

文章编号: 1004-0374(2011)05-0482-05

SOCS1基因修饰树突状细胞在肿瘤治疗中的研究进展

远 洋¹, 王雪峰^{2*}, 李云霞¹, 穆 兰¹, 潘欣宇¹

(1 辽宁医学院, 锦州 121001; 2 辽宁医学院附属第一医院, 锦州 121001)

摘 要: 树突状细胞是功能最强的抗原提呈细胞, 是启动、调节及维持免疫应答的核心环节, 以树突状细胞为基础的肿瘤疫苗被认为是最具潜能的肿瘤免疫治疗手段。细胞因子信号通路抑制因子 1(suppressor of cytokine signaling1, SOCS1) 是细胞因子信号通路抑制因子 (suppressor of cytokine signaling, SOCS) 家族的重要成员, 广泛参与树突状细胞的发生、成熟和活化, 具有负调控树突状细胞功能的重要作用。SOCS1 沉默的树突状细胞能够促进自身成熟并增强其诱导的 T 细胞的抗肿瘤活性。现就国内外关于树突状细胞功能研究及基因修饰的肿瘤疫苗临床试验作一综述, 以期对未来的研究有所帮助。

关键词: 细胞因子信号转导抑制因子 1; 树突状细胞疫苗; 肿瘤治疗

中图分类号: R392; R730.52 **文献标志码:** A

Progress of study on SOCS1 silent DC vaccine for oncotherapy

YUAN Yang¹, WANG Xue-Feng^{2*}, LI Yun-Xia¹, MU Lan¹, PAN Xin-Yu¹

(1 Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, China; 2 Department of Otolaryngology, The First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, China)

Abstract: Dendritic cell is the most potent professional antigen-presenting cell, which displays an extraordinary capacity to induce, sustain and regulate immune responses. For this reason, DC vaccine is considered the most potential tumor immune therapy. Suppressor of cytokine signaling 1(SOCS1) is an important member of SOCS family, which is irreplaceable in the regulation of DC activation, development, and differentiation. SOCS1 represents an inhibitory control mechanism for DC antigen presentation. SOCS1 silent DC could promote DC maturity and enhance the antitumor response of T cell. This paper overviews the current status of dendritic cell function studies and clinical trials on gene-modified DC vaccine, for the purpose of helping the future research.

Key words: suppressor of cytokine signaling 1; DC vaccine; oncotherapy

近年来, 树突状细胞 (dendritic cell, DC) 的发现使肿瘤免疫治疗在经历了过继免疫治疗阶段后, 进入了主动免疫疫苗研究的新阶段。以 DC 为基础的肿瘤疫苗研究更显现出其重要价值和临床应用潜力。细胞因子信号通路抑制因子 (suppressor of cytokine signaling1, SOCS1) 是先天和适应性免疫的关键生理调节因子, 广泛参与各个生物学过程。SOCS1 是 DC 的免疫负反馈调节节点。

1 SOCS1与SOCS家族

SOCS 是细胞因子信号转导通路 JAK-STAT (janus kinase-signal transduction and activators of

transcription) 的一个负性调控分子家族。这个超家族由 SOCS1~SOCS7 和 CIS(cytokine-inducible SH2 containing protein) 等 8 种具有免疫调节作用的胞质分子组成^[1](图 1)。不同种属之间的同一 SOCS 家族成员在进化上比较保守, 在结构上比较相似。每个成员都有 1 个中央 SH2(Scr-homology 2) 域、1 个长度可变的 N 端结构域和 1 个位于 C 端包含 40 个

收稿日期: 2010-12-04; 修回日期: 2011-03-03

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(20082180)

*通信作者: E-mail: jzswang@126.com; Tel: 13700168988

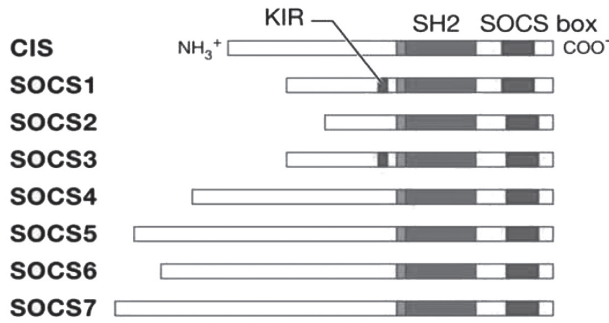


图1 SOCS家族成员及结构

氨基酸的 SOCS 盒。SH2 结构域的功能是招募泛素转移酶系统, 调节与 SOCS 家族成员相关的蛋白质降解。SOCS 调节 JAK-STAT 信号转导通路的方式^[2]如下: (1) 抑制 STAT 与受体的结合; (2) 通过其 SH2 结构域与靶蛋白的磷酸酪氨酸结合阻断信号转导; (3) 使 JAK 激酶的 N 末端失活而抑制信号转导; (4) 通过 SOCS 盒促进所结合蛋白发生蛋白酶体依赖途径的降解 (图 2)。SOCS1 中央 SH2 域的上游含有一个激酶抑制区 (kinase inhibitory region, KIR), 该抑制区可作为酶作用底物类似物与 JAKs 的催化位点结合, 当细胞因子与细胞表面的相应受体结合后, SOCS1 通过其 SH2 功能区和 KIR 一起直接地与 JAKs (JAK1~JAK3、TYK2) 结合抑制其酪氨酸激酶活性, 进而导致 JAKs 不能招募 STATs 使其磷酸化, 最终使 JAK-STAT 信号转导通路受到抑制^[3]。

SOCS1 作用不限于抑制典型的 JAK-STAT 信号通路, 还可以调节多种细胞因子 (IFN- α/γ 、IL-4、

IL-12 和 IL-15 等) 所介导的不同的信号通路, 从而参与调节细胞的多种生物效应。Zimmerer 等^[4]证实了 SOCS 蛋白对 IFN- α 的调节作用。SOCS1^{-/-}小鼠 IFN- α 的抗肿瘤效应显著增强, 约 70% 黑色素瘤荷瘤小鼠长期存活, 同时没有观察到任何副作用, 而且 SOCS1^{-/-}小鼠体内 DC 含量明显升高。正常淋巴细胞中 IFN- α 也呈剂量依赖性的在转录及蛋白质水平迅速诱导 SOCS1、SOCS2、SOCS3 和 CIS 表达。SOCS1 是 IL-15 信号的一个负调控因子, IL-15 缺陷 DC 在对 LPS 应答时 IL-12 和 IFN- γ 的产生降低; IL-15 超级信号则可促进 SOCS1 缺陷 DC 产生 IFN- γ 。SOCS1 不仅是细胞因子的调节者, 且在控制 T 细胞分化和决定细胞命运方面起重要作用。SOCS1 和 SOCS3 是 Th1 和 Th2 调节的重要因素。SOCS1 能够抑制 STAT6 的活化, 从而负调节 IL-4 诱导的 Th2 细胞扩增; SOCS3 能够阻止 IL-12 依赖的 STAT4 活化, 促进 Th2 细胞分化^[5]。T 细胞分化为 Th1 时, SOCS1 的表达可比分化为 Th2 时高出 2 倍; 分化为 Th2 的细胞则表达 SOCS3, 其表达量可比分化为 Th1 的细胞高出 23 倍。当 IL-12 诱导 Th2 细胞产生高水平 STAT4 而向 Th1 极化时, 即抑制 Th2 表达 SOCS3, 而 IL-4/STAT6 信号则使 Th2 表达 SOCS1。因此, 不同的 SOCS 成员可作为 Th1/Th2 极化细胞的标记, 也是免疫调节治疗的靶分子。

2 SOCS1修饰DC疫苗介导的肿瘤治疗

近年来的研究发现, SOCS1 在 DC 介导的免疫反应中起着不可忽视的抑制作用, 是 DC 活化或过

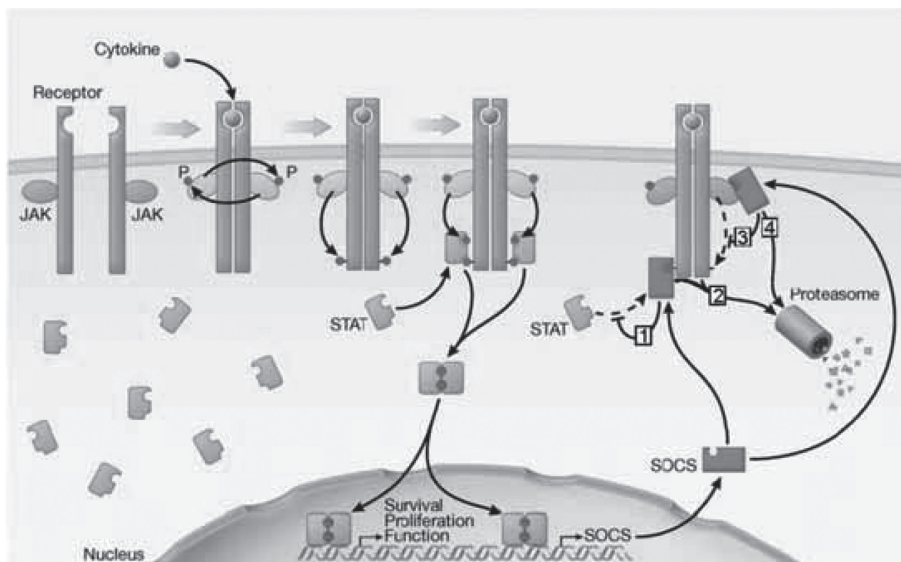


图2 SOCS负调控JAK-STAT信号转导模式图

度活化 T 细胞的第三信号。SOCS1 缺陷的 DC 在体内均能诱导超强的 Th1 型反应，使初始型 T 细胞产生更高水平的 IFN- γ ，诱导出更有效的抗肿瘤免疫^[6]。成熟 DC 中 SOCS1 限制炎性细胞因子信号，能严格调节 CTL 反应的规模，延长 DC 的寿命，支持成熟后抗原提呈 DC 调节的需要。Pearce 等^[7]研究表明，与 IFN- γ 表达调节相关的转录因子 Eomes 可能是 SOCS1 缺陷 DC 产生大量 IFN- γ 的关键分子。Flowers 等^[8]用抑制酪氨酸酶的肽段 (简称 Tkip) 作为 SOCS1 的模拟物，此模拟物可以与 JAK2 的磷酸化位点结合，从而抑制 IFN- γ 信号转导通路，进一步研究发现 Tkip 是通过抑制过度活化的 STAT3，从而抑制前列腺癌细胞的增殖。大量的实验研究资料均证明，SOCS1 在肿瘤的发生发展过程中起着重要的作用。

肿瘤细胞与 DC 融合、肿瘤来源的 RNA 冲击、肿瘤抗原致敏、基因转染等成为以 DC 为基础的肿瘤免疫治疗有效途径^[9-10]。修饰后 DC 体内回输后可诱导出特异性抗肿瘤免疫应答，在动物实验和早期临床实验中取得了极具价值的结果^[11]。黑色素瘤^[12]、非小细胞性肺癌、结直肠癌^[13]等已进入 I ~ II 期临床试验，肾癌、肝癌、前列腺癌^[14]、多形性恶性胶质瘤等也先后完成了 II ~ III 期临床研究 (图 3)。应用基因转染技术将目的基因导入 DC 而获得的 DC 疫苗具有强大的免疫活性，能显著提高机体免疫系统对肿瘤细胞的识别或杀伤能力^[15-16]。Frolkis

等^[17]把人的端粒酶反转录酶基因插入质粒和腺病毒，经转染的 DC 疫苗不同程度地激起了 T 细胞反应，而且用腺病毒作为载体的 DC 激起的 CTL 反应效率更高。Hernandez 等^[18]利用转染粒 - 单集落刺激因子碳酸酐酶 -9 目的基因的人 DC 免疫荷瘤的 SCID 鼠，使表达粒单集落刺激因子碳酸酐酶 -9 的肾癌细胞系 R11 所导致的肿瘤生长受到显著抑制。Medin 等^[19]以逆转录病毒为载体，将 PSA 和 PSMA 基因转染鼠源 DC，结果显示制备的转基因 DC 疫苗具有诱导特异 T 淋巴细胞免疫的功能。Ogawa 等^[20]通过试验证明 IL-2 基因转染脾脏获得的 DC 和肿瘤细胞制备融合细胞能够诱导出抗肺转移的疗效。Bontkes 等^[21]将 TAA 和 IL-12 mRNA 共转染成熟 DC，体外实验证明 DC 疫苗组 CTL 和自然杀伤细胞活性明显增加。

随着分子生物学的发展，小分子干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 的出现给基因抑制水平的研究提供了新工具，也给肿瘤生物治疗研究带来新希望。RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 是存在于动植物细胞中的由双链 RNA 介导的序列特异性 mRNA 降解过程，具有高度特异性、高效性、高稳定性、低毒性等优点，已经成功地阻断了多种基因的表达，逆转了疾病进展过程，成为研究基因功能的重要工具^[22-23]。慢性白血病肿瘤抗原 (CML28) 是特异性抗原免疫疗法的靶点，Zhou 等^[24]利用 SOCS1 是 DC 抗原提呈的抑制蛋白这一特点，

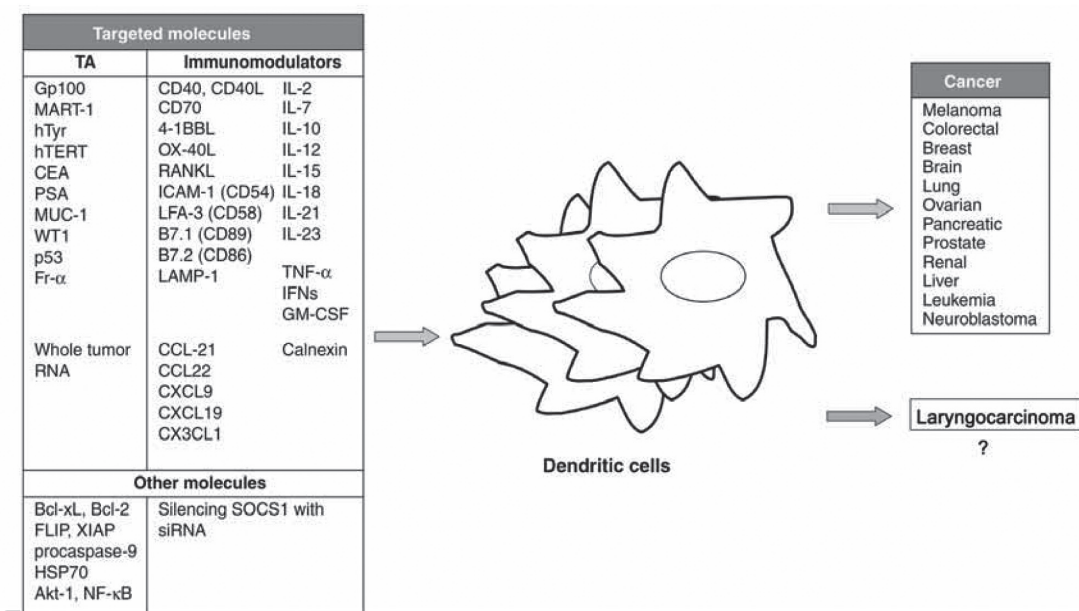


图3 DC疫苗介导的肿瘤治疗

构建了CML28树突状细胞核酸疫苗, 他们把CML28的DNA序列和SOCS1的RNAi序列共转染到DC中, 结果显示SOCS1沉默后DC高表达辅助刺激分子, CML28抗原特异性的CTL反应比没有沉默SOCS1基因的明显增强。Shen等^[25]报道, 通过siRNA技术使SOCS1在DC中沉默, 可以增强抗原特异性的抗肿瘤免疫; 与对照组的DC相比, 经过抗原肽段和SOCS1-siRNA修饰的DC可以明显地激活抗原特异的CD8⁺T细胞的增殖, 对LPS及IFN- γ 的应答也更强。采用小分子干扰RNA技术沉默SOCS1的表达, 可使DC的抗原提呈能力显著提高, 产生更强的特异性抗肿瘤细胞免疫。因此, siRNA技术在以DC为核心的肿瘤生物治疗研究中前景广阔^[26]。

3 展望

DC疫苗是肿瘤治疗的第四模式^[27], 是当今癌症治疗方案的不可估量的补充, 基因修饰的DC疫苗将会是一种很有实用前景的抗肿瘤方案^[28]。将DC疫苗与手术、化疗、放疗及移植等手段联合应用, 可能是未来肿瘤免疫治疗的发展方向。喉癌严重威胁着人们的健康, 其发病率在我国占全身恶性肿瘤的1.2%~1.6%, 处于耳鼻咽喉各部分恶性肿瘤的第三位。在喉癌的病理类型中, 以鳞状细胞癌最为常见, 一般占全部喉恶性肿瘤的95%~99%^[29]。目前, 喉癌的临床治疗仍然以手术治疗为主, 辅以放射治疗及化学治疗^[30]。由于其容易复发或转移, 而且放、化疗的杀伤作用缺乏针对性, 长期治疗会损伤机体的免疫系统及各器官组织的功能。DC应用于喉癌的研究尚处于初级阶段, SOCS1基因沉默的DC疫苗能否特异性增强其抗喉癌的免疫效应国内外未有报道, 本课题组初步设想采用siRNA沉默DC中SOCS1的表达, 使之提呈抗原的能力显著提高, 从而有效激发针对喉癌的特异免疫应答, 为喉癌的临床治疗提供新思路。SOCS1修饰DC制备的肿瘤疫苗是对喉癌生物治疗方案的崭新探索, 必将为喉癌的治疗带来新的希望。

[参 考 文 献]

- [1] Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(6): 454-65
- [2] Palmer DC, Restifo NP. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) in T cell differentiation, maturation, and function. *Trends Immunol*, 2009, 30(12): 592-602
- [3] Waiboci LW, Ahmed CM, Mujtaba MG, et al. Both the suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS-1) kinase inhibitory region and SOCS-1 mimetic bind to JAK2 autophosphorylation site: implications for the development of a SOCS-1 antagonist. *J Immunol*, 2007, 178(8): 5058-68
- [4] Zimmerer JM, Lesinski GB, Kondadasula SV, et al. IFN- α -induced signal transduction, gene expression, and antitumor activity of immune effector cells are negatively regulated by suppressor of cytokine signaling proteins. *J Immunol*, 2007, 178(8): 4832-45
- [5] Bottcher I, Bellinghausen I, Konig B, et al. Different regulation of T helper 1- and T helper 2-promoting cytokine signalling factors in human dendritic cells after exposure to protein versus contact allergens. *Immunology*, 2008, 123(1): 139-44
- [6] Hanada T, Tanaka K, Matsumura Y, et al. Induction of hyper Th1 cell-type immune responses by dendritic cells lacking the suppressor of cytokine signaling-1 gene. *J Immunol*, 2005, 174(7): 4325-32
- [7] Pearce EL, Mullen AC, Martins GA, et al. Control of effector CD8⁺ T cell function by the transcription factor eomesodermin. *Science*, 2003, 302(5647): 1041-3
- [8] Flowers LO, Subramaniam PS, Johnson H M. A SOCS-1 peptide mimetic inhibits both constitutive and IL-6 induced activation of STAT3 in prostate cancer cells. *Oncogene*, 2005, 24(12): 2114-20
- [9] Schuler G. Dendritic cells in cancer immunotherapy. *Eur J Immunol*, 2010, 40(8): 2123-30
- [10] Sun JC, Pan K, Chen MS, et al. Dendritic cells-mediated CTLs targeting hepatocellular carcinoma stem cells. *Cancer Biol Ther*, 2010, 10(4): 368-75
- [11] Lepisto AJ, Moser AJ, Zeh H, et al. A phase I/II study of a MUC1 peptide pulsed autologous dendritic cell vaccine as adjuvant therapy in patients with resected pancreatic and biliary tumors. *Cancer Ther*, 2008, 6(B): 955-64
- [12] Eubel J, Enk AH. Dendritic cell vaccination as a treatment modality for melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2009, 9(11): 1631-42
- [13] Burgdorf SK. Dendritic cell vaccination of patients with metastatic colorectal cancer. *Dan Med Bull*, 2010, 57(9): B4171
- [14] Rozkova D, Tiserova H, Fucikova J, et al. FOCUS on FOCIS: combined chemo-immunotherapy for the treatment of hormone-refractory metastatic prostate cancer. *Clin Immunol*, 2009, 131(1): 1-10
- [15] Eksioglu EA, Eisen S, Reddy V. Dendritic cells as therapeutic agents against cancer. *Front Biosci*, 2010, 15(1): 321-47
- [16] Lapteva N, Aldrich M, Weksberg D, et al. Targeting the intratumoral dendritic cells by the oncolytic adenoviral vaccine expressing RANTES elicits potent antitumor immunity. *J Immunother*, 2009, 32(2): 145-56
- [17] Frolkis M, Fischer MB, Wang Z, et al. Dendritic cells reconstituted with human telomerase gene induce potent cytotoxic T-cell response against different types of tumors. *Cancer Gene Ther*, 2003, 10(3): 239-49
- [18] Hernandez JM, Bui MH, Han KR, et al. Novel kidney

- cancer immunotherapy based on the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and carbonic anhydrase IX fusion gene. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(5): 1906-16
- [19] Medin JA, Liang SB, Hou JW, et al. Efficient transfer of PSA and PSMA cDNAs into DCs generates antibody and T cell antitumor responses *in vivo*. *Cancer Gene Ther*, 2005, 12(6): 540-51
- [20] Ogawa F, Iinuma H, Iwasaki K, et al. Fusion vaccine therapy by IL-2-gene-transduced dendritic cells and tumor cells. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2005, 32(11): 1580-2
- [21] Bontkes HJ, Kramer D, Ruizendaal JJ, et al. Tumor associated antigen and interleukin-12 mRNA transfected dendritic cells enhance effector function of natural killer cells and antigen specific T-cells. *Clin Immunol*, 2008, 127(3): 375-84
- [22] Aagaard L, Rossi JJ. RNAi therapeutics: principles, prospects and challenges. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59(2-3): 75-86
- [23] Kumar LD, Clarke AR. Gene manipulation through the use of small interfering RNA (siRNA): from *in vitro* to *in vivo* applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59(2-3): 87-100
- [24] Zhou H, Zhang D, Wang Y, et al. Induction of CML28-specific cytotoxic T cell responses using co-transfected dendritic cells with CML28 DNA vaccine and SOCS1 small interfering RNA expression vector. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 347(1): 200-7
- [25] Shen L, Evel-Kabler K, Strube R, et al. Silencing of SOCS1 enhances antigen presentation by dendritic cells and antigen-specific anti-tumor immunity. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(12): 1546-53
- [26] Alshamsan A, Haddadi A, Hamdy S, et al. STAT3 silencing in dendritic cells by siRNA polyplexes encapsulated in PLGA nanoparticles for the modulation of anticancer immune response. *Mol Pharm*, 2010, 7(5): 1643-54
- [27] Rolinski J, Hus I. Dendritic-cell tumor vaccines. *Transplant Proc*, 2010, 42(8): 3306-8
- [28] Shurin MR, Gregory M, Morris JC, et al. Genetically modified dendritic cells in cancer immunotherapy: a better tomorrow? *Expert Opin Biol Ther*, 2010, 10(11): 1539-53
- [29] Gao C, Pan J, Lu W, et al. *In vitro* evaluation of paclitaxel-loaded MPEG-PLGA nanoparticles on laryngeal cancer cells. *Anticancer Drugs*, 2009, 20(9): 807-14
- [30] Prince A, Aguirre-Ghizo J, Genden E, et al. Head and neck squamous cell carcinoma: new translational therapies. *Mt Sinai J Med*, 2010, 77(6): 684-99