

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.05.001

· 专家论坛 ·

EGFRvIII与成胶质细胞瘤的免疫治疗

武俊超, 鲁迪^Δ, 韩双印(郑州大学人民医院 河南省肾脏病免疫重点实验室, 河南 郑州 450003)

[摘要] 表皮生长因子受体III型突变体(epidermal growth factor receptor variant III, EGFRvIII)是EGFR最常见的突变体,在30%成胶质细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)中表达。EGFRvIII源于外显子2~7的缺失导致了受体的组成性激活,与肿瘤的发生、发展和不良预后密切相关。EGFRvIII独特的甘氨酸位点为靶向治疗提供了理想的分子靶点,针对EGFRvIII的免疫治疗策略在杀灭GBM细胞、抑制进展和侵袭等方面有着巨大的潜在价值,多肽/DC疫苗、治疗性抗体、小分子抑制剂、过继细胞免疫治疗等在实验室和临床都取得了令人鼓舞的结果,本文对EGFRvIII的特点及GBM免疫治疗的研究进展予以评述。

[关键词] 表皮生长因子受体III型突变体;成胶质细胞瘤;免疫治疗

[中图分类号] R739.41; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)05-0441-06

EGFRvIII and immunotherapy of glioblastoma multiforme

WU Junchao, LU Di^Δ, HAN Shuangyin (Key Laboratory of Kidney Disease Immunization in Henan Province, People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, Henan, China)

[Abstract] EGFRvIII (epidermal growth factor receptor variant III) is the most common mutant of epidermal growth factor receptor, which expresses in over 30% glioblastoma multiforme (GBM). EGFRvIII results from deletion of exon 2-7, leading to its constitutive activation, which is closely related to tumorigenesis, development and poor prognosis of GBM. The unique glycine site on EGFRvIII provides ideal molecular target for immunotherapy, which possess great potential value of killing GBM cell, inhibiting progress and invasion. Encouraging progress has been achieved in peptide/DC vaccine, therapeutic antibody, small molecular inhibitor and adoptive immunotherapy experimentally and clinically. The characteristics of EGFRvIII and the development in its oriented immunotherapy were summarized in this review.

[Key words] epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII); glioblastoma multiforme; immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(5): 441-446. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.05.001]



韩双印, 郑州大学人民医院主任医师、博士生导师。2001年日本东北大学医学院获得博士学位,2001-2006年美国斯坦福大学、Kimmel癌症中心完成博士后研究。河南省跨世纪学术技术带头人,河南省肿瘤生物治疗学会副主任委员。《中国肿瘤生物治疗杂志》、《中华实用诊断与治疗杂志》等编委。从事分子

肿瘤学、肿瘤免疫治疗基础与临床研究20余年,近年主要从事基因修饰T细胞肿瘤免疫治疗研究,发表SCI论文30余篇,包括 *Cancer Res*、*Oncogene*、*PNAS*、*JBC*、*J Hemat & Oncol* 等国际主流期刊。主持国家自然科学基金4项、省部级科研课题2项。

成胶质细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)是中枢神经系最常见的恶性肿瘤,由于生长迅速、侵袭性强,导致预后差、致死率高。近年分子肿瘤学的发展,不但揭示了GBM难治性的机制,也为治疗提供了新思路^[1]。表皮生长因子受体III型突变体

(epidermal growth factor receptor variant III, EGFRvIII)是在GBM中首先发现的癌基因,其高发性、特异性和致癌性,自问世以来备受关注,相关的疫苗、抗体、小分子抑制剂以及过继免疫治疗等策略在国内外深入研究,展示出良好的应用前景,为GBM治疗带来了曙光^[2]。本文就EGFRvIII的结构特征、肿瘤组织表达、致癌机制及其免疫治疗的新进展予以评述。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81372405, No. 81772670)。Project supported by the Natural Science Foundation of China (No.81372405, No.81772670)

[作者简介] 武俊超(1992-),男,硕士生,主要从事肿瘤免疫治疗临床研究, E-mail: 443951182@qq.com; 鲁迪(1986-),男,博士,主要从事肿瘤免疫治疗基础研究, E-mail: ludigraduate@163.com。Δ为共同第一作者

[通信作者] 韩双印(HAN Shuangyin, corresponding author), E-mail: hansyzzu@163.com

1 EGFRvIII结构特征与表达

EGFR是正常上皮组织细胞生长的关键调节因子,EGFR信号失调(包括在细胞表面过表达、自分泌激活和EGFR基因突变)是多种人类上皮恶性肿瘤的幕后推手^[3]。EGFR在细胞表面过表达往往伴随着基因扩增和/或突变,尽管EGFR突变有多种形式,但最常见的突变是EGFRvIII(也称de2-7 EGFR或ΔEGFR),占有EGFR突变体的67%。EGFRvIII是由外显子2~7缺失(801 bp,267个氨基酸),导致外显子1和8融合,并于融合处产生了一个新的甘氨酸残基且读码框架不变^[4](图1),以上改变在细胞膜外形成了一个抗原决定簇,产生了一个特异性肿瘤细胞表面标志物。EGFRvIII的相对分子质量约145 000,缺失了EGFR胞外段的大部分配体结合区,导致该突变体不能结合任何已知配体,但是可以发生自体磷酸化,组成性激活酪氨酸激酶,诱发下游一系列信号转导,导致细胞的恶性转化^[5]。

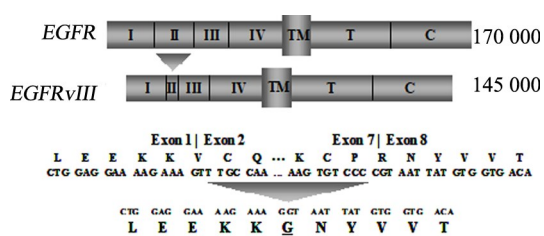


图1 EGFRvIII分子结构示意图^[4]

EGFRvIII是1992年WONG等^[6]用探针Southern印迹检测EGFR基因扩增和重排时发现的,这种胞外段缺失后融合形成的突变在众多的后续研究中被验证。COMINELLI等^[7]通过逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)和免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检测70例新诊断GBM患者,发现EGFRvIII阳性为19%。一项87例新诊断成年GBM患者中分析EGFRvIII表达和EGFR基因扩增,表达率为45%,且其表达对生存是一个独立重要的消极预后因素^[8]。EGFRvIII阳性胶质瘤并非所有细胞均有表达,一个II期多中心试验将表达EGFRvIII的细胞比例≥10%定义为阳性标准,用IHC对617例GBM患者进行检测,阳性患者比例为26%,实验结果提示EGFRvIII表达与预后显著相关^[9]。EGFRvIII在GBM中总的表达率为25%~64%^[10],EGFRvIII在GBM中的表达几乎总是关联着扩增和野生型EGFR基因的联合表达。此外,EGFRvIII在很多肿瘤中也有特异性表达,比如乳腺癌(78%)、卵巢癌(75%)、头颈部鳞状细胞癌(42%)和非小细胞肺癌(39%)等^[11-12]。尽管EGFRvIII在其他类型肿瘤中已被

检测,但是这些数据仍然是初步的,因为数据多是单个研究、一种检测方法得出,未来希望用更可靠的方法在mRNA和蛋白水平检测EGFRvIII,以得到确凿的数据。

用于EGFRvIII检测的方法包括RT-PCR、IHC和Western blotting等,需要强调的是EGFRvIII蛋白水平和转录水平之间的相关性很差。有研究^[13]发现,EGFRvIII转录阳性的肿瘤中,有高达63%检测不到突变蛋白。因此,为了真实评价EGFRvIII在mRNA水平和蛋白水平的表达,联合两种技术是很有必要的,比如RT-PCR和IHC分析或流式细胞术。

2 EGFRvIII的致癌机制

EGFRvIII产生配体非依赖性的组成性激活,该过程是低水平、持续性的,可导致下游信号通路持续转导,进而产生促进细胞增殖、减少细胞凋亡并增加血管生成的作用^[14]。EGFR的信号转导通路主要有:Ras/Raf/MEK/ERK/MAPK通路、PI3K/PDK1/Akt(PKB)通路、PLC-γ通路和JAK/STAT通路^[15]。尽管上述几条通路均可被EGFRvIII激活,但优先激活PI3K/Akt信号通路及其下游靶点,包括雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、FOX转录因子家族以及核糖体S6激酶等^[16]。在EGFRvIII阳性头颈部鳞状细胞癌中,PI3K/Akt的活化可以促进肿瘤细胞的增殖,但不诱导转移和浸润,后者由STAT3通路介导^[17]。另一方面,EGFRvIII通过二聚化与受体酪氨酸激酶相互作用产生信号放大效应^[18]。cMET/肝细胞生长因子受体(hepatocyte growth factor receptor, HGFR)是一种在GBM中高表达的致瘤性受体酪氨酸激酶,EGFRvIII能够与之形成异二聚体,增强细胞对生长因子配体的应答效应,从而促进肿瘤的发生发展^[19]。

除上述致癌机制之外,EGFRvIII还通过以下几种机制促肿瘤发生:(1)旁分泌机制,EGFRvIII⁺ GBM细胞分泌IL-6和白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)介导相邻细胞激活gp130,促进GBM细胞的生长^[20];(2)癌小体(oncosomes),EGFRvIII⁺ GBM细胞产生的具有生物活性、磷酸化和致癌能力的EGFRvIII蛋白储存于癌小体中,介导细胞间的相互作用,促进肿瘤的生长、侵袭、耐药和血管生成^[21];(3)抑瘤素M受体(oncostatin-M receptor, OSMR),OSMR通过结合相应的细胞因子而发挥生物学作用,是GBM生长的关键调节因子,其能够编排EGFRvIII和STAT3的前反馈信号转导机制以驱动肿瘤发生^[22];(4)成胶质细胞瘤干细胞(glioblastoma stem cells, GSC),EGFRvIII⁺ GSC作为肿瘤永存能力的核心在GBM复发方

面起关键作用。

3 基于EGFRvIII的胶质瘤免疫治疗

3.1 EGFRvIII疫苗

疫苗是GBM患者术后一种新的辅助治疗方式,能够克服免疫抑制状态,增强抗肿瘤免疫反应。针对EGFRvIII融合位点的多肽疫苗rindopepimut(又称PEPvIII-KLH,CDX-110)是GBM免疫治疗最大的进展之一,能够激活机体免疫系统产生体液和细胞免疫反应,阻止肿瘤的增殖、转移和复发,故获得了美国FDA快速批准。

Rindopepimut是PEPvIII与免疫佐剂钥孔血蓝蛋白(keyhole limpet hemocyanin, KLH)偶合形成的14肽疫苗,前者有高免疫原性,后者协助激活体液和细胞免疫反应。近年来,rindopepimut的临床试验取得很大进展,I期试验“VICTORI”中,12例新诊断GBM患者耐受良好、毒性极小,中位PFS为10.2个月,中位OS为22.8个月^[23]。此后进行了多个II期临床试验,II期试验“ACTIVATE”中18例新诊断EGFRvIII⁺GBM患者接种rindopepimut,阳性反应率为43%,中位PFS和OS分别为14.2和24.6个月,4例在研究结束后仍存活^[24]。在可以获得病理组织的患者中,82%失去了所有EGFRvIII表达,2例复发肿瘤之一显示EGFRvIII阳性细胞数仅为原来的1%。另一项II期试验“ACT II”中,22例接种rindopepimut的EGFRvIII⁺GBM患者中位PFS和OS分别为15.3和24.4个月^[25]。II期多中心试验“ACT III”中,在65例新诊断EGFRvIII⁺GBM患者中应用rindopepimut加GM-CSF腹腔股沟皮内注射(第0、14、28天接受疫苗注射,此后疫苗每月递送、与替莫唑胺方案同时进行),中位PFS和OS分别为12.3和24.6个月^[9]。由于II期试验的阳性结果,启动了随机、双盲、III期“ACT IV”试验,700多例新诊断EGFRvIII⁺GBM患者随机分入rindopepimut+替莫唑胺组和KLH+替莫唑胺组。期中分析表明rindopepimut治疗组与对照组的OS无差异(20.4 vs 21.1个月),由于认为研究可能无法达到主要终点,有必要进行分组和后续研究,以更好了解rindopepimut在未来GBM治疗中的作用,2016年3月试验停止^[26]。总体而言,rindopepimut肽疫苗通过诱导强烈的EGFRvIII特异性体液应答,延长患者生存期和延迟肿瘤进展时间,显示出良好的GBM治疗前景。

DC是专门的抗原提呈细胞,是先天免疫和获得免疫之间最重要的一个环节。有研究^[27]表明,EGFRvIII多肽激活的DC治疗异种移植小鼠模型,能够显著延长OS。HEIMBERGER等^[28]用PEPvIII-KLH脉冲的DC疫苗免疫小鼠,然后在颅内移植EGFRvIII阳性黑色素

瘤细胞,8只接种疫苗小鼠中5只中位OS延长600%,随后的肿瘤再激发试验中,所有小鼠均存活,提示PEPvIII-KLH脉冲的DC接种能够诱导持久的抗肿瘤免疫反应。SAMPSON等^[23]在I期试验中将PEPvIII-KLH脉冲的DC疫苗用于新诊断GBM患者引发了抗肿瘤免疫反应,证实了其安全性与有效性。次年在II期试验中将PEPvIII-KLH脉冲的DC疫苗用于18例新诊断EGFRvIII⁺GBM患者,接种后6个月PFS率为67%,中位OS为26.0个月,未出现有症状的自体免疫反应^[24]。

3.2 EGFRvIII治疗性抗体

抗体作为分子靶向治疗药物一直是肿瘤免疫治疗研究的热点之一。EGFRvIII中独特的甘氨酸位点为发展EGFRvIII特异性单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)提供了机会,已知的特异性单抗和治疗性抗体有mAb806、ABT-414、AMG-595、MR1-1、mAb139等,基于这些抗体的单链抗体、嵌合抗体、微小抗体、人源化抗体、药物偶联抗体和双特异性抗体等在临床前研究中取得了可喜的抗肿瘤作用,部分已进入临床试验。

mAb806是鼠源EGFRvIII特异性抗体,能够透过血脑屏障并积聚在GBM组织中,在抑制EGFRvIII⁺GBM细胞系的生长中表现出优越的性能^[29]。ABT806是其人源化改造后的抗体,I期试验(NCT01255657)在EGFR和EGFRvIII阳性49例晚期GBM患者中测试了安全性和药代动力学,ABT806对EGFRvIII阳性GBM的治疗作用堪比西妥昔单抗(cetuximab)对EGFR阳性肿瘤的治疗作用。ABT-414是基于mAb806构建的抗体-微管蛋白抑制剂,I期试验患者中测试了44例GBM患者,完成的数据显示:2例PR、18例SD、24例PD,6个月的PFS率为30%^[30]。目前正在进行随机研究以确定在新诊断和复发GBM中的功效。MR1是从噬菌体展示文库中分离的EGFRvIII单链可变区(single chain variable fragment, scFv),后来通过随机突变法又获得了具有增强的亲和力和细胞毒活性的scFv(命名MR1-1),后者和MR1识别相同的EGFRvIII表位,亲和力增加15倍、内化能力增加5倍^[31]。一项I期临床研究(NCT01009866)确定MR1-1在恶性脑肿瘤患者脑内传播时的最大耐受剂量和剂量限制性毒性。AMG595是靶向EGFRvIII的抗体偶联药物,HAMBLETT等^[32]发现AMG595在体外可介导EGFRvIII⁺GBM细胞被杀伤,还可抑制裸鼠皮下和原位GMB异种移植肿瘤的生长。正在进行的临床试验(NCT01475006)评估AMG595在EGFRvIII阳性复发胶质瘤患者中的安全性、耐受性和药代动力学。抗体治疗存在的问题是系统给药时抗体在肿瘤组织中的递送和积累。另外,它也不能诱导免疫记忆。

EGFRvIII双特异性抗体称为双特异性T细胞衔接器(bispecific T-cell engager, BiTE),是由2个不同的scFv重组构成,旨在将T细胞和肿瘤细胞特异性结合,其分子量小、穿透性好、免疫源性低。CHOI等^[33]发现,靶向EGFRvIII的BiTE能够在体外诱导EGFRvIII阳性胶质瘤的特异性裂解,系统性输注EGFRvIII BiTE可以提高脑内EGFRvIII⁺GBM小鼠的存活率,并达75%以上的持续CR。肿瘤浸润性的调节性T细胞(T regulatory cell, Treg)可以建立重度免疫抑制状态,并通过颗粒酶和穿孔素抑制和杀死免疫细胞。为了研究Treg是否具有使用相似机制杀死肿瘤细胞的能力,研究者构建了靶向EGFRvIII和Treg的BiTE,发现BiTE介导Treg活化后不仅提升了表达颗粒酶和穿孔素水平,还可以重定向有效的杀死EGFRvIII⁺GBM细胞^[34]。

3.3 EGFRvIII小分子抑制剂

EGFR-酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI)能够阻断EGFR介导的增殖和抗凋亡信号通路,抑制肿瘤细胞的增殖。由于血脑屏障以及与信号转导方面的问题^[35],第一代和第二代的EGFR-TKI未能在GBM中取得显著疗效。第三代EGFR-TKI AZD9291对EGFRvIII有高亲和力并且能抑制HER2,动物实验表明AZD9291具有良好的脑渗透性,脑组织中比血浆中高5~25倍。因此,AZD9291是一种可用于EGFRvIII⁺GBM患者的EGFR-TKI。

AZD9291的临床前研究采用裸鼠模型(NCI 01B74):EGFRvIII⁺GSC和人源EGFRvIII⁺GBM异种移植模型(patient-derived glioblastoma xenograft, PDGX)。VAN BROCKLYN等^[36]正在测试AZD9291抑制不同激酶激活水平阻止EGFRvIII⁺GSC的生长能力,之后将会在PDGX中进一步测试。鉴于AZD9291在人类中的安全性已经被证明,如果AZD9291能够延长EGFRvIII阳性PDGX的存活时间,下一步则开展I期和II期临床试验。尽管目前研究尚未完成,但是AZD9291对EGFRvIII高亲和力和良好的脑渗透性,是GBM较为理想的TKI,期待安全性、有效性的进一步证实。

3.4 嵌合抗原受体修饰T细胞(CAR-T)

CAR是将肿瘤特异性抗原的scFv与T细胞受体(T cell receptor, TCR)的信号转导域结合,从而获得抗体的特异性识别能力和T淋巴细胞的细胞毒性作用。通过基因转导将CAR引入T细胞(CAR-T),使其具有靶向杀伤作用^[37]。CAR-T细胞免疫治疗在血液肿瘤取得了令人鼓舞的治疗作用,靶向EGFRvIII治疗GBM也在积极探索。

OHNO等^[38]基于EGFRvIII单抗3C10设计了第一代EGFRvIII CAR(3C10/CD3 ζ),CAR-T细胞能够浸润颅

内胶质瘤、延缓免疫缺陷小鼠的肿瘤生长。笔者课题组构建的第二代EGFRvIII CAR-T(EGFRvIII scFv-ICOS-CD3 ζ)细胞,体外试验表现出肿瘤特异性杀伤、抗原依赖性释放IFN- γ 增加,异种移植裸鼠模型静脉注射CAR-T细胞3周后肿瘤体积开始减小^[39]。MORGAN等^[40]根据人源EGFRvIII mAb139构建了第三代EGFRvIII CAR,而且能识别EGFRvIII⁺GSC,基于该CAR构建的CAR-T细胞体外试验不攻击野生型EGFR阳性细胞系,并且能够在保持抗肿瘤活性的同时大量扩增。鉴于免疫缺陷小鼠的局限性,不能够准确反映肿瘤患者免疫状态,有研究者^[41]使用免疫活性小鼠建立颅内肿瘤模型,经过淋巴细胞耗竭预处理,颅内注射第三代EGFRvIII CAR-T细胞,观察到抗肿瘤作用和生存期的延长。

EGFRvIII CAR-T临床试验也在进行之中。最近有学者^[42]公布了首个I期临床试验结果,一个人源化EGFRvIII scFv构建的第三代CAR-慢病毒法转染自体T细胞,治疗10例复发EGFRvIII⁺GBM患者,7例患者细胞输注后进行手术,证实了CAR-T细胞的肿瘤浸润,5例EGFRvIII表达下降,1例SD长达18个月。该研究证实了静脉输注后细胞对脑肿瘤浸润的可行性,同时也发现肿瘤微环境中免疫抑制分子和Treg的增多,为今后的研究提供了线索。另2个未完成的临床试验(NCT01454596, NCT02209376)尚在进行之中。总的来说,EGFRvIII CAR-T细胞在GBM治疗方面显示出了巨大的潜力,研究者正在设计新的方案以提高有效性和安全性,尤其是针对胶质瘤的分子异质性、血脑屏障和局部免疫抑制微环境。

4 结语

免疫治疗将GBM的治疗推进了一大步,其肿瘤特异性杀伤尤其适合浸润性生长的GBM,靶向EGFRvIII的各种免疫治疗策略在PSF、OS等方面展示出令人鼓舞的结果。虽然对新型免疫治疗的研究还在继续,预计多模式联合治疗将可有效地提高GBM治疗效果。研究者们正在以下方面寻找进一步的突破:(1)GBM分子异质性是治疗复发的原因之一,应用下一代测序技术鉴定新的潜在抗原表位,多表位疫苗接种可能会有效地消灭肿瘤异质性和抗原丢失造成的复发;(2)免疫抑制微环境也是影响疗效的重要因素,借助单克隆抗体、免疫检测点抑制剂,多模式治疗有望加强GBM免疫治疗的效果^[43-44];(3)肿瘤发生是在多个水平上破坏多种信号转导途径的结果,很难指望一个通路的一个靶点能产生持久的临床效果,针对GBM不同方面的多靶点组合免疫治疗可能会产生好的结局。总之,免疫治疗策略需通过了解GBM的整

体遗传景观和个体肿瘤分子特征来进行个体化治疗,以实现特异、持久的抗肿瘤效果。

[参考文献]

- [1] LUDWIG K. Molecular markers in glioma[J]. *J Neurooncol*, 2017, 134(3): 505-512. DOI: 10.1007/s11060-017-2379-y.
- [2] YANG J, YAN J. Targeting EGFRvIII for glioblastoma multiforme [J/OL]. *Cancer Lett*, 2017, 403: 224-230[2017-12-22]. [http://www.cancerletters.info/article/S0304-3835\(17\)30406-8/fulltext](http://www.cancerletters.info/article/S0304-3835(17)30406-8/fulltext). DOI: 10.1016/j.canlet.2017.06.024.
- [3] SIGISMUND S, AVANZATO D. Emerging functions of the EGFR in cancer[J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(1): 3-20. DOI: 10.1002/1878-0261.12155.
- [4] FELSBURG J, HENTSCHEL B, KAULICH K, et al. Epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII) positivity in EGFR-amplified glioblastomas: prognostic role and comparison between primary and recurrent tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(22): 6846-6855. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0890.
- [5] WEE P. Epidermal growth factor receptor cell proliferation signaling pathways[J/OL]. *Cancers(Basel)*, 2017, 9(5). pii: E52[2017-12-22]. <http://www.mdpi.com/2072-6694/9/5/52>. DOI: 10.3390/cancers9050052.
- [6] WONG A J, RUPPERT J M, BIGNER S H, et al. Structural alterations of the epidermal growth factor receptor gene in human gliomas [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992, 89(7): 2965-2969.
- [7] COMINELLI M, GRISANTI S, MAZZOLENI S, et al. EGFR amplified and overexpressing glioblastomas and association with better response to adjuvant metronomic temozolomide[J/OL]. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107(5). pii: djv041[2017-12-22]. <http://academic.oup.com/jnci/article/107/5/adjvo41/891259>. DOI:10.1093/jnci/djv041.
- [8] ALDAPE K D, BALLMAN K, FURTH A, et al. Immunohistochemical detection of EGFRvIII in high malignancy grade astrocytomas and evaluation of prognostic significance[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004, 63(7): 700-707. DOI: 10.1093/jnen/63.7.700.
- [9] SCHUSTER J, LAI R K, RECHT L D, et al. A phase II, multicenter trial of rindopepimut (CDX-110) in newly diagnosed glioblastoma: the ACT III study[J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17(6): 854-861. DOI:10.1093/neuonc/nou348.
- [10] GAN H K, CVRLJEVIC A N. The epidermal growth factor receptor variant III (EGFRvIII): where wild things are altered[J]. *FEBS J*, 2013, 280(21): 5350-5370. DOI: 10.1111/febs.12393.
- [11] HEGI M E, RAJAKANNU P. Epidermal growth factor receptor: a re-emerging target in glioblastoma[J]. *Curr Opin Neurol*, 2012, 25(6): 774-779. DOI: 10.1097/WCO.0b013e328359b0bc.
- [12] VILLA G R. Old player, new partner: EGFRvIII and cytokine receptor signaling in glioblastoma[J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(6): 765-767. DOI: 10.1038/nn.4302.
- [13] FELDKAMP M M, LALA P, LAU N, et al. Expression of activated epidermal growth factor receptors, Ras-guanosine triphosphate, and mitogen-activated protein kinase in human glioblastoma multiforme specimens[J]. *Neurosurgery*, 1999, 45(6): 1442-1453. DOI: 10.1097/00006123-199912000-00034.
- [14] CHEN R, PAN Y, Gutmann D H. The power of the few[J]. *Genes Dev*, 2017, 31(12): 1177-1179. DOI: 10.1101/gad.303453.117.
- [15] SEBASTIAN S, SETTLEMAN J, RESHKIN S J, et al. The complexity of targeting EGFR signalling in cancer: from expression to turnover[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1766(1): 120-139. DOI: 10.1016/j.bbcan.2006.06.001.
- [16] LI B, YUAN M, KIM I A, et al. Mutant epidermal growth factor receptor displays increased signaling through the phosphatidylinositol-3 kinase/AKT pathway and promotes radioresistance in cells of astrocytic origin[J]. *Oncogene*, 2004, 23(26): 4594-4602. DOI: 10.1038/sj.onc.1207602.
- [17] SILVA-OLIVEIRA R J, MELENDEZ M, MARTINHO O, et al. AKT can modulate the in vitro response of HNSCC cells to irreversible EGFR inhibitors[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(32): 53288-53301. DOI: 10.18632/oncotarget.18395.
- [18] GREENALL S A, DONOGHUE J F, GOTTARDO N G, et al. Glioma-specific domain IV EGFR cysteine mutations promote ligand-induced covalent receptor dimerization and display enhanced sensitivity to dacomitinib in vivo[J]. *Oncogene*, 2015, 34(13): 1658-1666. DOI: 10.1038/onc.2014.106.
- [19] GREENALL S A, DONOGHUE J F, VAN SINDEREN M, et al. EGFRvIII-mediated transactivation of receptor tyrosine kinases in glioma: mechanism and therapeutic implications[J]. *Oncogene*, 2015, 34(41): 5277-5287. DOI: 10.1038/onc.2014.448.
- [20] INDA M M, BONAVIA R, MUKASA A, et al. Tumor heterogeneity is an active process maintained by a mutant EGFR-induced cytokine circuit in glioblastoma[J]. *Genes Dev*, 2010, 24(16): 1731-1745. DOI: 10.1101/gad.1890510.
- [21] D'ASTI E, CHENNAKRISHNAIAH S, LEE T H, et al. Extracellular vesicles in brain tumor progression[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2016, 36(3): 383-407. DOI: 10.1007/s10571-015-0296-1.
- [22] JAHANI-ASL A, YIN H, SOLEIMANI V D, et al. Control of glioblastoma tumorigenesis by feed-forward cytokine signaling[J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(6): 798-806. DOI: 10.1038/nn.4295.
- [23] SAMPSON J H, ARCHER G E, MITCHELL D A, et al. An epidermal growth factor receptor variant III-targeted vaccine is safe and immunogenic in patients with glioblastoma multiforme[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(10): 2773-2779. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0124.
- [24] SAMPSON J H, HEIMBERGER A B, ARCHER G E, et al. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(31): 4722-4729. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.6963.
- [25] GATSON N T, WEATHERS S P. ReACT Phase II trial: a critical evaluation of the use of rindopepimut plus bevacizumab to treat EGFRvIII-positive recurrent glioblastoma[J]. *CNS Oncol*, 2016, 5(1): 11-26. DOI: 10.2217/cns.15.38.
- [26] WELLER M, BUTOWSKI N, TRAN D D, et al. Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(10): 1373-1385. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30517-X.
- [27] CHISTIakov D A, CHEKHONIN I V, GURINA O I, et al. Approaches to improve efficiency of dendritic cell-based therapy of high grade gliomas[J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(37): 5738-5751. DOI: 10.2174/1381612822666160719110618.
- [28] HEIMBERGER A B, ARCHER G E, CROTTY L E, et al. Dendritic

- cells pulsed with a tumor-specific peptide induce long-lasting immunity and are effective against murine intracerebral melanoma[J]. *Neurosurgery*, 2002, 50(1): 158-164. DOI: 10.1097/00006123-200201000-00024.
- [29] REILLY E B, PHILLIPS A C, BUCHANAN F G, et al. Characterization of ABT-806, a humanized tumor-specific anti-EGFR monoclonal antibody[J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(5): 1141-1151. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0820.
- [30] REARDON D A, LASSMAN A B, VAN DEN BENT M, et al. Efficacy and safety results of ABT-414 in combination with radiation and temozolomide in newly diagnosed glioblastoma[J]. *Neuro Oncol*, 2017, 19(7): 965-975. DOI: 10.1093/neuonc/now257.
- [31] BEERS R, CHOWDHURY P, BIGNER D. Immunotoxins with increased activity against epidermal growth factor receptor vIII-expressing cells produced by antibody phage display[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(7): 2835-2843.
- [32] HAMBLETT K J, KOZLOSKY C J, SIU S, et al. AMG-595, an anti-EGFRvIII antibody-drug conjugate, induces potent antitumor activity against EGFRvIII-expressing glioblastoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(7): 1614-1624. DOI: 10.1158/1535-7163.
- [33] CHOI B D, KUAN C T, CAI M, et al. Systemic administration of a bispecific antibody targeting EGFRvIII successfully treats intracerebral glioma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(1): 270-275. DOI: 10.1073/pnas.1219817110.
- [34] HOI B D, GEDEON P C, SANCHEZ-PEREZ L, et al. Regulatory T cells are redirected to kill glioblastoma by an EGFRvIII-targeted bispecific antibody[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(12): e26757[2017-12-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3891636/>. DOI:10.4161/onci.26757.
- [35] SNUDERL M, FAZLOLLAHI L, LE L P, et al. Mosaic amplification of multiple receptor tyrosine kinase genes in glioblastoma[J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(6): 810-817. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.11.005.
- [36] VAN BROCKLYN J R, WOJTON J, MEISEN W H, et al. Aurora-A inhibition offers a novel therapy effective against intracranial glioblastoma[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(19): 5364-5370. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0386.
- [37] 郭振红, 曹雪涛. 肿瘤免疫细胞治疗的现状及展望[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2016, 23(2): 149-160. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.001.
- [38] OHNO M, NATSUME A, ICHIRO IWAMI K, et al. Retrovirally engineered T-cell-based immunotherapy targeting type III variant epidermal growth factor receptor, a glioma-associated antigen[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(12): 2518-2524. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01734.x.
- [39] SHEN C J, YANG Y X, HAN E Q, et al. Chimeric antigen receptor containing ICOS signaling domain mediates specific and efficient antitumor effect of T cells against EGFRvIII expressing glioma[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2013, 6: 33[2017-12-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3658918/>. DOI: 10.1186/1756-8722-6-33.
- [40] MORGAN R A, JOHNSON L A, DAVIS J L, et al. Recognition of glioma stem cells by genetically modified T cells targeting EGFRvIII and development of adoptive cell therapy for glioma[J]. *Hum Gene Ther*, 2012, 23(10): 1043-1053. DOI: 10.1089/hum.2012.041.
- [41] CHOI B D, SURYADEVARA C M, GEDEON P C, et al. Intracerebral delivery of a third generation EGFRvIII-specific chimeric antigen receptor is efficacious against human glioma[J]. *J Clin Neurosci*, 2014, 21(1): 189-190. DOI: 10.1016/j.jocn.2013.03.012.
- [42] O'ROURKE D M, NASRALLAH M P, DESAI A, et al. A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(399). pii: eaaa0984[2017-12-22]. <http://stm.sciencemag.org/content/9/399/ea0984.short>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa0984.
- [43] 姚超, 钱程. CAR-T细胞在肿瘤治疗中的机遇与挑战[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(1): 6-11. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.01.003.
- [44] 黄岚, 张毅. 瘤微环境中T细胞功能障碍及其逆转策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(11): 1247-1253. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.11.001.

[收稿日期] 2018-02-25

[修回日期] 2018-03-20

[本文编辑] 黄静怡