

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.03.020

· 综 述 ·

黑素瘤的免疫治疗进展

Immunotherapy of melanoma: An update

臧学峰,唐晓义 综述;张斌[△],陈虎 审阅(军事医学科学院附属医院造血干细胞移植科;细胞与基因治疗中心;全军造血干细胞研究所,北京 100071)

[摘要] 黑素瘤是一种侵袭性强的难治性皮肤肿瘤,其自然病程中出现的与淋巴细胞浸润相关的肿瘤自发回缩或消退现象,以及黑素瘤对各种免疫治疗较好的临床反应均提示了黑素瘤是一种免疫原性肿瘤。本文从主动免疫治疗和被动免疫治疗两个方面综述了近年来黑素瘤的免疫治疗进展。在以 T 细胞过继免疫和疫苗为中心的肿瘤抗原特异性主动免疫治疗方法中,肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)体外扩增是一种较为稳定且有效的方式,但存在 TIL 不易获取、培养不易成功等局限性;DC 疫苗因为能够诱导并促进肿瘤特异性 CTL 扩增而被视作是一种有前途的治疗方式,但仍然面临临床疗效不够满意等问题,随着新的特异性抗原的发现及抗原负载方式的改进,相信 DC 疫苗将会使患者更多获益。而新的特异性抗原的发现,也必将推动 T 细胞抗原受体(T cell antigen receptor, TCR)基因修饰的 T 细胞和疫苗的研发进展;调节分子 IL-21 和针对细胞毒性 T 细胞抗原-4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)、程序性死亡分子 1(programmed cell death-1, PD-1)、CD40 的单克隆抗体研究显示出一定的临床潜力,也为黑素瘤的免疫治疗打开了新的思路。

[关键词] 黑素瘤;免疫治疗;过继免疫治疗;疫苗;临床应用

[中图分类号] R739.5; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)03-0365-07

黑素瘤作为一种免疫原性肿瘤,是免疫治疗研究的重要切入点,很多免疫学治疗方法的有效性率先在黑素瘤患者的治疗中得到验证,并取得令人瞩目的成就。美国临床肿瘤学会年会报告的数据显示:2011 年黑素瘤占据 5 项大会报告中的 2 项,其中针对 CTLA-4 的阻断抗体 Ipilimumab 通过美国 FDA 批准而问世;2012 年靶向 PD-1 的免疫治疗对以黑素瘤为主的多种肿瘤有效,而两大新药 Trametinib 和 Dabrafenib 治疗 BRAF 基因突变黑素瘤疗效显著,使得黑素瘤免疫治疗的靶点进一步拓展。本研究以临床试验数据为依据,从主动免疫治疗和被动免疫治疗两个方面对近年来黑素瘤的免疫治疗进行综述。

1 主动免疫治疗

主动免疫治疗是指向体内输入具有免疫原性的物质,诱导机体产生特异性免疫应答而治疗疾病的方法。为了使患者获得针对黑素瘤细胞的特异性免疫应答,其主动免疫治疗的方式主要包括疫苗和过继性 T 细胞输注两种。

1.1 疫苗

疫苗是人工诱导机体产生特异性免疫最为常见的方式。经过不断探索,研究者们探索了针对诱导产生特异性免疫应答各个环节的疫苗设计方案,而

针对于黑素瘤则主要包括:肿瘤细胞疫苗、肽疫苗和 DC 疫苗等 3 个方面。

1.1.1 肿瘤细胞疫苗 肿瘤细胞疫苗的发展,从天然的肿瘤细胞到经过基因修饰的肿瘤细胞,近期更有辅以其他细胞因子而进一步增强疗效的探索。

(1)天然肿瘤细胞疫苗 无论是用自体还是异体黑素瘤细胞,以天然肿瘤细胞为疫苗治疗黑素瘤的方法已经有很长的时间,其中影响最为深远的要数 MMAIT(malignant melanoma active immunotherapy)多中心 III 期临床试验^[1],从 1998 年到 2005 年总共有 1656 名 III-IV 期术后转移性黑素瘤患者入组,比较了卡介苗(bacillus calmette-guerin, BCG) + 异体黑素瘤细胞免疫(allogeneic melanoma cell vaccine, MCV)和 BCG + 安慰剂两组治疗的无病生存期(disease-free survival, DFS),可惜因 BCG + MCV 组较单

[基金项目] 国家“十一五”计划新药创制重大专项(No. 2009zx09503-23)。Project supported by the Key New Drug Creation and Manufacturing Program of the “Eleventh Five-year Plan” of China (No. 2009zx09503-23)

[作者简介] 臧学峰(1986 -),男,山东省青岛市人,硕士生,主要从事细胞治疗和造血干细胞移植方面的研究。E-mail: zangxuefeng@126.com

[通信作者] 陈虎(Chen Hu, corresponding author), E-mail: chenhu217@yahoo.com.cn; 张斌(Zhang Bin, co-corresponding author), E-mail: zh307ctc@163.com。△共同通讯作者

纯 BCG 组未能改善无复发状态及总体生存,且在 IV 期试验中患者的总体生存率更低而导致试验被提前终止。这种灭活肿瘤细胞疫苗较差的表现以及安全性问题,致使后来的研究者很少再来尝试该方法。

(2) 基因修饰的肿瘤细胞疫苗 2009 年 Zarei 等^[2]的一项基于鼠的实验证实转染粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)能增强肿瘤免疫原性。应用转染 GM-CSF 的同种异体黑素瘤细胞疫苗的临床试验中可以观察到肿瘤有坏死,但无肿瘤病灶消退。进一步大规模随机对照试验结果显示该方法对无进展状态和总体生存获益均无明显改善^[3]。肿瘤细胞疫苗的研究结果一度让研究者质疑其有效性。近期发现,转化生长因子 β_2 (transforming growth factor- β , TGF- β_2)能够抑制 CTL、NK 等细胞的分化,抑制免疫活性细胞的增殖。已经证实,在肿瘤患者中,肿瘤浸润性淋巴细胞中的 CD4⁺ 免疫抑制细胞可通过 TGF- β_2 途径抑制 DC 的抗原递送。而 TGF- β_2 的反义基因能够抑制 TGF- β_2 合成,阻断该途径,应用于非小细胞肺癌的 TGF- β_2 反义基因修饰的肿瘤疫苗已经证实能延长患者生存期^[4]。Olivares 等^[5]开展了应用 TGF- β_2 反义基因和 GM-CSF 基因修饰的肿瘤细胞疫苗的临床试验,结果显示 38 名入组肿瘤患者中 32 名成功制备疫苗,成功率 84%。其中有 21 名接受至少 1 次疫苗,无 3~4 级毒副反应;21 名患者中 17 例病情稳定,在 2 个月或者以后出现最佳反应;1 例 IV 期黑素瘤患者在接受 11 剂疫苗注射后完全缓解,随访观察 2 年,未见复发迹象;13 例中有 6 例在 12 周的时候能检测出对 TAG 疫苗的酶联免疫斑点阳性。

1.1.2 肽疫苗 肽疫苗的研究由来已久,但临床疗效仍非常有限。Rosenberg 等^[6]分析了从 1995~2004 年 NCI 外科分会 440 例接受疫苗治疗的肿瘤病例(黑素瘤病例 422 例),其中接受肽疫苗患者的总有效率 2.9%。随着新的肿瘤特异性抗原、癌胚抗原的发现,各种免疫调节辅剂的应用以及免疫治疗策略的综合应用,肽疫苗的研究从寻找抗原性更强的针对单个抗原肽的疫苗,开始走向可以针对多个肽的一种疫苗或者多种肽疫苗的组合,并探索与其他多种免疫佐剂或其他免疫方法相配合。

(1) 针对单个肽的疫苗 葛兰素史克一直致力于研究疫苗佐剂,并开发了一项针对 MAGE-A3 抗原的抗原特异性肿瘤免疫治疗方法^[7],其疫苗主体是一种包含流血嗜血杆菌 B 的脂质体、MAGE-A3 蛋白和多聚组氨酸尾的融合蛋白,该融合蛋白悬浮于包含 QS21 和单磷脂 A 的佐剂中,其中, QS21

是一种植物提取物,作为葛兰素史克公司佐剂系统的一部分,现已被证实具有较强的免疫佐剂作用^[8]。单磷脂 A 是一种 TLR 激动剂,能有效启动 T 细胞免疫应答。2007 年公布的 II 期临床试验^[7]中,所有患者均出现了针对 MAGE-A3 的特异性免疫反应,而加入 TLR 激动剂可以提高缓解率并延长患者生存期,该试验大规模的 III 期随机对照试验结果也计划于近期公布。2011 年一项关于 gp100 肽疫苗的多中心随机对照 III 期临床试验,共有 21 个中心参与,入组患者 185 名,设立 gp100 肽疫苗 + IL-2 和单纯 IL-2 两个实验组,结果^[9]显示临床总体反应率 16% vs 6%,无进展生存 2.2 个月 vs 1.6 个月,中位总体存活时间 17.8 个月 vs 11.1 个月。

(2) 针对多个肽的疫苗或多种肽疫苗联合 Slingluff 等^[10]报道了其包含 6 种黑素瘤相关抗原疫苗的 I/II 期临床试验,这 6 种抗原蛋白分别是 Tyrosinase56-70、Tyrosinase386-406、Melan-A/MART-151-73、MAGE-3281-295、MAGE-1, 2, 3, 6121-134 和 gp10044-59,结果显示,39 例入组患者,总体耐受良好;81% 的患者可检测到 T 细胞增殖反应;17 例进行病情评估的患者中有 2 例(12%)治疗有效,反应持续时间 1 年至 3.9 年;另有 2 例持续病情稳定,持续时间 1.8 年至 4.6 年。Sarnaik 等^[11]报道了超剂量 Ipilimumab 联合 3 种肽疫苗治疗术后高危黑素瘤的 II 期临床试验,这 3 种肽疫苗分别是 tyrosinase、gp100 和 MART-1,以乳剂形式悬于疫苗佐剂 Montanide ISA 51 VG。75 例患者中,25 例接受 Ipilimumab 剂量为 3 mg/kg,另有 50 例剂量为 10 mg/kg,其中 HLA-A * 0202⁺ 的患者再额外接受 3 种肽疫苗的皮下注射,结果显示,跟踪 29.5 个月仍未获得中位总体存活率和无复发生存率;其中 28 例有明显的免疫相关副作用事件,且该副作用与长期无复发生存呈正相关。联合多种肽疫苗并未显示出额外的临床获益。Th17 变化水平可以作为无复发状态的可替代标记,而高水平 CRP 同样与疾病无复发状态相关。

1.1.3 树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗 应用 DC 疫苗治疗癌症已经有 10 余年的历史^[12],其目的是产生肿瘤抗原特异性 CD8⁺ T 细胞介导的免疫杀伤作用。由于 III 期临床试验证实 sipuleucel-T(APC 8015)能使患者中位生存期延长将近 4 个月, FDA 已经批准将其用于治疗去雄激素治疗无效的转移性前列腺癌。众多试验^[13]研究证实,以 DC 疫苗为基础的免疫治疗安全有效,能有效介导外周血抗原特异性的 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的增殖。但临床

反应的建立需要一定的时间这种反应一旦建立能持续一定时间^[14-15],更利于延长患者生存期,使患者获益。

Dillman 等^[16]通过对 2001 - 2007 年期间 54 例应用 DC 治疗转移性黑素瘤的研究发现,以照射失活的肿瘤细胞致敏自体外周血来源 DC,培养成熟后加入 500 μg GM-CSF 皮下注射,总共注射 8 剂,结果 5 年生存率为 54%。对该实验高存活率相关特征的多元回归分析^[17]发现,放射治疗经历、年轻、男性、体力状况好、前 3 剂高细胞数、前 3 剂低活细胞数等 6 个特征与患者高存活率相关。

当前对 DC 疫苗的研究主要集中在对所负载抗原的选择及所联合其他免疫策略方面。所负载抗原包括特异性抗原及非突变共享抗原,随着研究者对 DC 生物学特性的研究,以及效应性 T 细胞和调节性 T 细胞功能及调节方式的进一步探索,为 DC 疫苗的临床应用开拓了广阔的发展空间。

1.2 T 细胞过继免疫治疗

在黑素瘤治疗方面,T 细胞过继免疫治疗主要有来自患者体内或经体外肿瘤抗原刺激的肿瘤抗原特异性 T 细胞过继免疫治疗,以及运用基因转染技术使缺乏抗原特异性的 T 细胞产生抗原特异性,并运用其进行过继免疫治疗。

1.2.1 TIL Rosenberg 等^[18]尝试应用环磷酰胺化疗后给予体外分离扩增的 TIL 和 IL-2 治疗黑素瘤,结果 15 例未用 IL-2 治疗过的患者,该疗法有 9 人有效;而即使之前用 IL-2 治疗无效的 5 例患者也有 2 例有效。后续的研究^[19]证实,该方法具有较高缓解率和较长的维持时间。2000 年前后,以美国国立癌症研究院为主的研究机构开始尝试行淋巴细胞消耗后再回输 TIL^[20],而对淋巴细胞消耗的探索,经历了从单纯化疗^[20]到化疗结合全身淋巴结照射^[21]、从非骨髓到骨髓的转变,并逐步确立了大剂量 TBI 在治疗中的作用^[22-23],探索了淋巴消耗及 TBI 改善过继性细胞治疗的机制。Dudley 等^[22]2008 年公布了一项高强度预处理后行 TIL 输注的试验数据,93 例患者分为 3 组在接受环磷酰胺 60 mg/(kg·d) × 2 d + 氟达拉滨 25 mg/(m²·d) × 5 d 后,后两组分别接受 2 Gy 和 12 Gy 照射处理。预处理后各组分别回输 TIL,并给予 720 000 IU/kg 的 IL-2,1 ~ 2 d 后照射组给予 2 × 10⁶/kg CD34⁺ 干细胞回输。各组客观反应率分别为 49%、52% 和 72%;随访至 2011 年,93 例患者 3 年、5 年总体生存率分别为 36%、29%,共有 20 例(22%)获得完全缓解,且其 3 年、5 年总体生存率为 100% 和 93%^[24]。

围绕 TIL 的治疗探索逐渐演变成当前一种类似白血病治疗的“骨髓性或者非骨髓性自体造血干细胞移植 + CTL”模式。同时围绕改善传统 TIL 培养体系成功率低、耗时长等不足,研究者确立了较传统方式培养周期更短、效果更优的“Young TIL”培养方案^[25-26],而新的培养器材,如 WAVE 生物反应器^[27]和透气瓶,进一步提高了培养效率、降低了生产成本,为后续大规模临床应用创造了条件。

1.2.2 基因修饰的 T 细胞 Restifo 等^[28]总结了癌症过继性免疫治疗,指出当前用于治疗癌症的特异性基因修饰 T 细胞主要有 3 种:人来源的抗肿瘤 TCR 基因修饰的 T 细胞;嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR),CAR 由单链 Fv 融合 CD3 信号单元,而其功能活性依赖于信号单元的敏感性,信号单元由共刺激分子和(或)细胞因子组成;鼠来源的人源化抗肿瘤 TCR 基因修饰的 T 细胞。

Kessels 等^[29]行体外实验证实,TCR 基因修饰的 T 细胞在小鼠体内可进行有效扩增,定向分布于有效作用位点,具有抗肿瘤的能力。Morgan 等^[30]完成了首次将 TCR 基因修饰 T 细胞用于黑素瘤治疗的临床试验。17 例对 IL-2 治疗耐药的晚期黑素瘤患者入组,应用逆转录病毒使 T 细胞表达针对黑素抗原 MART-1 的高亲和力 TCR,结果:转导效率为 17% ~ 67%,平均 42%。有 15 例回输的淋巴细胞占外周血淋巴细胞比例超过 10% 可持续 2 个月以上。其中 2 例(占 13.3%)在 1 年左右外周血仍可检测到高水平植入细胞,同时转移病灶消退。Robbins 等^[31]完成的针对癌胚抗原 NY-ESO-1 的 TCR 基因修饰 T 细胞免疫治疗,化学预处理行淋巴细胞消耗后,联合 720 000 IU/kg 的 IL-2 行自体 TCR 修饰的 T 细胞回输,结果 6 例滑膜细胞肉瘤中 4 例有效,其中 1 例部分缓解持续 18 个月;11 例表达 NY-ESO-1 的黑素瘤患者中有 5 例有效,其中 2 例完全缓解持续 1 年以上。同样,这种抗肿瘤的 TCR 基因也可以在鼠身上获得,Johnson 等^[32]公布了他们的一组应用人和鼠 TCR 基因修饰的 T 细胞治疗黑素瘤的数据显示,36 例患者治疗前淋巴细胞 CD45RA⁻ 和 CD45RO⁺,输注后转为 CD45RA⁺ 和 CD45RO⁻。患者经过预处理[环磷酰胺 60 mg/(kg·d) × 2 d + 氟达拉滨 25 mg/(m²·d) × 5 d]后接受人源和鼠源 TCR 基因修饰 T 细胞,并给与 720 000 IU/kg 的 IL-2,结果分别有 30% 和 19% 观察到客观肿瘤缩小,与应用 TIL 能达到 52% ~ 72% 的有效率相比尚有一定差距;TCR 修饰组有 41.7% 患者同时出现葡萄膜炎和耳膜炎的副作用,而 TIL 中

出现上述两种副作用的比例分别为 6.5% 和 1.1%。

CAR 修饰 T 细胞特点是无 HLA 限制性, 理论上可用于治疗任何能表达胞外单抗所能特异性结合的抗原的肿瘤。美国国立卫生研究院重组 DNA 咨询委员会回顾了分析了在生物技术活动办公室注册的至少 40 项应用 CAR 修饰 T 细胞治疗癌症的试验, 总体而言, 大多数与 CAR 修饰 T 细胞回输相关的副作用都是温和、自限、短暂的, 但不幸的是有两名患者在回输后死亡^[33]。修饰后表达抗 CD19 CAR 的自体 T 淋巴细胞已经被证实在治疗淋巴瘤和 CLL 中有显著效果, 可在体内扩增并长期存活。部分患者治疗期间出现肿瘤溶解综合征和长期的 B 细胞缺乏。

Restifo 等^[28]指出, 基因修饰的 T 细胞还是显示出了一定的临床获益, 相对于其他手段其优势在于: 可以选择不同生物物理属性和不同时期的细胞; 在转导 TCR 基因的同时, 也可以转入其他改善 T 细胞效率的基因, 如编码共刺激因子的基因、编码抗凋亡分子的基因、编码介导炎症或者增殖平衡的分子等等; 转入转录因子, 控制 T 细胞分化和增殖效率。但同时, 该治疗方法也存在一定的不足, 当前的方法都是单克隆性的, 这就表现出对肿瘤相对狭窄的攻击范围。而 TCR 的 α 链和 β 链发生错配也是不可避免的, 这就难以避免发生一些不良反应或意想不到的毒性反应。当然, 这些问题可以通过技术的改进进行克服, 而最大的障碍在于确定更特异性的抗原, 能特异性杀伤肿瘤细胞而对自身正常组织无毒性作用。

2 被动性免疫治疗

被动免疫治疗是指给机体输注外源性、具有免疫活性的物质进行治疗的方法。在肿瘤治疗方面, 被动免疫治疗起步较早, 而且近期在诸如 IL-2、CTLA-4 单抗、PD-1 单抗等方面取得了一定的成果。

2.1 细胞因子

通过直接给予外源性细胞因子, 可以达到调节患者免疫应答从而达到治疗的目的。在黑素瘤治疗方面, IL-2、INF- α 2b 和 IL-21 均被认为是有效的。

2.1.1 IL-2 IL-2 是一种能与表达在辅助性 T 细胞、效应性 T 细胞和调节性 T 细胞表面的 IL-2R 结合的糖蛋白, 介导 T 细胞增殖, 并维持其存活。大剂量 IL-2 是美国 FDA 早在 1998 年就批准用于治疗晚期黑素瘤患者的药物之一。1999 年一项 270 人的回顾分析显示, IL-2 用于治疗晚期黑素瘤患者有效率 16%, 6% 患者完全缓解后获长期存活, 2/3 获

完全缓解的病人持续缓解达 10 年。Radny 等^[34]公布的一项 IL-2 用于黑素瘤软组织转移灶的 II 期临床试验, 该实验用 IL-2 行瘤内注射, 结果显示, 24 例入组患者中 15 例达到完全缓解状态, 完全缓解率 62.5%, 5 例部分缓解, 部分缓解率 21%。进一步研究^[35-36]显示: 72 例入组患者均来自 1998 至 2002 年期间或者 2002 至 2009 年期间 IL-2 瘤内注射组, 其中仅有皮肤转移的 III B 期患者 2 年总体生存率高达 95.5%, 同时有皮肤和淋巴结转移的 III C 期患者为 72%, 仅限于远处软组织转移的 IV 期 M1a 患者为 66.7%, 而对于那些内脏转移的 IV M1b 期和 M1c 患者则为 9.1%。同时还发现, 30 例随后复发携有不可手术切除病灶的患者接受化疗也能收到意想不到的结果, 总体反应率为 36.7% (其中完全缓解率为 16.7%, 部分缓解率为 20%)。可见, IL-2 瘤内注射不仅能使患者取得较高的缓解率, 而且对于后期复发后的化疗也是有益的。

2.1.2 INF- α 2b 早在 1996 年美国 FDA 就已经批准 INF- α 2b 用于黑素瘤术后高危患者的辅助治疗, 主要就是依据当年 280 人的随机试验显示出与对照组的无复发和生存优势^[37]。但随后的研究显示, 该治疗的是否能改善总体生存一直存在争议。Wheatley 等^[38-39]的研究显示, INF- α 对黑素瘤患者的总体生存率无明显改善; 但 Mocellin 等^[40]的分析认为, 该治疗对总体生存率有统计学改善。大剂量 INF- α 治疗时严重的副作用令众多患者不能耐受, 从而明显限制了其临床应用, 而聚乙二醇干扰素由于其具有更长的半衰期且不增加副作用, 耐受性相对较好。Eggermont 等^[41]的临床试验显示, 聚乙二醇干扰素治疗组与空白对照组的 4 年无复发生存率分别 45.6% 和 38.9%, 两组之间无明显差别。Mao 等^[42]进一步评估了 1 个月疗法与 1 年疗法的差别显示, 两种疗法的中位无复发生存时间分别为 17.9 个月和 22.5 个月, 无明显统计学差异 ($P = 0.72$), 而后者常引起 III/IV 级可逆性肝毒性副作用。综上, 对于 INF- α 2b 应用于黑素瘤的治疗只能作为一种辅助治疗手段。

2.1.3 IL-21 Petrella 等^[43]公布了 IL-21 用于转移性黑素瘤一线治疗的 II 期临床试验结果, 最终 40 例可评估, 总体有效率 22.5%, 中位存活时间 12.4 个月。同时, 更值得关注的是该药副作用温和, 无严重不良反应, 耐受性较好。从发现具有抗肿瘤效应, 到一系列临床试验, 研究者发现这种可以由 CD4⁺ T 细胞和 NK 细胞分泌的细胞因子, 在皮肤和肾脏肿瘤中具有明确的抗肿瘤效应; 同时具有促炎效应, 在结

肠肿瘤中却表现出促肿瘤生长的现象^[44]。最近进一步的机制研究发现^[45], IL-21 同 IL-2 在促进常规 T 细胞生长的功能方面存在重叠,但对于 Treg 细胞的作用却截然不同,IL-21 对 IL-2 具有一定的可替代性,并能降低其可用性,抑制 Treg 细胞的体内平衡和功能发挥,因而 IL-21 被普遍看好,可以在肿瘤免疫方面发挥重要作用,尤其是疫苗及过继性 T 细胞免疫治疗等方面。而先前有研究^[46]表明,在过继性 T 细胞免疫方面,IL-21 虽然能抑制 CD8⁺ T 细胞中 Eomes 的表达和细胞毒作用,但相对于 IL-2, IL-21 不诱导 T 细胞无能,且能促进 L-选择素表达并增强抗肿瘤效应。从以上可以看出,IL-21 在免疫治疗方面的作用还是值得期待的。

2.1.4 单克隆抗体 随着各种人源化技术的应用,单克隆抗体在治疗肿瘤中取得了较好的疗效,通过单克隆抗体阻断或者激活某些重要的免疫节点,也已经成为肿瘤免疫治疗的重要方式。在黑素瘤治疗方面,主要有抗 CTLA-4 单抗和抗 PD-1 单抗。

2.1.5 抗 CTLA-4 单抗 Ipilimumab 是 2011 年经美国 FDA 批准用于晚期黑素瘤患者的一种抗 CTLA-4 单克隆抗体。一项 676 例 HLA-A * 0201 阳性病灶未切除的 III-IV 期患者参与的 III 期临床试验确立了其安全性和有效性^[47], 试验分组为 A: Ipilimumab + gp100 疫苗(403 名)、B: Ipilimumab(137 名)、C: gp100 疫苗(136 名)。结果显示, A 组中位生存时间 10 个月、B 组中位生存时间 10.1 个月、C 组中位生存时间 6.4 个月; 3~4 级免疫相关副作用在 Ipilimumab 是 10%~15%, 而 gp100 是 3%; 与药物相关死亡 14 人占 2.1%, 其中 7 人与免疫相关副作用有关。Robert 等^[48]的临床试验数据再次证实了 Ipilimumab 的有效性。502 例初治转移性黑素瘤患者随机分成 Ipilimumab 联合达卡巴嗪组和单独达卡巴嗪组, 联合组较单独组在总体生存时间、1 年生存率、2 年生存率和 3 年生存率以及副作用发生率方面均显示出明显优势。

2.1.6 抗 PD-1 单抗 PD-1 是 CD28 超家族的一员, 是表达于活化 T 细胞的抑制性受体, 高表达于黑素瘤抗原特异性 T 细胞, 其配体 PD-L1、PD-L2 (B7-H1、B7-H2) 表达于 APC 及肿瘤细胞。PD-1 与配体结合后, 能诱导和维持外周免疫耐受, 保护组织避免免疫攻击, 同时也能减弱感染性免疫和肿瘤免疫。JIN 等^[49]和 Hino 等^[50]的研究均提示 PD-L1 高表达的肿瘤患者预后较差。MDX-1106 为一种抗 PD-1 单克隆抗体, 39 名实体瘤患者参与的 I 期临床试验显示^[51], 患者对该抗体耐受良好, 1 例持续完

全缓解, 2 例部分缓解(全部为黑素瘤), 另有 2 例出现明显的肿瘤病灶回缩, 但未达部分缓解标准。该单抗半衰期为 12~20 d, 但药效分析显示, 使 T 细胞表面 PD-1 分子的阻断率在 70% 以上可以维持超过 2 个月。BMS-936558 也是一种抗 PD-1 单克隆抗体, 其针对多种肿瘤的 I 期临床试验研究^[52]中 94 例黑素瘤患者 26 例有效(有效率 28%), 且该药显示出较长的反应时间和较好的安全性; 抽样分析结果发现, 临床有效的患者全部为 PD-L1 阳性, 以此推测, PD-L1 阳性将是抗 PD-1 单抗治疗的适应症, 而治疗最佳剂量的确定以及相关药物的联合使用将成为下一阶段研究的重要内容。

2.1.7 抗 CD40 激动型抗体 CD40 是 TNF- α 超家族的一种, 表达于抗原递呈细胞、上皮细胞及造血前体细胞, 其配体 CD40L 主要表达于活化的 T、B 细胞。CD40 与 CD40L 结合后能传递强烈的刺激信号, 激活 APC 和 T 细胞, 诱导 T 细胞进一步活化, 即使在肿瘤负荷下, CD40 激动型受体也能触发有效的抗肿瘤免疫^[53]。CP-870,893 是一种人源化的 CD40 激动型单克隆抗体, 临床试验^[54]显示, 该抗体存在剂量限制性细胞因子释放综合征, 且与疗效相关。在黑素瘤患者中有 27% 获得了部分缓解。Rüter 等^[55]的临床试验发现 27 名实体瘤患者中 7 名稳定, 无达到缓解状态的患者。

3 结 语

黑素瘤免疫治疗在近些年取得了较快的发展, 不难发现, 较为成功的免疫治疗策略在强调增强特异性免疫的同时, 也需要重视打破免疫抑制状态、阻断负调节通路。在以过继性 T 细胞治疗和疫苗为中心的肿瘤抗原特异性主动免疫治疗方法中, TIL 体外扩增是一种较为稳定且有效的方式, 但存在 TIL 不易获取、培养可能不成功等局限, 而随着新特异性抗原的发现, 也必将推动 TCR 基因修饰的 T 细胞和疫苗的研发。DC 疫苗因为能诱导并促进肿瘤特异性 CTL 增殖而被视作是一种较有前途的治疗方式, 但当前仍然面临技术不成熟、临床疗效不满意等问题, 随着新的特异性抗原的发现及抗原负载方式的改进, 相信 DC 疫苗将会使患者更多地获益。2011 年新上市的 CTLA-4 阻断剂 Ipilimumab, 为黑素瘤的免疫治疗的带来了新的希望; 一些关键免疫调控点和调节分子的发现及应用, 如调节分子 IL-21 和针对 PD-1、CD40 的单克隆抗体等, 更丰富了黑素瘤的免疫治疗, 使多种免疫调节途径的联合成为一种可能。通过尝试联合多种治疗方法而形成的新治

疗策略的应用,如 IL-2、Ipilimumab 联合肽疫苗均显示出较单一治疗更好的疗效^[9, 11], 由于这种联合治疗尚处于摸索阶段, 如何才能组合出更有效的治疗策略则需要更多的探索。随着新的免疫调控点和调节分子的发现及其临床应用, 免疫治疗对黑素瘤治疗将发挥越来越大的作用。

[参 考 文 献]

- [1] Morton D, Mozzillo N, Thompson J, et al. An international, randomized, phase III trial of bacillus calmette-guerin (BCG) plus allogeneic melanoma vaccine (MCV) or placebo after complete resection of melanoma metastatic to regional or distant sites [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(Suppl 18): 8508-8508.
- [2] Zarei S, Schwenter F, Luy P, et al. Role of GM-CSF signaling in cell-based tumor immunization [J]. *Blood*, 2009, 113(26): 6658-6668.
- [3] Hodi F, Butler M, Oble D, et al. Immunologic and clinical effects of antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 in previously vaccinated cancer patients [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(8): 3005-3010.
- [4] Nemunaitis J, Dillman RO, Schwarzenberger PO, et al. Phase II study of belagenpumatucel-L, a transforming growth factor beta-2 antisense gene-modified allogeneic tumor cell vaccine in non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(29): 4721-4730.
- [5] Olivares J, Kumar P, Yu Y, et al. Phase I trial of TGF-beta 2 antisense GM-CSF gene-modified autologous tumor cell (TAG) vaccine [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(1): 183-192.
- [6] Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: Moving beyond current vaccines [J]. *Nat Med*, 2004, 10(9): 909-915.
- [7] Brichard VG, Lejeune D. GSK's antigen-specific cancer immunotherapy programme: Pilot results leading to phase III clinical development [J]. *Vaccine*, 2007, 25(Suppl 2): S61-S71.
- [8] Garçon N, Chomez P, Van Mechelen M. GlaxoSmithKline adjuvant systems in vaccines: Concepts, achievements and perspectives [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2007, 6(5): 723-739.
- [9] Schwartztruber DJ, Lawson DH, Richards JM, et al. gp100 peptide vaccine and interleukin-2 in patients with advanced melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(22): 2119-2127.
- [10] Slingsluff CL Jr, Petroni GR, Olson W, et al. Helper T-cell responses and clinical activity of a melanoma vaccine with multiple peptides from MAGE and melanocytic differentiation antigens [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(30): 4973-4980.
- [11] Sarnaik AA, Yu B, Yu D, et al. Extended dose ipilimumab with a peptide vaccine: Immune correlates associated with clinical benefit in patients with resected high-risk stage III c/IV melanoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(4): 896-906.
- [12] Ueno H, Schmitt N, Klechevsky E, et al. Harnessing human dendritic cell subsets for medicine [J]. *Immunol Rev*, 2010, 234(1): 199-212.
- [13] Nestle FO, Aljagie 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.
- [14] Palucka K, Ueno H, Roberts L, et al. Dendritic cells: Are they clinically relevant? [J]. *Cancer J*, 2010, 16(4): 318-324.
- [15] Draube A, Klein-Gonzalez N, Mattheus S, et al. Dendritic cell based tumor vaccination in prostate and renal cell cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18801.
- [16] Dillman RO, Selvan SR, Schiltz PM, et al. Phase II trial of dendritic cells loaded with antigens from self-renewing, proliferating autologous tumor cells as patient-specific antitumor vaccines in patients with metastatic melanoma: Final report [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2009, 24(3): 311-319.
- [17] Dillman RO, Fogel GB, Cornforth AN, et al. Features associated with survival in metastatic melanoma patients treated with patient-specific dendritic cell vaccines [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2011, 26(4): 407-415.
- [18] Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report [J]. *N Engl J Med*, 1988, 319(25): 1676-1680.
- [19] Rosenberg SA, Aebersold P, Cornetta K, et al. Gene transfer into humans--immunotherapy of patients with advanced melanoma, using tumor-infiltrating lymphocytes modified by retroviral gene transduction [J]. *N Engl J Med*, 1990, 323(9): 570-578.
- [20] Dudley ME, Wunderlich J, Nishimura MI, et al. Adoptive transfer of cloned melanoma-reactive T lymphocytes for the treatment of patients with metastatic melanoma [J]. *J Immunother*, 2001, 24(4): 363-373.
- [21] Dudley ME, Wunderlich JR, Yang JC, et al. Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(10): 2346-2357.
- [22] Dudley ME, Yang JC, Sherry R, et al. Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: Evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(32): 5233-5239.
- [23] Wrzesinski C, Paulos CM, Kaiser A, et al. Increased intensity lymphodepletion enhances tumor treatment efficacy of adoptively transferred tumor-specific T cells [J]. *J Immunother*, 2010, 33(1): 1-7.
- [24] Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(13): 4550-4557.
- [25] Tran KQ, Zhou J, Durlinger KH, et al. Minimally cultured tumor-infiltrating lymphocytes display optimal characteristics for adoptive cell therapy [J]. *J Immunother*, 2008, 31(8): 742-751.
- [26] Dudley ME, Gross CA, Langhan MM, et al. CD8⁺ enriched "young" tumor infiltrating lymphocytes can mediate regression of metastatic melanoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(24): 6122-6131.
- [27] Somerville RP, Devillier L, Parkhurst MR, et al. Clinical scale rapid expansion of lymphocytes for adoptive cell transfer therapy in

- the WAVE(R) bioreactor [J]. *J Transl Med*, 2012, 10: 69-79.
- [28] Restifo NP, Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy for cancer: Harnessing the T cell response [J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(4): 269-281.
- [29] Kessels HW, Wolkers MC, van den Boom MD, et al. Immunotherapy through TCR gene transfer [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(10): 957-961.
- [30] Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes [J]. *Science*, 2006, 314(5796): 126-129.
- [31] Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, et al. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1 [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(7): 917-924.
- [32] Johnson LA, Morgan RA, Dudley ME, et al. Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen [J]. *Blood*, 2009, 114(3): 535-546.
- [33] Ertl HC, Zaia J, Rosenberg SA, et al. Considerations for the clinical application of chimeric antigen receptor T cells: Observations from a recombinant DNA Advisory Committee Symposium held June 15, 2010 [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(9): 3175-3181.
- [34] Radny P, Caroli UM, Bauer J, et al. Phase II trial of intralesional therapy with interleukin-2 in soft-tissue melanoma metastases [J]. *Br J Cancer*, 2003, 89(9): 1620-1626.
- [35] Weide B, Derhovanessian E, Pflugfelder A, et al. High response rate after intratumoral treatment with interleukin-2 [J]. *Cancer*, 2010, 116(17): 4139-4146.
- [36] Weide B, Eigentler TK, Pflugfelder A, et al. Survival after intratumoral interleukin-2 treatment of 72 melanoma patients and response upon the first chemotherapy during follow-up [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60(4): 487-493.
- [37] Kirkwood JM, Strawderman MH, Ernstoff MS, et al. Interferon alfa-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: The Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684 [J]. *J Clin Oncol*, 1996, 14(1): 7-17.
- [38] Wheatley K, Ives N, Hancock B, et al. Does adjuvant interferon- α for high-risk melanoma provide a worthwhile benefit? A meta-analysis of the randomised trials [J]. *Cancer treatment reviews*, 2003, 29(4): 241-252.
- [39] Pirard D, Heenen M, Melot C, et al. Interferon alpha as adjuvant postsurgical treatment of melanoma: A meta-analysis [J]. *Dermatology*, 2004, 208(1): 43-48.
- [40] Mocellin S, Pasquali S, Rossi CR, et al. Interferon alpha adjuvant therapy in patients with high-risk melanoma: A systematic review and meta-analysis [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102(7): 493-501.
- [41] Eggermont AM, Suci S, Santinami M, et al. Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation alone in resected stage III melanoma: Final results of EORTC 18991, a randomised phase III trial [J]. *Lancet*, 2008, 372(9633): 117-126.
- [42] Mao L, Si L, Chi Z, et al. A randomised phase II trial of 1 month versus 1 year of adjuvant high-dose interferon alpha-2b in high-risk acral melanoma patients [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(10): 1498-1503.
- [43] Petrella TM, Tozer R, Belanger K, et al. Interleukin-21 has activity in patients with metastatic melanoma: A phase II study [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(27): 3396-3401.
- [44] Stolfi C, Pallone F, Macdonald TT, et al. Interleukin-21 in cancer immunotherapy: Friend or foe? [J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(3): 351-354.
- [45] Attridge K, Wang CJ, Wardzinski L, et al. IL-21 inhibits T cell IL-2 production and impairs Treg homeostasis [J]. *Blood*, 2012, 119(20): 4656-4664.
- [46] Hinrichs CS, Spolski R, Paulos CM, et al. IL-2 and IL-21 confer opposing differentiation programs to CD8⁺ T cells for adoptive immunotherapy [J]. *Blood*, 2008, 111(11): 5326-5333.
- [47] Hodi FS, Oday SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(8): 711-723.
- [48] Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(26): 2517-2526.
- [49] Jin HT, Ahmed R, Okazaki T. Role of PD-1 in regulating T-cell immunity [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2011, 350: 17-37.
- [50] Hino R, Kabashima K, Kato Y, et al. Tumor cell expression of programmed cell death-1 ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma [J]. *Cancer*, 2010, 116(7): 1757-1766.
- [51] Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: Safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(19): 3167-3175.
- [52] Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(26): 2443-2454.
- [53] Pan PY, Ma G, Weber KJ, et al. Immune stimulatory receptor CD40 is required for T-cell suppression and T regulatory cell activation mediated by myeloid-derived suppressor cells in cancer [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(1): 99-108.
- [54] Vonderheide RH, Flaherty KT, Khalil M, et al. Clinical activity and immune modulation in cancer patients treated with CP-870, 893, a novel CD40 agonist monoclonal antibody [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(7): 876-883.
- [55] Ruter J, Antonia SJ, Burris HA, et al. Immune modulation with weekly dosing of an agonist CD40 antibody in a phase I study of patients with advanced solid tumors [J]. *Cancer Biol Ther*, 2010, 10(10): 983-993.
- [收稿日期] 2013 - 01 - 15 [修回日期] 2013 - 03 - 20
- [本文编辑] 周玲琳