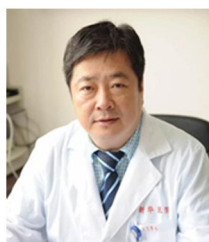


DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.10.001

· 专家论坛(专题) ·

结直肠癌免疫治疗的现状、挑战和出路

刘天池¹, 贾为国¹, 赵荣华¹, 崔龙²(1. Virogin Biotech Ltd., 408-3800 Wesbrook Mall, Vancouver, BC V6S 2L9, Canada; 2. 上海交通大学医学院附属新华医院 肛肠外科, 上海 200092)



崔龙, 博士、主任医师、教授、博士生导师, 上海交通大学医学院附属新华医院肛肠外科行政科主任。长期从事结直肠癌发生发展的分子与免疫机制、生物标志物、治疗新策略和新方法的研究。现任中国医师协会肛肠分会常务委员、副总干事和炎性肠病专业委员会主任委员, 中华中医药学会肛肠外科分会副会长、常务理事, 上海市结直肠肿瘤研究中心主任, 上海市医学会外科专业委员会结直肠肛门外科学组副组长, 《中国肿瘤生物治疗杂志》、《中华胃肠外科杂志》、《中华消化外科杂志》、《外科理论与实践杂志》等杂志编委。主持多项国家自然科学基金、科技部863计划的研究, 发表学术论文60余篇, 主编出版学术专著2部。获军队科技进步一、二等奖各1项, 三等奖2项; 发明专利2项。



贾为国, 1982年毕业于复旦大学生物学系, 1987年获加拿大Dalhousie大学神经生物学硕士学位, 1991年获加拿大英属哥伦比亚大学(University of British Columbia, UBC)博士学位, 先后在UBC和BC癌症中心从事博士后研究。现任UBC神经外科副教授, 并为加拿大Virogin Biotech公司的联合创始人和首席科学家。贾为国教授是首批使用重组人类HSV治疗癌症的科学家之一, 并首次发现溶瘤病毒可在免疫健全的动物体内选择性地杀伤肿瘤。其全球首创的转录翻译双重调控(transcriptional translation double regulation, TTDR)溶瘤病毒可高效、特异性地杀伤肿瘤。近年来在各类国际学术杂志发表117篇学术论文, 多次受邀参加各类国际学术会议。



赵荣华, 1986年毕业于第二军医大学军医系, 1994年研究生毕业, 获临床医学博士学位。曾经先后任职于第二军医大学附属长征医院普外科、上海三维生物技术有限公司医学部、美国Cleveland Clinic Florida结直肠外科、波多黎各大学癌症中心、加拿大萨斯卡切温大学附属医院外科。拥有10年以上抗肿瘤基础研究及转化医学研究经验; 曾领导了全球第一个溶瘤病毒抗肿瘤药物H101的临床研发, 该药于2005年获CFDA批准上市。现任加拿大Virogin Biotech公司首席医学官, 致力于溶瘤病毒临床前及临床研发。参编学术专著5部, 发表研究论文47篇。

[摘要] 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界范围内发病率第3位、病死率第4位的恶性肿瘤, 现有的临床治疗主要以传统的化疗、放疗、手术治疗和靶向治疗为主, 但这些方法对于出现复发或转移的患者的疗效欠佳。近期发展起来的免疫疗法在某些恶性肿瘤(如白血病、黑色素瘤和非小细胞肺癌)的临床试验中显示出较好的疗效, 相关的试验也在CRC中开展, 但除PD-1抑制剂在DNA错配修复系统缺陷型CRC中的效果显著外, 大部分的临床试验并未达到预期的效果。本文着重介绍CRC不同亚型的免疫表型, 总结现有CRC免疫疗法的相关进展, 并探讨目前免疫疗法治疗CRC疗效低下可能的原因, 在此基础上提出未来可能的解决途径和发展方向。

[关键词] 结直肠癌; 免疫疗法; 免疫检查点抑制剂; 免疫耐受; 溶瘤病毒

[中图分类号] R730.51; R735.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)10-0967-12

Immunotherapy for colorectal cancer: current status, challenges and solution

LIU Tianchi¹, JIA Weiguo¹, ZHAO Ronghua¹, CUI Long²(1. Virogin Biotech Ltd., 408-3800 Wesbrook Mall, Vancouver, BC V6S 2L9, Canada; 2. Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200092, China)

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81372636)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No.81372636)

[作者简介] 刘天池(1989-), 男, 博士, 主要从事肿瘤免疫治疗和肿瘤生物学研究, E-mail: tcliu@virogin.cn

[通信作者] 崔龙(CUI Long, corresponding author), E-mail: longcuidr@126.com; 贾为国(JIA Weiguo, co-corresponding author), E-mail: wjia@virogin.com; 赵荣华(ZHAO Ronghua, co-corresponding author), E-mail: rzha@virogin.com

[Abstract] Colorectal cancer (CRC) is the third most common malignancy and the fourth leading cause of cancer-related death all over the world. Traditional treatments, including chemotherapy, radiation therapy, surgery and targeted therapy, form the backbone of current treatment in various stages of CRC, but the efficacy in patients with recurrent or metastatic disease is extremely poor. Recently-developed immunotherapy is frequently used in various cancers with high malignancy, such as leukemia, melanoma and non-small-cell lung cancer, and achieves promising clinical outcomes. Immunotherapy has been also investigated in CRC, but the outcome is so disappointed in majority of patients, except the PD-1 inhibitor achieved excellent result in CRC with DNA mismatch repair system deficiency. In this review, the authors will mainly introduce the immunophenotype of different subtype of CRC and summarize current advances of clinical trials for CRC immunotherapy. The article will also discuss the reasons for the low efficacy of immunotherapeutic approaches in CRC and provide several potential directions for the future development of CRC immunotherapy.

[Key word] colorectal cancer; immunotherapy; immune checkpoint inhibitor; immune tolerance; oncolytic viruses

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(10): 967-978. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.10.001]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是临床上最常见的消化道肿瘤之一。2017年GLOBOCAN^[1](<http://globocan.iarc.fr/>)的最新统计数据显示,世界范围内CRC预计新增136万新发病例和69万死亡病例,在所有癌症中其发病率和病死率分别位于第3位和第4位;2017年中国CRC新发病例预计达到25万,死亡病例则为14万,是中国第5大癌症。CRC患者在确诊和后续治疗中超过一半容易发生复发或远处转移,尽管传统治疗方法可以适当延长这些患者的中位生存期,但仍急需发展新的治疗手段以改善CRC患者的生存状态。近年来,随着肿瘤免疫学的快速发展,肿瘤免疫疗法取得了重大突破,涉及治疗白血病的细胞免疫疗法、治疗黑色素瘤和非小细胞肺癌的免疫检查点抑制剂等的临床试验都展现出了较好的疗效,相关药物也已获得了上市许可^[2]。在CRC中,多种免疫疗法也开展了相关的临床试验,但大部分患者的应答效率都比较低。本文将重点介绍CRC各个亚型的免疫表型和现有CRC免疫疗法的相关进展,并讨论CRC可能的免疫耐受机制,提出未来潜在的发展方向。

1 CRC的免疫表型

CRC作为一种异质性疾病,在不同患者之间存在很大差异,比较不同亚型在基因组、表观基因组、转录组和免疫表型上的异同,将有助于人们更好地了解每一个亚型的生物学特征,为后续治疗方案和药物的选择提供更加精准的指导,取得更好的临床效果。

在基因组水平上,15%的CRC表现为微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI),这类患者由于DNA错配修复缺陷(deficient mismatch repair, dMMR),如MLH1、MSH2、MSH6和PMS2的异常,导致细胞修复DNA复制过程中出现的碱基错配的功能下降,基因组中容易积累高比例的突变,且CpG岛存在普遍的高甲基化,RNF43、ATM和BRAF等基因的突变

主要集中在该类亚型中;另一亚型,85%的CRC表现为染色体不稳定(chromosomal instability, CIN),这些患者的细胞在复制过程中容易出现整条染色体的缺失或增加、染色体片段的拷贝数变异和杂合性缺失等,且容易出现APC、P53和POLE等基因的突变(图1)^[3-4]。

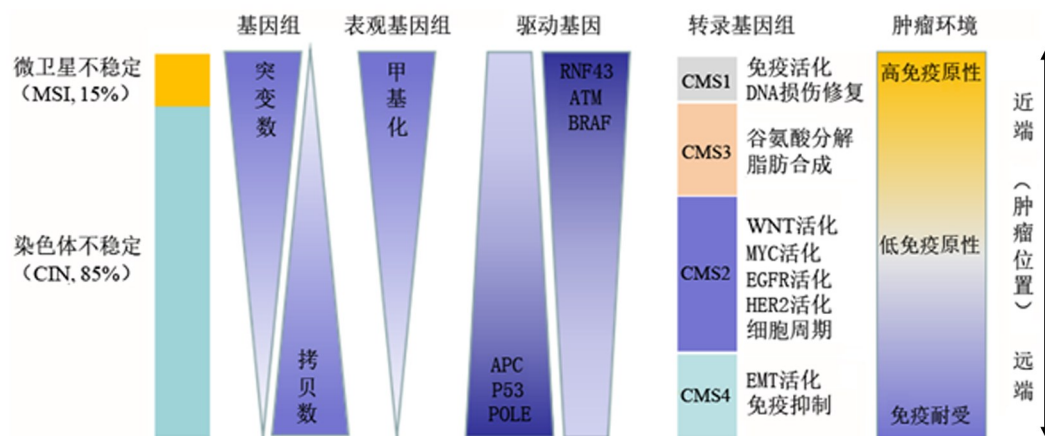
基因表达谱往往决定着细胞的表型和肿瘤的发展,因此被广泛用于鉴别癌症的亚类。在CRC中,通过转录组水平的基因表达,研究者^[3]建立了4个各具特征的共识分子分型(consensus molecular subtype, CMS)标准,分别为:(1)CMS1型,包含大部分的MSI型CRC,其肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)能够检测到高浓度的IFN- γ 、CXCL9和CXCL10等,并存在显著的CD8⁺/CD4⁺T细胞浸润,但这些细胞的功能被肿瘤细胞表达的各类免疫检查点蛋白(如CTLA-4、PD-1和PD-L1)和免疫微环境抑制因子(如IDO1)所抑制,整体表现出很高的免疫原性^[3];(2)CMS2经典型、CMS3代谢型和CMS4间质型3个亚类,主要分布在CIN型肿瘤中,其中CMS2的WNT和MYC信号通路通常发生上调,相关原癌基因如EGFR、HER2和细胞周期蛋白等的表达水平也经常提高;CMS3的异常通路主要涉及代谢重组,如谷氨酰胺分解通路和脂肪合成通路的活化,两者的TME都普遍缺乏肿瘤浸润淋巴细胞和免疫调节细胞因子,显示出较低的免疫原性;CMS4的活化信号通路则主要集中在上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)通路和干性相关通路,其可诱导TME的血管生成和间质浸润、增强肿瘤的侵袭转移能力,同时高表达免疫抑制因子TGF- β 、IL-10和IL-17等,并募集大量的调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)和髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)等免疫抑制细胞,共同维持一个免疫耐受的微环境,此类患者经常容易出现复发、远处转移和耐药等现象,是恶性程度最高的一个亚型(图1)^[3]。目前,CMS分型是对CRC异质性描述最清楚的系统,可能成

为未来临床运用中治疗方案选择的基础。

2 CRC的免疫疗法

近年来,肿瘤免疫学取得了快速的发展,人们对机体的抗肿瘤免疫应答通路和肿瘤的免疫逃逸机制有了更加深入的了解,在此推动下,肿瘤的免疫疗法也取得了重大的突破。肿瘤免疫疗法是运用免疫学

原理和方法,将免疫细胞或效应分子/免疫调节因子等输入宿主体内,以提高肿瘤细胞的免疫原性和对效应细胞杀伤的敏感性,激活和增强宿主机体的抗肿瘤免疫应答,达到抑制、杀伤肿瘤细胞的目的。现有的肿瘤免疫疗法主要包括癌症疫苗、细胞免疫疗法和免疫检查点抑制剂等,相关疗法在CRC中也已开展了多项临床试验。



(1) MSI型CRC存在着普遍的高突变和高甲基化,容易出现*RNF43*、*ATM*和*BRAF*等基因的突变,转录组水平上表现为CMS1型,具有高免疫原性,易发于结肠近端;(2) CIN型CRC存在较多拷贝数变异和杂合性缺失,容易出现*APC*、*P53*和*POLE*等基因的突变,可根据其基因表达谱分为CMS2经典型、CMS3代谢型和CMS4间质型,其中CMS2和CMS3的TME表现为低免疫原性,CMS4则为免疫耐受且易发于左侧结肠和直肠

图1 CRC亚型分类示意图(改编自DIENSTMANN等^[3])

2.1 癌症疫苗

与正常细胞相比,各类肿瘤细胞经常能够表达肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen,TAA)和肿瘤特异性抗原(tumor-specific antigen,TSA)。根据抗原回输的形式,癌症疫苗一般包括肿瘤细胞、DC、多肽/蛋白和病毒/DNA载体等^[5]。为开发有效的治疗性癌症疫苗,全球在近20年中对20多种癌症进行了400多项II/III期的临床试验,但目前经美国FDA批准上市的治疗性疫苗只有Provence公司用于治疗难治性前列腺癌的DC疫苗sipuleucle-T(2010年)^[6]。

在CRC中,也有几十种相关的癌症疫苗进入临床试验,其肿瘤抗原包括MUC1、CEA、肿瘤细胞和肿瘤裂解液等^[7](表1)。使用新城疫病毒(newcastle disease virus,NDV)感染肿瘤细胞后制成的疫苗,可使CRC患者的2年生存率达到97.9%^[8];DC经自体肿瘤细胞激活^[9]或通过编码MUC1和CEA的痘病毒修饰^[10]后,均可延长转移性CRC(metastatic CRC,mCRC)患者的存活时间;直接靶向TAA或TSA(如MUC1、CEA和Ras)的多肽类疫苗也在多个临床试验中进行验证^[11-12]。但这些疫苗试验大多数都还处于I期或II期,正在

开展的III期试验仅有OncoVax一项^[13](表1)。在这项试验中,研究者希望通过注射处理后的自体肿瘤细胞来激活患者的抗肿瘤免疫应答,防止肿瘤的复发,但也仅局限于II期结肠癌患者(表1)。此外,曹雪涛院士领衔的第二军医大学免疫学研究所发起了中国第一项DC治疗性疫苗——抗原致敏的人树突状细胞(antigen-pulsed human dendritic cell,APDC)联合化疗药物FOLFOX6治疗mCRC的临床试验,其III期试验也已开始了筹备(项目号:NCT02503150;表1),期待其成果的展示。尽管CRC疫苗的研究已开展了多年,但至今尚未有任何一项治疗方案获得上市许可。

2.2 细胞免疫疗法

参与抗肿瘤免疫应答的细胞包括APC、T、NK细胞和巨噬细胞等。研究者希望通过体外修饰、培养抗肿瘤免疫细胞,增强其肿瘤识别和杀伤能力并扩增到一定数量后,再回输至患者体内以激活和增强机体的抗肿瘤功能,从而达到治疗目的,此方法即为细胞免疫疗法。常见的回输细胞包括TIL、CIK^[14]、CTL、NK细胞^[15]、DC、TCR-T和CAR-T等(表2)。

表1 CRC 癌症疫苗相关的临床试验*

疫苗名称	类型	CRC 特征	抗原	临床期	进展	联合治疗	疗效	副作用	文献/项目号
ATV-NDV	病毒载体	CRC	肿瘤细胞	II	完结	无	显著	-	[8]
DC	DC	mCRC	肿瘤细胞	I	完结	无	显著	无	[9]
DC	DC	mCRC	MUC1/CEA	II	完结	PANVAC	显著	-	[10]
MUC1	多肽	CRC	MUC1	I/II	完结	无	显著	红疹	[11]
Ad5[E1,E2b]-CEA	病毒载体	晚期CRC	CEA	I/II	完结	无	显著	无	[12]
Mutant Ras	多肽	mCRC	突变型Ras	I/II	完结	DC+IL-2	-	-	NCT00019591
Mix vaccine	混合疫苗	mCRC	-	I II	持续	无	-	-	NCT03357276
Ad-CEA	病毒载体	mCRC	CEA	II	持续	阿维单抗	-	-	NCT03050814
COREVAX-1	DC	IV期CRC	肿瘤裂解液	II	持续	IL-2	-	-	NCT02919644
GVAX	肿瘤细胞	mCRC	免疫系统	I	持续	SGI-110+CY	-	-	NCT01966289
AlloStim <i>in situ</i>	免疫细胞	mCRC	肿瘤细胞	III	筹备	手术	-	-	NCT01741038
APDC	DC	mCRC	肿瘤裂解液	III	筹备	FOLFOX6 化疗	-	-	NCT02503150
OncoVax	肿瘤细胞	II期结肠癌	免疫系统	IIIb	持续	手术	-	-	NCT02448173

*数据来源于Clinicaltrials.gov;mCRC:转移性结直肠癌

表2 细胞免疫疗法常见的回输细胞类型

细胞类型	来源	处理	特性
TIL	肿瘤组织分离的T细胞	体外扩增和活化	具有高效和持续的抗肿瘤效果
CIK	人外周血分选的单个核细胞	多种细胞因子诱导	兼具T细胞特异性的抗肿瘤活性和NK细胞非MHC限制性的细胞毒性
CTL	CD8 ⁺ T细胞	体外富集和活化	抗肿瘤免疫应答中最主要的效应细胞
NK细胞	NK细胞	体外扩增和活化	机体非特异性免疫系统的主要效应细胞
DC	DC	体外扩增和活化	人体内功能最强大的APC
TCR-T	T细胞	TCR的基因修饰	对特定抗原的识别效率高
CAR-T	T细胞	TCR的嵌合表达	可靶向特异性抗原,使T细胞持续增殖,并以非MHC限制性方式杀伤肿瘤细胞

在这些回输的细胞中,TCR-T通常会对TCR识别抗原的关键氨基酸进行修改,以提高这些T细胞对特定抗原的识别效率。RAPOPORT等^[16]曾通过回输特异性靶向NY-ESO-1的TCR-T,来治疗高表达NY-ESO-1的多发性骨髓瘤,取得了80%的临床应答效率;Immunocore公司靶向肿瘤特异性多肽gp100的TCR-T药物IMCgp100,可通过活化CD8⁺和CD4⁺T细胞高效地杀伤黑色素瘤细胞^[17],其治疗黑色素瘤的临床试验也已进入了II期(项目号:NCT02570308)。而CAR-T的胞外抗原结合区通常来源于单克隆抗体结合抗原区域的scFv段,决定着CAR-T靶向的特异性,其一旦与特异性TAA或TSA结合,即可激活胞内信号,使T细胞持续活化增殖,并以非MHC限制性方式特异性地杀伤肿瘤细胞^[18]。靶向CD19的CAR-T在针对CD19⁺B淋巴细胞肿瘤的临床试验中效果相当显著^[19]。2017年,两个CAR-T药物——诺华公司用于治疗急性淋巴

细胞白血病的kymriah和Kite Pharma公司用于治疗罹患特定类型的成人大B细胞淋巴瘤的yescarta,均获得了美国FDA的上市许可,但其在非血液系统实体瘤中的疗效还需深入研究。

在CRC中,研究者使用TIL、CIK、DC和CAR-T等多种免疫细胞开展了相关的临床试验(表3)。LI等^[20]发现,联合CIK和射频消融技术可以延长CRC肝转移患者的中位无进展生存期和3年生存率,显著改善了患者的生存状态;ZHEN等^[21]发现,使用前哨淋巴结T细胞(sentinel lymph nodes T,SLN-T)治疗mCRC后,患者的生存时间显著延长,且没有出现明显的副作用。对免疫细胞的基因改造则容易在CRC患者中出现各种毒副作用,如注射特异性识别CEA的TCR-T尽管能够抑制mCRC的进展,但同时也带来了严重的结肠炎^[22];而在MORGAN等^[23]的临床试验中,回输靶向HER2的CAR-T导致患者出现了严重的细胞因子释

放综合征(cytokine release syndrome, CRS)。作为一类复杂的实体瘤, CRC的细胞免疫疗法还有许多问题有待解决, 中国科研工作者也从各个方面进行着不懈的探索(表3), 期待有惊喜的成果出现。

2.3 免疫检查点抑制剂

在癌症发展过程中, 肿瘤细胞可通过多种机制高表达各种免疫检查点受体, 以激活免疫检查点通路从而抑制T细胞的功能, 使T细胞失能, 致使逃脱机体免疫系统的攻击。在临床应用中, 免疫检查点抑制剂可以有效解除肿瘤细胞对T细胞功能的抑制,

重新激活免疫系统的肿瘤杀伤作用。目前, 研究和运用最广泛的免疫检查点包括细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)、程序性死亡受体1(programmed cell death protein 1, PD-1)及其配体PD-L1等, 相关药物已在包括黑色素瘤、非小细胞肺癌和dMMR型CRC等多种实体瘤的临床试验中取得了显著的效果, 并有多个药物获得了美国FDA的上市许可^[24]。

表3 CRC细胞免疫疗法相关的临床试验*

细胞	CRC特征	抗原	临床分期	进展	联合治疗	疗效	副作用	文献/项目号	发起单位
CIK	肝转移CRC	-	II/III	完结	频射消融	有效	-	[20]	常州第一人民医院
SLN-T	mCRC	-	I/II	完结	无	显著	无	[21]	贵阳医学院附属医院
TCR-T	CEA ⁺ mCRC	CEA	-	完结	无	有效	结直肠炎	[22]	美国国家癌症研究所
CAR-T	HER2 ⁺ CRC	HER2	-	完结	无	无效	CRS	[23]	美国国家癌症研究所
TIL	mCRC	-	II	持续	派姆单抗	-	-	NCT01174121	美国国家癌症研究所
CIK	CRC	-	II	持续	贝伐单抗+S-1	-	-	NCT02487992	常州第一人民医院
CIK	III期CRC	-	III	持续	化疗	-	-	NCT02280278	中山大学
DC-CIK	CRC	-	I/II	持续	PD-1单抗	-	-	NCT02886897	中山大学
DC-CTL	CRC	-	I/II	持续	CIK	-	-	NCT03047525	哈尔滨医科大学
CAR-pNK	MUC1 ⁺ CRC	MUC1	I/II	持续	无	-	-	NCT02839954	博生吉医药科技有限公司
CAR-T	MUC1 ⁺ CRC	MUC1	I/II	持续	无	-	-	NCT02617134	博生吉医药科技有限公司
CAR-T	CEA ⁺ CRC	CEA	I	持续	无	-	-	NCT02349724	第三军医大学西南医院
CAR-T	HER2 ⁺ CRC	HER2	I/II	持续	无	-	-	NCT02713984	第三军医大学西南医院
CAR-T	EGFR ⁺ mCRC	EGFR	I/II	持续	无	-	-	NCT03152435	深圳第二人民医院
CAR-T	CD133 ⁺ CRC	CD133	I	持续	无	-	-	NCT02541370	解放军总医院

*数据来源于Clinicaltrials.gov; mCRC: 转移性结直肠癌

CTLA-4单抗可抑制CTLA-4和B7的结合, 从而避免第二信号的缺失, 保证T细胞肿瘤杀伤功能的正常执行。2010年, HODI等^[25]就证实, 与使用gp100多肽疫苗进行治疗相比, 使用CTLA-4抑制剂伊匹单抗(ipilimumab)能够将转移性黑色素瘤患者的中位生存期从6.4个月提升到10.1个月, 疾病控制率(DCR)也从11.0%提升到28.5%。与此同时, 伊匹单抗联合达卡巴嗪(dacarbazine)更是将晚期黑色素瘤患者的中位生存期和DCR分别提升到11.2个月和33.2%^[26]。基于此, 美国FDA于2011年正式通过了伊匹单抗治疗晚期黑色素瘤的上市许可。

在恶性肿瘤中, 肿瘤细胞PD-L1的表达经常发生上调, 并可与TIL的表面分子PD-1结合, 该通路的激活将通过mTOR和PI3K/AKT信号途径抑制CD4⁺和CD8⁺T细胞的活化增殖, 从而使肿瘤细胞逃避机体免疫系统的识别和杀伤。PD-1/PD-L1的单克隆抗体可有效阻断两者的相互作用, 从而恢复TIL的肿瘤杀伤功

能, 增强机体的抗肿瘤免疫应答。美国FDA先后批准上市的派姆单抗(pembrolizumab)和纳武单抗(nivolumab)均为PD-1抑制剂, 都是先在黑色素瘤的临床试验中取得了巨大的成功, 随后被广泛运用于非小细胞肺癌、肾癌、头颈部鳞状细胞癌、MSI型结肠癌和霍奇金淋巴瘤等肿瘤的临床试验^[24]。近期经FDA批准上市的阿朱特单抗(atezolizumab)、阿维单抗(avelumab)和德瓦鲁单抗(durvalumab)则均为PD-L1抑制剂, 也已开始运用于非小细胞肺癌、默克尔细胞癌(Merkel cell carcinoma)和膀胱癌等的临床治疗^[24]。PD-1/PD-L1相关的药物和临床试验进入了空前的发展阶段。

免疫检查点抑制剂在CRC患者中的临床试验也正在如火如荼地开展。2010年, 一项运用曲美姆单抗(tremelimumab)治疗晚期CRC的II期临床试验并未有效改善患者的生存状况, 45例患者中有43例出现了疾病进展^[27]。但在派姆单抗的II期临床试验

中, IV期 dMMR型CRC患者的客观反应率(ORR)和DCR分别达到了40%和78%,远好于DNA错配修复系统完整型(mismatch repair system-proficient, pMMR)的CRC患者(ORR和DCR分别为0%和11%)^[28]。纳武单抗在dMMR/MSI-H型CRC的II期临床试验结果也显示出优异的临床效果(ORR为31.1%, DCR为69%)^[29]。基于这些临床数据, FDA也于2017年5月和8月分别批准了派姆单抗和纳武单抗在dMMR型CRC的临床应用。此外, 在最新公布的涉及包括CRC在内的12种肿瘤的临床试验结果中, dMMR型实体瘤对派姆单抗的ORR和完全缓解率分别达到了53%和21%^[30]。该项

研究也促使FDA通过了派姆单抗治疗所有dMMR/MSI-H型实体瘤的上市许可, 使其成为历史上第一个依靠通用标志物, 而非肿瘤发生位置来划分治疗范围的癌症药物。从现有的临床试验结果可以看出, dMMR/MSI-H型CRC可高效应答PD-1抑制剂的治疗, 但占85%的MSS型CRC则对免疫检查点抑制剂的治疗并不敏感, 因此大部分的CRC患者仍然缺少有效的免疫治疗方法。为解决MSS型CRC对免疫检查点抑制剂的免疫耐受问题, 现有临床试验开始尝试将多种免疫检查点抑制剂联合应用, 或辅以放疗、化疗等方法进行联合治疗^[31](表4), 或许会有更好的疗效出现。

表4 CRC免疫检查点抑制剂相关的临床试验*

药物名称	靶点	CRC特征	临床分期	进展	联合治疗	疗效	副作用	文献/项目号	发起单位
曲美姆单抗	CTLA-4	晚期CRC	II	完结	无	无效	腹泻	[27]	纪念斯隆凯特琳癌症中心
派姆单抗	PD-1	晚期MSI型CRC	II	完结	无	显著	贫血	[28] ^a	悉尼金梅尔综合癌症中心
纳武单抗	PD-1	晚期MSI型CRC	II	完结	无	显著	脂肪酶升高	[28] ^b	MD安德森癌症中心
派姆单抗	PD-1	dMMR型实体瘤	II	完结	无	显著	-	[30] ^c	悉尼金梅尔综合癌症中心
曲美姆单抗	CTLA-4	mCRC	I/II	持续	德瓦鲁单抗+ Pexa-Vec	-	-	NCT03206073	美国国立癌症研究所
伊匹单抗	CTLA-4	早期结肠癌	II	持续	纳武单抗+ Celecoxib	-	-	NCT03026140	荷兰癌症研究所
纳武单抗	PD-1	CRC	II	持续	伊匹单抗+放疗	-	-	NCT03104439	麻省总医院
PDR001	PD-1	晚期MSS型CRC	I	持续	贝伐单抗+ mFOLFOX6	-	-	NCT03176264	诺华公司
AMO-224	PD-1	mCRC	I	完结	放疗	-	-	NCT02298946	美国国立癌症研究所
阿朱特单抗	PD-L1	MSI型CRC	II	持续	贝伐珠单抗	-	-	NCT02982694	瓦尔德希布伦肿瘤研究所
德瓦鲁单抗	PD-L1	mCRC	I/II	持续	曲美母单抗+ FOLFOX	-	-	NCT03202758	乔治-弗朗索瓦-勒克莱尔中心
MEDI4736	PD-L1	dMMR型CRC	II	持续	AZD9150	-	-	NCT02983578	MD安德森癌症中心

*数据来源于Clinicaltrials.gov; ^aFDA依据此临床数据批准派姆单抗在dMMR型CRC中的临床应用; ^bFDA依据此临床数据批准纳武单抗在dMMR型CRC中的临床应用; ^cFDA依据此临床数据批准派姆单抗在dMMR/MSI-H型实体瘤中的临床应用

3 CRC的免疫耐受

在机体的抗肿瘤免疫应答中, 免疫系统杀伤肿瘤细胞的癌症-免疫环(cancer-immunity cycle, CIC)可分为7个步骤: 肿瘤抗原的释放、APC对肿瘤抗原的提呈、T细胞的活化、T细胞向肿瘤区域的转移、T细胞对肿瘤组织的浸润、T细胞对肿瘤细胞的识别、T细胞对肿瘤细胞的杀伤^[32-33]。在此过程中, 一旦肿瘤细胞被杀死, 相关抗原被释放, 循环又将重新开始, 进一步加强免疫系统对肿瘤细胞的识别和杀伤。与此同时, 如果CIC中任何一个环节出现问题, 都将导

致这个循环的中断, 从而削弱机体免疫系统的抗肿瘤免疫应答, 使肿瘤发生免疫逃逸。CRC的临床试验结果显示, 除dMMR型外的大部分肿瘤对现有的各种免疫疗法均不敏感, 表明其具有强大的免疫耐受机制, 可能的原因包括: 免疫原性低、抑制功能强大的TME和肿瘤组织缺少CD4⁺/CD8⁺活性T细胞的浸润等, 导致免疫检查点抑制剂即使激活了T细胞, 由于无法进入肿瘤组织而难以形成有效的肿瘤杀伤。

3.1 低免疫原性

肿瘤抗原的释放是CIC的起始阶段, 其免疫原性

决定了APC的提呈效率和T细胞的杀伤活性。基因突变是影响肿瘤抗原免疫原性的关键因素,能够反映患者对免疫检查点抑制剂的应答效率,在非小细胞肺癌的临床试验中就证实,肿瘤中非同义突变多的患者具有更多的肿瘤抗原,更能从PD-1抗体的治疗中获益^[34]。同时,研究者^[35]通过分析免疫检查点抑制剂在27种不同癌症中的治疗效果时发现,肿瘤的突变负荷越高,对免疫检查点抑制剂响应的概率也越大。在CRC中,MSI类亚型由于MMR相关蛋白的功能缺失,肿瘤突变负荷高,容易引入大量的移码突变,形成更多具有免疫原性的抗原肽,因此呈现出更多的肿瘤抗原和更高的瘤内淋巴细胞浸润^[36]。使用PD-1抑制剂等即可直接激活MSI型肿瘤内部的TIL,发挥抗肿瘤作用。相反,占散发性CRC大部分的MSS型肿瘤由于肿瘤突变负荷低、免疫原性较低、缺乏淋巴细胞的浸润,从而对免疫检查点抑制剂的治疗并不敏感^[35]。此外,ANGELOVA等^[37]发现,在不同CRC患者中,只有4%的新型抗原表位位点能够同时找到,这也使得开发针对所有CRC患者的肿瘤药物相当困难。如何提高CRC,尤其是MSS类亚型CRC的免疫原性,以促进淋巴细胞对CRC组织的浸润,是免疫疗法需要突破的一大关键。

3.2 免疫抑制微环境

作为一个复杂的综合系统,TME是维持肿瘤生长和发展必不可少的基础,通常包含肿瘤细胞本身、各种免疫细胞、微血管和多种基质细胞等,其中肿瘤细胞可以诱导TME中的多种细胞产生大量的生长因子、趋化因子和基质降解酶等,促进肿瘤细胞和局部血管的生长,抑制免疫浸润细胞的肿瘤杀伤,从而构建一个免疫高度抑制的微环境。在此过程中,Treg^[38]和MDSC^[39]对TME的免疫抑制效应发挥着重要作用。

Treg是一群负调节免疫应答的淋巴细胞,通常发挥免疫抑制功能,参与维持自身免疫耐受和避免过量免疫应答等过程,但在TME中,Treg的存在与肿瘤细胞的免疫逃逸密切相关。受肿瘤细胞和各类免疫细胞分泌的免疫因子(如趋化因子、TGF- β 、IL-10和腺苷酸)的调控,Treg可在TME中进行募集、扩增和转化,同时高表达各类免疫检查点蛋白(如CTLA-4、PD-1和LAG-3)和T细胞表面标志物(如CD25和CD69)等,抑制APC对肿瘤抗原的加工提呈和CD8⁺/CD4⁺T细胞的增殖活化,从而增强TME的免疫抑制功能,促进肿瘤的免疫逃逸^[38, 40]。在CRC中,发现Foxp3⁺Treg浸润的患者预后更差,功能研究^[41]表明其可高表达CTLA-4,并通过分泌TGF- β 、IL-10和IL-17等抑制浸润性CD8⁺和CD4⁺T细胞的增殖活化,发挥免疫

抑制功能。

在正常机体内,骨髓始祖细胞和未成熟骨髓细胞将在骨髓中分化成粒细胞、巨噬细胞或者DC等。但在癌症发生过程中,肿瘤细胞分泌的相关因子,如GM-CSF等,在刺激骨髓细胞生成的同时,也会妨碍它们的成熟,导致血液中存在着一群未成熟的异质性骨髓细胞,它们拥有粒细胞和单核细胞的形态,但缺少这些细胞的表面标记分子,这些未能完全分化成熟的免疫抑制细胞即为MDSC^[39]。MDSC经激活后,可通过STAT信号通路,抑制NK细胞等非特异性免疫系统的活性,以及CD4⁺/CD8⁺T细胞等介导的特异性免疫反应,其主要机制包括:(1)分泌IL-10和TGF- β 等免疫抑制因子,促进巨噬细胞转化成抑制性M2巨噬细胞,抑制NK细胞的成熟;(2)高表达ARG1以分解T细胞活化所必须的氨基酸(L-精氨酸和L-半胱氨酸),导致TCR ζ 链的缺失,从而抑制T细胞的增殖、分化和活化;(3)产生活性氧(如H₂O₂)和氮自由基(如ONOO⁻),在抑制肿瘤浸润性T细胞的募集与活化的同时,促进免疫抑制细胞(如MDSC)的聚集;(4)通过细胞接触,促进Treg的发育和扩增^[39]。这些机制的共同作用,使得TME中的MDSC能够显著抑制包括细胞免疫疗法、DC疫苗和伊匹单抗等在内的多种免疫疗法的治疗效果。临床研究^[42]证实,mCRC中存在着大量的MDSC,这些细胞可高表达PD-L1、CD39和CD73等来抑制免疫应答,促进免疫逃逸,而针对MDSC的FOLFOX-贝伐单抗联合治疗则可有效降低TME中MDSC的含量,提高机体对免疫治疗的应答效率。

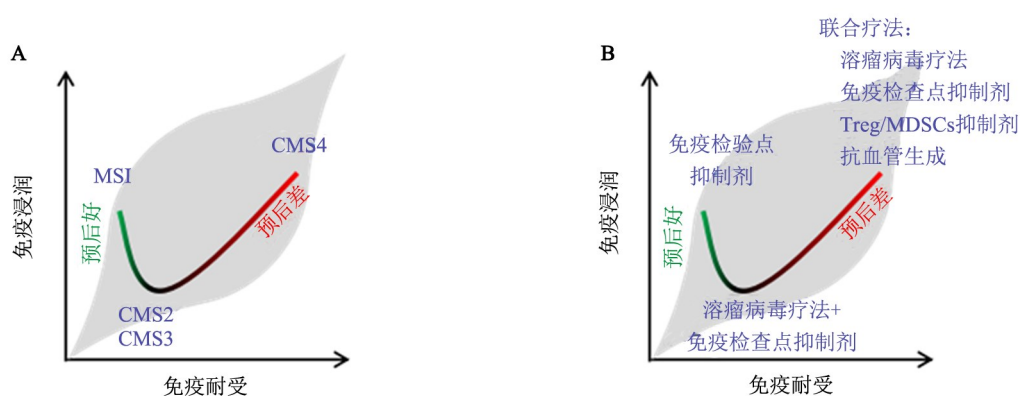
4 免疫耐受可能的解决方法

CRC的临床试验结果显示,不同亚型的肿瘤对不同免疫疗法的应答存在着显著的差异,这就要求人们在CRC的临床治疗中根据患者的亚型选择合适的治疗方法,以取得更好的治疗效果。根据肿瘤的免疫耐受和免疫浸润情况,笔者将CRC的亚型分类简要描述如图2A^[4],MSI型CRC具有明显的效应T细胞浸润、免疫原性高,预后较好,在临床治疗中也对免疫检查点抑制剂敏感;CMS2和CMS3型CRC缺乏淋巴细胞的浸润,免疫原性较弱;CMS4型TME中则存在着大量的Treg和MDSC等免疫抑制细胞,这些细胞及其分泌的TGF- β 和IL-10等免疫抑制因子共同维持着肿瘤的免疫耐受微环境,这类患者的预后最差,且对现有的免疫疗法都不敏感。针对CRC不同亚型临床试验所发现的问题,为提高CRC临床疗效,笔者根据现有的研究成果,总结了几个潜在的未来可能提升CRC免疫治疗疗效的策略(图2B)。

4.1 靶向TME

在CMS4型CRC的TME中,各类免疫抑制细胞密切调控着肿瘤的免疫逃逸和耐药机制,靶向TME中的这群细胞,或许可以发挥更好的免疫治疗效果。临床研究^[40, 43]证实,在使用癌症疫苗或免疫检查点抑制剂之前,靶向抑制TME中的Treg,降低其含量并限制其功能,能够有效减轻其免疫抑制效应而活化T细胞的抗肿瘤作用,从而提高抗肿瘤免疫应答的效率,延长患者的生存时间。免疫检查点抑制剂(如CTLA-4单抗和PD-1单抗)和趋化因子受体阻断剂等能够有效抑制Treg的功能,低剂量的化疗药物(如环磷酰胺)和CD25阻断剂等则可降低TME中Treg的含量^[43]。

同时,多种化疗药物能够通过各种机制抑制MDSC的活性,如抑制MDSC的扩张和募集(如威罗非尼和舒尼替尼),诱导MDSC分化为成熟的骨髓细胞(如地西他滨和紫杉醇)和抑制MDSC功能的发挥(如易普利姆玛和西地那非)等^[39]。此外,靶向STAT信号通路的药物(如阿西替尼和姜黄素)同样能够发挥抑制MDSC活性的功能^[39]。这些靶向TME的药物,将有效解除其免疫抑制功能,提高抗肿瘤免疫应答的效率^[44],但这些方法无法从根本上提高CTL在肿瘤区域的富集和杀伤能力,因此通常只能作为辅助性疗法,联合其他免疫疗法共同进行治疗。



A: 4种CRC亚型的免疫耐受、免疫浸润和预后表现情况;B: 根据4种亚型的免疫表型预期可能有效的免疫疗法

图2 CRC的肿瘤表型及其可能有效的免疫治疗方案(改编自BECHT等^[41])

4.2 免疫检查点抑制剂和其他疗法的联合运用

随着肿瘤免疫学的不断突破,各类肿瘤免疫疗法展现出前所未有的前景,但都存在一定的局限性,比如细胞免疫疗法对实体瘤效果欠佳,免疫检查点抑制剂在大部分患者中无响应,以及靶向TME的片面性等。同时,作为基因组与表观遗传组综合的长期病变产物,肿瘤组织本身就具有一整套复杂的免疫调控网络,来规避机体的免疫杀伤,再加上肿瘤在患者之间存在着高度的异质性,单一的治疗方法在临床应用中往往很难产生满意的效果。将免疫检查点抑制剂、免疫抑制因子阻断剂和抗血管生成药物等多种药物有机组合起来,同时针对TME中肿瘤细胞和非肿瘤细胞进行联合治疗,多管齐下,或许能够取长补短,实现抗肿瘤作用的最大协同。多种联合疗法已经在CRC的临床治疗上开始了相关的试验,如PD-1/PD-L1抑制剂与免疫因子IDO和LAG-3抑制剂的合用、PD-1抑制剂与激活KIR和CD137药物的合用,以及免疫检查点抑制剂与靶向EGFR、VEGFR和FGFR等抗血管生成药物的合用等^[31]。此外,研究者也开展了免疫检查点抑制剂联合传统的放疗(如体外放疗,

项目号:NCT02437071)和化疗(如FOLFOX,项目号:NCT02375672)等方法的临床试验^[31],这些试验的结果或许将为CRC的临床治疗提供更多的选择。但是这些临床试验大多数还只是集中在I期,距离真正的临床运用还很远,而且多药联合所带来的毒副作用、研发困难和成本昂贵等问题,也已经成为免疫治疗发展的瓶颈。

4.3 溶瘤病毒疗法

溶瘤病毒是一类选择性在肿瘤细胞中复制、溶解并杀伤肿瘤的病毒,其种类分布很广,包括DNA类的腺病毒、单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)、牛痘病毒和痘苗病毒等,以及RNA类的呼吸道肠道病毒、水疱性口膜炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)、小儿麻痹病毒和NDV等^[45]。为了进一步提高溶瘤病毒的抗肿瘤作用,通常的方法是对其进行改造,通过表达外源基因来改变TME,激活机体的抗肿瘤免疫反应。常见的外源基因包括免疫调节分子(如IL-2、CXCL11、GM-CSF)、前体药物转化酶(如TK、CD)和TME降解酶(如VEGF抑制剂、Flk1)等^[46]。早在2005年,中国FDA就批准了治疗晚期头

颈部肿瘤的重组人5型腺病毒(安珂瑞)注射液上市^[47]。2015年,美国FDA通过了携带有GM-CSF基因、用于治疗黑色素瘤的溶瘤病毒HSV-1型药物T-VEC的上市^[48]。此后,溶瘤病毒疗法进入了蓬勃发展期,已在CRC、头颈部鳞状细胞癌、胰腺癌和肝癌等多种肿瘤中开展了相关的临床试验^[49]。

溶瘤病毒能够调控CIC的几乎所有环节,系统地诱导机体的特异性和非特异性抗肿瘤免疫应答,其机制主要表现在以下4个方面:(1)直接溶瘤作用,溶瘤病毒在体内能够选择性地对肿瘤细胞进行复制扩增,这种直接的溶瘤活性能够通过凋亡、自噬或坏死等方式引发肿瘤的免疫原性死亡。(2)间接杀伤作用,机体存在着特异的抗病毒免疫机制,溶瘤病毒对肿瘤细胞的特异性感染将诱导机体免疫系统摧毁病毒的宿主细胞——肿瘤细胞。同时,病毒杀伤过程中释放的IFN- γ 、损伤相关的分子模式(damage associated molecular patterns, DAMP)和IL-2等可直接刺激NK细胞对肿瘤细胞的应答,促进非特异性免疫系统的抗肿瘤应答^[50]。(3)溶瘤病毒的免疫激活效应,溶瘤病毒溶解肿瘤细胞后,存在肿瘤内部的TAA或TSA将直接释放至TME中,增强肿瘤的免疫原性。大量的肿瘤抗原暴露后,即可促进APC的活化及其对抗原的提呈,进而活化免疫系统中的T细胞,使其分化扩增为细胞毒性效应的特异性T细胞。同时,溶瘤病毒杀伤肿瘤细胞所释放的细胞因子和趋化因子等可促进活化的效应T细胞向肿瘤区域的募集。在肿瘤组织区域中,效应T细胞与肿瘤细胞相关抗原识别后,将通过释放细胞毒性物质或表达FasL等方式杀伤肿瘤细胞,释放更多相关抗原,进一步激活CIC,强化机体对肿瘤组织持续性的识别和杀伤功能^[45, 50]。(4)溶瘤病毒携带的外源基因的作用,溶瘤病毒表达的各类外源基因也协同调控机体对肿瘤细胞的应答,如HSP70能够促进趋化因子的释放和DC的成熟,IL-2或IL-12能够活化CTL,IL-15或IL-21能够诱导NK细胞的肿瘤杀伤功能,B7分子则可作用于CTL的增殖和活化^[50]。这些外源基因的插入,可进一步强化溶瘤病毒对CIC全部过程的调控,系统地增强机体免疫系统的抗肿瘤免疫应答。溶瘤病毒拥有综合性的肿瘤杀伤机制、能够高效、广谱杀伤肿瘤的特点,将会成为下一波抗肿瘤免疫临床研究的热点,也是解决MSS型CRC免疫原性低、免疫应答弱的潜在有效手段。

事实上,已有多个研究小组开始探索溶瘤病毒在CRC中的应用。在大鼠CRC肝转移模型中,肝动脉注射重组型VSV可有效抑制肿瘤的发展,提高大鼠的生存状态^[51]。在小鼠CRC模型中,痘苗病毒能够显著

抑制肿瘤细胞的增殖、促进肿瘤细胞的凋亡、活化抗原的释放和提呈、促进非特异性免疫系统中巨噬细胞和NK细胞的含量,从而促进抗肿瘤应答反应^[52]。靶向CD133的腺病毒在体外可以选择性地感染裂解CD133⁺ CRC细胞,瘤内注射该病毒也展现出强大的抗肿瘤活性^[53]。在临床应用中,使用HSV-1病毒NV1020治疗CRC肝转移患者的DCR可达到50%,再辅以化疗的控制率则可升至68%,中位生存期和1年生存率分别达到11.8个月和47.2%,且其毒副作用小,显示出很好的应用前景^[54]。值得注意的是,Virogin公司近期开发的源于HSV-1的溶瘤病毒VG161,携带有多个刺激CTL和NK细胞的细胞因子,其瘤内注射不仅能够促进CTL向MSS型小鼠CRC肿瘤注射区域的浸润和免疫记忆细胞的增加,而且对远端未注射肿瘤同样具有强大的抗肿瘤效应(数据尚未发表),相信该溶瘤病毒在未来的临床试验中能够给MSS型CRC患者带来希望。

在缺乏淋巴细胞浸润的MSS型CRC中,免疫检查点抑制剂的疗效并不尽如人意,而溶瘤病毒在直接杀死肿瘤细胞的同时,可使TAA暴露并活化APC,促进CD8⁺ T细胞的活化和向肿瘤区域的迁移,从而改变TME。联合溶瘤病毒和免疫检查点抑制剂,在诱导效应T细胞向肿瘤区域浸润的同时,保证其在肿瘤内部的杀伤活性,将极大地扩大两个疗法的适用范围。对于免疫原性低或免疫耐受的CIN型CRC,使用溶瘤病毒和免疫检查点抑制剂进行联合治疗,或再辅以其他药物,或许是对抗其免疫耐药的最适方法(图2B)。两者的联合在小鼠模型中已经显示出巨大的优势:同时使用oHSV G47 Δ -mIL12与CTLA-4单抗和PD-1单抗进行治疗,可通过诱导活化巨噬细胞和CD8⁺ T细胞来治愈大部分小鼠的脑胶质瘤^[55];静脉注射呼吸肠道病毒能够激活IFN信号通路,促进CTL对小鼠恶性脑胶质瘤和脑转移瘤的浸润,从而提高后续PD-1单抗的治疗效果^[56];术前注射Maraba病毒则可明显增强术后免疫检查点抑制剂对小鼠三阴性乳腺癌的杀伤作用^[57]。同时,溶瘤病毒与免疫检查点抑制剂的联合疗法在相关的临床试验中也已展示出振奋人心的效果。美国加州大学洛杉矶分校JONSSON综合癌症中心RIBAS领导的Ib临床试验^[58]发现,向黑色素瘤局部注射溶瘤病毒T-VEC可明显促进CD4⁺/CD8⁺ T细胞向肿瘤区域的浸润,从而改变肿瘤的微环境,随后静脉注射PD-1抑制剂派姆单抗可进一步激活和增强效应T细胞对肿瘤细胞的攻击和杀伤,该联合治疗使得82%的黑色瘤出现了50%以上的消退,患者的ORR也由单独治疗的35%~40%提高到了62%,完全反应率则为33%,且在联合治疗过程中所

有受试者均未出现严重的副作用。在T-VEC与伊匹单抗(CTLA-4抑制剂)联合治疗IIIb~IV期黑色素瘤的I期和II期试验中,也发现联合免疫疗法具有更高的抗肿瘤活性,ORR较单独疗法具有显著的提高,且没有额外的安全性问题^[59-60]。在CRC目前的临床试验中,各类单独的免疫疗法都无法产生很好的效果,而各类免疫疗法之间的联合以及免疫疗法与放疗、化疗和靶向治疗等的协同性联合也存在或多或少的问题。从近期临床试验来看,溶瘤病毒联合免疫检查点抑制剂或许将为CRC的临床治疗提供广阔的发展前景。由美国国家癌症研究所近期发起的一项I/II期临床试验(项目号:NCT03206073),也已开始使用曲美木单抗(CTLA-4抑制剂)、德瓦鲁单抗(PD-L1抑制剂)和Pexa-Vec(溶瘤病毒)进行转移性CRC联合治疗的探索(表4)。不断寻找适合各亚型肿瘤的联合治疗方案,将是未来CRC临床免疫治疗研究的重要方向。

5 展 望

随着现代医学的发展,在传统治疗方法的基础上,肿瘤的临床治疗开发出了新型疗法——免疫疗法。相比于传统的治疗方法,免疫疗法具有毒副作用小、适用范围广、治疗效果好、治疗后不容易复发与转移等特点,已在黑色素瘤、非小细胞肺癌和淋巴瘤等多种癌症中取得了令人欣喜的成果,正日益成为癌症临床治疗的主要手段。但在CRC这一中国第三大癌症中,现有的肿瘤免疫疗法只对少部分dMMR型CRC效果显著,而大部分患者的应答效率都很低下。考虑到CRC本身的低免疫原性和TME复杂的免疫抑制机制,溶瘤病毒有望为其临床免疫治疗提供新的策略。目前,溶瘤病毒联合免疫检查点抑制剂在黑色素瘤中的临床试验已经展示出广阔的前景,在不久的将来,溶瘤病毒联合各类免疫疗法很可能成为CRC临床研究的重点,其成果将造福更多的CRC患者。

[参 考 文 献]

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J/OL]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-386[2018-05-28]. [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/\(ISSN\)1097-0215](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/(ISSN)1097-0215). DOI: 10.1002/ijc.29210.
- [2] KELLY P N. The cancer immunotherapy revolution[J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1344-1345. DOI: 10.1126/science.359.6382.1344.
- [3] DIENSTMANN R, VERMEULEN L, GUINNEY J, et al. Consensus molecular subtypes and the evolution of precision medicine in colorectal cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(2): 79-92. DOI: 10.1038/nrc.2017.24.
- [4] BECHT E, GIRALDO N A, GERMAIN C, et al. Immune contexture, immunoscore, and malignant cell molecular subgroups for prognostic and theranostic classifications of cancers[J/OL]. *Adv Immunol*, 2016, 130: 95-190[2018-05-28]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S006527761530002X?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/bs.ai.2015.12.002.
- [5] BUTTERFIELD L H. Cancer vaccines[J/OL]. *BMJ*, 2015, 350: h988 [2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4707521/>. DOI: 10.1136/bmj.h988.
- [6] FINN O J. The dawn of vaccines for cancer prevention[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(3): 183-194. DOI: 10.1038/nri.2017.140.
- [7] KABAKER K, SHELL K, KAUFMAN H L. Vaccines for colorectal cancer and renal cell carcinoma[J/OL]. *Cancer J*, 2011, 17(5): 283-293 [2018-05-28]. <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=21952277>. DOI: 10.1097/PPO.0b013e318232ff44.
- [8] OCKERT D, SCHIRRMACHER V, BECK N, et al. Newcastle disease virus-infected intact autologous tumor cell vaccine for adjuvant active specific immunotherapy of resected colorectal carcinoma[J/OL]. *Clin Cancer Res*, 1996, 2(1): 21-28[2018-05-28]. <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/2/1/21.long>.
- [9] RADOMSKI M, ZEH H J, EDINGTON H D, et al. Prolonged intralymphatic delivery of dendritic cells through implantable lymphatic ports in patients with advanced cancer[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2016, 4: 24[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4835859/>. DOI: 10.1186/s40425-016-0128-y.
- [10] MORSE M A, NIEDZWIECKI D, MARSHALL J L, et al. A randomized phase II study of immunization with dendritic cells modified with poxvectors encoding CEA and MUC1 compared with the same poxvectors plus GM-CSF for resected metastatic colorectal cancer[J]. *Ann Surg*, 2013, 258(6): 879-886. DOI: 1097/SLA.0b013e318292919e.
- [11] KIMURA T, MCKOLANIS J R, DZUBINSKI L A, et al. MUC1 vaccine for individuals with advanced adenoma of the colon: a cancer immunoprevention feasibility study[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2013, 6(1): 18-26. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0275.
- [12] MORSE M A, CHAUDHRY A, GABITZSCH E S, et al. Novel adenoviral vector induces T-cell responses despite anti-adenoviral neutralizing antibodies in colorectal cancer patients[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(8): 1293-1301. DOI: 10.1007/s00262-013-1400-3.
- [13] HANNA M G Jr, HOOVER H C Jr, VERMORKEN J B, et al. Adjuvant active specific immunotherapy of stage II and stage III colon cancer with an autologous tumor cell vaccine: first randomized phase III trials show promise[J]. *Vaccine*, 2001, 19(17-19): 2576-2582.
- [14] KIM J S, KIM Y G, PARK E J, et al. Cell-based immunotherapy for colorectal cancer with cytokine-induced killer cells[J]. *Immune Netw*, 2016, 16(2): 99-108. DOI: 10.4110/in.2016.16.2.99.
- [15] 方芳, 肖卫华, 田志刚. NK细胞肿瘤免疫治疗技术的挑战[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(1): 1-8. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.001.
- [16] RAPOPORT A P, STADTMAUER E A, BINDER-SCHOLL G K, et al. NY-ESO-1-specific TCR-engineered T cells mediate sustained antigen-specific antitumor effects in myeloma[J]. *Nat Med*, 2015, 21

- (8): 914-921. DOI: 10.1038/nm.3910.
- [17] BOUDOUSQUIE C, BOSSI G, HURST J M, et al. Polyfunctional response by immTAC (IMCgp100) redirected CD8(+) and CD4(+) T cells[J]. *Immunology*, 2017, 152(3): 425-438. DOI: 10.1111/imm.12779.
- [18] GAUTHIER J, YAKOUB-AGHA I. Chimeric antigen-receptor T-cell therapy for hematological malignancies and solid tumors: clinical data to date, current limitations and perspectives[J]. *Curr Res Transl Med*, 2017, 65(3): 93-102. DOI: 10.1016/j.retram.2017.08.003.
- [19] KOCHENDERFER J N, ROSENBERG S A. Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(5): 267-276. DOI: 10.1038/nrclinonc.2013.46.
- [20] LI X, DAI X, SHI L, et al. Phase II/III study of radiofrequency ablation combined with cytokine-induced killer cells treating colorectal liver metastases[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(1/2): 137-145. DOI: 10.1159/000452531.
- [21] ZHEN Y H, LIU X H, YANG Y, et al. Phase I/II study of adjuvant immunotherapy with sentinel lymph node T lymphocytes in patients with colorectal cancer[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2015, 64(9): 1083-1093. DOI: 10.1007/s00262-015-1715-3.
- [22] PARKHURST M R, YANG J C, LANGAN R C, et al. T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(3): 620-626. DOI: 10.1038/mt.2010.272.
- [23] MORGAN R A, YANG J C, KITANO M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(4): 843-851. DOI: 10.1038/mt.2010.24.
- [24] ROTTE A, JIN J Y, LEMAIRE V. Mechanistic overview of immune checkpoints to support the rational design of their combinations in cancer immunotherapy[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(1): 71-83. DOI: 10.1093/annonc/mdx686.
- [25] HODI F S, O'DAY S J, MCDERMOTT D F, 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.
- [26] 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.
- [27] CHUNG K Y, GORE I, FONG L, et al. Phase II study of the anti-cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody, tremelimumab, in patients with refractory metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 28(21): 3485-3490. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.3994.
- [28] 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.
- [29] OVERMAN M J, MCDERMOTT R, LEACH J L, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study[J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(9): 1182-1191. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30422-9.
- [30] LE D T, DURHAM J N, SMITH K N, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade[J]. *Science*, 2017, 357(6349): 409-413. DOI: 10.1126/science.aan6733.
- [31] BOLAND P M, MA W W. Immunotherapy for colorectal cancer[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2017, 9(5). pii: E50[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5447960/>. DOI: 10.3390/cancers9050050.
- [32] CHEN D S, MELLMAN I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle[J]. *Immunity*, 2013, 39(1): 1-10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012.
- [33] CHEN D S, MELLMAN I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point[J]. *Nature*, 2017, 541(7637): 321-330. DOI: 10.1038/nature21349.
- [34] 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.
- [35] YARCHOAN M, HOPKINS A, JAFFEE E M. Tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(25): 2500-2501. DOI: 10.1056/NEJMc1713444.
- [36] TOUGERON D, FAUQUEMBERGUE E, ROUQUETTE A, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancers with microsatellite instability are correlated with the number and spectrum of frameshift mutations[J]. *Mod pathol*, 2009, 22(9): 1186-1195. DOI: 10.1038/modpathol.2009.80.
- [37] ANGELOVA M, CHAROENTONG P, HACKL H, et al. Characterization of the immunophenotypes and antigenomes of colorectal cancers reveals distinct tumor escape mechanisms and novel targets for immunotherapy[J/OL]. *Genome Biol*, 2015, 16: 64[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4377852/>. DOI: 10.1186/s13059-015-0620-6.
- [38] CHAUDHARY B, ELKORD E. Regulatory T cells in the tumor microenvironment and cancer progression: role and therapeutic targeting[J/OL]. *Vaccine (Basel)*, 2016, 4(3): E28[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5041022/>. DOI: 0.3390/vaccines4030028.
- [39] DE HAAS N, DE KONING C, SPILGIES L, et al. Improving cancer immunotherapy by targeting the STAtE of MDSCs[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(7): e1196312[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5006927/>. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1196312.
- [40] WARD-HARTSTONGE K A, KEMP R A. Regulatory T-cell heterogeneity and the cancer immune response[J/OL]. *Clin Transl Immunol*, 2017, 6(9): e154[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5628269/>. DOI: 10.1038/cti.2017.43.
- [41] SAITO T, NISHIKAWA H, WADA H, et al. Two FOXP3(+) CD4(+) T cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers[J]. *Nat Med*, 2016, 22(6): 679-684. DOI: 10.1038/nm.4086.
- [42] LIMAGNE E, EUVRARD R, THIBAUDIN M, et al. Accumulation of MDSC and Th17 cells in patients with metastatic colorectal cancer predicts the efficacy of a FOLFOX-bevacizumab drug treatment regimen[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(18): 5241-5252. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3164.
- [43] PERE H, TANCHOT C, BAYRY J, et al. Comprehensive analysis of current approaches to inhibit regulatory T cells in cancer[J]. *On-*

- coimmunology, 2012,1(3): 326-333. DOI: 10.4161/onci.18852.
- [44] 於宇, 崔久嵬. 从肿瘤微环境角度解析肿瘤免疫治疗的现状与未来[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(7): 693-699. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2017.07.001.
- [45] BUIJS P R, VERHAGEN J H, VAN EIJK C H, et al. Oncolytic viruses: from bench to bedside with a focus on safety[J]. Hum Vaccin Immunother, 2015, 11(7): 1573-1584. DOI: 10.1080 / 21645515.2015.1037058.
- [46] MEYERS D E, WANG A A, THIRUKKUMARAN C M, et al. Current immunotherapeutic strategies to enhance oncolytic virotherapy [J/OL]. Front Oncol, 2017, 7: 114[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5459877/>. DOI: 10.3389/fonc.2017.00114.
- [47] GARBER K. China approves world's first oncolytic virus therapy for cancer treatment[J]. J Natl Cancer Inst, 2006, 98(5): 298-300. DOI: 10.1093/jnci/djj111.
- [48] ANDTBACKA R H, KAUFMAN H L, COLLICHIO F, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(25): 2780-2788. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.3377.
- [49] GUO Z S, LIU Z, KOWALSKY S, et al. Oncolytic immunotherapy: conceptual evolution, current strategies, and future perspectives[J/OL]. Front Immunol, 2017, 8: 555[2018-05-28]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.00555/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00555.
- [50] CHOI A H, O'LEARY M P, FONG Y, et al. From benchtop to bedside: a review of oncolytic virotherapy[J/OL]. Biomedicines, 2016, 4(3). pii: 18[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5344257/>. DOI: 10.3390/biomedicines4030018.
- [51] YAMAKI M, SHINOZAKI K, SAKAGUCHI T, et al. The potential of recombinant vesicular stomatitis virus-mediated virotherapy against metastatic colon cancer[J]. Int J Mol Med, 2013, 31(2): 299-306. DOI: 10.3892/ijmm.2012.1205.
- [52] EHRIG K, KILINC M O, CHEN N G, et al. Growth inhibition of different human colorectal cancer xenografts after a single intravenous injection of oncolytic vaccinia virus GLV-1h68[J/OL]. J Transl Med, 2013, 11: 79[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3621142/>. DOI: 10.1186/1479-5876-11-79.
- [53] SATO-DAHLMAN M, MIURA Y, HUANG J L, et al. CD133-targeted oncolytic adenovirus demonstrates anti-tumor effect in colorectal cancer [J/OL]. Oncotarget, 2017, 8(44): 76044-76056[2018-05-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5652684/>. DOI: 10.18632/oncotarget.18340.
- [54] GEEVARGHESE S K, GELLER D A, DE HAAN H A, et al. Phase I/II study of oncolytic herpes simplex virus NV1020 in patients with extensively pretreated refractory colorectal cancer metastatic to the liver[J]. Hum Gene Ther, 2010, 21(9): 1119-1128. DOI: 10.1089/hum.2010.020.
- [55] SAHA D, MARTUZA R L, RABKIN S D. Macrophage polarization contributes to glioblastoma eradication by combination immunovirotherapy and immune checkpoint blockade[J]. Cancer Cell, 2017, 32(2): 253-267. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.07.006.
- [56] SAMSON A, SCOTT K J, TAGGART D, et al. Intravenous delivery of oncolytic reovirus to brain tumor patients immunologically primes for subsequent checkpoint blockade[J/OL]. Sci Transl Med, 2018, 10(422). pii: eaam7577[2018-05-28]. <http://stm.sciencemag.org/content/10/422/eaam7577.short>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aam7577.
- [57] BOURGEOIS-DAIGNEAULT M C, ROY D G, AITKEN A S, et al. Neoadjuvant oncolytic virotherapy before surgery sensitizes triple-negative breast cancer to immune checkpoint therapy[J/OL]. Sci Transl Med, 2018, 10(422). pii: eaao1641[2018-05-28]. <http://stm.sciencemag.org/content/10/422/eaao1641.short>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aao1641.
- [58] RIBAS A, DUMMER R, PUZANOV I, et al. Oncolytic virotherapy promotes intratumoral t cell infiltration and improves anti-PD-1 immunotherapy[J]. Cell, 2017, 170(6): 1109-1119. DOI: 10.1016 / j.cell.2017.08.027.
- [59] PUZANOV I, MILHEM M M, MINOR D, et al. Talimogene laherparepvec in combination with ipilimumab in previously untreated, unresectable stage III b -IV melanoma[J]. J Clin Oncol, 2016, 34(22): 2619-2626. DOI: 10.1200/JCO.2016.67.1529.
- [60] CHESNEY J, PUZANOV I, COLLICHIO F, et al. Randomized, open-label phase II study evaluating the efficacy and safety of talimogene laherparepvec in combination with ipilimumab versus ipilimumab alone in patients with advanced, unresectable melanoma[J]. J Clin Oncol, 2017, 36(17): 1658-1667. DOI: 10.1200 / JCO.2017.1273.7379.

[收稿日期] 2018-08-30

[修回日期] 2018-09-15

[本文编辑] 党瑞山