

· 药学前沿 ·

肿瘤联合免疫治疗研究进展

张 瑞,江 涛,曾添筑,姚文兵,高向东,田 浩*

(中国药科大学江苏省生物药物成药性研究重点实验室,生命科学与技术学院,南京 210009)

摘要 免疫检查点是免疫系统中抑制性的信号通路,通过与共刺激分子保持平衡,维持对自身组织的耐受,避免自身免疫反应。肿瘤的发生伴随着共抑制分子与相关配体的上调,引起T细胞功能衰退或耗竭,从而发生肿瘤细胞的免疫逃逸。针对抑制性受体与配体开发单抗药物,调节T细胞活性提高抗肿瘤免疫反应,已经取得较好的临床效果。对免疫调节信号通路采取联合治疗也体现出一定的协同作用。本文对肿瘤联合免疫治疗方案与协同作用评价进行综述,并对联合免疫治疗的可行性及免疫方案的选择进行展望。

关键词 免疫治疗;免疫检查点;联合治疗;协同作用

中图分类号 T730 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2018)04-0383-09

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20180401

引用本文 张瑞,江涛,曾添筑,等. 肿瘤联合免疫治疗研究进展[J]. 中国药科大学学报,2018,49(4):383-391.
Cite this article as: ZHANG Rui, JIANG Tao, ZENG Tianzhu, et al. Advances of combined immunotherapy in tumor [J]. J China Pharm Univ, 2018, 49(4):383-391.

Advances of combined immunotherapy in tumor

ZHANG Rui, JIANG Tao, ZENG Tianzhu, YAO Wenbing, GAO Xiangdong, TIAN Hong*

Jiangsu Key Laboratory of Druggability of Biopharmaceuticals, School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Immune checkpoints are inhibitory signaling pathways in the immune system that maintain balance with co-stimulatory molecules, maintain tolerance to their own tissues, and avoid autoimmune responses. The development of tumors is accompanied by the upregulation of co-suppressor molecules and related ligands, causing the decline or exhaustion of T cell functions, which makes tumor cells escape immune surveillance. The development of monoclonal antibodies against inhibitory receptors and ligands to regulate T cell activity and improve anti-tumor immune responses have achieved promising clinical results. Combined treatment of immunomodulatory signaling pathways also showed a certain of synergy. This article summarizes the evaluation of combined tumor immunotherapy strategies and synergies, and outlooks the feasibility of combined immunotherapy and the selection of immunization strategies.

Key words immunotherapy; immune checkpoints; combined treatment; synergy

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81573335, No. 81673343)

近年来,随着肿瘤免疫学的深入研究,免疫检查点抑制剂、CAR-T细胞、肿瘤疫苗等新的免疫治疗策略不断涌现,使肿瘤的免疫治疗获得了快速发展。由于肿瘤存在高度异质性,联合免疫治疗是未

来肿瘤免疫治疗的一个发展方向,本文对临床研究较为充分的免疫调控分子及联合免疫治疗策略进行综述,当下的联合免疫治疗策略及治疗结果见表1,期望对肿瘤联合免疫治疗的研究提供参考。

表1 肿瘤联合免疫治疗策略及治疗结果

治疗策略	治疗方式	治疗对象	治疗结果	参考文献
联用检查点抑制剂与疫苗	细胞疫苗 + CTLA-4 抗体 Trp2 疫苗 + CTLA-4 抗体 细胞疫苗 + PD-1 抗体	B16-BL6 肿瘤模型鼠 B16 黑色素瘤模型鼠 B16 肿瘤模型鼠	治愈率 80% 提高瘤内淋巴细胞浸润, 生存期延长 完全消退	[1] [2] [3]
联用免疫检查点抑制剂	PD-1 抗体 + Tim-3 抗体 PD-1 抗体 + CTLA-4 抗体 CD40 激动剂 + PD-L1 抗体	CT26 肿瘤模型鼠 CT26 肿瘤模型鼠 转移性黑色素瘤患者	50% 的小鼠肿瘤消退 效应 T 细胞增值能力的提升, Treg 细胞数目减少 生存期延长	[4] [5] [6]
联用检查点抑制剂与刺激性抗体	Ipilimumab + Nivolumab CD137 激动剂 + PD-1 抗体	鼠源胰腺癌肿瘤模型鼠 B16F10 黑色素瘤模型鼠 和 MC38 结肠癌模型鼠	存活率提高 体现出协同抗肿瘤作用	[7] [8]
联用检查点抑制剂与细胞因子拮抗剂	IL-6 抗体 + PD-L1 抗体 IL-17 抗体 + PD-L1 抗体	鼠源胰腺癌 MT5 和 Panc02 肿瘤模型鼠 ER-阴性乳腺癌模型鼠	生存期延长 生存期提高 70%	[9] [10]
联用检查点抑制剂与信号通路抑制剂	MEK 抑制剂和 PD-L1 抗体 MEK 抑制剂和 Tim-3 抗体	CT26 模型鼠 b16F10 小鼠模型	完全消退 体现出协同抗肿瘤作用	[11] [12]
联用肿瘤疫苗与化疗药物	p53 SLP 疫苗 + 环磷酰胺 CD40 激动剂 + 吉西他滨 SLP 疫苗 + 顺铂	卵巢癌患者 胰腺癌患者 Tc-1 肿瘤模型鼠	增强对疫苗的反应 肿瘤消退 促进效应细胞因子产生, 肿瘤消退	[13] [14] [15]

1 重要的免疫调控分子

1.1 抑制性免疫检查点

细胞程序性死亡配体 1 (PD-L1) 高表达于各种实体恶性肿瘤, 包括非小细胞肺癌、黑色素瘤、乳腺癌、胶质瘤等^[16], 其表达水平因肿瘤类型不同而不同, 不仅能促进肿瘤细胞的生长, 还可诱导 T 淋巴细胞的凋亡^[17]。程序性死亡受体 1 (PD-1) 表达在 T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞和 Treg 细胞。PD-1/PD-L1 信号转导将 Th1 细胞转化为 Foxp3 + Treg, 从而阻止 T 细胞克隆、扩增^[18]。PD-1 信号通路导致 T 细胞耗竭, 使肿瘤细胞发生逃逸^[19]。阻断 PD-1 与 PD-L1 之间相互作用的抗体在多种肿瘤模型中显示出良好的治疗效果。例如: Nivolumab 是一种抗 PD-1 受体的人源化 IgG4 型单克隆抗体, 在非小细胞肺癌、肾癌、黑色素瘤患者治疗中, 生存期分别达到 9.9 月、22.4 月以及 16.8 月; Pembrolizumab 是另一种抗 PD-1 的人源化 IgG4 型单克隆抗体, 在 411 例黑色素瘤患者参与的Ⅱ期临床研究中, 72% 患者肿瘤缩小, 缓解率达到 34%。MP-DL3280A 是人源化 IgG1 抗 PD-L1 单克隆抗体, I 期临床试验中, 证明对晚期膀胱癌具有明显的抗肿瘤活性^[20]。值得注意的是, 近来有研究发现 PD-1 抑制剂在某些患者中起到反作用, 加速癌症的扩散^[21], 需要进一步的探索。

细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 (CTLA-4) 是一种抑制性免疫检查点, 可下调免疫应答。CTLA-4

在 Treg 中组成型表达, 但活化后仅在常规 T 细胞上调^[22]。CTLA-4 与 T 细胞共刺激蛋白 CD28 同源, 两个分子在抗原呈递细胞上分别结合 CD80 和 CD86, CTLA-4 与 CD80 和 CD86 结合的亲和力高于 CD28, 从而使其能够超过 CD28 的作用^[23]。CTLA-4 向 T 细胞传递抑制信号, 而 CD28 则传输刺激信号。体内外实验证明拮抗 CTLA-4 可增强细胞和体液免疫反应, 抑制肿瘤生长。在小鼠肿瘤模型阻断 CTLA-4 后, 肿瘤生长受到抑制, 如卵巢癌、膀胱癌、脑癌、纤维肉瘤模型鼠, 拮抗 CTLA-4 后肿瘤完全衰退或生长延迟。目前靶向 CTLA-4 的抗体 Ipilimumab 已经上市, 通过对接受 Ipilimumab 治疗的黑色素瘤患者的长期观察, 发现约 20% 的患者仍然生存, 有些患者生存期长达 10 年, Tremelimumab 抗体已进入Ⅲ期临床实验, Tremelimumab 抗肿瘤效应仍在研究之中, 特别是在肾脏、肺以及前列腺肿瘤中^[24]。

T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 3 (Tim-3) 是一种 I 型膜表面蛋白分子, 主要在 Th1 细胞中表达, 与天然型配体半乳糖凝集素 9 反应参与适应性负性免疫调节^[25]。Tim-3 也在单核-巨噬细胞、自然杀伤细胞以及树突状细胞 (DC) 中表达, 参与免疫调节; Tim-3 在肿瘤浸润 DC 高表达, 并可与配体高迁移率族蛋白 1 结合, 通过阻断 Toll 样受体 3、Toll 样受体 7 和 Toll 样受体 9 及细胞质中 DNA 和 RNA 相关的免疫反应, 抑制核酸介导的固有免疫效应, 导致肿瘤免疫逃逸, 减弱治疗效果^[26]。在 CT26 结

肠癌、4T1 乳腺癌模型鼠中发现表达 Tim-3 和 PD-1 的 CD8⁺ T 细胞表现出功能衰退表型^[27], 临床研究发现, 晚期黑色素瘤患者表达 Tim-3 和 PD-1 的 CD8⁺ T 细胞功能紊乱, 拮抗 Tim-3 后, CD8⁺ T 细胞分泌 IFN- γ 、TNF 的能力提升^[28]。针对 Tim-3 的药物 MGB453 处于临床前研究中。

1.2 共刺激受体

CD40 分子属于肿瘤坏死因子受体超家族成员, 是一种 I 型跨膜糖蛋白。CD40 是在抗原呈递细胞上发现的共刺激分子, 并且是抗原呈递细胞激活所必需的。CD40 与 Th 细胞表面的 CD40L 结合激活抗原呈递细胞并诱导多种下游效应^[29]。在多种肿瘤细胞中, 包括淋巴瘤、骨髓瘤、肾癌和卵巢癌等, CD40 参与诱导肿瘤凋亡。CD40 使 APC 能引发 CD8⁺ T 细胞分化成 CTL, 杀伤肿瘤细胞。CP-870,893 是一种全人源的 CD40 激动抗体。临床实验发现, 15 名恶性胸膜间皮瘤患者接受 CP-870,893 治疗的最大耐受剂量是 0.15 mg/kg, 一名患者肿瘤生长受到明显抑制, 患者中位生存期为 16.5 个月, 中位无进展生存期为 6.3 个月, 有 3 名患者长期生存, 生存期分别达到了 44 个月、44 个月和 31 个月^[30]。

CD27 属于肿瘤坏死因子家族成员, 它是产生和长期维持 T 细胞免疫所必须的^[31]。CD27 与配体 CD70 结合, 在调节 B 细胞活化和免疫球蛋白合成中起关键作用^[32]。该受体信号转导导致 NF- κ B 和 MAPK8/JNK 信号的激活。Varlilumab 是一种新型 CD27 激动抗体, 可刺激 CD27 通路, 在 15 名转移型肾细胞癌患者的临床试验中, 1 名患者出现部分反应(78% 收缩, 无进展生存期大于 2.3 年), 8 例患者病情稳定在 3 个月以上, 其中 1 名患者无进展生存期大于 3.9 年^[33]。

肿瘤坏死因子受体 2(TNFR2)是肿瘤坏死因子(TNF- α)的受体, 主要表达于造血和内皮细胞, 已被发现是抗炎、免疫调节、防止 LPS 诱导的肺损伤和骨折愈合所必须的^[34]。TNFR2 信号传导涉及转录因子核因子- κ B(NF- κ B)的动员和核内转移, 以促进前体生存基因的转录。使用膜蛋白表达阵列实现靶标的快速鉴定, 观察到一些 TNFR2 特异性抗体模拟物在人类 Treg 细胞中诱导 I κ B α 降解, 介导表达 TNFR2 的 Jurkat T 细胞中的 NF- κ B 信号传导。NF- κ B 信号通路是 T 细胞活化的关键决定因素, 并

且涉及 Treg 介导的抑制活性的下调^[35]。这些结果表明了 TNFR2 特异性激动剂具有增强 T 细胞活性的作用, TNFR2 是肿瘤免疫治疗的潜在靶点^[36]。

2 单一免疫疗法应用面临的主要问题

肿瘤的发展过程中, 伴随诸多利于肿瘤生长的因素:持续的肿瘤抗原刺激, 引起机体免疫耐受;肿瘤生长微环境中抑制性受体或配体分子高表达, 引起 T 细胞处于耗竭状态;诸多抑制性免疫检查点分子如 PD-L1、Tim3、CTLA-4 等, 共同促进肿瘤的免疫逃逸;肿瘤生长微环境中 Treg 细胞也为肿瘤的生长发挥作用。肿瘤细胞表面表达多种信号分子(图 1), 共同影响肿瘤的发生发展。因为利于肿瘤逃避免疫系统监视、杀伤的条件多样, 采取单一靶点的免疫治疗策略, 顾此失彼, 为肿瘤的存活留下很大空间。如在乳腺癌患者中, 采用 HER2 多肽疫苗治疗, 380 名转移性癌细胞患者中只有 3% 的患者有治疗反应^[37]。采用疫苗免疫治疗考虑到疫苗免疫后经抗原递呈细胞的加工递呈, 并引起 T 细胞激活, 但抗原递呈细胞的共刺激受体与配体结合产生的第二信号也是疫苗诱导 T 细胞激活的重要条件^[38], 肿瘤生长微环境中高表达抑制性免疫检查点, 又使得激活的 T 细胞功能受抑制。目前, 针对 PD-1 的单一疗法在许多癌症(乳腺癌、结肠癌和前列腺癌)中的应答率为 20% 或更低^[39], 不同患者的良性反应率不同, 抗 PD-1 药物的广谱性受到挑战。联合免疫治疗可以弥补单一疗法治疗的不足, 当药物或疫苗出现免疫耐受, 无法从自身解决这一问题时, 可通过干预其他靶点, 发挥协同抗肿瘤作用。

3 联合免疫治疗策略

3.1 免疫检查点抑制剂与肿瘤疫苗的联合应用

肿瘤疫苗存在 MHC 限制性、有效率低、免疫耐受等问题。肿瘤生长微环境中效应 T 细胞的功能状态也被作为疫苗产生治疗效果的指标之一。肿瘤的发生, 伴随着抑制性检查点的高表达, 如 PD-L1、CTLA-4 等, 肿瘤生长微环境中 Treg 细胞高表达与免疫耐受相关, 拮抗 PD-L1/PD-1 信号通路, 可以抑制肿瘤生长微环境中的 Treg 细胞比例, 逆转耗竭型 T 细胞的功能^[40]。这为拮抗抑制性检查点与肿瘤疫苗联合应用提供了合理性。

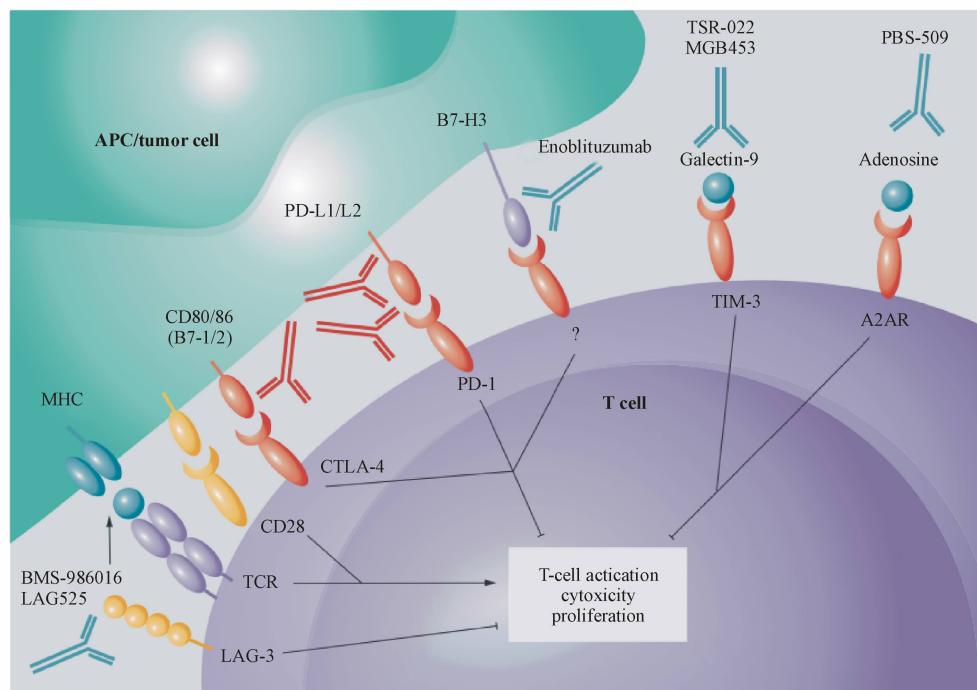


图1 多种信号分子参与下的肿瘤生长环境

在高致瘤性、免疫原性差的鼠黑色素瘤 B16-BL6 肿瘤模型鼠上,抗 CTLA-4 抗体与表达粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)的肿瘤细胞疫苗联合应用取得了良好的治疗效果,联合免疫治疗根除肿瘤细胞率达到 80% (68/85),而单独的免疫治疗几乎没有效果。对联合免疫治疗根除瘤体的小鼠再次接种 B16-BL6 细胞,肿瘤不再生长,证明 CTLA-4 的阻断增强了小鼠 T 细胞活性及记忆作用,提高了对免疫原性差的肿瘤响应能力^[1]。用 CTLA-4 单抗与酪氨酸相关蛋白 2(TRP2)免疫 B16 黑色素瘤模型鼠,提高了 B16 黑色素瘤内 CD4⁺ T 和 CD8⁺ T 细胞的比例,生存期延长。拮抗 CTLA-4 可提高肿瘤内效应 T 细胞比例,降低 Treg 细胞的比例^[2],这为联合应用疫苗与 CTLA-4 单抗提供了理论支持。

动物肿瘤模型实验证明,PD-1 阻断可增强疫苗的抗肿瘤活性。联合 GM-CSF 和多种 Toll 样受体激动剂的疫苗(TEGVAX)免疫荷瘤鼠可引起肿瘤组织内 CD4⁺ T 和 CD8⁺ T 细胞浸润,肿瘤内 PD-L1 表达升高,但肿瘤没有完全消退,而联合应用 TEGVAX 和 PD-1 阻断性抗体,可以使肿瘤消退^[3]。胰腺导管腺癌模型鼠采用 GM-CSF 疫苗治疗,上调了癌细胞表面的 PD-L1 表达,联合拮抗

PD-1,显著改善了小鼠的存活率^[41]。这些结果表明 PD-1 阻断可以增强疫苗的抗肿瘤作用。将免疫原性卵清蛋白(OVA)肽注射肿瘤,拮抗 PD-1,21 天后,肿瘤组织内对 OVA 肽有响应的 CD8⁺ T 细胞比例升高^[42]。

免疫检查点抑制剂与疫苗的联合应用弥补了单一检查点抑制剂或疫苗免疫治疗的不足,为肿瘤治疗提供了一个新的方向。

3.2 免疫检查点抑制剂联合应用

动物模型研究表明,PD-1 和 TIM-3 途径的双重靶向治疗,可改善 CD8⁺ T 细胞应答,对慢性病毒感染的控制和肿瘤生长的抑制,体现出显著的效果^[4]。对 CT26、4T1 和 B16F10 荷瘤鼠体内肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)中 CD8⁺ T 细胞表型及数目进行分析,发现共表达 PD-1 和 TIM-3 的 CD8⁺ TIL 占大多数,且出现了 T 细胞功能障碍,IL-2、TNF 和 IFN- γ 的产生受损。在 CT26 肿瘤模型鼠上单独拮抗 TIM-3 几乎没有效果,单独使用抗 PD-L1 的治疗虽然有延迟肿瘤生长的趋势,但没有显示出统计学差异,而抗 PD-1 和 Tim-3 的联合治疗显著抑制肿瘤生长,50% 的小鼠显示肿瘤完全消退^[4]。联合拮抗 PD-1 和 TIM3 的临床试验中,免疫组化分析肝癌患者 PD-1 和 TIM3 的表达情况,发现 PD-1 在肝

癌组织中的表达高于肿瘤邻近组织和肝硬化组织, TIM3 的表达也出现类似的情况,且 PD-1 和 TIM-3 的表达之间存在显著的正相关^[43],这为联合 PD-1 和 TIM-3 拮抗提供了理论的可行性,临床实验有待进一步验证。

研究分析鼠源 CT26 结肠癌和 ID8-VEGF 卵巢癌模型鼠 PD-1 和 CTLA-4 相互作用情况,发现 2/3 的 CD8⁺肿瘤浸润淋巴细胞表达 PD-1,而另外 1/3 的 CD8⁺TIL 共表达 PD-1 和 CTLA-4,双阳性(PD-1⁺ + CTLA-4⁺) CD8⁺TIL 具有比单阳性(PD-1⁺ 或 CTLA-4⁺) TIL 更严重的功能障碍特征。阻断 PD-1 和 CTLA-4 可以使 CD8⁺TIL 功能障碍逆转,并使 2/3 的荷瘤小鼠产生了抗肿瘤反应。体外双重阻断 PD-1 + CTLA-4 + CD8⁺TIL 引起 CT26 细胞的衰退,体内双重拮抗引起肿瘤特异性 CD4⁺和 CD8⁺T 效应细胞增殖能力的提升,细胞因子释放并减少了肿瘤生长微环境中的 Treg 细胞^[5]。转移性黑色素瘤患者采用 Ipilimumab 和 Nivolumab 联合治疗,72 名患者中 44 人有良好的响应,单独采用 Ipilimumab 治疗的 37 名患者只有 4 人体现出治疗效果,也证明了联合治疗的病人无进展生存期比单独采用 Ipilimumab 治疗生存期要长^[6]。

综上所述,免疫检查点阻断疗法存在多种组合选择,组合策略取决于它们的相关性与协同作用效果。

3.3 联合免疫检查点抑制剂与免疫刺激性抗体

胰腺癌患者采用 PD-L1 和 CTLA-4 的联合阻断治疗效果不明显,对胰腺癌的治疗,需要采用其他联合免疫治疗策略并验证治疗效果。鼠源胰腺癌肿瘤模型鼠中阻断 PD-L1 不能引起脾脏 INF- γ 升高,但在 CD40 激动性抗体作用下,模型鼠对免疫检查点阻断的敏感性升高,肿瘤生长微环境中 Th1 细胞因子表达上调,细胞毒性浸润淋巴细胞数目上升,免疫细胞将肿瘤细胞与正常组织隔离。模型鼠免疫 CD40 激动性抗体后,促进了 APC 成熟,记忆性 T 细胞扩增,并引起 PD-L1 mRNA 在肿瘤和脾脏中表达水平升高,结合 α CD40 与 PD-L1 阻断引起脾脏 INF- γ 表达升高,抗肿瘤免疫功能增强,整体存活率提高,优于单一治疗^[7]。

CD137 作为 TNF 受体超家族的成员^[44],它的表达可激活 T 细胞和 NK 细胞,与 PD-1 拮抗相联

合,能发挥协同抗肿瘤作用。在 B16F10 黑色素瘤模型鼠上联合拮抗 CD137 与 PD-1、PD-1 与 LAG3,结果显示同时阻断 CD137 与 PD-1 对肿瘤的抑制作用最明显,且对体积较大的肿瘤发挥了抑制作用。MC38 结肠癌模型鼠上联合拮抗 CD137 与 PD-1 也体现出抗肿瘤作用的协同性。对协同作用机制的分析,在 IFN- γ 与 CD8⁺T 细胞缺失的条件下,联合 CD137 与 PD-1 拮抗对 B16F10 的抑制作用消失,说明 IFN- γ 与 CD8⁺T 细胞是 CD137 与 PD-1 拮抗的效应细胞因子和效应细胞。CD137 与 PD-1 拮抗的协同作用还体现在 CD137 和 PD-1 联合拮抗治疗后 CD8⁺TIL 的 CD137、PD-1 的表达水平升高,肿瘤生长微环境中 CD8⁺T/Treg 细胞比例上调,效应 T 细胞与记忆 T 细胞分化被诱导,抗原特异性 CTL 效应增强,肝脏中酶活力提升等^[8]。虽然 CD137 调节刺激信号仍处于临床评估的早期阶段,CD137 和 PD-L1/PD-1 联合免疫的临床治疗效果未知,但从肿瘤模型鼠评价的效果来看,有必要做进一步的临床评价。

总体来说,联合免疫检查点与共刺激受体可以发挥机体广泛的免疫效应,产生协同抗肿瘤作用,是联合免疫检查点之外的肿瘤免疫治疗新途径。

3.4 联合免疫检查点抑制剂与细胞因子拮抗剂

肿瘤细胞的生长也需要细胞因子的参与,已经发现一些细胞因子对肿瘤的生长起到促进作用,比如 IL-6、IL-17A 等。

胰腺导管腺癌(PDAC)的研究发现,IL-6 下游信号在 PDAC 起源和进展中至关重要,IL-6/STAT3 轴可以同时促进免疫抑制细胞的扩增或改变 T 细胞亚群的平衡^[45]。对 PDAC 患者的临床分析发现,IL-6 表达水平越高,患者总体生存率越低,肿瘤的增值、侵袭能力相应提升^[46]。鼠源胰腺癌 MT5 和 Panc02 肿瘤模型鼠上联合拮抗 IL-6 和 PD-L1,肿瘤生长受抑制,肿瘤内 CD8⁺T 细胞数量比单独拮抗高。Panc02 肿瘤模型鼠上耗竭 CD8⁺T 细胞而不是 CD4⁺T 细胞,联合拮抗的抗肿瘤作用丧失。IL-6R 和 PD-L1 的联合阻断增加了 CD3⁺ 细胞浸润到 KPC-Brca2 小鼠的 PDAC 肿瘤中,模型鼠生存期延长^[9]。临床研究可以进一步评价联合 PD-L1 拮抗是否可以提高肿瘤生长微环境中的 T 细胞浸润,T 细胞表型的变化,以及临床治疗效果。

IL-17A 是与乳腺癌预后不良相关的促炎细胞

因子,IL-17A 的抑制可增加肿瘤浸润淋巴细胞的细胞毒性,并有助于抑制小鼠结肠癌和肺癌生长^[47]。免疫组化分析 ER 阴性的乳腺癌患者肿瘤组织中 IL-4A 和 PD-L1 高表达,且正相关。IL-17A 通过 ER-阴性乳腺癌细胞系、单核细胞和 DC 中的 ERK 磷酸化促进 PD-L1 表达。ER-阴性乳腺癌模型鼠上靶向 IL-17A 引起 PD-L1 在 ER 阴性乳腺癌细胞系组织中表达降低。单独靶向 IL-17A 抑制肿瘤的生长,但小鼠生存期没有延长,提高拮抗 IL-17A 的药物剂量虽然抑制肿瘤生长的作用明显,但引起一定的副作用,而联合拮抗 PD-L1 引起小鼠生存率与对照相比提高了 70%,说明 PD-L1 拮抗有效引发抗肿瘤免疫应答且对 IL-17A 的靶向是必需的^[10]。

综上所述,一些细胞因子的高表达可促进 PD-L1 的表达,联合免疫检查点与细胞因子拮抗也可以发挥高效的抗肿瘤作用。

3.5 联合免疫检查点抑制剂与信号通路抑制剂

MEK 是 Ras 通路突变的肿瘤和正常 T 细胞的关键信号组成部分,有丝分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 激酶 (MEK) 的靶向抑制可以诱导在 Ras 途径突变活化的肿瘤消退,但难以根除^[48]。将 MEK 抑制与抗 PD-L1 组合,导致协同和持久的肿瘤消退,单独的一种药物效果不明显。CT26 模型鼠采用 MEK 抑制剂诱导,引起肿瘤 CD8⁺ TILs 显著升高,且 CD8⁺ T 细胞表型发生变化,PD-1 的表达降低。采用 MEK 抑制剂和 PD-L1 拮抗剂观察到显著的抗肿瘤作用,包括肿瘤的完全消退^[11]。

针对 MAPK 和 PI3K 途径与 PD-1 阻断在黑色素瘤治疗的研究中发现,短期 BRAF 和 MEK 的双重拮抗联合 PD-1 的阻断增强肿瘤组织淋巴细胞浸润,肿瘤生长受到抑制,CD8⁺ T 细胞耗竭,协同作用消失^[11]。在 B16F10 小鼠模型中,采用 MEK 抑制剂可显著促进肿瘤细胞凋亡并抑制细胞增殖,同时,改善了 Tim-3 的表达,并引起 CD8⁺ T 细胞的减少,联合 Tim-3 抗体通过刺激 CD8⁺ T 细胞增强抗肿瘤免疫力,联合治疗产生协同抗肿瘤作用^[12]。

3.6 联合肿瘤疫苗与化疗药物

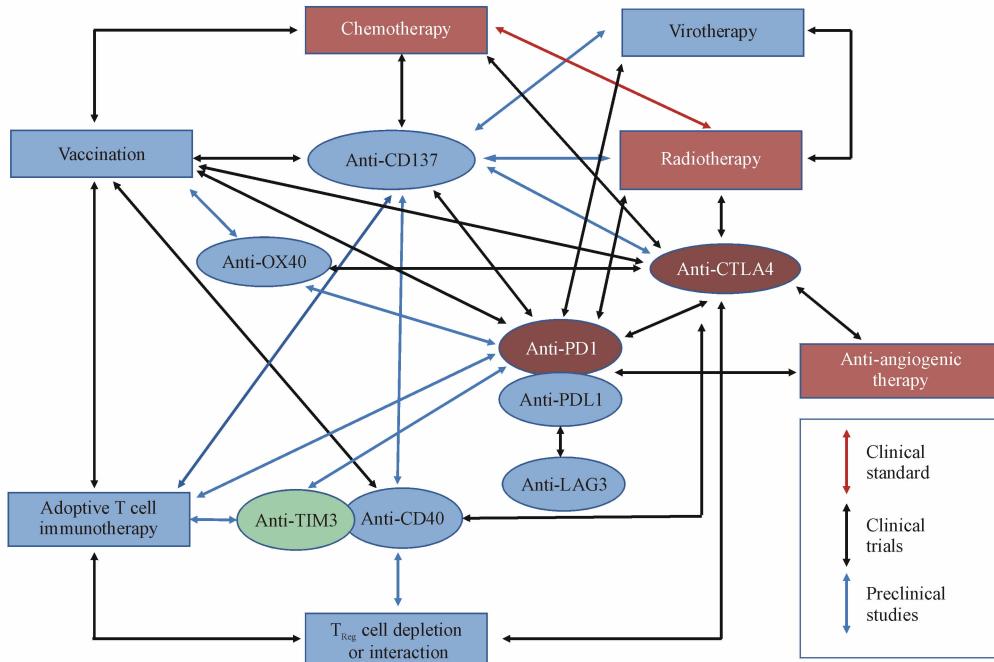
研究表明,化疗药物可诱导机体发挥抗肿瘤免疫反应,通过提高肿瘤生长微环境中效应 T 细胞

的浸润,发挥抗肿瘤作用^[49]。化疗药物与引起 T 细胞活化的免疫治疗在小鼠间皮瘤模型发挥协同抗肿瘤作用^[50]。化疗药物在肿瘤微环境中起到调节作用,与疫苗联合使用,可进一步增强疫苗的治疗效果。有研究表明,环磷酰胺可导致小鼠和人 Treg 细胞数目降低,促进疫苗发挥抗肿瘤作用^[51]。临床研究中,环磷酰胺减少肾细胞癌患者 Treg 细胞数目,没有提高疫苗的治疗效果^[52],但在卵巢癌患者中,环磷酰胺的使用增强了患者对 p53 SLP 疫苗的反应^[13]。一些化疗药物影响髓系抑制性细胞的活性从而促进肿瘤特异性免疫反应。吉西他滨可消除各种癌症小鼠模型中的髓系抑制性细胞和 Treg 细胞,在卵巢癌患者中也证实了这种效应,联合拮抗 CD40 和吉西他滨的组合治疗引起胰腺癌患者肿瘤消退^[14]。还有一些化疗药物可以促进肿瘤生长微环境中效应型细胞因子的产生,顺铂可诱导 I 型 IFN 的产生,将肿瘤生长微环境中的骨髓细胞转化为利于抗肿瘤免疫应答的表型^[53],疫苗联用顺铂治疗,疫苗诱导肿瘤特异性 T 细胞产生,顺铂促进诱导肿瘤细胞死亡的 TNF 等细胞因子产生,在协同作用下引起肿瘤消退^[15]。

以上例证说明疫苗与化疗药物联用具有可行性,并取得较好的治疗效果。目前,疫苗与化疗药物联用,存在多种组合的可能性,在治疗中,需要广泛检测免疫相关的生物标志物,根据实际选择最佳组合方案。

4 展望

联合免疫治疗策略通过激活免疫信号通路提高免疫系统对肿瘤的响应能力,弥补了单一治疗的不足。肿瘤发生过程中,找寻不同信号通路的相关性,可为免疫治疗策略提供参考。目前的免疫治疗组合主要选择 PD-L1/PD-1 与其他免疫检查点或共刺激受体。不同免疫治疗策略的选择在肿瘤模型鼠上评价产生一定的治疗效果,但用于人体仍存在问题,需要进一步的临床考察。肿瘤的发生也存在一定的个体差异,需要针对个人采取个性化的免疫治疗手段。对于目前出现的单抗药物疗效差、副作用等问题,采用联合免疫治疗前景广阔,未来肿瘤免疫治疗的发展方向见图 2。

图2 肿瘤联合免疫治疗发展趋势^[54]

参 考 文 献

- [1] Van Elsas A, Hurwitz AA, Allison JP. Combination immunotherapy of B16 melanoma using anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-producing vaccines induces rejection of subcutaneous and metastatic tumors accompanied by autoimmune depigmentation [J]. *J Exp Med*, 1999, **190**(3):355–366.
- [2] Quezada SA, Peggs KS, Curran MA, et al. CTLA4 blockade and GM-CSF combination immunotherapy alters the intratumor balance of effector and regulatory T cells [J]. *J Clin Invest*, 2006, **116**(7):1935–1945.
- [3] Fu J, Malm IJ, Kadavakkara DK, et al. Preclinical evidence that PD1 blockade cooperates with cancer vaccine TEGVAX to elicit regression of established tumors [J]. *Cancer Res*, 2016, **74**(15):4042–4052.
- [4] Sakuishi K, Apetoh L, Sullivan JM, et al. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity [J]. *J Exp Med*, 2010, **207**(10):2187–2194.
- [5] Duraiswamy J, Freeman GJ, Coukos G. Dual blockade of PD-1 and CTLA-4 combined with tumor vaccine effectively restores T-cell rejection function in tumors-response [J]. *Cancer Res*, 2014, **74**(2):633–634.
- [6] Postow MA, Chesney J, Pavlick AC, et al. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2015, **372**(21):2006–2017.
- [7] Luheshi NM, Coates-Ulrichsen J, Harper J, et al. Transformation of the tumour microenvironment by a CD40 agonist antibody correlates with improved responses to PD-L1 blockade in a mouse orthotopic pancreatic tumour model [J]. *Oncotarget*, 2016, **7**(14):18508–18520.
- [8] Chen S, Lee LF, Fisher TS, et al. Combination of 4-1BB agonist and PD-1 antagonist promotes antitumor effector/memory CD8 T cells in a poorly immunogenic tumor model [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, **3**(2):149–160.
- [9] Mace TA, Shakya R, Pitarresi JR, et al. IL-6 and PD-L1 antibody blockade combination therapy reduces tumour progression in murine models of pancreatic cancer [J]. *Gut*, 2018, **67**(2):320–332.
- [10] Ma YF, Chen C, Li D, et al. Targeting of interleukin (IL)-17A inhibits PDL1 expression in tumor cells and induces anticancer immunity in an estrogen receptor-negative murine model of breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(5):7614–7624.
- [11] Ebert PR, Cheung J, Yang Y, et al. MAP kinase inhibition promotes T cell and anti-tumor activity in combination with PD-L1 checkpoint blockade [J]. *Immunity*, 2016, **44**(3):609–621.
- [12] Liu Y, Cai P, Wang N, et al. Combined blockade of Tim-3 and MEK inhibitor enhances the efficacy against melanoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, **484**(2):378–384.
- [13] Vermeij R, Leffers N, Hoogeboom B N, et al. Potentiation of a p53-SLP vaccine by cyclophosphamide in ovarian cancer: a single-arm phase II study [J]. *Int J Cancer*, 2012, **131**(5):670–680.
- [14] Beatty GL, Chiorean EG, Fishman MP, et al. CD40 agonists alter tumor stroma and show efficacy against pancreatic carcinoma in mice and humans [J]. *Science*, 2011, **331**(6024):1612–1616.
- [15] Sluis TCVD, Duikeren SV, Huppelschoten S, et al. Vaccine-

- induced tumor necrosis factor-producing T cells synergize with cisplatin to promote tumor cell death [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(4): 781–794.
- [16] Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(4): 847–856.
- [17] Boland JM, Kwon ED, Harrington SM, et al. Tumor B7-H1 and B7-H3 expression in squamous cell carcinoma of the lung [J]. *Clin Lung Cancer*, 2013, 14(2): 157–163.
- [18] Amarnath S, Mangus CW, Wang JC, et al. The PDL1-PD1 axis converts human TH1 cells into regulatory T cells [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(111): 111–120.
- [19] Xia Y, Jeffrey Medeiros L, Young KH. Signaling pathway and dysregulation of PD1 and its ligands in lymphoid malignancies [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1865(1): 58–71.
- [20] Powlets T, Eder JP, Fine GD, et al. MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 558–562.
- [21] Ledford H. Promising cancer drugs may speed tumours in some patients [J]. *Nature*, 2017, 544(7648): 13–14.
- [22] Bharat A, Fields RC, TRULOCK E P, et al. Induction of IL-10 suppressors in lung transplant patients by CD4⁺25⁺ regulatory T cells through CTLA-4 signaling [J]. *J Immunol*, 2006, 177(8): 5631–5638.
- [23] Qureshi OS, Zheng Y, Nakamura K, et al. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4 [J]. *Science*, 2011, 332(6029): 600–603.
- [24] Reck M, Bondarenko I, Luft A, et al. Ipilimumab in combination with paclitaxel and carboplatin as first-line therapy in extensive-disease-small-cell lung cancer: results from a randomized, double-blind, multicenter phase 2 trial [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(1): 75–83.
- [25] Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease [J]. *Nature*, 2002, 415(6871): 536–541.
- [26] Anaerson AC. Tim-3: an emerging target in the cancer immunotherapy landscape [J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(5): 393–398.
- [27] Sakuishi K, Apetoh L, Sullivan JM, et al. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(10): 2187–2194.
- [28] Fourcade J, Sun ZM, Guillaume P, et al. Upregulation of Tim-3 and PD-1 expression is associated with tumor antigen-specific CD8⁺ T cell dysfunction in melanoma patients [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(10): 2175–2186.
- [29] Zhang B, Wu T, Chen M, et al. The CD40/CD40L system: a new therapeutic target for disease [J]. *Immunol Lett*, 2013, 153(1/2): 58–61.
- [30] Nowak AK, Cook AM, McDonnell AM, et al. A phase 1b clinical trial of the CD40 activating antibody CP-870,893 in combination with cisplatin and pemetrexed in malignant pleural mesothelioma [J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(12): 2483–2490.
- [31] Hintzen RQ, Lens SM, Lammers K, et al. Engagement of CD27 with its ligand CD70 provides a second signal for T cell activation [J]. *J Immunol*, 1995, 154(6): 2612–2623.
- [32] Borst J, Hendriks J, Xiao Y. CD27 and CD70 in T cell and B cell activation [J]. *Curr Opin Immunol*, 2005, 17(3): 275–281.
- [33] Burris HA, Infante JR, Ansell SM, et al. Safety and activity of varlilumab, a novel and first-in-class agonist anti-CD27 antibody, in patients with advanced solid tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(18): 2028–2036.
- [34] Hu X, Li B, Li X, et al. Transmembrane TNF-alpha promotes suppressive activities of myeloid-derived suppressor cells via TNFR2 [J]. *J Immunol*, 2014, 192(3): 1320–1331.
- [35] Naga M, Jacobhirsch J, Vernitsky H, et al. TNF activates a NF-kappaB-regulated cellular program in human CD45RA-regulatory T cells that modulates their suppressive function [J]. *J Immunol*, 2010, 184(7): 3570–3581.
- [36] Sandercock AM, Rust S, Guillard S, et al. Identification of anti-tumour biologics using primary tumour models, 3-D phenotypic screening and image-based multi-parametric profiling [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14(1): 147–150.
- [37] Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines [J]. *Nat Med*, 2004, 10(9): 909–915.
- [38] Kambayashi T, Laufer TM. Atypical MHC class II-expressing antigen-presenting cells: can anything replace a dendritic cell [J]? *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(11): 719–730.
- [39] Ott PA, Hodi FS, Kaufman HL, et al. Combination immunotherapy: a road map [J]. *J Immunother of Cancer*, 2017, 5(1): 16–18.
- [40] Li G, Lu C, Gao J, et al. Association between PD-1/PD-L1 and T regulate cells in early recurrent miscarriage [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6512–6518.
- [41] Soares KC, Rucki AA, Wu AA, et al. PD-1/PD-L1 blockade together with vaccine therapy facilitates effector T-cell infiltration into pancreatic tumors [J]. *J Immunother*, 2015, 38(1): 1–11.
- [42] Sierro SR, Donda A, Perret R, et al. Combination of lentivector immunization and low-dose chemotherapy or PD-1/PD-L1 blocking primes self-reactive T cells and induces anti-tumor immunity [J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41(8): 2217–2228.
- [43] Li Z, Li N, Li F, et al. Immune checkpoint proteins PD-1 and TIM-3 are both highly expressed in liver tissues and correlate with their gene polymorphisms in patients with HBV-related hepatocellular carcinoma [J]. *Medicine*, 2016, 95(52): 5749–5751.
- [44] Ye Q, Song DG, Poussin M, et al. CD137 accurately identifies and enriches for naturally occurring tumor-reactive T cells in tumor [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(1): 44–55.
- [45] Corcoran RB, Contino G, Deshpande V, et al. STAT3 plays a crit-

- ical role in KRAS-induced pancreatic tumorigenesis [J]. *Cancer Res*, 2011, **71** (14): 5020–5024.
- [46] Farren MR, Mace TA, Geyer S, et al. Systemic immune activity predicts overall survival in treatment-naïve patients with metastatic pancreatic cancer [J]. *Clin cancer Res*, 2016, **22** (10): 2565–2574.
- [47] Tada S, Iida M, Matsui T, et al. Inhibition of IL-17A in tumor microenvironment augments cytotoxicity of tumor-infiltrating lymphocytes in tumor-bearing mice [J]. *PLoS One*, 2013, **8** (1): 531–535.
- [48] Simard FA, Cloutier A, Ear T, et al. MEK-independent ERK activation in human neutrophils and its impact on functional responses [J]. *J Leukoc Biol*, 2015, **98** (4): 565–573.
- [49] Zitvogel L, Galluzzi L, Smyth MJ, et al. Mechanism of action of conventional and targeted anticancer therapies: reinstating immunosurveillance [J]. *Immunity*, 2013, **39** (1): 74–88.
- [50] Nowak AK, Lake RA, Marzo AL, et al. Induction of tumor cell apoptosis *in vivo* increases tumor antigen cross-presentation, cross-priming rather than cross-tolerizing host tumor-specific CD8 T cells [J]. *J Immunol*, 2003, **170** (10): 4905–4913.
- [51] Peng S, Lyford-Pike S, Akpene B, et al. Low-dose cyclophosphamide administered as daily or single dose enhances the antitumor effects of a therapeutic HPV vaccine [J]. *Cancer Immunol*, 2013, **62** (1): 171–182.
- [52] Walter S, Weinschenk T, Stenzl A, et al. Multipeptide immune response to cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival [J]. *Nat Med*, 2012, **18** (8): 1254–1261.
- [53] Kang TH, Mao CP, Lee SY, et al. Chemotherapy acts as an adjuvant to convert the tumor microenvironment into a highly permissive state for vaccination-induced antitumor immunity [J]. *Cancer Res*, 2013, **73** (8): 2493–2504.
- [54] Melero I, Berman DM, Aznar MA, et al. Evolving synergistic combinations of targeted immunotherapies to combat cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, **15** (8): 457–472.

·校园信息·

中国药科大学排名软科世界一流学科(药学)
亚洲第2位中国第1位

2018年7月17日,软科正式发布2018“软科世界一流学科排名”(Shanghai Ranking's Global Ranking of Academic Subjects),世界药学学科排名里中国内地共有50所大学上榜,其中我校排名全球第40名,位列亚洲第2位,中国第1位。

软科(上海软科教育信息咨询有限公司)专业从事高校数据研究和咨询服务。软科2003年开始发布的“世界大学学术排名”,作为全球最具影响力和权威性的大学排名之一,是世界上许多国家的政府和大学制定战略目标和相关政策时的参考标准。软科每年发布的“中国最好大学排名”坚持从大学服务对象的角度来评价大学,精选指向明确的核心办学指标,以完全公开的原始数据成为洞悉中国大学竞争力的权威参考。由软科开发并每年定期发布的排名还包括“世界一流学科排名”“中国最好学科排名”“中国两岸四地大学排名”等。

(供稿单位:宣传部)