

细胞因子免疫疗法治疗神经母细胞瘤的研究进展

文 馨(综述) 蔡 宁 张铁军 陈兴栋 索 晨[△](审校)

(复旦大学公共卫生学院流行病学教研室 上海 200032)

【摘要】 神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是一种起源于交感神经系统的胚胎性肿瘤,发生于胎儿时期或出生后早期,是儿童最常见的颅外实体恶性肿瘤之一。细胞因子是一种多效性蛋白,能有效激活肿瘤的免疫细胞并抵消免疫抑制,从而抑制肿瘤。细胞因子免疫疗法通过自身对免疫系统的诱导和激活为免疫疗法的应用提供了更多可能性,在NB免疫治疗中也得到了广泛的研究。本文主要介绍几种基于细胞因子治疗NB患儿的免疫疗法的研究进展。

【关键词】 神经母细胞瘤(NB); 免疫治疗; 细胞因子

【中图分类号】 R730.51 **【文献标志码】** B **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2022.01.017

Advances in cytokine-based immunotherapy for neuroblastoma

WEN Xin, CAI Ning, ZHANG Tie-jun, CHEN Xing-dong, SUO Chen[△]

(Department of Epidemiology, School of Public Health, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Neuroblastoma (NB) is an embryonic tumor originating from the sympathetic nervous system. It occurs in the fetal period or early postnatal period and is one of the most common extracranial solid malignant tumors in children. Cytokines are pleiotropic proteins that effectively activate tumor cells and/or counteracts immunosuppression so as to inhibit tumors. Cytokine immunotherapy provides more possibilities for the application of immunotherapy through its own induction and activation of the immune system. This review describes several common cytokines and research advances in the treatment of NB children with cytokine-based immunotherapy.

【Key words】 neuroblastoma (NB); immunotherapy; cytokines

* This work was supported by the Shanghai Municipal Natural Science Foundation (20ZR1405600), Excellent Talent Project of Shanghai Municipal Three-year Action Plan for Public Health System Construction (GWV-10.2-YQ32), National Key R&D Program of China (2019YFC1315804), National Natural Science Foundation of China (82073637, 31600673, 91846302) and China-Poland Scientific and Technical Personnel Exchange Project (2021-12).

神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是一种起源于交感神经系统的胚胎性肿瘤,发生于胎儿时期或出生后早期,是儿童最常见的颅外实体恶性肿瘤之一。NB 占有儿童癌症病例的6%~10%,死亡病例占有儿童癌症相关死亡病例的9%~15%^[1]。国际 NB 分期系统(international neuroblastoma

staging system, INSS)根据预后因素将患者分为低、中和高风险组,不同风险组结局不同。非高风险组和高风险组 NB 患者的5年生存率分别为90%和50%,高风险组预后较差^[1]。

传统治疗包括化疗、原发性肿瘤的外科减瘤或切除、放疗、分化剂治疗(如13-顺式视黄酸)和自体

上海市自然科学基金(20ZR1405600);上海市公共卫生体系建设三年行动计划优秀人才项目(GWV-10.2-YQ32);国家重点研发计划(2019YFC1315804);国家自然科学基金(82073637, 31600673, 91846302);中国-波兰科技人员交流项目(2021-12)

[△]Corresponding author E-mail: suochen@fudan.edu.cn

网络首发时间:2021-12-20 10:05:17 网络首发地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20211217.0858.006.html

骨髓移植等^[2-4]。大多数高危NB儿童在诱导化疗后短时间内病情得到缓解,但是与不接受放疗的患者相比,转移部位接受放疗的患儿5年生存率无显著改善^[3-5]。许多患者在接受放/化疗后使用额外的巩固治疗(如手术切除)仍无法避免复发的可能,多达20%的高危NB患者诱导治疗无显著作用。手术切除虽然具有一定优势,但并未显著改善患者5年生存率^[5]。对于确诊时年龄在18个月或以上的晚期NB患者,原发肿瘤部位的手术对局部控制率和预后没有效果^[6]。

虽然这些传统的治疗方法对治疗结局起到一定的效果,但大多数高危NB患者有复发危险,且转移灶对多种药物耐药,因此寻找替代方法(如免疫疗法)是非常有必要的。肿瘤免疫疗法作为一种潜在的肿瘤治疗有效手段,通过激发或调动机体的免疫系统,增强肿瘤微环境抗肿瘤免疫力,从而控制和杀伤肿瘤细胞。免疫疗法和现代生物高科技技术结合,已发展成为继手术、化疗和放疗之后的第4种肿瘤治疗方法。

与NB相关的主要免疫疗法有细胞因子、树突状细胞疫苗、抗GD2抗体和异基因造血干细胞移植。抗GD2单抗类药物作为相对最成熟的免疫治疗手段,是NB治疗的研究热点之一。GD2是一类独特的、不依赖于T细胞的糖类抗原,大量散布在细胞膜外,以瘤胚抗原的形式存在。当前单克隆抗体chimeric 14.18(ch14.18)在临床上表现出良好的疗效,可以和抗GD2单抗药物协同使用的、基于细胞因子的免疫疗法同样具有良好的治疗前景。细胞因子免疫疗法通过自身对免疫系统的诱导和激活为免疫疗法的应用提供了更多可能性。本文综述了几类基于细胞因子的免疫疗法在NB患儿中的应用^[7-9]。

基于细胞因子的免疫疗法 细胞因子是相对分子质量低于30 000的多肽或糖蛋白,为不同细胞类型提供生长、分化和炎症或抗炎信号,能有效激活肿瘤的免疫细胞和/或抵消免疫抑制,从而抑制肿瘤,基于细胞因子的免疫疗法已经被广泛研究并用于癌症治疗。IL-2能够诱导自然杀伤细胞(natural kill cell,NK)增殖并增强其细胞溶解能力,驱动CD8⁺T细胞增殖和活化,促进B细胞的增殖和抗体分泌^[10]。IL-21基因转移或重组可引发抗肿瘤作用,诱导NK和/或细胞毒性T淋巴细胞

(cytotoxic lymphocyte,CTL)应答^[10-11]。粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor,GM-CSF)通过旁分泌方式发挥作用,以募集循环中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞,增强其在宿主防御中的功能^[11]。基于IL-2、IL-21和GM-CSF等几种重要的细胞因子免疫疗法已在肿瘤免疫治疗中得到广泛研究。

IL-2 IL-2是相对分子质量为15 000的单体分泌糖蛋白,以球状结构存在,由4个 α 螺旋折叠成典型的I型细胞因子^[12]。IL-2是骨髓T淋巴细胞的促生长活性因子,也是最早在分子水平上表征的细胞因子之一^[12]。实验表明,IL-2由有丝分裂原刺激后的细胞产生,是一种存在于条件培养基中的可溶性活性物质,它的发现使产生和培养T淋巴细胞成为可能^[12-13]。IL-2对许多细胞类型发挥作用,尤其是T淋巴细胞。IL-2对调节CD4⁺和CD8⁺T细胞增殖中的免疫激活和稳态至关重要^[14]。

1996年,西班牙的一个研究小组发现自体骨髓移植 autologous bone marrow transplantation, ABMT)后,IL-2治疗期间能够观察到NK的活化与应答变化,可以应用于免疫治疗中改善IL-2给药的时间表,设计新的免疫治疗方案,为治疗IV期NB提供了希望^[15]。IL-2靶向治疗与抗二异神经节苷脂抗体融合蛋白能够诱导细胞介导的抗肿瘤反应,有效根除已建立的骨髓和肝转移在NB的同基因模型。其机制具有NK依赖性,NK缺乏会破坏其抗肿瘤作用。靶向肿瘤微环境传递细胞因子诱导了一种有效的细胞免疫反应,这种由NK介导的免疫反应为治疗转移性NB提供了一种新策略^[17],对于高剂量化疗后T细胞功能被抑制,但NK细胞充足的患者可能具有普遍的临床意义。

IL-2在许多研究中显示出抗肿瘤活性,它能够激活和增强NK和T细胞的细胞溶解活性,其与IL-12对激活多种类型免疫细胞的过程具有部分重叠的作用,免疫细胞通过IL-2上调IL-12受体和信号传导与转录激活蛋白(signal transducer and activator of transcription,STAT),从而在激活NK细胞的过程中起协同作用^[16]。用IL-2和IL-12组合处理的NK细胞表现出体外细胞溶解活性增强,更有效地裂解NB细胞,并且可以降低所需的抗体(如抗二唾液酸神经节苷脂抗体)剂量,从而降低毒性^[17]。Barker等^[18]测试了自体成纤维细胞的抗肿瘤

作用,而不是在NB小鼠模型中离体转染以表达IL-2和IL-12的肿瘤细胞的抗肿瘤作用。Siapati等^[16]发现IL-2和IL-12在肿瘤细胞中共转染时,可有效对抗疾病,为治疗NB提供了一种有前景的免疫治疗方法,CD4+和CD8+ T细胞能够介导这种反应。同源的IL-2和IL-12共转染的成纤维细胞不仅对疾病具有治疗作用,还能够产生免疫记忆^[18]。Hart等^[19]将成纤维细胞和离体转染的肿瘤细胞共表达的IL-2和IL-12与Neuro-2A肿瘤细胞共同注射,消除了患者体内的致癌性,用3种瘤内剂量转染的成纤维细胞治疗具有显著疗效,治愈率可达到90%。

IL-21 IL-21是IL-2细胞因子家族的成员。它是一种与IL-2和IL-15密切相关的细胞因子,通过与由特异性IL-21R亚基和普通IL-2R- γ 链亚基组成的异二聚体受体相互作用,促进T细胞、B细胞和NK细胞的功能活性^[20]。IL-21还促进CD8+效应T细胞的增殖和细胞毒性功能以及 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)生成,并在调节B细胞应答中发挥重要作用^[20]。

IL-21参与自身免疫系统的发育,与IL-2不同,IL-21不能促进抗CD3活化的调节性T细胞(Treg cell)增殖。由于Treg细胞参与抑制抗肿瘤免疫,所以IL-21可能比IL-2更适合诱导抗肿瘤免疫。IL-21基因转移或重组可引发抗肿瘤作用,从而诱导NK和CTL应答。研究表明,IL-21的基因传递增强了NB模型中抗原特异性疫苗的效价。Croce等^[21]通过研究IL-21基因修饰细胞(neuro2a/IL-21)在同基因转移性NB模型中的治疗效果,证明分泌IL-21的NB细胞通过以生存素为抗原的特异性CTL反应,对转移性NB小鼠具有治疗性作用。研究结果显示,通过注射该IL-21基因修饰细胞疫苗,可以将患病个体的平均无病生存率从22天提高到44天,并治愈其中的14%,在多次注射疫苗后,还可以提高到75天,并治愈33%的病患^[21]。这揭示了IL-21在NB基因免疫治疗中的潜在作用。

IL-21发挥抗肿瘤活性无需CD4+ T细胞的协助,其作为辅助性因子可以直接刺激CD8+ T细胞增殖和功能活动。此外,IL-21可抑制辅助性T细胞(helper T cell, Th)发育和树突状细胞分化^[22]。通过去除Treg细胞及其前体和其他可能免疫抑制的CD4+细胞亚群,抗CD4单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)也可以加强基于IL-21的免疫治疗,

从而允许IL-21驱动的CD8+ T细胞应答的发展,介导NB细胞的死亡。通过抗CD4单克隆抗体和重组IL-21的联合免疫疗法诱导CD8+ T细胞应答,并将CD4+ T细胞免疫调节重编程为抗肿瘤功能,使肿瘤根除并获得持久免疫。Ferrini等^[22]通过该方法实现了对NB患者高达70%的治愈率。

GM-CSF GM-CSF是一种造血生长因子和免疫调节剂,主要由活化的T细胞、B细胞、巨噬细胞、纤维细胞、上皮细胞和一些肿瘤细胞产生,可刺激骨髓前体细胞增殖分化为中性粒细胞和巨噬细胞,增强肿瘤相关抗原的有效处理及表达,从而增强机体的抗肿瘤免疫反应,达到抗肿瘤作用^[23]。GM-CSF虽然是局部产生的,但它能以旁分泌的方式吸收循环的中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞,增强它们在宿主防御中的功能^[24]。研究认为,GM-CSF具有促进树突状细胞成熟以及增强巨噬细胞活性的作用^[23]。Kaplan等^[25]实验证明肿瘤细胞高表达GM-CSF与肿瘤患者的总生存率和无病生存率息息相关,并且根据TNM分期和远处转移等数据可预测肿瘤患者预后。

神经节苷脂糖(ganglioside sugar, GD2)是NB细胞中丰富的黏附分子,除神经元、皮肤细胞和疼痛纤维外在正常组织中很少表达,其在NB细胞中的高表达及在正常组织中的有限表达使抗GD2单克隆抗体有可能适用于免疫治疗^[26]。当抗GD2单克隆抗体ch14.18与GM-CSF或IL-2联合使用时,可以增强抗体依赖性细胞介导的细胞毒性作用,从而对无进展生存期(progression-free-survival, PFS)和总体生存率等临床数据产生有统计学意义的改变^[26]。与高危NB患者的标准治疗相比,用ch14.18、GM-CSF和IL-2进行免疫治疗可显著改善预后^[27]。与GM-CSF和IL-2联合用于治疗NB时,在转基因脑脊液的存在下,抗GD2型单克隆抗体对NB有效^[27-29]。Yu等^[28]研究发现,相比标准治疗方法,GM-CSF和IL-2联合免疫治疗2年内的无病存活率(46% vs. 66%)和总存活率(75% vs. 86%)明显较高。Ozkaynak等^[29]证实了这一发现,并发现添加异维甲酸ch14.18抗体免疫疗法联合GM-CSF或IL-2作为高危NB患者的巩固治疗有明显效果。

结语 细胞因子作为一种特殊的蛋白质药物,能有效激活肿瘤的免疫细胞并抵消免疫抑制,从而抑制肿瘤。近年来,基于细胞因子的免疫疗法在儿

童NB治疗中也在不断地研究与进展。制造基于细胞因子的药物是一项艰巨的挑战,需要对细胞因子生物学和现代生物技术有充分的了解,开发其抗肿瘤活性,同时将毒性降到最低^[30]。另一个需要考虑的关键性因素是要限制细胞因子的作用位点以避免系统性促炎作用。因此,低剂量细胞因子与基因治疗、细胞治疗及以单克隆抗体为基础的治疗相结合成为研究热点。未来基于细胞因子的免疫疗法在NB患儿中的应用将更加广泛。

作者贡献声明 文馨 文献查阅,论文撰写。蔡宁 文献查阅和整理。张铁军,陈兴栋 论文构思指导。索晨 论文构思、写作指导和修订。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] NICHOLAS S, APOLLONIO B, RAMSAY AG. Tumor microenvironment (TME)-driven immune suppression in B cell malignancy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(3):471-482.
- [2] BERLANGA P, CANETE A, CASTEL V. Advances in emerging drugs for the treatment of neuroblastoma[J]. *Expert Opin Emerg Drugs*, 2017, 22(1):63-75.
- [3] HISHIKI T, HORIE H, HIGASHIMOTO Y, et al. Histological features of primary tumors after induction or high-dose chemotherapy in high-risk neuroblastoma[J]. *Pediatr Surg Int*, 2014, 30(9):919-926.
- [4] MORENO F, LOPEZ MJ, PALLADINO M, et al. Childhood neuroblastoma: incidence and survival in Argentina. Report from the National Pediatric Cancer Registry, ROHA Network 2000—2012[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2016, 63(8):1362-1367.
- [5] MULLASSERY D, FARRELLY P, LOSTY PD. Does aggressive surgical resection improve survival in advanced stage 3 and 4 neuroblastoma? A systematic review and meta-analysis[J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 2014, 31(8):703-716.
- [6] WARD E, DESANTIS C, ROBBINS A, et al. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014[J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(2):83-103.
- [7] SAIT S, MODAK S. Anti-GD2 immunotherapy for neuroblastoma[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2017, 17(10):889-904.
- [8] SALAZAR BM, BALCZEWSKI EA, UNG CY, et al. Neuroblastoma, a paradigm for big data science in pediatric oncology[J]. *Int J Mol Sci* 2016, 18(1):37.
- [9] SHUM T, OMER B, TASHIRO H, et al. Constitutive signaling from an engineered IL7 receptor promotes durable tumor elimination by tumor-redirectioned T cells[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(11):1238-1247.
- [10] BOSSE KR, RAMAN P, ZHU Z, et al. Identification of GPC2 as an oncoprotein and candidate immunotherapeutic target in high-risk neuroblastoma[J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(3):295-309.
- [11] RATNER N, BRODEUR GM, DALE RC, et al. The “neuro” of neuroblastoma: neuroblastoma as a neurodevelopmental disorder[J]. *Ann Neurol*, 2016, 80(1):13-23.
- [12] BARKER SE, GROSSE SM, SIAPATI EK, et al. Immunotherapy for neuroblastoma using syngeneic fibroblasts transfected with IL-2 and IL-12[J]. *Br J Cancer*, 2007, 97(2):210-217.
- [13] GAFFEN SL, LIU KD. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications[J]. *Cytokine*, 2004, 28(3):109-123.
- [14] GILLIES SD, LAN Y, HETTMANN T, et al. A low-toxicity IL-2-based immunocytokine retains antitumor activity despite its high degree of IL-2 receptor selectivity[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(11):3673-3685.
- [15] LADENSTEIN R, PÖTSCHGER U, VALTEAU-COUANET D, et al. Interleukin 2 with anti-GD2 antibody ch14.18/CHO (dinutuximab beta) in patients with high-risk neuroblastoma (HR-NBL1/SIOPEN): a multicentre, randomised, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(12):1617-1629.
- [16] LISSONI P. Therapy implications of the role of interleukin-2 in cancer[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(5):491-498.
- [17] NGUYEN R, HOUSTON J, CHAN WK, et al. The role of interleukin-2, all-trans retinoic acid, and natural killer cells: surveillance mechanisms in anti-GD2 antibody therapy in neuroblastoma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67(4):615-626.
- [18] SIAPATI KE, BARKER S, KINNON C, et al. Improved antitumour immunity in murine neuroblastoma using a combination of IL-2 and IL-12[J]. *Br J Cancer*, 2003, 88(10):1641-1648.
- [19] YANG RK, KALOGRIPOULOS NA, RAKHMIL-EVICH AL, et al. Intratumoral treatment of smaller mouse neuroblastoma tumors with a recombinant protein consisting of IL-2 linked to the hu14.18 antibody increases intratumoral CD8+ T and NK cells and improves survival[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(8):1303-1313.

- Identifying resting-state functional connectivity changes in the motor cortex using fnirs during recovery from stroke [J]. *Brain Topogr*, 2020, 33(6): 710-719.
- [40] TEO W, MUTHALIB M, YAMIN S, *et al*. Does a combination of virtual reality, neuromodulation and neuroimaging provide a comprehensive platform for neurorehabilitation? A narrative review of the literature[J]. *Front Hum Neurosci*, 2016, 10(1): 284-299.
- [41] HARA T, ABO M, KAKITA K, *et al*. The effect of selective transcranial magnetic stimulation with functional near-infrared spectroscopy and intensive speech therapy on individuals with post-stroke aphasia[J]. *Eur Neurol*, 2017, 77(1): 186-194.
- [42] TANG Q, LI G, LIU T, *et al*. Modulation of interhemispheric activation balance in motor-related areas of stroke patients with motor recovery: systematic review and meta-analysis of fMRI studies[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2015, 57(1): 392-400.
- [43] 窦佳鸣, 李春光, 睦演祥, 等. 重复经颅磁刺激对脑卒中后上肢功能影响的近红外脑功能成像研究[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2019(6): 418-423.
- [44] NOGUCHI Y, WATANABE E, SAKAI KL. An event-related optical topography study of cortical activation induced by single-pulse transcranial magnetic stimulation [J]. *Neuroimage*, 2003, 19(1): 156-162.
- [45] MESQUITA RC, FASEYITAN OK, TURKELTAUB PE, *et al*. Blood flow and oxygenation changes due to low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation of the cerebral cortex[J]. *J Biomed Opt*, 2013, 18(6): 1-12.
- [46] PARKS NA. Concurrent application of TMS and near-infrared optical imaging: methodological considerations and potential artifacts [J]. *Front Hum Neurosci*, 2013, 7(1): 592-602.

(收稿日期: 2021-01-21; 编辑: 王蔚)

(上接第 122 页)

- [20] CROCE M, CORRIAS MV, ORENGO AM, *et al*. Transient depletion of CD4(+) T cells augments IL-21-based immunotherapy of disseminated neuroblastoma in syngeneic mice[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(5): 1141-1150.
- [21] CROCE M, MEAZZA R, ORENGO AM, *et al*. Immunotherapy of neuroblastoma by an interleukin-21-secreting cell vaccine involves survivin as antigen [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(11): 1625-1634.
- [22] RIGO V, CORRIAS MV, ORENGO AM, *et al*. Recombinant IL-21 and anti-CD4 antibodies cooperate in syngeneic neuroblastoma immunotherapy and mediate long-lasting immunity[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(5): 501-511.
- [23] BECHER B, TUGUES S, GRETER M. GM-CSF: From growth factor to central mediator of tissue inflammation[J]. *Immunity*, 2016, 45(5): 963-973.
- [24] CHEUNG IY, HSU K, CHEUNG NK. Activation of peripheral-blood granulocytes is strongly correlated with patient outcome after immunotherapy with anti-GD2 monoclonal antibody and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(4): 426-432.
- [25] CHEUNG NK, CHEUNG IY, KRAMER K, *et al*. Key role for myeloid cells: phase II results of anti-G (D2) antibody 3F8 plus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for chemoresistant osteomedullary neuroblastoma[J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(9): 2199-2205.
- [26] SHI Y, LIU CH, ROBERTS AI, *et al*. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and T-cell responses: what we do and don't know[J]. *Cell Res*, 2006, 16(2): 126-133.
- [27] USHACH I, ZLOTNIK A. Biological role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) on cells of the myeloid lineage[J]. *J Leukoc Biol*, 2016, 100(3): 481-489.
- [28] YU AL, GILMAN AL, OZKAYNAK MF, *et al*. Anti-GD2 antibody with GM-CSF, interleukin-2, and isotretinoin for neuroblastoma[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(14): 1324-1334.
- [29] ZHAN Y, XU Y, LEW AM. The regulation of the development and function of dendritic cell subsets by GM-CSF: more than a hematopoietic growth factor [J]. *Mol Immunol*, 2012, 52(1): 30-37.
- [30] CAPPUZZELLO E, SOMMAGGIO R, ZANOVELLO P, *et al*. Cytokines for the induction of antitumor effectors: the paradigm of cytokine-induced killer (CIK) cells [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2017, 36: 99-105.

(收稿日期: 2020-11-02; 编辑: 段佳)