

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.12.025

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.12.025>

## Th9 细胞 / 白介素 -9 在黑色素瘤中的研究进展

吕晓鹏 综述 刘志刚 审校

(吉化集团总医院放化疗科, 吉林 吉林 132022)

**[摘要]** 黑色素瘤(melanoma)是恶性度最高的皮肤恶性肿瘤, 手术切除是其主要治疗方式, 部分患者需要联合使用免疫治疗, 但免疫治疗存在明显的毒副作用。多项研究表明Th9细胞及其分泌的白介素-9(interleukin 9, IL-9)具有直接与间接(激活机体免疫应答)的抗黑色素瘤效应。此外, Th9细胞/IL-9可能作为免疫治疗的疗效预测指标。Th9/IL-9可能是黑色素瘤患者治疗及疗效判断的潜在靶点。

**[关键词]** 黑色素瘤; Th9细胞; 白介素-9; 免疫应答

## Research progresses of Th9 cells/interleukin-9 in melanoma

LÜ Xiaopeng, LIU Zhigang

(Department of Chemotherapy and Radiotherapy, General Hospital of Jilin Chemical Industry Group, Jilin Jilin 132022, China)

**Abstract** Melanoma is the most malignant neoplasm of skin, and resection is the major treatment strategy. Some patients are treated with the combination of immunotherapy and surgery. However, there are obvious toxicities and side effects of immunotherapy. A series of studies have demonstrated that Th9 cells and interleukin-9 (IL-9) secreted by Th9 cells can kill melanoma cells via direct and indirect pathways (activating host immune responses). In addition, Th9 cells/IL-9 may be used as predictive indicators for the efficacy of immunotherapy. Th9/IL-9 may be potential markers for treatment selection and curative effect evaluation for patients with melanoma.

**Keywords** melanoma; Th9 cells; interleukin-9; immune responses

黑色素瘤(melanoma)是一种起源于皮肤、黏膜、脉络膜黑色素细胞的恶性肿瘤, 是恶性度最高的皮肤恶性肿瘤, 易出现远处转移<sup>[1]</sup>。黑色素瘤是对免疫治疗比较敏感的肿瘤之一<sup>[2]</sup>。Th9细胞是新近发现的T细胞亚群, 是体内白介素-9(interleukin 9, IL-9)的主要来源<sup>[3-4]</sup>。研究<sup>[5-7]</sup>表明: Th9细胞/IL-9具有直接与间接的抗黑色素瘤效应。本文就黑色素瘤目前的研究进展作一综述。

### 1 黑色素瘤

黑色素瘤是发病率增长最快的恶性肿瘤之一。2015年最新流行病学数据<sup>[8]</sup>显示: 我国皮肤黑色素瘤患者的发病率约为8.0/100 000, 病死率约为3.2/100 000。据统计, 美国黑色素瘤患病人数已超过120万, 2018年预计新发病例91 270例, 预计死亡9 320例<sup>[9]</sup>。对于大多数黑色素瘤患者,

收稿日期 (Date of reception): 2018-09-10

通信作者 (Corresponding author): 刘志刚, Email: liuzhigang310@163.com

手术切除是其主要治疗手段。III期患者可考虑联合免疫治疗, 如干扰素或细胞毒性T淋巴细胞相关抗原(cytotoxic T lymphocyte associated antigen, CTLA)的单克隆抗体(伊匹单抗)。IV期患者采用抗CTLA单抗或抗程序性死亡受体1(program cell death protein 1, PD-1)的单克隆抗体(伊匹单抗、帕姆单抗、纳武单抗)或靶向药物治疗, 患者均可获得生存期的延长<sup>[10-12]</sup>。46%的IV期患者需同时联合放疗<sup>[13]</sup>。约50%的患者存在鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体B(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B, BRAF)丝/苏氨酸激酶基因的突变, 此类患者经BRAF抑制药治疗可显著延长生存期<sup>[14-15]</sup>。然而, 单克隆抗体及BRAF抑制药存在明显的毒副作用, 如自身免疫性疾病与二重肿瘤等<sup>[16]</sup>。因此, 寻找新的治疗方案是国内外学者研究的热点之一。

## 2 Th9 细胞与 IL-9

人类IL-9由140个氨基酸组成, 其编码基因位于5号染色体长臂。小鼠的IL-9由144个氨基酸组成, 编码基因位于13号染色体。2008年来自英国国家医学研究所及哈佛大学医学院的2个独立实验室<sup>[3-4]</sup>同时发现了1种新的CD4<sup>+</sup> T细胞亚群, 此类细胞分泌高水平的IL-9, 被命名为Th9细胞, Th9细胞也是体内IL-9的主要来源。Veldhoen等<sup>[3]</sup>报道转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )可诱导Th2类细胞分化为Th9细胞亚群; Dardalhon等<sup>[4]</sup>证实IL-4能阻断Foxp3诱导的调节性T细胞分化, 转而分化为另一种可分泌IL-9的辅助性T细胞亚群。近来有研究<sup>[17]</sup>报道: TGF- $\beta$ 与IL-4通过下调DNA结合抑制因子Id3进而促进Th9细胞的分化; Id3下调可促进转录因子E2A, GATA-2与IL-9的启动子结合, 进而促进IL-9表达。

Uyttenhove等<sup>[18]</sup>发现IL-9可促进T细胞的生长。有研究<sup>[19]</sup>采用IL-9过表达转基因小鼠证实: 一小部分小鼠会发生胸腺淋巴瘤, 提示IL-9可能参与T细胞肿瘤的发生发展。此后有研究<sup>[20]</sup>报道IL-9与多种血液肿瘤的发生有关, 如霍奇金淋巴瘤与其他B细胞肿瘤。IL-9被证实可增强调节性T细胞功能、阻断获得性抗肿瘤免疫应答及抑制免疫记忆细胞的形成<sup>[21-22]</sup>。上述研究提示IL-9具有促进肿瘤进展的作用。然而, 有研究<sup>[23]</sup>发现Th9细胞在肺腺癌及黑色素瘤中具有抗肿瘤作用, 且部分依赖其分泌的IL-9; 在人类皮肤黑色素瘤病灶中可见Th9细胞聚集, 提示其可能参与肿瘤免疫监视。

## 3 Th9 细胞 /IL-9 与黑色素瘤

### 3.1 IL-9 可激活机体抗肿瘤免疫应答

2012年美国哈佛大学医学院学者<sup>[5]</sup>证实IL-9可抑制黑色素瘤体内生长: 过表达IL-9的转基因小鼠体内黑色素瘤细胞生长明显受抑; 采用IL-9中和抗体可促进野生型小鼠体内黑色素瘤细胞的生长; IL-9基因缺陷小鼠体内黑色素瘤细胞生长速度明显加快; 重组人IL-9及过继性回输Th9细胞可明显抑制野生型小鼠体内黑色素瘤细胞的生长。由于IL-9对B16细胞系体外增殖无影响, 推测IL-9抗肿瘤效应可能与激活机体免疫应答有关<sup>[5]</sup>。进一步研究<sup>[5]</sup>证实IL-9抑制黑色素瘤细胞体内生长主要依赖肥大细胞, 而非T细胞与B细胞。然而, 后续研究也证实IL-9同样可激活机体适应性免疫应答。Lu等<sup>[6]</sup>证实IL-9可抑制黑色素瘤细胞的体内增殖; 同时还发现IL-9可通过Ccl20/Ccr6途径促进树突细胞向肿瘤局部迁移, 进而激活CD8<sup>+</sup> T细胞, 发挥抗肿瘤效应; 此外, T细胞表面CD44分子表达也显著上调。Zhao等<sup>[24]</sup>采用dectin-1信号激活的树突细胞, 也证实IL-9参与体内活化CD8<sup>+</sup> T细胞。因此, IL-9不仅可激活固有免疫应答反应, 也可激活适应性免疫应答反应, 进而发挥起抗肿瘤效应。

### 3.2 IL-9 对黑色素瘤的增殖抑制与促凋亡效应

Fang等<sup>[7]</sup>报道了IL-9对部分黑色素瘤细胞的直接作用, 该研究评估了IL-9对4种人黑色素瘤细胞系增殖及凋亡的影响, 结果发现: IL-9可抑制HTB-72与SK-Mel-5细胞的克隆形成能力, 但对HTB-65与CRL-11147无影响; 经IL-9处理后, HTB-72细胞中TUNEL<sup>+</sup>细胞比例及caspase-3酶活性明显增加。提示IL-9对部分黑色素瘤细胞有增殖抑制与促凋亡作用, 且机制研究发现增殖抑制与上调抗凋亡蛋白p21有关, 促凋亡效应与促进TRAIL的表达有关<sup>[7]</sup>。不同黑色素瘤细胞对IL-9的反应不尽相同可能提示黑色素瘤发病及治疗反应的异质性, 这可为今后基于细胞因子的免疫治疗提供一定的参考。

### 3.3 Th9 细胞对黑色素瘤的细胞毒作用

来源于OT II转基因小鼠(T细胞表达卵清蛋白受体)的Th9细胞可以杀伤表达卵清蛋白的B16黑色素细胞, 研究<sup>[5]</sup>发现Th9细胞的杀伤效应与其表达的颗粒酶B有关, 同时证实Th9细胞的抗肿瘤效应优于Th1与Th17细胞。提示Th9对黑色素瘤可能具有直接的细胞毒作用。

### 3.4 Th9 细胞 /IL-9 与其它 T 细胞亚群

研究<sup>[25]</sup>报道: 与分泌I类细胞因子的CD8<sup>+</sup> T细胞相比, 尽管分泌IL-9的CD8<sup>+</sup> T细胞(Tc9)体外细胞毒作用较弱, 但过继性回输Tc9细胞可发挥强烈的抗肿瘤免疫应答, Tc9细胞在荷瘤动物体内可转变为分泌IFN- $\gamma$ 与颗粒酶的效应T细胞, 且此类T细胞在肿瘤动物模型中存在时间更长。

在黑色素瘤浸润淋巴细胞中存在一群CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>双阳性T细胞亚群(double positive T cell, DPTCs)。DPTCs发挥效应功能具有MHC限制性, 但体内对黑色素瘤的细胞毒作用较弱<sup>[26]</sup>。DPTCs高表达IL-9受体<sup>[26]</sup>。Parrot等<sup>[26]</sup>发现外源性给予IL-9可促进DPTCs增殖, 抑制其凋亡, 并可促进其分泌细胞因子、颗粒酶及穿孔素; 此外, IL-9可增强DPTCs的脱颗粒能力。

### 3.5 Th9 细胞 /IL-9 的临床研究进展

纳武单抗(Nivolumab)是PD-1抑制药, 可有效改善黑色素瘤患者的临床预后, 提高无进展生存率及总生存率, 但只有20%~40%的患者可以长期获益。因此需要寻找临床指标用于判断哪些患者可以从纳武单抗治疗中获益<sup>[27]</sup>。研究<sup>[27]</sup>发现纳武单抗治疗早期外周血Th9细胞升高与预后良好相关。过继性回输自体肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocyte, TIL)对转移性黑色素瘤患者具有一定治疗效果, 而基线IL-9水平可预测患者对TIL的治疗反应。IL-9浓度>5.3 pg/mL患者有效率为78%, 而IL-9浓度<5.3 pg/mL患者有效率只有29%。因此, IL-9可能作为自体TIL治疗疗效的预测指标<sup>[28]</sup>, Th9细胞/IL-9可能作为免疫治疗疗效的潜在预测靶点。

## 4 结语

IL-9是一种多效性细胞因子, 可直接杀伤肿瘤细胞, 或通过增强机体抗肿瘤免疫应答而间接发挥抗肿瘤效应。尽管使用重组IL-9具有抗黑色素瘤效应, 但药物安全性值得关注。过继回输Th9细胞可抑制黑色素瘤体内生长, 但Th9细胞的体内生理状态及如何扩增尚需进一步探索。或采用其他方式, 如树突细胞疫苗促进IL-9介导的免疫应答能力。不同患者来源的黑色素瘤对IL-9反应是否有差异目前尚不明确。哪些因素可能抑制IL-9的抗肿瘤效应及如何合理的联合化疗、免疫治疗等仍有待今后研究阐明。

## 参考文献

1. Domingues B, Lopes JM, Soares P, et al. Melanoma treatment in review[J]. *Immunotargets Ther*, 2018, 7: 35-49.
2. Buder-Bakhaya K, Hassel JC. Biomarkers for clinical benefit of immune checkpoint inhibitor treatment-a review from the melanoma perspective and beyond[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1474.
3. Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J, et al Transforming growth factor-beta "reprograms" the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(12): 1341-1346.
4. Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, et al. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3+ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9+ IL-10+ Foxp3(-) effector T cells[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(12): 1347-1355.
5. Purwar R, Schlapbach C, Xiao S, et al. Robust tumor immunity to melanoma mediated by interleukin-9-producing T cells[J]. *Nat Med*, 2012, 18(8): 1248-1253.
6. Lu Y, Hong S, Li H, et al. Th9 cells promote antitumor immune responses in vivo[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(11): 4160-4171.
7. Fang Y, Chen X, Bai Q, et al. IL-9 inhibits HTB-72 melanoma cell growth through upregulation of p21 and TRAIL[J]. *J Surg Oncol*, 2015, 111(8): 969-974.
8. Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
9. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30.
10. Karimkhani C, Gonzalez R, Dellavalle RP. A review of novel therapies for melanoma[J]. *Am J Clin Dermatol*, 2014, 15(4): 323-337.
11. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(1): 23-34.
12. Robert C, Schachter J, Long GV, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26): 2521-2532.
13. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(4): 271-289.
14. Jang S, Atkins MB. Which drug, and when, for patients with BRAF-mutant melanoma?[J]. *Lancet Oncol*, 2013, 14(2): e60-e69.
15. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(26): 2507-2516.
16. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(8): 711-723.

17. Nakatsukasa H, Zhang D, Maruyama T, et al. The DNA-binding inhibitor Id3 regulates IL-9 production in CD4+ T cells[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(10): 1077-1084.
18. Uyttenhove C, Simpson RJ, Van Snick J. Functional and structural characterization of P40, a mouse glycoprotein with T-cell growth factor activity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, 85(18): 6934-6938.
19. Renauld JC, van der Lugt N, Vink A, et al. Thymic lymphomas in interleukin 9 transgenic mice[J]. *Oncogene*, 1994, 9(5): 1327-1332.
20. Fischer M, Bijman M, Molin D, et al. Increased serum levels of interleukin-9 correlate to negative prognostic factors in Hodgkin's lymphoma[J]. *Leukemia*, 2003, 17(12): 2513-2516.
21. Elyaman W, Bradshaw EM, Uyttenhove C, et al. IL-9 induces differentiation of TH17 cells and enhances function of FoxP3+ natural regulatory T cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(31): 12885-12890.
22. Hoelzinger DB, Dominguez AL, Cohen PA, et al. Inhibition of adaptive immunity by IL9 can be disrupted to achieve rapid T-cell sensitization and rejection of progressive tumor challenges[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(23): 6845-6855.
23. Rivera Vargas T, Humblin E, Végran F, et al. TH9 cells in anti-tumor immunity[J]. *Semin Immunopathol*, 2017, 39(1): 39-46.
24. Zhao Y, Chu X, Chen J, et al. Dectin-1-activated dendritic cells trigger potent antitumor immunity through the induction of Th9 cells[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12368.
25. Lu Y, Hong B, Li H, et al. Tumor-specific IL-9-producing CD8+ Tc9 cells are superior effector than type-I cytotoxic Tc1 cells for adoptive immunotherapy of cancers[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(6): 2265-2270.
26. Parrot T, Allard M, Oger R, et al. IL-9 promotes the survival and function of human melanoma-infiltrating CD4(+) CD8(+) double-positive T cells[J]. *Eur J Immunol*, 2016, 46(7): 1770-1782.
27. Nonomura Y, Otsuka A, Nakashima C, et al. Peripheral blood Th9 cells are a possible pharmacodynamic biomarker of nivolumab treatment efficacy in metastatic melanoma patients[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(12): e1248327.
28. Forget MA, Haymaker C, Hess KR, et al. Prospective analysis of adoptive TIL therapy in patients with metastatic melanoma: response, impact of anti-CTLA4, and biomarkers to predict clinical outcome[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(18): 4416-4428.

**本文引用:** 吕晓鹏, 刘志刚. Th9细胞/白介素-9在黑色素瘤中的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(12): 2671-2674. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.12.025

**Cite this article as:** LÜ Xiaopeng, LIU Zhigang. Research progresses of Th9 cells/interleukin-9 in melanoma[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(12): 2671-2674. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.12.025