

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2022.03.001

· 专家论坛 ·

创新与联合：肿瘤免疫细胞因子综合治疗的最佳组合的迭代与探索

钱程, 于益芝(海军军医大学 基础医学院 免疫学教研室暨医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433)



钱程 博士、副教授、硕士生导师, 现任海军军医大学医学免疫学国家重点实验室课题组长、国际遗传工程机器竞赛(iGEM)人类实践部分访谈专家、国家首部“全国高等教育医学数字化规划教材(国家医学电子书包)”《医学免疫学》编委。主要从事免疫应答调控机制和肿瘤免疫学研究, 作为课题负责人主持了科技部“863”计划课题子任务、国家自然科学基金面上项目、教育部专项资金资助课题和上海市科委科技人才计划项目等多层次的课题研究; 参加国家药品监督管理局政策研究调研, 从科学监管的角度, 分析和提出了对我国细胞和基因治疗制品监管的政策建议。在 *Immunity, Cancer Cell, Nat Commun, Blood, Cell Res, Hepatology, Cell Mol Immunol* 等高水平学术期刊发表SCI收录论文20篇。参编专著6部。荣获上海市青年科技启明星、全国百篇优博、全军和上海市优博、首届中国免疫学青年学者和DC2012“最佳成果展示奖”, 作为核心成员获得全国创新争先奖牌, 入选海军军医大学“5511”人才库和上海高校青年教师培养资助计划。



于益芝 博士、教授、博士生导师, 现任海军军医大学免疫学教研室主任、医学免疫学国家重点实验室副主任, 兼任国务院学位委员会基础医学组委员和《中国肿瘤生物治疗杂志》常务副主编。主要从事人体免疫学应用基础和肿瘤免疫治疗研究。近年来, 在国内外学术期刊上发表论文35篇, 其中SCI论文17篇。作为负责人承担过国家自然科学基金面上项目3项、国家973课题1项、国家卫生部重大专项课题1项等科研任务。作为副主编参编国家卫生部统编本科生教材和研究生教材《医学免疫学》, 出版专著2部。获国家自然科学二等奖1项(第三完成人)、上海市科技进步一等奖1项、上海市自然科学一等奖3项、军队科技进步一等奖1项、军队科技进步三等奖1项, 获专利2项。2004年被评为上海市科技启明星、2006年被评为上海市曙光学者、2020年被评为上海市领军人才。

[摘要] 细胞因子作为抗肿瘤免疫中的重要一环, 曾是肿瘤免疫疗法中的一颗闪耀的明星。站在肿瘤免疫治疗策略转换的时代潮头, 肿瘤免疫细胞因子综合治疗通过理论创新、技术革新和多种优化组合, 不断迭代和探索, 逐步改变了肿瘤免疫单药治疗效果不尽如人意的局面, 从而再创辉煌, 为肿瘤的综合免疫治疗提供了新的方式。对肿瘤微环境细胞间通讯方式的新认识、肿瘤免疫新型细胞因子和新型修饰产品等的研发、共享信号受体独特结构的发现以及与新一代抗肿瘤治疗手段的联合等为肿瘤细胞因子疗法的应用注入了新的活力。这些发展彰显了“创新与联合”在肿瘤免疫细胞因子综合治疗策略设计中的指导作用, 对于其他肿瘤生物治疗技术的研发也具有一定的参考价值。

[关键词] 细胞因子; 肿瘤免疫; 免疫治疗; 联合治疗

[中图分类号] R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)03-0167-08

Innovation and combination: iteration and exploration of the best combination of comprehensive cytokine-based cancer immunotherapy

QIAN Cheng, YU Yizhi (National Key Laboratory of Medical Immunology & Institute of Immunology, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] As an important part of anti-tumor immunity, cytokines were once shining stars in tumor immunotherapy. Standing at the tide of the transformation of cancer immunotherapy strategy, comprehensive cytokine-based cancer immunotherapy has continuously iterated and explored through a variety of the theoretical and technological innovations as well as various optimized combinations, and gradually changed the unsatisfactory effect of tumor monotherapy, so as to create another brilliance and provide a new way for

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目资助(No. 81730039)

[作者简介] 钱程(1978—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事免疫调节和肿瘤免疫的研究, E-mail: crystalqiancheng@163.com

[通信作者] 于益芝, E-mail: yuyz88@126.com

comprehensive tumor immunotherapy. The new understanding of the intercellular communication in tumor microenvironment, the research and development of novel cytokines and modified products for tumor immunity, the discovery of the unique structure of shared signaling receptors and the combination with the new generation of anti-tumor treatment have injected new vitality into the application of tumor cytokine therapy. These findings highlight the guiding role of "innovation and combination" in the design of comprehensive strategy of cytokine-based cancer immunotherapy, and also have a certain reference value for the research and development of other tumor biotherapy technologies.

[Key words] cytokine; tumor immunity; immunotherapy; combination therapy

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(3): 167-174. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.03.001]

细胞因子是一类能在细胞间传递信息,具有免疫调节和效应功能的高活性、多功能的小分子蛋白质。细胞因子在不同的时间或空间能够通过多种方式参与肿瘤的演进转归过程,发挥协同或拮抗效应,在肿瘤的发生、发展中发挥着重要作用,因而肿瘤的细胞因子疗法成为过去数十年里肿瘤生物治疗的主要方式之一^[1]。作为生物医药产业第一次跨越式发展阶段的主力,重组细胞因子类药物的研制和发展起步较早,也是最早被美国食品药品监督管理局批准用于肿瘤的免疫治疗药物,如干扰素、白细胞介素、集落刺激因子等被批准用于治疗淋巴瘤、转移性黑色素瘤和肾癌等,其治疗效果得到肯定。但是,由于细胞因子具有产生的多向性与同一性、作用的多效性和重叠性以及效应的拮抗性和协同性等特征,编织了一张组成丰富、关系复杂、效应综合的细胞因子调控网络,导致细胞因子治疗作用缺乏靶向性,容易产生各种副反应和高毒性,不良反应多又导致部分患者药物耐受度低,使得细胞因子疗法的临床应用受到一定限制。近年来,基于对肿瘤微环境、肿瘤细胞和免疫系统之间关联性的深刻认识,肿瘤免疫治疗正在历经蜕变,从基于免疫激活过程来激活全身性免疫反应的传统免疫增强疗法,转变为根据肿瘤诱导的免疫逃逸机制,来针对肿瘤微环境进行高效低毒的新型免疫微环境正常化疗法^[2]。这一肿瘤免疫治疗策略的转变也赋予了细胞因子治疗新的契机和挑战。基于“创新与联合”在肿瘤免疫细胞因子综合治疗策略设计中的指导思路,从肿瘤微环境细胞间通讯方式、肿瘤免疫新型细胞因子和新型修饰产品等新兴靶点和制剂的探寻和开发等获得的线索,结合细胞因子与新一代抗肿瘤治疗手段联合应用的研究成果,可以最佳的组合疗法实现更有效的抗肿瘤治疗。

1 对肿瘤微环境细胞间通讯方式的新认识带来了肿瘤细胞因子疗法的新思路

肿瘤的发生、发展、转移及耐药与复杂的肿瘤微环境息息相关。肿瘤细胞通过与周围环境中各成分的相互拮抗和斗争,持续动态地塑造局部和远端微

环境,使其逐步演化形成具有肿瘤免疫抑制性的微环境,有利于肿瘤细胞逃避机体的免疫识别和攻击,并增强其侵袭与转移能力。肿瘤微环境中存在各种类型的细胞,对于肿瘤微环境细胞间通讯方式的新认识带来了肿瘤细胞因子疗法的新思路。

外泌体是一种细胞内的多泡体(multivesicular body),与细胞膜融合后,被释放到细胞外的直径为30~150 nm的小囊泡。外泌体广泛存在于各种组织、细胞间隙和体液中,具有磷脂双分子层结构,内含功能性蛋白质、脂质或遗传物质等重要分子。外泌体可被受体细胞摄取,或与受体细胞膜融合,从而进入受体细胞,参与细胞间物质运输,形成一种细胞间信息传递的独特方式。外泌体于20世纪80年代进入到人们的视野,并以全新的视角逐渐被挖掘出其重要的生理功能,2013年诺贝尔生理学或医学奖授予James E. Rothman, Randy W. Schekman和Thomas C. Südhof,以表彰他们破解细胞的囊泡运输调节机制的奥秘。近年来,由于外泌体作为细胞间信使的独特功能、调控受体细胞生理活动和局部微环境的能力,以及在疾病诊断和药物靶向递送、治疗方面的潜力,外泌体研究的热度持续升温^[3]。越来越多的研究表明,外泌体与肿瘤生长和转移、组织损伤修复、免疫抗原提呈及神经退行性疾病等密切相关,在临床上具有巨大的潜在应用价值。

在肿瘤微环境中,来源于肿瘤细胞、免疫细胞和其他基质细胞的外泌体,其中含有的细胞特异性蛋白质、脂质和核酸等有较大差异,而近端或远端的受体细胞在摄取了这些各不相同的外泌体后会发生何种表型或功能的变化,则主要取决于这些内含物。外泌体作为细胞间通讯的重要介质,能促进肿瘤的血管生成、上皮-间质转化、促进肿瘤的侵袭和转移、增强肿瘤细胞增殖和化疗抵抗能力、抑制免疫反应等,在肿瘤微环境构建和重塑中发挥关键的调控作用^[4]。近年来的多项研究表明,肿瘤细胞可高水平释放肿瘤衍生外泌体^[5],选择性地将其内部包裹的细胞因子递送到受体细胞,引发其一系列功能性改变,从而塑造肿瘤微环境,诱导肿瘤发生和发展的恶性循环过程:(1)外泌体来源的细胞因子可调节免疫细胞

的表型和功能,有利于肿瘤细胞逃避免疫监视。如在胃癌患者中,外泌体来源的TGF- β 1的表达与病理分期、淋巴结转移和淋巴结中Treg细胞的比例显著相关,并且胃癌患者的外泌体可通过TGF- β 1的作用诱导初始T细胞分化为FOXP3⁺ Treg细胞,从而调控肿瘤微环境中的免疫监视功能^[6]。低氧状态下,肺癌细胞能够通过外泌体将TGF- β 1转移到NK细胞,降低激活受体NKG2D的细胞表面表达,从而抑制NK细胞抗肿瘤免疫功能^[7];(2)外泌体来源的细胞因子可参与肿瘤相关成纤维细胞(cancer associated fibroblast, CAF)的分化。如前列腺癌细胞外泌体来源的TGF- β 能够激活成纤维细胞并表现出有利于侵袭性生长和转移的肌纤维母细胞特征,但是使用可溶性TGF- β 1生成的成纤维细胞却不拥有此类特殊的细胞外基质的重塑能力^[8]。在3D共培养模型中,前列腺癌细胞来源的外泌体也能通过向骨髓间充质干细胞递送TGF- β 1,触发其向 α -SMA⁺成纤维细胞分化,从而促进血管生成、增强肿瘤细胞增殖和侵袭,但是可溶性TGF- β 却不能驱动此种表型和功能的改变^[9]。膀胱癌细胞释放的外泌体包含的TGF- β 占肿瘤细胞培养上清液中TGF- β 总量的53.4%~86.3%,外泌体被成纤维细胞内化后可转移TGF- β ,激活SMAD通路,触发成纤维细胞向CAF的分化^[10];(3)外泌体来源的细胞因子可诱导肿瘤血管生成。如胶质母细胞瘤干细胞样细胞(glioblastoma stem-like cell, GSC)外泌体衍生的VEGF-A能够被靶向运输到内皮细胞,以提高其通透性和血管生成潜力^[11-12];(4)外泌体来源的细胞因子可进一步促进肿瘤形成与发展。如低氧状态下,前列腺癌LNCaP和PC3细胞释放的外泌体含有更高水平的TGF- β 2、TNF- α 和IL-6,能够提高幼稚前列腺癌细胞的侵袭和迁移能力。此外,肿瘤细胞分泌的外泌体中包含的非编码RNA能够诱导受体细胞的重编程,促进肿瘤的发生和转移^[13]。如亚砷酸盐诱导的恶性转化肝细胞能够释放富含miR-155的外泌体,与人肝上皮细胞产生的IL-6或IL-8水平呈正相关,参与炎-癌转化过程^[14];肿瘤干细胞样CD90⁺肝细胞衍生的外泌体表达高水平的lncRNA H19,可增加内皮细胞VEGF的释放和VEGF-R1的产生,从而刺激血管生成^[15]。

在细胞因子治疗时,单一的细胞因子作为药物进行肿瘤治疗往往很难达到预期的疗效,如单独使用大剂量IL-2进行治疗时,常会因为剂量较高而引起低血压、血管渗漏综合征和肾功异常等较严重的不良反应以及肿瘤微环境的免疫抑制。而当使用低剂量细胞因子药物时,虽然可减少不良反应,但是其抗肿瘤效果也大幅降低。理想的细胞因子药物应充

分开发其抗肿瘤活性,同时将毒性降到最低。另一个需要考虑的关键性因素是,要强调细胞因子作用的靶向性,限制其作用的受体细胞以避免引起全身性作用。由于外泌体是一种天然的纳米级脂质包裹体结构,具有良好的生物相容性、特异性靶向、穿梭信号传导以及穿越生物屏障的能力,为细胞因子输送和靶向释放提供了有效的新途径。因此,外泌体是向目标细胞传递细胞因子药物的合适媒介,其在肿瘤治疗中具有很大的潜力。外泌体可以充当特异性靶向载体,并保护内部包含的细胞因子相关活性物质,将其从供体细胞运输到近端和远端的靶细胞,参与受体细胞的重新编程,通过特异性调动免疫细胞抗肿瘤功能,改善肿瘤微环境,从而控制和杀伤肿瘤细胞^[16]。另一方面,肿瘤分泌的细胞因子主要是为肿瘤细胞的恶变及转移服务的,阻断外泌体的释放或抑制肿瘤微环境中外泌体介导的细胞间通讯可能抑制肿瘤微环境的发展和组织特异性转移。由于外泌体膜上的特异性表面配体能与受体细胞高效率结合,人们或可通过诱饵肽阻断其结合,抑制外泌体的融合和摄取,从而遏制肿瘤的进展。

2 肿瘤免疫新型细胞因子的发现成为肿瘤细胞因子疗法的新亮点

利用细胞因子提高机体免疫能力,破坏肿瘤细胞的免疫逃逸功能是肿瘤免疫治疗的重要策略之一。随着现代科技的进展,细胞因子的制备技术已从提取天然细胞因子、第一代基因工程细胞因子发展到第二代基因工程细胞因子阶段。近年来,利用定向进化等手段精确设计和改良,去除细胞因子不利的生物学特性,成为细胞因子治疗领域的新亮点。

IL-18发现于1995年,是由YSAUDA等^[17]从内毒素休克的小鼠肝细胞中分离纯化,属于IL-1超家族的多效性细胞因子。IL-18主要由巨噬细胞、DC、上皮细胞、成纤维细胞等多种免疫和非免疫细胞产生,其在细胞内是以非活性前体(pro-IL-18)的形式存在,当炎症小体中的Caspase-1被多种类型的病原体或危险信号激活时,可切割pro-IL-18,产生相应具有活性的成熟形式。IL-18受体(IL-18R)广泛表达于T细胞、NK细胞、巨噬细胞、B细胞、成纤维细胞、内皮细胞和上皮细胞等。IL-18R由IL-18 α 链和 β 链组成。IL-18首先与IL-18 α 链低亲和力结合,当 α 链结合 β 链后,发生构象变化,可在细胞膜上形成与IL-18高亲和力结合的异源二聚体受体,介导下游MAPK和NF- κ B信号通路活化,参与诱导免疫细胞的增殖和活性增强,如刺激NK细胞分泌产生IFN- γ 、增强NK细胞的ADCC效应从而杀伤肿瘤等。由于其免疫激活特性

和良好的安全性,IL-18曾经被应用于治疗霍奇金淋巴瘤的临床研究,但在II期临床试验中以失败告终。研究者^[18]在分析临床试验失败的研究中发现,IL-18结合蛋白(IL-18 binding protein, IL-18BP)在患者体内被大量诱导表达。IL-18BP是具有超高亲和力的IL-18诱饵受体(decoy receptor),能够阻断IL-18与IL-18R的结合,从而抑制IL-18的抗肿瘤效果。通过定向进化手段改造的IL-18突变体DR-18(decoy-resistant IL-18)和人源DR-18(hDR-18)能够发挥显著的拮抗IL-18BP的抑制功能,从而增加各类淋巴细胞浸润肿瘤,并增强CD8⁺ TIL的效应功能,在多种小鼠肿瘤模型中均具有良好的抗肿瘤活性,从而重新肯定了IL-18治疗的潜力,而且发现了克服IL-18BP抑制功能的潜在有效手段,成为IL-18免疫治疗的新起点,为肿瘤细胞因子治疗带来更多可能^[19]。IL-18治疗肿瘤的研发思路,也为未来如何充分发挥其他多种细胞因子的作用用于肿瘤治疗提供了借鉴。

3 细胞因子新型修饰的肿瘤免疫治疗产品的研发进一步拓展了肿瘤细胞因子疗法的新应用

基因工程生产的细胞因子作为一类特殊的蛋白质药物,在科研和临床应用中往往存在生物活性极易被破坏、具有一定免疫原性、体内半衰期短、全身大剂量长时间给药毒副作用强等问题,对细胞因子进行化学或基因修饰可以改善上述诸项不足,从而拓展细胞因子在肿瘤治疗中的应用范围。

3.1 新型聚乙二醇(PEG)化细胞因子

PEG是由多个乙二醇首尾相连聚合而成的高分子聚合物,且可引入多种官能基团,形成多种PEG衍生物。PEG化(PEGylation)是通过各种偶联的化学成分和/或连接剂等来改善药物的溶解性、免疫原性和生物功能的方法^[20]。PEG化技术在20世纪70年代便已出现,并发展为临床上成熟的半衰期延长技术,但由于PEG衍生物的高纯度合成和成药难度增加等原因,PEG合成及修饰技术具有较高的技术壁垒。

PEG化技术最开始采用琥珀酰亚胺琥珀酸酯(succinimidyl succinate)作为连接剂,后来逐渐演变出多种连接剂。PEG化蛋白药物的修饰方式主要包括氨基修饰(包括N端氨基的酰基化和烷基化修饰、赖氨酸侧链氨基的酰基化修饰)、羧基修饰、巯基修饰等。PEG修饰细胞因子不仅可增大蛋白质分子的有效半径、减少肾滤出率,还具有免疫原性降低、化学结构简单、增加水溶性和稳定性等优势;但是,PEG修饰容易影响细胞因子的蛋白质空间构象和活性部位,且修饰的大分子可能会阻碍细胞因子与相

应受体结合,从而降低其活性。因此,PEG修饰的细胞因子在临床使用中往往需要加大给药剂量来保证疗效,毒性也会随之增加,使其应用受到一定限制。近年来,随着研发的不断深入,新型PEG修饰细胞因子得到越来越广泛的研究及临床应用。新一代更高效、靶向性更好的PEG化IL-2(NKTR-214、SAR444245)、PEG化IL-10(AM0010)等的出现,为肿瘤细胞因子治疗提供了更多更好的治疗选择。其中,NKTR-214是CD122偏向的IL-2通路激动剂,创新地将6个PEG分子与IL-2相连形成无药物活性的NKTR-214前药,当该前药注射进入体内后,其所携带的6个PEG修饰会逐渐不可逆地脱落并形成具有药物活性的2-PEG和1-PEG活性成分,从而在刺激免疫系统(2-PEG能够增强CD8⁺ T细胞和NK细胞的活性)的同时,减少了对Treg细胞增殖的促进作用(1-PEG无法干扰Treg细胞)^[21]。AM0010(pegilodecakin)是将PEG与IL-10相连,增加IL-10的大小以延长其在患者体内的循环时间,从而最大化增强IL-10活化CD8⁺ T细胞的能力,通过扩大效应记忆T细胞来促进低突变负荷肿瘤的免疫监视^[22]。

3.2 新型基因修饰细胞因子

近年来,随着基因工程技术的迅速发展,基于细胞因子的基因融合技术也得到了广泛研究。该技术可将编码细胞因子和其他有特定功能的蛋白质分子基因序列连接并表达新型的融合蛋白,其生物活性超越各单体分子。

在肿瘤微环境中,IL-12可刺激活化的T细胞和NK细胞释放细胞毒性效应分子,发挥强大的抗肿瘤活性。但IL-12在临床治疗肿瘤时通常采用静脉多次给药法,经常伴随由过度和全身性免疫系统激活引起的严重不良事件,限制了IL-12的临床应用。针对这一局限因素,有研究者^[23]在构建重组IL-12-Fc融合蛋白的基础上,进一步设计了pro-IL-12,即用IL-12天然细胞受体的胞外结合域封闭IL-12的活性,受体与IL-12之间由可切割的基质金属蛋白酶底物多肽连接。当药物到达肿瘤,肿瘤中高表达的MMP可特异性切割pro-IL-12,释放对IL-12的封闭片段,在多种小鼠以及人源化小鼠肿瘤模型中有效实现降低IL-12毒性的同时提高了其抗肿瘤的效果。肿瘤微环境中存在着大量胶原蛋白和许多渗漏的血管,可吸引血液蛋白质前往并与胶原蛋白结合。利用肿瘤血管系统渗漏导致的肿瘤基质胶原暴露于血液的特性,ISHIHARA等^[24]分别将免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor,ICI)和IL-2与来自血管性血友病因子A3结构域的胶原结合域(collagen-binding domain,CBD)进行结合或重组

融合,形成靶向肿瘤胶原蛋白的CBD-ICI药物和CBD-IL-2药物。静脉注射的CBD结合或融合药物主要在肿瘤中积聚,降低ICI联合治疗和IL-2的全身毒性,增加了肿瘤浸润CD8⁺T细胞,明显抑制肿瘤生长。L19抗体是一类靶向细胞外纤维连接蛋白的肿瘤相关表位的特异性抗体。有研究人员^[25-26]将L19抗体与hIL-2、mIL-12和mTNF融合形成免疫细胞因子L19-IL2、L19-mIL-12和L19-mTNF,注射到诱发性胶质母细胞瘤的小鼠体内,发现L19-mIL-12和L19-mTNF在胶质母细胞瘤中的选择性积累减缓了肿瘤的生长。其中TNF融合蛋白的临床试验(NCT03779230)显示,患者在治疗后肿瘤区域坏死面积增加。这些研究拓展了肿瘤细胞因子治疗新的应用,但是其临床试验效果还有待进一步观察和验证。

4 共享信号受体独特结构的发现指导了抗肿瘤免疫细胞因子调节剂设计的新策略

细胞因子信号转导首先需要细胞因子与受体亚基结合并诱导受体二聚体或多聚体的形成,由此引起不同途径的信号转导,其关键特征之一是利用共享信号受体(shared signaling receptor)亚基作为多种细胞因子的共同信号转导链。细胞因子IL-12和IL-23有共享的受体亚基IL-12Rβ1,但其表型效应各不相同。有研究者^[27]通过分析完整的IL-12和IL-23受体复合物四级晶体结构冷冻电镜(Cryo-EM)图谱,发现IL-12Rβ1直接与IL-12和IL-23的共享p40亚基结合的“非经典”拓扑结构,揭示了IL-12R和IL-23R组装的结构独特性。以IL-12Rβ1/p40相互作用位点为靶点设计的一系列IL-12部分激动剂能够优先促进T细胞活化,但降低NK细胞的活性。在MC-38小鼠结肠直肠癌模型中,IL-12部分激动剂能在体内促进抗肿瘤免疫反应,而没有诱导NK细胞介导的毒性副作用。这一受体共享的独特结构机制的研究发现指导了设计IL-12和IL-23激动剂和拮抗剂的新策略,为细胞因子信号调节在肿瘤治疗中的应用赋予了新希望^[27]。

5 细胞因子疗法与新一代抗肿瘤治疗手段的联合应用打开了肿瘤细胞因子疗法的新局面

细胞因子在调节机体抗肿瘤防御机制上发挥着极为重要的作用,单一的细胞因子治疗肿瘤虽简单易控,却通常会因高剂量使用而导致较大的毒副作用及肿瘤微环境的免疫抑制,而采用低剂量给药,虽可降低毒副作用,但较难实现理想的抗肿瘤疗效。因此,低剂量的细胞因子与新一代特异性免疫治疗联用成为近年来的研究热点,以期通过协同作用或

序贯使用实现“1+1>2”的治疗效果,进一步提高肿瘤免疫治疗的适用率和受益率。

5.1 细胞因子与PD-1/PD-L1单抗免疫治疗、精准放疗强强联合

近年来,以PD-1/PD-L1为代表的免疫检查点抗肿瘤药物在一系列实体肿瘤中显示了令人瞩目的疗效,但由于受到肿瘤免疫复杂机制的共同影响,PD-1仅对20%~30%的患者起效,不能满足于当下肿瘤患者的需求,同时,因为脱靶效应导致的主要器官(包括心、肺和脑)的严重免疫相关不良反应等独特的毒副作用可能危及生命^[28]。因此,其单药治疗的疗效和安全性还有很大提升空间。研究结果^[29]发现,前文所提及的NKTR-214(改良升级版IL-2)联合PD-1单抗纳武单抗(nivolumab)的双免疫联合治疗(PIVOT-02研究)用于未经治疗的晚期实体肿瘤(晚期恶性黑色素瘤、肾癌和非小细胞肺癌)总体客观缓解率高达59.5%。AM0010(改良版IL-10)联合PD-1单抗帕博利珠单抗(pembrolizumab)或纳武单抗(nivolumab)用于晚期实体瘤(先前治疗过的肾细胞癌和非小细胞肺癌)疗效显著^[30]。

立体定向体部放射治疗(stereotactic body radiation therapy, SBRT)技术是一种精准照射肿瘤部位、低毒的新型放射治疗技术,能够改变肿瘤微环境,增加肿瘤新抗原的释放^[31]。粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)作为一种细胞因子,主要功能是刺激机体产生粒细胞、巨噬细胞和DC,并且促进他们的增殖、分化及功能成熟,进而增强T细胞活性^[32]。在肿瘤PD-1单抗免疫治疗期间,通过SBRT进行免疫治疗的放射增敏,可增加PD-1抗体的疗效,同时辅以GM-CSF又可以配合SBRT更好地增强机体的抗肿瘤免疫反应。单臂多中心II期临床试验(NCT04106180),将PD-1抗体信迪利单抗(sintilimab)、SBRT、GM-CSF三者有机整合,三管齐下,用于治疗晚期一线化疗失败的驱动基因突变阴性的非小细胞肺癌患者,初步结果显示该组合治疗方案可能对患者有更好的效果,且不良反应轻微^[33]。

5.2 细胞因子调控与CAR表达相结合的“第四代”CAR-T细胞

CAR-T细胞疗法是一种治疗肿瘤的新型精准靶向疗法,其关键之处在于通过先进的基因改造技术使T细胞装载上特殊设计的CAR,使能够识别肿瘤相关抗原的受体与T细胞活化相关的共刺激分子信号转导片段串联,在体外增殖后再次回输入患者体内,能够精准识别和攻击自身的肿瘤细胞,进而达到治疗肿瘤的目的。通过针对CAR的修改或优化,CAR-T

技术的发展经历了一系列迭代过程^[34]。第一代CAR-T细胞的胞内结构域仅包含CD3 ζ 链的信号转导结构域。第二代CAR-T细胞在第一代的基础上增加了CD28或4-1BB的共刺激信号结构域,以改善T细胞的激活、增殖和存活,增强抗肿瘤活性。第三代CAR-T细胞在第二代的基础上将两个胞内共刺激结构域串联。目前,通用的CAR-T细胞疗法在急性白血病和非霍奇金淋巴瘤的治疗中有显著的疗效,但实体瘤的微环境要比血液肿瘤更为复杂,需要更强大的CAR-T细胞与之对抗。最近的研究发现,针对肿瘤特异性表皮生长因子受体变体III(epidermal growth factor receptor variant III, EGFRvIII)的CAR-T细胞无法控制多形性胶质母细胞瘤的生长,但当与肿瘤局部给药的IL-12结合时,可增强CAR-T细胞的细胞毒性,还能重塑肿瘤微环境,促使CD4⁺T细胞浸润增加,Treg细胞数量减少,从而实现持久的抗肿瘤反应^[35]。第四代的CAR-T细胞技术也称为通用细胞因子杀伤重定向T细胞,是在第二代或第三代的基础上为CAR-T细胞导入细胞因子(如IL-12、IL-15)片段或细胞因子受体(IL-2R β)的胞内段,通过转基因免疫调节剂的诱导释放来塑造肿瘤微环境^[36-37]。当CAR-T细胞受体识别肿瘤细胞活化后,可在肿瘤部位表达细胞因子,有效促进T细胞的扩增和激活,并募集各类免疫细胞联合杀伤肿瘤。此外,肿瘤细胞和肿瘤相关细胞可分泌免疫抑制细胞因子逃避机体免疫系统识别和攻击。胰腺癌的免疫抑制肿瘤微环境中富含IL-4,有研究者设计了一种倒置细胞因子受体(inverted cytokine receptor, ICR)与CAR-T细胞联合治疗胰腺癌方案,将抑制性IL-4受体细胞外结构域与IL-7受体细胞内免疫刺激结构域(4/7 ICR)融合,导入CAR-T细胞,可逆转肿瘤源性IL-4的抑制作用,从而增强抗肿瘤活性^[38]。

5.3 细胞因子与免疫佐剂相结合

氢氧化铝(明矾)佐剂以其对蛋白抗原的高吸附能力优势成为使用最为广泛的疫苗佐剂。氢氧化铝佐剂可在接种部位形成一个能持续存在数周的抗原贮存库,使抗原缓慢释放,延长抗原在局部组织内的滞留时间;抗原被氢氧化铝吸附后,形成颗粒形式并强烈吸引抗原提呈细胞进行识别与内吞,从而延长和增强了免疫应答的时间和强度。此外,磷酸化蛋白通过与表面羟基的配体交换反应与氢氧化铝紧密结合,从而使结合的分子能够在体内稳定存在。用由重复磷酸丝氨酸(repeating phosphoserine, pSer)残基组成的短肽对免疫原进行位点特异性修饰,可增强与氢氧化铝的结合,并延长免疫原的生物利用度。与传统的吸附氢氧化铝的免疫原相比,

pSer修饰的免疫原锚着于氢氧化铝后,可引起生发中心、抗体和中和抗体增加,以及记忆和长寿浆细胞应答的显著增强^[39]。有研究^[40]通过氢氧化铝结合肽(alum-binding peptide, ABP)标签融合的生物活性蛋白的合成与磷酸化方法,产生了一系列ABP标记的细胞因子,如IL-12通过磷酸化的ABP锚定到氢氧化铝上可在肿瘤中保留数周,在小鼠黑色素瘤移植瘤中促进大量IFN- γ 介导的T细胞和NK细胞活性,增加引流淋巴结中的肿瘤抗原积聚,并引发强烈的肿瘤特异性T细胞反应的启动。此外,瘤内注射氢氧化铝锚定的细胞因子可增强对免疫检查点阻断的反应,在增加抗肿瘤功效的同时还可以消除注射游离药物引发的全身性毒副作用,还能加强对转移灶和远处未治疗病灶的控制。因此,用ABP方法进行细胞因子肿瘤内治疗代表了一种更安全的抗肿瘤免疫治疗策略,其可制定性也可以实现在体内精确控制和调整细胞因子从氢氧化铝中的释放,并最终对治疗时间进行有序编程,以达到最有效的抗肿瘤效应。

6 结 语

创新是引领发展的第一动力,免疫治疗的技术创新与抗肿瘤免疫机制理解的深入是肿瘤免疫治疗发展的新引擎^[41]。新技术的不断涌现与革新及不同学科间交叉融合催生了细胞因子治疗在肿瘤免疫治疗领域的新理论和新方向,例如对肿瘤微环境中外泌体通讯调控网络的新认识、肿瘤免疫新型细胞因子、新型修饰产品和新型细胞因子调节剂的研发对寻找特异的肿瘤药物作用靶点和药物制剂应用等具有重要意义;细胞因子治疗与免疫检查点抗肿瘤治疗、精准放疗、新型CAR-T细胞精准靶向疗法以及新型免疫佐剂锚着方法等众多抗肿瘤治疗手段的联合应用也正改变着肿瘤免疫单药治疗效果不尽如人意的局面。细胞因子作为抗肿瘤免疫治疗的重要产品,曾是肿瘤免疫疗法中的一颗闪耀的明星,在当前技术变革和治疗策略转换的大变局中,如何越过山丘,再攀高峰,值得进一步探索和期待^[42]。“单打独斗”,不如“创新联合”,相信随着肿瘤免疫细胞因子综合治疗的最佳组合的不断迭代和探索,对于肿瘤的治疗效果也将越来越好,为人类抗击癌症添加一个又一个的里程碑式的突破。

[参 考 文 献]

- [1] BRIUKHOVETSKA D, DÖRR J, ENDRES S, *et al.* Interleukins in cancer: from biology to therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(8): 481-499. DOI:10.1038/s41568-021-00363-z.
- [2] SANMAMED M F, CHEN L P. A paradigm shift in cancer immunotherapy: from enhancement to normalization[J]. *Cell*, 2018,

- 175(2): 313-326. DOI:10.1016/j.cell.2018.09.035.
- [3] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J/OL]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7717626/>. DOI:10.1126/science.aau6977.
 - [4] KUGERATSKI F G, KALLURI R. Exosomes as mediators of immune regulation and immunotherapy in cancer[J]. *FEBS J*, 2021, 288(1): 10-35. DOI:10.1111/febs.15558.
 - [5] WHITESIDE T L. The role of tumor-derived exosomes (TEX) in shaping anti-tumor immune competence[J/OL]. *Cells*, 2021, 10(11): 3054[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8616398/>. DOI:10.3390/cells10113054.
 - [6] YEN E Y, MIAW S C, YU J S, *et al.* Exosomal TGF- β 1 is correlated with lymphatic metastasis of gastric cancers[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(11): 2199-2208[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5714749/>.
 - [7] BERCHER G, NOMAN M Z, BOSSELER M, *et al.* Hypoxic tumor-derived microvesicles negatively regulate NK cell function by a mechanism involving TGF- β and miR23a transfer[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(4): e1062968[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4839360/>. DOI:10.1080/2162402X.2015.1062968.
 - [8] WEBBER J P, SPARY L K, SANDERS A J, *et al.* Differentiation of tumour-promoting stromal myofibroblasts by cancer exosomes[J]. *Oncogene*, 2015, 34(3): 290-302. DOI:10.1038/ncr.2013.560.
 - [9] CHOWDHURY R, WEBBER J P, GURNEY M, *et al.* Cancer exosomes trigger mesenchymal stem cell differentiation into pro-angiogenic and pro-invasive myofibroblasts[J/OL]. *Oncotarget*, 2015, 6(2): 715-731[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4359250/>. DOI:10.18632/oncotarget.2711.
 - [10] RINGUETTE GOULET C, BERNARD G, TREMBLAY S, *et al.* Exosomes induce fibroblast differentiation into cancer-associated fibroblasts through TGF β signaling[J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16(7): 1196-1204. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-17-0784.
 - [11] RAMTEKE A, TING H, AGARWAL C, *et al.* Exosomes secreted under hypoxia enhance invasiveness and stemness of prostate cancer cells by targeting adherens junction molecules[J/OL]. *Mol Carcinog*, 2015, 54(7): 554-565[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4706761/>. DOI:10.1002/mc.22124.
 - [12] TREPS L, PERRET R, EDMOND S, *et al.* Glioblastoma stem-like cells secrete the pro-angiogenic VEGF-A factor in extracellular vesicles[J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2017, 6(1): 1359479[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5549846/>. DOI:10.1080/20013078.2017.1359479.
 - [13] LIU S J, DANG H X, LIM D A, *et al.* Long noncoding RNAs in cancer metastasis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(7): 446-460. DOI: 10.1038/s41568-021-00353-1.
 - [14] CHEN C, LUO F, LIU X L, *et al.* NF- κ B-regulated exosomal miR-155 promotes the inflammation associated with arsenite carcinogenesis[J]. *Cancer Lett*, 2017, 388: 21-33. DOI:10.1016/j.canlet.2016.11.027.
 - [15] CONIGLIARO A, COSTA V, LO DICO A, *et al.* CD90⁺ liver cancer cells modulate endothelial cell phenotype through the release of exosomes containing H19 lncRNA[J/OL]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 155[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4536801/>. DOI:10.1186/s12943-015-0426-x.
 - [16] DILSIZ N. Hallmarks of exosomes[J/OL]. *Future Sci OA*, 2022, 8(1): FSO764[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8656295/>. DOI:10.2144/fsoa-2021-0102.
 - [17] YASUDA K, NAKANISHI K, TSUTSUI H. Interleukin-18 in health and disease[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3): 649[2022-03-08]. <https://doi.org/10.3390/ijms20030649>. DOI:10.3390/ijms20030649.
 - [18] MÜHL H, BACHMANN M. IL-18/IL-18BP and IL-22/IL-22BP: two interrelated couples with therapeutic potential[J/OL]. *Cell Signal*, 2019, 63: 109388[2022-03-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31401146/>. DOI:10.1016/j.cellsig.2019.109388.
 - [19] ZHOU T, DAMSKY W, WEIZMAN O E, *et al.* IL-18BP is a secreted immune checkpoint and barrier to IL-18 immunotherapy[J/OL]. *Nature*, 2020, 583(7817): 609-614[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7381364/>. DOI: 10.1038/s41586-020-2422-6.
 - [20] VERONESE F M, MERO A. The impact of PEGylation on biological therapies[J]. *BioDrugs*, 2008, 22(5): 315-329. DOI:10.2165/00063030-200822050-00004.
 - [21] SHARMA M, KHONG H, FA'AK F, *et al.* Bempegaldesleukin selectively depletes intratumoral Tregs and potentiates T cell-mediated cancer therapy[J/OL]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 661[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6994577/>. DOI:10.1038/s41467-020-14471-1.
 - [22] NAING A, INFANTE J R, PAPADOPOULOS K P, *et al.* PEGylated IL-10 (pegilodecakin) induces systemic immune activation, CD8⁺ T cell invigoration and polyclonal T cell expansion in cancer patients[J/OL]. *Cancer Cell*, 2018, 34(5): 775-791.e3[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8098754/>. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.10.007.
 - [23] XUE D Y, MOON B, LIAO J, *et al.* A tumor-specific pro-IL-12 activates preexisting cytotoxic T cells to control established tumors[J/OL]. *Sci Immunol*, 2022, 7(67): eabi6899[2022-03-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34995098/>. DOI: 10.1126/sciimmunol.abi6899.
 - [24] ISHIHARA J, ISHIHARA A, SASAKI K, *et al.* Targeted antibody and cytokine cancer immunotherapies through collagen affinity[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(487): eaau3259[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6541444/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau3259.
 - [25] WEISS T, PUCA E, SILGINER M, *et al.* Immunocytokines are a promising immunotherapeutic approach against glioblastoma[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(564): eabb2311[2022-03-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33028706/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.abb2311.
 - [26] VILLANUEVA M T. Immunocytokines turn up the heat in glioblastoma[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(12): 836[2022-03-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33110246/>. DOI: 10.1038/d41573-020-00188-9.
 - [27] GLASSMAN C R, MATHIHARAN Y K, JUDE K M, *et al.* Structural basis for IL-12 and IL-23 receptor sharing reveals a gateway for shaping actions on T versus NK cells[J/OL]. *Cell*, 2021, 184(4): 983-999.e24[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7899134/>. DOI:10.1016/j.cell.2021.01.018.
 - [28] DOUGAN M, LUOMA A M, DOUGAN S K, *et al.* Understanding and treating the inflammatory adverse events of cancer

- immunotherapy[J/OL]. *Cell*, 2021, 184(6): 1575-1588[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7979511/>. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.011.
- [29] DIAB A, TANNIR N M, BENTEBIBEL S E, *et al.* Bempegaldesleukin (NKTR-214) plus nivolumab in patients with advanced solid tumors: phase I dose-escalation study of safety, efficacy, and immune activation (PIVOT-02) [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(8): 1158-1173. DOI:10.1158/2159-8290.CD-19-1510.
- [30] NAING A, WONG D J, INFANTE J R, *et al.* Pegilodecakin combined with pembrolizumab or nivolumab for patients with advanced solid tumours (IVY): a multicentre, multicohort, open-label, phase 1b trial [J/OL]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(11): 1544-1555[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8436252/>. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30514-5.
- [31] MCLAUGHLIN M, PATIN E C, PEDERSEN M, *et al.* Inflammatory microenvironment remodelling by tumour cells after radiotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(4): 203-217. DOI:10.1038/s41568-020-0246-1.
- [32] BECHER B, TUGUES S, GRETER M. GM-CSF: from growth factor to central mediator of tissue inflammation[J]. *Immunity*, 2016, 45(5): 963-973. DOI:10.1016/j.immuni.2016.10.026.
- [33] NI J J, ZHOU Y, WU L, *et al.* Sintilimab, stereotactic body radiotherapy and granulocyte-macrophage colony stimulating factor as second-line therapy for advanced non-small cell lung cancer: safety Run-in results of a multicenter, single-arm, phase II trial[J/OL]. *Radiat Oncol*, 2021, 16(1): 177[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8444553/>. DOI:10.1186/s13014-021-01905-3.
- [34] LARSON R C, MAUS M V. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(3): 145-161. DOI:10.1038/s41568-020-00323-z.
- [35] AGLIARDI G, LIUZZI A R, HOTBLACK A, *et al.* Intratumoral IL-12 delivery empowers CAR-T cell immunotherapy in a pre-clinical model of glioblastoma[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 444[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7815781/>. DOI:10.1038/s41467-020-20599-x.
- [36] LANITIS E, ROTA G, KOSTI P, *et al.* Optimized gene engineering of murine CAR-T cells reveals the beneficial effects of IL-15 coexpression[J/OL]. *J Exp Med*, 2021, 218(2): e20192203[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7653685/>. DOI:10.1084/jem.20192203.
- [37] KAGOYA Y, TANAKA S, GUO T X, *et al.* A novel chimeric antigen receptor containing a JAK-STAT signaling domain mediates superior antitumor effects[J]. *Nat Med*, 2018, 24(3): 352-359. DOI: 10.1038/nm.4478.
- [38] MOHAMMED S, SUKUMARAN S, BAJGAIN P, *et al.* Improving chimeric antigen receptor-modified T cell function by reversing the immunosuppressive tumor microenvironment of pancreatic cancer [J/OL]. *Mol Ther*, 2017, 25(1): 249-258[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5363304/>. DOI: 10.1016/j.ymthe.2016.10.016.
- [39] MOYER T J, KATO Y, ABRAHAM W, *et al.* Engineered immunogen binding to alum adjuvant enhances humoral immunity [J/OL]. *Nat Med*, 2020, 26(3): 430-440[2022-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7069805/>. DOI:10.1038/s41591-020-0753-3.
- [40] AGARWAL Y, MILLING L E, CHANG J Y H, *et al.* Intratumourally injected alum-tethered cytokines elicit potent and safer local and systemic anticancer immunity[J]. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6(2): 129-143. DOI:10.1038/s41551-021-00831-9.
- [41] 顾炎, 曹雪涛. 肿瘤免疫与免疫治疗: 机遇与挑战[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(1): 1-10. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.01.001.
- [42] PROPPER D J, BALKWILL F R. Harnessing cytokines and chemokines for cancer therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(4): 237-253. DOI:10.1038/s41571-021-00588-9.

[收稿日期] 2022-03-10

[修回日期] 2022-03-23

[本文编辑] 党瑞山