

DOI: 10.13376/j.cbls/20210124

文章编号: 1004-0374(2021)09-1125-08

基于树突状细胞的抗肿瘤疫苗研究进展

高丽^{1,2}, 李海霞^{1,2}, 施维^{1,2}, 杨晓梅^{1,2*}, 卢小玲^{2,3*}

(1 广西医科大学基础医学院, 南宁 530021; 2 广西国际纳米抗体研究中心, 南宁 530021; 3 广西医科大学附属口腔医学院, 南宁 530021)

摘要: 树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 是一类多功能抗原提呈细胞, 在固有免疫和适应性免疫应答的启动及调控中发挥着重要作用。目前, 大量研究表明机体可通过多种方式调动和调节 DC 的功能, 从而增强其抗肿瘤作用。其中, 以肿瘤抗原、肿瘤细胞裂解物或全肿瘤细胞作为刺激物致敏 DC 得到的 DC 疫苗, 在临床前研究中展示出了可观的抗肿瘤效应, 部分 DC 疫苗已进入临床试验阶段。该文将重点对基于 DC 的肿瘤疫苗制备方法、临床前及临床研究进展进行综述。

关键词: 树突状细胞; 疫苗; 抗肿瘤免疫

中图分类号: R392 **文献标志码:** A

Advance in antitumor vaccine based on dendritic cells

GAO Li^{1,2}, LI Hai-Xia^{1,2}, SHI Wei^{1,2}, YANG Xiao-Mei^{1,2*}, LU Xiao-Ling^{2,3*}

(1 School of Basic Medicine, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;
2 International Nanobody Research Center of Guangxi, Nanning 530021, China;
3 School of Stomatology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract: As a type of multi-functional antigen presenting cells, dendritic cells (DCs) play an essential role in the initial and regulation of the innate immunity and the adaptive immunity. At present, increasing studies have shown that the functions of DCs could be motivated and regulated by several methods to enhance its anti-tumor cells. Among them, DC vaccines stimulated by tumor antigen, tumor cell lysates or whole tumor cells as antigens have shown considerable anti-tumor efficacy in preclinical studies, and some DC vaccines have entered clinical trials. This article focuses on the preparation methods, preclinical and clinical research progress of DC-based antitumoral vaccines.

Key words: dendritic cells; vaccine; antitumoral immunity

树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 作为机体免疫应答的始动者, 在诱导机体产生免疫应答方面具有重要地位, 在抗肿瘤免疫中也发挥着重要的作用^[1-3]。目前认为, DC 主要通过三种免疫机制诱导 T 细胞对肿瘤细胞进行杀伤: (1) 通过抗原肽-主要组织相容性复合体 (peptide-major histocompatibility complex, pMHC) 将肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA) 提呈给 T 细胞; (2) 通过表面共刺激分子 (如 CD80 和 CD86) 激活 T 细胞; (3) 通过分泌多种促炎细胞因子 (如 IFN- γ 和 IL-12) 诱导初始 T 细胞向效应 T 细胞分化, 并使之激活^[4-5]。但是,

对于低表达 MHC- I 的肿瘤细胞, 其肿瘤抗原提呈能力减弱, 难以激活细胞毒性 T 细胞 (cytotoxic T lymphocytes, CTL) 对肿瘤细胞进行杀伤^[6]。为了向 T 细胞更好地提呈肿瘤抗原信息, DC 疫苗将肿瘤患者的 TAA (包括蛋白质、多肽或肿瘤裂解物等) 导入 DC, DC 对抗原进行加工处理后将抗原信息以

收稿日期: 2021-05-25; 修回日期: 2021-07-05

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFE0117300)

*通信作者: E-mail: luxiaoling@gxmu.edu.cn (卢小玲);
260718428@qq.com (杨晓梅)

pMHC 的形式表达于细胞表面^[7], 从而启动免疫应答(图1)。

目前, 根据疫苗的活性成分来源进行分类, DC 肿瘤疫苗制备主要有肿瘤抗原和肿瘤细胞裂解物致敏 DC、编码 TAA 基因的病毒载体感染 DC、肿瘤抗原的 mRNA 感染 DC、肿瘤细胞和 DC 融合等 4 种方法。基于 DC 疫苗的免疫疗法在肿瘤治疗中表现出了巨大的潜力, 自 90 年代首个 DC 疫苗问世以来, 截至 2021 年 5 月, 在国际临床试验官网 (www.clinicaltrials.gov) 检索“DC Vaccine”可查到 58 个临床试验在研项目, 其中针对黑色素瘤^[8-10]、胶质瘤^[11-12]、非小细胞肺癌^[13-14]的临床治疗试验较多(表 1), 这些 DC 疫苗在临床试验中稳定性好、安全性高, 值得进一步研究。

1 肿瘤抗原、肿瘤细胞裂解物致敏 DC 及其相关研究

用肿瘤抗原和肿瘤细胞裂解物致敏 DC 是最常用的制备 DC 疫苗的方法。未成熟的 DC 负载患者肿瘤抗原后分化为成熟的 DC, 然后将这些负载有抗原信息的 DC 回输患者体内, 可进一步激活机体的抗肿瘤免疫应答^[15]。例如, 将携带癌胚抗原 (carcino-embryonic antigen, CEA) 和黑色素瘤抗原 - A1 (MAGE-A1) 等抗原的 DC 疫苗回输非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者体内后, 机体可产生特异性的 CTL 反应^[16]。同样, Chen 等^[17]发现 LMP2A 致敏的 DC 能显著增加患者体内 CTL 数量, 特异性杀伤 LMP2A⁺靶细胞。其中, PROVENGE (Sipuleucel-T) 是美国 Dendreon 公司研发的 DC 疫苗, 是全球首个也是目前唯一获得美国 FDA 批准的肿瘤疫苗, 通过重组前列腺酸性磷酸酶 (PAP) 致

敏 DC 用于治疗转移性前列腺癌^[18]。临床研究发现, 该药物至少延长患者 4 个月平均生存时间, 为前列腺癌免疫治疗提供了一种新途径^[19]。但是, TAA 并非肿瘤细胞所特有, 难以诱导机体产生针对肿瘤细胞的特异性免疫应答^[20]。因此, 有研究者通过测序和质谱技术分析鉴定肿瘤细胞表面的新抗原 (neoantigens), 该抗原是由肿瘤突变或者是致癌病毒产生的异常蛋白或多肽, 是免疫系统识别肿瘤细胞的重要标志^[21]。比如, Zhang 等^[22]制备了负载新抗原的 DC 疫苗和新抗原与完全弗式佐剂 (complete Freund's adjuvant, CFA) 充分混合的新抗原佐剂疫苗。在小鼠肺癌模型中, 相比于新抗原佐剂疫苗, 新抗原致敏的 DC 疫苗能显著增加小鼠脾脏中中央记忆性 T 细胞 (CD8⁺CD44⁺CD62L⁺) 的比例, 且有效抑制肿瘤生长, 提示新抗原致敏的 DC 疫苗比新抗原佐剂疫苗具有更强地激活 T 细胞免疫应答的效应^[23]。

此外, 手术切除的肿瘤组织可以通过超声破碎、反复冻融等方式裂解, 作为活性成分制备 DC 疫苗, 能够更加有效地诱导抗肿瘤反应^[24]。如利用黑色素瘤细胞裂解物致敏 DC 生成的 TLPLDC 疫苗, 可以延缓小鼠黑色素瘤进展^[25]。Wang 等^[3]使用 Hepal-6 肿瘤细胞裂解物致敏的 DC 疫苗可有效抑制原位小鼠肝癌模型的肿瘤生长, 在 60 天的观察期内, 实验组小鼠存活率为 90%, 而未经治疗的小鼠存活率低于 5%。Aerts 等^[26]利用荷 AB1 瘤 BALB/C 小鼠和荷 AC29 瘤 CBA/j 小鼠两种间皮瘤模型, 评价肿瘤裂解物致敏 DC 疫苗对间皮瘤的治疗效果, 结果提示 DC 疫苗可延长两种荷瘤小鼠的生存期, 抑制肿瘤生长。此外, 肿瘤细胞裂解物致敏的 DC 疫苗的有效性也在临床试验中得到证实。OCDC 疫苗

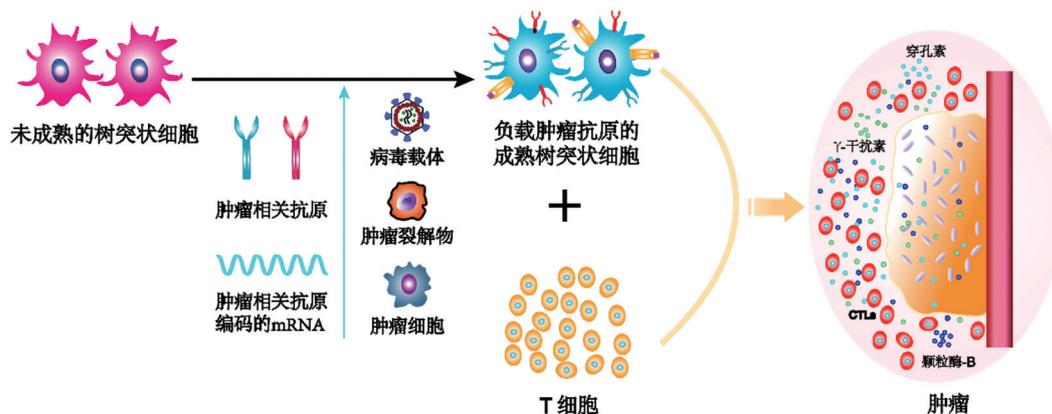


图1 DC疫苗激活抗肿瘤免疫机制示意图

表1 DC疫苗临床试验进展列表

刺激DC的抗原类型	NCT编号	肿瘤类型	干预药物及治疗措施	临床试验分期	试验人数	起止时间	
肿瘤相关抗原	NCT04567069	胃癌	MG-7抗原致敏的DC疫苗、CTL、信迪利单抗	I/II期	45	2020.09-至今	
	NCT04888611	复发性胶质母细胞瘤	GSC致敏的DC疫苗、卡瑞利珠单抗、安慰剂	II期	40	2021.07-至今	
	NCT03870113	宫颈上皮内瘤样病变	HPV16/18 E6/E7致敏DC疫苗	I期	80	2019.04-至今	
	NCT02063724	乳腺癌	HER-2致敏的DC疫苗	I期	15	2014.10-2017.09	
	NCT03730948	大肠癌	抗原肽致敏的mDC3疫苗	I期	12	2019.03-至今	
	NCT03592888	胰腺导管腺癌	抗原肽致敏的mDC3/8-KRAS疫苗	I期	12	2018.11-至今	
	NCT01189383	黑色素瘤III/IV期	IL-15致敏的DC疫苗	I/II期	20	2011.01-2016.12	
	NCT02049489	胶质母细胞瘤	CD133抗原肽致敏的DC疫苗	I期	20	2013.12-2017.03	
	NCT02543749	慢性粒细胞白血病	蛋白酶-3/AWT-1致敏的DC疫苗	I/II期	30	2014.07-至今	
	NCT02787915	肾细胞癌	MAGE-3/MAGE-4/survivin/her2/COX-2致敏的DC疫苗	I/II期	50	2016.09-2019.08	
	NCT00107211	乳腺癌	HER2/hcu肽致敏的DC疫苗、常规手术、新辅助治疗	I期	30	2005.01-2008.07	
	NCT00988312	多发性骨髓瘤、浆细胞瘤	骨髓瘤蛋白致敏的DC疫苗	I期	9	2002.03-2004.02	
	NCT01302496	恶性黑色素瘤III/IV期	TriMix-DC疫苗和伊匹单抗	II期	39	2011.02-2013.10	
	NCT02334735	黑色素瘤	NY-ESO-1和Melan-A/MART-1肽致敏的DC疫苗、Montamide疫苗、Poly-ICLC	II期	36	2015.07-至今	
	肿瘤细胞裂解物	NCT01132014	卵巢癌	肿瘤细胞裂解物致敏的DC疫苗、贝伐单抗、环磷酰胺、阿司匹林	I期	67	2010.05-2018.05
		NCT02487550	肾脏肿瘤	肿瘤细胞裂解物致敏的DC疫苗、IL-2/IFN- α	II期	1 200	2015.08-至今
		NCT02432378	卵巢癌	肿瘤细胞裂解物致敏的DC疫苗、顺铂、塞来昔布	I/II期	25	2015.09-至今
NCT01312376		卵巢癌	肿瘤细胞裂解物致敏的DC疫苗、贝伐单抗、环磷酰胺、氟达拉滨	I期	18	2011.03-2015.10	
NCT04201873		复发性胶质母细胞瘤	肿瘤细胞裂解物致敏的DC疫苗、派姆单抗、安慰剂、Poly ICLC	I期	40	2020.01-至今	
NCT01042366		转移性黑色素瘤	肿瘤细胞裂解物致敏的DC疫苗	II期	16	2002.10-2014.11	
NCT01671592		结直肠肿瘤	肿瘤细胞裂解物致敏的DC疫苗	I期	6	2013.01-2014.04	
NCT02678741		转移性黑色素瘤	TLPLDC疫苗	I/II期	45	2016.02-2019.10	
NCT02688673		小细胞肺癌	重组腺病毒编码MUC1和Survivin基因感染的DC疫苗	I/II期	30	2014.08-2016.08	
NCT01924156		肾细胞癌	重组腺病毒编码MUC1和Survivin基因感染的DC疫苗、CIK	I/II期	30	2013.06-2016.12	
病毒感染	NCT01622933	黑色素瘤	AdVTMM2/DC疫苗、IFN	I期	35	2012.06-2016.05	
	NCT02693236	食管癌	重组腺病毒编码MUC1和Survivin基因感染的DC疫苗、CIK	I/II期	30	2014.08-2016.08	
	NCT01042535	转移性乳腺癌	腺病毒p53转导的DC疫苗	I/II期	44	2009.12-2014.12	
	NCT00082641	乳腺癌	腺病毒p53转导的DC疫苗	I/II期	24	2004.01-2009.05	
	NCT04276896	2019冠状病毒感染	LV-SMENP-DC疫苗	I/II期	100	2020.03-至今	

表1 DC疫苗临床试验进展列表(续表)

刺激DC的抗原类型	NCT编号	肿瘤类型	干预药物及治疗措施	临床试验分期	试验人数	起止时间
编码抗原的mRNA	NCT00243529	黑色素瘤III/IV期	转染肿瘤抗原gp100和酪氨酸酶mRNA的DC疫苗	I/II期	64	2004.04-2009.02
	NCT02709616	胶质母细胞瘤	编码肿瘤抗原的mRNA致敏的DC疫苗(PERCELLVAC)	I期	10	2016.03-2020.03
	NCT02808364	胶质母细胞瘤	编码肿瘤抗原的mRNA致敏的DC疫苗(PERCELLVAC2)	I期	10	2016.06-2020.06
	NCT02808416	脑瘤、转移瘤	编码肿瘤抗原的mRNA致敏的DC疫苗(PERCELLVAC3)	I期	10	2016.06-2020.06
融合细胞	NCT03059485	急性髓细胞白血病	DC/AML融合细胞疫苗	II期	75	2017.06-至今

(autologous DCs pulsed with HOCl-oxidized autologous tumor lysate, OCDC vaccine) 是一种采用氧化自体全肿瘤细胞裂解物制备的自体 DC 疫苗^[27]。临床研究发现卵巢癌患者接种 OCDC 疫苗后, 血液中 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞快速增殖, 2 年总生存率达 100%^[28]。DCVax®-L 是英国 Northwest Biotherapeutics 公司研发的一种个体化恶性胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 肿瘤细胞裂解物致敏的 DC 疫苗^[29]。目前, 该疫苗已进入 III 期临床试验疗效评估阶段, 试验结果证实 DCVax®-L 联合替莫唑胺治疗 GBM 患者可以显著减少 GBM 的复发率, 延长患者的平均生存期^[30]。

2 编码TAA基因的病毒载体感染DC及其相关研究

利用病毒载体感染 DC 也是一种制备 DC 疫苗的方法。将编码 TAA 的基因插入慢病毒、重组痘病毒或腺病毒载体中, 病毒感染 DC 后, DC 可表达 TAA 且被诱导成熟^[31]。例如, 用含有 HIV-1 包膜蛋白 (Env gp140) 的痘病毒 (NYVAC-KC) 感染 DC 得到的疫苗, 能刺激机体产生针对 Env 靶点的特异性 CTL 免疫应答反应^[32]。为了检测病毒感染 DC 的疫苗在临床试验中的抗肿瘤效果, Di 等^[33] 利用携带 CEA 抗原基因的重组腺相关病毒 (recombinant adenoassociated virus, rAAV) 载体感染 DC, 制备了肿瘤抗原特异性 DC 疫苗 (rAAV-DC)。I 期临床试验纳入了 26 名符合条件的乳腺癌患者, 受试者表现出良好的耐受性, 6 例患者血清 CEA 水平下降。rAAV-DC 治疗的临床反应为 2 例患者出现部分缓解, 9 例患者病情稳定, 1 例轻度缓解^[33]。另一项 I / II 期临床试验通过装载有 p53 基因的腺病毒载体感染 DC, 产生的自体 DC 疫苗 (Adenovirus-p53 transduced dendritic cell vaccine, Ad.p53-DC) 与 1-D-甲基色氨酸 (1-D-methyl-tryptophan, indoximod) 联用, 结果显示 Ad.p53-DC 疫苗联合 indoximod 治疗乳腺癌患者安全性高、耐受性好, 中位无进展生存期为 13.3 周, 中位总生存期为 20.71 周^[34]。这些试验为探索 indoximod 联合 DC 疫苗治疗乳腺癌的安全性提供了理论依据, 未来的试验应该探索这种免疫治疗与药物治疗相结合的方法。

然而, 由于病毒感染 DC 效率低, 使得病毒载体将 TAA 导入 DC 制备 DC 肿瘤疫苗的发展受到了限制。Kim 等^[35] 设计了一种靶向 DC 表面受体 (DEC205) 的腺病毒载体, 该病毒可有效感染 DC,

感染率约 60%, 显著高于无靶向性的对照腺病毒载体。Sas 等^[36]通过基因修饰将 RGD(Arg-Gly-Asp, 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)序列插入到腺病毒载体上, 可增强病毒感染 DC 的能力。在含有 HER-2/neu 抗原基因的 RGD 腺病毒 (RGDAdVneu) 感染的 DC 中, 其 HER-2/neu 的表达量比 AdVneu 感染的 DC 中的表达量增加了大约 8 倍, 这表明 RGDAdVneu 对 DC 的感染比未经 RGD 修饰的原始 AdVneu 的感染效率高。采用 RGDAdVneu 感染的 DC 疫苗治疗荷乳腺癌小鼠, 小鼠血清 IgG 水平较对照组增加, 可以保护荷瘤小鼠免受肿瘤细胞攻击, 显著延缓乳腺癌生长^[36]。可以发现, 提高病毒感染 DC 的效率能够显著提高 TAA 导入 DC 的成功率, 未来仍需要在这方面更进一步探索。

3 肿瘤抗原的 mRNA 感染 DC 及其相关研究

肿瘤抗原的 mRNA 感染 DC 可使 DC 呈现出肿瘤抗原相关信息。电穿孔法是将 mRNA 导入 DC 的有效方法之一^[37]。Batich 等^[38]通过电穿孔方式将 CMVpp65-mRNA 转入 DC 得到 DC 疫苗, 将疫苗回输 GBM 患者体内能增加 CTL 含量。TriMixDC-MEL 是自体单核细胞衍生的 DC 疫苗, 通过将编码全长黑色素瘤相关抗原 (melanoma-associated antigens, MAA) 与编码 HLA II 类分子 (DC-LAMP) 的融合 mRNA 电转导入 DC 中, 使得 DC 能够呈递 MAA 的全长肽, 并克服了以往多肽疫苗的 HLA 限制。I 期临床试验结果显示, 15 例晚期黑色素瘤患者 TriMixDC-MEL 治疗耐受性良好, 2 例病情完全缓解, 2 例病情部分缓解^[39]。II 期临床试验结果显示, 对照组 1 年生存率仅为 35%, TriMixDC-MEL 组生存率高达 71%, 提高了 1 倍左右。试验结果证明使用 TriMixDC-MEL 治疗可以保护患者免遭转移瘤切除后无法治愈的黑色素瘤复发, 从而减轻患者心理和生理上的痛苦^[40]。另一项 II 期临床试验采用 Ipilimumab (CTLA-4 抑制剂) 和 TriMixDC-MEL 联合治疗晚期黑色素瘤患者, 流式细胞术分析发现患者体内 CD4⁺CD8⁺T 细胞增多, 免疫效应增强, 评估发现 20% 的患者病情达到完全缓解, 18% 的患者病情部分缓解。基于这些临床试验, TriMixDC-MEL 治疗和检查点抑制剂的联合疗法极具前景, 可能是未来治疗黑色素瘤的一个新方向^[41]。

另外, 脂质体转染法也是将 mRNA 转染到 DC 的一种方法。Markov 等^[42]利用新型阳离子脂质和脂质辅助剂 (DOPE) 形成的阳离子脂质体在体外将

质粒 DNA 和 mRNA 转染到 DC 中产生 DC 疫苗, 动物实验结果表明这种新型阳离子脂质体转染效率高, 高达 57%。如何高效地将编码肿瘤抗原的 mRNA 导入 DC 仍是目前在不断探索的方向。Coolen 等^[43]以聚乳酸纳米颗粒 (PLA-NPs) 和阳离子细胞穿透肽作为 mRNA 凝聚剂, 开发了一种新的 mRNA 传递系统。在这种传递系统中, DC 通过网格蛋白介导的内吞作用, 可以增强 DC 对 mRNA 的摄取效率, 诱导 mRNA 在 DC 中高表达。此外, 研究结果还表明这种 mRNA 凝聚剂能够诱导 DC 活化和成熟, 增加 DC 处理抗原的能力, 为 DC 疫苗的开发提供了很好的平台。

4 肿瘤细胞和 DC 融合及其相关研究

将肿瘤细胞和 DC 进行融合, 融合细胞既具备 DC 的功能, 又可以表达肿瘤细胞上的肿瘤抗原信息, 由此得到的 DC 疫苗免疫原性强, 特异性高。目前主要有以下几种方法促进 DC 和肿瘤细胞的融合。

4.1 电融合技术

当细胞置于高电场中时, 细胞膜通透性改变, 从而使细胞相互融合。电融合技术不仅仅在细胞融合中发挥作用, 也可使两种不同植物的原生质体融合, 但细胞损伤大、一次融合的细胞数量少、电极稳定性差等缺点限制了其广泛使用^[44]。有研究提出双极脉冲 (bipolar pulses, BPs) 电融合可以有效降低细胞融合的死亡率^[45]。Ke 等^[44]利用 BPs 介导骨髓瘤细胞和淋巴细胞融合, 结果发现相比于单极脉冲, BPs 介导的细胞融合效率提高了 3 倍。尽管目前电融合技术有所改善, 但是由于电融合的不稳定性, 该技术已经逐渐被淘汰。

4.2 病毒融合技术

目前常用于诱导动物细胞融合的病毒有仙台病毒、新城疫病毒、疱疹病毒等, 用灭活的仙台病毒诱导细胞融合, 融合率较高, 适用于各种动物细胞。其中, 日本仙台病毒 (Sendai virus, HVJ) 是一种具有细胞融合活性的 RNA 病毒。HVJ-envelope (HVJ-E) 是一种经过紫外线照射的 HVJ 粒子, 它失去了病毒复制能力和蛋白质合成活性, 但保留了促进细胞融合的活性^[46]。例如, Yanai 等^[47]使用 HVJ-E 制备了 DC1 和小鼠纤维肉瘤 Meth A 细胞的融合细胞疫苗, 并在小鼠模型中证明了该融合细胞疫苗能产生特异性抗肿瘤细胞的免疫应答。但由于仙台病毒不稳定, 制备过程较烦琐, 且病毒进入细胞后可能

会影响细胞正常的生命活动,这种方法正在被逐渐淘汰^[48]。

4.3 化学方法融合技术

用化学试剂对细胞进行融合,是目前最常用的一种融合方法,而其中具有良好水溶性和黏附性的促融剂聚乙二醇(PEG)是常用的化学融合试剂^[49]。在液相介质中,PEG表面的醚键带有微弱的负电荷,在Ca²⁺离子的参与下,可与带正电细胞的膜结合,使其结构发生重排,与此同时PEG还可以通过氢键与水分子结合,导致细胞脱水膜分离,从而使细胞融合^[49]。例如,Bird等^[50]制备了犬自发性乳腺癌和DC融合细胞疫苗,接种疫苗的狗中位生存期增加了约14个月。同样,DC与表达 α -半乳糖的人乳腺癌细胞(MDA-MB-231)融合,结果表明MDA-MB-231/DC对T细胞有明显的增殖和活化作用,促进细胞因子IL-2和IFN- γ 的产生,增强T细胞对MDA-MB-231细胞的杀伤作用,有显著的抗肿瘤作用,延长了小鼠存活时间^[51]。但是,该融合过程繁琐,PEG对细胞可能有细胞毒性,且传统的PEG融合效率不高,目前需要寻找PEG的替代物。因此,一些辅助介质被用于提高PEG制备融合细胞的效率。I型胶原蛋白是一种基质蛋白,具有一定的黏附性,可以抵抗细胞表面的分子张力。He等^[52]发现将I型胶原蛋白加入异源细胞的融合体系中可以有效提高融合效率。另外,Yoshihara等^[53]利用聚乙二醇类脂质衍生物对细胞表面进行修饰,可以实现细胞与细胞的均质和异质连接,改善细胞的融合。由此可见,PEG融合细胞还是目前应用比较广泛、使用比较成熟的技术,提高PEG的融合效率依然是未来研究的发展方向。

近年来,DC肿瘤疫苗在一些疾病的临床研究中取得了显著的成绩。多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)的DC/MM融合疫苗在治疗MM患者的I期研究中表现了良好的耐受性,能在晚期患者体内诱导抗骨髓瘤免疫,并稳定、缓和病情发展^[54];在II期临床试验中,17%的患者(6例VGPR,2例PR)在接种疫苗后100天可达到CR/nCR比例的最佳反应,有效提升中位随访时间,两年无进展生存率为57%^[55]。德国Medigene公司开发的抗急性白血病(acute myelocytic leukemia, AML)的DC/AML融合疫苗在动物模型上取得了显著疗效:I/II期临床试验证明,在平均随访时间57个月内,19名完成疫苗接种的患者中有13例病情处于缓解状态,4年病情无进展^[56]。此外,针对胶质母细胞瘤^[57]、肾

癌^[58-59]、转移性乳腺癌^[59]的一些DC/肿瘤融合疫苗的初步试验已经证明了疗效,目前其临床试验都正在进行中。但让人遗憾的是,目前尚无成熟的商品化DC/肿瘤融合细胞疫苗投入市场,因此亟待推进临床试验以切实服务肿瘤患者。

5 展望

DC在机体免疫应答中的多重作用,奠定了DC在癌症免疫治疗中的地位。虽然DC疫苗免疫疗法的发展还面临以下挑战:(1)免疫抑制肿瘤微环境;(2)系统给药后,DC靶向肿瘤引流淋巴结的能力有限;(3)TAA特异性T细胞对肿瘤细胞的低亲和力;(4)缺乏可靠的预后生物标志物,但是,我们仍然认为DC肿瘤疫苗是一个很有前途的治疗手段,应该研究新的模式,以真正确定这些细胞的免疫原性潜力。细胞免疫治疗作为一类抗肿瘤治疗的新方法已经进行了大量的研发,甚至投入临床使用,包括CAR-T细胞疗法、TCR-T细胞疗法等过继免疫疗法,以及癌症疫苗治疗。DC疫苗的未来需依赖于联合疗法,正如本文讨论的,最近的研究显示了这种策略的巨大潜力。为了更好地提高抗肿瘤作用,将DC疫苗与药物或检查点抑制剂或过继免疫疗法联合治疗肿瘤也是一种有效途径,利用协同效应更好地靶向杀伤肿瘤可能是以后的研究方向。

[参 考 文 献]

- [1] Pang YB, He J, Cui BY, et al. A potential antitumor effect of dendritic cells fused with cancer stem cells in hepatocellular carcinoma. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 5680327
- [2] Jin Y, Mu Y, Zhang S, et al. Preparation and evaluation of the adjuvant effect of curdlan sulfate in improving the efficacy of dendritic cell-based vaccine for antitumor immunotherapy. *Int J Biol Macromol*, 2020, 146: 273-84
- [3] Wang Q, Luan W, Warren L, et al. Autologous tumor cell lysate-loaded dendritic cell vaccine inhibited tumor progression in an orthotopic murine model for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 2016, 23: 574-82
- [4] Zhang J, Mai J, Li F, et al. Investigation of parameters that determine Nano-DC vaccine transport. *Biomed Microdevices*, 2019, 21: 39
- [5] Xu J, Wang H, Xu L, et al. Nanovaccine based on a protein-delivering dendrimer for effective antigen cross-presentation and cancer immunotherapy. *Biomaterials*, 2019, 207: 1-9
- [6] Garrido F, Aptsiauri N. Cancer immune escape: MHC expression in primary tumours versus metastases. *Immunology*, 2019, 158: 255-66
- [7] Gerner MY, Casey KA, Kastenmuller W, et al. Dendritic cell and antigen dispersal landscapes regulate T cell

- immunity. *J Exp Med*, 2017, 214: 3105-22
- [8] Butterfield LH, Zhao F, Lee S, et al. Immune correlates of GM-CSF and melanoma peptide vaccination in a randomized trial for the adjuvant therapy of resected high-risk melanoma (E4697). *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 5034-43
- [9] Gargett T, Abbas MN, Rolan P, et al. Phase I trial of Lipovaxin-MM, a novel dendritic cell-targeted liposomal vaccine for malignant melanoma. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67: 1461-72
- [10] Boudewijns S, Bloemendal M, De Haas N, et al. Autologous monocyte-derived DC vaccination combined with cisplatin in stage III and IV melanoma patients: a prospective, randomized phase 2 trial. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69: 477-88
- [11] Wen PY, Reardon DA, Armstrong TS, et al. A randomized double-blind placebo-controlled phase II trial of dendritic cell vaccine ICT-107 in newly diagnosed patients with glioblastoma. *Clin Cancer Res*, 2019, 25: 5799-807
- [12] Erhart F, Buchroithner J, Reitermaier R, et al. Immunological analysis of phase II glioblastoma dendritic cell vaccine (Audencel) trial: immune system characteristics influence outcome and Audencel up-regulates Th1-related immunovariabiles. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6: 135
- [13] Lee JM, Lee MH, Garon E, et al. Phase I trial of intratumoral injection of CCL21 gene-modified dendritic cells in lung cancer elicits tumor-specific immune responses and CD8⁺ T-cell infiltration. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 4556-68
- [14] Ge C, Li R, Song H, et al. Phase I clinical trial of a novel autologous modified-DC vaccine in patients with resected NSCLC. *BMC Cancer*, 2017, 17: 884
- [15] Oosterwijk-Wakka JC, Tiemessen DM, Bleumer I, et al. Vaccination of patients with metastatic renal cell carcinoma with autologous dendritic cells pulsed with autologous tumor antigens in combination with interleukin-2: a phase 1 study. *J Immunother*, 2002, 25: 500-8
- [16] Palata O, Podzimkova Hradilova N, Mysikova D, et al. Detection of tumor antigens and tumor-antigen specific T cells in NSCLC patients: correlation of the quality of T cell responses with NSCLC subtype. *Immunol Lett*, 2020, 219: 46-53
- [17] Chen Y, Yao K, Wang B, et al. Potent dendritic cell vaccine loaded with latent membrane protein 2A (LMP2A). *Cell Mol Immunol*, 2008, 5: 365-72
- [18] Madan RA, Antonarakis ES, Drake CG, et al. Putting the pieces together: completing the mechanism of action jigsaw for Sipuleucel-T. *J Natl Cancer Inst*, 2020, 112: 562-73
- [19] Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med*, 2010, 363: 411-22
- [20] Wang QT, Nie Y, Sun SN, et al. Tumor-associated antigen-based personalized dendritic cell vaccine in solid tumor patients. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69: 1375-1387
- [21] Yarchoan M, Johnson BA 3rd, Lutz ER, et al. Targeting neoantigens to augment antitumor immunity. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17: 209-222
- [22] Zhang R, Yuan F, Shu Y, et al. Personalized neoantigen-pulsed dendritic cell vaccines show superior immunogenicity to neoantigen-adjuvant vaccines in mouse tumor models. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69: 135-45
- [23] Li AW, Sobral MC, Badrinath S, et al. A facile approach to enhance antigen response for personalized cancer vaccination. *Nat Mater*, 2018, 17: 528-34
- [24] Hardin MO, Vreeland TJ, Clifton GT, et al. Tumor lysate particle loaded dendritic cell vaccine: preclinical testing of a novel personalized cancer vaccine. *Immunotherapy*, 2018, 10: 373-82
- [25] Herbert GS, Vreeland TJ, Clifton GT, et al. Initial phase I/IIa trial results of an autologous tumor lysate, particle-loaded, dendritic cell (TLPLDC) vaccine in patients with solid tumors. *Vaccine*, 2018, 36: 3247-53
- [26] Aerts J, De Goeje PL, Cornelissen R, et al. Autologous dendritic cells pulsed with allogeneic tumor cell lysate in mesothelioma: from mouse to human. *Clin Cancer Res*, 2018, 24: 766-76
- [27] Tanyi JL, Bobisse S, Ophir E, et al. Personalized cancer vaccine effectively mobilizes antitumor T cell immunity in ovarian cancer. *Sci Transl Med*, 2018, 10: eao5931
- [28] Chiang CL, Kandalaf LE, Tanyi J, et al. A dendritic cell vaccine pulsed with autologous hypochlorous acid-oxidized ovarian cancer lysate primes effective broad antitumor immunity: from bench to bedside. *Clin Cancer Res*, 2013, 19: 4801-15
- [29] Hdeib A, Sloan AE. Dendritic cell immunotherapy for solid tumors: evaluation of the DCVax^R platform in the treatment of glioblastoma multiforme. *CNS Oncol*, 2015, 4: 63-9
- [30] Liau LM, Ashkan K, Tran DD, et al. First results on survival from a large phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma. *J Transl Med*, 2018, 16: 142
- [31] Wculek SK, Cueto FJ, Mujal AM, et al. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20: 7-24
- [32] Zurawski G, Shen X, Zurawski S, et al. Superiority in *Rhesus Macaques* of targeting HIV-1 Env gp140 to CD40 versus LOX-1 in combination with replication-competent NYVAC-KC for induction of Env-specific antibody and T cell responses. *J Virol*, 2017, 91: e01596-16
- [33] Di L, Zhu Y, Jia J, et al. Clinical safety of induced CTL infusion through recombinant adeno-associated virus-transfected dendritic cell vaccination in Chinese cancer patients. *Clin Transl Oncol*, 2012, 14: 675-81
- [34] Soliman H, Khambati F, Han HS, et al. A phase-1/2 study of adenovirus-p53 transduced dendritic cell vaccine in combination with indoximod in metastatic solid tumors and invasive breast cancer. *Oncotarget*, 2018, 9: 10110-7
- [35] Kim JW, Kane JR, Panek WK, et al. A dendritic cell-

- targeted adenoviral vector facilitates adaptive immune response against human glioma antigen (CMV-IE) and prolongs survival in a human glioma tumor model. *Neurotherapeutics*, 2018, 15: 1127-38
- [36] Sas S, Chan T, Sami A, et al. Vaccination of fiber-modified adenovirus-transfected dendritic cells to express HER-2/neu stimulates efficient HER-2/neu-specific humoral and CTL responses and reduces breast carcinogenesis in transgenic mice. *Cancer Gene Ther*, 2008, 15: 655-66
- [37] Sabado RL, Balan S, Bhardwaj N. Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Res*, 2017, 27: 74-95
- [38] Batich KA, Reap EA, Archer GE, et al. Long-term survival in glioblastoma with cytomegalovirus pp65-targeted vaccination. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 1898-909
- [39] Wilgenhof S, Van Nuffel AMT, Benteyn D, et al. A phase IB study on intravenous synthetic mRNA electroporated dendritic cell immunotherapy in pretreated advanced melanoma patients. *Ann Oncol*, 2013, 24: 2686-93
- [40] Jansen Y, Kruse V, Corthals J, et al. A randomized controlled phase II clinical trial on mRNA electroporated autologous monocyte-derived dendritic cells (TriMixDC-MEL) as adjuvant treatment for stage III/IV melanoma patients who are disease-free following the resection of macrometastases. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69: 2589-98
- [41] Wilgenhof S, Corthals J, Heirman C, et al. Phase II study of autologous monocyte-derived mRNA electroporated dendritic cells (TriMixDC-MEL) plus ipilimumab in patients with pretreated advanced melanoma. *J Clin Oncol*, 2016, 34: 1330-8
- [42] Markov OO, Mironova NL, Maslov MA, et al. Novel cationic liposomes provide highly efficient delivery of DNA and RNA into dendritic cell progenitors and their immature offsprings. *J Control Release*, 2012, 160: 200-10
- [43] Coolen AL, Lacroix C, Mercier-Gouy P, et al. Poly(lactic acid) nanoparticles and cell-penetrating peptide potentiate mRNA-based vaccine expression in dendritic cells triggering their activation. *Biomaterials*, 2019, 195: 23-37
- [44] Ke Q, Li C, Wu M, et al. Electrofusion by a bipolar pulsed electric field: Increased cell fusion efficiency for monoclonal antibody production. *Bioelectrochemistry*, 2019, 127: 171-9
- [45] Li C, Ke Q, Yao C, et al. Comparison of bipolar and unipolar pulses in cell electrofusion: simulation and experimental research. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2019, 66: 1353-60
- [46] Kiyohara E, Tanemura A, Nishioka M, et al. Intratumoral injection of hemagglutinating virus of Japan-envelope vector yielded an antitumor effect for advanced melanoma: a phase I/IIa clinical study. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69: 1131-40
- [47] Yanai S, Adachi Y, Fuijisawa J, et al. Anti-tumor effects of fusion cells of type 1 dendritic cells and Meth A tumor cells using hemagglutinating virus of Japan-envelope. *Int J Oncol*, 2009, 35: 249-55
- [48] Leroy H, Han M, Woottum M, et al. Virus-mediated cell-cell fusion. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 9644
- [49] Villafranca C, Makris MR, Garrido Bauerle MJ, et al. Production of interspecies somatic/pluripotent heterokaryons using polyethylene glycol (PEG) and selection by imaging flow cytometry for the study of nuclear reprogramming. *Cytotechnology*, 2020, 72: 797-805
- [50] Bird RC, Deinnocentes P, Church Bird AE, et al. Autologous hybrid cell fusion vaccine in a spontaneous intermediate model of breast carcinoma. *J Vet Sci*, 2019, 20: e48
- [51] Mo F, Xue D, Duan S, et al. Novel fusion cells derived from tumor cells expressing the heterologous α -galactose epitope and dendritic cells effectively target cancer. *Vaccine*, 2019, 37: 926-36
- [52] He J, Zheng R, Zhang Z, et al. Collagen I enhances the efficiency and anti-tumor activity of dendritic-tumor fusion cells. *Oncoimmunology*, 2017, 6: e1361094
- [53] Yoshihara A, Watanabe S, Goel I, et al. Promotion of cell membrane fusion by cell-cell attachment through cell surface modification with functional peptide-PEG-lipids. *Biomaterials*, 2020, 253: 120113
- [54] Jung SH, Lee HJ, Lee YK, et al. A phase I clinical study of autologous dendritic cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Oncotarget*, 2017, 8: 41538-48
- [55] Rosenblatt J, Avivi I, Vasir B, et al. Vaccination with dendritic cell/tumor fusions following autologous stem cell transplant induces immunologic and clinical responses in multiple myeloma patients. *Clin Cancer Res*, 2013, 19: 3640-8
- [56] Nahas MR, Stroopinsky D, Rosenblatt J, et al. Hypomethylating agent alters the immune microenvironment in acute myeloid leukaemia (AML) and enhances the immunogenicity of a dendritic cell/AML vaccine. *Br J Haematol*, 2019, 185: 679-90
- [57] Akasaki Y, Kikuchi T, Homma S, et al. Phase I/II trial of combination of temozolomide chemotherapy and immunotherapy with fusions of dendritic and glioma cells in patients with glioblastoma. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65: 1499-509
- [58] Avigan DE, Vasir B, George DJ, et al. Phase I/II study of vaccination with electrofused allogeneic dendritic cells/autologous tumor-derived cells in patients with stage IV renal cell carcinoma. *J Immunother*, 2007, 30: 749-61
- [59] Avigan D, Vasir B, Gong J, et al. Fusion cell vaccination of patients with metastatic breast and renal cancer induces immunological and clinical responses. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 4699-708