

·综述 General review·

经肝动脉化疗栓塞与树突状细胞治疗肝癌对机体免疫功能的影响

刘 松, 孟冉冉, 张跃伟

【摘要】 肝动脉化疗栓塞术(TACE)已成为不能手术切除的中晚期肝细胞癌的首选疗法。树突状细胞(dendritic cells, DC)是目前已知功能最强大的专职抗原呈递细胞,在抗肿瘤免疫中起到关键作用。随着肿瘤介入及免疫治疗的发展,TACE联合DC治疗肝癌逐渐成为研究热点,研究证实两者联合治疗肝癌疗效显著,且对机体免疫功能有正向调节作用,展现了良好的前景。本文就TACE、DC及TACE联合DC治疗肝癌对机体免疫功能影响做一综述。

【关键词】 肝动脉化疗栓塞术; 树突状细胞; 肝癌; 免疫功能; 研究进展

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2014)-02-0181-04

TACE combined with dendritic cells for the treatment of hepatic cancers; its influence on patient's immune function LIU Song, MENG Ran-ran, ZHANG Yue-wei. Department of Interventional Therapy, Affiliated Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian 116001, China

Corresponding author: ZHANG Yue-wei, E-mail: zhangyuewei1121@sina.com

【Abstract】 Transcatheter arterial chemoembolization (TACE) has become the treatment of first choice for inoperable advanced hepatocellular carcinoma. Dendritic cell (DC) is now known as the most powerful specific antigen - presenting cell and it plays a very important role in anti - tumor immunity. With the development of interventional therapy and immune therapy, TACE combined with DC has become the hot topic in the research of liver cancer. Recent researches have indicated that the combination use of TACE and DC has remarkable curative effect and it carries positive influence on human's immune function, indicating that this technique has certain promising prospects. This paper aims to make a comprehensive review, focusing on the changes of immune function in patients with liver cancer after TACE, DC and TACE combined with DC treatment.(J Intervent Radiol, 2014, 23: 181-184)

【Key words】 transcatheter arterial chemoembolization; dendritic cell; liver cancer; immune function; research progress

原发性肝细胞癌(HCC)是常见恶性肿瘤,肝动脉化疗栓塞术(TACE)可以有效控制肿瘤生长和改善预后,作为治疗不能手术切除的HCC的首选方法已得到广泛的应用^[1-2]。

研究表明,TACE术后,体内的肿瘤细胞是不可能完全清除的,残存的肿瘤细胞进入血液循环,在机体免疫功能相对低下时再次复发^[3]。而肿瘤免疫治疗的根本原则是激发或调动肿瘤患者机体免疫,

抗肿瘤免疫力得到增强,最终达到控制和杀伤肿瘤细胞的目的^[4]。树突状细胞(dendritic cells, DC)在机体抗肿瘤免疫中起到了极为关键的作用,以其为基础的肿瘤免疫疗法是目前肿瘤相关治疗中最有价值也最有前途的方法之一^[5-6]。

为了进一步提高TACE治疗肝癌的疗效,减少术后转移、复发,TACE联合免疫疗法治疗肿瘤成为研究的热门,尤其是联合应用中DC的使用。本文就TACE与DC治疗HCC对机体免疫功能影响做一综述。

1 TACE

1.1 TACE治疗HCC的机制

基金项目:大连市科技局项目(2010E15SF180)

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2014.02.023

作者单位:116001 大连大学附属中山医院介入科

通信作者:张跃伟 E-mail: zhangyuewei1121@sina.com

肝脏是机体双重血供器官之一,由肝动脉和门静脉组成供血,正常肝组织主要血供来源于门静脉(约为 70%),其余小部分血供来自肝动脉,而 HCC 组织血供 90%来源于肝动脉。TACE 选择性阻断肝动脉,肝脏肿瘤细胞最终出现缺血坏死,从而为 TACE 治疗提供了理论基础。

1.2 TACE 治疗对机体免疫功能的影响

TACE 是中晚期 HCC 重要的治疗方法,可显著延长患者生存期,这与机体免疫功能状态有密不可分的关系,TACE 疗效在机体免疫功能良好的情况下得到加强,复发率明显减少^[7]。但由于所观察的患者在机体状况、肿瘤大小和 TACE 治疗方法存在差异,观察结果也不尽相同。有关 TACE 对机体免疫功能影响的研究结果结论不一。

Varga 等^[8]认为 TACE 术后,HCC 患者肝脏的肿瘤病灶并非完全发生坏死,未发生坏死的肿瘤病灶达到 90%,这与机体 TACE 干预后免疫功能下降相关。王惠文等^[9]对 HCC 患者行 TACE 术后肿瘤组织中 FAK、NF- κ Bp65 表达水平进行检测,结果发现行 TACE 后残癌组织中 FAK、NF- κ Bp65 表达明显升高,并认为其是 TACE 术后肿瘤高复发的原因之一。刘晓芬等^[10]研究发现,HCC 患者外周血中 T 淋巴细胞亚群比例在行 TACE 之后是发生改变的,表现为总 T 淋巴细胞、辅助性 T 淋巴细胞及自然杀伤细胞数量显著下降,而抑制性 T 淋巴细胞则反常的回升,CD4+/CD8+比例失调,最终对有杀伤活性的 T 淋巴细胞产生过程抑制,证实 HCC 患者在介入术后免疫功能至少在初始阶段受抑制,并认为这种抑制与术中应用的化疗药物血管内注射密切相关。韩亚琴等^[11]研究发现中晚期 HCC 患者 T 淋巴细胞亚群及红细胞免疫功能低下,TACE 治疗后机体免疫功能下降,提示我们在对中晚期 HCC 行 TACE 治疗之后应重视提高细胞免疫功能治疗。

Xiong 等^[12]对 33 例肝癌患者于术前、术后 7 d、术后 1 个月抽取外周血样标本,应用流式细胞仪测定调节性 T 细胞(Treg)数量,发现术前、术后 7 d Treg 细胞数量无明显变化,术后 1 个月才测到该细胞数量降低,表明 TACE 在短时间内并未显著改变 HCC 患者自身存在的免疫功能抑制状态,提示 TACE 术后患者抗肿瘤免疫的恢复需要在一定时间内缓慢恢复。倪全法等^[13]利用 TACE 治疗 HCC 患者后,发现治疗后 1、2 周的 CD3+、CD4+、CD4+/CD8+水平低于治疗前,而 3、4 周的 CD3+、CD4+、CD4+/CD8+水平明显回升。

有学者提出,肿瘤细胞灭活后存留于体内,形成“肿瘤细胞疫苗”,能诱导细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)产生,增强机体免疫功能^[14]。曹玮等^[15]观察热灌注栓塞治疗 HCC 对机体 T 淋巴细胞亚群的影响,发现治疗后外周血中 CD3+、CD4+、CD4+/CD8+及 NK 细胞明显高于非热疗组,提示经肝动脉热化疗栓塞对机体的免疫功能有一定的激活作用。廖娟等^[16]研究发现 TACE 能纠正 HCC 患者存在的机体免疫功能低下,使其部分恢复。

2 DC

2.1 DC 抗肿瘤机制及与 HCC 的关系

DC 是具有树突状(树枝状)形态、高表达 MHC-I、II 类分子、可移行至淋巴器官刺激初始型(处女型)T 细胞活化、增殖的一类细胞,其表面具有相对特异性的标志分子。DC 起源于造血干细胞,广泛分布于除脑外的全身各脏器,这些 DC 大多以不成熟状态存在,但具有极强的抗原摄取、加工能力。这些不成熟的 DC 在摄取抗原后逐步分化趋向成熟,由外周组织通过淋巴管引流迁移至次级淋巴器官。成熟 DC 基本失去了摄取和抗原加工提呈的功能,但其特征性的高表达主要组织相容性复合体(MHC)I 类、II 类分子,CD80、CD86 等共刺激分子以及 CD40、CD44 等黏附因子等,因而在淋巴器官中的 T 细胞区域,DC 可以有效的将抗原呈提给抗原特异性 T 细胞,充分的激活静息的 T 细胞,启动 T 细胞介导的特异性抗肿瘤免疫反应。另外,DC 自身也可以合成分泌一些细胞因子,如白细胞介素-12(IL-12),从而诱导 T 细胞、NK 细胞产生大量的肿瘤坏死因子、穿孔素和端粒酶,使肿瘤细胞溶解,起到直接抗肿瘤的作用^[17-18]。

研究表明,HCC 患者在一定程度上存在免疫功能缺陷,与机体外周血中 DC 数量减少、功能降低有关^[19-20]。Basu 等^[21]发现,尽管 CD83 阳性 DC 在 HCC 与肝硬化患者外周血中测定值无明显差异,但 HCC 患者瘤周组织中 CD83 + DC 的测定值要显著低于肝硬化结节周围组织,最有意义的测量结果是肿瘤结节中心并未测到 DC 的浸润,说明正常肝组织癌变、发展与 DC 浸润异常有一定的联系。Ninomiya 等^[22]研究也提示,机体外周血 DC 混合淋巴细胞反应(MLR)过程在 HCC、肝硬化、健康人之间是存在差异的,HCC 患者在 DC 活化刺激 T 淋巴细胞能力,一些表面分子如 HLA-DR、CD83、CD86 表达能力及一些免疫调节因子如 IL-12 分泌能力均显著低

于后二者。DC 在肿瘤内部及瘤周数量减少、功能不全,此种改变严重影响了 DC 的抗原呈提功能、活化 T 淋巴细胞、激发抗肿瘤细胞免疫能力,从而导致免疫低能或免疫耐受,使肿瘤得以发生、发展^[23]。

2.2 DC 治疗 HCC 对机体免疫功能的影响

HCC 患者体内的 DC 异常,这些异常表现在数量上减少、功能上下降,正是这种异常导致了患者体内 HCC 相关抗原不能正常表达,抗肿瘤免疫过程受到干扰,结果是机体不能有效的发现异常,肿瘤得以发生发展。DC 疫苗之所以能够抗击肿瘤或许就是补偿了患者机体自身的这种缺陷,使得免疫杀伤过程得以正常启动,最终使抗肿瘤免疫得以实施。我们可以看到在基础实验及临床实践研究中 DC 疫苗被普遍应用,并取得了良好的疗效。王广伟等^[24]用肝脏肿瘤分离产物与 DC 细胞共培养使其致敏,随后将经过处理的 DC 回输治疗 HCC,免疫学方法测定 T 淋巴细胞活化增殖效应等指标,结果发现此方法有效地提高患者治疗的中远期疗效。张浩等^[25]报道小鼠肝癌 DC 融合瘤苗,不仅能显著增加肿瘤 TNF- α 、INF- γ 表达促进肿瘤凋亡,而且能抵抗肿瘤攻击,引发机体强烈的 CTL 反应。栾智勇等^[26]超声引导下 HCC 瘤内注射包括 DC 在内的多种抗肿瘤免疫细胞,治疗后 1 个月检测患者外周血 T 细胞各亚群,发现 CD3+ T 细胞、CD4+ T 细胞、CD4+/CD8+ 较治疗前显著升高,CD8+ T 细胞较前降低,肿瘤治疗疗效评估有效率达 55%。杜文贞等^[27]用携带 AFP 基因的重组腺相关病毒转染人 DC,处理后的 DC 具备了表达 AFP 能力,免疫相关表面分子分泌进一步加强,激活特异性的细胞免疫,诱导出抗 AFP 阳性 HCC 免疫应答。Mickiels 等^[28]应用肿瘤细胞特异性基因致敏 DC 获得疫苗的研究中,结果显示经此治疗的机体 DC 能够完全被该类抗原肿瘤活化,而增强了特异性的细胞毒性反应。

3 TACE 联合 DC 治疗 HCC

国外学者将自体外周血获得的 DC 体外扩增后经 TACE 术由导管输入肝内,结果发现肿瘤内及肿瘤周围的 DC 能够存活 17 d 左右,并伴单核、淋巴细胞的浸润,临床并未见任何血清学及自身免疫不良反应发生,充分证实 TACE 联合 DC 治疗 HCC 安全、高效,在应用前景上表现出了极大优势^[29-30]。

学者们采用不同的 DC 回输方式,并且制备不同的 DC 疫苗与 TACE 联合治疗 HCC 进行研究。许伟等^[31]对 15 例 HCC 患者行 TACE 治疗结束后,未

给予拔管处理而是将肝导管头置于腹腔干肝脏分支开口处,术后第 2 天经此通道回输 $\gamma\delta$ T 细胞、DC,另外取同等量 DC 悬液采用注射方式注入腋下、腹股沟浅表淋巴结内或周围皮下,双侧 4 点对称注射,T 淋巴细胞各亚群比例发生变化,CD3+、CD4+、CD3+CD56+ 阳性 T 淋巴细胞比率上升,而 CD8+ T 淋巴细胞则是下降的,结果提示此联合治疗对 HCC 患者免疫功能是显著改善的,改变了肿瘤机体自身存在的免疫抑制,这些变化可能使肿瘤复发、转移得到短暂遏止,患者生活治疗呈现了一定程度的提高。王福立^[32]应用 TACE 联合肝癌细胞抗原致敏的 DC-CIK 治疗不能行手术切除的中晚期 HCC,发现大多数患者一般情况得到显著改善,T 淋巴细胞亚群比例失调情况得到不同程度的改善,HCC 得到有效地控制。Nakamoto 等^[33]对 13 例经肝动脉栓塞治疗后的 HCC 患者注射链球菌源性抗肿瘤免疫治疗剂 OK432 刺激后的 DC 疫苗,发现 IL-9、IL-15、TNF- α 等细胞因子及 CCL4、CCL11 等趋化因子水平明显升高,抗肿瘤能力提高,其生存率明显延长。总之,TACE 联合 DC 治疗 HCC 对于机体免疫功能是有正向作用的。

TACE 联合 DC 治疗 HCC 展现了良好的前景^[34]。但目前仍存在着很多问题,如 TACE 栓塞剂、化疗药物的选择、DC 回输方式、剂量、次数等。但我们相信随着肿瘤介入及免疫的深入研究,TACE 联合 DC 将成为 HCC 安全度最高且最有效的综合治疗模式之一。

[参考文献]

- [1] 赵广生,张跃伟,刘影,等. 新型明胶海绵微粒 TACE 治疗原发性肝癌术后致肝脓肿三例及文献复习[J]. 介入放射学杂志, 2013, 22: 415 - 417.
- [2] 高嵩,朱旭,杨仁杰,等. TACE 联合奥沙利铂、氟尿嘧啶、亚叶酸钙肝动脉化疗治疗中晚期原发性肝癌 [J]. 介入放射学杂志, 2012, 21: 377 - 383.
- [3] 杨茂,郭志,司同国,等. 动脉化疗栓塞联合 CIK 细胞过继免疫治疗对中晚期肝癌患者免疫功能的影响[J]. 介入放射学杂志, 2011, 20: 116 - 119.
- [4] Monjaze AM, Hsiao HH, Sckisel GD, et al. The role of antigen - specific and non - specific immunotherapy in the treatment of Cancer[J]. J Immunotoxicol, 2012, 9: 248 - 258.
- [5] Vyas JM. The dendritic cell: the general of the army [J]. Virulence, 2012, 3: 601 - 602.
- [6] Radford KJ, Caminschi I. New Generation of dendritic cell vaccines[J]. Hum Vaccin Immunother, 2013, 9: [Epub ahead of print].

- [7] Hiroishi K, Eguchi J, Baba T, et al. Strong CD8 (+) T-cell responses against tumor - associated antigens prolong the recurrence-free interval after tumor treatment in patients with hepatocellular carcinoma [J]. J Gastroenterol, 2010, 45: 451 - 458.
- [8] Varga M, Valsanis A, Matia I, et al. Transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma [J]. Rozh Chir, 2009, 88: 434 - 438.
- [9] 王惠文, 刘瑞宝, 刘 岩, 等. 原发性肝癌 TACE 后 FAK、NF- κ Bp65 表达及意义[J]. 介入放射学杂志, 2011, 20: 621 - 624.
- [10] 刘晓芬, 宋 波, 纪雪红. 介入治疗对原发性肝癌患者 T 细胞亚群比例的影响 [J]. 放射免疫学杂志, 2010, 23: 599 - 600.
- [11] 韩亚琴, 鲁光平, 潘骥群, 等. 中晚期 HCC 患者 T 淋巴细胞亚群和红细胞免疫功能变化及介入治疗对其的影响[J]. 山东医药, 2012, 52: 59 - 61.
- [12] Xiong B, Feng G, Luo S, et al. Changes of CD4(+) CD25(+) regulatory T cells in peripheral blood in patients with hepatocellular carcinoma before and after TACE[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2008, 28: 645 - 648.
- [13] 倪全法, 王晓光, 陈徐艰, 等. 肝癌患者肝动脉化疗栓塞术后细胞免疫功能的动态变化及其临床意义 [J]. 中国药物与临床, 2011, 11: 906 - 907.
- [14] Wolfrum LA, Takahara M, Viley AM, et al. Clinical scale electroloading of mature dendritic cells with melanoma whole tumor cell lysate is superior to conventional lysate co-incubation in triggering robust in vitro expansion of functional antigen - specific CTL[J]. Int Immunopharmacol, 2013, 15: 488 - 497.
- [15] 曹 玮, 万 毅, 张洪新, 等. 热化疗栓塞影响中晚期肝癌患者机体免疫功能的研究 [J]. 中国医师杂志, 2009, 11: 176 - 178.
- [16] 廖 娟, 王春晖, 李 肖, 等. 经导管肝动脉化疗栓塞术对原发性肝癌患者细胞免疫及调节 T 细胞的影响[J]. 肝脏, 2011, 16: 198 - 201.
- [17] Joffre OP, Segura E, Savina A, et al. Cross - presentation by dendritic cells[J]. Nat Rev Immunol, 2012, 12: 557 - 569.
- [18] Nakamoto Y, Kaneko S. Dendritic cell-based immunotherapy for hepatocellular carcinoma[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2010, 37: 413 - 416.
- [19] Nagai H, Mukozu T, Matsui D, et al. Sorafenib prevents escape from host immunity in liver cirrhosis patients with advanced hepatocellular carcinoma[J]. Clin Dev Immunol, 2012: 607851.
- [20] Yu X, Xia W, Zhang T, et al. Enhanced cytotoxicity of IL-24 gene-modified dendritic cells co-cultured with cytokine-induced killer cells to hepatocellular carcinoma cells [J]. Int J Hematol, 2010, 92: 276 - 282.
- [21] Basu S, Bimder RJ, Suto R, et al. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF- κ B pathway[J]. Immunology, 2000, 12: 1539 - 1546.
- [22] Ninomiya T, Akbar SM, Masumoto T, et al. Dendritic cells with immature phenotype and defective function in the peripheral blood from patients with hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 1999, 31: 323 - 331.
- [23] Ma J, Usui Y, Takeuchi M, et al. Human uveal melanoma cells inhibit the immunostimulatory function of dendritic cells[J]. Exp Eye Res, 2010, 91: 491 - 499.
- [24] 王广伟, 顾元龙, 刘敏丰. 负载自身肿瘤裂解物的树突状细胞联合杀伤细胞对肝癌患者术后免疫功能的影响[J]. 中华普通外科杂志, 2012, 27: 337 - 338.
- [25] 张 浩, 郑树森, 蒋国平, 等. 小鼠肝癌树突状细胞融合瘤苗抗肿瘤作用的研究 [J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12: 648 - 651.
- [26] 梁智勇, 陈复兴, 徐永茂, 等. 超声引导下肝癌瘤体内注射抗肿瘤免疫效应细胞的临床研究[J]. 中国超声医学杂志, 2012, 28: 395 - 398.
- [27] 杜文贞, 于天霞. 重组腺相关病毒转导人树突状细胞体外诱导抗肝癌免疫应答 [J]. 中华医学杂志, 2011, 91: 2077 - 2080.
- [28] Michiels A, Breckpot K, Corthals J, et al. Induction of antigen-specific CD8+ cytotoxic T cells by dendritic cells co-electroporated with a dsRNA analogue and tumor antigen mRNA[J]. Gene Ther, 2006, 13: 1027 - 1036.
- [29] Nakamoto Y, Mizukoshi E, Tsuji H, et al. Combined therapy of transcatheter hepatic arterial embolization with intratumoral dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma: clinical safety[J]. Clin Exp Immunol, 2007, 147: 296 - 305.
- [30] 张 扬, 谭 岩, 刘 冰. DC-CIK 细胞治疗联合微创介入治疗原发性肝癌的临床研究[J]. 中国实用医药, 2012, 7: 103 - 104.
- [31] 许 伟, 徐 浩, 陈复兴, 等. TACE 联合树突状细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞治疗 HCC 患者的细胞免疫功能变化 [J]. 徐州医学院学报, 2008, 28: 694 - 697.
- [32] 王福立. 肝癌细胞抗原致敏的 DC-CIK 联合 TACE 治疗原发性肝癌的临床研究[D]. 济南: 山东大学, 2011: 1 - 52.
- [33] Nakamoto Y, Mizukoshi E, Kitahara M, et al. Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization[J]. Clin Exp Immunol, 2011, 163: 165 - 177.
- [34] Schmidt N, Büttner N, Thimme R. Perspectives on immunotherapy for hepatocellular carcinoma[J]. Dtsch Med Wochenschr, 2013, 138: 740 - 744.

(收稿日期:2013-06-27)

(本文编辑:俞瑞纲)