

同种异体肿瘤全细胞疫苗研究现状

鄢玲利, 刘白南

(遵义医学院 免疫学教研室, 遵义 563000)

摘要: 肿瘤全细胞疫苗(whole tumor cell vaccine, WTCV)是一种靶向肿瘤抗原的免疫疗法, 目前, WTCV已成为肿瘤免疫治疗研究热点之一。该疫苗将完整的肿瘤细胞作为肿瘤抗原来源, 不受抗原限制, 能诱导机体靶向该肿瘤细胞所表达的大部分抗原、甚至未知抗原的免疫应答, 从而在一定程度上避免了肿瘤发展过程中由于某些抗原丢失而造成的肿瘤细胞免疫逃逸。同种异体 WTCV(allogeneic WTCV, Allo-WTCV)取材于同种族不同个体已建立的肿瘤细胞系, 具有可大量制作和储存、便于标准化质量控制等优势。一些临床前研究以及临床试验结果都展现了该疫苗的研究价值。但是, 基于 Allo-WTCV 的肿瘤免疫疗法目前还存在一些缺陷。为了得到更好的免疫效果, 可以选择对疫苗进行适当修饰, 或者与免疫佐剂联用、与特定单克隆抗体联合使用。文章就如何提升 Allo-WTCV 抗肿瘤效应及其在肿瘤免疫治疗中的应用作一综述。

关键词: 肿瘤全细胞疫苗; 同种异体肿瘤细胞; 疫苗修饰; 肿瘤免疫治疗

中图分类号: R539.22

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)03-0249-05

恶性肿瘤是当今医疗界面临的首要难题, 目前肿瘤的治疗方法仍以传统的手术治疗结合化疗、介入治疗为主, 但对某些高转移性、进展迅速的肿瘤而言, 在治疗和延长患者生存期方面效果并不理想。因此, 有研究者提出重启免疫系统对肿瘤细胞识别和杀伤的能力, 使免疫系统恢复抗肿瘤效应。肿瘤免疫治疗的概念自 19 世纪初次被提出至今已取得了令人瞩目的成果, 如免疫检查点抑制剂(单克隆抗体)^[1-2]、2017 年获批用于 B 淋巴细胞系统肿瘤的嵌合抗原受体 T 细胞疗法(chimeric antigen receptor-modified T cell therapy, CAR-T)^[3]、9 价 HPV 疫苗^[4]等的应用。在众多免疫疗法中, 肿瘤全细胞疫苗(whole tumor cell vaccine, WTCV)是一种针对肿瘤抗原的靶向疗法, 该疫苗取材于完整的肿瘤细胞, 故具有相对完整的肿瘤抗原谱。根据肿瘤细胞的来源不同又可将 WTCV 分为自体来源(Autologous)和同种异体(Allogeneic)来源 2 类^[5]。其中, 同种异体 WTCV(allogeneic WTCV, Allo-WTCV)以同种异体的肿瘤细胞系为基础制备疫苗, 它的优势有易于取材、质量控制可标准化、易于

大量制备和储存等。但由于取材自异体, 故存在因供受者 HLA 不匹配而导致疫苗失效或排斥反应的情况。此外, 单使用肿瘤细胞制备的疫苗免疫原性极其有限, 并不能诱发有效的抗肿瘤免疫效应。本文就如何提升 Allo-WTCV 抗肿瘤效应及其在肿瘤免疫治疗中的应用作一综述。

1 Allo-WTCV

Allo-WTCV 是指由同种异体肿瘤细胞系制备的疫苗, 由于完整的肿瘤细胞携带相对完整的抗原谱, 当其经过灭活处理后便成为一个携带大量肿瘤抗原的免疫原, 进入机体时能刺激其产生免疫反应^[6]。起初, 研究者们考虑到 HLA 限制性的影响, 在研究中多选择自体来源的肿瘤细胞制备疫苗, 但当某些患者由于肿瘤进展迅速、或是已发展至晚期不能进行手术治疗, 无法留取自体肿瘤样本时, Allo-WTCV 就体现出了优势。Allo-WTCV 取材于同种异体的肿瘤细胞系, 该肿瘤细胞系表达已知特定类型的肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA), 所以 Allo-WTCV 的制备量化标准易于统一, 并且可以大量制作和储存^[7]。由于其源于同种异体的肿瘤细胞, Allo-WTCV 缺乏与患者 HLA 的同一性, 造成机体 T 淋巴细胞视其为外来抗原物质而识别为非自身 HLA 分子, 引起机体产生过强的免疫应答而影响疫苗效果^[8]。为了解决这个问题, 一些临床试验选择匹配 1~2 个 HLA

收稿日期: 2018-03-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81560276); 贵州省人力资源和社会保障厅留学人员科技活动项目(黔人项目资助合同[2014]8号)

作者简介: 鄢玲利(1992—), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤免疫治疗研究

通信作者: 刘白南(E-mail: bnliu@hotmail.com)

等位基因的同种异体肿瘤^[9]；并且，基于同种异基因反应的生物学原理，即机体识别同种异体抗原激活部分 T 淋巴细胞，被激活的 T 淋巴细胞又能识别在自体 HLA 限制性情况下呈现的特定抗原肽^[10]，由此利用同种异体抗原和自身 HLA 限制性抗原产生的叠加效应来适当增强 Allo-WTCV 免疫

效果。

另一方面，为提升 Allo-WTCV 的免疫原性，研究者们选择了许多有效措施优化 Allo-WTCV，如制备“半同种异体”形式的疫苗以增强其免疫原性，对肿瘤细胞进行适当修饰，与免疫检查点抑制剂联合使用及与生物材料联合使用等(图 1)。

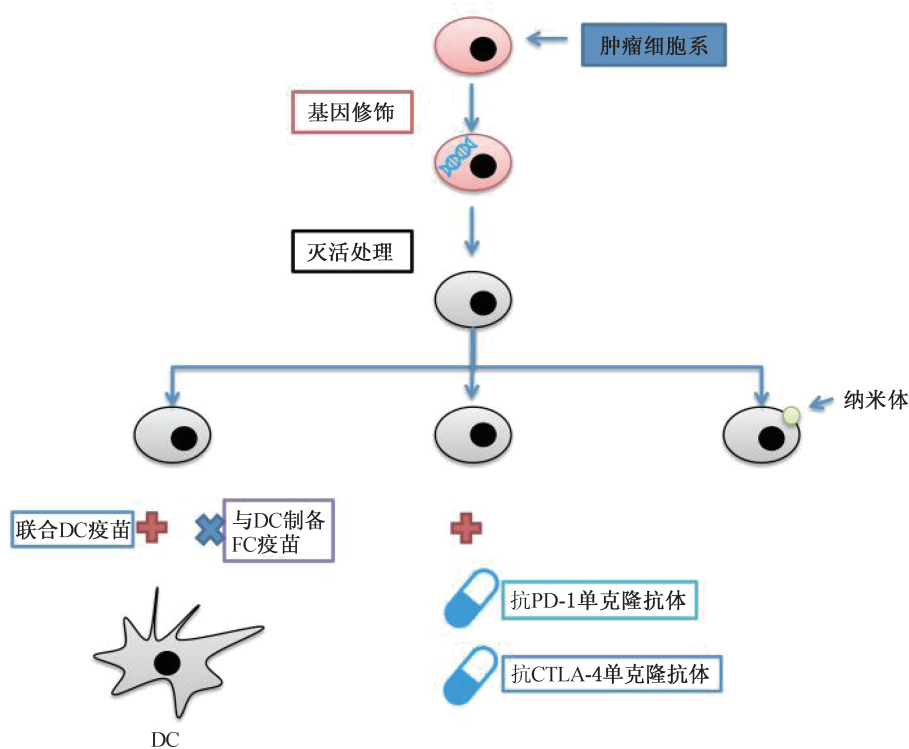


图 1 Allo-WTCV 制备方式及其应用

注：Allo-WTCV 取材于已建立的肿瘤细胞系，将其适当修饰，再进行灭活处理后制备而成。它可用于制备半抗原细胞疫苗，多联合检查点抑制剂或激动型抗体以及联合生物材料来提升抗肿瘤效应。融合细胞(fusion cell, FC)。图中“+”表示 2 种疫苗联合使用，“×”表示将 2 种细胞制备成 FC 后，再制备成疫苗

2 Allo-WTCV 的优化方案

2.1 半同种异体 WTCV 抗原进入机体后经过 APC 加工形成 MHC-抗原肽复合物，再由 APC 将此复合物暴露于细胞表面提呈给 TCR 识别。普通抗原只引起小部分的 T 淋巴细胞克隆活化，而同种异体抗原刺激能引起较多的 T 淋巴细胞克隆活化。半同种异体 WTCV 是利用该同种异体反应能显著增强机体免疫反应的原理，使用细胞杂交技术使细胞融合以制备成疫苗，目的是增强疫苗的免疫原性。该方法早已被用于近交系小鼠的同基因型肿瘤研究中。有研究证实同基因的肿瘤细胞与异基因细胞杂交之后制备而成的疫苗能显著提升原有的免疫原性，促进 APC 活化，抑制肿瘤诱导的免疫耐

受^[11]。此外，Gattoni 等^[12]也利用该原理构建了一种半同种异体神经胶质瘤疫苗，即将 H-2b GL261 神经胶质瘤细胞与 H-2d RAG-neo 细胞混合形成一种半同种异体的 WTCV。疫苗接种于荷瘤小鼠后，能恢复免疫细胞细胞因子的产生水平，并且产生高水平的抗肿瘤细胞因子谱。上述研究均表明，将自体来源的 WTCV 进行一定程度的“异质化”后，形成一种半同种异体的 WTCV，可以有效利用同种异体反应达到增强机体抗肿瘤免疫效应的作用。

2.2 基因修饰的 Allo-WTCV 基因修饰的 Allo-WTCV 是指筛选出特异性基因对肿瘤细胞进行修饰，即选择可以作为特异性靶点的分子或能增强特异性免疫效应的分子，利用基因工程和细胞生物

学、分子生物学技术将特异性的基因表达于肿瘤细胞,以达到提升机体抗肿瘤效应的目的。其中经修饰表达 GM-CSF 基因的 Allo-WTCV 被称为分泌粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子的肿瘤细胞疫苗(vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GVAX),其应用最广。GVAX 早已用于胰腺癌的治疗研究。由于胰腺癌临床早期诊断率低、进展极其迅速,许多患者被发现时都失去了最佳手术时机并在几个月内死亡,通过胰腺癌细胞株制备治疗性 Allo-WTCV 具有一定的研究价值^[13]。一种经 FDA 批准用于胰腺癌临床免疫治疗的方法是将分泌 GM-CSF 的同种异体胰腺癌细胞疫苗(GVAX Pancreas)与修饰表达间皮素的减毒活李斯特菌(CRS-207)联合, GVAX Pancreas 诱导 T 淋巴细胞针对肿瘤抗原和间皮素的特异性免疫,联合低剂量环孢素达到抑制 Treg 的效果。CRS-207 能诱导机体产生免疫应答, Cy/GVAX Pancreas+CRS-207 在转移性胰腺癌患者临床试验中体现出延长平均生存期的效果^[14-15]。此外, GVAX 还被运用于非小细胞肺癌、前列腺癌、肾细胞癌、黑色素瘤等的研究中^[16]。

2.3 Allo-WTCV 联合免疫检查点抑制剂 免疫抑制的形成是肿瘤免疫治疗中面临的巨大阻碍。T 淋巴细胞活化需要共刺激分子的促进作用,而共刺激抑制分子——免疫检查点作为免疫调节因子控制着 T 淋巴细胞的过度活化,如 PD-1 和其配体 PD-L1、CTLA-4、T 淋巴细胞免疫球蛋白黏蛋白 3(T cell immunoglobulin and mucin domain-containing 3, TIM-3)等免疫负调控因子在肿瘤的发展过程中抑制了 T 淋巴细胞的活化与增殖等过程,从而使肿瘤细胞逃脱免疫系统的识别^[17]。与其他肿瘤免疫治疗方法一样, Allo-WTCV 的疗效也受到免疫抑制的影响,所以越来越多的治疗手段将 Allo-WTCV 与免疫检查点抑制剂联合使用。在一项 GVAX 首次联合易普利姆玛(抗 CTLA-4 单克隆抗体)用于胰腺导管腺癌治疗的临床试验(NCT00836407)中^[18],联合疗法能够诱导外周血间皮素特异性 T 淋巴细胞数量增加,并对患者的生存期延长有一定效果。Soares 等^[19]进行的抗 PD-1 抗体联合 GVAX 用于胰腺导管癌切除后治疗的临床试验(NA_00074221)结果显示联合疗法能够促进效应 T 细胞进入肿瘤微环境以增强抗肿瘤

效应,提示这种联合疗法不仅可以降低免疫抑制效应的阻碍作用,还能有效突破实体瘤的微环境屏障。一系列的临床试验结果提示联合疗法有望突破靶向治疗的最大障碍,即肿瘤微环境的物理屏障和免疫抑制效应。

2.4 Allo-WTCV 联合生物材料 纳米材料、半导体生物材料等具有生物活性,可通过促进多价受体交联、胞质递送等过程,辅助调节和增强特异性免疫细胞精准靶向水平,并且降低与免疫调节剂相关的毒副作用。此外,生物材料还能作为外源性物质形成危险信号供免疫系统识别,所以也被用作提升肿瘤细胞疫苗效应的辅助材料^[20-21]。Li 等^[22]使用聚乙二醇诱导健康人外周血单核细胞分离出的 DC 与胃癌细胞融合形成 FC,并将 FC 制备成疫苗,再对疫苗加以 CIS/ZnS NIR-QDs 半导体量子点以示踪标记,来评价 FC 疫苗在 MGC-803 胃癌荷瘤小鼠上的免疫预防和治疗作用。结果证实 FC 作为一个有效的载体来运载肿瘤抗原能引发细胞毒效应和抗肿瘤效应,细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cell, CIK)可以接收到由疫苗细胞所传递的来自肿瘤的信号,启动对肿瘤的靶向清除效应,且发现荷瘤小鼠联合接种 FC 与 CIK 后血清 IL-7 和 IL-15 水平显著升高,提示免疫记忆的形成。由于纳米粒子可辅助细胞摄取可溶性蛋白, Liu 等^[23]建立了以聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]纳米粒子为基础的多佐剂 WTCV。PLGA 是经 FDA 批准使用的生物材料,研究者使用多孔玻璃膜膜乳化技术成功制备相同规格的 PLGA 纳米粒子,并予以穿膜肽加工修饰使其摄取和运送细胞因子的能力大大提升。这种设计通过构建多种佐剂的 Allo-WTCV,促进 DC 聚集,提升 APC 对抗原的加工与提呈效率并促进 T 淋巴细胞活化,从而有效抑制肿瘤生长、转移和复发。

3 Allo-WTCV 面临的挑战与发展前景

3.1 Allo-WTCV 面临的挑战 Allo-WTCV 已在多种肿瘤治疗上进行了第一阶段临床试验,然而,肿瘤形成的免疫抑制和免疫逃逸依然是 Allo-WTCV 发挥效应的一大阻碍。患者体内肿瘤细胞所表达的 TAA 和同种异体肿瘤细胞株所表达的 TAA 之间显然还存在一定差异,这对 Allo-WTCV 的疗效至关重要,并且与产生更好的抗肿瘤特异性免疫密切

相关^[24]。Allo-WTCV 存在的不足之处包括：它来自于已建立的细胞株，但肿瘤间存在广泛的异质性^[25]，所以可能不能涵盖同一种肿瘤的全部 TAA 特征；GVAX 作为 Allo-WTCV 的代表已运用于许多肿瘤的研究中，但至今还未体现出能够替代放疗的显著临床效果，故还需深入研究其作用机制和局限性。

3.2 Allo-WTCV 的发展前景 Allo-WTCV 是收集异体来源的肿瘤细胞经过灭活处理，在保留其免疫原性的基础上，加以基因修饰、佐剂辅助或联合免疫调节剂等多种方式来提升其抗肿瘤效应。而有效提升 Allo-WTCV 的效应，选择特异性的基因或分子尤为重要。本团队在研究抗肿瘤免疫的思路中涉及到肿瘤的发生、发展、远处转移等重要环节，以及适宜肿瘤生长的微环境的形成等各种因素，就肿瘤本身和适宜其生长的周围环境展开探索。其中，肿瘤形成的免疫抑制微环境是研究者寻找靶向基因或分子的关键点。有关肿瘤细胞对免疫系统的调节机制以及肿瘤细胞为什么能逃逸免疫系统的识别和杀伤已经有了比较深入的研究。由于机体对肿瘤细胞的攻击是依靠固有免疫和适应性免疫两方面实现的，所以可以寻找一种能刺激机体产生强烈固有免疫反应的分子，联合肿瘤或肿瘤微环境中高表达的特异性基因或蛋白分子，诱导其表达于肿瘤微环境中。在免疫调节因子等的作用下，肿瘤组织尽可能被免疫系统识别，机体肿瘤特异性 T 淋巴细胞的活化被增强，从而在固有免疫和适应性免疫的共同作用下达到清除肿瘤细胞的目的。此外，Allo-WTCV 对于早期转移、进展迅速或已发展至晚期的肿瘤患者来说无疑是一种有前景的抗肿瘤疗法。

4 结语

肿瘤免疫治疗在其众多治疗方式中扮演重要角色，并且具有很好的发展前景，而 WTCV 在肿瘤的预防和治疗方面均表现出一定的优势，在肿瘤免疫治疗的多样化研究中，WTCV 还具有很大的发展空间。

参考文献

- [1] Bellmunt J, de Wit R, Vaughn DJ, *et al.* Pembrolizumab as second-line therapy for advanced urothelial carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(11): 1015-1026.
- [2] Balar AV, Galsky MD, Rosenberg JE, *et al.* Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: A single-arm, multicentre, phase 2 trial[J]. *Lancet*, 2017, 389(10064): 67-76.
- [3] Makita S, Yoshimura K, Tobinai K. Clinical development of anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(6): 1109-1118.
- [4] Zhai L, Tumban E. Gardasil-9: A global survey of projected efficacy[J]. *Antiviral Res*, 2016, 130: 101-109.
- [5] Parmiani G, Pilla L, Maccalli C, *et al.* Autologous versus allogeneic cell-based vaccines? [J]. *Cancer J*, 2011, 17(5): 331-336.
- [6] Seledtsova GV, Shishkov AA, Kaschenko EA, *et al.* Xenogeneic cell-based vaccine therapy for stage III melanoma: Safety, immune-mediated responses and survival benefits[J]. *Eur J Dermatol*, 2016, 26(2): 138-143.
- [7] De Grujil TD, van den Eertwegh AJ, Pinedo HM, *et al.* Whole-cell cancer vaccination: From autologous to allogeneic tumor-and dendritic cell-based vaccines[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(10): 1569-1577.
- [8] Leaf RK, Stroopinsky D, Pyzer AR, *et al.* DCOne as an allogeneic cell-based vaccine for multiple myeloma[J]. *J Immunother*, 2017, 40(9): 315-322.
- [9] Dols A, Meijer SL, Hu HM, *et al.* Identification of tumor-specific antibodies in patients with breast cancer vaccinated with gene-modified allogeneic tumor cells[J]. *J Immunother*, 2003, 26(2): 163-170.
- [10] Lakkis FG, Lechler RI. Origin and biology of the allogeneic response[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2013, 3(8).
- [11] Yu J, Kindy MS, Gattoni-Celli S. Semi-allogeneic vaccines and tumor-induced immune tolerance[J]. *J Transl Med*, 2009, 7: 3.
- [12] Gattoni-Celli S, Young MR. Restoration of immune responsiveness to glioma by vaccination of mice with established brain gliomas with a semi-allogeneic vaccine[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9).
- [13] Johnson BA 3rd, Yarchoan M, Lee V, *et al.* Strategies for increasing pancreatic tumor immunogenicity[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(7): 1656-1669.
- [14] Le DT, Wang-Gillam A, Picozzi V, *et al.* Safety and survival with GVAX pancreas prime and *Listeria monocytogenes*-expressing mesothelin (CRS-207) boost vaccines for metastatic pancreatic cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(12): 1325-1333.
- [15] Amedei A, Nicolai E, Prisco D. Pancreatic cancer: Role of the immune system in cancer progression and vaccine-based immunotherapy[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10(11): 3354-3368.
- [16] Le DT, Pardoll DM, Jaffee EM. Cellular vaccine approaches [J]. *Cancer J*, 2010, 16(4): 304-310.

(下转第 256 页)