

调节性 T 细胞在乳腺癌免疫治疗中的作用

王雪霏 孙强 彭理 徐颖 赵佳琳 徐倩倩 陈畅

【摘要】 免疫治疗是利用免疫系统来治疗疾病。近年来,随着免疫学的深入研究,免疫治疗开始应用于包括肿瘤在内的多种疾病,并显示出其独特的疗效。相关研究发现,调节性 T 细胞(Treg)是一群具有免疫抑制功能的 T 细胞,是肿瘤浸润性淋巴细胞中起到免疫抑制作用的关键细胞。乳腺癌免疫治疗包括主动免疫治疗和被动免疫治疗。笔者重点阐述以 Treg 为靶点的免疫治疗最新研究成果及其在免疫治疗中的地位,以期对乳腺癌的进一步相关研究提供参考。

【关键词】 T 淋巴细胞; 免疫疗法; 乳腺肿瘤

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

免疫治疗是利用免疫系统来治疗疾病,早在诸如破伤风、狂犬、麻疹等病毒的预防中起到了关键的作用。近年来,随着免疫学的深入研究,免疫治疗开始应用于包括肿瘤在内的多种疾病中。嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cells, CAR-T)治疗血液系统肿瘤初见成效,程序性细胞死亡分子 1/程序性细胞死亡分子配体 1(programmed death 1/programmed death ligand 1, PD-1/PD-L1)抑制剂在非小细胞肺癌中有良好作用,越来越多的学者开始关注并深入研究肿瘤的免疫治疗。笔者对以调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)为靶点的免疫治疗最新研究成果及其在免疫治疗中的地位进行了总结,以期对乳腺癌的进一步相关研究提供参考。

一、乳腺癌的免疫治疗

随着免疫学的发展,乳腺癌的免疫治疗成为了继手术、放射治疗、化疗、内分泌治疗之后的又一重要治疗方法,并因其毒性低的特点,显示出广阔的应用前景。目前应用于乳腺癌的免疫治疗包括主动免疫治疗和被动免疫治疗。

1. 主动免疫治疗

主动免疫治疗是为乳腺癌患者注射具有免疫原性的疫苗,使其产生针对肿瘤抗原的抗肿瘤免疫应答。主要有树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗(DC 呈递肿瘤抗原多肽片段激活细胞免疫)^[1]、多肽疫苗[使用肿瘤相关抗原多肽与抗原提呈细胞或 T 细胞结合来发挥免疫原性诱导细胞和体液免疫,包括 HER-2、黏蛋白 1(mucin 1, MUC1)等]^[2]、病毒载体疫苗(以病毒为载体,将肿瘤抗原的基因导入患者体内,以期激活细胞免疫)^[3]。主动免疫多针对 HER-2 阳性乳腺癌患者。

2. 被动免疫治疗

被动免疫治疗是将外源性免疫效应物质导入患者体内,以发挥其抗肿瘤的作用。主要包括 HER-2 单克隆抗体、MUC1 单克隆抗体^[4]、PD-L1 抑制剂、过继细胞疗法(将处理后的免疫活性细胞输注给患者,包括 CAR-T 治疗,在乳腺癌中的应用正在探索阶段)、细胞因子治疗(常见的是干扰素、白介素、肿瘤坏死因子等,但是缺乏特异性)。

二、Treg 与免疫治疗

由于缺乏作用靶点,主动免疫治疗目前多局限于 HER-2 阳性患者,而被动免疫治疗中,过继细胞疗法和细胞因子疗法由于缺乏特异性而发展缓慢。许多针对乳腺癌的免疫治疗 3 期临床试验未见明显疗效,研究人员分析,是由于肿瘤免疫微环境的免疫抑制状态限制了免疫治疗的疗效^[5]。所以,寻找一个肿瘤免疫抑制作用中明确的作用靶点,是免疫治疗中应该关注的重点。

1. Treg

Treg 是一群具有免疫抑制功能的 T 细胞,是肿瘤浸润性淋巴细胞中起到免疫抑制作用的关键细胞,主要包括天然型 Treg(CD4⁺CD25⁺Treg)和诱导型 Treg(induced Treg, iTreg)两大类。天然型 Treg 直接由胸腺细胞经历阴性和阳性选择发育而来, iTreg 在外周组织器官中由 Foxp3⁺ T 细胞在诱导下转化。Treg 在慢性免疫应答中可以限制自身免疫造成的组织损伤,但却给肿瘤逃避机体的免疫创造了条件。Treg 可以通过多种途径抑制机体免疫反应,促使肿瘤细胞发生免疫逃逸:(1) Treg 通过分泌多种抑制性细胞因子,如转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)、IL-10、IL-35 等,发挥免疫抑制效应^[6];(2) Treg 表面组成性表达 CD25(IL2Rα 链),能与效应 T 细胞竞争性结合并大量消耗 IL-2,从而抑制效应细胞(如 CD4⁺和 CD8⁺ T 淋巴细胞)的增殖^[7];(3) Treg 表面组成性表达细胞毒性 T 淋巴细胞抗原(cytotoxic T lymphocyte antigen, CTLA),能与 DC 表面配体 CD80 和 CD86 相互作用,从而阻断它们的共刺激功能和随后的 T 细胞活

化^[8]; (4)在肿瘤微环境中 Treg 可以表达颗粒酶 B,以颗粒酶 B/穿孔素依赖的方式使自然杀伤细胞(natural killer, NK)、细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)等溶解,抑制机体抗肿瘤免疫^[9]。

2. Treg 在免疫治疗中的地位

Treg 可以通过与细胞表面表达的抑制性分子及其分泌的细胞相互作用而发挥抑制 T 细胞抗肿瘤免疫的功能^[10]。但是,在部分以炎症浸润为特征的肿瘤中,iTreg 通过产生前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2)保护机体免受过度的炎症反应,从某种角度减缓了肿瘤的进展^[11]。越来越多的研究表明,Treg 介导的免疫监视逃逸在肿瘤的发生发展过程中发挥着重要作用^[12-16]。Treg 已被发现在乳腺癌患者外周血和肿瘤组织中过量增加^[12]。乳腺癌浸润 Foxp3⁺Treg 的细胞数量与乳腺癌的预后负相关,与 CTL 的数量正相关^[13-14]。小鼠肿瘤模型也已验证了消除 Treg 可以增强抗肿瘤免疫^[15-16]。

三、Treg 治疗的内容

Treg 的免疫治疗主要为清除、抑制或转化体内 Treg,干扰 Treg 的抑制信号,干扰 Treg 向肿瘤组织迁移等。目的是将具有免疫抑制性的 Treg 消除,并尽可能将其转化为 CTL。Treg 治疗包括单克隆抗体、化学小分子类药物等,如 PD-1/PD-L1 抗体,CTLA-4 抗体以及最新的靶向 Helios 治疗。

1. PD-L1/PD-1

PD-L1 是 B7 家族的免疫调节分子(B7 homolog 1, B7-H1),具有免疫正性刺激作用。PD-L1 在乳腺癌细胞中过度表达,使其与 PD-1 结合,导致 Treg 活性增强的同时,活化的 CTL 失能,介导免疫逃逸,从而与不良预后相关^[17]。体外转染 PD-L1 的荷瘤小鼠,很快出现腹水和远处转移,若将荷瘤小鼠 PD-1 基因敲除,病情明显缓解^[18]。PD-L1 相关药物对于多种恶性肿瘤有显著的抗瘤作用,单药治疗的适应症包括转移性恶性黑色素瘤、非小细胞肺癌等。PD-1 抗体 pembrolizumab(MK-3475)和 nivolumab(BMS-936558)已获美国 FDA 批准上市^[19]。也有一些直接作用于 PD-L1/PD-1 靶点的药物处于试验阶段,如 nivolumab(PD-1 抗体)加白蛋白紫杉醇治疗 HER-2 阴性复发转移性乳腺癌^[20]; pembrolizumab(MK-3475,PD-1 抗体)在三阴性乳腺癌和 ER 阳性/HER-2 阴性转移性乳腺癌中的疗效研究;avelumab(MSB0010718C,PD-L1 抗体)在转移性乳腺癌中的疗效研究;atezolizumab(PD-L1 抗体)+白蛋白紫杉醇治疗转移性三阴性乳腺癌。

2. CTLA-4

CTLA-4 即 CD152,属于 CD28 家族,是 T 细胞表面的抑制性蛋白受体,表达于激活的 T 细胞表面,能够下调 T 细胞活性。CTLA-4 能竞争 CD28 与 CD80/CD86 结合,抑制 CD28 的活化信号,对 T 细胞发出抑制性信号,阻断 T 细胞活化,抑制抗肿瘤免疫应答^[21]。CTLA-4 的这种抑制作用能够维持免疫应答的平衡,同时也为恶性肿瘤的治疗提供了一个新靶

点。CTLA-4 抗体能够干扰 CTLA-4 与 B7 的相互作用,抑制 CTLA-4 通路,增强肿瘤特异性 T 细胞的活化和增殖,提高机体的抗肿瘤免疫效应。目前 CTLA-4 抗体主要用于联合治疗,加强已有治疗的作用。对 HER-2 强阳性乳腺癌的治疗,联合 CTLA-4 抗体和 HER-2 的单克隆抗体能显著提升宿主抗肿瘤免疫^[22]。另外,有联合 CTLA-4 抗体与基质金属蛋白酶抑制剂,CTLA-4 抗体与 Janus 激酶 2 抑制剂,CTLA-4 抗体与多柔比星应用于乳腺癌治疗的试验初见成效,前景值得期待^[23-25]。

3. Helios

转录因子 Helios 是 Ikaros 转录因子家族的一员,最初克隆自小鼠的胸腺瘤系,表达在未确定的一个 T 细胞亚群,随后 Helios 在 Foxp3⁺Treg 表达^[26]。Helios 选择性表达于胸腺起源的 Foxp3⁺Treg,而不表达于外周诱导性 Foxp3⁺Treg^[12],其能帮助开启及关闭基因并与乳腺癌的预后差相关^[27]。2015 年,Dana-Farber 癌症研究所发现 Treg 具有高表达水平的 Helios 蛋白,Helios 低表达水平的 Treg 很不稳定,无法抑制免疫反应,无法生成 Helios 的小鼠 Treg 会变成效应 T 细胞(effector T cells, Teff)^[27]。因此,通过靶向 Helios,有望在减少 Treg 数量的同时将 Treg 转变为 Teff。

四、结语

目前,乳腺癌 Treg 免疫治疗仍然缺乏特异性更高的靶标。Treg 发挥抑制作用的机制较多,在不同类型肿瘤中作用不同。目前尚无炎症性乳腺癌、Paget 病中 Treg 相关免疫治疗的研究,未来应开发在不同乳腺癌分子分型及不同乳腺癌病理类型的患者中特异性更高的抑制性 Treg 的靶标,并研究其确切的作用机制,减少因作用不确切而可能带来的无效、低效或自身免疫性疾病风险。

参 考 文 献

- [1] Bahl S, Roses RE, Sharma A, et al. Asymptomatic changes in cardiac function can occur in ductal carcinoma-in-situ patients following treatment with HER-2/neu-pulsed dendritic cell vaccines [J]. *Am J Surg*, 2009, 198(4):488-494.
- [2] 张欢,吴斌. 乳腺癌免疫治疗的研究进展[J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2015, 9(4):264-269.
- [3] Wiedermann U, Wiltshcke C, Jasinska J, et al. A virosomal formulated Her-2/neu multi-peptide vaccine induces Her-2/neu-specific immune responses in patients with metastatic breast cancer: a phase I study [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 119(3):673-683.
- [4] Pichinuk E, Benhar I, Jacobi O, et al. Antibody targeting of cell-bound MUC1 SEA domain kills tumor cells [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(13):3324-3336.
- [5] Shumway NM, Ibrahim N, Ponniah S, et al. Therapeutic breast cancer vaccines: a new strategy for early-stage disease [J]. *Bio Drugs*, 2009, 23(5):277-287.
- [6] Strauss L, Bergmann C, Szczepanski M, et al. A unique subset of CD4+ CD25highFoxp3+ T cells secreting interleukin-10 and transforming

- growth factor-beta 1 mediates suppression in the tumor microenvironment [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(15 Pt 1):4345-4354.
- [7] Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, et al. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(7):490-500.
- [8] Byrne WL, Mills KH, Lederer JA, et al. Targeting regulatory T cells in cancer [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(22):6915-6920.
- [9] Cao X, Cai SF, Fehniger TA, et al. Granzyme B and perforin are important for regulatory T cell-mediated suppression of tumor clearance [J]. *Immunity*, 2007, 27(4):635-646.
- [10] 于海明, 杨俊兰, 焦顺昌. 乳腺癌肿瘤免疫微环境研究进展 [J]. *解放军医学院学报*, 2013, 34(6):664-666, 669.
- [11] 任莉莉, 邓春艳, 蒋锦杏, 等. 细胞免疫治疗对乳腺癌患者 Treg 细胞表达的影响 [J]. *山西医科大学学报*, 2015, 46(7):672-675.
- [12] Gobert M, Treilleux I, Bendriss-Vermare N, et al. Regulatory T cells recruited through CCL22/CCR4 are selectively activated in lymphoid infiltrates surrounding primary breast tumors and lead to an adverse clinical outcome [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(5):2000-2009.
- [13] Liu F, Lang R, Zhao J, et al. CD8+ cytotoxic T cell and FOXP3+ regulatory T cell infiltration in relation to breast cancer survival and molecular subtypes [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 130(2):645-655.
- [14] Aruga T, Suzuki E, Saji S, et al. A low number of tumor-infiltrating FOXP3-positive cells during primary systemic chemotherapy correlates with favorable anti-tumor response in patients with breast cancer [J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(2):273-278.
- [15] Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(4):295-307.
- [16] Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer [J]. *Blood*, 2006, 108(3):804-811.
- [17] Nakanishi J, Wada Y, Matsumoto K, et al. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(8):1173-1182.
- [18] Curiel TJ, Wei S, Dong H, et al. Blockade of B7-H1 improves myeloid dendritic cell-mediated antitumor immunity [J]. *Nat Med*, 2003, 9(5):562-567.
- [19] Ohaegbulam KC, Assal A, Lazar-Molnar E, et al. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway [J]. *Trends Mol Med*, 2015, 21(1):24-33.
- [20] Raedler LA. Opdivo (nivolumab): second PD-1 inhibitor receives FDA approval for unresectable or metastatic melanoma [J]. *Am Health Drug Benefits*, 2015, 8(Spec Feature):180-183.
- [21] Sigal LH. Basic science for the clinician 55: CTLA-4 [J]. *J Clin Rheumatol*, 2012, 18(3):155-158.
- [22] Wang XY, Zuo D, Sarkar D, et al. Blockade of cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 as a new therapeutic approach for advanced melanoma [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2011, 12(17):2695-2706.
- [23] 李明月. MMPs 抑制剂通过改善肿瘤微环境提高 CTLA-4 抗体治疗乳腺癌的实验研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [24] 王建霞. 联合抗 CTLA-4 抗体及 JAK2 抑制剂治疗小鼠乳腺癌的实验研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2014.
- [25] 沈文状, 董鸿, 张林, 等. 抗 CTLA-4 抗体联合阿霉素治疗小鼠乳腺癌的疗效及机制分析 [J]. *重庆医学*, 2015, 44(23):3172-3175.
- [26] Lakshmi Narendra B, Eshvendar Reddy K, Shantikumar S, et al. Immune system: a double-edged sword in cancer [J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(9):823-834.
- [27] Kim HJ, Barnitz RA, Kreslavsky T, et al. Stable inhibitory activity of regulatory T cells requires the transcription factor Helios [J]. *Science*, 2015, 350(6258):334-339.

(收稿日期:2016-03-28)

(本文编辑:刘军兰)

王雪霏, 孙强, 彭理, 等. 调节性 T 细胞在乳腺癌免疫治疗中的作用 [J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2017, 11(1): 47-49.