

· 综述 ·

神经母细胞瘤的免疫学治疗进展

侯渊涛 刘 璐 综述 王常林 审校

神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是小儿最常见的外周神经系统恶性肿瘤,起病隐匿、恶性程度高,早期易发生转移^[1]。尽管许多新的治疗方法如造血干细胞移植等已被引进,但高危 NB 患者的存活率仍低于 40%^[2]。因此急需一种新的治疗方案来提高患儿存活率。免疫疗法与传统治疗方案相比具有更高的特异性和更小的毒性,可以有效清除肿瘤细胞,并降低肿瘤复发。本文将对 NB 免疫治疗进展进行综述。

一、NB 的免疫逃逸

尽管众多研究表明免疫系统能够识别 NB,但大多数患者的免疫应答不足,免疫系统无法清除肿瘤。造成免疫逃逸的机制有:①肿瘤抗原表达水平低,使肿瘤抗原无法被呈递给 T 细胞。②许多恶性肿瘤患儿体内存在调节性 T 淋巴细胞(regulatory T lymphocytes, Treg)能够抑制免疫应答,是周围性免疫耐受的的决定性介质,且在肿瘤中的数量有所上升^[3]。③恶性肿瘤分泌的抑制性细胞因子可以导致天然杀伤(natural killer, NK)细胞受体或配体的系统性下调,进一步导致 NK 细胞抵抗^[4]。

二、免疫治疗

(一)被动免疫疗法

神经节苷脂 GD2 几乎在所有 NB 细胞的细胞膜上充分表达,且它的表达很稳定,已作为 NB 免疫治疗的靶点^[5]。有 3 个抗-GD2 单克隆抗体(monoclonal antibodies, mAbs)应用于儿童 NB:鼠源性 mAbs 3F8、14G2a 和人鼠嵌合 mAb ch14.18。

3F8 抗体通过吞噬细胞介导的抗体依赖细胞细胞毒作用杀死 NB 细胞。粒细胞巨噬细胞集落刺激因子能够促进这一过程。Kramer 等^[6]对 131I-3F8 脑室内注射的毒性,药代动力学和剂量学进行了 I 期临床试验。15 名 GD2 阳性的中枢神经系统或软脑膜肿瘤患者接受了示踪剂量(1~2 mCi)和治疗剂量(10~20 mCi)的 131I-3F8 脑室内注射。结果

脑脊液的总吸收剂量通过血样分析为 1.12~12.00 Gy,半衰期为 3~12.9 h。毒性作用包括自限性头痛、发热和呕吐。当剂量达 20 mCi 时出现一过性颅内压升高和化学性脑膜炎。随访两名结束治疗后 3.5 年的患者无迟发性毒性反应,表明 131I-3F8 脑室内注射耐受性好,最大耐受剂量为 10 mCi。

NB 患者术后复发,应用免疫细胞因子 hu14.18-IL2 的免疫治疗,是将两个白细胞介素 2(interleukin-2, IL-2)分子融合到能识别 GD2 的 ch14.18 mAb 中。Osenga 等^[7]对 27 名 IV 期 NB 患者和 1 名黑色素瘤患者的 I 期临床试验表明,诱导免疫激活的剂量毒性是可以接受的,常见毒性反应有轻中度疼痛、发热、低血压等,均为暂时性,且能够完全缓解。最大耐受量为每日 12 mg/m²。Shusterman 等^[8]对 39 名患复发或难治性 IV 期 NB 患儿进行了 II 期临床试验,连续 3 d 以每日 12 mg/m² 注射 hu14.18-IL2,每 28 d 重复 1 次,通过标准的放射学诊断(第 1 组 12 例)和骨髓组织学检查(第 2 组 23 例)进行疾病评估。结果第 2 组有 5 名患者获得完全缓解。在 IL-2 导致的一过性淋巴细胞减少后,出现与免疫激活相一致的淋巴细胞增多。多数毒性反应在停药后几天内缓解。表明应用免疫细胞因子与 hu14.18, IL-2 作为独立治疗分子相比,对高危 NB 患儿可获得更强的治疗效果。对于给药方法,Johnson 等^[9]的实验表明,瘤内注射比经鼠尾静脉注射可获得更高的药物浓度。

(二)主动免疫疗法

1. 细胞因子疗法:许多细胞因子在 NB 模型中具有抗肿瘤作用,这种治疗效果多是由于 NK 细胞或细胞毒性 T 细胞的应答,但有些细胞因子也会作用于肿瘤细胞,促进主要组织相容性复合物的产生和肿瘤抗原的表达。IL-2 可增强已产生的特定 T 细胞抗体,加强对肿瘤组织的破坏。IL-27 能够诱导肿瘤特异性细胞毒性 T 淋巴细胞的产生,具有抗增值和抗血管生成的作用^[10]。Salcedo 等^[11]研究 IL-27 和 IL-2 联合治疗 NB 转移瘤的抗肿瘤效果;将过度表达 IL-27 的 TBJ NB 细胞系,注入 A/J 小鼠

体内制作成转移性 TBJ-IL-27 小鼠模型。分别在 5~9、12~16、19~23、和 26~30 天接受 IL-2 治疗(10 只),与不接受 IL-2 治疗(10 只)者对比,获得肿瘤消退的比例分别为 90% 和 40%。对小鼠脑、脾骨髓的研究表明:IL-27 和 IL-2 联合应用,在治疗 NB 骨髓转移中促进肿瘤消退的作用比 IL-27 单独应用要大得多。对小鼠再次皮下注射 TBJ 肿瘤细胞,证明了特异性免疫记忆反应的产生。表明 IL-27 和 IL-2 在广泛转移性 NB 小鼠中,可以协同诱导肿瘤消退和长期存活。

2. 树突细胞疗法:成熟树突细胞(dendritic cells, DCs)可通过抗原提呈作用活化初始 T 细胞。仙台病毒属于副粘病毒,具有不分段的负链 RNA 基因组,能够将基因转移至 DCs^[12]。重组仙台病毒(recombinant Sendai virus, rSeV)能够介导基因转移和表达,避免宿主细胞基因突变继发恶变。Komaru 等^[13]用删除 F 基因的 rSeV(rSeV/dF)转染 DCs,用绿色荧光蛋白标记,制作成 DC-rSeV/dF-GFP,经 A/J 鼠尾静脉注射。2 d 后给小鼠注射 c1300 NB 细胞。见到脾细胞中 NK 细胞的活性在 DC-rSeV/dF-GFP 注射 2 d 后出现显著升高,达到 c1300 NB 肺转移和广泛转移的肿瘤结节中几乎完全抑制的作用。51Cr 释放法对小鼠脾细胞的研究表明,该方法抗转移效果能够维持 3 个月以上,甚至当 DCs 已经从肺和免疫系统相关器官中清除后,这种效果依然存在。这些结果表明经过病毒激活的 DCs 有持续作用,提示了一种通过 DCs 的免疫方法治疗进展性肿瘤。

3. DNA 疫苗:采用 DNA 进行免疫,可使注射部位产生 DNA 所编码的蛋白质,激活内在免疫反应和肿瘤抗原,临床前模型的研究证明是一种十分有效的抗肿瘤免疫方式。通过 CD25 + Treg 的抑制,能增强疫苗诱导的抗 NB 免疫反应^[14]。Zheng 等^[15]将 A/J 鼠随机分为 6 组,每组 5 只,AGN2a 为 NB 细胞系,将包含 CD80、CD86、CD54 和 CD137L 四种协同刺激分子基因的质粒转染 AGN2a 制作成 AGN2a-4p 疫苗。第 II、IV、VI 组在免疫前 3 d 用抗-CD25 mAb 阻断 Treg,第 III~VI 组分别用 AGN2a、AGN2a-4p 每周 2 次进行免疫。在第 2 次免疫 5 d 后,收集小鼠血清。免疫鼠的抗-AGN2a IgG 抗体滴度高于第 I 组(阴性对照)和第 II 组(仅有 Treg 阻断)。第 V 组(AGN2a-4p 免疫)和第 VI 组(AGN2a-4p 免疫 + Treg 阻断)抗体滴度高于第 III 组(AGN2a 免疫组)和第 IV 组(AGN2a 免疫 + Treg 阻断组),提示协同刺激分子的表达能够有效诱导抗 AGN2a 免疫。此外

第 IV 组抗体滴度高于第 III 组,第 VI 组高于第 V 组,进一步确定了 CD25 + Treg 的抑制能够促进疫苗诱导的免疫反应。

NB 的一个重要标记物是酪氨酸羟化酶(tryptophan hydroxylase, TH),它是催化儿茶酚胺生物合成的首要酶,且在非神经元组织中表达受到限制。IL-12 在效应和记忆 CD8 + T 细胞分化中发挥重要作用,该细胞因子还能够增强 CD8 + T 细胞对肿瘤的亲和力。Huebener 等^[16]在 67 例 NB 样本中,观察到稳定的 TH 基因呈高表达,但与临床分期无关。他们用 pCMV-F3Ub 质粒编码制作了 hTHcDNA(A)和 hTH3 minigene(B)两种 DNA 疫苗, pBUD-CE4.1 质粒和单链 IL-12 编码制作了 hTH-scIL12(C)DNA 疫苗,验证对 NXS2 NB 小鼠原发肿瘤及继发转移灶的治疗和预后。结果口服 A、B 疫苗使原发肿瘤减小 50%,并在大部分小鼠中预防了肿瘤的肝转移。IL-12 的引入并没有增强抗肿瘤效能,考虑是由于使用方式不同,因为瘤内注射 IL-12 具有抗肿瘤作用^[17]。对存活小鼠在第 87 天重复注射 2×10^6 NXS2 细胞,出现原发肿瘤生长速度和质量降低,提示了其诱导记忆免疫应答的作用,表明 TH DNA 疫苗能对抗 NB,开创了一种新的免疫治疗方法。

尽管许多免疫治疗方法在动物模型的研究获得了成功,但仅少数达到临床试验阶段。至今,多数免疫治疗方法都采用被动免疫反应。尽管主动免疫反应能够获得更长久的免疫效应和机体保护作用,但这种方法的实现困难,尤其是对于已接受高剂量免疫抑制化疗的 NB 患儿。相信随着对 NB 研究的深入,免疫疗法将在 NB 的治疗中展现更广阔的前景。

参考文献

- 1 Schleiermacher G, Michon J, Huon I, et al. Chromosomal CGH identifies patients with a higher risk of relapse in neuroblastoma without MYCN amplification[J]. Br J Cancer, 2007, 97(2):238-246.
- 2 Cohn SL, Pearson AD, London WB, et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG Task Force report[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(2):289-297.
- 3 Gil M, Bieniasz M, Wierzbicki A, et al. Targeting a mimotope vaccine to activating Fcγ receptors empowers dendritic cells to prime specific CD8 + T cell responses in tumor-bearing mice[J]. J Immunol, 2009, 183(10):6808-

- 6818.
- 4 Altwater B, Landmeier S, Pscherer S, et al. 2B4 (CD244) signaling by recombinant antigen-specific chimeric receptors costimulates natural killer cell activation to leukemia and neuroblastoma cells[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(15): 4857-4866.
 - 5 Wierzbicki A, Gil M, Ciesielski M, et al. Immunization with a mimotope of GD2 ganglioside induces CD8 + T cells that recognize cell adhesion molecules on tumor cells[J]. J Immunol, 2008, 181(9): 6644-6653.
 - 6 Kramer K, Humm JL, Souweidane MM, et al. Phase I study of targeted radioimmunotherapy for leptomeningeal cancers using intra-Ommaya 131-I-3F8[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(34): 5465-5470.
 - 7 Osenga KL, Hank JA, Albertini MR, et al. A phase I clinical trial of the hu14.18-IL2 (EMD 273063) as a treatment for children with refractory or recurrent neuroblastoma and melanoma: a study of the Children's Oncology Group[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(6): 1750-1759.
 - 8 Shusterman S, London WB, Gillies SD, et al. Antitumor activity of hu14.18-IL2 in patients with relapsed/refractory neuroblastoma: a Children's Oncology Group (COG) phase II study[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(33): 4969-4975.
 - 9 Johnson EE, Lum HD, Rakhmilevich AL, et al. Intratumoral immunocytokine treatment results in enhanced antitumor effects[J]. Cancer Immunol Immunother, 2008, 57(12): 1891-1902.
 - 10 Shinozaki Y, Wang S, Miyazaki Y, et al. Tumor-specific cytotoxic T cell generation and dendritic cell function are differentially regulated by interleukin 27 during development of anti-tumor immunity[J]. Int J Cancer, 2009, 124(6): 1372-1378.
 - 11 Salcedo R, Hixon JA, Stauffer JK, et al. Immunologic and therapeutic synergy of I-27 and IL-2: enhancement of T cell sensitization, tumor-specific CTL reactivity and complete regression of disseminated neuroblastoma metastases in the liver and bone marrow[J]. J Immunol, 2009, 182(7): 4328-4338.
 - 12 Yoneyama Y, Ueda Y, Akutsu Y, et al. Development of immunostimulatory virotherapy using non-transmissible Sendai virus-activated dendritic cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 355(1): 129-135.
 - 13 Komaru A, Ueda Y, Furuya A, et al. Sustained and NK/CD4 + T cell-dependent efficient prevention of lung metastasis induced by dendritic cells harboring recombinant Sendai virus[J]. J Immunol, 2009, 183(7): 4211-4219.
 - 14 Johnson BD, Jing W, Orentas RJ. CD25⁺ regulatory T cell inhibition enhances vaccine-induced immunity to neuroblastoma[J]. J Immunother, 2007, 30(2): 203-214.
 - 15 Zheng J, Jing W, Orentas RJ. Discovery of YB-1 as a new immunological target in neuroblastoma by vaccination in the context of regulatory T cell blockade[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2009, 41(12): 980-990.
 - 16 Huebener N, Fest S, Hilt K, et al. Xenogeneic immunization with human tyrosine hydroxylase DNA vaccines suppresses growth of established neuroblastoma[J]. Mol Cancer Ther, 2009, 8(8): 2392-2401.
 - 17 Sabel MS, Arora A, Su G, et al. Generation of a tumor-specific systemic response after intratumoral injection of IL-12 and IL-18-loaded polylactic acid microspheres[J]. J Immunother, 2007, 30(8): 808-816.

(上接第 285 页)

则,密度不均匀混杂肿块,体积较前缩小,CT 值仍可高于 30 Hu;慢性期表现为不均匀肿块,边缘壁薄钙化^[4]。

NAH 一般预后良好,保守治疗效果良好。对保守治疗不能控制者,如大出血休克、血肿破裂伴肾上腺急性出血、血肿并感染等需采取手术治疗,控制出血和感染,挽救生命。

参考文献

- 1 Abduat, Krissvm, Badahs, et al. Adrenal hemorrhage in a newborn[J]. Am J Perinatol, 2009, 26(8): 553-557.
- 2 Nihal Demirel, Ahmet Yağmur Baş, Ayşegül Zenciroğlu, et al. Adrenal bleeding in neonates; report of 37 cases[J]. The Turkish Journal of Pediatrics, 2011, 53: 43-47.
- 3 Ilke Mungan Akın, Yılmaz Tabel, Serdal Güngör, et al. Neonatal adrenal hemorrhage as a complication of traumatic vaginal delivery: diagnosis and follow-up with ultrasonography[J]. Journal of Inonu University Medical Faculty, 2008, 15(2): 109-111.
- 4 邵剑波,王承缘,沈杰峰. 新生儿肾上腺出血的影像学诊断[J]. 临床放射学杂志, 1999, 18(3): 305-306.
- 5 Kovoacs K A, Lam Y M, Bilateral massive adrenal hemorrhage. Assessment of putative risk factors by the case control method[J]. Medicine, 2001, 80(1): 45-46.
- 6 Umar Amin Qureshi, Nisar Ahmad, Akhter Rasool, et al. Neonatal adrenal hemorrhage presenting as late onset neonatal jaundice[J]. Journal of Indian Association of Pediatric Surgeons, 2009, 14: 221-223.
- 7 O'Neil JM, Hendry GM, Mackinlay GA. An unusual presentation of neonatal adrenal hemorrhage[J]. Eur J Ultrasound, 2003, 16: 261-264.