DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.06.016

· 综 述 ·

CCR7: 肿瘤治疗及疗效评价中的新靶点

CCR7: New target in tumor therapy and therapeutic efficacy evaluation

郭建巍[1,2],秦力维[3],马聪[1,2](1. 海军总医院 检验科,北京 100048; 2. 海军总医院 生物治疗中心,北京 100048; 3. 海军总医院 眼科,北京 100048)

[摘 要] 趋化因子受体7(CC chemokine receptor 7,CCR7),主要表达于树突状细胞、淋巴细胞和各种肿瘤细胞表面,在树突状细胞抗肿瘤免疫应答和促进肿瘤侵袭和淋巴转移过程中发挥着不容忽视的作用。一方面,CCR7使活化的成熟DC通过输入淋巴管进入淋巴结,引导负载抗原的(dendritic cell,DC)从肿瘤部位迁移至淋巴组织,在诱导DC的抗肿瘤免疫反应中起重要作用;另一方面,CCR7在多种肿瘤如乳腺癌、非小细胞肺癌、结肠癌、胃癌等中表达,而淋巴结中丰富的CCL21则能趋化CCR7阳性的肿瘤细胞向淋巴结转移,直接导致肿瘤的扩散。CCR7在免疫细胞和肿瘤细胞共同表达的这一特点决定了其很有可能成为DC疫苗免疫效果和DC功能评价,以及某些实体瘤淋巴结转移评价乃至治疗的新靶点。

[关键词] 趋化因子受体CCR7;树突状细胞;肿瘤转移;免疫应答
[中图分类号] R730.54 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2012)06-0652-04

近年来,大量研究[1-2]证实CC趋化因子受体7(CC chemokine receptor 7,CCR7)及其趋化因子配体在树突状细胞(dendritic cell,DC)抗肿瘤免疫应答以及促进肿瘤侵袭和淋巴转移过程中发挥着不容忽视的作用,提示CCR7很有可能成为DC疫苗免疫效果和DC功能评价的指标,以及某些实体瘤淋巴结转移评价的新靶点,现将国内外该方面的最新研究做一综述。

1 CCR7及其配体

CCR7曾命名为EB病毒诱导的基因-1(Epstein-Barrvirus-inducedgene-1,*EBI-1*)、Burkitt淋巴瘤受体-2(Burkett's lymphoma receptor-2,BLR-2)和CD197,其含378个氨基酸残基,基因定位于17q12-q21.2,最初是由Birkenbach等[3]在EB病毒感染的B细胞中发现。与其他趋化因子受体一样,具有7个富含疏水氨基酸的螺旋穿膜区结构,称7次穿膜螺旋受体[4],又称G蛋白偶联受体;受体内有一些高度保守的半胱氨酸,对维持受体结构起关键作用。CCR7主要表达于成熟和未成熟树突状细胞、幼稚T细胞、调节性T细胞、记忆T细胞、NK细胞、NKT细胞和B细胞表面。CCR7在非免疫细胞如在各种肿瘤细胞中也有表达。

CCR7有两个配体趋化因子21(chemokine ligand21,CCL21)和趋化因子19(chemokine ligand 19,CCL19),均属于CC类趋化因子。CCL21(曾用名6CKine/SLC/exodus-2/TCA-4),定位于人类染色体的9pl3,主要分布于外周免疫器官或组织,对多种免疫细胞有趋化作用。CCL19(曾用名MIP-3/ELC/exodus-3),同样定位于9p13,主要在胸腺和次级淋巴器官中高表达。CCL21在淋巴结中的表达量相对CCL19更高,但CCL19的作用比CCL21更加有效,二者在淋巴细胞的归巢中起重要作用[5-6]。CCR7与其趋化因子配体结合后,促进整合素在细胞表面聚集,活化胞质内偶联的G蛋白,诱导Ca^{2+}快速动员和促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases,MAPK)、黏着斑激酶(focal adhesion kinase,FAK)、蛋白激酶C(protein kinase c,PKC)、鸟苷三磷酸酶(guanosine triphosphatase,GTPase)等酪氨酸激酶磷酸化,通过多种途径激发信号转导,改变细胞内骨架蛋白的重新组合,引起靶细胞的运动并产生高效趋化作用,从而参与机体的各种免疫活动。

2 CCR7与DC功能

DC是体内功能最强的抗原提呈细胞(antigen presenting cell,APC),也是初次免疫应答的启动者,在特异性免疫应答中具独特地位。外来抗原或体内

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30872394)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30872394)
[作者简介] 郭建巍(1965-),男,甘肃省临夏市人,博士,硕士研究生导师,主要从事基于抗体的免疫学诊断和免疫治疗方面的研究
[通信作者] 郭建巍(GUO Jian-wei, corresponding author), E-mail: jwkuo@sohu.com

突变的自身抗原,能否进行有效的抗原提呈直接关系到免疫激活或免疫耐受。研究[6]发现,DC 在迁移成熟的过程中表达 CCR7 的量逐渐增多,*CCR7* 基因转染 DC 后能有效促进 DC 向淋巴结的迁移。作为趋化因子受体,CCR7 最重要的作用是分别使初始 T 淋巴细胞通过高内皮小静脉,活化的成熟 DC 通过输入淋巴管进入淋巴结[7],从而成为机体初级免疫应答重要的组织与调节者。在免疫稳态时,未成熟 DC 表面不表达 CCR7,而部分半成熟 DC 表达 CCR7,此时 CCR7 介导半成熟 DC 缓慢而持续地向淋巴结移动,诱导机体自身反应性 T 细胞和外来无害抗原的免疫耐受[8-9]。对 *CCR7* 基因敲除小鼠($CCR7^{-/-}$)的 FITC 皮肤试验结果表明,$CCR7^{-/-}$小鼠 DC 不能离开皮肤组织迁移至引流淋巴结,而野生型小鼠的引流淋巴结中可见大量 DC。$CCR7^{-/-}$小鼠骨髓来源的 DC 在皮下注射或气管内滴注抗原的刺激下,均不能迁移至引流淋巴结[10]。在正常情况下,存在于黏膜表面的 DC 不断摄取周围环境中的抗原,并依赖 CCR7 运输至淋巴结,以耐受性方式提呈给 T 淋巴细胞[11-12]。在 $CCR7^{-/-}$小鼠,不能用 OVA 诱导口服免疫耐受[12]。野生型和 CCR7 表达低的小鼠外周器官中 DC 的数量没有差别,而缺少 CCR7 或其配体,导致 DC 和淋巴细胞运动异常及淋巴结结构异常,表明 DC 前体补充至皮肤以及黏膜表面并非 CCR7 介导,但 CCR7 在 DC 迁移至淋巴组织中扮演着重要角色[13]。

在肿瘤免疫应答中,负载抗原的 DC 从肿瘤部位迁移至淋巴组织的是免疫应答最关键的一步。研究[14]表明,DC 负载凋亡的纤维肉瘤细胞后 24 h 内从肿瘤部位向引流淋巴结迁移,并检测到 CCR7 的表达增高,而区域淋巴结中前哨淋巴通道(sentinel lymph channel,SLC)mRNA 增高。因此认为 CCR7 及其配体在诱导 DC 的抗肿瘤免疫反应中起重要作用。CCR7 还可辅助 DC 疫苗发挥肿瘤治疗效果,Okada 等[15]将 *CCR7* 基因通过腺病毒载体转导入 DC 疫苗中后,CCR7/DC 能接受 CCL21 刺激引起的趋化效应,而将小鼠皮下注射 CCR7/DC 后,与对照组相比,CCR7/DC 可更有效地聚集于淋巴结。与 DC 表面的 CD89、CD83、CD86、MHC 一样,CCR7 也是评价 DC 疫苗免疫效果的重要因素之一[16]。

3 CCR7 与肿瘤转移密切相关

肿瘤转移是一个复杂的、非随机的多步骤过程,它涉及肿瘤细胞的生长、增殖、迁移、远处黏附及转移灶生成等众多关键步骤。其中,CCR7 在促使肿瘤细胞转移至淋巴结中扮演重要角色。研究[17]显示,CCR7 在多种肿瘤如乳腺癌、非小细胞肺癌、结肠癌、胃癌等中表达,而淋巴结中丰富的 CCL21 则能趋化 CCR7 阳性的肿瘤细胞,使之向淋巴结转移。CCR7 阳性胃癌患者与 CCR7 阴性胃癌患者相比,肿瘤常侵犯深层组织、多见淋巴结转移、淋巴道和血行侵袭率更高、手术后的预后也较 CCR7 阴性患者差[18]。以转染 CCR7 的 MMTV-PyVmT 小鼠的乳腺肿瘤细胞 PyVmT 为对象,以转移性乳腺癌的 FVB 同源小鼠模型评价 CCR7 在肿瘤转移中的作用。将转染空载体的 CCR7 阴性 PyVmT 细胞植入到 FVB 同源小鼠的乳房脂肪垫内,肿瘤转移至肺部的概率为 100%(10/10),但没有出现淋巴结转移(0/10);CCR7 阳性的 PyVmT 细胞有 60% 的淋巴结转移率(6/10),肺部转移率降至 40%(4/10)。同时也发现,CCR7 阳性的 PyVmT 肿瘤细胞增殖速度明显快于不表达 CCR7 的 PyVmT 细胞,这再次证明了 CCR7 在乳腺癌淋巴结定向转移中的作用[19]。向小鼠 B16 黑素瘤细胞中转染 CCR7 DNA,使其过表达 CCR7,3 周后 58% 的荷瘤小鼠引流淋巴结中出现转移,对照组仅有 5% 的转移。通过单克隆抗体阻断 CCL21 的作用能阻止淋巴结转移,而 IgG 不能阻止淋巴结转移,提示 CCR7/CCL21 特异性介导淋巴结转移[20]。Takanami 等[21]采用 RT-PCR 及免疫组化方法在 71 例非小细胞肺癌术后患者的标本中检测到 45 例(63.4%)表达 *CCR7* mRNA,且其表达水平与淋巴结转移、肿瘤分期、淋巴管浸润、CCR7 蛋白表达显著相关。在 45 例 *CCR7* mRNA 阳性的患者中,26 例(57.8%)有淋巴结转移。经多元统计分析发现,*CCR7* mRNA 的表达可作为肺癌淋巴结转移的独立预测指标。在食道鳞状细胞癌中也发现了 CCR7 的高表达,并发现其与食道鳞状细胞癌淋巴弥散、淋巴结转移、肿瘤浸润程度、肿瘤淋巴结转移分期及患者预后显著相关[22]。在肝细胞癌组织及肝癌细胞系中也有 CCR7 高表达,且与原发肿瘤生长及淋巴转移显著相关,CCR7 的表达可促进肝癌细胞在肝内及淋巴管的播散[23]。甲状腺癌细胞中也有 CCR7 的高表达,其水平与患者淋巴外蔓延、血管淋巴管浸润及淋巴结转移相关[24]。实体瘤患者的循环肿瘤细胞表达 CCR7 等趋化因子受体,并与肿瘤细胞的增殖和迁移有关,可作为实体瘤患者循环肿瘤细胞治疗性靶标[25]。非霍奇金淋巴瘤 CCR7 的高表达也与肿瘤细胞淋巴管的远距离播散及转移密切相关[26]。此外,CCR7 还高表达于宫颈鳞状上皮细胞癌中,与肿瘤体积、间质浸润深度、阴道是否

受浸润、淋巴管受累或淋巴结转移相关。Logistic 回归分析,CCR7 可作为骨盆淋巴结转移的独立影响因素[27]。对胰腺癌的研究[28]发现,CCR7 表达阳性的患者生存期要明显低于 CCR7 阴性患者。

4　CCR7 抑制还是促进肿瘤生长?

机体之所以发生肿瘤,可能与肿瘤浸润性 DC、荷瘤宿主 DC 功能缺陷或缺乏、或 DC 无法有效地提呈肿瘤抗原并激活 T 细胞识别和杀伤肿瘤细胞有关。大量的研究[29-30]资料表明,DC 功能的缺陷是机体抗肿瘤能力下降的重要原因。DC 的分化成熟与其微环境中存在的炎性因子相互作用,以及与 T、B 细胞相互接触所提供的刺激信号密切相关。利用 *CCR7* 转基因小鼠的研究[31]表明,淋巴结中 T 细胞内环境的稳态依赖于半成熟 DC 的归巢,半成熟 DC 提供血管内皮生长因子,支持毛细血管后微静脉的构成,加强 T 细胞的归巢,在无半成熟 DC 存在时,T 细胞快速离开淋巴结。细胞因子(如 TNF-α、CD40L 等)可促进 DC 的前体细胞分化为 DC,使 DC 成熟并发挥生物学功能[32]。而肿瘤微环境中存在的一些抑制性因子,如 IL-10、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等则负调控 DC 的成熟和功能[33]。肿瘤浸润性 DC 及荷瘤宿主 DC 膜表面 MHC 分子及某些共刺激分子不表达或低表达,这可能与肿瘤细胞释放 IL-10、TGF-β、VEGF 等细胞因子,阻抑 DC 的分化、发育和功能有关。在这种情况下,DC 不能有效地行使其功能;而此时,肿瘤细胞表面高表达的 CCR7 促进了肿瘤的淋巴结转移,导致肿瘤的无限制生长。

CCR7 在免疫细胞及肿瘤组织中的表达就像一把双刃剑,要充分利用其有价值的特性,达到对机体免疫应答和体内环境稳态的调节。一方面,要提高 DC 表面 CD80、CD83、CD86、MHC-Ⅰ、MHC-Ⅱ和 CCR7 等分子的表达,增加其抗原提呈功能。使负载肿瘤相关抗原的 DC 在抗肿瘤免疫应答中恢复其功能,在 CCR7 的作用下利于负载抗原的 DC 移动和归巢,进而达到抗肿瘤的效果[34-35]。事实证明,表达 CCR7 的 DC 在维持 T 细胞稳态及抗肿瘤方面均发挥了重要作用[36],肿瘤浸润淋巴细胞 CCR7 的高表达也是结肠癌、直肠癌患者有利的预后因子[37]。另一方面,要利用肿瘤细胞表面 CCR7 的表达,对肿瘤的诊断、转移及预后做出客观判断,同时研发基于 CCR7 的新一代靶向药物。随着对 CCR7 在肿瘤免疫中作用作进一步深入的研究,CCR7 必将会在肿瘤的基因免疫治疗方面发挥更大潜能。

[参 考 文 献]

[1] Chiang CL, Hagemann AR, Leskowitz R, et al. Day-4 myeloid dendritic cells pulsed with whole tumor lysate are highly immunogenic and elicit potent anti-tumor responses [J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28732-e28743.

[2] Wu Z, Hu T, Kaiser P. Chicken CCR6 and CCR7 are markers for immature and mature dendritic cells respectively [J]. Dev Comp Immunol, 2011, 35(5): 563-567.

[3] Birkenbach M, Josefsen K, Yalamanchili R et al. Epstein-Barr virus-induced genes: first lymphocyte-specific G protein-coupled peptide receptors [J]. J Virol, 1993, 67(4): 2209-2220.

[4] Rosenkilde MM, Smit MJ, Waldhoer M, et al. Structure, function and physiological consequences of virally encoded chemokine seven transmembrane receptors [J]. Br J Pharmacol, 2008, 153 (Suppl 1): S154-S166.

[5] Ricart BG, John B, Lee D, et al. Dendritic cells distinguish individual chemokine signals through CCR7 and CXCR4 [J]. J Immunol, 2011, 186(1): 53-61.

[6] Sallusto F, Lanzavecchia A. Understanding dendritic cell and T-lymphocyte traffic through the analysis of chemokine receptor expression [J]. Immunol Rev, 2000, 177: 134-140.

[7] Worbs T, Förster R. A key role for CCR7 in establishing central and peripheral tolerance [J]. Trends Immunol, 2007, 28(6): 274-280.

[8] Ohl L, Mohaupt M, Czeloth N, et al. CCR7 governs skin dendritic cell migration under inflammatory and steady-state conditions [J]. Immunity, 2004, 21(2): 279-288.

[9] Jang MH, Sougawa N, Tanaka T, et al. CCR7 is critically important for migration of dendritic cells in intestinal lamina propria to mesenteric lymph nodes [J]. J Immunol, 2006, 176(2): 803-810.

[10] Hintzen G, Ohl L, del Rio ML, et al. Induction of tolerance to innocuous inhaled antigen relies on a CCR7-dependent dendritic cell-mediated antigen transport to the bronchial lymph node [J]. J Immunol, 2006, 177(10): 7346-7354.

[11] Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells [J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(4): 265-277.

[12] Worbs T, Bode U, Yan S, et al. Oral tolerance originates in the intestinal immune system and relies on antigen carriage by dendritic cells [J]. J Exp Med, 2006, 203(3): 519-527.

[13] Förster R, Davalos-Misslitz AC, Rot A. CCR7 and its ligands: Balancing immunity and tolerance [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(5): 362-371.

[14] Hirao M, Onai N, Hiroishi K, et al. CC chemokine receptor-7 on dendritic cells is induced after interaction with apoptotic tumor cells: Critical role in migration from the tumor site to draining lymph nodes [J]. Cancer Res, 2000, 60(8): 2209-2217.

[15] Okada N, Mori N, Koretomo R, et al. Augmentation of the migratory ability of DC-based vaccine into regional lymph nodes by efficient CCR7 gene transduction [J]. Gene Ther, 2005, 12(2): 129-139.

[16] Nguyen-Pham TN, Lee YK, Kim HJ, et al. Immunotherapy using

dendritic cells against multiple myeloma: How to improve? [J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012: 1-13.

[17] Yanagie H, Hisa T, Ono M, et al. Chemokine and chemokine receptor related to cancer metastasis [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2010, 37(11): 2052-2057.

[18] Ishigami S, Natsugoe S, Nakajo A, et al. Prognostic value of CCR7 expression in gastric cancer [J]. Hepatogastroenterology, 2007, 54(76): 1025-1028.

[19] Cunningham HD, Shannon LA, Calloway PA, et al. Expression of the C-C chemokine receptor 7 mediates metastasis of breast cancer to the lymph nodes in mice [J]. Transl Oncol, 2010, 3(6): 354-361.

[20] Mashino K, Sadanaga N, Yamaguchi H, et al. Expression of chemokine receptor CCR7 is associated with lymph node metastasis of gastric carcinoma [J]. Cancer Res, 2002, 62(10): 2937-2941.

[21] Takanami I. Overexpression of CCR7 mRNA in nonsmall cell lung cancer: Correlation with lymph node metastasis [J]. Int J Cancer, 2003, 105(2): 186-189.

[22] Ding Y, Shimada Y, Maeda M, et al. Association of CC chemokine receptor 7 with lymph node metastasis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(9): 3406-3412.

[23] Schimanski CC, Bahre R, Gockel I, et al. Chemokine receptor CCR7 enhances intrahepatic and lymphatic dissemination of human hepatocellular cancer [J]. Oncol Rep, 2006, 16(1): 109-113.

[24] Wagner PL, Moo TA, Arora N, et al. The chemokine receptors CXCR4 and CCR7 are associated with tumor size and pathologic indicators of tumor aggressiveness in papillary thyroid carcinoma [J]. Ann Surg Oncol, 2008, 15(10): 2833-2841.

[25] Fusi A, Liu Z, Kümmerlen V, et al. Expression of chemokine receptors on circulating tumor cells in patients with solid tumors [J]. J Transl Med, 2012, 10: 52.

[26] Yang J, Wang S, Zhao G, et al. Effect of chemokine receptors CCR7 on disseminated behavior of human T cell lymphoma: Clinical and experimental study [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2011, 30: 51.

[27] Kodama J, Hasengaowa, Seki N, et al. Expression of the CXCR4 and CCR7 chemokine receptors in human endometrial cancer [J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2007, 28(5): 370-375.

[28] Nakata B, Fukunaga S, Noda E, et al. Chemokine receptor CCR7 expression correlates with lymph node metastasis in pancreatic cancer [J]. Oncology, 2008, 74(1/2): 69-75.

[29] Amedei A, Benagiano M, della Bella C, et al. Novel immunotherapeutic strategies of gastric cancer treatment [J]. J Biomed Biotechnol, 2011, 2011: 437348.

[30] Schuler PJ, Börger V, Bölke E, et al. Dendritic cell generation and $CD4^+$ $CD25^{high}$ $FOXP3^+$ regulatory t cells in human head and neckcarcinoma during radio-chemotherapy [J]. Eur J Med Res, 2011, 16(2): 57-62.

[31] Wendland M, Willenzon S, Kocks J, et al. Lymph node T cell homeostasis relies on steady state homing of dendritic cells [J]. Immunity, 2011, 35(6): 945-957.

[32] Frankenberger B, Schendel DJ. Third generation dendritic cell vaccines for tumor immunotherapy [J]. Eur J Cell Biol, 2012, 91(1): 53-58.

[33] McBride JM, Jung T, de Vries JE, et al. IL-10 alters DC function via modulation of cell surface molecules resulting in impaired T-cell responses [J]. Cell Immunol, 2002, 215(2): 162-172.

[34] Berk E, Muthuswamy R, Kalinski P. Lymphocyte-polarized dendritic cells are highly effective in inducing tumor-specific CTLs [J]. Vaccine, 2012, 30(43): 6216-6224.

[35] Nguyen-Hoai T, Baldenhofer G, Ahmed MS, et al. CCL19 (ELC) improves TH1-polarized immune responses and protective immunity in a murine Her2/neu DNA vaccination model [J]. J Gene Med, 2012, 14(2): 128-137.

[36] Wendland M, Willenzon S, Kocks J, et al. Lymph node T cell homeostasis relies on steady state homing of dendritic cells [J]. Immunity, 2011, 35(6): 945-957.

[37] Correale P, Rotundo MS, Botta C, et al. Tumor infiltration by T lymphocytes expressing chemokine receptor 7 (CCR7) is predictive of favorable outcome in patients with advanced colorectal carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(3): 850-857.

[收稿日期] 2012-07-10 [修回日期] 2012-09-26
[本文编辑] 王莹

·读者·作者·编者·

文稿中统计学符号规范化书写的要求

本刊严格遵守国家标准 GB 3358-93《统计学术语》的有关规定。为此,请作者书写统计学符号时注意以下要求:(1)样本的算术平均数用英文小写 $\bar{x}$,不用大写 X,也不用 Mean 或 M;(2)标准差用英文小写 s,不用 SD;(3)标准误用英文小写 $s_{\bar{x}}$,不用 SE;(4)t 检验用英文小写 t;(5)F 检验用英文大写 F;(6)卡方检验用希文小写 χ^2;(7)相关系数用英文小写 r;(8)自由度用希文小写 ν;(9)样本数用英文小写 n;(10)概率用英文大写 P;(11)以上符号 $\bar{x}$、s、$s_{\bar{x}}$、t、F、χ^2、r、ν、n、P 均为斜体。请作者注意遵照执行。

(本刊编辑部)