

肿瘤浸润淋巴细胞治疗恶性黑色素瘤研究新进展

Recent progress in research of malignant melanoma treatment with tumor infiltrating lymphocyte

贾沙沙 综述;付桥粉,宋鑫 审阅(昆明医科大学第三附属医院暨云南省肿瘤医院 生物治疗中心,云南 昆明 650118)

[摘要] 恶性黑色素瘤的发病率和病死率在逐年增长,引发广泛关注。目前恶性黑色素瘤的治疗方式主要为手术、化疗和靶向治疗,总体疗效极差。然而,PD-1 抗体治疗恶性黑色素瘤的成功,使广大研究者把希望聚焦于生物免疫治疗。肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)是从肿瘤组织分离出的淋巴细胞,经体外扩增后得到的能够杀伤肿瘤细胞的细胞群,具有高杀瘤活性和高靶向性特点。临床试验研究发现,TIL 对恶性黑色素瘤治疗效果显著且稳定,但其临床疗效尚未完全阐明。本文对 TIL 免疫治疗的发展及其在恶性黑色素瘤治疗中的研究新进展作一综述,以期恶性黑色素瘤的治疗提供新的策略。

[关键词] 肿瘤浸润淋巴细胞;恶性黑色素瘤;生物免疫治疗

[中图分类号] R730.5; R733.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)10-1077-06

近年来,全球恶性黑色素瘤的发病率及病死率逐年增长^[1-2]。虽然中国恶性黑色素瘤总体发病率不高,但庞大的人口基数,使得中国恶性黑色素瘤发病率一直居高不下^[3]。国内恶性黑色素瘤发病具有地域性,云贵高原紫外线辐射强,其发病率和病死率位居全国首位^[4]。恶性黑色素瘤作为一种高度恶性的肿瘤,病情隐匿、转移早,复发、转移和化疗抵抗是患者病死的主要原因^[5],早诊断、早治疗是其治愈的关键。越来越多的研究表明,生物免疫治疗在恶性黑色素瘤治疗中具有独特疗效,尤其 PD-1 抗体治疗恶性黑色素瘤的成功,使广大研究者把希望聚焦于生物免疫治疗。然而,PD-1 抗体治疗具有总有效率低、价格昂贵等缺点,限制了其临床应用^[6],亟需研发新的治疗方法和靶点。临床试验研究^[7]发现,肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)治疗具有高杀瘤活性和高靶向性特点,在进展期恶性黑色素瘤治疗中具有明显优势。本文就 TIL 在恶性黑色素瘤治疗中的新近研究进展作一综述,旨在探讨其在恶性黑色素瘤治疗中的可能方法并展望其发展方向。

1 TIL 治疗的发展历程

TIL 是 1986 年由 ROSENBERG 等^[8]从荷瘤小鼠肿瘤组织中发现并分离出的,存在于肿瘤细胞周围的一群高度异质性细胞,TIL 在肿瘤组织中的浸润数量和面积及 CD8⁺T 细胞所占的比例与肿瘤患者的预后呈明显正相关。用于过继性细胞免疫治疗的 TIL 是从肿瘤组织分离出的淋巴细胞,经体外低剂量 IL-2

刺激活化后进一步扩增得到的能够杀伤肿瘤细胞的细胞群^[9]。TIL 以 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞为主,且不同肿瘤组织来源的 TIL 的 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞比例存在差异^[10],故不同组织来源的 TIL 的抗肿瘤活性存在差异。

值得关注的是,恶性黑色素瘤作为高免疫原性肿瘤,TIL 治疗首先于恶性黑色素瘤治疗中获得初步成功^[11-12]。KAWAKAMI 等^[13]于 1988 年首次利用 TIL 治疗 20 例转移性恶性黑色素瘤,其中 12 例达到部分或完全缓解,提示 TIL 可能成为治疗恶性黑色素瘤的新的生物免疫治疗方法。此后,越来越多的研究人

[基金项目] 国家自然科学基金联合重点项目(No.U1502222);国家自然科学基金(No.81702295);中国博士后基金(No.2017M613008);云南省卫生科技计划项目(No.2016NS113, No.2017NS177, No.2017NS178);云南省高校黑色素瘤综合治疗重点实验室建设项目;云南省肿瘤医院云南高发肿瘤内科综合治疗省创新团队建设项目。Project supported by the Joint Key Projects of the National Natural Science Foundation of China(No.U1502222), the National Natural Science Foundation of China(No.81702295), the Post-Doctoral Fundation of China(No.2017M613008), the Health Science and Technology Project of Yunnan Province(No.2016NS113, No.2017NS177, No.2017NS178), the Key Laboratory Construction Project of Comprehensive Treatment of Melanoma in Yunnan University, and the Yunnan Province High Incidence of Cancer Medical Comprehensive Treatment Provincial Innovation Team Construction Project of Yunnan Tumor Hospital

[作者简介] 贾沙沙(1988-),女,硕士生,医师,主要从事肿瘤生物治疗的研究,E-mail: 229389889@qq.com

[通信作者] 宋鑫(SONG Xin, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事肿瘤生物免疫治疗的研究,E-mail: songxin68@126.com

员集中于TIL的分离、制备和应用研究,使TIL研究得到迅速发展。

2 TIL的培养方法

TIL治疗恶性黑色素瘤的关键在于其培养方案,即尽可能减少T细胞培养时间,并改善T细胞的记忆和效应特性,以增强其在人体内抗肿瘤活性及延长作用时间^[14]。为促进TIL治疗的临床转化,ROSENBERG等^[15]开发了一种“年轻”TIL培养方法,它在保持细胞活性的同时,通过酶消化肿瘤TIL立即分离并扩增,而不必等待它们从肿瘤碎片中迁移出来,这导致更多的TIL可以立即进行扩增,达到快速扩增所需的最小数量及更短的时间,且成功率更高(>80%)。该方法使用整个切除的肿瘤快速扩展TIL以用于临床,这些TIL可使50%难治性转移性黑色素瘤的肿瘤病灶消退^[16]。目前TIL的培养过程^[14]是:无菌条件下获取新鲜肿瘤组织,去除坏死组织和脂肪组织,将肿瘤组织剪成约1 mm³的碎块,加入透明质酸酶、胶原酶和DNA酶等消化,将单个核细胞按1×10⁶细胞/ml重悬于无血清培养液中,同时加入IL-2(10~20 IU/ml)诱导TIL活化和增殖,培养7~10 d,再加入IL-2(5 000~6 000 IU/ml),继续培养40~50 d。

令人遗憾的是,TIL作为一种特殊的CTL淋巴细胞群体,在很大程度上受到肿瘤特异性浸润的可获得性、体外扩增能力及体外培养后功能的可维持性的限制,TIL治疗疗效的提高仍需进一步深入研究。

3 TIL与IL-2联合治疗

IL-2最初是从T细胞培养上清中分离获得的^[17],从被发现迄今已有30余年,是最受关注和被广泛研究的细胞因子,其对体外培养的T细胞具有促进增殖作用^[14]。传统观点认为,IL-2是一种能激活T细胞,并维持T细胞分化和增殖的T细胞生长因子,同时,它亦参与炎症或自身免疫性反应^[18]。目前,IL-2已被用于恶性黑色素瘤治疗^[19],但IL-2半衰期短,需要连续频繁给药,高剂量IL-2可引起较重的副作用,如呕吐、发热及炎症反应等^[20],而TIL与IL-2联合治疗能够减弱这一毒性作用,起到协同增效作用^[21]。ANDERSEN等^[22]纳入25例进展期难治性转移性黑色素瘤患者,进行IL-2联合TIL治疗的I/II期临床试验,发现TIL能够降低IL-2的毒性反应,将既往需要重症监护病房处理的IL-2相关毒副反应控制在普通病房处理,该联合治疗同时使3例患者达到完全缓解,7例患者达到部分缓解,缓解率达到42%。

值得关注的是,初次分离的TIL免疫功能处于抑制状态,IL-2能够显著提高TIL细胞的免疫活性。

HAVUNEN等^[23]采用免疫缺陷鼠和具有免疫力的仓鼠进行的临床前研究发现,IL-2可增加体内CD4⁺和CD8⁺TIL的比例,促进体外脾细胞增殖,表明IL-2细胞因子对于T细胞活性的持久性和增殖至关重要。KHAMMARI等^[24]的研究将入组的88例恶性黑色素瘤患者随机分成两组,分别接受TIL联合IL-2或单独IL-2治疗,随访并回顾性分析其17年的中位生存期,结果发现接受TIL联合IL-2治疗的患者中位生存期较接受单独接受IL-2治疗的患者延长33.4个月。

以上研究提示,TIL治疗作为恶性黑色素瘤的一种新的治疗方法,与IL-2联合应用能够明显改善患者预后、延长患者生存期、降低毒副反应、提高患者生活质量,但该联合治疗仍处于临床试验阶段,且已有的临床研究样本量较小或多为单臂研究,临床应用亟需大样本多中心随机对照试验提供循证学依据。

4 TIL与化疗方案联合治疗

TIL与传统化疗方案相结合是目前治疗恶性黑色素瘤的研究热点。传统化疗方案,尤其是细胞毒性药物具有激活免疫系统、增强抗肿瘤免疫应答的功能。对于恶性黑色素瘤患者,IL-2和达卡巴嗪已批准用于恶性黑色素瘤的治疗,且患者疾病客观反应率达到12%至15%^[25]。WEIR等^[26]利用小鼠研究发现,TIL细胞治疗与化疗药物环磷酰胺治疗在恶性黑色素瘤中具有协同作用,环磷酰胺可抑制CD4⁺T细胞的增殖,但并不抑制CD8⁺T细胞杀伤肿瘤的活性;同时,TIL与环磷酰胺联合治疗可显著提高治疗疗效、减轻毒副作用。GOFF等^[27]入组101例患者进行前瞻性研究,发现TIL输注前先给予环磷酰胺治疗,患者的总生存期延长至40.9个月。

ROSENBERG等^[28]进一步研究并评估输注TIL前给予非清髓和清髓两种治疗方案的安全性和有效性,即环磷酰胺和氟他拉滨联合或环磷酰胺、氟他拉滨和放射治疗联合,该研究采用两项试验评估患者总生存率。非清髓组入组的25例患者接受TIL治疗前先进行7 d化疗;清髓组的25例患者接受TIL治疗前先进行5 d化疗序贯12 Gy TBI放疗。截止到2018年1月1日,非清髓组生存期长于清髓组(27 vs 10个月)。研究^[25]进一步发现,在TIL输注前给予由环磷酰胺和氟达拉滨组成的化疗药物,可显著改善患者的免疫微环境,明显延长患者总生存期。但清髓组比非清髓组的毒性反应大。

以上研究表明,TIL与某些化疗方案联合应用可明显改善恶性黑色素瘤患者的总生存期,但相关研究纳入的病例数较少且为单臂研究,缺乏高质量大

样本的临床随机对照试验,临床应用仍需汇总大量高质量随机对照研究结果;由于非清髓较清髓治疗效果更好且副作用较小,目前关于TIL的临床研究中多采用非清髓方法。

5 TIL与放射治疗联合治疗

放射治疗是指用放射线治疗恶性肿瘤的临床策略。主要用于有手术禁忌证、手术切缘阳性患者的辅助治疗或晚期患者的姑息性治疗^[29]。恶性黑色素瘤患者通常采用单次大剂量低分割(400 cGy/次)的放疗方法,但疗效不佳^[30-31]。2017年第59届美国放射肿瘤学年会上,来自美国德克萨斯大学ANDERSON癌症中心放射肿瘤学WEL副教授报道了一项针对IV期癌症患者的新研究,发现放疗与生物免疫治疗联合对晚期癌症患者安全且耐受性好,相当大比例的患者获得了13个月以上的疾病稳定^[32-33]。

目前,TIL联合放疗治疗恶性黑色素瘤已得到临床试验的确证。RODRIGUEZ-RUIZ等^[34]进行的临床前研究发现,放疗加单克隆抗体刺激联合治疗8d后可显著增强T细胞浸润,使更多CD8⁺T细胞识别gp70肿瘤抗原从而杀伤肿瘤细胞,这一研究说明TIL治疗与放射治疗联合具有协同作用。VAN-POUILLE-BOX等^[35]以精确放疗对免疫治疗的影响为题进行的综述表明,肿瘤特异性CD8⁺T细胞的表达高度依赖于放疗剂量,放疗剂量在可行范围内选择剂量越高,可使TIL杀伤肿瘤细胞的效率提高,促进了TIL在恶性黑色素瘤患者中发挥更好的治疗作用。

虽然放疗与TIL治疗对恶性黑色素瘤患者具有协同增强作用,但基本都属于临床前研究,尚未进入临床研究阶段,临床上是否有效及具体效果尚需大量临床试验证实。

6 TIL与靶向治疗联合治疗

当前,恶性黑色素瘤发病机制研究获得了较大的进展,特别是针对基因突变及异常激活的研究,推动了分子靶向治疗的发展。新近研究揭示了癌细胞能够逃避免疫攻击的新机制——免疫检查点介导的免疫逃逸,针对这一机制,已经开发了一系列靶向治疗药物,包括CTLA-4抗体、PD-1抗体、*BRAF*抑制剂等,在恶性黑色素瘤治疗中显示了良好的临床应用前景^[36]。

6.1 TIL与易普利姆玛(ipilimumab)联合治疗

随着2011年FDA批准ipilimumab治疗晚期恶性黑色素瘤以来,单抗药物在恶性黑色素瘤治疗中的地位逐步上升。HODI等^[37]进行的临床试验入组了

676例不可手术切除的III/IV期恶性黑色素瘤患者,按3:1:1分别接受ipilimumab联合gp100疫苗、单独ipilimumab和单独gp100疫苗治疗,结果发现接受该3种疗法的中位生存期分别为10.0、10.1和6.4个月,说明ipilimumab能够显著提高晚期恶性黑色素瘤的生存期;但ipilimumab服药者伴有致死性的自身免疫反应副作用,最常见的包括:腹泻、恶心、便秘、皮疹等^[38-39],由于ipilimumab可导致严重和致命性不良反应,给临床应用带来严峻考验。

令人感兴趣的是,TIL与ipilimumab联合治疗可弥补这一缺陷,TIL的存在与ipilimumab的疗效密切相关。DIEM等^[40]回顾性分析了9例接受ipilimumab治疗的III期具有淋巴结转移的恶性黑色素瘤患者原发肿瘤组织和转移淋巴结中的TIL情况,结果在4例治疗有效(1例CR、2例PR、1例SD)患者的转移淋巴结中均检测到TIL浸润,而在治疗无效的5例患者的淋巴结中均未检测到TIL浸润,有效者中TIL存在与否与无效者具有明显相关性($P=0.008$);TIL细胞丰富淋巴结转移患者较无TIL浸润患者具有更好的中位无进展生存期(6.8 vs 3.3个月; $P=0.090$)和总生存期(至随访结束仍存活 vs 8.2个月, $P=0.080$)。因此,TIL浸润与否可在一定程度反映ipilimumab治疗效果。BJOERN等^[41]的研究入组了接受ipilimumab和未接受抗CTLA-4抗体治疗的恶性黑色素瘤患者,通过检测接受ipilimumab治疗的患者其T细胞表型CD4⁺T和CD8⁺T表达增高,可见ipilimumab可激活T细胞并识别肿瘤相关抗原的T细胞比例,进一步促进T细胞扩增,因此,ipilimumab治疗可能较CTLA-4治疗更能诱导TIL浸润^[41]。

到目前为止,尚未见TIL与ipilimumab联合治疗恶性黑色素瘤的临床试验报道。有一项正在研究中(<https://www.clinicaltrials.gov>),但ipilimumab治疗有效者通常具有TIL浸润这一发现提示,ipilimumab和TIL联合治疗可能具有良好的效果。

6.2 TIL与PD-1抗体联合治疗

在人体正常的免疫系统中,激活PD-1/PD-L1通路可抑制T淋巴细胞的免疫功能,促进调节性T细胞的抑制功能,进而减少机体的免疫反应及对外周正常组织的损伤和炎症反应,抑制自身免疫应答反应,从而维持正常机体的免疫耐受^[42]。而肿瘤微环境会诱导浸润的T细胞高表达PD-1分子,PD-1抗体可以阻断肿瘤微环境中PD-1/PD-L1通路,改变肿瘤微环境,恢复并增强T细胞杀伤肿瘤细胞的功能^[43-44]。抗PD-1药物已在多种恶性肿瘤中显示出良好的临床疗效,ASPESLAGH等^[45]发现,纳入118例患者,给予PD-1抗体药物治疗,发现接受PD-1抗体治疗后,从

免疫疗法中获益的患者再接受常规治疗,患者PFS延长。

值得关注的是,TIL治疗作为一种细胞免疫治疗,与PD-1抗体联合应用于临床显示出更高的临床效应。DONIA等^[46]分析了16例患者的连续血样中TIL的功能和表型发现:多功能TIL在外周血淋巴细胞中随时间累积,并在输注后早期使PD-1特异性上调;而输注PD-1抗体后1年内T细胞扩增和功能状态基本稳定,尽管大量TIL在体内发生了一定程度的克隆多样性,但是进一步分析显示,特定肿瘤抗原T细胞具有相似的分化状态。结果证明,TIL和PD-1抗体联合治疗恶性黑色素瘤能够使TIL在患者体内持续保持活性^[46]。

以上研究提示TIL与PD-1抗体联合治疗可能改善恶性黑色素瘤患者预后,但目前相关研究尚处于临床前或样本量较小,结果具有一定局限性,离临床应用还有较长的路。

6.3 TIL与BRAF抑制剂联合治疗

已有研究^[47]表明,50%的恶性黑色素瘤晚期患者存在丝苏氨酸蛋白激酶BRAF基因突变。美国麻省总医院SOSMAN等^[48]纳入322例具有BRAF突变的晚期恶性黑色素瘤患者,试验组给予BRAF抑制剂曲美替尼(trametinib),对照组给予化疗,结果发现选择性BRAF抑制剂能显著提高恶性黑色素瘤患者的存活期(4.8 vs 1.5个月, $P<0.01$)。DENIGER等^[49]新近研究纳入11例晚期恶性黑色素瘤患者,非清髓后给予TIL和trametinib联合治疗,结果3年内11例患者中有7例有临床症状部分缓解,2例患者临床症状完全缓解。

综上所述,TIL免疫治疗作为一种新的治疗方法与靶向治疗联合应用,在恶性黑色素瘤治疗中具有好的应用前景,但目前相关研究仍处于临床前期或小样本低质量临床试验阶段,广泛应用于临床仍需大量高质量、大样本多中心的前瞻性研究证实其疗效。

7 展望

总的来说,TIL治疗恶性黑色素瘤具有良好前景。笔者预测,通过大规模多中心临床试验,TIL治疗会在未来几年成为批准治疗恶性黑色素瘤的方法。目前,尽管TIL治疗恶性黑色素瘤已经获得良好的临床疗效,但还不能替代一线治疗方案,因TIL治疗具有它的局限性。一是TIL制备技术复杂,通常需要筛选上百个甚至几百个T淋巴细胞克隆才能得到肿瘤特异性的TIL;二是TIL在T淋巴细胞分类中属于效应T细胞,虽然杀瘤功能强大,但其寿命短,不具

备记忆能力;三是用于临床治疗的TIL细胞局限于新鲜且无菌保存的肿瘤组织样本,对于那些无法提供此类样本的患者,无法应用TIL治疗;四是不同肿瘤或相同肿瘤的不同个体间异质性大,并非所有患者或肿瘤均有TIL细胞浸润,故无法从该类肿瘤或患者肿瘤组织样本中分离得到TIL细胞。因此,成功获得TIL细胞是TIL治疗的关键。未来,免疫治疗在肿瘤综合治疗应用中发展趋势将进入免疫治疗2.0时代,其特征是精准与联合。TIL治疗已具备这两项特征,将成为恶性黑色素瘤治疗的重要治疗方法之一^[50]。

[参考文献]

- [1] YOULDEN D R, KHOSROTEHRANI K, GREEN A C, et al. Diagnosis of an additional in situ melanoma does not influence survival for patients with a single invasive melanoma: a registry-based follow-up study[J]. *Australas J Dermatol*, 2016, 57(1): 57-60. DOI: 10.1111/ajd.12429.
- [2] ORVAL M, WRIGHT C Y. The epidemiology of cutaneous melanoma in the white and black african population groups in South Africa [M]/WARD W H, FARMA J M. Cutaneous melanoma: etiology and therapy. Brisbane AU, The Authors, 2017.
- [3] GILMORE S. Melanoma screening: informing public health policy with quantitative modelling[J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0182349[2018-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5612464/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0182349.
- [4] CRAIG S, EARNSHAW C H, VIROS A. Ultraviolet light and melanoma[J]. *J Pathol*, 2018, 244(5): 578-585. DOI: 10.1002/path.5039.
- [5] WIELAND E, RODRIGUEZ-VITA J, LIEBLER S S, et al. Endothelial notch1 activity facilitates metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(3): 355-367. DOI:10.1016/j.ccell.2017.01.007.
- [6] TRINH V A, JOSEPH J, HWU W J. Anti-programmed cell death-1 (PD-1) monoclonal antibodies in treating advanced melanoma-a clinical update[J/OL]. *Discov Med*, 2018, 25(135): 31-40[2018-05-22]. <http://www.discoverymedicine.com/VanAnh-Trinh/2018/01/anti-programmed-cell-death-1-pd-1-monoclonal-antibodies-in-treating-advanced-melanoma/>.
- [7] BADALAMENTI G, FANALE D, INCORVAIA L, et al. Role of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with solid tumors: can a drop dig a stone? [J/OL]. *Cell Immunol*, 2018, 2018: pii: S0008-8749(18)30014-5[2018-05-22]. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/00088749>. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.01.013.
- [8] ROSENBERG S A, SPIESS P, LAFRENIERE R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes[J]. *Science*, 1986, 233(4770): 1318-1321.
- [9] ROSENBERG S A. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer[J]. *J Immunol*, 2014, 192(12): 5451-5458. DOI: 10.4049/jimmunol.1490019.
- [10] DE WOLF C, VAN DE BOVENKAMP M, HOEFNAGEL M. Regulatory perspective on in vitro potency assays for human T cells used in anti-tumor immunotherapy[J]. *Cytotherapy*, 2018, 20(5): 601-622. DOI: 10.1016/j.jcyt.2018.01.011.
- [11] SVANE I M, VERDEGAAL E M. Achievements and challenges of adoptive T cell therapy with tumor-infiltrating or blood-derived

- lymphocytes for metastatic melanoma: what is needed to achieve standard of care?[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(10): 1081-1091. DOI: 10.1007/s00262-014-1580-5.
- [12] WEBER J, ATKINS M, HWU P, et al. White paper on adoptive cell therapy for cancer with tumor-infiltrating lymphocytes: a report of the CTEP subcommittee on adoptive cell therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(7): 1664-1673. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-10-2272.
- [13] KAWAKAMI Y, ROSENBERG S A, LOTZE M T. Interleukin 4 promotes the growth of tumor-infiltrating lymphocytes cytotoxic for human autologous melanoma[J]. *J Exp Med*, 1988, 168(6): 2183-2191.
- [14] WU R, FORGET M A, CHACON J, et al. Adoptive T-cell therapy using autologous tumor-infiltrating lymphocytes for metastatic melanoma: current status and future outlook[J]. *Cancer J*, 2012, 18(2): 160-175. DOI: 10.1097/PPO.0b013e31824d4465.
- [15] TRAN K Q, ZHOU J, DURFLINGER K H, et al. Minimally cultured tumor-infiltrating lymphocytes display optimal characteristics for adoptive cell therapy[J]. *J Immunother*, 2008, 31(8): 742-751. DOI: 10.1097/CJI.0b013e31818403d5.
- [16] BESSER M J, SHAPIRA-FROMMER R, TREVES A J, et al. Clinical responses in a phase II study using adoptive transfer of short-term cultured tumor infiltration lymphocytes in metastatic melanoma patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(9): 2646-2655. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-10-0041.
- [17] PAPA M Z, YANG J C, VETTO J T, et al. Combined effects of chemotherapy and interleukin 2 in the therapy of mice with advanced pulmonary tumors[J]. *Cancer Res*, 1988, 48(1): 122-129.
- [18] ZHAO Z, ZHANG X, SU L, et al. Fine tuning subsets of CD4(+) T cells by low-dosage of IL-2 and a new therapeutic strategy for autoimmune diseases[J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 56: 269-276 [2018-05-22]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576918300420?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.01.042.
- [19] KUROKI M, MIYAMOTO S, MORISAKI T, et al. Biological response modifiers used in cancer biotherapy[J/OL]. *Anticancer Res*, 2012, 32(6): 2229-2233[2018-05-22]. <http://ar.iiarjournals.org/content/by/year>.
- [20] MARABONDO S, KAUFMAN H L. High-dose interleukin-2 (IL-2) for the treatment of melanoma: safety considerations and future directions[J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2017, 16(12): 1347-1357. DOI: 10.1080/14740338.2017.1382472.
- [21] HUGHES T, BROUCEK J, IODICE G, et al. Metastasectomy following incomplete response to high-dose interleukin-2[J]. *J Surg Oncol*, 2018, 117(4): 572-578. DOI: 10.1002/jso.24916.
- [22] ANDERSEN R, DONIA M, ELLEBAEK E, et al. Long-lasting complete responses in patients with metastatic melanoma after adoptive cell therapy with tumor-infiltrating lymphocytes and an attenuated IL2 regimen[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(15): 3734-3745. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-15-1879.
- [23] HAVUNEN R, SIURALA M, SORSA S, et al. Oncolytic adenoviruses armed with tumor necrosis factor alpha and interleukin-2 enable successful adoptive cell therapy[J/OL]. *Mol Therapy Oncolytics*, 2017, 4: 77-86[2018-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5363700/>. DOI: 10.1016/j.omto.2016.12.004.
- [24] KHAMMARI A, KNOL A C, NGUYEN J M, et al. Adoptive TIL transfer in the adjuvant setting for melanoma: long-term patient survival[J / OL]. *J Immunol Res*, 2014, 2014: 186212[2018-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3987883/>. DOI: 10.1155/2014/186212.
- [25] DUDLEY M E, YANG J C, 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. DOI: 10.1200/jco.2008.16.5449.
- [26] WEIR G M, HRYTSENKO O, QUINTON T, et al. Anti-PD-1 increases the clonality and activity of tumor infiltrating antigen specific T cells induced by a potent immune therapy consisting of vaccine and metronomic cyclophosphamide[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2016, 4: 68[2018-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5067905/>. DOI: 10.1186/s40425-016-0169-2.
- [27] GOFF S L, DUDLEY M E, CITRIN D E, et al. Randomized, prospective evaluation comparing intensity of lymphodepletion before adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with metastatic melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(20): 2389-2397. DOI: 10.1200/jco.2016.66.7220.
- [28] ROSENBERG S A, YANG J C, SHERRY R M, 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. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-11-0116.
- [29] SPENCER K, PARRISH R, BARTON R, et al. Palliative radiotherapy[J/OL]. *BMJ*, 2018, 360: k821[2018-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5865075/>. DOI: 10.1136/bmj.k821.
- [30] IRVIN W P Jr, BLISS S A, RICE L W, et al. Malignant melanoma of the vagina and locoregional control: radical surgery revisited[J]. *Gynecol Oncol*, 1998, 71(3): 476-480. DOI: 10.1006/gyno.1998.5188.
- [31] SHI W. Radiation therapy for melanoma[M]//WARD W H, FARMA J M. Cutaneous melanoma: etiology and therapy. Brisbane AU, 2017.
- [32] ALIRU M L, SCHOENHALS J E, VENKATESULU B P, et al. Radiation therapy and immunotherapy: what is the optimal timing or sequencing? [J]. *Immunotherapy*, 2018, 10(4): 299-316. DOI: 10.2217/imt-2017-0082.
- [33] ZHANG Y, YANG S L, ZHANG H R, et al. Combination radiotherapy and cantharidin inhibits lung cancer growth through altering tumor infiltrating lymphocytes[J]. *Future Oncol*, 2017, 13(13): 1173-1180. DOI: 10.2217/fon-2016-0437.
- [34] RODRIGUEZ-RUIZ M E, RODRIGUEZ I, GARASA S, et al. Abscopal effects of radiotherapy are enhanced by combined immunostimulatory mabs and are dependent on CD8 T cells and crosspriming [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(20): 5994-6005. DOI: 10.1158/0008-5472.can-16-0549.
- [35] VANPOUILLE-BOX C, FORMENTI S C, DEMARIA S. Toward precision radiotherapy for use with immune checkpoint blockers[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(2): 259-265. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-16-0037.
- [36] MATTIA G, PUGLISI R, ASCIONE B, et al. Cell death-based treatments of melanoma: conventional treatments and new therapeutic strategies[J / OL]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 112[2018-05-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5833861/>. DOI: 10.1038/s41419-017-0059-7.
- [37] HODI F S, O'DAY S J, MCDERMOTT D F, et al. Improved survival

- with ipilimumab in patients with metastatic melanoma[J]. *New Engl J Med*, 2010, 363(8): 711-723. DOI: 10.1056/NEJMoa1003466.
- [38] SHEPARD B, TROWER C, HENDRICKSON S. Toxic injury to the gastrointestinal tract after ipilimumab therapy for advanced melanoma[J]. *J Am Osteopath Assoc*, 2018, 118(1): 40-44. DOI: 10.7556/jaoa.2018.007.
- [39] EGGERMONT A M, CHIARION-SILENI V, GROB J J, et al. Prolonged survival in stage iii melanoma with ipilimumab adjuvant therapy[J]. *New Engl Med*, 2016, 375(19): 1845-1855. DOI: 10.1056/NEJMoa1611299.
- [40] DIEM S, HASAN ALI O, ACKERMANN C J, et al. Tumor infiltrating lymphocytes in lymph node metastases of stage III melanoma correspond to response and survival in nine patients treated with ipilimumab at the time of stage IV disease[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67(1): 39-45. DOI: 10.1007/s00262-017-2061-4.
- [41] BJOERN J, LYGAA R, ANDERSEN R, et al. Influence of ipilimumab on expanded tumour derived T cells from patients with metastatic melanoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(16): 27062-2774. DOI: 10.18632/oncotarget.16003.
- [42] LI B, VANROEY M, WANG C, et al. Anti-programmed death-1 synergizes with granulocyte macrophage colony-stimulating factor-secreting tumor cell immunotherapy providing therapeutic benefit to mice with established tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(5): 1623-1634. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-08-1825.
- [43] DIEM S, KASENDA B, SPAIN L, et al. Serum lactate dehydrogenase as an early marker for outcome in patients treated with anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma[J]. *Br J Cancer*, 2016, 114(3): 256-261. DOI: 10.1038/bjc.2015.467.
- [44] KAUNITZ G J, COTTRELL T R, LILO M, et al. Melanoma subtypes demonstrate distinct PD-L1 expression profiles[J]. *Lab Invest*, 2017, 97(9): 1063-1071. DOI: 10.1038/labinvest.2017.64.
- [45] ASPESLAGH S, MATIAS M, PALOMAR V, et al. In the immunoncology era, is anti-PD-1 or anti-PD-L1 immunotherapy modifying the sensitivity to conventional cancer therapies? [J/OL]. *Eur J Cancer*, 2017, 87: 65-74[2018-05-22]. <https://sciencedirect.com/science/journal/09598049>. DOI: 10.1016/j.ejca.2017.09.027.
- [46] DONIA M, KJELDSSEN J W, ANDERSEN R, et al. PD-1(+) polyfunctional T cells dominate the periphery after tumor-infiltrating lymphocyte therapy for cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(19): 5779-5788. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-16-1692.
- [47] ILIEVA K M, CORREA I, JOSEPHS D H, et al. Effects of BRAF mutations and BRAF inhibition on immune responses to melanoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(12): 2769-2783. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0290.
- [48] SOSMAN J A, KIM K B, SCHUCHTER L, et al. Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib[J]. *New Engl J Med*, 2012, 366(8): 707-714. DOI: 10.1056/NEJMoa1112302.
- [49] DENIGER D C, KWONG M L, PASETTO A, et al. A pilot trial of the combination of vemurafenib with adoptive cell therapy in patients with metastatic melanoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(2): 351-362. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-16-0906.
- [50] SCHOBER K, BUSCH D H. TIL 2.0: more effective and predictive T-cell products by enrichment for defined antigen specificities[J]. *Eur J Immunol*, 2016, 46(6): 1335-1339. DOI: 10.1002/eji.201646436.

[收稿日期] 2018-03-15

[修回日期] 2018-09-05

[本文编辑] 党瑞山