

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.10.017

· 综述 ·

## 靶向CD47抗肿瘤治疗的研究进展

### Research progress on anti-tumor therapy targeting CD47

黄清花 综述; 张文婷, 金花 审阅(广东医科大学医学检验学院 临床免疫学检验教研室, 广东 东莞 523808)

**[摘要]** CD47是细胞表面高度糖化的穿膜蛋白,是一种“别吃我”信号,可与信号调节蛋白 $\alpha$ (SIRP $\alpha$ )等形成CD47-SIRP $\alpha$ 抑制信号复合体,从固有免疫和适应性免疫两方面同时逃避机体的免疫监视。研究发现,CD47在血液肿瘤和多种实体瘤中高表达,通过与巨噬细胞上的SIRP $\alpha$ 配体结合,启动一系列抑制性的信号转导而躲避吞噬,其高水平表达既能促进肿瘤细胞的生长又能促进肿瘤细胞的转移。通过抗CD47抗体阻断CD47-SIRP $\alpha$ 信号通路,达到抑制肿瘤细胞的免疫逃逸,增强巨噬细胞的吞噬作用和适应性免疫应答,是免疫治疗肿瘤的新途径。目前,国内外开展了越来越多靶向CD47-SIRP $\alpha$ 的药物或抗体的基础研究和临床试验,有望从抗体分子设计和重组蛋白等方面解决靶向CD47抗肿瘤治疗时发生的贫血和输液相关不良反应等问题。本文就CD47的分子结构与生理功能、CD47-SIRP $\alpha$ 表达调控机制、CD47抗肿瘤治疗研究现状以及靶向CD47导致的相关生物安全性问题和解决方案等方面进行综述,为CD47新靶点的基础研究和临床应用提供参考。

**[关键词]** CD47; 肿瘤; “别吃我”信号; 信号调节蛋白 $\alpha$ (SIRP $\alpha$ ); 靶向治疗; 免疫治疗

**[中图分类号]** R730.2; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)10-1161-06

近年来肿瘤治疗更趋向于研究靶向、精准的治疗方案,其中免疫疗法<sup>[1]</sup>,如利用免疫检查点抑制剂靶向作用于特异细胞表面分子(如CTLA-4、PD-1、PD-L1等)已成功用于多种肿瘤的临床治疗,并显示了强有力的治疗效果。CD47分子作为重要成分参与机体的固有免疫和适应性免疫,利用CD47与信号调节蛋白 $\alpha$ (signal-regulated protein alpha, SIRP $\alpha$ )结合形成信号通路来调控免疫应答和介导双向信号调控,可使实体瘤微环境中巨噬细胞增高,刺激诱导T细胞免疫活性,从而增强吞噬和杀伤癌变细胞的能力。在病理状态下,CD47可在多种血液肿瘤和实体瘤中高表达,通过与其配体SIRP $\alpha$ 结合,启动一系列抑制性信号转导而躲避吞噬,并抑制巨噬细胞对肿瘤抗原的提呈<sup>[2]</sup>。因此,CD47的免疫性质决定了其可作为抗肿瘤免疫治疗的新靶点,目前已大量开展CD47 mAb在肿瘤免疫治疗的临床试验<sup>[3]</sup>。本文通过介绍CD47-SIRP $\alpha$ 信号轴的基本反应原理、针对该信号轴的肿瘤治疗的临床研究进展、现阶段靶向CD47治疗存在的生物安全问题及其解决方案,旨在为CD47新靶点的基础研究和临床应用提供一定的参考资料。

#### 1 CD47概述

##### 1.1 CD47的分子结构与生物功能

CD47是一种高度糖化的穿膜蛋白,广泛分布于细胞表面,包括一个氨基端细胞外可变区域,一个由3~5个高度疏水的穿膜片段构成的穿膜区域和一个亲水的羧基端胞质尾区。CD47的配体包括SIRP $\alpha$ 、血小板

反应蛋白1(thrombospondin 1, TSP-1)和整合素等。SIRP $\alpha$ 亦称蛋白酪氨酸磷酸酶底物1(protein tyrosine phosphatase substrate 1, SHPS-1),主要表达于巨噬细胞、髓样树突细胞、单核细胞等髓系细胞膜上;TSP-1是巨噬细胞、单核细胞、血小板及多种非造血细胞分泌的一种多结构域胞外基质糖蛋白,由结合细胞外基质成分和细胞表面受体共同组成。

CD47与配体相互作用,介导细胞的增殖、迁移、吞噬、凋亡、免疫自稳和NO信号转导的抑制等反应<sup>[4-5]</sup>。CD47是巨噬细胞区别“自己”或“非己”的重要标志物,在红细胞的吞噬和清除中发挥着重要作用<sup>[2,6]</sup>:正常红细胞表面CD47表达水平较高,与巨噬细胞表面SIRP $\alpha$ 结合,产生免疫抑制信号;当红细胞衰老后,CD47表达水平降低,CD47缺失的衰老红细胞被视为“异物”,迅速在脾被巨噬细胞清除<sup>[7]</sup>。

##### 1.2 靶向CD47药物及其作用机制

医药魔方全球新药数据库显示,迄今为止尚未

**[基金项目]** 广东省科技计划资助项目(No.2017A010103019);广东省“攀登计划”专项资金(No.pdjh2019b0224);广东医科大学大学生创新实验项目(No.ZZDC003)。Project supported by the Science and Technology Project of Guangdong Province (No.2017A010103019), the Guangdong "Climbing Plan" Special Funds (No.pdjh2019b0224), and the Innovative Experimental Project for College Students of Guangdong Medical University (No. ZZDC003)

**[作者简介]** 黄清花(1995-),女,本科生,E-mail: 1694718926@qq.com

**[通信作者]** 金花(JIN Hua, corresponding author),博士,副教授,硕士生导师,主要从事生物纳米材料及肿瘤的免疫治疗研究,E-mail: jinhua0413@gdmu.edu.cn

有美国FDA批准的CD47抗体药物。全球针对CD47或SIRP $\alpha$ 相关的抗体药物在研项目共40个,其中2个处于临床I/II期,11个处于临床I期,2个处于申报临床阶段,其余均为临床前研究阶段,进展最快的是Forty Seven公司的Hu5F9-G4。国内起步较晚,13个在研项目中仅2个进入临床I期。

CD47抗体杀伤肿瘤的作用机制,主要有以下4种说法:(1)CD47抗体可以通过阻断肿瘤细胞的CD47与巨噬细胞的SIRP $\alpha$ 结合而增强巨噬细胞对肿瘤细胞的吞噬<sup>[8]</sup>;(2)CD47抗体或SIRP $\alpha$ -Fc融合蛋白还可通过Fc段发挥细胞毒作用(包括ADCC和CDC)<sup>[9]</sup>;(3)CD47抗体还可通过半胱天冬酶非依赖性机制诱导凋亡而直接清除肿瘤细胞<sup>[10]</sup>;(4)CD47抗体可以通过与亲吞噬分子协同作用,使DC吞噬摄取肿瘤细胞,随后将抗原提呈给CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞,从而刺激抗肿瘤适应性免疫应答<sup>[11]</sup>。

### 1.3 CD47与肿瘤进展的关系

CD47过表达能促进肿瘤细胞的增殖。CD47与SIRP $\alpha$ 结合为CD47-SIRP $\alpha$ 信号复合物,使巨噬细胞胞内ITIM基序发生酪氨酸磷酸化,酪氨酸磷酸酶SHP-1和SHP-2可抑制肌球蛋白的聚集,释放“别吃我”抑制信号,逃避免疫监视<sup>[12]</sup>。此外,CD47过表达也能促进肿瘤转移。CD47和TSP-1结合,借助CD36发生级联反应,抑制NO,使得细胞内NO保持低浓度,加快形成和激活破骨细胞,而破骨细胞的激活有助于促进肿瘤细胞向骨转移。因此,肿瘤细胞表面的CD47与TSP-1结合可促进破骨细胞的形成,破骨细胞又反作用于肿瘤细胞,促进肿瘤的骨转移<sup>[13-14]</sup>。

## 2 CD47抗体在各系统肿瘤中的作用

### 2.1 血液系统肿瘤

2.1.1 急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML) 25%的AML高表达CD47<sup>[15]</sup>,抑制CD47的表达,AML干细胞的Bcl-2、Bcl-x1和MCL-1等抗凋亡基因的表达也随之降低<sup>[16]</sup>。有研究者<sup>[17-18]</sup>在mRNA分子和蛋白质水平上证明,AML患者中白血病干细胞CD47高表达,且与预后不良相关。几种商品化的抗CD47抗体(包括C47B157、C47B161、C47B222和B6H12.2)均能抑制HL60、MV4-11和Kasumi-3 AML细胞移植小鼠和食蟹猴模型的外周白血血病细胞<sup>[19]</sup>。LIN等<sup>[20]</sup>将Trx-SIRP $\alpha$ ext融合蛋白和Trx-hCD47ext融合蛋白分别与Jurkat细胞共孵育的结果显示,两种多肽可以在体外有效增强巨噬细胞吞噬白血病细胞的能力<sup>[1]</sup>,其机制可能是人CD47融合蛋白阻断了CD47-SIRP $\alpha$ 相互结合。

2.1.2 淋巴瘤 B细胞非霍奇金淋巴瘤(B cell non-

hodgkin's lymphoma, B-NHL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)和滤泡性淋巴瘤(follicular lymphoma, FL)等淋巴瘤细胞中CD47均呈现显著高表达,且CD47高表达多预示预后不良<sup>[21]</sup>。体外研究<sup>[22]</sup>表明,CD47抗体通过巨噬细胞的吞噬作用诱导多种恶性淋巴瘤细胞系的凋亡,而不能直接杀伤NHL细胞;体内研究<sup>[23]</sup>表明,CD47抗体可阻止小鼠淋巴瘤细胞的扩散并延长小鼠生存期。CD47抗体和博纳吐单抗(blinatumomab—靶向CD19和CD3的单抗)联合治疗人NHL移植小鼠可持续抑制淋巴瘤,该抗体通过诱导吞噬作用和T细胞毒性增强了疗效<sup>[22]</sup>。WEISKOPF等<sup>[24]</sup>的犬淋巴瘤异种移植模型和ADVANI等<sup>[25]</sup>的临床研究均显示,人源化的IgG4同种型CD47抗体Hu5F9-G4可与抗肿瘤药物利妥昔单抗(rituximab)协同作用,通过ADCC作用来消除B-NHL细胞。Hu5F9-G4对22例淋巴瘤患者(15例DLBCL患者,7例FL患者,其中95%的患者伴利妥昔单抗难治的疾病)的临床I b期试验结果显示,DLBCL患者客观反应率(objective response rate, ORR)为40%,完全反应率(complete response rate, CRR)为33%;FL患者ORR为71%,CRR为43%。Hu5F9-G4与利妥昔单抗联用,使得侵袭性和惰性淋巴瘤患者体内吞噬作用明显增强,未表现出临床上显著的安全隐患。

2.1.3 多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM) CD47在骨髓瘤细胞中过表达,并且其表达水平随MM的进展而增高<sup>[26]</sup>。KIM等<sup>[27]</sup>用骨髓瘤细胞移植小鼠模型证实B6H12阻断CD47-SIRP $\alpha$ ,可抑制骨髓瘤微环境的形成并促进吞噬细胞的吞噬作用。为避免损伤正常细胞,用不含Fc段的MABL-scFv治疗KPMM2人骨髓瘤细胞移植小鼠,该CD47抗体清除肿瘤不依赖于细胞毒作用,而是直接诱导细胞凋亡,且不受化学疗法的影响,因此可尝试把MABL-scFv与化疗药物相结合<sup>[28]</sup>。破骨细胞的增加和进行性溶骨性骨病的发展是骨髓瘤最早的表现之一,用siRNA或CD47抗体封闭CD47可破坏由肿瘤介导的破骨细胞形成过程<sup>[13]</sup>。靶向CD47或改变骨髓微环境,有望缓解骨髓瘤和骨质疏松症。

### 2.2 消化系统肿瘤

2.2.1 胃癌 胃癌细胞MKN45和MKN74约90%以上均表达CD47<sup>[17]</sup>,CD47高表达的胃癌细胞的增殖能力远强于CD47低表达的细胞,也更容易形成肿瘤球状体。封闭CD47-SIRP $\alpha$ 轴,体外可显著增强人巨噬细胞对癌细胞的吞噬作用,体内可延长腹膜转移癌小鼠的存活。在EB病毒相关的胃癌(EBVaGC)的研究中<sup>[29]</sup>,与EBV阴性胃癌相比EBVaGC细胞表面

CD47 表达增加,高 CD47 表达与低 CD8<sup>+</sup>T 细胞/Foxp3<sup>+</sup>T 细胞比率表明 EBVaGC 中 CD47 能对适应性抗肿瘤免疫抑制,并且 CD47 高表达与预后较差相关。CD47 蛋白水平上原发性胃癌组织比正常胃组织高,但 mRNA 分子水平上两者并无差异性。这可能是正常细胞在转录后,存在 CD47 mRNA 翻译受阻或蛋白质被酶解破坏等。因此,外周血和骨髓中 CD47 可作为胃癌患者免疫治疗的靶点,但 CD47 mRNA 不能作为胃癌预后的判断标志物<sup>[30]</sup>。

**2.2.2 结肠癌** 结肠癌细胞的转移得益于 SW480 细胞分泌 IL-10 等细胞因子,促进肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)向 M2 型分化,为癌细胞的增殖营造适宜的肿瘤微环境<sup>[31]</sup>。用 CD47 抗体、SIRP $\alpha$  抗体<sup>[32]</sup>和 siRNA 抑制 CD47 表达,可避免 M2 细胞分化,破坏肿瘤微环境,并削弱 SW480 细胞的迁移。RING 等<sup>[33]</sup>将不同的结肠腺癌细胞系与人巨噬细胞共同孵育,并用靶向 SIRP $\alpha$  的抗体 KWAR23 抗体联合靶向帕尼单抗(panitumumab)或西妥昔单抗处理后发现,KWAR23 与这两种单抗联合使用显著增强巨噬细胞对 DLD-1 等 4 种不同结肠腺癌细胞的吞噬,且 KWAR23 诱导巨噬细胞介导的肿瘤细胞吞噬作用的有效性取决于肿瘤抗体的最佳浓度。

**2.2.3 肝癌** CD47 高表达促进肝癌细胞移植瘤小鼠的体内转移<sup>[34]</sup>。使用 CD47 抗体或 SIRP $\alpha$  阻断抗体可增强巨噬细胞的吞噬作用<sup>[35-36]</sup>,联合使用化疗药物可抑制肝癌细胞的侵袭性<sup>[37-38]</sup>。研究<sup>[39]</sup>证明,在肿瘤干细胞存在时,透明质酸合成抑制剂 4 甲基伞形酮(4 methyl umbrella ketone, 4Mu)可下调肝癌细胞中 CD47 的表达,促进抗原提呈细胞的吞噬作用,并且 4Mu 与 Ad-IL12 结合,引发有效的 CTL 细胞的应答,有效延长了纤维化肝原位肝细胞癌模型动物的存活期。

**2.2.4 胰腺癌** 最新肿瘤相关统计资料<sup>[40-41]</sup>显示,胰腺癌存活率仅为 8%。CD47 在胰腺癌中也存在过表达现象,用 CD47 阻断抗体治疗可延缓小鼠转移性肿瘤的进展并延长存活率<sup>[42]</sup>。GOLUBOVSKAYA 等<sup>[43]</sup>证明,结合 CD47 抗原的嵌合抗原受体 CAR-T(CD47-CAR-T)细胞能有效杀伤胰腺癌细胞,并产生与 CD47 抗原表达相关的高水平细胞因子。有学者<sup>[44]</sup>开发了多功能化氧化铁磁性纳米颗粒(magnetic nanoparticles, MNP),包括化疗药物吉西他滨(gemcitabine, GCB)和治疗佐剂 CD47 抗体。由纳米颗粒包裹的药物细胞毒副作用较弱,锚定于纳米颗粒表面的 CD47 抗体靶向递送较强,因此 GCB-CD47-MNP 对胰腺癌治疗效果更佳。光辉霉素 A(mithramycin A, MIT)是一种具有神经保护功能的抗肿瘤抗生素,是临床上长期使用的化疗药物之一<sup>[45]</sup>,其新型

纳米颗粒优化为 MIT-CD47-NP,可下调肿瘤干细胞 CD47 表达水平。纳米研究领域若能保证 MNP 和 MIT-NP 在循环中的稳定,则这些载药纳米颗粒在胰腺癌治疗中优越于非纳米免疫治疗。

## 2.3 生殖系统肿瘤

**2.3.1 卵巢癌(ovarian carcinoma, EOC)** EOC 患者预后和存活率评估的相关因素之一是 CD47,CD47 与手术分期、化疗耐药性等有关,低表达患者对标准手术治疗和放化疗有更好的治疗反应,并趋向于改善 EOC 的总体存活率<sup>[46]</sup>。TCGA 数据库中 316 例卵巢浆液性癌中有 15 例上调了 CD47 的表达,占比 5%<sup>[47]</sup>。BRIGHTWELL 等<sup>[48]</sup>对 265 例上皮性 EOC 患者标本组成的组织芯片进行回顾性分析,发现在癌症基因组图谱中 79.2%(210/265)表达 CD47,48.7%(129/265)表达 CD47 蛋白。显然 EOC 中 CD47 在基因水平和蛋白水平上都以高频率表达。

**2.3.2 乳腺癌** 从 738 例乳腺癌患者骨髓和外周血中 CD47 和 SIRP $\alpha$  mRNA 表达情况来看,CD47 与 SIRP $\alpha$  的表达强烈相关,且 CD47 高表达者的存活率明显低于 CD47 低表达者<sup>[49]</sup>。在小鼠乳腺癌模型中,蒽环类抗生素和抗 CD47 疗法相结合可抑制侵袭性乳腺癌的生长,同时预防了由心脏毒性引起的细胞自噬<sup>[50]</sup>。

## 2.4 呼吸系统肿瘤

小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)对放化疗非常敏感但极易发生转移和扩散<sup>[51]</sup>,而非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)以局部侵犯为主<sup>[52]</sup>,部分患者可能发生血液转移和肿瘤复发<sup>[53]</sup>。CD47 mRNA 和蛋白在这两种原发性肺癌及其细胞的表面存在过表达,CD47 阻断抗体 Hu5F9-G4 可促进细胞因子的分泌,使巨噬细胞募集和活化,抑制体内 SCLC 的生长,联合其他靶点药物还可增强 SCLC 细胞的吞噬作用<sup>[53]</sup>。SCLC 细胞系 NCI-H82 和 NCI-H524 的人巨噬细胞吞噬能力诱导测试显示,美登素洛妥珠单抗(lorvotuzumab mertansine)处理组吞噬作用明显增强,且美登素洛妥珠单抗与 CV1 具有协同作用<sup>[54]</sup>。NSCLC 细胞系 A549 和 NCI-H520 在转染了 CD47-siRNA 后,CD47 的内源性表达显著下调且细胞迁移率和侵袭性也随之下降。此外,通过瞬时转染 pcDNA3.1-3xFlag-CD47 在 A549 和 NCI-H520 细胞中过表达 CD47,细胞的迁移和侵袭能力明显增强,这与 NSCLC 异种移植瘤小鼠模型体内实验结果一致。在 siRNA 转染后 72 h 内细胞增殖的活力并没有降低,表明 NSCLC 迁移/侵袭减少可能与因 CD47 减少而致的细胞毒性作用无相关性<sup>[55]</sup>。细胞分裂控制蛋白 42(cell division control protein, Cdc42)是一种小

GTP酶,是肿瘤细胞的重要调节因子<sup>[56-57]</sup>。80例NSCLC晚期患者中,80.4%具有高CD47表达的NSCLC样本表现出强烈的Cdc42染色信号,85.3%CD47低表达的肿瘤样本显示很低或不可检测的Cdc42信号,即Cdc42与CD47表达呈正相关,Cdc42的调控因子之一可能是CD47。ZHAO等<sup>[55]</sup>指出,高表达CD47的肺癌A549和NCI-H520细胞随Cdc42的降低,细胞的迁移及侵袭能力减弱。

### 3 靶向CD47治疗的生物安全性

CD47肿瘤免疫治疗最理想的效果是用mAb阻断CD47-SIRP $\alpha$ 轴,即可激活巨噬细胞对肿瘤细胞的吞噬。然而,现实并不这么简单。2017年,Arch Oncology终止了CD47单抗Ti-061在欧洲的一项实体瘤I/II期临床试验;2018年,Celgene公司中止了CD47单抗CC-90002用于治疗AML和高风险骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)的临床试验<sup>[58]</sup>。其试验的原因是,CD47抗体存在尚未解决的生物安全性问题:一是抗体脱靶使正常红细胞CD47被封闭,钙网蛋白(“吃我”)表达增加<sup>[8]</sup>,引起贫血;二是肿瘤细胞的耐药性增强导致原剂量CD47药物无法发挥作用,需要增加剂量以满足癌细胞CD47阻断率(临床前研究表明,CD47阻断率要达到40%~60%才发挥诱导吞噬作用),但剂量的增加会诱发恶心、呕吐等不良反应。

要避免或减弱靶向CD47的不良反应,最根本的是从分子设计上解决问题。经典的CD47 mAb包括与SIRP $\alpha$ 特异性结合的活性部位F(ab')<sub>2</sub>和引起细胞毒作用的Fc段。如果Fc段细胞毒作用过强,必然会大量杀伤正常红细胞;相反,如果完全摒弃Fc段,只依赖CD47-SIRP $\alpha$ 信号通路本身发挥生物学效应,则不足以杀伤肿瘤细胞。目前,CD47抗体的设计主要有3种:(1)CC-90002、Hu5F9-G4和SRF-321等以有效性换取更高的安全性,其Fc段替换为细胞毒作用极弱的IgG4;(2)TTI-621从分子构象上降低CD47药物对红细胞的结合力,其将人SIRP $\alpha$ 的F(ab')<sub>2</sub>(GenBank AAH26692)与IgG1的Fc(hinge-CH2-CH3, UniProtKB Swiss-Prot, P01857)连接为抗体融合蛋白<sup>[59]</sup>;(3)ALX148<sup>[60]</sup>和Hu5F9-G4是彻底放弃CD47抗体的细胞毒作用,CD47抗体的F(ab')<sub>2</sub>与另一种依赖ADCC和CDC发挥肿瘤杀伤效应的药物相连接,构成双特异性抗体。

除了修饰抗体分子,还可考虑调整用药方式,权衡给药方式与药效,使靶向药物发挥最大生物学活性。ADVANI及其团队<sup>[25]</sup>提出了“引发剂量”和“治疗剂量”相结合的治疗思路,治疗初期给予短期低剂量

的Hu5F9-G4联合利妥昔单抗,这种引发剂量导致的可预测和短暂的轻度贫血(选择性地消除衰老的红细胞),然后是新红细胞的产生(补偿性网织红细胞增多),宏观效果是将红细胞的整体年龄从年老变年轻,使贫血表现为一过性和整体可控性。

### 4 结语

近年来各系统肿瘤的研究成果已经明确了CD47是一个有极大应用前景的固有免疫检查点,靶向CD47-SIRP $\alpha$ 轴的研究在白血病、淋巴瘤、肺癌、肝癌等常见肿瘤的靶向治疗中总体取得了瞩目的进展,多个CD47靶向药物已进入临床试验阶段。但也存在如贫血等一系列的生物安全问题,且临床前研究普遍存在肿瘤对CD47靶向药物应答效果不一、实际疗效达不到预期疗效。针对此问题,替换或者放弃引起细胞毒性的Fc段、研制抗体融合蛋白以及纳米颗粒为靶向载药体等策略相继问世。此外,CD47在肿瘤细胞的免疫逃避中担任的确切角色尚未达到共识,对免疫逃避的调控机制尚未明确,但相信随着科学研究的不断进步,CD47的调控机制将会得到明确阐述。生物安全问题的进一步解决与CD47调控机制的进一步明确,将会使得靶向CD47肿瘤免疫治疗成为未来快速发展的领域。

### [参考文献]

- [1] SCHREIBER R D, OLD L J, SMYTH M J. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion[J]. *Science*, 2011, 331(6024): 1565-1570. DOI:10.1126/science.1203486.
- [2] MCCracken M N, CHA A C, WEISSMAN I L. Molecular pathways: activating T cells after cancer cell phagocytosis from blockade of CD47 “Don't eat me” signals[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(16): 3597-3601. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-14-2520.
- [3] VEILLETTE A, CHEN J. SIRP $\alpha$ -CD47 immune checkpoint blockade in anticancer therapy[J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(3): 173-184. DOI:10.1016/j.it.2017.12.005.
- [4] RATNIKOVA N M, LEZHININ Y N, FROLOVA E I, et al. CD47 receptor as a primary target for cancer therapy[J]. *Mol Biol*, 2017, 51(2): 216-225. DOI:10.1134/s0026893317010150.
- [5] GAO W, XIE X S. The role of TSP-1-CD47 in ROS-mediated pulmonary fibrosis induced by paraquat[J]. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*, 2018, 36(9): 653-661. DOI:110.3760/cma.j.issn.1001-9391.2018.09.003.
- [6] RUSS A, HUA A B, MONTFORT W R, et al. Blocking “don't eat me” signal of CD47-SIRP $\alpha$  in hematological malignancies, an in-depth review[J/OL]. *Blood Rev*, 2018, 32(6): 480-489[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6186508/>. DOI: 10.1016/j.blre.2018.04.005.
- [7] BURGER P, HILARIUS-STOKMAN P, DE KORTE D, et al. CD47 functions as a molecular switch for erythrocyte phagocytosis[J]. *Blood*, 2012, 119(23): 5512-5521. DOI:10.1182/blood-2011-10-

- 386805.
- [8] CHAO M P, JAISWAL S, WEISSMAN-TSUKAMOTO R, et al. Calreticulin is the dominant pro-phagocytic signal on multiple human cancers and is counterbalanced by CD47[J]. *Sci Transl Med*, 2010, 2 (63): 63ra94. DOI:10.1126/scitranslmed.3001375.
- [9] KIM M J, LEE J, LEE J, et al. Association of CD47 with natural killer cell-mediated cytotoxicity of head-and-neck squamous cell carcinoma lines[J]. *Tumor Biol*, 2008, 29(1): 28-34. DOI: 10.1159 / 000132568.
- [10] SAUMET A, SLIMANE M B, LANOTTE M, et al. Type 3 repeat/ C-terminal domain of thrombospondin-1 triggers caspase-independent cell death through CD47/alphavbeta3 in promyelocytic leukemia NB4 cells[J]. *Blood*, 2005, 106(2): 658-667. DOI: 10.1182 / blood-2004-09-3585.
- [11] TSENG D, VOLKMER J P, WILLINGHAM S B, et al. Anti-CD47 antibody-mediated phagocytosis of cancer by macrophages primes an effective antitumor T-cell response[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(27): 11103-11108. DOI:10.1073/pnas.1305569110.
- [12] ISHIKAWA-SEKIGAMI T, KANEKO Y, SAITO Y, et al. Enhanced phagocytosis of CD47-deficient red blood cells by splenic macrophages requires SHPS-1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 343(4): 1197-1200. DOI:10.1016/j.bbrc.2006.03.094.
- [13] KUKREJA A, RADFAR S, SUN B H, et al. Dominant role of CD47-thrombospondin-1 interactions in myeloma-induced fusion of human dendritic cells: implications for bone disease[J]. *Blood*, 2009, 114(16): 3413-3421. DOI:10.1182/blood-2009-03-211920.
- [14] ULUÇKAN O, BECKER S N, DENG H J, et al. CD47 regulates bone mass and tumor metastasis to bone[J/OL]. *Cancer Res*, 2009, 69(7): 3196-3204[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2763641/>. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-08-3358.
- [15] GALLI S, ZLOBEC I, SCHÜRCH C, et al. CD47 protein expression in acute myeloid leukemia: A tissue microarray-based analysis[J]. *Leuk Res*, 2015, 39(7): 749-756. DOI:10.1016/j.leukres.2015.04.007.
- [16] SONG G L, YANG L Y. Inhibited CD47 gene affects the clearance of acute myelogenous leukemia stem cells[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6): 10303-10309. DOI:10.1002/jcb.28314.
- [17] MAJETI R, CHAO M P, ALIZADEH A A, et al. CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells[J/OL]. *Cell*, 2009, 138(2): 286-299[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2726837/>. DOI:10.1016/j.cell.2009.05.045.
- [18] YANG K, XU J, LIU Q H, et al. Expression and significance of CD47, PD1 and PDL1 in T-cell acute lymphoblastic lymphoma/leukemia[J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(2): 265-271. DOI: 10.1016/j.prp.2018.10.021.
- [19] PIETSCH E C, DONG J, CARDOSO R, et al. Anti-leukemic activity and tolerability of anti-human CD47 monoclonal antibodies[J/OL]. *Blood Cancer J*, 2017, 7(2): e536[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5386341/>. DOI:10.1038/bcj.2017.7.
- [20] LIN Y, YAN X Q, YANG F, et al. Soluble extracellular domains of human SIRP $\alpha$  and CD47 expressed in *Escherichia coli* enhances the phagocytosis of leukemia cells by macrophages in vitro[J]. *Protein Expr Purif*, 2012, 85(1): 109-116. DOI:10.1016/j.pep.2012.07.002.
- [21] Anti-CD47 agent boosts macrophage activity in NHL[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(1): 7-8. DOI:10.1158/2159-8290.CD-NB2018-155.
- [22] XU L J, WANG S L, LI J, et al. CD47/SIRP $\alpha$  blocking enhances CD19/CD3-bispecific T cell engager antibody-mediated lysis of B cell malignancies[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509 (3): 739-745. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.12.175.
- [23] PICCIONE E C, JUAREZ S, TSENG S, et al. SIRP-antibody fusion proteins selectively bind and eliminate dual antigen-expressing tumor cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(20): 5109-5119. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-15-2503.
- [24] WEISKOPF K, ANDERSON K L, ITO D, et al. Eradication of canine diffuse large B-cell lymphoma in a murine xenograft model with CD47 blockade and anti-CD20[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(12): 1072-1087[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454476/>. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-16-0105.
- [25] ADVANI R, FLINN I, POPPLEWELL L, et al. CD47 blockade by Hu5F9-G4 and rituximab in non-Hodgkin's lymphoma[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(18): 1711-1721. DOI:10.1056/nejmoa1807315.
- [26] KUMAR S K, DISPENZIERI A, LACY M Q, et al. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients[J]. *Leukemia*, 2014, 28(5): 1122-1128. DOI:10.1038/leu.2013.313.
- [27] KIM D, WANG J, WILLINGHAM S B, et al. Anti-CD47 antibodies promote phagocytosis and inhibit the growth of human myeloma cells [J]. *Leukemia*, 2012, 26(12): 2538-2545. DOI:10.1038/leu.2012.141.
- [28] KIKUCHI Y, UNO S, KINOSHITA Y, et al. Apoptosis inducing bivalent single-chain antibody fragments against CD47 showed antitumor potency for multiple myeloma[J]. *Leuk Res*, 2005, 29(4): 445-450. DOI:10.1016/j.leukres.2004.09.005.
- [29] ABE H, SAITO R, ICHIMURA T, et al. CD47 expression in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: coexistence with tumor immunity lowering the ratio of CD8<sup>+</sup>/Foxp3<sup>+</sup> T cells[J]. *Virchows Arch*, 2018, 472(4): 643-651. DOI: 10.1007 / s00428-018-2332-2.
- [30] SUDO T, TAKAHASHI Y, SAWADA G, et al. Significance of CD47 expression in gastric cancer[J/OL]. *Oncol Lett*, 2017, 14(1): 801-809[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5494652/>. DOI:10.3892/ol.2017.6257.
- [31] ZHANG Y, SIME W, JUHAS M, et al. Crosstalk between colon cancer cells and macrophages via inflammatory mediators and CD47 promotes tumour cell migration[J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(15): 3320-3334. DOI:10.1016/j.ejca.2013.06.005.
- [32] ABE T, TANAKA Y, PIAO J L, et al. Signal regulatory protein alpha blockade potentiates tumoricidal effects of macrophages on gastroenterological neoplastic cells in syngeneic immunocompetent mice[J]. *Ann Gastroenterol Surg*, 2018, 2(6): 451-462. DOI:10.1002/ags3.12205.
- [33] RING N G, HERNDLER-BRANDSTETTER D, WEISKOPF K, et al. Anti-SIRP $\alpha$  antibody immunotherapy enhances neutrophil and macrophage antitumor activity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(49): E10578-E10585. DOI:10.1073/pnas.1710877114.
- [34] RIVERA A, FU X P, TAO L H, et al. Expression of mouse CD47 on human cancer cells profoundly increases tumor metastasis in murine models[J/OL]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 964[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4682254/>. DOI:10.1186/s12885-015-1980-8.
- [35] ROBERTS D D, KAUR S, SOTO-PANTOJA D R. Therapeutic tar-

- getting of the thrombospondin-1 receptor CD47 to treat liver cancer [J]. *J Cell Commun Signal*, 2015, 9(1): 101-102. DOI: 10.1007/s12079-015-0283-9.
- [36] XIAO Z Y, CHUNG H, BANAN B, et al. Antibody mediated therapy targeting CD47 inhibits tumor progression of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Cancer Lett*, 2015, 360(2): 302-309[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4886734/>. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.02.036.
- [37] LO J, LAU E Y T, SO F T Y, et al. Anti-CD47 antibody suppresses tumour growth and augments the effect of chemotherapy treatment in hepatocellular carcinoma[J]. *Liver Int*, 2016, 36(5): 737-745. DOI:10.1111/liv.12963.
- [38] TAKAHASHI S. Molecular functions of SIRP $\alpha$  and its role in cancer (review) [J]. *Biomed Rep*, 2018, 9(1): 3-7. DOI: 10.3892/br.2018.1102.
- [39] RODRÍGUEZ M M, FIORE E, BAYO J, et al. 4Mu decreases CD47 expression on hepatic cancer stem cells and primes a potent antitumor T cell response induced by interleukin-12[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(12): 2738-2750. DOI:10.1016/j.ymthe.2018.09.012.
- [40] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21387.
- [41] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21442.
- [42] CIOFFI M, TRABULO S, HIDALGO M, et al. Inhibition of CD47 effectively targets pancreatic cancer stem cells via dual mechanisms [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(10): 2325. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-14-1399.
- [43] GOLUBOVSKAYA V, BERAHOVICH R, ZHOU H, et al. CD47-CAR-T cells effectively kill target cancer cells and block pancreatic tumor growth[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2017, 9(10): E139[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5664078/>. DOI:10.3390/cancers9100139.
- [44] TRABULO S, AIRES A, AICHER A, et al. Multifunctionalized iron oxide nanoparticles for selective targeting of pancreatic cancer cells [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861(6): 1597-1605. DOI:10.1016/j.bbagen.2017.01.035.
- [45] LIU X J, LI L, LIU X J, et al. Mithramycin-loaded mPEG-PLGA nanoparticles exert potent antitumor efficacy against pancreatic carcinoma[J/OL]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 5255-5269[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5533565/>. DOI:10.2147/IJN.S139507.
- [46] LI Y N, LU S H, XU Y, et al. Overexpression of CD47 predicts poor prognosis and promotes cancer cell invasion in high-grade serous ovarian carcinoma[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(6): 2901-2910 [2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5489890/>.
- [47] WANG H M, TAN M Z, ZHANG S, et al. Expression and significance of CD44, CD47 and c-met in ovarian clear cell carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(2): 3391-3404. DOI:10.3390/ijms16023391.
- [48] BRIGHTWELL R M, GRZANKOWSKI K S, LELE S, et al. The CD47 “don't eat me signal” is highly expressed in human ovarian cancer[J/OL]. *Gynecol Oncol*, 2016, 143(2): 393-397[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5077667/>. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.08.325.
- [49] NAGAHARA M, MIMORI K, KATAOKA A, et al. Correlated expression of CD47 and SIRP $\alpha$  in bone marrow and in peripheral blood predicts recurrence in breast cancer patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(18): 4625-4635. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-10-0349.
- [50] FELIZ-MOSQUEA Y R, CHRISTENSEN A A, WILSON A S, et al. Combination of anthracyclines and anti-CD47 therapy inhibit invasive breast cancer growth while preventing cardiac toxicity by regulation of autophagy[J/OL]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 172(1): 69-82[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6195817/>. DOI:10.1007/s10549-018-4884-x.
- [51] SUTHERLAND K D, PROOST N, BROUNS I, et al. Cell of origin of small cell lung cancer: inactivation of Trp53 and Rb1 in distinct cell types of adult mouse lung[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(6): 754-764. DOI:10.1016/j.ccr.2011.04.019.
- [52] SONKSEN M D, PERUGGIA M. Inferences on lung cancer mortality rates based on reference priors under partial ordering[J]. *J R Stat Soc C*, 2014, 63(5): 783-800. DOI:10.1111/rssc.12059.
- [53] WEISKOPF K, JAHCHAN N S, SCHNORR P J, et al. CD47-blocking immunotherapies stimulate macrophage-mediated destruction of small-cell lung cancer[J/OL]. *J Clin Invest*, 2016, 126(7): 2610-2620[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4922696/>. DOI:10.1172/JCI81603.
- [54] WHITEMAN K R, JOHNSON H A, MAYO M F, et al. Lorvotuzumab mertansine, a CD56-targeting antibody-drug conjugate with potent antitumor activity against small cell lung cancer in human xenograft models[J/OL]. *MAbs*, 2014, 6(2): 556-566[2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3984343/>. DOI: 10.4161/mabs.27756.
- [55] ZHAO H, WANG J X, KONG X D, et al. CD47 promotes tumor invasion and metastasis in non-small cell lung cancer[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 29719. DOI:10.1038/srep29719.
- [56] STENGEL K, ZHENG Y. Cdc42 in oncogenic transformation, invasion, and tumorigenesis[J/OL]. *Cell Signal*, 2011, 23(9): 1415-1423 [2019-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3115433/>. DOI:10.1016/j.cellsig.2011.04.001.
- [57] MIYASHITA M, OHNISHI H, OKAZAWA H, et al. Promotion of neurite and filopodium formation by CD47: roles of integrins, rac, and Cdc42[J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(8): 3950-3963. DOI: 10.1091/mbc.e04-01-0019.
- [58] PLIETH J. “Don't eat me” competition finds Celgene discontinuation hard to digest[N/OL]. *Vantage*, [2018-10-10]. <https://www.evaluate.com/vantage/articles/news/dont-eat-me-competition-finds-celgene-discontinuation-hard-digest>.
- [59] PETROVA P S, VILLER N N, WONG M, et al. TTI-621 (SIRP $\alpha$ Fc): A CD47-blocking innate immune checkpoint inhibitor with broad antitumor activity and minimal erythrocyte binding[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(4): 1068-1079. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-16-1700.
- [60] KAUDER S E, KUO T C, HARRABI O, et al. ALX148 blocks CD47 and enhances innate and adaptive antitumor immunity with a favorable safety profile[J]. *PLoS One*, 2018, 13(8): e0201832. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6104973/>. DOI:10.1371/journal.pone.0201832.

[收稿日期] 2019-05-04

[修回日期] 2019-07-25

[本文编辑] 党瑞山