

## 新兴免疫检查点靶点的研究进展

### Research progress on emerging immune check-point targets

邱春燕 综述;张火俊 审阅(中国人民解放军海军军医大学附属长海医院 放疗科,上海 200433)

**[摘要]** 免疫检查点通过双信号机制调控肿瘤微环境中最主要的免疫细胞——T淋巴细胞的免疫应答活性而发挥作用。这些分子主要分为两类,一类是免疫球蛋白(immune globulin, Ig)超家族,另一类是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)配体/受体对。随着研究的深入,新的免疫检查点靶点不断涌现,其中,CD40、CD27、4-1BB、OX40及VISTA等在实体瘤治疗中具有良好前景。负向免疫检查点(negative checkpoint regulators, NCRs)也逐渐受到重视,更多新兴免疫检查点分子正在临床试验阶段,低反应率及耐药性是靶点研究的瓶颈。本文就免疫检查点靶点的特点、部分研究中的免疫检查点新靶点、新兴免疫检查点靶点研究前景与挑战等热点问题作一综述。

**[关键词]** 免疫检查点;肿瘤坏死因子配体/受体超家族;细胞毒性T淋巴细胞抗原-4;程序性死亡受体1/程序性死亡配体1

**[中图分类号]** R392.1; R967 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)06-0733-04

近20年来,肿瘤免疫治疗的研究不断深入,已成为继手术、化疗、放疗、靶向治疗以外一项重要的抗肿瘤治疗方式,尤其在免疫检查点抑制剂方面的研究,更是取得了不小的成果。

细胞毒性T淋巴细胞抗原-4(cytotoxic T lymphocyte antigen-4, CTLA-4)主要由活化的T细胞表达,是1987年发现的第一个免疫检查点受体<sup>[1]</sup>。抗CTLA-4单克隆抗体——ipilimumab(伊匹单抗)和tremelimumab(替西木单抗)是首次进入肿瘤学临床试验的免疫检查点阻断药物<sup>[2]</sup>。III期临床试验的结果显示,ipilimumab可使既往接受过治疗或未曾接受治疗的转移性黑色素瘤患者的总生存期均明显延长,因而在2011年被美国FDA批准用于不可切除的和转移性黑色素瘤的一线治疗<sup>[3-4]</sup>。

程序性死亡受体1/程序性死亡配体1(programmed death 1/programmed death-ligand 1, PD-1/PD-L1)是近年来肿瘤免疫疗法中的另一个热点。虽然PD-1及CTLA-4都属于共刺激受体B7/CD28家族,但他们在分子结构和分布上不尽相同<sup>[5]</sup>。在晚期黑色素瘤、非小细胞肺癌和肾细胞癌的临床试验中,抗PD-1/抗PD-L1,如nivolumab(纳武单抗)、pembrolizumab(派姆单抗),durvalumab和atezolizumab(阿特朱单抗)等已取得良好的药物反应率和反应持久度<sup>[6-8]</sup>。就此FDA已批准nivolumab用于治疗黑色素瘤、非小细胞肺癌和肾细胞癌<sup>[9]</sup>,而pembrolizumab用于治疗黑色素瘤和非小细胞肺癌<sup>[10]</sup>。

尽管关于CTLA-4和PD-1/PD-L1的研究近年来取得重大进展,然而这仅仅是肿瘤免疫应答中免疫

检查点靶点的冰山一角。而目前尚有大量的研究正在寻找有治疗意义的免疫检查点、抑制途径或共刺激分子,以期发现作为单一疗法或组合疗法的潜在治疗靶标。本文就此对新兴免疫检查点靶点相关问题作一综述。

#### 1 免疫检查点靶点的特点

肿瘤微环境中常被不同类型的免疫细胞浸润,作为其中最主要的免疫细胞,T淋巴细胞无论是CD8<sup>+</sup>细胞毒性T淋巴细胞或CD4<sup>+</sup>T细胞都具有重要意义<sup>[11]</sup>。众所周知,T细胞参与的细胞免疫具有特异性、记忆性和适应性,其适应性表现为不仅能够适应肿瘤异质性,而且能够适应由复发性肿瘤表达的新抗原。T细胞活性所表现的这些重要特征为T细胞抗肿瘤的 strategy 带来了巨大的优势<sup>[12]</sup>。淋巴细胞激活需要的“双信号”理论提示激活T细胞需要两种信号刺激:(1)T淋巴细胞受体(TCR)识别抗原肽/主要组织相容性复合物(MHC);(2)通过在抗原提呈细胞(APC)表达的共信号分子与其T细胞表达的受体之间的相互作用诱导的抗原非依赖性共刺激。在发现

**[基金项目]** 中国健康促进基金会重点资助项目(No. THC 2015001)。Project supported by the Key Project of the Health Promotion Foundation of China (No. THC2015001)

**[作者简介]** 邱春燕(1990-),博士,医师,主要从事肿瘤临床放射治疗及肿瘤学基础研究,E-mail: guhe315@163.com

**[通信作者]** 张火俊(ZHANG Huojun, corresponding author),副教授,副主任医师,硕士生导师,主要从事恶性肿瘤的立体定向精准放疗、介入治疗及肿瘤的综合影像诊断,E-mail: chyyzjh@163.com

共刺激分子之后,负共刺激(即共抑制)分子也被发现。当TCR接合而缺乏第二共刺激分子时,通常发生T细胞无能或凋亡<sup>[13]</sup>。同时,提供共抑制信号的受体起到免疫检查点的作用,并在维持外周耐受和阻止自身免疫方面发挥决定性作用<sup>[14]</sup>。这些共刺激分子和共抑制分子分为两类:一类是免疫球蛋白(im-mune globulin, Ig)超家族进一步分类为B7/CD28, CD2 / SLAM, TIM 或 CD226 亚家族成员;另一类是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)配体/受体对,通常包含促凋亡的TNF、FasL 和 TRAIL,以及几种主要的免疫共刺激分子,如 CD40/CD40L、CD27L、4-1BBL 和 OX40/OX40L 等。

## 2 免疫检查点新靶点

尽管免疫检查点抑制剂已成为肿瘤免疫治疗的支柱,但在实体瘤治疗中仍面临耐药性和治疗毒性等诸多障碍<sup>[15]</sup>。在这种情况下,开发新的免疫检查点靶点迫在眉睫,因此将更多地关注在实体瘤治疗的临床试验中能显示治疗潜力的免疫检查点新靶点。

肿瘤坏死因子受体超家族(TNFRs)是细胞凋亡和免疫的重要调节分子,他们尤其在T细胞和APC之间相互作用中发挥关键作用。虽然TNFRs一部分表达在T细胞表面并直接影响T细胞免疫应答。但他们也可以通过激活APC、诱导炎症和固有免疫或通过淋巴组织来间接影响T细胞免疫应答<sup>[16]</sup>。

共刺激分子CD40是TNFRs的成员。它在各种APCs上广泛表达,包括树突细胞(DC)、B细胞、巨噬细胞和单核细胞,以及一些肿瘤细胞上亦可见其表达<sup>[17]</sup>。该分子通过直接抗肿瘤效应、增强适应性免疫、激活固有免疫机制发挥抗癌作用<sup>[18]</sup>。在联合吉西他滨治疗胰腺癌的研究中,CD40激动剂也显示出具有提高肿瘤化疗敏感性的能力<sup>[19]</sup>。在实体恶性肿瘤治疗中,CD40激动剂已初显功效,尤其是对于转移性黑色素瘤的治疗<sup>[20]</sup>,然而仍有许多患者治疗无效,其中的机制还需进一步研究。

另一个TNFRs成员CD27仅在淋巴细胞系中表达,即T细胞、B细胞和NK细胞及他们在人体中的前体细胞。CD27/CD70共刺激系统在免疫调节中起重要作用,其中涉及其对T细胞活化和克隆扩增、效应性和记忆性T细胞分化、效应性T细胞存活及T细胞记忆形成<sup>[16]</sup>。最近,抗CD27单抗varlilumab首次在人体内进行的I期临床试验<sup>[21]</sup>结果显示,varlilumab作为单一疗法治疗晚期恶性实体瘤具有良好的安全性及生物学活性,其临床应用价值还待临床试验进一步验证。

1989年筛选鼠类T细胞系新受体时发现的4-

1BB(CD137/TNFRSF9),现被认为是一种活化诱导的共刺激受体,广泛表达在活化的免疫效应细胞以及先天性免疫细胞群,能调控不同的免疫细胞亚群的功能<sup>[22]</sup>。4-1BB介导肿瘤消退的机制主要在于能诱导有效的细胞毒性T细胞群,使其可以渗透和裂解肿瘤,以及增强由人NK细胞介导的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。尽管4-1BB在癌症治疗中显示出显著效果<sup>[23]</sup>,但也具有较严重的毒副作用,如对CD4<sup>+</sup>T细胞、B细胞、NK细胞和NKT细胞的抑制,升高IFN-g水平,脾肿大、淋巴结病、肝肿大、多发性肝炎、血小板减少症和贫血等<sup>[24]</sup>。

OX40也是属于肿瘤坏死因子受体超家族的50 kD糖蛋白,其唯一已知的配体OX40L(CD252)通常表达在活化的APC上。在一项I期临床试验中,使用小鼠单克隆抗体激活OX40治疗晚期癌症患者,用一个疗程的抗OX40mAb治疗显示出可耐受的毒性,并且在30位患者中的12位中至少有一个转移性病变消退。从机制上看,该治疗增强了T和B细胞对抗原免疫的反应,导致在肿瘤浸润淋巴细胞中CD4(+)FoxP3(+)调节性T细胞上OX40的优先上调,并增强了黑色素瘤患者T和B细胞的抗肿瘤反应性,研究结果在临床上验证了OX40作为治疗癌症的强效免疫刺激靶点的作用<sup>[25]</sup>。

自从抗CTLA-4和抗PD-1/PD-L1在临床试验中获得巨大成功以来,负向免疫检查点(negative check-point regulators, NCRs)逐渐受到重视。新近发现的NCRs之一是广泛表达在小鼠和人类髓样细胞群和T细胞上的VISTA,其是包含单个N-末端免疫球蛋白V结构域的I型穿膜蛋白。一系列研究<sup>[26-27]</sup>已经证实VISTA既能作为配体也能作为受体而诱导T细胞抑制性信号。VISTA具有的独特功能表明它可能不仅有利于单一治疗,而且拥有与其他共抑制或共刺激分子进行组合治疗的潜力,更多的临床证据尚待临床试验结果<sup>[28]</sup>。表1列举了部分免疫检查点新靶点正在进行的临床试验。

## 3 新靶点的研究前景与挑战

### 3.1 前景:新免疫检查点的开发

利用细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTLs)释放强有力的抗肿瘤免疫应答已然取得巨大进展,在这样的背景下,T细胞上表面的配体或受体很有希望成为新的免疫检查点靶标。目前发现的免疫检查点仅仅是冰山一角,而更多潜在的免疫检查点靶标还尚待进一步开发。有研究<sup>[29]</sup>首次成功建立了一种快速高通量的siRNA筛选系统,可以全面鉴定人类癌细胞上抑制CTL介导的肿瘤细胞破

坏的配体。CCR9便是其中的这样一种配体,实验验证结果表明其对多种肿瘤微环境中的T细胞免疫应答发挥强烈的免疫调节作用。这种方法为研究者提

供了更多更全面的有关各种肿瘤免疫抑制环境中的免疫调节分子的知识。

表1 部分进行中有关新兴免疫检查点靶点的临床试验

免疫检查点	抑制剂	时期	适应证	状态	注册号
SLAMF7	Elotuzumab	III期	多发性骨髓瘤	启动,未招募	NCT01239797
IDO-1	Epacadostat (INCB024360)	III期	黑色素瘤	招募中	NCT02752074
KIR	Lirilumab	II期	白血病	招募中	NCT02399917
LAG-3	IMP321	II期	乳腺癌	招募中	NCT02614833
4-1BB	Urelumab	I期	恶性胶质瘤	招募中	NCT02658981
CD40	ADC-1013	I期	实体瘤	招募中	NCT02379741
OX40	MEDI6469	I期	结直肠癌	招募中	NCT02559024
TIM-3	TSR-022	I期	实体瘤	招募中	NCT02817633
B7-H3	MGD009	I期	间皮瘤等	招募中	NCT02628535
GITR	TRX518	I期	黑色素瘤等	招募中	NCT01239134
VISTA	CA-170	I期	进展期实体瘤或淋巴瘤	招募中	NCT02812875
CD27	Varlilumab	I/II期	实体瘤	招募中	NCT02335918
ICOS	MEDI-570	I期	淋巴瘤	招募中	NCT02520791

\*临床试验状态为文稿提交当天所统计(来源 <http://www.clinicaltrials.gov>)

### 3.2 瓶颈:低反应率及耐药性

虽然抗PD-1单克隆抗体被批准治疗NSCLC后得到了较满意的临床治疗效果,但经实际统计后发现只有20%~30%的患者对治疗有效<sup>[30]</sup>,而前述很多患者对CD40激动剂治疗无效<sup>[18]</sup>,可见低反应率是制约免疫检查点靶点应用的瓶颈。另一方面,在临床研究中,许多患者对以免疫检查点抑制剂为基础的单药治疗发生耐药,并出现肿瘤复发。研究<sup>[31]</sup>中发现,用pembrolizumab(抗-PD-1)治疗的黑色素瘤患者最初有70%~80%的临床反应率,而在第3年时仅为33%。这些问题的解决策略目前注重于优化患者筛选(即确定最有可能从治疗中受益的患者)以及深入理解耐药机制。前者促进了预测免疫检查点抑制剂疗效的生物标志物的开发<sup>[32]</sup>,后者使研究者更加关注免疫检查点靶点组合策略。

许多临床前和临床试验已经阐明了检查点靶点组合在调节免疫反应中发挥的作用,而研究者发现在T细胞上多个免疫检查点分子共表达,以及检查点分子的某些组合比其他组合更频繁地共表达,这些现象为组合策略奠定基础<sup>[33-34]</sup>。一般的组合策略是:负向免疫检查点抑制剂常与其他负向免疫检查点抑制剂结合,以增强免疫抑制效应的解除,或者与正向免疫检查点激动剂组合,而将激活信号传递给T细胞<sup>[28]</sup>。然而,鉴于许多免疫检查点受体具有不同的结合配体,且可能在多个方向上起作用,组合策略还应

考虑这些繁多的免疫检查点分子之间如何影响相互作用途径,因此对这些新兴免疫检查点的信号通路也还需深入探索<sup>[28]</sup>。

## 4 结语

随着PD-1/PD-L1抑制剂在临床治疗中显示出的巨大应用价值,免疫治疗在经过近几十年的发展后,现已备受瞩目,新的免疫检查点靶点也随着研究深入不断涌现,但与其良好的前景相伴的还有耐药性产生等发展瓶颈。因此,只有继续深入探索,才能最终使免疫治疗成为抵抗癌症的一大利器。

## [参考文献]

- [1] BRUNET J F, DENIZOT F, LUCIANI M F, et al. A new member of the immunoglobulin superfamily--CTLA-4[J]. *Nature*, 1987, 328 (6127): 267-270. DOI: 10.1038/328267a0.
- [2] HOOS A. Development of immuno-oncology drugs-from CTLA4 to PD1 to the next generations[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(4): 235-247. DOI: 10.1038/nrd.2015.35.
- [3] HODI F S, O'DAY SJ, MCDERMOTT DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(8): 711-723. DOI: 10.1056/NEJMoa1003466.
- [4] 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. DOI: 10.1056/NEJMoa1104621.
- [5] BUCHBINDER E I, DESAI A. CTLA-4 and PD-1 pathways: simi-



- larities, differences, and implications of their inhibition[J]. *Am J Clin Oncol*, 2016, 39(1): 98-106. DOI: 10.1097/COC.0000000000000239.
- [6] BRAHMER J, RECKAMP K L, BAAS P, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(2): 123-135. DOI: 10.1056/NEJMoa1504627.
- [7] MOTZER R J, RINI B I, MCDERMOTT D F, et al. Nivolumab for metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase II trial[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(13): 1430-1437. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.0703.
- [8] ROBERT C, SCHACHTER J, LONG G V, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26): 2521-2532. DOI: 10.1056/NEJMoa1503093.
- [9] HAZARIKA M, CHUK M K, THEORET M R, et al. U.S. FDA approval summary: nivolumab for treatment of unresectable or metastatic melanoma following progression on ipilimumab[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(14): 3484-3488. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0712.
- [10] BARONE A, HAZARIKA M, THEORET M R, et al. FDA approval summary: pembrolizumab for the treatment of patients with unresectable or metastatic melanoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(19): 5661-5665. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0664.
- [11] CARVALHO M I, PIRES I, PRADA J, et al. A role for T-lymphocytes in human breast cancer and in canine mammary tumors[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 130894. DOI: 10.1155/2014/130894.
- [12] SHARMA P, ALLISON J P. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential[J]. *Cell*, 2015, 161(2): 205-214. DOI: 10.1016/j.cell.2015.03.030.
- [13] APPLEMAN L J, BOUSSIOTIS VA. T cell anergy and costimulation [J]. *Immunol Rev*, 2003, 192: 161-180. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2003.00009.x.
- [14] BARDHAN K, ANAGNOSTOU T, BOUSSIOTIS VA. The PD1: PD-L1 / 2 pathway from discovery to clinical implementation[J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 550. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00550.
- [15] ZHAO X, SUBRAMANIAN S. Intrinsic resistance of solid tumors to immune checkpoint blockade therapy[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(4): 817-822. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2379.
- [16] VAN DE VEN K, BORST J. Targeting the T-cell co-stimulatory CD27/CD70 pathway in cancer immunotherapy: rationale and potential[J]. *Immunotherapy*, 2015, 7(6): 655-667. DOI: 10.2217/imt.15.32.
- [17] HASSAN S B, SORENSEN J F, OLSEN B N, et al. Anti-CD40-mediated cancer immunotherapy: an update of recent and ongoing clinical trials[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2014, 36(2): 96-104. DOI: 10.3109/08923973.2014.890626.
- [18] BEATTY G L, LI Y, LONG K B. Cancer immunotherapy: activating innate and adaptive immunity through CD40 agonists[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2017, 17(2): 175-186. DOI: 10.1080/14737140.2017.1270208.
- [19] BEATTY G L, TORIGIAN D A, CHIOREAN E G, et al. A phase I study of an agonist CD40 monoclonal antibody (CP-870, 893) in combination with gemcitabine in patients with advanced pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(22): 6286-6295. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1320.
- [20] VONDERHEIDE R H, FLAHERTY K T, 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. DOI: 10.1200/JCO.2006.08.3311.
- [21] BURRIS H A, INFANTE J R, ANSELL S M, 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. DOI: 10.1200/JCO.2016.70.1508.
- [22] KWON BS, WEISSMAN SM. cDNA sequences of two inducible T-cell genes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86(6): 1963-1967. DOI: 10.1073/pnas.86.6.1963.
- [23] CROFT M. Co-stimulatory members of the TNFR family: keys to effective T-cell immunity?[J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(8): 609-620. DOI: 10.1038/nri1148.
- [24] NIU L, STRAHOTIN S, HEWES B, et al. Cytokine-mediated disruption of lymphocyte trafficking, hemopoiesis, and induction of lymphopenia, anemia, and thrombocytopenia in anti-CD137-treated mice[J]. *J Immunol*, 2007, 178(7): 4194-4213. DOI: 10.4049/jimmunol.178.7.4194.
- [25] CURTI B D, KOVACSOVICS-BANKOWSKI M, MORRIS N, et al. OX40 is a potent immune-stimulating target in late-stage cancer patients[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(24): 7189-7198. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4174.
- [26] LINES J L, PANTAZI E, MAK J, et al. VISTA is an immune checkpoint molecule for human T cells[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(7): 1924-1932. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1504.
- [27] FLIES D B, HIGUCHI T, CHEN L. Mechanistic assessment of pd-1h coinhibitory receptor-induced t cell tolerance to allogeneic antigens[J]. *J Immunol*, 2015, 194(11): 5294-5304. DOI: 10.4049/jimmunol.1402648.
- [28] NOWAK E C, LINES J L, VARN F S, et al. Immunoregulatory functions of VISTA[J]. *Immunol Rev*, 2017, 276(1): 66-79. DOI: 10.1111/imr.12525.
- [29] KHANDELWAL N, BREINIG M, SPECK T, et al. A high-throughput RNAi screen for detection of immune-checkpoint molecules that mediate tumor resistance to cytotoxic T lymphocytes[J]. *EMBO Mol Med*, 2015, 7(4): 450-463. DOI: 10.15252/emmm.201404414.
- [30] HERBST R S, BAAS P, KIM D W, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2016, 387(10027): 1540-1550. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01281-7.
- [31] RIBAS A, HAMID O, DAUD A, et al. Association of pembrolizumab with tumor response and survival among patients with advanced melanoma[J]. *JAMA*, 2016, 315(15): 1600-1609. DOI: 10.1001/jama.2016.4059.
- [32] MENG X, HUANG Z, TENG F, et al. Predictive biomarkers in PD-1 / PD-L1 checkpoint blockade immunotherapy[J]. *Cancer Treat Rev*, 2015, 41(10): 868-876. DOI: 10.1016/j.ctrv.2015.11.001.
- [33] VILLARREAL D O, CHIN D, SMITH M A, et al. Combination GITR targeting/PD-1 blockade with vaccination drives robust antigen-specific antitumor immunity[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(24): 39117-39130. DOI: 10.18632/oncotarget.16605.
- [34] POSTOW M A, CHESNEY J, PAVLICK A C, et al. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(21): 2006-2017. DOI: 10.1056/NEJMoa1414428.
- [收稿日期] 2018-03-04 [修回日期] 2018-05-29
- [本文编辑] 韩丹, 阮芳铭