

· 综述 ·

肿瘤免疫学在垂体瘤发病机制中的研究进展

袁仙仙 朱惠娟 潘慧

中国医学科学院,北京协和医学院,北京协和医院内分泌科,国家卫生健康委员会内分泌重点实验室,协和转化医学中心 100730

通信作者:朱惠娟,Email:shengxin2004@163.com;潘慧,Email:panhui20111111@163.com

【摘要】 肿瘤免疫逃逸是肿瘤发生、发展的重要机制之一。垂体瘤组织局部有不同程度的固有免疫细胞和适应性免疫细胞的浸润,且与垂体瘤的侵袭性相关。研究发现,垂体瘤组织表达免疫检验点包括程序性细胞死亡蛋白-1(PD-L1)和细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4(CTLA-4),提示免疫检验点介导的肿瘤免疫逃逸可能在垂体瘤的发生、发展中发挥一定的作用。此外,垂体瘤患者存在白细胞介素(IL)-6、IL-4等免疫调节因子的表达异常。研究肿瘤免疫在垂体瘤发病中的作用,有助于探索治疗侵袭性垂体瘤和垂体癌的新靶点。

【关键词】 垂体瘤;肿瘤免疫学;免疫检验点

基金项目:中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-1-002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.015

Advances of tumor immunity in the pathogenesis of pituitary tumors Yuan Xianxian, Zhu Huijuan, Pan Hui. Department of Endocrinology, Key Laboratory of Endocrinology of National Health Commission, The Translational Medicine Center of PUMCH, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Corresponding author: Zhu Huijuan, Email: shengxin2004@163.com; Pan Hui, Email: panhui20111111@163.com

【Abstract】 Tumor immune evasion is one of the important pathogenesis of tumors. Pituitary tumors showed various degrees of immune cells infiltration, which were associated with the aggressive of pituitary tumors. Immunological checkpoints including programmed death-1 (PD-L1) and cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) were detected in pituitary tumors, suggesting that tumor immune evasion mediated by immunological checkpoints may play a role in the occurrence and development of pituitary tumors. In addition, the expression of cytokines such as interleukin (IL)-6 and IL-4 in patients with pituitary tumors were abnormal. To explore the role of tumor immunity in the pathogenesis of pituitary tumors will be contributed to searching new targets for the treatment of aggressive pituitary tumors and pituitary carcinomas.

【Key words】 Pituitary tumors; Tumor immunity; Immunological checkpoints

Fund program: Chinese Academy of Medical Sciences Innovation Fund for Medical Sciences (2016-I2M-1-002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.015

垂体瘤是最常见的鞍区肿瘤,约占颅内肿瘤的15%。生前无垂体疾病的人群中垂体瘤的尸检检出率约为10%,而健康人群中核磁共振检出垂体瘤的比例则高达17%^[1]。大部分垂体瘤为良性肿瘤,远处转移罕见,垂体瘤的发生率约为0.1%~0.2%^[2]。但部分肿瘤具有高增殖能力,表现为侵袭性生物学特性,压迫正常垂体、视神经,甚至侵袭破坏海绵窦等周围组织结构。此外,功能性垂体瘤

高分泌的激素水平对全身脏器功能的影响,也严重危害患者健康甚至缩短寿命。垂体瘤的发生、发展是从分子到基因和表观遗传修饰、从肿瘤干细胞到肿瘤微环境等多因素参与的复杂过程。

正常情况下,机体免疫系统可识别新生的肿瘤细胞,激活免疫系统产生免疫效应,最终进行清除,称之为肿瘤免疫监视。肿瘤免疫监视及抑制能力的下降即发生肿瘤免疫逃逸,是肿瘤发生、发展和转移

的重要机制。研究发现,肿瘤可通过多种免疫调节机制诱导肿瘤免疫逃逸,包括程序性细胞死亡受体-1 (PD-1) 及其配体 (PD-L1)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 (CTLA-4) 等免疫检查点的过表达^[3];招募调节性 T 淋巴细胞 (Tregs)、髓系抑制性细胞 (MDSCs) 等专职免疫抑制细胞^[3];肿瘤细胞和基质细胞产生免疫抑制介质^[4];肿瘤抗原提呈的改变以及免疫效应途径抵抗等^[5]。针对这些免疫调节机制的治疗可以显著增加抗肿瘤免疫反应,延长肿瘤患者的生存期。本文将针对目前有关垂体瘤在肿瘤免疫学领域的研究进展进行综述。

1 固有免疫应答与垂体瘤

肿瘤免疫应答涉及固有免疫和适应性免疫,固有免疫属于非特异性免疫应答,可以做出迅速应答,启动并参与适应性免疫应答。参与固有免疫的细胞包括树突状细胞 (DCs)、巨噬细胞、MDSCs、自然杀伤细胞 (NK 细胞) 和其他固有淋巴细胞。

肿瘤细胞通过产生的 C-C 基序细胞因子配体 2 趋化巨噬细胞至肿瘤微环境成为肿瘤相关巨噬细胞 (TAMs), TAMs 高表达巨噬细胞特异性标志物如 CD68 和 CD163^[6]。CD68⁺ TAMs 与神经母细胞瘤、甲状腺癌等多种肿瘤预后呈负相关,但是在少部分腺瘤如胃癌、结肠癌和前列腺癌中,CD68⁺ TAMs 的浸润提示预后较好^[7]。TAMs 对抗肿瘤免疫反应产生的双重作用与其不同的激活状态相关。经典活化的 M1 型巨噬细胞可直接杀伤肿瘤细胞或通过产生白细胞介素 (IL)-12, 提高 T 细胞和 NK 细胞的杀伤能力;相反,选择性活化的 M2 型巨噬细胞通过产生血管内皮生长因子、吡啶胺-2,3-双加氧酶、转化生长因子- β 等多种介质诱导新生血管生成、肿瘤浸润以及抑制 T 细胞活性,从而发挥促进肿瘤生长的作用^[8]。研究发现,垂体生长激素腺瘤、促肾上腺皮质激素腺瘤及无功能瘤均有不同程度的 CD68⁺ 巨噬细胞浸润,CD68⁺ 巨噬细胞浸润多少与肿瘤直径、Knosp 分级呈正相关 ($r=0.52$, $P=0.0014$; $r=0.52$, $P=0.0016$), 稀疏颗粒型生长激素腺瘤多于致密颗粒型生长激素腺瘤和 ACTH 瘤^[7]。稀疏颗粒型多表现为侵袭性大腺瘤,而 ACTH 瘤多为微腺瘤,提示 CD68⁺ 巨噬细胞可能与垂体瘤的侵袭性生物学行为相关,因不同亚型 TAMs 在肿瘤免疫反应中发挥不同的作用,故需进一步对垂体瘤中浸润的 TAMs 进行亚型分析。

NKG2D (natural killer group 2 member D) 是 NK

细胞上重要的活化性受体,肿瘤细胞表面的主要组织相容性复合体 I 类链相关蛋白 A (MICA) 与 NKG2D 交联直接活化 NK 细胞,是抗肿瘤免疫反应的重要激活途径^[9]。MICA 存在两种形式,一是细胞表面的膜结合型 MICA (mMICA),另一种是可溶性 MICA (sMICA)。有学者应用 ELISA 法检测垂体催乳素瘤和无功能瘤患者血清 sMICA 水平,发现两组患者血清 sMICA 水平较健康对照组升高;同时应用流式细胞术对外周血中表达 NKG2D 的 NK 细胞和 T 细胞进行分析,发现两组患者表达 NKG2D 的 NK 细胞和 T 细胞均较健康对照组减少,并且垂体无功能瘤患者血清 sMICA 水平与表达 NKG2D 的 NK 细胞和 T 细胞数量呈负相关^[9]。sMICA 能诱导 T 细胞表面的 NKG2D 发生内化降解,削弱 MICA-NKG2D 信号通路介导的免疫监视功能,垂体瘤可能通过分泌 sMICA 介导肿瘤免疫逃逸。

2 适应性免疫应答与垂体瘤

T 细胞介导的细胞免疫在抗肿瘤免疫应答中起重要作用,抗原提呈细胞 (APC) 通过抗原-主要组织相容性复合体 (MHC) 分子复合物特异性识别、结合 TCR-CD3 分子,向 T 细胞传递第一活化信号,APC 表面的 B7 与静止 T 细胞表面的 CD28 结合,为 T 细胞活化提供第二信号^[10]。很多肿瘤通过选择性下调 MHC 蛋白逃避免疫系统监视,而且多种肿瘤细胞表面 MHC 信号蛋白的下调或缺失与肿瘤预后差相关^[11]。研究发现,静止性第三亚型腺瘤人白细胞抗原-B 表达显著低于零细胞腺瘤,前者多为侵袭性大腺瘤且预后较差,提示抗原提呈能力下调可能在侵袭性垂体瘤免疫逃逸中发挥了一定的作用^[11]。

肿瘤组织中检测到的淋巴细胞称之为肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs),其在肿瘤发生、发展中的双向作用与浸润的免疫细胞种类、数量及活化状态相关^[8]。CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞 (CTL) 直接与肿瘤细胞接触,并激活细胞毒性级联反应,是肿瘤免疫的主要效应细胞;CD4⁺ 辅助性 T 细胞 (Th) 主要通过释放 IL-2、肿瘤坏死因子- α 等因子发挥辅助作用^[8]。Tregs 是一类特殊的 CD4⁺ T 细胞亚群,特异性表达叉头/翅膀状螺旋转录因子 (FOXP3),目前认为 CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ 是 Tregs 的经典标志组合,CD45 作为白细胞共同抗原,Tregs 亦可表达 CD45。Tregs 可以抑制多种免疫细胞的激活、扩增和效应功能,在抑制免疫反应和维持自我耐受中发挥重要作用,与某些肿瘤的预后相关。一项回顾性研究显示,3% 的垂体

瘤中可检测到 TILs, 主要位于血管周围和垂体瘤组织内, 并且与垂体瘤的预后相关, 但不同功能性垂体瘤之间 TILs 的数量差异无统计学意义^[12]。意大利学者 Lupi 等^[13]也证实, 功能性垂体瘤和无功能性垂体瘤有不同程度 TILs, 伴有显著 TILs 浸润的垂体瘤患者预后较差, 术后肿瘤残存及复发风险均较 TILs 浸润少或无的患者高。但这两项研究均应用 CD45 作为 T 细胞标志物进行 T 细胞检测, 因此尚不能明确 Tregs 是否在垂体瘤免疫逃逸过程中发挥重要作用。

3 免疫检验点与垂体瘤

免疫检验点是 T 细胞的负调节因子, 免疫检验点过表达是诱导肿瘤免疫逃逸的重要机制, 目前研究较成熟的免疫检验点有 PD-1/PD-L1 和 CTLA-4。

PD-1 也称为 CD279, 是激活型 T 细胞的一种表面受体^[14]。PD-1 有两种配体, 即 PD-L1 (B7-H1) 和 PD-L2 (B7-DC), PD-L1 是一种大小为 40 000 的跨膜蛋白, 表达于包括 T 细胞、B 细胞等多种细胞表面^[14]。肺癌、乳腺癌、膀胱癌等多种肿瘤细胞也有表达, PD-1/PD-L1 通路是介导肿瘤免疫逃逸的重要机制之一。致癌信号可上调肿瘤细胞表面 PD-L1 的表达, 与激活型 T 细胞表面的 PD-1 结合, 激活抑制性信号通路, 抑制 T 细胞的功能、增殖和细胞毒效应, 诱导 T 细胞衰竭^[14]。目前垂体瘤中 PD-1/PD-L1 的相关研究较少。国内有学者对 1 例垂体催乳素生长激素混合大腺瘤进行 PD-L1 免疫组化染色, 发现 10% 肿瘤细胞胞质或胞膜 PD-L1 染色阳性^[15]。Mei 等^[16]也发现垂体瘤 PD-L1 表达增加, 该研究纳入 28 例功能性垂体瘤 (生长激素腺瘤和催乳素腺瘤) 和 20 例无功能垂体瘤 (病理证实为零细胞瘤和静止性促生长激素释放激素瘤), 其中典型垂体腺瘤 37 例, 非典型垂体瘤 11 例; 初发肿瘤 34 例, 复发肿瘤 14 例。研究发现, 功能性垂体瘤 PD-L1 的表达较无功能垂体瘤高, 初发肿瘤较复发肿瘤高。典型垂体腺瘤与非典型垂体瘤之间 PD-L1 表达差异没有统计学意义, 表达水平与 MIB-1 指数亦没有相关性^[16]。但垂体瘤 PD-L1 表达上调的具体机制, 以及针对 PD-1/PD-L1 的免疫治疗垂体瘤是否有效仍需进一步研究。

CTLA-4 是另外一个重要的免疫检验点。CTLA-4 和 T 细胞表面的协同刺激分子受体 CD28 分子高度同源, 二者均可与相同 APC 表面的配体 B7-2/1 结合, CTLA-4 与配体结合后向 T 细胞传导抑

制信号, 阻滞 CD28 对 T 细胞的协同刺激作用, 抑制 T 细胞活化^[10]。CTLA-4 在 Tregs 细胞表面持续高表达, 对 Tregs 发挥免疫抑制作用至关重要^[17]。随着抗肿瘤药物 CTLA-4 单克隆抗体在黑色素瘤、肾细胞癌等多种肿瘤中的应用, 其内分泌系统不良反应也逐渐被认识, 不同研究报道继发性淋巴细胞性垂体炎的发生率为 1% ~ 25%^[18-19]。正常垂体细胞可表达 CTLA-4, 介导 CTLA-4 单克隆抗体诱导的继发性垂体炎的发生^[20]。在不同类型垂体瘤中也可检测到 CTLA-4 的表达, 但具体机制仍需要进一步研究^[20]。

4 免疫调节因子与垂体瘤

肿瘤微环境中不同细胞组分可通过分泌多种免疫调节因子, 直接或间接调控肿瘤免疫反应。多项研究证实, 垂体瘤有促炎细胞因子 IL-6 表达, 且侵袭性垂体瘤 IL-6 的表达明显高于非侵袭性垂体瘤^[21-22]。IL-6 的促肿瘤作用是非常复杂的, 肿瘤细胞自身以及肿瘤微环境中的免疫细胞和基质细胞均可合成、分泌 IL-6。IL-6 抑制 DCs 的成熟, 并促进免疫抑制性的 M2 型巨噬细胞和调节性 DCs 的分化, 使得肿瘤特异性 T 细胞不能被活化; IL-6 还抑制 CD4⁺ Th1 分化, 破坏其对 CTL 和 DCs 的辅助作用。此外, IL-6 可激活骨髓细胞信号转导与转录激活因子 3 信号通路, 直接刺激髓细胞产生免疫抑制因子, 如血管内皮生长因子和精氨酸, 帮助肿瘤细胞免疫逃逸。这不仅降低抗肿瘤固有免疫应答, 而且通过与肿瘤相关的成纤维细胞/内皮细胞协同作用, 促进肿瘤血管形成^[23]。

除 IL-6 外, 也有学者对垂体瘤中分泌型分子精氨酸酶 2 (ARG2)、脑信号蛋白 3A (SEMA3A)、IL-4 等其他免疫调节因子进行了研究。ARG2 及 SEMA3A 均为抑制性免疫调节因子, 研究发现, 静止性第三亚型腺瘤 ARG2、SEMA3A 表达均显著高于零细胞瘤^[11]。IL-4 是由 Th2 和肥大细胞分泌的免疫调节因子, 通过与 Tregs、B 细胞、单核细胞等多种细胞表面的 IL-4 受体复合物结合, 调节这些细胞的功能。侵袭性垂体瘤细胞 IL-4 受体复合物表达也有增加, 提示 IL-4/IL-4 受体通路异常在侵袭性垂体瘤中发挥一定的作用^[24]。

综上所述, 肿瘤免疫应答可能在垂体瘤的发生、发展过程中, 尤其是肿瘤获得侵袭性生物学行为过程中发挥重要作用, 但仍需要进一步研究证实垂体瘤免疫逃逸的具体机制。目前, 大部分垂体瘤仍以

手术作为治疗首选,但部分侵袭性垂体瘤以及垂体瘤对手术、放射治疗以及传统药物治疗的反应差,针对肿瘤免疫的治疗可能成为治疗的新靶点,延长这部分肿瘤患者的生存期。

参 考 文 献

- [1] Molitch ME. Nonfunctioning pituitary tumors[J]. *Handb Clin Neurol*, 2014, 124:167-184. DOI:10.1016/B978-0-444-59602-4.00012-5.
- [2] Raverot G, Jouanneau E, Trouillas J. Management of endocrine disease: clinicopathological classification and molecular markers of pituitary tumours for personalized therapeutic strategies[J]. *Eur J Endocrinol*, 2014, 170(4): R121-R132. DOI:10.1530/EJE-13-1031.
- [3] Bronte V, Brandau S, Chen SH, et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12150. DOI:10.1038/ncomms12150.
- [4] Gotwals P, Cameron S, Cipolletta D, et al. Prospects for combining targeted and conventional cancer therapy with immunotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(5): 286-301. DOI:10.1038/nrc.2017.17.
- [5] Zaretsky JM, Garcia-Diaz A, Shin DS, et al. Mutations associated with acquired resistance to PD-1 blockade in melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(9): 819-829. DOI:10.1056/NEJMoa1604958.
- [6] Komohara Y, Jinushi M, Takeya M. Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors[J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(1): 1-8. DOI:10.1111/cas.12314.
- [7] Lu JQ, Adam B, Jack AS, et al. Immune cell infiltrates in pituitary adenomas: more macrophages in larger adenomas and more T cells in growth hormone adenomas[J]. *Endocr Pathol*, 2015, 26(3): 263-272. DOI:10.1007/s12022-015-9383-6.
- [8] Allard B, Aspeslagh S, Garaud S, et al. Immuno-oncology-101: overview of major concepts and translational perspectives[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52(Pt 2): 1-11. DOI:10.1016/j.semcancer.2018.02.005.
- [9] Ma L, Li G, Su Y, et al. The soluble major histocompatibility complex class I-related chain A protein reduced NKG2D expression on natural killer and T cells from patients with prolactinoma and non-secreting pituitary adenoma[J]. *J Clin Neurosci*, 2010, 17(2): 241-247. DOI:10.1016/j.jocn.2009.05.023.
- [10] 刘晓璇, 张静, 刘兰霞. 免疫检查点抑制剂在肿瘤治疗中的应用进展[J]. *国际生物医学工程杂志*, 2017, 40(4): 275-279. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4181.2017.04.010.
- [11] Richardson TE, Shen ZJ, Kanchwala M, et al. Aggressive behavior in silent subtype III pituitary adenomas may depend on suppression of local immune response: a whole transcriptome analysis[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2017, 76(10): 874-882. DOI:10.1093/jnen/nlx072.
- [12] Heshmati HM, Kujas M, Casanova S, et al. Prevalence of lymphocytic infiltrate in 1400 pituitary adenomas[J]. *Endocr J*, 1998, 45(3): 357-361.
- [13] Lupi I, Manetti L, Caturegli P, et al. Tumor infiltrating lymphocytes but not serum pituitary antibodies are associated with poor clinical outcome after surgery in patients with pituitary adenoma[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(1): 289-296. DOI:10.1210/jc.2009-1583.
- [14] Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance[J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 568-571. DOI:10.1038/nature13954.
- [15] Wang P, Wang T, Yang Y, et al. Detection of programmed death ligand 1 protein and CD8 + lymphocyte infiltration in plurihormonal pituitary adenomas: a case report and review of the literatures[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(49): e9056. DOI:10.1097/MD.00000000000009056.
- [16] Mei Y, Bi WL, Greenwald NF, et al. Increased expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) in human pituitary tumors[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(47): 76565-76576. DOI:10.18632/oncotarget.12088.
- [17] De Rosa V, Di Rella F, Di Giacomo A, et al. Regulatory T cells as suppressors of anti-tumor immunity: role of metabolism[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2017, 35: 15-25. DOI:10.1016/j.cytogr.2017.04.001.
- [18] Ryder M, Callahan M, Postow MA, et al. Endocrine-related adverse events following ipilimumab in patients with advanced melanoma: a comprehensive retrospective review from a single institution[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2014, 21(2): 371-381. DOI:10.1530/ERC-13-0499.
- [19] Lam T, Chan MM, Sweeting AN, et al. Ipilimumab-induced hypophysitis in melanoma patients: an Australian case series[J]. *Intern Med J*, 2015, 45(10): 1066-1073. DOI:10.1111/imj.12819.
- [20] Iwama S, De Remigis A, Callahan MK, et al. Pituitary expression of CTLA-4 mediates hypophysitis secondary to administration of CTLA-4 blocking antibody[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(230): 230ra45. DOI:10.1126/scitranslmed.3008002.
- [21] Wu JL, Qiao JY, Duan QH. Significance of TNF- α and IL-6 expression in invasive pituitary adenomas[J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(1). DOI:10.4238/gmr.15017502.
- [22] Tichomirowa M, Theodoropoulou M, Lohrer P, et al. Bacterial endotoxin (lipopolysaccharide) stimulates interleukin-6 production and inhibits growth of pituitary tumour cells expressing the toll-like receptor 4[J]. *J Neuroendocrinol*, 2005, 17(3): 152-160. DOI:10.1111/j.1365-2826.2005.01286.x.
- [23] Tsukamoto H, Fujieda K, Senju S, et al. Immune-suppressive effects of interleukin-6 on T-cell-mediated anti-tumor immunity[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(3): 523-530. DOI:10.1111/cas.13433.
- [24] Chen L, Liu Y, Hou Y, et al. Expression and structure of interleukin 4 receptor (IL-4R) complex in human invasive pituitary adenomas[J]. *Neurosci Lett*, 2007, 417(1): 30-35. DOI:10.1016/j.neulet.2007.02.070.

(收稿日期:2018-05-23)

(本文编辑:刘欣)