

DOI: 10.13376/j.cblls/2017096

文章编号: 1004-0374(2017)08-0713-09

· 评述与综述 ·

CTLA-4和PD-1信号通路在实体瘤治疗中的研究进展

左乔竹, 覃文新*

(上海交通大学医学院附属仁济医院上海市肿瘤研究所, 癌基因及相关基因国家重点实验室, 上海 200032)

摘要: 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4) 和程序性死亡受体 1 (programmed death 1, PD-1) 免疫检查点在 T 细胞免疫反应中起负性调节作用。通过对这些靶点的抑制, 可增强对免疫系统的激活, 为黑色素瘤、非小细胞肺癌等提供新的免疫治疗途径。CTLA-4 和 PD-1 信号通路在免疫反应及抗肿瘤中机制有所不同, 针对这两条信号通路的免疫检查点抑制剂也具有不同的效应。现将综述 CTLA-4 和 PD-1 信号通路的作用机制及相应靶点阻断剂在实体肿瘤免疫治疗中的应用及研究进展。

关键词: 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4; 程序性死亡受体 1; 实体瘤; 免疫治疗
中图分类号: R730.51 文献标志码: A

Progress of CTLA-4 and PD-1 signaling pathways in immunotherapy for human solid cancers

ZUO Qiao-Zhu, QIN Wen-Xin*

(State Key Laboratory of Oncogenes and Related Genes, Shanghai Cancer Institute, Renji Hospital,
Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200032, China)

Abstract: Immune checkpoints of cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) and programmed death 1 (PD-1) are negative regulators of T-cell immune function. Inhibition of the targets in the two pathways results in increased activation of the immune system and provides novel immunotherapies for melanoma, non-small cell lung cancer, and other human cancers. The roles of CTLA-4 and PD-1 signaling pathways in inhibiting immune response, including antitumor effects, are largely distinct. Clinical outcomes of immune-oncology agents inhibiting the checkpoints in the two pathways may vary based on their differences in mechanism. This article provides an overview of the CTLA-4 and PD-1 pathways and their implications in solid cancer immunotherapy.

Key words: cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4; programmed death 1; solid cancer; immunotherapy

肿瘤免疫治疗被认为是肿瘤治疗中取得的最重要的进步之一, 主要包括肿瘤疫苗、免疫调节剂、过继性细胞免疫治疗、免疫检查点阻断治疗等四大类^[1]。近年来, 随着对 T 细胞活化、抑制及免疫稳态分子机制等的进一步认识, 肿瘤免疫靶向治疗获得了巨大进展。其中, 针对细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4) 和程序性死亡受体 1 (programmed death 1, PD-1) 信号通路特异免疫检查点的单克隆抗体在肿瘤的临床应用中取得了明显疗效。

目前, 在血液系统恶性肿瘤的免疫治疗方法中,

过继性细胞免疫治疗作为一种耐受良好、安全有效的创新性疗法得到迅速发展。其中, CTLA-4 和 PD-1 信号通路相关免疫检查点抑制剂在血液系统恶性肿瘤治疗中已处于研究和应用阶段, 如 PD-1 抗体 (如 Nivolumab、Pembrolizumab、Pidilizumab) 及 PD-L1 抗体 MEDI4736 在急性髓系白血病、多发性骨髓瘤等多种血液系统肿瘤体外研究中已展现出很强的抗肿瘤能力^[2-4], 有望与化疗、细胞治疗、

收稿日期: 2017-02-06; 修回日期: 2017-05-11

*通信作者: E-mail: wqin@shsci.org

单倍体造血干细胞移植实现联合治疗,尤其是单倍体造血干细胞移植中如何应用检查点治疗且不增加移植物抗宿主病风险已成为近期研究焦点。

鉴于 CTLA-4 和 PD-1 信号通路相关免疫检查点抑制剂在肿瘤免疫治疗中的快速发展,本文将重点综述相关单克隆抗体在实体瘤如黑色素瘤、肺癌、肝癌等治疗中的研究进展。

1 T细胞免疫抗肿瘤与肿瘤免疫逃逸

实体瘤比血液系统肿瘤具有更加复杂的微环境,因而实体瘤的免疫治疗效果仍有待提高。Dunn 等^[5]研究发现,肿瘤与免疫系统的相互作用经历了清除期、平衡期、逃逸期三个阶段,T细胞主要在清除期发挥抗肿瘤效应。初始T细胞的激活是个复杂的过程,有赖于双信号和细胞因子的作用。在抗肿瘤过程中,T细胞受体(TCR/CD3)与提呈肿瘤抗原肽的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)特异性结合,形成TCR-抗原肽-MHC复合物,即产生T细胞对抗原识别的第一刺激信号;表达于抗原提呈细胞(antigen-presenting cells, APC)表面的配体如B7-1 (CD80)或B7-2 (CD86),与T细胞表面的共刺激受体(如CD28)

结合,产生T细胞活化的第二刺激信号。此后,T细胞内经历信号转导,出现基因转录激活、分泌细胞因子、形成免疫记忆等和激活有关的事件。根据产生的效应不同,可将T细胞表面的共刺激受体分为共激活受体(如CD28、ICOS)和共抑制受体(如CTLA-4、PD-1)。因此,第二刺激信号决定T细胞是被抗原激活,还是被抑制转为无反应细胞或凋亡。

肿瘤经历与免疫系统处于相持阶段的平衡期后,即进入逃逸期。肿瘤通过多种机制逃避免疫系统的攻击,包括肿瘤细胞免疫原性低下、效应细胞功能异常、肿瘤微环境或肿瘤细胞产生的免疫抑制分子等^[5]。其中,肿瘤抑制性免疫微环境的形成起十分重要的作用。研究发现,多种肿瘤细胞高表达PD-L1 (PD-1 ligand),如黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾细胞癌等^[6-8],通过与T细胞表面的共抑制受体PD-1结合,抑制T细胞反应,阻碍对肿瘤细胞的杀伤。此外,肿瘤微环境中的髓样抑制性细胞通过分泌精氨酸酶、IL-10等下调效应T细胞的杀伤活性;调节性T细胞通过结构性表达CTLA-4,竞争性结合APC表面的配体B7分子等多种机制发挥抑制作用。肿瘤微环境中免疫检查点CTLA-4和PD-1失衡引起肿瘤免疫逃逸的机制如图1所示。

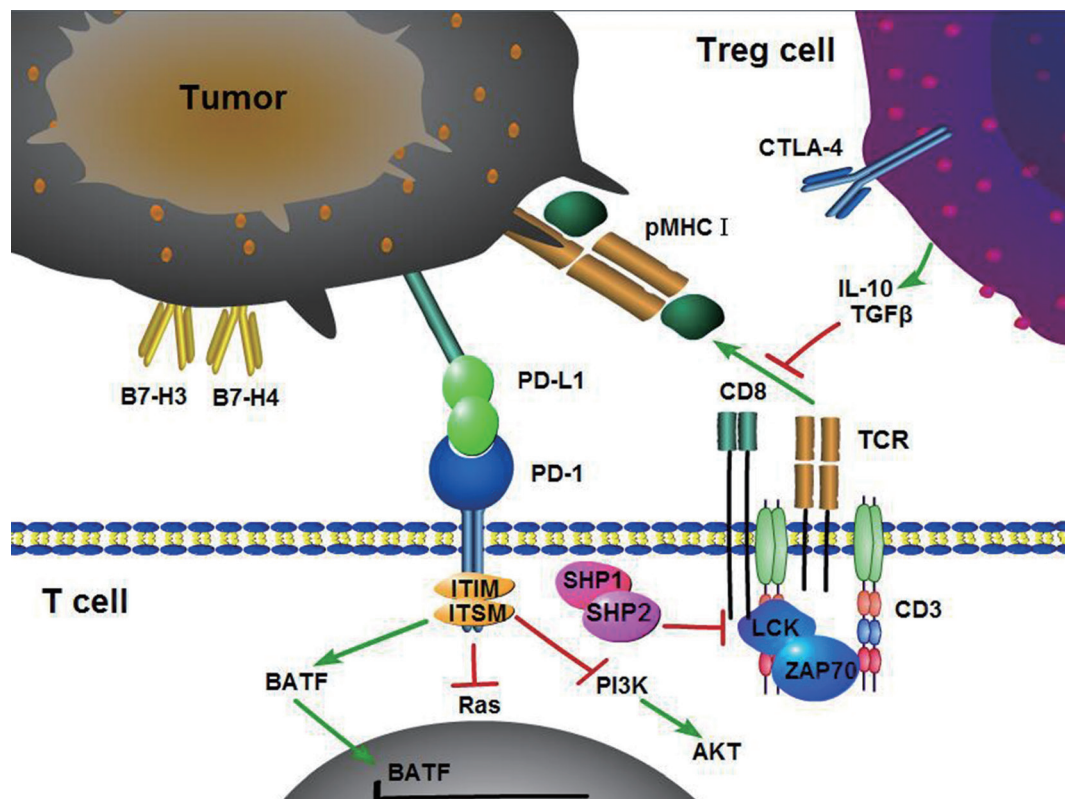


图1 CTLA-4和PD-1失衡引起肿瘤免疫逃逸的机制

由此可见, 抗肿瘤免疫是由免疫共激活和免疫共抑制通路在肿瘤微环境中达到平衡控制的^[9], 因而, 可通过阻断抑制性通路来调节细胞毒性 T 细胞和增强抗肿瘤免疫, 引发持久的抗肿瘤效应。

2 CTLA-4信号通路

CTLA-4, 又称 CD152, 表达于活化的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞, 1978 年被发现。CTLA-4 与 CD28 同源, 都是免疫球蛋白超家族成员, 配体均为主要表达于淋巴结和脾脏 APC 表面的 B7 分子。CD28 结构性地表达在 T 细胞表面, 而 CTLA-4 表达于活化的 T 细胞表面, 并于 T 细胞活化的起始阶段发挥负性调控作用。CTLA-4 以高于 CD28 分子 10~20 倍的亲和力与配体 B7-1 (CD80) 或 B7-2 (CD86) 分子结合^[10]。

CTLA-4 分子的胞质区有免疫受体酪氨酸抑制基序 (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif, ITIM), CTLA-4 与配体结合后, ITIM 中的酪氨酸残基被磷酸化, 可募集蛋白质酪氨酸磷酸酶 SHP-1 和 SHIP 并与之结合, 这些磷酸酶通过对 T 细胞活化途径中重要信号分子的去磷酸化, 从而抑制 T 细胞活化信号的转导。因此, CTLA-4 与 B7 竞争性的结合能够阻止 CD28 与 B7 结合产生的共激活信号通路^[11], 并决定 T 细胞是否被激活或被抑制。

CTLA-4 分子在 T 细胞的分布受 T 细胞激活信号的调节。在初始 T 细胞, CTLA-4 位于胞质内, 当 CD28 与 B7 结合产生刺激性信号后, CTLA-4 通过胞外分泌方式高表达于 T 细胞表面^[12]。由此可见, TCR 信号通路的激活能正反馈于 CTLA-4, 使其向细胞表面迁移, 此后细胞表面的 CTLA-4 与 B7 分子结合, 抑制 IL-2 的分泌及细胞周期, T 细胞的激活通路即被阻断^[13]。

CTLA-4 在免疫系统的其他方面也发挥重要作用。调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 结构性地表达 CTLA-4, 能够抑制效应 T 细胞的功能, 调节外周免疫耐受^[14]。Treg 可通过 CTLA-4 下调 APC 表面 CD80/CD86 蛋白水平, 从而抑制 CD28 共刺激信号通路^[15]。

3 PD-1信号通路

PD-1, 又称 CD279, 表达于活化的 T 细胞、B 细胞、树突状细胞等细胞表面。亦为共刺激受体 CD28 家族成员, 最初在凋亡 T 细胞杂交瘤中发现^[16]。通过与配体 PD-L1 和配体 PD-L2 (PD-2

ligand, PD-L2) 结合而调节 T 细胞的活化。PD-1 在效应 T 细胞阶段发挥作用, 并且主要在外周组织^[16], 因此 PD-1 信号通路被认为主要调控外周免疫耐受。

与 CTLA-4 略有不同, PD-1 与配体结合后, 通过磷酸化 ITIM 及免疫受体酪氨酸转换基序 (immuno-receptor tyrosine-based switch motif, ITSM) 中的酪氨酸残基, 抑制 T 细胞增殖、存活以及 IFN- γ 和 TNF- α 的分泌^[11]。若 TCR 和 PD-1 受体同时被激活, PD-1 受体产生的信号将阻断 TCR 信号介导的磷酸化, 最终阻碍 T 细胞活化^[17-18]。在肿瘤及慢性感染患者中, T 细胞被高强度激活导致 T 细胞被抑制, 反馈性地增加细胞表面 PD-1 受体的表达^[18], 从而降低机体免疫力。

PD-1 的配体分布十分广泛。PD-L1 主要表达于淋巴组织中的白细胞、非造血细胞, 并能被炎症因子和肿瘤诱导而表达于实质细胞^[19]; PD-L1 也表达在多种肿瘤细胞表面, 可导致 T 细胞功能减弱、被抑制和不良的预后。PD-L2 主要表达于树突状细胞和单核细胞, 也可根据微环境的变化而被诱导表达于其他细胞。与 PD-L1 相比, PD-L2 具有与 PD-1 更高的亲和力, 导致二者在免疫应答反应中作用不同^[20]。Akbari 等^[21]研究表明, PD-L1 和 PD-L2 两条信号通路在激活自然杀伤细胞时具有相反的作用。阻断 PD-L2 信号通路能增强 TH2 细胞功能, 而 PD-L1 与 CD80 结合能抑制 T 细胞反应^[22]。因此, PD-1 抑制剂在 PD-L1 和 PD-L2 两条信号通路中具有不同的效应。

表达于 Treg 细胞的 PD-1 可促进 Treg 细胞的增殖, 从而抑制免疫应答。PD-L1 能够促进初始 CD4⁺ T 细胞转变为 Treg 细胞, 并通过促进 Treg 细胞的诱导和维持而抑制 T 细胞反应。体外实验发现, PD-1 阻断剂能够逆转 Treg 细胞对效应 T 细胞的抑制作用^[23]。

4 CTLA-4和PD-1信号通路阻断剂在实体瘤治疗中的应用

CTLA-4 和 PD-1 信号通路阻断剂在实体瘤治疗的临床前试验取得了很好的疗效, 减缓了肿瘤生长并改善了患者生存。随着临床试验的大量开展, 抗 CTLA-4、PD-1、PD-L1 的单克隆抗体陆续被美国食品药品监督管理局 (the United States Food and Drug Administration, FDA) 批准应用于黑色素瘤、肺癌及肾癌等多种实体瘤的临床治疗。本文主要详述其在黑色素瘤、肺癌、肝癌等实体瘤中应用的研究

进展。CTLA-4 和 PD-1 信号通路阻断剂分类总结见表 1。

4.1 黑色素瘤

黑色素瘤是易转移、易复发的高度恶性肿瘤，传统的治疗方法效果十分有限。吉西他滨是 FDA 最早批准的治疗晚期黑色素瘤的化疗药物，总反应率却不高，对生存期也无明显改善。Ipilimumab 作为 CTLA-4 抑制剂首先被用于黑色素瘤治疗的研究，具有较好的疗效，并于 2011 年 3 月被 FDA 批准用于治疗晚期黑色素瘤，从此拉开黑色素瘤免疫检查点阻断治疗临床试验的帷幕。

4.1.1 CTLA-4抑制剂治疗黑色素瘤进展

Ipilimumab 是一种抗 CTLA-4 的全人源单克隆抗体，是第一个被证实可以延长晚期黑色素瘤患者总生存期 (overall survival, OS) 的药物。在一项对 1 861 例经 Ipilimumab 治疗的晚期黑色素瘤患者的 OS 分析中发现，中位 OS 为 11.4 个月，所有患者的 3 年生存率为 22%，并且 Ipilimumab 能够稳定延长晚期黑色素瘤患者的生存期^[24]。

由于 Ipilimumab 单药治疗效果有限，并且产

生较多的 3~4 级副反应，为提高 Ipilimumab 治疗晚期黑色素瘤的临床有效率，让更多患者受益，联合其他治疗方案就显得尤为重要。与化疗药物联合治疗的一项临床试验以未经治疗的转移性黑素瘤患者为研究对象，结果显示，Ipilimumab 联合达卡巴嗪比达卡巴嗪单药治疗有更好的疗效，OS 延长 2.1 个月^[25]。另一项三年随访研究发现，Ipilimumab 联合福莫司汀对转移性黑色素瘤患者具有较好的疗效^[26]。与手术联合治疗的一项 III 期临床试验研究发现，Ipilimumab 以 10 mg/kg 作为辅助治疗能延长晚期黑色素瘤患者手术切除后 OS。与安慰剂组相比，5 年 OS 分别为 65.4%、54.4%，5 年无远处转移生存期、5 年无复发生存期也分别以 48.3%、40.8% 高于对照组的 38.9%、30.3%。然而，Ipilimumab 组也具有更多的免疫相关副反应^[27]。与溶瘤病毒联合治疗的一项 I 期临床试验中，Ipilimumab 以 3 mg/kg 与溶瘤病毒联合使用治疗晚期黑色素瘤，客观反应率 (objective response rate, ORR) 为 50%，18 个月 OS 为 67%，18 个月无进展生存期 (progression-free survival, PFS) 为 50%，联合治疗展现出比单药

表1 抗CTLA-4、PD-1、PD-L1抗体的临床试验阶段

靶点	药物名称	临床试验阶段及适应症
CTLA-4	Ipilimumab	FDA批准：黑色素瘤 III期：肺癌、肾癌、前列腺癌、头颈部肿瘤、胃癌 II期：宫颈癌、结直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、尿路上皮癌
	Tremelimumab	III期：头颈部肿瘤、非小细胞肺癌 II期：肺癌、间皮瘤、乳腺癌、胰腺癌、结直肠癌、肝癌、前列腺癌、黑色素瘤、肾癌
	AGEN1884	I期：晚期恶性肿瘤
PD-1	Pembrolizumab	FDA批准：黑色素瘤、非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌、经典霍奇金淋巴瘤 III期：胃癌、肺癌、尿路上皮癌、结直肠癌 II期：胰腺癌、恶性胶质瘤
	Nivolumab	FDA批准：黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾癌、经典霍奇金淋巴瘤、头颈部鳞状细胞癌、尿路上皮癌 III期：胃癌、恶性胶质瘤、肾癌、肺癌、结直肠癌 II期：宫颈癌、胰腺癌
	Pidilizumab	II期：肾癌、淋巴瘤、多发性骨髓瘤
	PDR001	I/II期：实体瘤
	MEDI0680	I/II期：晚期恶性肿瘤
PD-L1	Durvalumab	III期：头颈部肿瘤、肺癌 II期：结直肠癌、恶性胶质瘤
	Atezolizumab	FDA批准：尿路上皮癌、非小细胞肺癌 III期：肾癌、卵巢癌 II期：乳腺癌
	LY3300054	I期：实体瘤
	KN035	I期：实体瘤

注：资料来源于<https://clinicaltrials.gov/>

治疗更好的临床效果^[28]。此外, Ipilimumab 联合 BRAF 激酶抑制剂 Vemurafenib、血管内皮生长因子等的研究也取得了一定的进展。其中, 由于 Ipilimumab 与 Vemurafenib 同时使用会产生剂量依赖的肝毒性, 在序贯疗法中可控安全性得到了证实, 中位 OS 达到 18.5 个月, 但具体的临床疗效仍有待进一步验证^[29]。

其他 CTLA-4 抑制剂, 如 Tremelimumab、AGEN-1884 的临床试验也正在积极开展中。其中, Tremelimumab 用于治疗黑色素瘤的临床试验已处于 II 期。

4.1.2 PD-1/PD-L1 抑制剂治疗黑色素瘤进展

Pembrolizumab 是一种全人源性 IgG4 型抗 PD-1 单克隆抗体, 于 2014 年 4 月被 FDA 批准用于治疗经 Ipilimumab 或 Vemurafenib 治疗后进展的晚期黑色素瘤。Robert 等^[30]的研究中, 接受 Pembrolizumab 治疗的患者以 10 mg/kg 按 2 周 / 次、3 周 / 次分为两组, 与 Ipilimumab 组 (3 mg/kg) 进行比较。结果显示, Pembrolizumab 组 2 周 / 次、3 周 / 次的反应率分别为 33.7%、32.9%, Ipilimumab 组的反应率为 11.9%; Pembrolizumab 组 2 周 / 次、3 周 / 次的 1 年生存率分别为 74.1%、68.4%, Ipilimumab 组为 58.2%。此外, Ipilimumab 组的严重副反应率为 20%, 高于 Pembrolizumab 组的 13%、10%, 且严重程度不受剂量影响。反映了 Pembrolizumab 比 Ipilimumab 临床安全性更好, 具有更好的疗效。

Nivolumab 也是一种全人源性 IgG4 型抗 PD-1 单克隆抗体, 于 2014 年 12 月被 FDA 批准用于治疗经 Ipilimumab 或 Vemurafenib 治疗后进展的晚期黑色素瘤。一项研究发现, 对于 BRAF 突变的黑色素瘤患者, Nivolumab 与达卡巴嗪相比 OS 和 ORR 方面均更具优势, Nivolumab 组患者的 1 年生存率为 73%, ORR 为 40%^[31]。

对于晚期 BRAF 阴性的黑色素瘤患者, Nivolumab 和 Ipilimumab 的联合使用取得了显著的疗效, 在美国被批准用于晚期 BRAF 阴性黑色素瘤患者的一线治疗。在 Larkin 等^[32]的研究中, 945 例未经治疗的晚期黑色素瘤患者按照 1:1:1 被随机分配到以下三组: Nivolumab、Nivolumab+Ipilimumab、Ipilimumab 组。第 12 个月时, 三组 PFS 分别为 6.9、11.5、2.9 个月, ORR 分别为 44%、58%、19%, 由此可见联合组具有明显的优越性, 但 3~4 级副反应也高达 55%, 而另两组分别为 16%、27%。在 PD-L1 阴性的患者中, 联合组的优越性更加显著, 三组中位 PFS 分别为 5、11、3 个月。而在 PD-L1

阳性的患者中, 中位 PFS 在三组分别为 14、14、4 个月。这项临床试验的结果发布在 2016 年美国临床肿瘤协会 (American Society of Clinical Oncology, ASCO) 年度会议上, 18 个月后联合组比单药治疗组疗效更好, 并与 PD-L1 的表达高低及 BRAF 的突变状态无关。可见 Nivolumab 和 Ipilimumab 联合应用治疗黑色素瘤具有更好的疗效, 以上结果均推动 Pembrolizumab、Nivolumab 被批准成为黑色素瘤治疗的一线用药。

4.2 肺癌

4.2.1 非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)

免疫检查点抑制剂的快速发展为晚期 NSCLC 提供了新的治疗方法, 尤其是临床一线治疗失败的患者。PD-1/PD-L1 抑制剂 Nivolumab、Pembrolizumab、Atezolizumab 均已先后在 2015 年、2015 年、2016 年被 FDA 批准用于治疗晚期 NSCLC。

Nivolumab 与传统的化疗药物相比具有明显的优越性。在一项 III 期临床试验中, 272 位晚期鳞状 NSCLC 患者被随机分配到 Nivolumab 组 (135 人) 和多西紫杉醇化疗组 (137 人)。Nivolumab 组和化疗组的中位 OS 分别为 9.2、6.0 个月 ($P < 0.001$), 1 年生存率分别为 42%、24%, PFS 分别为 3.5、2.8 个月 ($P < 0.001$), ORR 分别为 20%、9%, 并且 Nivolumab 组治疗相关的 3~4 级副反应也低于化疗组, 分别为 7%、55%^[33]。此外, PD-L1 的表达水平不影响 Nivolumab 的治疗优越性, 可见 Nivolumab 比化疗的疗效更好。另一项研究也得出同样的结论, 在 Borghaei 等^[34]对 582 例接受二线治疗的晚期非鳞状 NSCLC 患者的研究中, Nivolumab 组和化疗组的中位 OS 分别为 12.2、9.4 个月 ($P = 0.002$), 18 个月 OS 分别为 39%、23%, ORR 分别为 19%、8%。值得关注的是, PD-L1 阴性的患者接受 Nivolumab 和多西紫杉醇治疗后的效果相似, 而与鳞状细胞肺癌相反, Nivolumab 对 PD-L1 阳性的非鳞状细胞肺癌患者效果更好。总的来说, 以上研究结果均表明, 在难治性肺癌中 PD-1 抑制剂靶向治疗能够比化疗取得更好的疗效。

Pembrolizumab 在治疗 NSCLC 中也取得了良好的效果。一项 I 期临床试验显示 Pembrolizumab 的疗效与 PD-L1 的表达密切相关。对于 PD-L1 表达 $\geq 50%$ 与 1%~49% 的患者, 中位持续 PFS 分别为 12.5、7.2 个月。3~4 级副反应在此项研究中为 9%, 主要表现为疲乏、皮肤瘙痒和食欲减退。这项研究

结果推进了 Pembrolizumab 在 PD-L1 高表达、经其他治疗无效的晚期 NSCLC 中的应用^[35]。随后的研究也证明,与多西紫杉醇相比, Pembrolizumab 在 PD-L1 阳性、前期治疗过的晚期 NSCLC 中具有更好的效果^[36]。一项 III 期临床试验进一步证实了 Pembrolizumab 的优越性。在 Reck 等^[37]的研究中, Pembrolizumab 组和化疗组中位 PFS 分别为 10.3、6.0 个月 ($P < 0.001$)。6 个月时 Pembrolizumab 组尚有 80.2% 的患者存活,而化疗组为 72.4% ($P = 0.005$)。基于各项研究结果, Pembrolizumab 已经被 FDA 批准用于 PD-L1 高表达的转移性 NSCLC 的一线治疗。除此之外, PD-1 信号通路免疫检查点抑制剂在 NSCLC 的联合治疗应用的研究也在积极开展,如 Pembrolizumab 与 Nivolumab 的联合治疗,二者分别与化疗、放疗的联合治疗,以及肺癌术后的免疫检查点治疗应用的研究等。免疫检查点抑制剂为 NSCLC 的系统性治疗开辟了一片新天地。

Atezolizumab 是一种全人源性 IgG4 型抗 PD-L1 单克隆抗体,于 2016 年 10 月被 FDA 批准用于治疗经铂类药物化疗后进展的转移性 NSCLC。一项 III 期临床试验证实了 Atezolizumab 比多西紫杉醇对前期治疗过的 NSCLC 具有更好的疗效。结果显示,在意向性治疗患者中, Atezolizumab 组、多西紫杉醇组中位 OS 分别为 13.8、9.6 个月。此外,在 PD-L1 高表达及低表达亚组中,使用 Atezolizumab 后 OS 都得到了改善,对鳞状细胞癌和非鳞状细胞癌患者的 OS 也都有相似的改善程度^[38]。

4.2.2 小细胞肺癌 (small cell lung cancer, SCLC)

与 NSCLC 相反,免疫检查点抑制剂在 SCLC 中的应用还处于研究的初级阶段。其中一项 I 期临床试验表明,在 147 例 SCLC 患者中,仅有 42 例 (28.6%) 经免疫组织化学染色证实 PD-L1 的表达为阳性。其中,20 位 PD-L1 阳性患者给予 Pembrolizumab 治疗,仅 7 位表现为部分缓解 (partial response, PR) (ORR 为 35%)^[35]。在另一项用 Nivolumab 治疗 SCLC 的研究中,患者为晚期有治疗史的 SCLC,分为 Nivolumab 组、Nivolumab + Ipilimumab 组,无论 PD-L1 的表达如何,结果 ORR 分别为 10%、23%,并且联合组具有更高的毒性^[39]。这些免疫检查点抑制剂都还在 II / III 期临床试验中,以检验其对多复发 SCLC 以及与化疗药物联合应用的疗效。

4.3 肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)

HCC 是危害人类生命健康的主要恶性肿瘤之一,有效治疗手段仍很局限。在晚期 HCC 患者中,

酪氨酸激酶受体抑制剂索拉非尼是目前一线治疗的选择,中位生存期在 6.5~10 个月之间^[40-41]。慢性肝炎病毒和非酒精性肝硬化引发的 HCC 具有免疫抑制性肿瘤微环境,可导致 T 细胞耗竭^[42]。HCC 患者以及慢性乙型肝炎患者 PD-L1 表达上调^[43],因此,免疫检查点抑制剂在 HCC 中应用的效果令人期待,相关临床试验正在实施中^[42]。在一项用 Nivolumab 治疗 HCC 患者的 I 期临床试验中,47 位患者中有 2 位在获得完全缓解 (complete response, CR) 后退出试验,26 位由于疾病进展停止治疗,2 位由于副反应而终止,最终有 17 位完成试验。其中 2 位获得 CR,6 位获得 PR,在这 8 位患者中有 7 位在前 3 个月有持久的剂量反应。在所有的 42 位可评价反应患者中,ORR 为 19%,在第 9 个月时 OS 为 70%,第 12 个月时 OS 为 62%^[44]。这些临床试验结果显示, Nivolumab 对晚期 HCC,尤其是一线治疗方案索拉非尼治疗后又发生疾病进展的 HCC,具有一定的疗效。

4.4 其他实体肿瘤

免疫检查点抑制剂在泌尿生殖系统肿瘤、结直肠癌、霍奇金淋巴瘤等其他实体瘤的治疗中也取得了重要进展。在肾细胞癌治疗中, Nivolumab 比 mTOR 抑制剂 (依维莫司) 具有更好的疗效^[45],抗 PD-1 抗体作为肾细胞癌一线治疗以及与抗血管内皮生成素抑制剂或 Ipilimumab 联合使用的 III 期临床试验也正在开展, Nivolumab 于 2015 年被 FDA 批准用于抗血管生成治疗后进展的肾癌。在结直肠癌治疗中,研究发现, PD-1 抗体在错配修复缺失的结直肠癌患者中具有较好疗效。对没有错配修复的肿瘤全基因组分析时发现,平均有 1 872 个体细胞突变,而错配修复完整的肿瘤平均仅有 73 个突变^[46],并且 PD-L1 仅表达在错配修复缺失的结直肠癌中,因此,抗 PD-1 抗体不仅能够阻断 PD-1 信号通路,在增强自身免疫系统以对抗突变诱发的肿瘤方面,也具有至关重要的意义。在霍奇金淋巴瘤治疗中, Nivolumab 单药治疗取得了较好的疗效^[47],为自体干细胞移植等其他方法治疗无效的霍奇金淋巴瘤患者提供了新选择。 Nivolumab、Pembrolizumab 已分别于 2016 年 5 月、2017 年 3 月被 FDA 批准用于经典霍奇金淋巴瘤的治疗。

5 CTLA-4和PD-1信号通路阻断剂面临的挑战

免疫检查点抑制剂因其持久的反应性及可延长多种实体瘤患者生存期而受到广泛关注,并逐渐成

为多种晚期实体瘤患者的选择。然而, 免疫检查点抑制剂在实体瘤治疗的临床应用上仍面临严峻的挑战。

5.1 治疗效果

尽管免疫检查点抑制剂在实体瘤治疗领域取得了突破性的进展, 但治疗效果仍有待提高。大量的临床研究表明, PD-1 抗体对晚期黑色素瘤的应答率只有 28% 左右, 即使联合使用 CTLA-4 信号通路抑制剂, 应答率也仅为 40%^[48]。近来有研究报道, 将 PD-1 抗体 Keytruda 与 IDO 抑制剂 Indoximod 联合使用可明显改善疗效^[48], 这与肿瘤免疫逃逸机制的复杂性密切相关。因此, 联合抑制肿瘤免疫逃逸的多条通路, 对改善免疫检查点抑制剂的疗效具有重要作用, 具体的联合应用方案仍有待探索, 而肿瘤逃避免疫系统攻击的其他机制也有待研究。此外, 部分患者使用 PD-1/PD-L1 信号通路抑制剂后, 肿瘤不但没有缩小, 病情反而加重^[49], 目前观察到这种情况多发生于 65 岁以上的患者, 并发现此类患者多存在 EGFR 突变或肿瘤促发基因 MDM2、MDM4 的异常, 具体的机制尚未明确。

5.2 毒副作用

免疫检查点抑制剂产生的毒副作用不容忽视。CTLA-4 和 PD-1 信号通路能够抑制 T 细胞的功能, 在外周免疫耐受及肿瘤免疫逃逸中具有重要作用, 因此, 免疫检查点抑制剂的使用必然会导致自身免疫相关的副反应, 如免疫相关肺炎、结肠炎、肝炎、肾炎等。两者在抑制免疫反应及抗肿瘤反应中的机制有所不同, CTLA-4 在免疫反应的早期调节 T 细胞的增殖, 主要位于淋巴结; 而 PD-1 在免疫反应的晚期抑制 T 细胞, 主要位于外周组织。因而, CTLA-4 信号通路抑制剂往往比 PD-1 信号通路抑制剂具有更大的副作用。CTLA-4 抑制剂产生的严重自身免疫毒性使其在临床上的应用受到限制, 而 PD-1 信号通路抑制剂的副反应相对温和, 应用也更加广泛。在临床治疗中如何平衡用药剂量与最大程度降低自身免疫毒性, 已有学者给出参考^[50], 但仍需摸索。

5.3 反应预测

在免疫检查点抑制剂临床使用中, 治疗反应性的预测标准仍不够完善。即药物的适应症尚不够精细, 以致同种药物在同种肿瘤患者中只对部分人有效, 这主要是源于个体差异及肿瘤异质性。例如, 对于 PD-1/PD-L1 信号通路抑制剂, 尽管可以通过免疫组化检测 PD-L1 的表达水平来预测非鳞状

NSCLC 患者的反应性^[34], 但在其他肿瘤中 PD-L1 表达水平的预测性却有很大局限。此外, 研究发现, 吸烟由于导致突变负荷增加而使肺癌患者对免疫检查点抑制剂治疗反应微弱^[51], 但自述有吸烟史的患者却与突变负荷无明显关联。相似地, 在 CTLA-4 抑制剂的治疗中, 也发现反应性与突变负荷和新的抗原有关^[52]。因此, 进一步明确新抗原以及突变负荷的评价, 对于免疫检查点治疗的反应预测具有至关重要的作用。

5.4 疗效评价

生存分析发现, 传统的实体瘤反应评价标准 (response evaluation criteria in solid tumors, RECIST) 或许低估了免疫检查点抑制剂的疗效^[53]。免疫治疗与化疗及抗血管生成治疗不同, 因此, 产生了免疫相关反应标准 (immune-related response criteria, irRC)^[54]。在 irRC 中, 出现新的肿瘤病灶并不意味着疾病进展, 并且评价疾病进展和药物反应的阈值 (分别为增加 25%、减少 50%) 均大于 RECIST (分别为增加 20%、减少 30%)。为了制定更好的临床治疗方案, 需要确定合适的肿瘤免疫治疗反应评价标准。

6 展望

尽管临床试验的积极开展证明免疫检查点抑制剂疗效显著, 然而, 其仅对部分肿瘤患者有效。因此, 为了增加临床疗效, 应从如下两方面着手进行深入研究: 一方面, 开发新的免疫治疗方法, 与免疫检查点抑制剂联合使用, 如探索肿瘤抑制性微环境的其他机制, 明确其在肿瘤免疫逃逸中的作用并阻断, 从而增强自身免疫来杀伤肿瘤; 另一方面, 重视个体化治疗。同种肿瘤患者可能具有不同的基因突变谱, 从而产生不同的肿瘤抗原, 因此, 开发出个体化免疫治疗方案, 最大程度地减少副作用, 是未来前进的方向。

[参 考 文 献]

- [1] Lizee G, Overwijk WW, Radvanyi L, et al. Harnessing the power of the immune system to target cancer. *Annu Rev Med*, 2013, 64: 71-90
- [2] Batlevi CL, Matsuki E, Brentjens RJ, et al. Novel immunotherapies in lymphoid malignancies. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13: 25-40
- [3] Blank LU. The perspective of immunotherapy: new molecules and new mechanisms of action in immune modulation. *Curr Opin Oncol*, 2014, 26: 204-14
- [4] Paiva B, Azpilikueta A, Puig N, et al. PD-L1/PD-1 presence in the tumor microenvironment and activity of PD-1 blockade in multiple myeloma. *Leukemia*, 2015, 29: 2110-3

- [5] Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*, 2002, 3: 991-8
- [6] Taube JM, Young GD, McMiller TL, et al. Differential expression of immune-regulatory genes associated with PD-L1 display in melanoma: implications for PD-1 pathway blockade. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 3969-76
- [7] Yang CY, Lin MW, Chang YL, et al. Programmed cell death-ligand 1 expression in surgically resected stage I pulmonary adenocarcinoma and its correlation with driver mutations and clinical outcomes. *Eur J Cancer*, 2014, 50: 1361-9
- [8] Zhang Y, Wang L, Li Y, et al. Protein expression of programmed death 1 ligand 1 and ligand 2 independently predict poor prognosis in surgically resected lung adenocarcinoma. *Onco Targets Ther*, 2014, 7: 567-73
- [9] Driessens G, Kline J, Gajewski TF. Costimulatory and coinhibitory receptors in anti-tumor immunity. *Immunol Rev*, 2009, 229: 126-44
- [10] Azuma M, Ito D, Yagita H, et al. B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. *Nature*, 1993, 366: 76-9
- [11] Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol Cell Biol*, 2005, 25: 9543-53
- [12] Iida T, Ohno H, Nakaseko C, et al. Regulation of cell surface expression of CTLA-4 by secretion of CTLA-4-containing lysosomes upon activation of CD4⁺ T cells. *J Immunol*, 2000, 165: 5062-8
- [13] Krummel MF, Allison JP. CTLA-4 engagement inhibits IL-2 accumulation and cell cycle progression upon activation of resting T cells. *J Exp Med*, 1996, 183: 2533-40
- [14] Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med*, 2000, 192: 303-10
- [15] 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. *Science*, 2011, 332: 600-3
- [16] Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, et al. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J*, 1992, 11: 3887-95
- [17] Bennett F, Luxenberg D, Ling V, et al. Program death-1 engagement upon TCR activation has distinct effects on costimulation and cytokine-driven proliferation: attenuation of ICOS, IL-4, and IL-21, but not CD28, IL-7, and IL-15 responses. *J Immunol*, 2003, 170: 711-8
- [18] Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol*, 2011, 12: 492-9
- [19] Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4: 336-47
- [20] Youngnak P, Kozono Y, Kozono H, et al. Differential binding properties of B7-H1 and B7-DC to programmed death-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 307: 672-7
- [21] Akbari O, Stock P, Singh AK, et al. PD-L1 and PD-L2 modulate airway inflammation and iNKT-cell-dependent airway hyperreactivity in opposing directions. *Mucosal Immunol*, 2010, 3: 81-91
- [22] Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity*, 2007, 27: 111-22
- [23] Wang C, Thudium KB, Han M, et al. *In vitro* characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and *in vivo* toxicology in non-human primates. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2: 846-56
- [24] Schadendorf D, Hodi FS, Robert C, et al. Pooled analysis of long-term survival data from phase II and phase III trials of ipilimumab in unresectable or metastatic melanoma. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 1889-94
- [25] Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med*, 2011, 364: 2517-26
- [26] Di Giacomo AM, Ascierto PA, Queirolo P, et al. Three-year follow-up of advanced melanoma patients who received ipilimumab plus fotemustine in the Italian Network for Tumor Biotherapy (NIBIT)-M1 phase II study. *Ann Oncol*, 2015, 26: 798-803
- [27] Eggermont AM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, et al. Prolonged survival in stage III melanoma with ipilimumab adjuvant therapy. *N Engl J Med*, 2016, 375: 1845-55
- [28] Puzanov I, Milhem MM, Minor D, et al. Talimogene laherparepvec in combination with ipilimumab in previously untreated, unresectable stage IIIB-IV melanoma. *J Clin Oncol*, 2016, 34: 2619-26
- [29] Amin A, Lawson DH, Salama AK, et al. Phase II study of vemurafenib followed by ipilimumab in patients with previously untreated BRAF-mutated metastatic melanoma. *J Immunother Cancer*, 2016, 4: 44
- [30] Robert C, Schachter J, Long GV, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med*, 2015, 372: 2521-32
- [31] Robert C, Long GV, Brady B, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med*, 2015, 372: 320-30
- [32] Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med*, 2015, 373: 23-34
- [33] Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2015, 373: 123-35
- [34] Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2015, 373: 1627-39
- [35] Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2015, 372: 2018-28
- [36] Herbst RS, Baas P, Kim DW, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet*, 2016, 387: 1540-50
- [37] Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-

- small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2016, 375: 1823-33
- [38] Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet*, 2017, 389: 255-65
- [39] Antonia SJ, Lopez-Martin JA, Bendell J, et al. Nivolumab alone and nivolumab plus ipilimumab in recurrent small-cell lung cancer (CheckMate 032): a multicentre, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol*, 2016, 17: 883-95
- [40] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2008, 359: 378-90
- [41] Cheng AL, Kang YK, Chen Z, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol*, 2009, 10: 25-34
- [42] Harding JJ, El Dika I, Abou-Alfa GK. Immunotherapy in hepatocellular carcinoma: Primed to make a difference? *Cancer*, 2016, 122: 367-77
- [43] Wang BJ, Bao JJ, Wang JZ, et al. Immunostaining of PD-1/PD-Ls in liver tissues of patients with hepatitis and hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2011, 17: 3322-9
- [44] El-Khoueiry AB, Melero I, Crocenzi TS, et al. Phase I/II safety and antitumor activity of nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC): CA209-040. *J Clin Oncol*, 2015, 33: LBA101
- [45] Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*, 2015, 373: 1803-13
- [46] Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med*, 2015, 372: 2509-20
- [47] Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*, 2015, 372: 311-9
- [48] Baumeister SH, Freeman GJ, Dranoff G, et al. Coinhibitory pathways in immunotherapy for cancer. *Annu Rev Immunol*, 2016, 34: 539-73
- [49] Champiat S, Dercle L, Ammari S, et al. Hyperprogressive disease is a new pattern of progression in cancer patients treated by anti-PD-1/PD-L1. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 1920-8
- [50] Champiat S, Lambotte O, Barreau E, et al. Management of immune checkpoint blockade dysimmune toxicities: a collaborative position paper. *Ann Oncol*, 2016, 27: 559-74
- [51] Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*, 2015, 348: 124-8
- [52] Snyder A, Makarov V, Merghoub T, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med*, 2014, 371: 2189-99
- [53] Hodi FS, Hwu WJ, Kefford R, et al. Evaluation of immune-related response criteria and RECIST v1.1 in patients with advanced melanoma treated with pembrolizumab. *J Clin Oncol*, 2016, 34: 1510-7
- [54] Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer Res*, 2009, 15: 7412-20