

# 肿瘤抗原在免疫治疗中的应用\*

## The Application of Tumor Antigens on Immunotherapy

林朝群, 周素芳

LIN Chao-qun, ZHOU Su-fang

(广西医科大学生物化学与分子生物学教研室, 广西南宁 530021)

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, 530021, China)

**摘要:**介绍肿瘤抗原分类、肿瘤细胞逃逸机体免疫监制的机制、机体抗肿瘤的免疫学机制和肿瘤抗原在免疫治疗中的应用。随着分子生物学的发展,肿瘤抗原在肿瘤免疫治疗方面将发挥重要的作用。

**关键词:**肿瘤抗原 免疫治疗 应用

**中图分类号:**R730.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-7378(2010)01-0052-04

**Abstract:** The paper illustrated the classification of tumor antigen, the mechanism of tumor cells escaping the immune system, antitumor and application of immunotherapy. Present, with the development of molecular biology, the tumor antigen gene will play an important role in therapy strategies of immunity.

**Key words:** tumor antigen, immune therapy, application

在肿瘤免疫治疗研究史中,一直存在两个问题:一是在机体免疫系统中肿瘤抗原是否存在,另一个是若肿瘤抗原存在的话,那么免疫系统是否能够识别这些抗原并产生有效的免疫应答。目前,国际上已普遍认为肿瘤抗原的存在,这一普遍性认同已经得到很多事实的支持,比如动物模型实验、病理研究及临床观察等。1991年,Thierry Boon等<sup>[1]</sup>应用T细胞克隆技术,找到了人类肿瘤抗原,并利用分子生物学方法克隆了该抗原的基因MAGE-1,之后,鉴定出第一个人类白细胞抗原(HLA)限制性的抗MAGE-1的T细胞及抗原表位。该发现成为肿瘤免疫学的一个里程碑<sup>[2]</sup>,从形态学层面观察到恶性肿瘤组织及癌旁组织中存在淋巴细胞浸润。1995年,Sahin等<sup>[3]</sup>建立了一种新的血清学克隆方法,称为重组cDNA表达文库的血清学分析(SEREX)。利用SEREX技术已经筛选出包括黑色素瘤、肾瘤、星形胶质细胞瘤、胃癌<sup>[4]</sup>、结肠癌<sup>[5]</sup>,等多种类型的肿瘤

抗原,这一方法使人们可以利用肿瘤患者血清中的抗体来系统、客观地寻找更多的肿瘤抗原。本文就肿瘤免疫的相关机制及肿瘤抗原在免疫治疗中的应用作一简要综述。

### 1 肿瘤抗原分类

肿瘤抗原是指细胞在癌变过程中出现的新抗原物质的总称。细胞在癌变过程中,由于癌基因的激活或抑癌基因的失活或基因突变等因素,产生新蛋白质。这些蛋白被降解后,某些段肽可与MHC-I类分子结合,并被呈递于细胞表面,成为CD8+CTL识别和杀伤该肿瘤抗原。同时,正常细胞中处于隐蔽状态的抗原决定簇暴露出来,于是被B细胞识别并产生抗肿瘤抗体。

根据肿瘤抗原特异性的程度,把它分为两类:肿瘤特异性抗原(TSA)和肿瘤相关抗原(TAA)。

肿瘤特异性抗原是指只存在于某种特定肿瘤细胞中而不存在于正常细胞或其他类型的肿瘤细胞中的抗原分子。此类抗原主要有如下几种:(1)CT抗原<sup>[6]</sup>,该抗原只在睾丸组织及一些肿瘤组织中表达而在其他组织中均未表达。由于CT抗原在睾丸中不表达HLA-I类分子,从而不受CT抗原的特异性CTL的攻击,这类抗原包括MAGE家族,BAGE,GAGE等。(2)基因突变引起的抗原<sup>[7,8]</sup>,如

收稿日期:2010-01-06

修回日期:2010-01-18

作者简介:林朝群(1984-),男,硕士研究生,主要从事肿瘤抗原方面的研究。

\*国家自然科学基金项目(30760233),广西自然科学基金项目(0728121)资助。

p53(突变型)。(3)病毒基因编码的抗原<sup>[7,8]</sup>,如人乳头瘤病毒的 E7 区基因编码的抗原肽可在宫颈癌肿瘤细胞表面表达。(4)由于不同剪切产生的抗原<sup>[9]</sup>,如 Hodgkin 病中的 restin。

肿瘤相关抗原是指非肿瘤细胞特有的、在正常细胞和组织上也存在的糖蛋白或糖脂成分,只是它们含量在肿瘤时期明显增加。此类抗原只表现为量的变化,而无严格的肿瘤特异性。一般这类抗原可被 B 细胞识别并产生抗体。如黑色素瘤抗原<sup>[10]</sup>(MAGE)、粘蛋白<sup>[11]</sup>(MUC)等。

## 2 肿瘤逃逸机体免疫监视的机制

尽管机体内具有一系列的免疫监视机制,但是由于肿瘤细胞在长期的生长过程中,形成了逃避机体免疫系统攻击的机制,同时,机体免疫系统出现了“漏洞”,无法对肿瘤细胞进行识别和杀伤。

对于大多数肿瘤细胞来说,逃避免疫监视的关键是 T 细胞对肿瘤细胞的不识别或识别能力下降。CD8+T 细胞要识别肿瘤抗原,肿瘤抗原表面必须存在 MHC-Ⅱ 类分子。肿瘤细胞可通过多种方式来逃避免疫监视:(1)MHC 分子表达异常,导致刺激机体免疫应答的信号产生障碍,主要影响到 MHC 抗原肽 TCR 三元体结构的形成<sup>[12]</sup>。(2)肿瘤抗原性弱及抗原调变,大多数肿瘤抗原的免疫原性很弱,不能有效激活机体的抗肿瘤免疫应答。同时,肿瘤细胞表面抗原簇减少或丢失,也使得肿瘤细胞不被机体免疫系统的识别,从而逃避了宿主的免疫攻击<sup>[13]</sup>。(3)肿瘤细胞通过表达非经典的 HLA 分子(HLA-G 和 HLA-E)向 NK 细胞传递抑制性信号,下调自然杀伤细胞(NK)的功能,来逃避 NK 细胞的攻击<sup>[14]</sup>。(4)肿瘤细胞不表达或低表达共刺激分子及黏附分子<sup>[15]</sup>。(5)肿瘤细胞产生改变宿主免疫反应的因子,如血管内皮生长因子、趋化因子、白细胞介素-6、转化生长因子-β 等<sup>[16]</sup>。

## 3 机体抗肿瘤的免疫学机制

机体抗肿瘤免疫的机制包括细胞免疫和体液免疫两方面,在正常的机体内,免疫细胞间、免疫细胞与抗体间都是相互影响、相互调节、相互依存的,相互协调共同杀伤肿瘤细胞,一般认为,细胞免疫是抗肿瘤免疫的主要方式,体液免疫通常仅在某些情况下起协同作用。对于大多数免疫原性强的肿瘤,特异性免疫应答是主要的,而对于免疫原性弱的肿瘤,非特异性免疫应答可能具有更主要的意义。

下面我们主要从细胞免疫来论述机体的抗肿瘤

免疫学机制。

在细胞免疫中,T 细胞具有免疫记忆功能和特异性,同时,非特异性抗肿瘤免疫细胞自然杀伤细胞(NK)和树突状细胞(DC)也日益受到人们的重视。

T 细胞根据其表面是表达 CD4 还是表达 CD8 分子,其抗肿瘤机制也不同。如 CD4+T 细胞接受抗原提呈细胞上的 MHC 抗原复合物和共刺激分子双重信号后,细胞发生克隆性增值,并释放出多种细胞因子,其中主要为:IL-2、INF-g、TNF 和 LT,这些因子在调节、活化细胞毒性 T 细胞、巨噬细胞、B 细胞的抗肿瘤效应中起重要作用。

NK 细胞释放的杀伤介质穿孔素、NK 细胞毒因子(NKCF)、TNF 等使靶细胞溶解破裂。NK 细胞还可以通过人抗肿瘤抗体 IgG1 和 IgG3 作为桥梁,其 Fab 端特异性识别肿瘤,Fc 段与 NK 细胞 FcRg III a 结合,产生抗体依赖的细胞介导的细胞毒(ADCC)作用<sup>[17]</sup>,而且,IL-2 和 IFN-g 可增强该效应。

树突状细胞是体内最有效的专职抗原递呈细胞(APC),是识别病原侵入的第一道防线。它可以通过吞噬颗粒物质、胞饮可溶性物质以及借助受体内吞来捕捉抗原,同时能够吞噬凋亡细胞,并经过加工处理后由 MHC I 类分子交叉呈递给 CD8+T 细胞。

## 4 肿瘤抗原在肿瘤免疫治疗的应用

针对肿瘤逃避免疫监视的机制,如何有效地诱导机体识别肿瘤抗原,产生特异性细胞毒 T 淋巴细胞(TCL)的靶向杀伤肿瘤细胞的效应,已成为目前研究的热点。当前,肿瘤免疫治疗未能取得满意疗效的主要原因是肿瘤细胞基因突变并改变抗原性,同时,患者的免疫状况差异很大,导致特异性免疫的病理生理变化很大。肿瘤免疫治疗的基础是肿瘤细胞具有抗药性并能引起抗体的免疫应答。细胞免疫研究表明,机体免疫系统识别肿瘤抗原,抗原经 ACP 提呈与 T 细胞,T 细胞经识别活化,成为抗肿瘤免疫反应的关键。

### 4.1 肿瘤抗原特异性免疫治疗

肿瘤特异性免疫治疗(SAIT)是将处理过的自体肿瘤或异体肿瘤制成的疫苗或基因工程疫苗给患者进行免疫接种,激发宿主自身对肿瘤的特异性细胞免疫或体液免疫反应,增强机体的抗瘤能力,以阻止肿瘤的生长扩散和复发。疫苗主要包括肿瘤细胞疫苗、肿瘤相关抗原疫苗和分子疫苗。

### 4.2 肿瘤相关抗原疫苗

肿瘤相关抗原疫苗是目前疫苗研究的一个热



点。通过修饰肿瘤细胞、分离提纯膜组分及 TAA、人工合成多肽 TAA, 以及构建表达 TAA 的重组病毒等方法在不同水平上制备疫苗, 以增强 TAA 的免疫原性, 诱导出相对特异的抗肿瘤免疫应答。Marchand<sup>[18]</sup>等给已经转移的黑色素瘤病人注射 Mage 基因的表达产物可诱导出较强的免疫反应和引起肿瘤退化。体外实验也证实 Mage 表达的产物在免疫治疗中的可行性, Mage 基因产物能成功地诱导出特异性的 CTL。用合成的 MageA-1 九肽致敏的 APC 做疫苗免疫表达 MageA-1 基因 HLA-A1 阳性的黑色素瘤病人, 也能引起九肽特异性 CTL, 这种现象在免疫接种部位和转移灶部位都已观察。Ye J 等<sup>[19]</sup>利用热休克蛋白(Hsp)70 基因与 MageA-1 基因联合做成 DNA 疫苗, 在体内能产生抗肿瘤特异性免疫反应。

#### 4.2.1 构建 TAA 重组病毒

利用构建 TAA 的重组病毒方法也取得了进展。肿瘤细胞被病毒感染后, 其表面存在病毒抗原, 可加强肿瘤相关抗原的免疫原性。朱光辉等<sup>[20]</sup>构建出的重组腺相关病毒 rAAV-PEG-MDA-7 表达系统具有良好的肿瘤靶向性, 通过抑制肝癌细胞增殖和诱导其凋亡发挥抗肝癌作用, 全身系统性给药可抑制肿瘤生长, 免疫组化结果均显示转染的 MDA-7 基因可在肿瘤组织中强表达。石敏等<sup>[21]</sup>构建了 rAAV/CEA 质粒, 制备的病毒在 DC 中存在较高的表达水平以及转染水平, 他们从靶细胞的杀伤实验中发现, rAAV/CEA 转染组激活的 CTL 对 CEA 阳性表达的 LoVo 细胞具有明显的杀伤活性。然而, 在构建 TAA 的重组病毒时, 所选择的病毒的安全性和有效性至今仍是一个难题, 这也是限制了 TAA 重组病毒在临床应用的关键。

肿瘤抗原被提呈给 T 细胞后, 可诱导机体的免疫反应, 再通过增加肿瘤抗原的免疫原性, 或增加抗原与 MHC 分子的结合能力以及各种免疫佐剂, 包括各种淋巴因子的应用等设法放大这种特异性的免疫反应。根据已筛选出的肿瘤抗原表位, 人工合成这些抗原短肽。癌基因蛋白抗原肽、致癌病毒基因抗原肽、肿瘤特异性抗原肽和组织特异性分化抗原肽等抗原肽在与 MHC 类分子结合后, 提呈到细胞表面被相应 T 细胞受体识别, 从而激活细胞毒性 T 淋巴细胞的活性, 使机体产生特异性抗肿瘤免疫应答。

#### 4.2.2 抗原肽

肿瘤抗原基因在细胞内经过一系列的加工形成肿瘤抗原肽, 该抗原肽与 MHC-I 类分子匹配后, 提

呈到细胞表面被相应的 T 细胞受体(TCR)识别, 组成抗原肽 2MHC2TCR 复合物, 从而激活 CTL 效应。Disis 等<sup>[22]</sup>从 p185 蛋白中选出 3 条肽段进行合成, 最终认定其中 aa42~56 和 aa783~797 为 T 细胞所识别的抗原表位。Nijman 等<sup>[23]</sup>从 p185 蛋白中筛选出 10 条多肽, 并合成了其中的 4 条, 证实可被人 TCR 识别并激发特异性 CTL 活性, 导致癌细胞溶解。马云龙等<sup>[24]</sup>发现胸腺肽  $\alpha 1$ (T $\alpha 1$ )可促进 DC 分化成熟并能增强 LyDC 诱导的 CD4+Th1 细胞反应和 CTL 的杀伤效应。在临床试验中胸腺肽疫苗不仅可以增强抗原肽本身的免疫性和 DC 细胞的递呈作用, 而且是增强各种免疫活性因子的活性。Eisenbach<sup>[25]</sup>在应用 MAGE-1 肽疫苗治疗黑色素瘤时发现, 有高剂量的白介素-2(IL-2)存在可以增强免疫效能。

尽管肽疫苗在体外实验中能够诱导出特异性的 CTL, 但是由于肽疫苗的应用前提是 MHC2 I 或 II 类分子限制性的, 每一种疫苗需要的 MHC 分子存在差异, 而不同的 MHC 分子在人群中的分布又是差别很大的, 因此扩大特异性的肽疫苗的应用范围还存在着许多挑战。

#### 4.2.3 HSP-肿瘤抗原肽复合物疫苗的抗肿瘤作用

热休克蛋白是一类在生物进化中高度保守的、广泛存在于原核和真核细胞中的分子伴侣, 且同一个体间还未存在多态性差异<sup>[26]</sup>。Tamura<sup>[27]</sup>利用多种肿瘤的 HSP-抗原复合物用于治疗荷瘤小鼠的研究, 结果发现 HSP-抗原肽复合物可以有效抑制肿瘤生长, 某些小鼠甚至出现肿瘤完全消退。研究发现来源于 T26 肿瘤细胞的含 HSP110 和 gp170 的 HSP-抗原肽复合物在免疫保护模式中可诱导肿瘤特异的 CTL 反应, 呈现出有效的抗肿瘤作用。有研究报道低分子量 HSP 和肿瘤相关抗原复合物, 对化学诱导的鼠结肠、皮肤和乳腺的肿瘤有预防和治疗作用<sup>[28]</sup>。马杰等<sup>[29]</sup>发现在毕赤酵母中重组表达的 rhHSP70 可以在体外与一定的抗原肽非共价结合形成复合物, 该复合物具有较强的诱导特异性 CTL 的能力, 可对实验鼠的乳腺癌起到明显的治疗作用。可见肿瘤组织来源的多种热休克蛋白的 HSP-抗原肽复合物, 在免疫保护和免疫治疗模式中均可以诱导特异性的 CTL 反应, 呈现有效的抗肿瘤效应。

## 5 结束语

虽然肿瘤免疫学中肿瘤逃逸机体免疫监视的机制和机体抗肿瘤的免疫学机制需要继续探讨, 肿瘤

的免疫诊断和免疫治疗方面的难题也有待于解决,但是随着分子生物学、生物工程、肿瘤免疫学的发展,以及对已筛选抗原结构和功能的深入研究,丰富了肿瘤抗原加工、呈递和识别的基础知识。在未来的几十年中,肿瘤抗原在肿瘤免疫治疗中必定发挥着重要的作用。

#### 参考文献:

- [1] Van-der-Bruggen P, Traversari C, Boon T, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma[J]. *Science*, 1991, 254(5038):1643-1647.
- [2] Traversari C, Van-der-Bruggen P, Luescher IF, et al. A nonapeptide encoded by human gene MAGE-1 is recognized on HLA-A1 by cytolytic T lymphocytes directed against tumor antigen MZ2-E[J]. *J Exp Med*, 1992, 176:1453-1457.
- [3] Sahin U, Tureci O, Pfreundschuh M, et al. Human neoplasms elicit multiple specific immune responses in the autologous host[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(25):11810-11813.
- [4] Line A, Stengrevics A, Slucka Z, et al. Serological identification and expression analysis of gastric cancer-associated genes[J]. *Br J Cancer*, 2002, 86(11):1824-1827.
- [5] Line A, Slucka Z, Stengrevics A, et al. Characterisation of tumour-associated antigens in colon cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2002, 51:574-582.
- [6] Boon T, Cerottini JC, Van den Eynde B, et al. Tumor antigens recognized by T lymphocytes[J]. *Annu Rev Immunol*, 1994, 12:337-365.
- [7] Tureci O, Sahin U, Pfreundschuh M. Serological analysis of human tumor antigens: Molecular definition and implication[J]. *Mol Med Today*, 1997, 3(8):342-349.
- [8] Boon T, Van der Bruggen P. Human Tumor antigens recognized by T lymphocytes[J]. *J Exp Med*, 1996, 183(3):725-729.
- [9] Renkvist N, Castelli C, Robbins PF, et al. A listing of human tumor antigens recognized by T cells[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2001, 50(1):3-15.
- [10] Jungbluth A A, Busam K J, Kolb D, et al. Expression of MAGE-anti-gen in normal tissues and cancer[J]. *Int J Cancer*, 2000, 85(4):460-465.
- [11] George D Leikauf, Michael T Borchers, Daniel R Prows. Mucin apoprotein expression in COPD [J]. *Chest*, 2002, 121(5Suppl):166s-182s.
- [12] 罗军, 靳风烁. 肿瘤的免疫逃逸机制研究进展[J]. *肿瘤防治研究*, 2004, 31(7):454-456.
- [13] 陈慰峰. 医学免疫学[M]. 第三版. 北京:人民卫生出版社, 2000:230-231.
- [14] 杨镇. 肿瘤免疫学[M]. 武汉:湖北科学出版社, 1998:142.
- [15] 徐林. 树突状细胞在非小细胞肺癌治疗中的研究进展[J]. *实用癌症杂志*, 2009, 24(4):427-431.
- [16] 俞清翔. 转化生长因子 $\beta$ 与肿瘤转移的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2006, 14(25):2538-2541.
- [17] Ghouaib S, Thiery J, Gati A, et al. Tumor escape from killing: Role of killer inhibitory receptors and requisition of tumor resistance to cell death[J]. *Tissue Antigens*, 2002, 60(4):273-281.
- [18] Marchand M, Punt C J, Aamdal S, et al. Immunisation of metastatic cancer patients with MAGE 3 protein combined with adjuvant SBAS 2: a clinical report[J]. *Eur J Cancer*, 2003, 39:70-77.
- [19] Ye J, Chen G S, Song H P, et al. Heat shock protein 70/MAGE-1 tumor vaccine can enhance the potency of MAGE1 specific cellular immune responses in vivo [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 9(53):825-834.
- [20] 朱光辉, 徐波, 夏金堂, 等. 重组腺相关病毒介导黑色素瘤分化相关基因7对人肝癌细胞体内外抑制效应的研究[J]. *现代临床医学生物工程学杂志*, 2007, 13(2):74-78.
- [21] 石敏, 罗荣城, 郑大勇, 等. 重组腺相关病毒介导癌胚抗原基因转染树突状细胞的抗肿瘤作用研究[J]. *解放军医学杂志*, 2007, 32(12):1274-1277.
- [22] Disis M L, Calenoff E, McLaughlin G, et al. Existent T-cell and antibody immunity to HER-2/neu protein in patients with breast cancer[J]. *Cancer Res*, 1994, 54:16-20.
- [23] Nijman H W, Houbiers J G A, Vierboom M P M, et al. Identification of peptide sequences that potentially trigger HLA-A2.1-restricted cytotoxic T lymphocytes [J]. *Eur J Immunol*, 1993, 23:1215-1219.
- [24] 马云龙, 郑铮, 李保东, 等. 胸腺肽 $\alpha 1$ 联合DC疫苗对结肠癌体内外抗肿瘤的效应[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2007, 23(11):1046-1049.
- [25] Eisenbach L, Bar-Haim E, El-Shami K. Antitumor vaccination using peptide based vaccines [J]. *Immunology Letters*, 2000, 74(1):27-34.
- [26] 罗荣城, 曹梦苒. 肿瘤疫苗在肿瘤治疗中的应用前景[J]. *中国处方药*, 2007, 04:57-60.
- [27] Tamura Y, Peng P, Liu K, et al. Immunotherapy of tumors with autologous tumor-derived heat shock protein preparations [J]. *Science*, 1997, 278(5335):117-120.
- [28] Zusman I, Kossoy G, Ben-Hur H. Soluble low-molecular-mass heat shock protein and tumor-associated antigens in prevention and therapy of chemically-induced cancers[J]. *In Vivo*, 2001, 15(6):529-534.
- [29] 马杰, 蒋春晓, 焦平, 等. 重组人热休克蛋白70-抗原肽复合物对肿瘤的免疫治疗作用研究[J]. *中国肿瘤临床*, 2008, 35(5):285-289.

(责任编辑:韦廷宗)