

· 综述 ·

肿瘤细胞免疫原性死亡研究进展

鞠小丽*, 刘霞

江苏大学医学院病理教研室, 江苏 镇江 212013

[摘要] 某些化疗药物在诱导肿瘤细胞发生凋亡的同时还能诱导肿瘤细胞产生免疫原性死亡,通常具有更好的治疗效果。该过程主要为发生凋亡的肿瘤细胞上调某些特征蛋白(如钙网蛋白、高迁移率族蛋白B1)在细胞表面表达,从而诱导未成熟的树突细胞发育为成熟的树突细胞,并将肿瘤抗原提呈给细胞毒性T细胞,最终激活肿瘤特异性毒性T细胞杀伤肿瘤细胞,达到更好的治疗效果。对肿瘤免疫原性死亡的研究将为肿瘤治疗提供新的方法和手段,为肿瘤免疫研究提供新思路。

[关键词] 免疫原性死亡;钙网蛋白;高迁移率族蛋白B1;三磷酸腺苷;免疫原性死亡诱导剂

[中图分类号] R392

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2020)07-1070-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20200728

Progress in immunogenic cancer cell death

JU Xiaoli*, LIU Xia

Department of Pathology, School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

[Abstract] Certain chemotherapeutic drugs can elicit immunogenic cell death while inducing apoptosis of tumor cells. Generally, they have better therapeutic effects. This procedure is mainly characterized by up-regulation of certain characteristic protein molecules, such as calreticulin(CRT), high mobility group box 1(HMGB1), on the surface of apoptotic cells. These proteins can induce immature dendritic cells to maturation and present tumor antigens to cytotoxic T cells. Eventually, activated tumor-specific cytotoxic T cells kill tumor cells and ultimately achieve better therapeutic effects. The study of tumor immunogenic cell death will provide new methods and approaches for tumor treatment, and provide new ideas for tumor immunity study.

[Key words] immunogenic cell death; calreticulin; HMGB1; ATP; ICD inducer

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(07): 1070-1073]

化学药物治疗肿瘤过程中,药物可通过诱导肿瘤细胞发生凋亡或其他程序性死亡来发挥抑制肿瘤生长的作用^[1]。长期以来人们认为凋亡的肿瘤细胞是非免疫原性和免疫耐受性的,但最近大量研究表明一些凋亡的肿瘤细胞还具有免疫原性^[2]。这些凋亡的肿瘤细胞能诱导具有免疫原性的蛋白分子在细胞表面表达,随后激发机体抗肿瘤免疫反应并诱导细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL),更有效地杀伤肿瘤细胞,从而达到更理想的抗肿瘤

作用,这一现象被称为肿瘤细胞免疫原性死亡(immunogenic cell death, ICD)^[3-5]。因此能否诱导肿瘤细胞发生免疫原性死亡,是影响治疗效果的重要因素之一。

1 免疫原性死亡机制

某些化疗药物或放射性治疗肿瘤时,肿瘤细胞可发生免疫原性细胞死亡^[6-7]。该过程主要机制为化疗药物或放疗诱导肿瘤细胞发生凋亡的同时会上调某些特征性的蛋白分子如钙网蛋白在凋亡细胞表面表达,这些特征性的蛋白提高了树突细胞(dendritic cell, DC)对肿瘤的认识和抗原提呈的能力,刺激DC细胞成熟后激活肿瘤特异性CTL对肿

[基金项目] 国家自然科学基金(81502621, 81502088)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: xiaoliju2015@ujs.edu.cn

瘤的攻击,刺激白细胞介素(interleukin, IL)-2、IL-4及干扰素(interferon, INF)- γ 释放,从而形成了更理想的抗肿瘤治疗效果。目前认为肿瘤细胞免疫原性死亡的3个标志事件分别为:①钙网蛋白(calreticulin, CRT)暴露在肿瘤细胞表面^[4,8-9];②高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)释放到肿瘤细胞外^[10-11];③肿瘤细胞内三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)释放到细胞外。缺失任何一个条件,化疗药物都很难诱导产生免疫原性细胞死亡^[12-13](图1)。

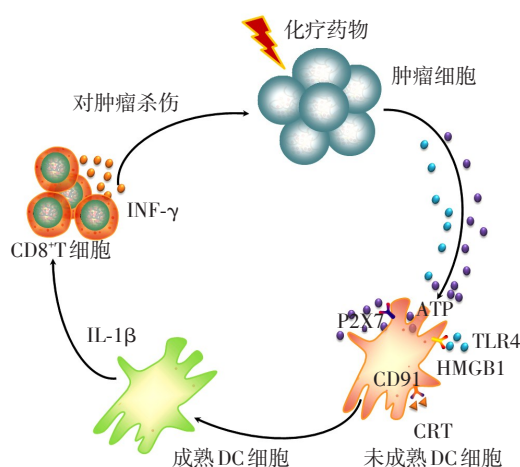


图1 肿瘤细胞免疫原性死亡

Figure 1 Immunogenic cancer cell death

2 肿瘤细胞免疫原性死亡中的标志事件

CRT是一种Ca²⁺结合伴侣蛋白,在内质网中CRT具有伴侣活性和Ca²⁺稳态调节功能^[14]。CRT在内质网外还参与蛋白质合成的质量控制以及细胞增殖、迁移、黏附和核转运^[15]。Casares等^[16]研究发现,化疗药物诱导CRT向细胞表面移位途径依赖于PERK(也称为EIF2AK3)介导的真核起始因子2 α (eIF2 α)磷酸化。CRT暴露的途径取决于发生暴露的凋亡阶段,即取决于细胞是处于凋亡前期(没有磷脂酰丝氨酸外化和没有质膜透化)、早期凋亡阶段(磷脂酰丝氨酸外化但没有质膜透化)或中晚期凋亡阶段(血浆膜透化)。

研究发现肿瘤细胞发生凋亡时能诱导细胞内ATP释放到细胞外,这种释放到细胞外的ATP能促进吞噬细胞对凋亡细胞的吞噬,激发特异性抗肿瘤免疫杀伤效应,提示细胞外ATP在肿瘤免疫治疗中的潜在应用价值。Martins等^[17]发现鬼臼乙叉苷、丝裂霉素C、奥沙利铂等多种化疗药物在诱导肿瘤细胞凋亡时都能诱导ATP释放到细胞外,并且ATP的

释放先于细胞凋亡发生。这些释放到胞外的ATP在调节免疫细胞浸润中可能有以下3个作用:①ATP作为一个重要的趋向因子招募免疫效应细胞如DC或未成熟DC细胞到死亡的肿瘤细胞附近。②ATP作为营养因子使招募的DC细胞在死亡的肿瘤细胞附近存活;③ATP能促进未成熟DC细胞分化为成熟的DC细胞,从而行使抗原提呈功能^[18]。已有研究报道凋亡细胞释放ATP后与单核细胞表面的嘌呤受体P2Y2受体结合,从而将单核细胞募集到细胞凋亡部位。药物诱导凋亡的肿瘤细胞释放的ATP还可结合DC细胞表面的P2X7受体,并活化NALP3炎性体诱导白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 的释放来激活CTL^[19]。

HMGB1是一种染色体结合蛋白,在细胞坏死过程中从细胞核释放,是一种与炎症反应相关的细胞因子。HMGB1可以和多种受体结合,如Toll样受体(Toll like receptor, TLR)4和TLR2。HMGB1一方面能和抗原递呈细胞上的TLR4受体结合后抑制肿瘤发展^[10];另一方面释放到细胞外的HMGB1能和DC细胞上的TLR4结合后通过MYD88通路刺激DC细胞成熟并将肿瘤抗原递呈给CTL^[20]。

3 ICD诱导剂的鉴定和分类

一些常见的化疗药物如奥沙利铂、米托蒽醌和阿霉素等在诱导肿瘤细胞发生凋亡的同时能产生免疫原性死亡。然而并不是所有的化疗药物都能诱导肿瘤细胞产生免疫原性死亡,如衣霉素、丝裂霉素C和顺铂等药物并不能产生免疫原性死亡^[4]。这说明我们并不能根据化疗药物的化学结构来预测该药物是否为ICD诱导剂。目前鉴定是否为ICD诱导剂的唯一金标准为疫苗接种实验^[21]。该方法主要是通过诱导剂体外刺激小鼠肿瘤细胞发生凋亡后收集死亡细胞,随后接种这些细胞于小鼠的背部一侧。接种细胞1周后再接种相同的未处理的小鼠肿瘤细胞于小鼠背部另一侧。另一侧肿瘤生长得到抑制的诱导剂即为ICD诱导剂^[22]。Casares等^[16]首次报道了用阿霉素doxorubicin处理小鼠结肠癌CT26细胞发生凋亡后接种BALB/c小鼠,接种1周后在小鼠另一侧接种未做任何处理的CT26活细胞,最后发现能抑制另一侧肿瘤细胞生长。随后研究发现多种化疗药物都具有相同的功能。通过该方法发现一些化学治疗剂如蒽环类抗生素和奥沙利铂都能导致免疫原性死亡^[4,23]。随后陆续发现一些癌症治疗方式包括放射治疗、溶瘤病毒疗法和光动

力学治疗也能导致免疫原性死亡^[24]。

这些ICD诱导剂可分为两类: I型ICD诱导剂和II型ICD诱导剂,两者的本质区别在于是否通过内质网压力来诱导细胞死亡^[25]。目前大多数已知的ICD诱导剂都为I型诱导剂。I型诱导剂主要通过作用于以下3个靶标来诱导肿瘤细胞死亡。①细胞膜跨膜或通道蛋白,如7A7和强心苷。②DNA复制和修复机制蛋白,如蒽环类、米托蒽醌、奥沙利铂、短波紫外线UVC照射、放疗和环磷酰胺。③细胞质蛋白如紫草素和硼替佐米。这些诱导剂并非直接通过内质网相关的靶点方式诱导细胞凋亡。相反,II型ICD诱导剂主要以内质网为靶点通过改变内质网内的平衡和诱导内质网压力改变方式诱导细胞死亡并引发免疫原性死亡,如光动力学治疗。通常II型ICD诱导剂能诱导肿瘤细胞通过内质网方式释放更多的损伤相关的分子模式(damage associated molecular pattern molecules, DAMPs),因此II型ICD诱导剂是一种更有效的诱导剂^[3,26]。

4 临床上已经应用的ICD诱导剂

在临床应用中,到目前为止,只有少数临床相关药物已被证明引发真正的ICD^[27]。这些药物包括:①阿霉素和蒽环类药物,这些药物已用于治疗急性骨髓性白血病、乳腺癌、胃癌、淋巴瘤、卵巢癌、小细胞肺癌等癌症^[28];②表阿霉素,一种许可用于乳腺癌患者的蒽环类药物;③伊达比星,一种目前用于治疗急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML)的蒽环类药物;④米托蒽醌,被批准用于AML、乳腺癌、非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)和前列腺癌患者;⑤博来霉素,被用于治疗睾丸癌、头颈部、宫颈和外阴的鳞状癌姑息性治疗的糖肽抗生素;⑥万珂硼替佐米,用于多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)和套细胞淋巴瘤患者的蛋白酶体抑制剂;⑦奥沙利铂,与5-氟尿嘧啶和亚叶酸组合使用,用于晚期结直肠癌的治疗^[29-30]。

这些临床上应用的ICD诱导剂在癌症治疗中的效果往往比非ICD诱导剂更为明显^[31]。然而目前发现只有很少的一部分诱导剂在临床中能诱导产生免疫原性死亡。当前迫切需要发现更多的能产生免疫原性死亡的化疗药物。

5 小结和展望

目前发现化疗药物、放疗以及光动力学治疗过程中都能诱导肿瘤细胞产生免疫原性死亡。随着

研究的进展,将会发现越来越多的化疗药物能诱导肿瘤细胞产生免疫原性死亡。充分利用这些治疗方法将会为癌症治疗提供更有效的治疗手段。但目前在临床应用中仍然存在很多问题:①鉴定化疗药物能诱导免疫性死亡的新方法还有待开发,现有的鉴定方法比较单一且受到物种的限制。迫切需要开发高通量筛选的方法^[13,32]。②临床中能诱导免疫原性死亡的药物还是少部分,需要开发新方法来发现更多可用于临床的诱导免疫原性死亡的化疗药物。③联合治疗诱导肿瘤细胞发生免疫原性死亡的方法需要去开发应用^[5]。通过解决这些问题,对肿瘤细胞免疫原性死亡的分子机制进行深入的了解,为新型药物的开发和应用奠定基础,为癌症的临床治疗提供新思路和方法。

[参考文献]

- [1] GALLUZZI L, VITALE I, AARONSON S A, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(3):486-541
- [2] WALLACH D, KOVALENKO A. Keeping inflammation at bay[J]. Elife, 2014, 3:e02583
- [3] KRYSKO D V, GARG A D, KACZMAREK A A, et al. Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy[J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(12):860-875
- [4] OBEID M, TESNIERE A, GHIRINGHELLI F A, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death[J]. Nat Med, 2007, 13(1):54-61
- [5] WU J J, WAXMAN D J. Immunogenic chemotherapy: Dose and schedule dependence and combination with immunotherapy[J]. Cancer Lett, 2018, 419:210-221
- [6] ZHANG J, SHEN L, LI X, et al. Nanoformulated codelivery of quercetin and alantolactone promotes an antitumor response through synergistic immunogenic cell death for microsatellite - stable colorectal cancer [J]. ACS Nano, 2019, 13:12511-12524
- [7] SUZUKI Y, MIMURA K, YOSHIMOTO Y, et al. Immunogenic tumor cell death induced by chemoradiotherapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. Cancer Res, 2012, 72(16):3967-3976
- [8] PANARETAKIS T, KEPP O, BROCKMEIER U A, et al. Mechanisms of pre-apoptotic calreticulin exposure in immunogenic cell death[J]. EMBO J, 2009, 28(5):578-590
- [9] COLANGELO T, POLCARO G, ZICCARDI P, et al. The miR-27a-calreticulin axis affects drug-induced immunogenic cell death in human colorectal cancer cells[J]. Cell Death Dis, 2016, 7:e2108
- [10] APETOH L, GHIRINGHELLI F, TESNIERE A A, et al.

- Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy [J]. *Nat Med*, 2007, 13(9):1050-1059
- [11] YAMAZAKI T, HANNANI D, POIRIER-COLAME V, et al. Defective immunogenic cell death of HMGB1-deficient tumors: compensatory therapy with TLR4 agonists [J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(1):69-78
- [12] MARTINS I, KEPP O, SCHLEMMER F, et al. Restoration of the immunogenicity of cisplatin-induced cancer cell death by endoplasmic reticulum stress [J]. *Oncogene*, 2011, 30(10):1147-1158
- [13] BEZU L, GOMES-DE-SILVA L C, DEWITTE H A, et al. Combinatorial strategies for the induction of immunogenic cell death [J]. *Front Immunol*, 2015, 6:187
- [14] 卢秀真,周作民,黄晓燕,等. 钙网蛋白 calreticulin 在小鼠睾丸中的表达及意义 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2010, 30(9):1219-1222
- [15] GOLD L I, EGGLETON P, SWEETWYNE M T, et al. Calreticulin: non-endoplasmic reticulum functions in physiology and disease [J]. *FASEB J*, 2010, 24(3):665-683
- [16] CASARES N, PEQUIGNOT M O, TESNIERE A, et al. Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death [J]. *J Exp Med*, 2005, 202(12):1691-1701
- [17] MARTINS I, TESNIERE A, KEPP O, et al. Chemotherapy induces ATP release from tumor cells [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(22):3723-3728
- [18] MA Y, ADJEMIAN S, MATTAROLLO S R, et al. Anticancer chemotherapy-induced intratumoral recruitment and differentiation of antigen-presenting cells [J]. *Immunity*, 2013, 38(4):729-741
- [19] GHIRINGHELLI F, APETOH L, TESNIERE A, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome in dendritic cells induces IL-1beta-dependent adaptive immunity against tumors [J]. *Nat Med*, 2009, 15(10):1170-1178
- [20] SAENZ R, FUTALAN D, LEUTENEZ L, et al. TLR4-dependent activation of dendritic cells by an HMGB1-derived peptide adjuvant [J]. *J Transl Med*, 2014, 12:211
- [21] MICHAUD M, MARTINS I, SUKKURWALA A Q, et al. Autophagy-dependent anticancer immune responses induced by chemotherapeutic agents in mice [J]. *Science*, 2011, 334(662):1573-1577
- [22] KEPP O, SENOVILLA L, VITALE I, et al. Consensus guidelines for the detection of immunogenic cell death [J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3(9):e955691
- [23] TESNIERE A, SCHLEMMER F, BOIGE V, et al. Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin [J]. *Oncogene*, 2010, 29(4):482-491
- [24] WANG Q, JU X, WANG J, et al. Immunogenic cell death in anticancer chemotherapy and its impact on clinical studies [J]. *Cancer Lett*, 2018, 438:17-23
- [25] DUDEK A M, GARG A D, KRYSKO D V, et al. Inducers of immunogenic cancer cell death [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2013, 24(4):319-333
- [26] RADOGNA F, DIEDERICH M. Stress-induced cellular responses in immunogenic cell death: Implications for cancer immunotherapy [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 153(S1):12-23
- [27] LIU P, ZHAO L W, POL J, et al. Crizotinib-induced immunogenic cell death in non-small cell lung cancer [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):1486
- [28] 周旭婕,吴靓,朱磊,等. RNPC1 基因对乳腺癌细胞 MCF-7 阿霉素药物敏感性的影响 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(9):1099-1103
- [29] POL J, VACCHELLI E, ARANDA F, et al. Trial watch: immunogenic cell death inducers for anticancer chemotherapy [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(4):e1008866
- [30] GARG A D, MORE S, RUFO N, et al. Trial watch: Immunogenic cell death induction by anticancer chemotherapeutics [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(12):e1386829
- [31] KEPP O, ZITVOGEL L, KROEMER G. Clinical evidence that immunogenic cell death sensitizes to PD-1/PD-L1 blockade [J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(10):e1637188
- [32] SUKKURWALA A Q, ADJEMIAN S, SENOVILLA L A, et al. Screening of novel immunogenic cell death inducers within the NCI mechanistic diversity set [J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3(4):e28473

[收稿日期] 2019-11-07