

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.001

· 专家论坛 ·

实体肿瘤免疫治疗的关键问题与对策

刘宝瑞 (南京大学医学院附属鼓楼医院 肿瘤中心暨临床肿瘤研究所, 江苏 南京 210008)

[摘要] 近年来,肿瘤免疫治疗取得重大突破性进展,以 CAR-T 为代表的细胞免疫治疗在血液肿瘤的治疗中取得了令人鼓舞的临床疗效,免疫卡控点抑制剂 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 单抗也相继获批用于临床。然而,大多数实体肿瘤患者并不能从免疫治疗中获益。本文从个体化新抗原表位的筛选、免疫细胞活力的维持、免疫细胞趋化与浸润、临床治疗模式和评价标准等方面总结了实体肿瘤免疫治疗难以见效的关键问题,并且从临床应用角度阐述其应对策略。

[关键词] 实体瘤;免疫治疗;新抗原;免疫卡控点;嵌合抗原受体 T 细胞;肿瘤微环境

[中图分类号] R730.54; R392.12 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2017)06-0575-06

Key problems and countermeasures of the immunotherapy for solid tumors

LIU Baorui (Institute of Clinicial Oncology & Center of Tumor, Gulou Hospital Affiliated to Medical College of Nanjing University, Nanjing 210008, Jiangsu, China)

[Abstract] In recent years, great breakthrough progresses have been achieved in cancer immunotherapy, cyto-immunotherapy with CAR-T as a representative has achieved encouraging clinical efficacy in the treatment of hematologic tumors, immune checkpoint inhibitor, CTLA-4 and PD-1/PD-L1 monoclonal antibodies, have been approved for clinical use in one after another. However, most of the patients with solid tumors did not get benefit from the immunotherapy. This paper summarized key problems that were difficult to resolve in the immunotherapy of solid tumors from aspects of screening individual noval antigen epitopes, maintaining viability of the immune cells, chemotaxis and invasion of the immunocytes, clinical treatment model, evaluation criterion and so on. And their coping strategies were described from the angle of clinical application.

[Key words] solid tumor; immunotherapy; neoantigen; immune checkpoints; chimeric antigen receptor T cell (CAR-T); tumor microenvironment

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(6): 575-580. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.001]



刘宝瑞 教授、主任医师、博士生导师, MD Anderson Cancer Center 博士后; 南京大学医学院附属鼓楼医院副院长、肿瘤中心主任, 南京大学临床肿瘤研究所所长。国家自然科学基金委员会、科技部、教育部等科技项目评审专家, 中国生物医学工程学会肿瘤靶向治疗技术专业委员会主委、中国抗癌协会整合

肿瘤分会副主委、江苏省医学会肿瘤化疗与生物治疗分会候任主委等。主要从事消化系统肿瘤的个体化药物及靶向免疫治疗。主持国家自然科学基金 8 项(含国际合作研究重大项目 1 项), 获国家发明专利 10 项、获中华医学科技二、三等奖及教育部科技进步二等奖等 31 项科技奖项。主编临床肿瘤学专著 5 部, 以第一或通信作者发表 SCI 论文 125 篇。

E-mail: baoruiliu07@163.com

肿瘤免疫治疗在 2013 年被《Science》杂志列评为当年十大科技突破之首, 引发人们对免疫治疗关注的热潮。2014 年, 肿瘤免疫治疗再次被《Science》杂志列为 2015 年最值得关注的领域之一, 免疫治疗在肿瘤治疗领域的广阔前景。目前肿瘤免疫治疗的三大领域主要包括: 过继性细胞免疫治疗、免疫卡控点阻断剂和肿瘤疫苗^[1-3]。其中, 以 CAR-T 为代表的细胞免疫治疗在血液肿瘤中取得了高达 90% 的 CR; 免疫卡控点阻断剂 PD-1 单抗在 23 名霍奇金淋

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81672367)。Project supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81672367)

[优先发表] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170603.1026.006.html>

巴瘤患者中的 CR 高达 87%, 24 周的 PFS 达 86%^[4], 并被 FDA 批准用于恶性黑色素瘤、肺癌、头颈癌、膀胱癌、肾癌和霍奇金淋巴瘤等多种肿瘤的临床治疗。尽管如此, 实体肿瘤的免疫治疗领域仍然存在许多尚未解决的问题, 如免疫治疗缺乏寻找个体化肿瘤特异性靶点的有效手段; 免疫治疗的主力军 T 淋巴细胞普遍存在活力下降、免疫耐受、功能耗竭; 肿瘤组织血管结构缺陷且富含基质, 使得免疫细胞难以有效穿透浸润; 肿瘤免疫抑制性微环境错综复杂, 单一疗法难以见效等^[5-6]。本文将从目前实体肿瘤免疫治疗面临的几大问题及解决策略进行具体阐述, 以期为实体肿瘤的免疫治疗探寻有效的治疗手段, 提高临床疗效。

1 个体化新抗原表位的筛选

肿瘤免疫治疗发挥疗效的理论基础之一是选择有效的治疗靶点即肿瘤抗原^[6]。依据其表达的特异性, 肿瘤抗原被分为三类^[7]: 一类是在正常组织器官里也有不同程度表达的抗原, 称为肿瘤相关抗原 (tumor associated antigen, TAA), 由于在发育过程中经历过胸腺的阴性筛选, 针对这部分抗原的 T 细胞已经完全耐受, 不能发挥有效的抗肿瘤作用; 第二类是只在特定组织器官里表达的抗原, 比如在除睾丸以外的正常组织中几乎不表达的癌-睾丸抗原 (cancer-testis antigen, CTA), 其与 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 有一定的亲和力, 针对这部分抗原 T 细胞不完全耐受, NY-ESO-1 是癌-睾丸抗原中的一员, 是免疫原性最强的肿瘤抗原之一, 被纳入多项肿瘤疫苗的临床试验中, 显示了很好的安全性^[8-10], 靶向 NY-ESO-1 的亲和力增强型 T 细胞疗法在恶性黑色素瘤、滑膜肉瘤的临床试验中疗效显著^[11]; 第三类则是非人类正常基因组来源的新抗原 (neoantigen), 即突变蛋白产生的抗原和致癌病毒整合进基因组产生的抗原, 它们未经胸腺阴性筛选, 与 TCR 亲和力高, 免疫原性强, 能诱发强有力的抗肿瘤免疫反应^[12]。近 5 年发表在《Nature》、《Science》和《N Engl J Med》等顶级期刊的多项临床研究^[13-18]结果均显示, 肿瘤特异性新抗原是 TILs、免疫卡控点阻断剂等发挥免疫治疗作用的主要靶点, 且较高的肿瘤突变负荷与较好的临床免疫治疗疗效密切相关, 因此, 新抗原被认为是肿瘤免疫治疗的最理想靶点。

设计肿瘤特异性新抗原为基础的免疫治疗策略, 首先需要鉴定出具有免疫原性的新抗原表位。目前常见的新抗原表位挖掘模式大概分为三类: (1) 通过新一代测序技术 (NGS) 结合生物信息学分析, 预测并

合成突变蛋白与 HLA 结合亲和力最高的表位肽, 体外刺激淋巴细胞, 鉴定出具有免疫原性的表位肽; (2) 依据患者测序结果中的非同义突变, 设计多表位 RNA, 用 RNA 电转的抗原提呈细胞 (antigen-presenting cell, APC) 刺激 T 细胞, 筛选具有免疫原性的多表位 RNA, 再根据需要验证有免疫原性的具体突变表位; (3) 针对常见的高频突变基因的热点突变, 依据生物信息学, 设计出多个抗原肽片段, 以期覆盖该基因位点突变的患者。新一代测序技术和生物信息学的快速发展促使肿瘤新抗原表位的鉴定在实践中不断进步。然而, 依托于测序技术的新抗原表位挖掘模式仍存在标本获得困难、耗时长以及不能实时反映肿瘤组织突变信息等问题。因此, 笔者从临床实际需求出发, 依据常见实体瘤中的高频突变基因中的常见非同义突变, 结合生物信息学预测, 设计出针对中国人常见 HLA 分型的新抗原表位肽, 并制备肽库, 依据患者 HLA 分型进行个体化新抗原表位筛选, 这对大多数晚期肿瘤患者来说是一个切实可行的方案。

2 免疫细胞活力的维持

T 淋巴细胞是抗肿瘤免疫应答的核心执行者, 其活化不仅需要 APC 提供的第一信号, 还需要协同刺激分子提供第二信号的刺激。然而, T 细胞的活化往往伴随免疫抑制性分子即免疫卡控点的上调, 它们一方面可以通过竞争性拮抗 T 细胞活化的共刺激信号, 负性调控 T 细胞介导的抗肿瘤应答, 诱导 T 细胞免疫耐受、功能耗竭甚至凋亡; 另一方面还可以调节肿瘤细胞自身的生物学行为, 参与肿瘤的发生与发展。研究^[19-20]表明, 免疫卡控点在外周血淋巴细胞和肿瘤浸润淋巴细胞中的表达, 以及其配体在肿瘤组织中的表达, 与肿瘤的进展、侵袭以及患者的不良预后密切相关。通过免疫卡控点抗体阻断其发挥免疫抑制功能的信号, 被认为是目前最有发展前景、最具临床治疗价值的肿瘤免疫治疗策略之一。迄今为止, 靶向 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 的免疫卡控点单抗在不同类型实体肿瘤的临床试验中均显示出了卓越疗效^[21-23], 并且多个抗体已相继获美国 FDA 批准上市。尽管用抗体阻断免疫卡控点的策略取得了一定的治疗效果, 但也存在其局限性: 一方面, 肿瘤微环境中存在大量具有免疫抑制功能的细胞、因子, 在抑制性微环境的持续刺激下, 免疫卡控点的表达会持续性升高, 且这部分细胞多为衰竭 T 细胞, 应用阻断型抗体只能使其短暂复苏, 并不能产生持久的免疫应答^[5]; 另一方面, 免疫卡控点也是机体维持自身免疫稳态、避免正常组织免疫损伤

的机制之一,而长期应用阻断型抗体不可避免会打破机体免疫耐受状态,引起正常组织遭受免疫攻击。

随着基因编辑技术的迅速发展,通过基因敲除技术敲除表达于 T 细胞表面的负性调节分子从而逆转免疫耐受,被认为是使 T 细胞维持较持久活力状态的良好策略^[24]。笔者团队首次建立用 CRISPR-Cas9 基因编辑体系敲除患者外周血 T 细胞免疫卡控点 PD-1 分子的技术,解决了活化 T 细胞伴随的免疫卡控点上调而失能的问题,该研究^[25-26]成果发表在《Nature》子刊《Scientific Reports》和《Onco-Immunology》上,并已开展相关临床试验,引起国内外同行的广泛关注。

除了免疫卡控点可影响细胞活力,不同 T 细胞亚群寿命也不尽相同。T 细胞根据其分化程度分为初始 T 细胞(naive T cell, T_n)、效应 T 细胞(effector T cell, T_e)和记忆 T 细胞(memory T cell, T_m)。虽然 T_e 是发挥抗肿瘤免疫应答的主要 T 细胞亚群,但是由于处于细胞分化终末阶段, T_e 寿命短, 90% ~ 95% 的 T 细胞在免疫应答后 1 ~ 2 周内发生凋亡,而仅有 5% ~ 10% 的细胞存活下来并分化成 T_m。相对于 T_e, T_m 寿命长,即使没有抗原和 MHC 分子的刺激,仍可存活数年甚至数十年,并且在再次接受相同抗原刺激后, T_m 可迅速活化,再次介导增强的免疫应答反应^[27]。临床研究^[28]表明,在接受 TIL 治疗的患者中,肿瘤缩小和回输的 TIL 在体内存活时间具有显著的相关性。与第一代 CAR-T 相比,引入共刺激分子 4-1BB 的第二代 CAR-T 在体内可扩增 1 000 倍以上,而且在血液和骨髓中的存活时间超过了 6 个月, T 细胞回输体内后的扩增与持续存在,是 CAR-T 治疗临床获益重要因素之一。因此,提高过继性回输的免疫细胞中记忆性细胞亚群的比例,是维持持久免疫应答的重要措施之一,细胞培养过程中加入 IL-12、IL-15,或提供 T 细胞活化的共刺激信号 CD27、4-1BB 等均可不同程度提高记忆细胞亚群的比例,增强免疫细胞活力。

3 免疫细胞趋化与浸润

实体瘤免疫治疗能够发挥临床疗效的前提是免疫细胞能够有效趋化并进入到原发灶及转移灶深部。在趋化因子与受体的相互作用下,免疫细胞通过与血管内皮细胞黏附、穿透而进入肿瘤组织中。然而,肿瘤组织血管结构功能缺陷且富含细胞外基质,犹如坚实的壁垒使免疫细胞难以有效浸润。除此之外,肿瘤组织中黏附分子表达下调、趋化因子及其受体表达失调、肿瘤细胞表面抗原表达缺失以及

局部免疫抑制微环境等因素也限制了免疫细胞在肿瘤组织中的聚集,回输体内的 T 细胞,仅有 2% 能真正浸润到肿瘤实质,而这远远低于 T 细胞发挥免疫毒性的有效细胞数量。

促进免疫细胞向肿瘤组织趋化与浸润的方法主要有:(1) 2015 年发表在《Sci Trans Med》的一项 CAR-T 治疗间皮瘤的临床前研究^[29]中,对比了细胞胸膜腔回输与传统静脉回输两种方式,结果表明,胸膜腔局部回输能使细胞更快速有效地到达肿瘤部位,产生更持久的抗肿瘤免疫反应;(2) 将趋化因子受体如 CXCR2、CCR2b 转染进效应 T 细胞,使高表达趋化因子受体的 T 细胞能有效地顺趋化因子浓度梯度迁移至肿瘤组织局部;(3) 将乙酰肝素酶(heparanase, HPSE)基因转染进 T 细胞, T 细胞需要在自身分泌的基质降解酶如 HPSE 的作用下降解基底膜和 ECM 中的主要成分硫酸乙酰肝素蛋白多糖(heparan sulfate proteoglycans, HSPGs),从而进入肿瘤组织的深部,而 T 细胞的活化往往伴随 HPSE 分泌量的下调。因此,将 HPSE 基因转染进 T 细胞,使活化的 T 细胞能正常分泌 HPSE,可以促进其向肿瘤组织中浸润;(4) 调控肿瘤免疫抑制性微环境,通过基因转染的方式,利用 T 细胞分泌 IL-12、IL-7 等具有免疫调控作用的细胞因子,抑制调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)和骨髓来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)的功能,与免疫卡控点阻断剂、肿瘤疫苗等治疗策略联合使用,均可改善肿瘤组织局部免疫抑制性微环境,提高效应 T 细胞在肿瘤组织中的数量。除此之外,放疗被认为可以从多方面提高 T 细胞在肿瘤组织中的浸润数量。有研究^[30]显示,放疗作用于肿瘤免疫微环境,一方面可以引起肿瘤细胞免疫介导性死亡(immune-mediated cell death, ICD),通过活化免疫细胞,打破肿瘤免疫耐受状态;另一方面可促进肿瘤血管正常化,使效应 T 细胞更易向肿瘤实质浸润。此外,放疗还可以引起 CCR2、CCL2、CXCR6、CXCL16 等细胞趋化因子释放增加以及抗原表位暴露,促进效应性 T 细胞向肿瘤组织趋化^[31]。笔者团队在前期的小鼠模型研究^[26]中也证实,仅 2 Gy 的临床照射剂量就可以明显促进 T 淋巴细胞向肿瘤趋化,增强过继性细胞治疗的疗效。

4 有效的临床治疗模式及评价标准

肿瘤免疫微环境错综复杂,单一治疗方式往往难以取得预期的临床疗效。为使临床效应最大化,不同免疫疗法的联合,免疫治疗与传统的放化疗、靶向治

疗相联合,可能起到 $1+1>2$ 的效果,是未来肿瘤治疗的发展方向。由于 CTLA-4 作用于 T 细胞活化的初期阶段,而 PD-1/PD-L1 作用于组织和肿瘤内的 T 细胞活化的后期阶段,因此 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 的联合阻断可以显示出更强的抗肿瘤效应。这一推测在临床研究^[30]中也得到了证实:一项 II 期临床研究评估了 PD-1 单抗 Nivolumab 与 CTLA-4 单抗伊匹单抗 (Ipilimumab) 联合治疗晚期黑色素瘤的疗效与安全性,结果表明,联合治疗组的 2 年生存率为 63.8%,相对于单药治疗提高 10%。Sawada 等^[32]临床前研究表明,肽疫苗联合 PD-1 单抗可以增加抗原肽特异性 T 细胞在肿瘤组织内的浸润,降低 TIM 表面抑制性分子的表达水平,从而提高肽疫苗的治疗效果。多项免疫治疗与化疗联合应用的临床试验^[24]也陆续开展,一项 Ipilimumab 联合紫杉醇/卡铂一线治疗 IIIb/IV 期非小细胞肺癌 (NSCLC) 的随机双盲多中心 II 期临床试验中,Ipilimumab 序贯化疗可有效改善 irPFS 和 PFS,而且鳞癌患者优于非鳞癌患者。2012 年,Hiinker 等^[33]研究发现,晚期恶性黑色素瘤患者使用 CTLA-4 的 Ipilimumab 期间出现了 PD,联合胸部放疗后,多处转移灶出现缩小,甚至达到 CR;监测患者血液学指标,发现其外周血中 APC 数量较放疗前明显升高,而 MDSC 较前降低。局部放疗与卡控点免疫治疗间的协同作用,共同诱发了全身抗肿瘤免疫反应。Linuma 等^[34]研究报告,在一项肽疫苗联合放疗的研究中,所有的 11 例食管癌患者均有针对 5 条肽中至少 1 条的肽特异性 CTL 应答,经过 8 次免疫治疗后 6 名患者获得 CR (55%),并且在之后继续肽疫苗治疗的 4 例 CR 患者中,CR 可以持续长达 2.0~4.6 年,这充分说明了肽疫苗联合放疗的有效性。但是,对于放疗联合免疫治疗的最佳时期、放疗的分割模式尚无统一论。目前普遍认为,联合免疫治疗,大剂量的分割模式优于常规分割模式。此类问题尚需更多的临床研究提供依据。虽然免疫治疗与多种疗法都有协同效应,但是,如何在最大程度提高协同抗肿瘤效应的基础上降低不良反应,仍需进一步深入研究。

肿瘤的免疫治疗起效慢,作用时间相对持久^[35-36],因此免疫治疗的评价不宜简单套用现有的针对细胞毒化疗药物而设立的 WHO 或 RECIST 标准^[37-38]。Wolchok 等^[37]在 WHO 标准的基础上,提出免疫相关疗效评价标准 (immune related response criteria, irRC)。相对于现有的 WHO 标准,irRC 标准将可测量的新发病灶计入总肿瘤负荷并与基线肿瘤负荷进行比较,肿瘤总负荷定义为所有病灶两个最大垂直直径乘积之和,包括新病灶。此外对肿瘤

直径的测量从原先的每个器官 5 个可测量病灶增加到每个内脏器官 10 个病灶或 5 个皮肤病灶。在评价时间点的选择上,irRC 标准需要间隔不少于 4 周的 2 个连续观察点进行重复确认。在 PD-1 抗体治疗恶性黑色素瘤的临床试验^[38]中发现,常规 RECIST v1.1 低估了约 15% 的从 Pembrolizumab 治疗过程获益的患者,通过修改治疗疗效评价标准,使患者在 RECIST v1.1 标准诊断为进展时的治疗得以继续,从而预防 RECIST v1.1 治疗的过早终止。因此,这一评价标准使能更加客观真实地了解免疫治疗的治疗效果,让更多的患者从免疫治疗中获益。

5 结 语

实体肿瘤免疫治疗领域极具发展前景,同时,挑战与机遇并存。结合目前免疫治疗领域最新的临床试验和基础研究成果,以肿瘤特异性突变产生的新抗原为基础的个体化免疫治疗模式是未来实体瘤中免疫治疗的主要发展方向,而提高免疫细胞活力、增加免疫细胞肿瘤组织浸润数量对于改善目前实体瘤免疫治疗现状起着举足轻重的作用。此外,鉴于肿瘤复杂的免疫抑制性微环境,以新抗原为基础的免疫治疗,通过与免疫卡控点抑制剂、基因编辑技术及与传统的放疗、化疗、分子靶向治疗等的有效联合,可以进一步增加免疫治疗疗效,发挥更佳的协同抗肿瘤作用。

致谢:该文稿反映了笔者团队的集体思维,特别感谢张志茹和丁乃清博士对该文稿的有益贡献。

[参 考 文 献]

- [1] HOUOT R, SCHULTZ L M, MARABELLE A, et al. T-cell-based immunotherapy: adoptive cell transfer and checkpoint inhibition [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(10): 1115-1122. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0190.
- [2] KHALIL D N, SMITH E L, BRENTJENS R J, et al. The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016 13(5): 273-290. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.25.
- [3] PAPAIOANNOU N E, BENIATA O V, VITSOS P, et al. Harnessing the immune system to improve cancer therapy [J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(14): 261-268. DOI: 10.21037/atm.2016.04.01.
- [4] ANSELL S M. Nivolumab in the treatment of hodgkin lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2017 23(7): 1623-1626. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1387.
- [5] ANDERSON K G, STROMNES I M, GREENBERG P D. Obstacles posed by the tumor microenvironment to t cell activity: a case for synergistic therapies [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(3): 311-325. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.02.008.

- [6] WANG R F, WANG H Y. Immune targets and neoantigens for cancer immunotherapy and precision medicine[J]. *Cell Res*, 2017, 27(1): 11-37. DOI: 10.1038/cr.2016.155.
- [7] SCHUMACHER T N, SCHREIBER R D. Neoantigens in cancer immunotherapy[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 69-74. DOI: 10.1126/science.aaa4971.
- [8] JR S C, PETRONI G R, CHIANESEBULLOCK K A, et al. Immunologic and clinical outcomes of a randomized phase II trial of two multipeptide vaccines for melanoma in the adjuvant setting [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(21): 6386-6395. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0486.
- [9] ODUNSI K, QIAN F, MATSUZAKI J, et al. Vaccination with an NY-ESO-1 peptide of HLA class I/II specificities induces integrated humoral and T cell responses in ovarian cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(31): 12837-12842. DOI: 10.1073/pnas.0703342104.
- [10] VALMORI D, SOULEIMANIAN N E, TOSELLO V, et al. Vaccination with NY-ESO-1 protein and CpG in montanide induces integrated antibody/Th1 responses and CD8 T cells through cross-priming[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(21): 8947-8952. DOI: 10.1073/pnas.0703395104.
- [11] ROBBINS P F, MORGAN R A, FELDMAN S A, 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. DOI: 10.1200/JCO.2010.32.2537.
- [12] TRAN E, ROBBINS P F, ROSENBERG S A. Final common pathway of human cancer immunotherapy: targeting random somatic mutations[J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(3): 255-262. DOI: 10.1038/ni.3682.
- [13] RIZVI N A, HELLMANN M D, SNYDER A, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 124-128. DOI: 10.1126/science.aaa1348.
- [14] GUBIN M M, ZHANG X L, SCHUSTER H, et al. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens[J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 577-581. DOI: 10.1038/nature13988.
- [15] HAMID O, ROBERT C, DAUD A, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(2): 134-144. DOI: 10.1056/NEJMoa1305133.
- [16] TOPALIAN S L, HODI F S, BRAHMER J R, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(26): 2443-2454. DOI: 10.1056/NEJMoa1200690.
- [17] BRAHMER J R, TYKODI S S, CHOW L Q M, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(26): 2455-2465. DOI: 10.1056/NEJMoa1200694.
- [18] HINRICHS C S, ROSENBERG S A. Exploiting the curative potential of adoptive T-cell therapy for cancer[J]. *Immunol Rev*, 2014, 257(1): 56-71. DOI: 10.1111/imr.12132.
- [19] SAITO H, KURODA H, MATSUNAGA T, et al. Increased PD-1 expression on CD4⁺ and CD8⁺ T cells is involved in immune evasion in gastric cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2013, 107(5): 517-522. DOI: 10.1002/jso.23281.
- [20] LU B, CHEN L, LIU L, et al. T-cell-mediated tumor immune surveillance and expression of B7 co-inhibitory molecules in cancers of the upper gastrointestinal tract[J]. *Immunol Res*, 2011, 50(2/3): 269-275. DOI: 10.1007/s12026-011-8227-9.
- [21] WEBER J S, D'ANGELO S P, MINOR D, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(4): 375-384. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70076-8.
- [22] LE D T, URAM J N, WANG H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26): 2509-2520. DOI: 10.1056/NEJMoa1500596.
- [23] LARKIN J, CHIARION-SILENI V, GONZALEZ R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(1): 23-34. DOI: 10.1056/NEJMc1509660.
- [24] LLOYD A, VICKERY O N, LAUGEL B. Beyond the antigen receptor: editing the genome of T-cells for cancer adoptive cellular therapies [J/OL]. *Front Immunol*, 2013, 4: 221[2017-03-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3733021/>. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00221.
- [25] SU S, HU B, SHAO J, et al. CRISPR-Cas 9 mediated efficient PD-1 disruption on human primary T cells from cancer patients [J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40272[2017-03-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5244626/>. DOI: 10.1038/srep40272.
- [26] SU S, ZOU Z, CHEN F, et al. CRISPR-Cas 9-mediated disruption of PD-1 on human T cells for adoptive cellular therapies of EBV positive gastric cancer [J/OL]. *Onc Immunology*, 2016, 6(1): e1249558[2017-03-17]. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2016.1249558>. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1249558.
- [27] MASOPUST D, KAECH S M, WHERRY E J, et al. The role of programming in memory T-cell development[J]. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16(2): 217-225. DOI: 10.1016/j.coi.2004.02.005.
- [28] ROBBINS P F, DUDLEY M E, WUNDERLICH J, et al. Cutting edge: persistence of transferred lymphocyte clonotypes correlates with cancer regression in patients receiving cell transfer therapy [J]. *J Immunol*, 2004, 173(12): 7125-7130.
- [29] KLUG F, PRAKASH H, HUBER P E, et al. Low-dose irradiation programs macrophage differentiation to an iNOS⁺/M1 phenotype that orchestrates effective T cell immunotherapy[J]. *Cancer Cell*, 2013, 24(5): 589-602. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.09.014.
- [30] MATSUMURA S, WANG B M, KAWASHIMA N, et al. Radiation-induced CXCL16 release by breast cancer cells attracts effector T cells[J]. *J Immunol*, 2008, 181(5): 3099-3107.
- [31] SAWADA Y U, YOSHIKAWA T, SHIMOMURA M, et al. Pro-

- grammed death-1 blockade enhances the antitumor effects of peptide vaccine-induced peptide-specific cytotoxic T lymphocytes[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(1): 28-36. DOI: 10.3892/ijo.2014.2737.
- [32] LYNCH T J, BONDARENKO I, LUFT A, et al. Ipilimumab in combination with paclitaxel and carboplatin as first-line treatment in stage III B/IV non-small-cell lung cancer: results from a randomized, double-blind, multicenter phase II study[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(17): 2046-2054. DOI: 10.1200/JCO.2011.38.4032.
- [33] HINIKER S M, CHEN D S, KNOX S J. Abscopal effect in a patient with melanoma[J/OL]. *N Engl J Med*, 2012, 366(21): 2035 [2017-03-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22621637>. DOI: 10.1056/NEJMc1203984#SA1.
- [34] IINUMA H, FUKUSHIMA R, INABA T, et al. Phase I clinical study of multiple epitope peptide vaccine combined with chemoradiation therapy in esophageal cancer patients[J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 84 [2017-03-17]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4234129/>. DOI: 10.1186/1479-5876-12-84.
- [35] HOOS A, EGGERMONT A M, JANETZKI S, et al. Improved endpoints for cancer immunotherapy trials[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102(18): 1388-1397. DOI: 10.1093/jnci/djq310.
- [37] WOLCHOK J D, HOOS A, O'DAY S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(23): 7412-7420. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1624.
- [38] EISENHAUER E A, THERASSE P, BOGAERTS J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (Version 1.1)[J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(2): 228-247. DOI: 10.1016/j.ejca.2008.10.026.
- [收稿日期] 2017-04-25 [修回日期] 2017-05-05
[本文编辑] 王映红

· 读者 · 作者 · 编者 ·

常见参考文献著录格式示例

1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(1版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [1] ABRAMS W B, BEERS M H, BERKOW R. 默克老年病手册[M]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[文献类型标志]/专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [1] WEINSTEIN L, SWARTZ M N. Pathogenic properties of invading microorganisms[M]/SODERMAN W A Jr, SODEMAN W A. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页. 数字对象唯一标识符.

- [1] NOBLES K N, GUAN Z, XIAO K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and-2[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(29): 21370-21381. DOI: 10.1074/jbc.M611483200.

4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期.

- [1] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞(PIK)、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839[P]. 2010-10-14.

5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[文献类型标志]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [1] 曹新广. Cathepsin L和Cystatin B的表达与大肠癌生物学行为的关系[D]. 郑州, 郑州大学, 2007.

6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页(更新或修改日期)[引用日期]. 获取和访问路径. 数字对象唯一标识符.

- [1] KALOS M, LEVINE B L, PORTER D L, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2011, 3: 95ra73 [2016-06-08]. <http://stm.sciencemag.org/content/3/95/95ra73.long>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002842.
- [2] HOPKINSON A. UNIMARC and metadata: Dublin core[EB/OL]. [1999-12-08]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.