microenvironment, which adds another layer of understanding to cancer biology. More importantly, growing microenvironment-related studies provide the theoretical reasons for developing more effective cancer immunotherapy in clinical practice. In this review, we will present an overview of tumor microenvironmental components involving immune tolerance, as well as selective research advances in cancer immunotherapy.

Key words tumor microenvironment, immune tolerance, cancer immunotherapy

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0260

* This work was supported by grants from The National Key Research and Development Program of China (2016YFC1302300), The National Natural Science Foundation of China (81621004, 81490750, 81230060), Science Foundation of Guangdong Province (S2012030006287), Guangdong Science and Technology Department (2015B050501004).

**Corresponding author.

Tel: 86-20-81332507, E-mail: songew@mail.sysu.edu.cn

Received: July 6, 2017 Accepted: July 7, 2017