

[编者按]为充分发挥学术期刊的导向功能和窗口作用,本刊于2022年设置“专家述评”栏目,特向我校高层次引进人才和校内外知名学者邀约述评稿件,以期帮助读者了解相关研究领域的进展和热点,启发研究思路,推动学术研究。

树突状细胞生物学、功能及其在肿瘤免疫治疗中的应用

黄功华 (广东省医学分子诊断重点实验室,广东医科大学,广东东莞 523808)



专家简介:黄功华,博士,研究员,博士生导师,广东医科大学广东省医学分子诊断重点实验室主任、广东省医学分子诊断协同创新发展中心主任、上海高校特聘教授(东方学者:2013-2016年)、美国关节炎研究基金会会士、中国研究型医院学会过敏反应专业委员会青年副主委。黄功华课题组长期致力于从分子、细胞及动物模型水平研究在生理或病理条件下树突状细胞与免疫微环境中其他细胞复杂的免疫调控网络及其在疾病中的作用机制。以第一作者或通信作者的身份在国际知名学术期刊《Nature Immunology》《Immunity》《Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America》《Science Signaling》和《Journal of Immunology》等杂志发表论文。2013年9月回国至今,主持科研项目包括国家重点基础研究计划(973计划)、国家重点研发计划、国家自然科学基金面上项目及国家自然科学基金重大研究计划。

摘要:树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前发现的功能最强大的抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC),在介导天然免疫与适应性免疫反应中发挥重要的作用。该文论述了DC的特征及功能、发育及调控、MAPK信号通路调控DC的可塑性和功能,以及DC在肿瘤免疫治疗中的作用,提出目前DC领域研究的重点、难点及展望。

关键词:树突状细胞;细胞发育;功能可塑性;肿瘤;免疫治疗

中图分类号: R 392

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2022)01-0001-10

Dendritic cell biology, function and its application in cancer immunotherapy

HUANG Gong-hua (Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong 523808, China)

Abstract: Dendritic cell (DC) is the most important antigen-presenting cell, bridging innate and adaptive immunity. This review covers four aspects of DC biology and function connected with antitumor application. First, we review the characterization and function of DC. Second, we discuss the regulation of DC development. Third, we describe the functional plasticity regulation by MAPK pathway in DC. Finally, we summarize recent advances in cancer immunotherapy by targeting on DC and highlight areas in the field that remained unresolved.

Key words: dendritic cell (DC); DC development; functional plasticity; cancer; immunotherapy

1973年,加拿大籍科学家Ralph Steinman等首次发现树突状细胞(dendritic cell, DC),其具有强大的抗

原提呈功能,在调控免疫应答和诱导免疫耐受中发挥至关重要的作用。Ralph Steinman也因此被授予

收稿日期: 2021-12-20

基金项目: 广东医科大学高层次人才启动经费(1026/4S G21229G),国家自然科学基金面上项目(31670897),国家自然科学基金重大研究计划培育项目(91642104)

2011年诺贝尔生理学或医学奖。DC的功能非常复杂,近年来,随着单细胞测序技术、细胞影像技术和基因编辑技术等迅猛发展,人们对DC的认识也更加深入。本文将简介DC的生物学及功能的研究进展,总结DC在肿瘤免疫治疗中的应用,提出DC研究领域的重点和难点,展望未来研究的方向。

1 DC的特征、分类及功能

1868年,德国科学家Paul Langerhans在研究人的表皮时发现一类形似树突状的细胞,细胞内有特征性的Birbeck颗粒,这类细胞后来被命名为朗格汉斯细胞(Langerhans cell, LC)。直到1979年人们才真正从功能上将LC确认为皮肤组织驻留的APC,因此LC也被认为是最早发现的DC亚群^[1]。1973年加拿大籍科学家Ralph Steinman(当时在美国洛克菲勒大学学习)等在观察小鼠脾脏细胞时,发现有一群类似树突状的细胞,细胞内有众多Birbeck颗粒,这类细胞在体外具有超强的激活同源T细胞反应的能力,Ralph Steinman将此类细胞正式命名为DC,后来人们研究发现其可以激活抗原特异性免疫反应^[2]。现在普遍认为,DC是体内最重要的APC,具有以下明显特征:(1)DC表面具有非常复杂的抗原或细胞因子受体,可以通过此类受体识别并结合外源的病原微生物,通过受体等介导的内吞将外界病原微生物摄取入细胞内,并进一步激活下游复杂的免疫反应^[3]。(2)DC具有非常发达的细胞内酶解系统(之前教科书一直认为DC胞质内无溶酶体和吞噬体等),可以很容易地将内吞的病原微生物加工和处理为抗原肽,抗原肽与MHC-I或MHC-II类分子结合后表达于DC表面,进一步提呈给初始型T细胞,触发T细胞的免疫应答^[4]。(3)通常情况下DC以一种不成熟的状态存在,表现为具有很强的吞噬能力,其细胞表面共刺激分子表达不高,在维持机体的免疫耐受中发挥重要作用。一旦受到病原微生物或其他刺激后,DC可以迅速上调其表面共刺激分子的表达,并伴随吞噬能力的迅速下降,同时获得了较强的迁移能力,可以携带病原微生物的信号迁移到淋巴结并激活T细胞或B细胞^[5]。但是在某些炎症情况下,环境中的一些抗炎分子如IL-10、TGF β 、维甲酸(retinoic acid, RA)、糖皮质激素、维生素D和地塞米松等能明显促进DC耐受^[6]。(4)随着基因敲除技术及其他基因靶向技术的运用,从20世纪90年代开始,人们发现DC是一群高度异源性细胞,不同组织具有不同的DC亚群,不同亚群的DC受不同转录因子调控,功能也不同^[7-8]。以上4个特征赋予

DC强大的抗原提呈功能,使其成为适应性免疫应答的启动者,并在介导天然免疫与适应性免疫反应中发挥重要作用^[9]。

在静息状态下,DC可以分为常规DC(conventional DC, cDC)、浆细胞样DC(plasmacytoid DC, pDC)和皮肤的LC。cDC主要参与抗原提呈,在维持机体免疫反应和免疫耐受中发挥重要作用;而pDC则主要应答细菌或病毒刺激,通过产生I型干扰素发挥功能^[8]。在炎症状态下,骨髓或血液中单核细胞也可以进一步分化成DC,称为单核细胞来源的DC(monocyte-derived DC, MoDC),这类DC迁移能力较弱,但可分泌大量的炎症因子,在局部组织炎症反应中发挥重要作用^[10-11]。根据DC表面分子的不同,cDC又可以分为cDC1和cDC2。小鼠淋巴器官中cDC1表面主要表达CD8、Xcr1、Clec9a等分子,在非淋巴器官组织中表达CD103;人类cDC1表面主要表达CD141。cDC1主要参与抗原交叉提呈,在抗病毒及肿瘤免疫反应中起主要作用。小鼠cDC2表面表达CD11b、Sirp α 等分子,但在某些非淋巴器官如肠道中部分cDC2也表达CD103^[12];人类cDC2表面主要表达CD1c。cDC2主要参与抗原直接提呈作用,在抗细菌、自身免疫病及维持机体免疫耐受中发挥重要作用^[8,10]。近年来,随着单细胞测序技术等运用,人们发现了更多的DC亚群,不同微环境中DC亚群发挥的功能也不同^[13-15]。值得说明的是,DC除了参与抗原提呈并调控T细胞及B细胞的分化和功能外,在天然免疫应答中也发挥重要作用。近年来研究发现DC与其他天然免疫细胞如NK细胞及组织细胞相互作用,可产生多种免疫学效应^[16],这给DC的研究造成了非常复杂的影响。

2 DC的发育及调控

现在普遍认为,绝大多数DC的发育起源于骨髓造血干细胞(LC起源于胚胎时期卵黄囊或肝脏)。在多种细胞因子如FLT3L和GM-CSF,以及转录因子如PU.1、E2-2、Id2、Batf3、IRF4和IRF8等的共同作用下,骨髓造血干细胞经过一系列不同谱系(髓系和淋巴系等)细胞分化,可定向分化成髓系和淋巴系DC前体细胞,进入血液循环,最后在各淋巴组织和非淋巴组织中进一步分化成熟。目前FLT3L被认为是调控DC发育最重要的细胞因子^[17],其通过激活PI3K-mTOR信号通路促进DC的分化与成熟^[18]。尽管体外研究证实GM-CSF可以促进骨髓造血干细胞或单核细胞向DC分化,但是体内GM-CSF对DC的分化是非必需

的^[19]。在炎症情况下,GM-CSF则可以促进单核细胞分化成DC^[20]。转录因子对DC的发育调控更引人关注,cDC1高水平表达转录因子IRF8,其发育受*Irf8*、*Batf3*、*Id2*、*Nfil3*和*Bcl6*的调节。cDC2高表达IRF4,同时也低表达IRF8,其进一步可细分为功能特异依赖Notch2或KLF4的两个亚群。pDC也表达高水平IRF8,但同时依赖转录因子E2-2的调控。近年来研究发现,所有骨髓来源的细胞中,转录因子*Zbtb46*特异性表达于cDC,而在其他细胞中不表达,因此基于*Zbtb46*的转基因小鼠在研究DC生物学及功能中起非常重要的作用。有关DC发育的细胞因子和转录因子具体调控机制可参见几篇非常好的综述^[7, 21-24],在此不再赘述。

DC的发育除了受上述细胞因子和转录因子的调控外,还受到调节细胞生存和增殖的细胞因子的影响^[25-26]。利用在CD11c⁺ DC中特异性敲除TAK1基因(*Map3k7*)和可诱导的TAK1敲除的小鼠模型,我们发现TAK1在DC生存、免疫系统稳态和功能的维持中发挥重要作用。DC缺失TAK1加速其凋亡,尤其是淋巴组织中CD8⁺ DC和非淋巴组织中CD103⁺ DC的凋亡,进而导致DC的显著减少。TAK1还能通过诱导DC前体细胞的产生促进DC发育。此外,TAK1能够整合来自TLR、CD40和RANK的信号,进而活化下游NF- κ B和AKT-Foxo通路以维持DC存活。DC缺失TAK1后使髓样增殖性异常(表现为中性粒细胞和炎性单核细胞的异常扩增)、打破T细胞稳态并且抑制有效的T细胞启动和调节性T细胞的产生^[27]。因此,TAK1通过促进DC的生存影响免疫系统的稳态和功能。

近年来,细胞代谢在调控细胞发育和功能中发挥重要作用^[28-29]。免疫细胞的一些基本功能,如转录因子的激活、基因和蛋白的表达水平变化、细胞器稳态的维持、危险信号的识别和应激反应等都受细胞代谢及其产物的调控^[29-30]。骨髓前体细胞发育分化为DC与mTORC1信号和细胞代谢关系密切^[18]。TSC1是mTORC1的负调控因子,缺失TSC1后DC中mTORC1活性增强,DC的生存和增殖受到影响,进而抑制DC在体内和体外的发育和分化。此外,TSC1缺失导致DC自发性活化,使其倾向于分化成为其他谱系的细胞,并削弱了DC介导的效应性1型辅助性T细胞(type 1 helper T cell, Th1)应答。机制研究发现,缺失TSC1后,DC的糖酵解、线粒体呼吸和脂质合成增强,此改变部分依赖于Myc。此外,TSC1信号通过其下游的Rheb分子下调mTORC1活性来维持正常的

DC发育^[31]。因此,TSC1-Rheb-mTORC1信号轴与Myc依赖的生物能量和生物合成活动之间的相互作用成为促进DC发育的一个关键的代谢节点^[31]。此外,DC中LKB1信号通路可以限制调节性T细胞的过度增殖及其导致的肿瘤的发生和Th17细胞应答。当LKB1缺失时,DC mTOR信号通路被激活并发生代谢紊乱、成熟异常、细胞因子和免疫调节分子表达异常。阻断mTOR信号通路后,可以部分纠正LKB1缺失引起的DC成熟异常和调节性T细胞过度增殖。LKB1通过协调DC的代谢和免疫静止增强保护性抗肿瘤免疫和正常的免疫稳态^[32]。更多物质代谢对DC发育和功能的研究可以参照近年来几篇非常全面的综述文章^[33-37]。值得说明的是,目前对DC代谢的研究还停留在体外培养的DC,且在充足的营养和氧气存在的条件下对单基因或单一代谢物功能改变的研究^[35]。这些研究都忽视了DC所处的原位微环境对其代谢复杂性的影响。不同DC亚型是否具有特异性的代谢需求或是否依赖相同的代谢通路来行使其功能?这些科学问题都有待于进一步阐明。随着单细胞测序技术和质谱技术的广泛应用,DC发育以及DC分化和功能的转录调控研究得到了极大的促进^[12-13, 38]。但是我们对于DC如何调节亚群特异性的发育程序与应对不同环境刺激的分化能力仍然是不清楚的^[22, 39],这是DC的多样性与适应性的体现,局部环境的动态变化可能最终影响不同亚群DC如何平衡免疫与耐受^[40-41]。

3 MAPK信号通路在调控DC功能及可塑性中的作用机制

DC既可以发挥免疫激活作用,又能够诱导免疫耐受,其功能的巨大可塑性一直是DC领域的研究重点^[42]。DC可塑性与其所处微环境的性质密切相关,微环境中各种不同刺激作用于DC,后者通过不同机制发挥其功能的可塑性^[42]。有丝分裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路是DC感知外源性刺激并作出有效免疫应答的最重要的细胞内信号通路之一,主要包括p38、c-Jun NH2-terminal protein kinase (JNK)和extracellular signal-regulated kinase (ERK),其中p38 MAPK是最主要的调节细胞免疫炎症反应的蛋白激酶。p38 MAPK有4种不同的亚基(α 、 β 、 γ 和 δ),这4种亚基在不同组织或细胞中的表达水平不同,以p38 α 表达量最高^[43]。MAPK的负调控主要依赖于MAPK磷酸酶(MAPK phosphatase, MKP),以MKP-1最为重要^[42]。

我们过去十年的研究发现,MAPK信号通路在肠道及皮肤DC功能可塑性的调控方面发挥重要的作用。

肠道作为机体抵御病原菌入侵的第一道防线,其稳态的维持对人体正常生理功能具有重要意义^[44]。宿主肠道免疫系统通过多种细胞和分子机制在肠道的稳态维持及重建中发挥至关重要的作用,肠道免疫系统调控机制的异常则可能导致多种免疫性疾病乃至肿瘤的发生,其中炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)及其诱发的肠炎相关结肠癌(colitis-associated colorectal cancer, CACRC)最为常见,但IBD的病因及其发病机制仍不清楚,现有治疗方法有很大局限性^[45]。肠道DC在肠炎发病进程中起着至关重要的作用^[46]。我们的研究发现,在葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导的小鼠肠炎中,肠道和肠系膜淋巴结DC p38 α 的磷酸化水平明显上升。当DC特异性敲除p38 α 后则能明显减轻DSS诱导的小鼠肠炎及氧化偶氮甲烷联合DSS诱导的肠道肿瘤的发生。细胞水平研究发现,cDC1(而不是cDC2)中p38 α 缺失后能明显增强1型调节性T细胞(type 1 regulatory T cell, Tr1)的分化,进而发挥有效的抗炎免疫反应。此外,DC p38 α 缺失可以显著增加小鼠肠道组织中分泌IL-22的3型天然淋巴细胞(group 3 innate lymphoid cell, ILC3)的产生,并增强肠道上皮细胞或组织的损伤后修复能力。进一步的分子水平研究发现,DC可以通过p38 α 依赖的IL-27调节Tr1的分化及ILC3的产生^[47]。DC除了在调控肠道炎症中发挥重要作用,在维持肠道免疫耐受中也十分重要^[48]。当DC缺失p38 α ,小鼠肠道免疫耐受功能受损,在T细胞转输诱导的肠道炎症中,小鼠的肠道炎症明显加重。与上述DSS诱导的肠道炎症不同的是,p38 α 在肠道CD103⁺cDC2中才有此作用,进一步证明DC作用的细胞亚群特异性。分子机制研究表明CD103⁺DC通过p38 α 调控TGF β 2和RA的表达,进而影响下游Th1细胞和调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)的分化以及T细胞归巢到肠道组织^[49]。以上结果表明,静息状态下的cDC1以p38高活性状态维持肠道对自身抗原及肠道菌群的免疫耐受,而低水平p38则有利于其促进调节性T细胞分化并以此来控制肠道炎症。因此,p38 α 在调控肠道DC功能的可塑性方面发挥重要作用。

DC在调控皮肤免疫与耐受中也发挥重要作用^[8]。银屑病是以皮肤炎症和表皮过度增殖为特征的自身免疫性疾病,发病机制不明^[50]。我们研究发现,咪喹莫特处理过的小鼠皮肤中,LC(而不是真皮DC)中p38 α 的缺失可以通过抑制IL-23的表达影响 $\gamma\delta$ T

细胞分泌IL-17,从而抑制银屑病的症状;腹腔注射p38抑制剂SB203580能明显改善野生型小鼠的银屑病样皮肤炎症^[51]。但当皮肤应对过敏性物质如屋尘螨刺激后,DC中p38 α 的缺失则能明显增强皮肤的过敏状态,表现为产生IL-4的Th2细胞反应异常升高,使皮肤的免疫耐受功能受损(作者实验观察)。这些结果也表明,DC中p38 α 的缺失在宿主维持皮肤的免疫稳态方面发挥不利的作用,但在保护宿主免疫炎症刺激的过程中发挥有利作用。因此,p38 α 在调控皮肤DC功能的可塑性方面也发挥重要作用,也为p38抑制剂用于临床免疫治疗方面提供了理论依据。

免疫耐受的打破将导致机体自身免疫性疾病的发生,多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)及其动物模型实验性自身免疫性脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)是一种典型的Th17细胞依赖性的自身免疫性疾病^[52]。大量的实验也证实,DC在MS和EAE中发挥重要调控作用^[53]。我们研究发现,DC p38 α MAPK信号通路在Th17细胞分化及Th17细胞介导的EAE发病中发挥重要作用。只有DC中p38 α 缺失可以保护小鼠免患EAE,而巨噬细胞或T细胞中p38 α 缺失对小鼠患病没有任何影响。在机制方面,p38 α 信号通路整合细胞外多种刺激后选择性地调节DC中与Th17细胞分化相关的细胞因子和共刺激分子的表达,并进一步影响T细胞IL-23受体的表达从而促进Th17细胞的分化发育。此外,在疾病发生过程中,组织浸润的DC也可以通过其p38 α 的活性来维持Th17细胞的功能^[54]。DC中MKP-1信号通路在接受不同的外源性刺激后,选择性地调节与之相对应的T细胞分化相关的细胞因子的表达,并进一步影响T细胞表面受体及转录因子的表达从而促进不同类型的T细胞分化。MKP-1缺失将导致机体抗菌免疫反应的缺陷及异常的T细胞免疫炎症反应^[55]。

4 DC在肿瘤免疫治疗中的作用

肿瘤是严重危害人类健康和生命的重要疾病之一,以往对肿瘤的治疗如手术治疗、化学药物治疗和放射疗法均直接针对肿瘤本身,在发挥治疗作用的同时均对机体正常细胞造成损伤。近年来兴起的肿瘤免疫治疗通过提高人体自身免疫系统的活性来杀灭肿瘤,被认为是肿瘤临床治疗的前沿手段,在2013年被《科学》杂志评为年度十大科学突破之首^[56]。肿瘤的免疫治疗分为主动免疫治疗和被动免疫治疗。主动免疫治疗是利用APC来提升患者的免疫力直接杀伤肿瘤^[57-58]。被动免疫治疗是过继转输肿瘤浸润的

淋巴细胞或改造过的淋巴细胞如嵌合抗原受体T细胞(Chimeric antigen receptor-T cell, CAR-T)到患者体内诱导免疫介导的肿瘤清除^[59-60]。尽管CAR-T在治疗血液系统肿瘤中获得了令人鼓舞的成就,但对于实体瘤的治疗存在特异性靶点选择困难和易脱靶的问题,也容易出现不良反应。此外,有相当一部分患者出现肿瘤的复发和转移^[60-61]。针对肿瘤微环境中高表达的PD-L1等抑制性配体会抑制肿瘤浸润淋巴细胞的活性,科学家发明了免疫检查点抑制剂治疗肿瘤^[62]。但是目前接受PD-1/PD-L1治疗的长期获益患者仍然较低(约10%),而且容易出现不良反应如免疫系统的过度激活,相当一部分患者也容易出现肿瘤的复发与转移^[63-64]。因此,进一步发展新的治疗策略,通过鉴定新的靶点联合免疫检查点治疗,则可以帮助增强转化医学的成果^[65]。

大量的研究成果证实DC是引导免疫检查点治疗和其他肿瘤免疫治疗的关键调控因素^[66-67]。事实上,传统的肿瘤治疗方法,如化疗和放疗,是通过诱导细胞死亡之后释放的损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMP),如损伤DNA、ATP或HMGB1,促进DC的激活和CD8⁺T细胞免疫反应以达到肿瘤治疗的目的^[68-69]。此外,临床结果也显示肿瘤组织内存在DC数量及效应性细胞因子转录水平与CD8⁺T细胞的浸润及炎症表型密切相关的证据^[23, 70]。肿瘤组织内DC含量少或功能失调,则与预后差的免疫肿瘤类型相关^[71]。相应地,越来越多的研究者倾向于调控DC以更有效地激活和带动T细胞进入肿瘤微环境,尤其是对那些免疫原性弱的(非炎性或冷)肿瘤,以提高免疫检查点治疗的效果^[72-73]。大量的研究数据显示DC是连接免疫检查点疗效机制与其他肿瘤治疗方法的一个重要桥梁^[73]。遗憾的是,目前以DC靶向的肿瘤免疫治疗整体疗效还非常低。因此,进一步了解DC生物学特性是提高其作为靶点在治疗肿瘤中一个非常重要的基础。

近年来发现cDC1很可能代表一种比传统单核细胞来源的DC更具优势的DC亚群用于肿瘤的免疫治疗^[74]。体外用FLT3L培养骨髓造血干细胞3 d,再用分泌NOTCH配体DL1的单层OP9基质细胞培养就可以得到类似的野生型cDC1^[75-76]。相应地,通过转输肿瘤细胞裂解后的抗原激活的cDC1能够明显增强CD8⁺T细胞的抗肿瘤免疫反应^[77]。同样,体外诱导产生的cDC1装载的肿瘤抗原,也能有明显的抗肿瘤效果^[78]。鉴于此,有研究者正在招募非小细胞肺癌患者,用来评价放疗和全身性抗PD-1治疗合并过继转输CD1c⁺DC和CD141⁺DC随机临床II期实验

(NCT04571632),用于评价其1年无进展生存期。尽管上述研究建立了一种基于cDC1免疫治疗的方法,但实际运用中仍然有几点值得考虑:(1)如何从患者体内中获得足够质量好的cDC1用于免疫治疗仍然是一个很大的问题^[79-80]。(2)一旦体外能够生产或扩增出足够量的cDC1用于肿瘤治疗,选用合适的佐剂用于完全激活DC成熟是至关重要的步骤^[81]。Poly I:C是目前常用于DC成熟的佐剂^[82]。(3)当前研究证实,尽管cDC1在肿瘤免疫治疗中可以通过激活CD8⁺T细胞发挥重要作用,但CD4⁺T细胞对CD8⁺T细胞的辅助功能也是必需的,而CD4⁺T细胞的激活需要cDC1和cDC2表面的MHC-II提供信号。(4)除了DC与T细胞的相互作用,近年来报道DC和NK细胞的相互作用在抗肿瘤免疫中也非常重要,cDC1分泌的IL-12可以激活NK细胞分泌IFN γ 以抑制肿瘤细胞的转移^[83]。NK细胞也可以分泌趋化因子CCL5等招募cDC1到肿瘤的免疫微环境以发挥其抗肿瘤免疫的功能^[16]。(5)肿瘤微环境中DC与其他免疫细胞的交互作用非常复杂,应该综合评价。近年来,针对多种肿瘤的研究发现了一类新的DC3亚群,提示其可能在肿瘤发生中发挥一定的作用^[14-15, 84-86]。DC3与cDC1和cDC2有相应的表型,但也存在特异的转录特征。DC3具有成熟与激活的分子标志,也有免疫调节的转录本特征(如DC迁移相关分子CCR7、FSCN1,DC成熟相关分子LAMP3、CD80、CD83、CD40,以及免疫调节分子PD-L1、PD-L2、IDO1、CD200等)^[87]。这类新的DC3亚群与之前其他不同研究组报道的CCR7⁺LAMP3⁺DC^[87], mregDC^[15]或肿瘤浸润激活/成熟DC^[14]具有相似的性状,但在本质上这类细胞更类似于炎性DC或cDC2。在功能上,DC3具有激活初始T细胞以及控制调节性和记忆性T细胞分化的能力。同时也能通过其分泌的TGF β 促进CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞表达CD103。一方面DC3通过调节CD8⁺T细胞的功能和促进CD103⁺组织驻留记忆性T细胞募集到肿瘤组织而发挥抗肿瘤作用;另一方面DC3也发挥抗T细胞介导的免疫调节功能,与肿瘤微环境中T细胞的功能失调相关^[88]。值得说明的是,DC也并非都是发挥抗肿瘤作用,对免疫检查点治疗疗效不佳的患者肿瘤组织单细胞测序分析发现,有一类成熟的具有调节功能的DC,可由cDC1或cDC2摄取肿瘤抗原分化而成,上调表达PD-L1,其分泌的IL-12严格地依赖于IFN γ ,发挥干扰正常的抗肿瘤免疫反应的作用^[15]。

在DC的抗原交叉提呈研究方面,尽管发现了参与DC交叉提呈的一些关键分子如Nox2、Rac2、Rab3b/c/27a、Irap、Sec61、Sec22b、Tfeb、Mannose receptor等,

但是人们只对 Sec22b 做了一些体内抗肿瘤实验(合并 ICT)^[65,89-90]。此外,有研究表明 MoDC 并不直接参与体内抗原交叉提呈功能^[65]。在分子机制研究方面发现,抑制溶酶体功能的药物氯喹可以增强抗原交叉提呈功能^[91];细胞相关的抗原交叉提呈可能通过与内吞体或细胞骨架成分相互作用而介导囊泡的转运^[65]。研究者发现合并 MHC-I 和 MHC-II 抗原提呈时,肿瘤更容易被清除,体现了 MHC-II 介导的 CD4⁺ T 细胞的辅助作用^[92]。若合并免疫检查点抑制剂治疗时,抗肿瘤的效果明显增强,进一步强调了 CD4⁺ T 细胞的辅助作用^[65]。

DC 疫苗及其在肿瘤免疫治疗的进展,人们往往忽略了 DC 携带肿瘤抗原或相关抗原到淋巴结激活初始型 T 细胞或细胞毒性 T 细胞及记忆性 T 细胞的作用,但这种作用在诱导长期的抗肿瘤免疫中非常重要^[93-94]。DC 疫苗早期应用于免疫原性高的恶性黑色素瘤的治疗^[95],之后被用于多个肿瘤的临床试验^[6]。通常治疗用的 DC 都来源于患者外周血单核细胞或干细胞的体外分化,近年来也有来自诱导多能干细胞的定向分化,通过纳米材料、抗体、病毒载体及 RNA 作为递送肿瘤相关抗原材料和共刺激分子至肿瘤组织以达到治疗目的^[6]。在制定肿瘤免疫治疗方案起始,通过操控 DC 达到疗效是一种非常有潜力的方法,但目前疗效不佳。未来将充分联合 DC 疫苗与其他疗法,提高肿瘤的免疫治疗^[74]。DC 在肿瘤免疫治疗中的两种扩增途径:(1)体内扩增:全身性给予 FLT3L 可以直接导致 cDC1 的系统性扩增,增加肿瘤组织 DC 的含量,并对肿瘤的生长具有明显的缓解作用^[96]。若合并 TLR 或 STING 激活剂、放疗或免疫检查点治疗,可以明显地控制肿瘤生长,目前已应用于转移乳腺癌或非霍奇金淋巴瘤的临床实验中(NCT03789097, NCT01976585)^[71,97]。这种方法的好处在于可以针对广泛的抗原,而且没有患者抗原特异性问题,也可以明显增加全身或局部的 T 细胞免疫反应,提高与其他疗法合并使用的效果。(2)体外扩增:肿瘤全细胞 DC 疫苗依赖于外源性成熟及单核细胞来源的 DC 的扩增,这也是现在 DC 疫苗普遍采用的办法^[98-99]。尽管这种来源于患者的细胞,安全性更好,也在急性髓性白血病的治疗中使用,但单臂实验的疗效仍然很低(8%~15%)^[100]。目前唯一被 FDA 批准的是用来治疗转移性前列腺癌的 DC 疫苗^[101]。DC 疫苗的疗效不高,可能的原因有:(1)肿瘤的抑制性免疫微环境可以阻止 T 细胞浸润、生存和效应功能,合并抗 PD-1 或 CTLA-4 治疗可以明显改善治疗效果^[102-103];此外,DC 疫苗合并手术及化疗、放疗均可增加疗效^[104]。

(2)体外扩增的 DC 在体内缺乏迁移能力,需要内源性 DC 发挥作用^[105-106]。尽管小鼠 cDC1 被用来做 DC 疫苗,但由于人外周血中 cDC1 数量非常少,且疗效也不确定,尚缺乏此类数据^[107]。目前用到的 DC 成熟的金标准“TNF α 、IL-1 β 、IL-6 和 PGE2 组合”可以增加 DC 的迁移,但仍有些不足之处,如 PGE2 可以诱导调节性 T 细胞并降低 IL-12 的分泌^[108]。更多的细胞因子组合方法正在被测试。(3)一次注射的量要在 10⁶~10⁷ DC 方可达到疗效^[109]。(4)有些 DC 疫苗不能有效地过表达组织特异性抗原,如 NY-ESO-1、MUC1、MAGEA3、MART1、HER2,通常人们将这些抗原偶联到靶向 DC 受体,如 Clec9a、DEC205 或 DC-SIGN 以提高其增强免疫反应的能力^[94]。但是 Clec9a 通常会引起免疫耐受,需要进一步添加其他刺激物如 poly I:C 等^[110]。(4)肿瘤微环境对 DC 功能的影响:近年来研究发现肿瘤微环境中多个内在肿瘤机制可以限制 DC 功能并阻碍肿瘤免疫监视^[111]。肿瘤微环境中 DC 缺乏或被清除是产生体内适应性免疫和原位重激活 T 细胞反应的主要障碍^[112]。肿瘤微环境中调节 DC 募集到肿瘤部位的免疫遗传和代谢因素紊乱以及非常少量的 DC 通常都不能产生一个有效的免疫趋化梯度^[71]。此外,肿瘤浸润 DC 还受到肿瘤微环境中多种促进 DC 耐受以及失调的抑制性因子不利因素的影响^[113]。近年研究认为,限制 DC 进入肿瘤微环境的原癌基因信号亦是十分重要的,主要有 WNT/ β -catenin^[114]、PTEN^[115]、STK11/LKB1^[32,116]、STAT3^[117]、SOCS^[118]、IRE1/XBP1^[119]及 COX-2 信号^[120]等。但是有些肿瘤组织微环境可以刺激 DC 分泌 IDO1 等,诱导调节性 T 细胞,从而拮抗机体的抗肿瘤免疫反应^[121]。

5 研究展望

总之,DC 是一群高度异质性细胞,随着新技术和新方法的运用,越来越多的 DC 亚群被发现,进一步探索这些新发现的 DC 亚群的功能、发育来源及其转录调控显得非常重要。同时,DC 的功能与其所处的免疫微环境的特性密切相关,不同的免疫微环境决定了 DC 功能的高度可塑性。DC 在复杂的免疫微环境中如何被调节以及不同的 DC 亚群如何发挥其独特的免疫功能将是 DC 领域研究的重点和难点。此外,在考虑应用 DC 进行肿瘤免疫治疗时,选用何种 DC 亚群和抗原类型、采用何种 DC 的成熟方案、如何提高 DC 在体内的迁移和靶向性、如何改善肿瘤微环境对免疫抑制的作用等问题,均有待于进一步阐明和实践。因此,进一步了解 DC 的生物学特性及功能,探索 DC 疫苗与其他疗法综合运用等将最终提高肿瘤

的免疫治疗效果。

志谢:本述评撰写过程中,得到了课题组郑婷婷老师和王妍妍老师的大力协助,在此表示感谢!

参考文献:

- [1] BECKER Y. Milestones in the research on skin epidermal Langerhans/dendritic cells (LCs/DCs) from the discovery of Paul Langerhans 1868-1989[J]. *Virus genes*, 2003, 26(2):131-134.
- [2] STEINMAN R M, COHN Z A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution[J]. *J Exp Med*, 1973, 137(5): 1142-1162.
- [3] STEINMAN R M, BANCHEREAU J. Taking dendritic cells into medicine[J]. *Nature*, 2007, 449(7161):419-426.
- [4] DUDZIAK D, KAMPHORST A O, HEIDKAMP G F, et al. Differential antigen processing by dendritic cell subsets *in vivo*[J]. *Science*, 2007, 315(5808):107-111.
- [5] MERAD M, MANZ M G. Dendritic cell homeostasis[J]. *Blood*, 2009, 113(15):3418-3427.
- [6] SALAH A, WANG H, LI Y, et al. Insights into dendritic cells in cancer immunotherapy: From bench to clinical applications [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:686544.
- [7] MURPHY T L, GRAJALES-REYES G E, WU X, et al. Transcriptional control of dendritic cell development[J]. *Ann Rev Immunol*, 2016, 34:93-119.
- [8] DURAI V, MURPHY K M. Functions of murine dendritic cells [J]. *Immunity*, 2016, 45(4):719-736.
- [9] PAUL W E. Bridging innate and adaptive immunity[J]. *Cell*, 2011, 147(6):1212-1215.
- [10] BRISENO C G, MURPHY T L, MURPHY K M. Complementary diversification of dendritic cells and innate lymphoid cells[J]. *Curr Opin Immunol*, 2014, 29:69-78.
- [11] DOMINGUEZ P M, ARDAVIN C. Differentiation and function of mouse monocyte-derived dendritic cells in steady state and inflammation[J]. *Immunol Rev*, 2010, 234(1):90-104.
- [12] MERAD M, SATHE P, HELFT J, et al. The dendritic cell lineage: Ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting[J]. *Annu Rev Immunol*, 2013, 31:563-604.
- [13] VILLANI A C, SATIJA R, REYNOLDS G, et al. Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes, and progenitors[J]. *Science*, 2017, 356(6335): eaah4573.
- [14] ZILIONIS R, ENGBLOM C, PFIRSCHKE C, et al. Single-cell transcriptomics of human and mouse lung cancers reveals conserved myeloid populations across individuals and species[J]. *Immunol*, 2019, 50(5):1317-1334.
- [15] MAIER B, LEADER A M, CHEN S T, et al. A conserved dendritic-cell regulatory program limits antitumour immunity [J]. *Nature*, 2020, 580(7802):257-262.
- [16] BOTTCHER J P, BONAVIDA E, CHAKRAVARTY P, et al. NK cells stimulate recruitment of cDC1 into the tumor microenvironment promoting cancer immune control[J]. *Cell*, 2018, 172(5):1022-1037.
- [17] MCKENNA H J, STOCKING K L, MILLER R E, et al. Mice lacking flt3 ligand have deficient hematopoiesis affecting hematopoietic progenitor cells, dendritic cells, and natural killer cells[J]. *Blood*, 2000, 95(11):3489-3497.
- [18] SATHALIYAWALA T, O'GORMAN W E, GRETER M, et al. Mammalian target of rapamycin controls dendritic cell development downstream of Flt3 ligand signaling[J]. *Immunol*, 2010, 33(4):597-606.
- [19] VREMEC D, LIESCHKE G J, DUNN A R, et al. The influence of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor on dendritic cell levels in mouse lymphoid organs[J]. *Eur J Immunol*, 1997, 27(1):40-44.
- [20] WATOWICH S S, LIU Y J. Mechanisms regulating dendritic cell specification and development[J]. *Immunol Rev*, 2010, 238(1):76-92.
- [21] CHEN B, ZHU L, YANG S, et al. Unraveling the heterogeneity and ontogeny of dendritic cells using single-cell RNA sequencing[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:711329.
- [22] VILLAR J, SEGURA E. Decoding the heterogeneity of human dendritic cell subsets[J]. *Trends Immunol*, 2020, 41(12):1062-1071.
- [23] BOURDELY P, ANSELMINI G, VAIVODE K, et al. Transcriptional and functional analysis of CD1c (+) human dendritic cells identifies a CD163 (+) subset priming CD8 (+) CD103 (+) T cells[J]. *Immunol*, 2020, 53(2):335-352.
- [24] HE Z, ZHU X, SHI Z, et al. Metabolic regulation of dendritic cell differentiation[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:410.
- [25] CHEN M, WANG Y H, WANG Y, et al. Dendritic cell apoptosis in the maintenance of immune tolerance[J]. *Science*, 2006, 311(5764):1160-1164.
- [26] OUAAZ F, ARRON J, ZHENG Y, et al. Dendritic cell development and survival require distinct NF-kappaB subunits[J]. *Immunity*, 2002, 16(2):257-270.
- [27] WANG Y, HUANG G, VOGEL P, et al. Transforming growth factor beta-activated kinase 1 (TAK1)-dependent checkpoint in the survival of dendritic cells promotes immune homeostasis and function[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(6):E343-E352.
- [28] LEE Y S, WOLLAM J, OLEFSKY J M. An integrated view of immunometabolism[J]. *Cell*, 2018, 172(1-2):22-40.
- [29] WANG A, LUAN H H, MEDZHITOV R. An evolutionary perspective on immunometabolism[J]. *Science*, 2019, 363(6423).
- [30] MATHIS D, SHOELSON S E. Immunometabolism: an emerging frontier[J]. *Nature Rev*, 2011, 11(2):81.
- [31] WANG Y, HUANG G, ZENG H, et al. Tuberous sclerosis 1 (Tsc1)-dependent metabolic checkpoint controls development of dendritic cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(50):E4894-E4903.

- [32] WANG Y, DU X, WEI J, et al. LKB1 orchestrates dendritic cell metabolic quiescence and anti-tumor immunity[J]. *Cell Res*, 2019, 29(5):391-405.
- [33] MINHAS P S, LATIF-HERNANDEZ A, MCREYNOLDS M R, et al. Restoring metabolism of myeloid cells reverses cognitive decline in ageing[J]. *Nature*, 2021, 590(7844):122-128.
- [34] O'NEILL L A, PEARCE E J. Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function[J]. *J Exp Med*, 2016, 213(1):15-23.
- [35] PEARCE E J, EVERS B. Dendritic cell metabolism[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(1):18-29.
- [36] PATENTE T A, PELGROM L R, EVERTS B. Dendritic cells are what they eat:How their metabolism shapes T helper cell polarization[J]. *Curr Opin Immunol*, 2019, 58:16-23.
- [37] DU X, CHAPMAN N M, CHI H. Emerging roles of cellular metabolism in regulating dendritic cell subsets and function [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2018, 6:152.
- [38] SEE P, DYTERTRE C A, CHEN J, et al. Mapping the human DC lineage through the integration of high-dimensional techniques[J]. *Science*, 2017, 356(6342):1044.
- [39] VILLAR J, SEGURA E. The more, the merrier: DC3s join the human dendritic cell family[J]. *Immunity*, 2020, 53(2):233-235.
- [40] LAURENTI E, GOTTGENS B. From haematopoietic stem cells to complex differentiation landscapes[J]. *Nature*, 2018, 553(7689):418-426.
- [41] HEIDKAMP G F, SANDER J, LEHMANN C H K, et al. Human lymphoid organ dendritic cell identity is predominantly dictated by ontogeny, not tissue microenvironment [J]. *Sci Immunol*, 2016, 1(6):eaai7677.
- [42] QIAN C, CAO X. Dendritic cells in the regulation of immunity and inflammation[J]. *Semin Immunol*, 2018, 35:3-11.
- [43] HUANG G, SHI L Z, CHI H. Regulation of JNK and p38 MAPK in the immune system:signal integration, propagation and termination[J]. *Cytokine*, 2009, 48(3):161-169.
- [44] ZHOU L, SONNENBERG G F. Essential immunologic orchestrators of intestinal homeostasis[J]. *Sci Immunol*, 2018, 3(20):eaao1605.
- [45] NEURATH M. Current and emerging therapeutic targets for IBD[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(11):688.
- [46] SUN T, NGUYEN A, GOMMERMAN J L. Dendritic cell subsets in intestinal immunity and inflammation[J]. *J Immunol*, 2020, 204(5):1075-1083.
- [47] ZHENG T, ZHANG B, CHEN C, et al. Protein kinase p38alpha signaling in dendritic cells regulates colon inflammation and tumorigenesis[J]. *Proc Nat Acad Sci U S A*, 2018, 115(52):E12313-E12322.
- [48] MANICASSAMY S, PULENDRAN B. Dendritic cell control of tolerogenic responses[J]. *Immunol Rev*, 2011, 241(1):206-227.
- [49] HUANG G, WANG Y, CHI H. Control of T cell fates and immune tolerance by p38alpha signaling in mucosal CD103+ dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2013, 191(2):650-659.
- [50] DENG Y, CHANG C, LU Q. The inflammatory response in psoriasis: a comprehensive review[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016, 50(3):377-389.
- [51] ZHENG T, ZHAO W, LI H, et al. p38alpha signaling in Langerhans cells promotes the development of IL-17-producing T cells and psoriasiform skin inflammation[J]. *Sci Signal*, 2018, 11(521):eaao1685.
- [52] GLATIGNY S, BETTELLI E. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as animal models of multiple sclerosis (MS)[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8(11):a028977.
- [53] IFETGAN I, MILLER S D. Potential for targeting myeloid cells in controlling CNS inflammation[J]. *Front Immunol*, 2020, 11:571897.
- [54] HUANG G, WANG Y, VOGEL P, et al. Signaling via the kinase p38alpha programs dendritic cells to drive TH17 differentiation and autoimmune inflammation[J]. *Nature Immunol*, 2012, 13(2):152-161.
- [55] HUANG G, WANG Y, SHI L Z, et al. Signaling by the phosphatase MKP-1 in dendritic cells imprints distinct effector and regulatory T cell fates[J]. *Immunity*, 2011, 35(1):45-58.
- [56] DEVITA V T J R, ROSENBERG S A. Two hundred years of cancer research[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(23):2207-2214.
- [57] JANSEN Y, KRUSE V, CORTHALS J, et al. A randomized controlled phase II clinical trial on mRNA electroporated autologous monocyte-derived dendritic cells (TriMixDC-MEL) as adjuvant treatment for stage III/IV melanoma patients who are disease-free following the resection of macrometastases[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69(12):2589-2598.
- [58] VAN LINT S, WILENGHOF S, HEIRMAN C, et al. Optimized dendritic cell-based immunotherapy for melanoma: the TriMix-formula[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(9):959-967.
- [59] FRY T J, SHAH N N, ORENTAS R J, et al. CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy[J]. *Nature Medicine*, 2018, 24(1):20-28.
- [60] DEPIL S, DUCHATEAU P, GRUPP S A, et al. 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(3):185-199.
- [61] HONG M, CLUBB J D, CHEN Y Y. Engineering CAR-T cells for next-generation cancer therapy[J]. *Cancer Cell*, 2020, 38(4):473-488.
- [62] SHARMA P, ALLISON J P. Dissecting the mechanisms of immune checkpoint therapy[J]. *Nature Rev*, 2020, 20(2):75-76.
- [63] KALBASI A, RIBAS A. Tumour-intrinsic resistance to immune checkpoint blockade[J]. *Nature Rev*, 2020, 20(1):25-39.

- [64] DE MIGUEL M, CALVO E. Clinical challenges of immune checkpoint inhibitors[J]. *Cancer Cell*, 2020, 38(3):326-333.
- [65] MURPHY T L, MURPHY K M. Dendritic cells in cancer immunology[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021. doi: 10.1038/s41423-021-00741-5. Online ahead of print.
- [66] ALBERT M L, SAUTER B, BHARDWAJ N. Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs[J]. *Nature*, 1998, 392(6671):86-89.
- [67] NOURI-SHIRAZI M, BANCHEREAU J, BELL D, et al. Dendritic cells capture killed tumor cells and present their antigens to elicit tumor-specific immune responses[J]. *J Immunol*, 2000, 165(7):3797-3803.
- [68] KROEMER G, GALLUZZI L, KEPP O, et al. Immunogenic cell death in cancer therapy[J]. *Ann Rev Immunol*, 2013, 31: 51-72.
- [69] GARG A D, AGOSTINIS P. Cell death and immunity in cancer: From danger signals to mimicry of pathogen defense responses[J]. *Immunol Rev*, 2017, 280(1):126-148.
- [70] SPRANGER S, LUKE J J, BAO R, et al. Density of immunogenic antigens does not explain the presence or absence of the T-cell-inflamed tumor microenvironment in melanoma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(48):E7759-E7768.
- [71] HEGDE S, KRISNAWAN V E, HERZOG B H, et al. Dendritic cell paucity leads to dysfunctional immune surveillance in pancreatic cancer[J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(3):289-307.
- [72] DE MINGO PULIDO A, GARDNER A, HIEBLER S, et al. TIM-3 regulates CD103 (+) dendritic cell function and response to chemotherapy in breast cancer[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(1):60-74.
- [73] PENG Q, QIU X, ZHANG Z, et al. PD-L1 on dendritic cells attenuates T cell activation and regulates response to immune checkpoint blockade[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):4835.
- [74] SPROOTEN J, CEUSTERS J, COOSEMANS A, et al. Trial watch: dendritic cell vaccination for cancer immunotherapy [J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(11):e1638212.
- [75] KIRKLING M E, CYTLAK U, LAU C M, et al. Notch signaling facilitates *in vitro* generation of cross-presenting classical dendritic cells[J]. *Cell Rep*, 2018, 23(12): 3658-3672 e3656.
- [76] LEE J, BRETON G, ALJOUFI A, et al. Clonal analysis of human dendritic cell progenitor using a stromal cell culture [J]. *J Immunol Methods*, 2015, 425:21-26.
- [77] WCULEK S K, AMORES-INIESTA J, CONDE-GARROSA R, et al. Effective cancer immunotherapy by natural mouse conventional type-1 dendritic cells bearing dead tumor antigen[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1):100.
- [78] ZHOU Y, SLONE N, CHRISIKOS T T, et al. Vaccine efficacy against primary and metastatic cancer with *in vitro*-generated CD103 (+) conventional dendritic cells[J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1):e000474.
- [79] BALAN S, ARNOLD-SCHRAUF C, ABBAS A, et al. Large-scale human dendritic cell differentiation revealing notch-dependent lineage bifurcation and heterogeneity[J]. *Cell Reports*, 2018, 24(7):1902-1915.
- [80] ANSELMINI G, VAIVODE K, DUTERTRE C A, et al. Engineered niches support the development of human dendritic cells in humanized mice[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):2054.
- [81] SAXENA M, BHARDWAJ N. Turbocharging vaccines: emerging adjuvants for dendritic cell based therapeutic cancer vaccines[J]. *Curr Opin Immunol*, 2017, 47:35-43.
- [82] MARTINS K A, BAVARI S, SALAZAR A M. Vaccine adjuvant uses of poly-IC and derivatives[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2015, 14(3):447-459.
- [83] MITTAL D, VIJAYAN D, PUTZ E M, et al. Interleukin-12 from CD103(+) Batf3-dependent dendritic cells required for NK-Cell suppression of metastasis[J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(12):1098-1108.
- [84] QIAN J, OLBRECHT S, BOECKX B, et al. A pan-cancer blueprint of the heterogeneous tumor microenvironment revealed by single-cell profiling[J]. *Cell Res*, 2020, 30(9): 745-762.
- [85] ZHANG Q, HE Y, LUO N, et al. Landscape and dynamics of single immune cells in hepatocellular carcinoma[J]. *Cell*, 2019, 179(4):829-845.
- [86] ZHANG L, LI Z, SKRZYPCZYNSKA K M, et al. Single-cell analyses inform mechanisms of myeloid-targeted therapies in colon cancer[J]. *Cell*, 2020, 181(2):442-459.
- [87] CHENG S, LI Z, GAO R, et al. A pan-cancer single-cell transcriptional atlas of tumor infiltrating myeloid cells[J]. *Cell*, 2021, 184(3):792-809.
- [88] NIRSCHL C J, SUAREZ-FARINAS M, IZAR B, et al. IFN- γ -dependent tissue-immune homeostasis is co-opted in the tumor microenvironment[J]. *Cell*, 2017, 170(1):127-141.
- [89] CEBRIAN I, VISENTIN G, BLANCHARD N, et al. Sec22b regulates phagosomal maturation and antigen crosspresentation by dendritic cells[J]. *Cell*, 2011, 147(6):1355-1368.
- [90] ALLOATTI A, ROOKHUIZEN D C, JOANNAS L, et al. Critical role for Sec22b-dependent antigen cross-presentation in antitumor immunity[J]. *J Exp Med*, 2017, 214(8): 2231-2241.
- [91] ALLATTI A, KOTSIAS F, PAUWELS A M, et al. Toll-like receptor 4 engagement on dendritic cells restrains phagolysosome fusion and promotes cross-presentation of antigens [J]. *Immunity*, 2015, 43(6):1087-1100.
- [92] ALSPACH E, LUSSIER D M, MICELI A P, et al. MHC-II neoantigens shape tumour immunity and response to immunotherapy[J]. *Nature*, 2019, 574(7780):696-701.
- [93] LEAL J M, HUANG J Y, KOHLI K, et al. Innate cell microenvironments in lymph nodes shape the generation of T cell responses during type I inflammation[J]. *Sci Immunol*, 2021, 6(56):eabb9435.
- [94] WCULEK S K, CUETO F J, MUJAL A M, et al. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(1):7-24.

- [95] NESTLE F O, ALIJAGIC S, GILLIET M, et al. Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells[J]. *Nat Med*, 1998, 4(3):328-332.
- [96] SALMON H, IDOYAGA J, RAHMAN A, et al. Expansion and activation of CD103 (+) dendritic cell progenitors at the tumor site enhances tumor responses to therapeutic PD-L1 and BRAF inhibition[J]. *Immunity*, 2016, 44(4):924-938.
- [97] HAMMERICH L, MARRON T U, UPADHYAY R, et al. Systemic clinical tumor regressions and potentiation of PD1 blockade with in situ vaccination[J]. *Nat Med*, 2019, 25(5): 814-824.
- [98] MASSA C, THOMAS C, WANG E, et al. Different maturation cocktails provide dendritic cells with different chemoattractive properties[J]. *J Transl Med*, 2015, 13:175.
- [99] BOL K F, SCHREIBELT G, GERRITSEN W R, et al. Dendritic cell-based immunotherapy: state of the art and beyond [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(8):1897-1906.
- [100] ROSENBLATT J, STONE R M, UHL L, et al. Individualized vaccination of AML patients in remission is associated with induction of antileukemia immunity and prolonged remissions[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(368):368ra171.
- [101] KANTOFF P W, HIGANO C S, SHORE N D, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(5):411-422.
- [102] DURAISWAMY J, KALUZA K M, FREEMAN G J, et al. Dual blockade of PD-1 and CTLA-4 combined with tumor vaccine effectively restores T-cell rejection function in tumors[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(12):3591-3603.
- [103] WILD J M, KRUTZFELDT N O. Neocortical-like organization of avian auditory 'cortex'. Commentary on Wang Y, Brzozowska-Prechtl A, Karten H J (2010): Laminar and columnar auditory cortex in avian brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:12676-12681[J]. *Brain Behav Evo*, 2010, 76 (2):89-92.
- [104] LIAU L M, ASHKAN K, TRAN D D, et al. First results on survival from a large Phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1):142.
- [105] DE VRIES I J, KROOSHSHOOP D J, SCHARENBERG N M, et al. Effective migration of antigen-pulsed dendritic cells to lymph nodes in melanoma patients is determined by their maturation state[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(1):12-17.
- [106] KLEINDIENST P, BROCKER T. Endogenous dendritic cells are required for amplification of T cell responses induced by dendritic cell vaccines in vivo[J]. *J Immunol*, 2003, 170(6):2817-2823.
- [107] PEREZ C R, DE PALMA M. Engineering dendritic cell vaccines to improve cancer immunotherapy[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):5408.
- [108] MASSA C, SELIGER B. Fast dendritic cells stimulated with alternative maturation mixtures induce polyfunctional and long-lasting activation of innate and adaptive effector cells with tumor-killing capabilities[J]. *J Immunol*, 2013, 190(7):3328-3337.
- [109] AARNTZEN E H, SRINIVAS M, BONETTO F, et al. Targeting of ¹¹¹In-labeled dendritic cell human vaccines improved by reducing number of cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(6):1525-1533.
- [110] SANCHO D, MOURAO-SA D, JOFFRE O P, et al. Tumor therapy in mice via antigen targeting to a novel, DC-restricted C-type lectin[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(6):2098-2110.
- [111] BOTTCHE J P, REIS SOUSA C. The role of type 1 conventional dendritic cells in cancer immunity[J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(11):784-792.
- [112] BROZ M L, BINNEWIES M, BOLDAJIPOUR B, et al. Dissecting the tumor myeloid compartment reveals rare activating antigen-presenting cells critical for T cell immunity[J]. *Cancer Cell*, 2014, 26(5):638-652.
- [113] LIN J H, HUFFMAN A P, WATTENBERG M M, et al. Type 1 conventional dendritic cells are systemically dysregulated early in pancreatic carcinogenesis[J]. *J Exp Med*, 2020, 217(8):e20190673.
- [114] SPRANGER S, BAO R, GAJEWSKI T F. Melanoma-intrinsic beta-catenin signalling prevents anti-tumour immunity[J]. *Nature*, 2015, 523(7559):231-235.
- [115] PENG W, CHEN J Q, LIU C, et al. Loss of PTEN promotes resistance to T cell-mediated immunotherapy[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(2):202-216.
- [116] CHEN S, FANG L, GUO W, et al. Control of Treg cell homeostasis and immune equilibrium by Lkb1 in dendritic cells[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):5298.
- [117] LIN A, SCHILDKNECHT A, NGUYEN L T, et al. Dendritic cells integrate signals from the tumor microenvironment to modulate immunity and tumor growth[J]. *Immunol Lett*, 2010, 127(2):77-84.
- [118] ALICE A F, KRAMER G, BAMBINA S, et al. Amplifying IFN-gamma signaling in dendritic cells by CD11c-specific loss of SOCS1 increases innate immunity to infection while decreasing adaptive immunity[J]. *J Immunol*, 2018, 200(1):177-185.
- [119] CUBILLOS-RUIZ J R, SILBERMAN P C, RUTKOWSKI M R, et al. ER stress sensor XBP1 controls anti-tumor immunity by disrupting dendritic cell homeostasis[J]. *Cell*, 2015, 161(7):1527-1538.
- [120] ZELENAY S, VAN DER VEEN A G, BOTTCHE J P, et al. Cyclooxygenase-dependent tumor growth through evasion of immunity[J]. *Cell*, 2015, 162(6):1257-1270.
- [121] LECCISO M, OCADLIKOVA D, SANGALETTI S, et al. ATP release from chemotherapy-treated dying leukemia cells elicits an immune suppressive effect by increasing regulatory T cells and tolerogenic dendritic cells[J]. *Front Immunol*, 2017, 8:1918.