

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.01.015

· 综 述 ·

肝细胞癌的免疫逃逸和免疫治疗研究热点与发展趋势

Hot points and development trend of research on the immune escape and immune therapy of hepatocellular carcinoma

陈祥 综述; 钱程, 曹雪涛 审阅(第二军医大学免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433)

[摘要] 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发病率和病死率高, 严重威胁人类健康, 但目前 HCC 治疗方法效果较差, 术后易复发, 亟待研制有效的治疗方案。研究发现 HCC 的发生发展与肿瘤细胞的免疫逃逸密切相关, 恢复患者免疫系统对癌细胞的杀伤能力是其治疗关键。免疫疗法作为近年来热门的肿瘤治疗方案, 其核心在于利用各种方法恢复肿瘤患者原本受抑的免疫系统对肿瘤细胞的特异性识别及杀伤能力。免疫治疗方法主要有免疫检查点调控、肿瘤疫苗、免疫靶向疗法、过继性细胞回输等。但是由于肝固有的免疫抑制微环境以及 HCC 发生机制的多样性, HCC 免疫治疗效果个体差异大、疗效有待加强。运用不同类型的免疫疗法或将免疫疗法和其他方法相结合将是未来 HCC 治疗的发展方向。本文主要就近年来 HCC 免疫治疗的相关机制和研究进展作一综述。

[关键词] 肝细胞癌; 免疫治疗; 免疫检查点阻断; 过继性细胞转移; DC 疫苗

[中图分类号] R730.51; R735.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)01-0073-10

世界范围内, 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发病率在各类癌症中位居第五, 其致死率仅次于胃癌、肺癌, 排名第三。早期 HCC 患者可通过手术切除、局部消融或者肝移植进行治疗, 五年生存率可达 40% ~ 70%^[1]。而对于无法进行手术治疗的晚期 HCC 或远处转移的原发性 HCC, 则缺乏有效的治疗方法。肝具有独特的免疫抑制微环境, 能避免免疫系统过度活化导致的肝损伤。在病毒感染、酒精性肝炎、肝硬化、非酒精性脂肪性肝病等病理条件下, 长期慢性炎症使得肝细胞发生恶性转变, 癌变的细胞进一步利用和促进肝免疫抑制微环境, 使得 HCC 得以发展。免疫治疗是在人体自身免疫系统的基础上, 通过细胞因子调控、过继性细胞回输、肿瘤细胞及其亚细胞肿瘤抗原成分疫苗、DC 疫苗等, 主动或被动地加强机体对肿瘤细胞的杀伤能力, 从而达到肿瘤治疗的目的。结合肝免疫抑制微环境的特点, 针对 HCC 发生过程中的不同免疫学机制, 联合运用免疫治疗和传统治疗将是未来 HCC 治疗的发展方向。

1 肝免疫抑制微环境

1.1 肝免疫抑制微环境的特点

肝是人体中最大的实质性器官, 也是机体最重要的解毒器官, 具有生物转化的功能, 可以把来自体内外的毒物、代谢产物等转化为易于排出体内的物质。同时, 肝的供血量占到心输出量的 25% ~ 30%,

其中有 2/3 ~ 3/4 来自于肝门静脉系, 而来源于肝门静脉系统的血液含有各种病原体和肠道微生物, 需要经过肝过滤才能进入血液循环, 因此整个肝暴露在各类抗原之中, 为避免免疫系统持续活化而导致的肝损伤, 肝形成了独特的免疫抑制微环境^[2]。肝特有的免疫抑制微环境最早在猪的肝同种异体移植实验中得以验证, 猪在接受肝移植后未出现明显的排异反应, 同时, 在二次接受同一供体来源的其他器官移植时, 免疫排异反应也明显降低^[3]。肝免疫抑制微环境的形成与肝内各类型的免疫细胞的数量、功能、细胞因子的分泌、表面分子的表达密切相关。

1.2 肝免疫抑制微环境的形成机制

肝中存在着大量的免疫相关细胞, 包括: APC 细胞、髓系细胞、淋巴细胞等, 调控肝的免疫反应。肝中 APC 包括肝窦状内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cell, LSEC)、肝巨噬细胞或库普弗细胞(Kupffer cell, KC)以及 DC 等。这些细胞的存在组成了肝抵抗外界病原体、抗原物质入侵的第一道防

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(No. 2015CB964403, No. 2013CB530502)。Project supported by the National Key Basic Research Program of China (No. 2015CB964403, No. 2013CB530502)

[作者简介] 陈祥(1992-), 男, 硕士生, 主要从事天然免疫研究, E-mail: chenxiang19921226@163.com

[通信作者] 曹雪涛(CAO Xuetao, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事天然免疫与炎症基础、临床疾病免疫治疗研究, E-mail: caoxt@immunol.org

线,能通过内吞作用清除有害物质,同时不会影响营养物质的吸收。与其他免疫器官不同的是,正常情况下,肝中 APC 吞噬清除抗原后会限制适应性免疫的活化,抑制效应细胞的分化成熟,同时促进调节性细胞亚群的增殖^[4]。

LSEC 是高度特化的内皮细胞,包围在肝细胞周围形成特殊结构,其缺乏基膜、具有许多孔洞,能允许小分子营养物质通过的同时滤过抗原性成分,避免其与淋巴细胞直接接触。LSEC 能通过 MHC I 类分子经由交叉提呈的方式将抗原提呈给 CD8T 细胞^[5]。在抗原性物质水平较低的情况下,LSEC 与 CD8T 细胞间的相互作用会降低细胞表面的共刺激分子 B7-1 和 B7-2 的表达,同时升高共抑制分子程序性死亡配体-1 (programmed death ligand 1, PD-L1) /PD-L2 的表达。CD8T 细胞表面的程序性死亡受体-1 (programmed death-1, PD-1) 则表达上升,以抑制 CD8T 细胞的活化。当肝受到病原体感染,抗原浓度上升的情况下,CD8T 细胞会通过自分泌 IL-2 的方式,抵消共抑制分子的作用,促使自身活化^[6]。此外,在小鼠 MHC II 分子嵌合模型中,发现 LSEC 能通过 MHC II 诱导 CD4T 细胞分化成为免疫抑制性的细胞^[7]。KC 是全身单核-吞噬细胞系统重要的组成部分,其表达有多种模式识别受体、补体受体、免疫球蛋白 Fc 受体,在肝的免疫调节中起着重要作用。相对于其他抗原提呈细胞,KC 表面的 MHC II 分子表达较低,使得其无法有效提呈抗原促进 T 细胞增殖活化^[8]。此外,在低浓度脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 的刺激下,KC 能分泌抑制性细胞因子 IL-10 抑制免疫活化^[9]。KC 也能通过调控 Treg 分泌 IL-10 抑制免疫活化^[10]。KC 介导的肝免疫抑制和肝的状态相关,生理条件下 KC 能通过抑制效应 T 细胞增殖活化,促进 Treg 的分化来抑制免疫活化,肝遭受外界病原体感染,处于炎症条件下骨髓/单核起源的巨噬细胞能快速募集,分泌促炎因子打破 KC 介导的免疫抑制^[11]。HSC 能通过分泌 TGF- β 1 和全反式维甲酸来促进 Treg 的产生^[12],同时也能通过高表达 PD-L1 来诱导效应 T 细胞的凋亡从而抑制免疫活化^[13]。DC 也和肝的免疫调控密切相关。肝中既有髓样 DC,也有淋巴样 DC,相比于外周血中的 DC,肝中 DC 难以诱导效应 T 细胞的活化增殖,也无法促进炎症因子 TNF、IL-6、IL-1 β 的分泌,但能促进 Treg 的产生^[14-15]。最新的研究^[16]则进一步揭示了肝 DC 诱导 Treg 的产生和 PD-L1 相关,但具体机制仍有待进一步揭示。肝中骨髓源性抑制细胞 (myeloid derived suppressor cell, MDSC) 也和肝免疫

抑制微环境的维持密切相关。MDSC 能分泌 IL-10、TGF- β 等炎症抑制因子抑制免疫活化,同时也能通过分泌吲哚胺-2,3-双加氧酶 (indoleamine-2,3-dioxygenase, IDO)、精氨酸酶来限制免疫活化相关氨基酸的产生,从而抑制免疫细胞的增殖活化^[17]。

肝中不同细胞还通过免疫抑制性细胞因子共同构建了一个肝免疫负向调控的网络。TGF- β 能通过诱导 Treg 的产生,同时抑制 IL-12、IL-2、IFN- γ 等炎症细胞因子的产生^[18],抑制 B 细胞的增殖和分化^[19],从而抑制肝免疫系统的活化;IL-10 则能和 TGF- β 形成正反馈的通路,互相促进对方产生,IL-10 也能通过抑制 IL-2、IFN- β 、TNF- α 的产生,抑制巨噬细胞、DC 的抗原提呈功能来抑制免疫系统的活化^[20]。

2 肝负向免疫抑制微环境对 HCC 发生发展的影响

HCC 的发生与肝长期慢性炎症密切相关。在病毒感染、酒精损伤、肥胖等因素的作用下,肝产生氧化应激反应,导致活性氧和活性氮自由基累积,损伤肝细胞,释放损伤相关模式分子 (damage-associated molecular pattern, DAMP),促进炎症细胞的募集和活化,并产生细胞凋亡、坏死、再生等现象。当危险因素被清除后,炎症消退,组织修复并恢复正常。但在危险因素长期反复的作用下,急性肝炎转变为慢性肝炎,免疫系统被不断活化,同时肝组织不断坏死、增生。细胞复制过程中基因发生突变,抑癌基因失活、原癌基因活化,最终导致肝癌的发生。在此期间,免疫系统的负向调控机制也被反复触发,以防止过度活化损伤健康组织。肿瘤细胞产生后则进一步利用免疫负向调控系统促进自身的逃逸和发展。

2.1 免疫细胞的亚群改变

APC 的抗原提呈功能减弱是肿瘤免疫逃逸的主要原因。肝中包括经典的 APC,如 DC 和非经典的 APC (KC、LSEC、HSC 等)。HCC 发生时,非经典的 APC 抗原吞噬清除能力减弱,同时高表达 PD-L1,诱导 T 细胞凋亡,抑制免疫系统活化^[21]。DC 是机体内功能最强的专职 APC,能提呈肿瘤抗原,活化效应 T 细胞,杀伤肿瘤细胞。HCC 患者体内存在着 DC 表型和数量的异常改变。Kelly 等^[22]对比健康人和 HCC 患者的肝组织发现,患者体内 CD141⁺ DC 数量减少,而 CD141⁺ DC 具有较强的促炎和抗原提呈功能。CD14⁺CTLA-4⁺ DC 的数量则在 HCC 患者体内呈现上升趋势,并能通过促进 IL-10 和 IDO 的产生抑制 T 细胞反应^[23]。此外,研究^[24-25]发现 HCC 患者体内的 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg 数量显

著增加,同时 CD8⁺T 细胞数量减少,对肿瘤细胞的杀伤能力下降,导致 HCC 的免疫逃逸。

2.2 免疫检查点异常与效应细胞功能受损

免疫检查点的异常改变也是导致肿瘤免疫逃逸的重要原因。HCC 表面的 B7-1 和 B7-2 表达减少会使得 B7/CD28 介导活化的效应性 T 细胞的功能受限^[26]。同时,Treg 高表达 CTLA4,竞争性结合 APC 表面的 B7 分子,抑制效应 T 细胞的活化增殖。此外,HCC 患者体内(包括肝和外周血循环)PD-1 在 CD8⁺T 细胞表达上升^[27],PD-L1 在瘤旁基质细胞(LSEC、KC 和单核细胞)及癌细胞上表达增加^[28],均会诱导效应 T 细胞的凋亡,抑制免疫活化,这也为 PD-L1 免疫阻断剂治疗 HCC 提供了实验依据。有研究^[29]发现,相比于普通的 DC,PD-1 缺陷的 DC 能更强地活化 CD8⁺T 细胞,而 HCC 患者外周血 DC 和肿瘤浸润的髓系细胞都存在 PD-1 高表达现象,由此引起 CD8⁺T 细胞活化受到抑制。其他一些共刺激分子如 Tim-3、LAG-3、CD244(2B4)等在 HCC 临床研究中也已被作为免疫激动剂的靶点。Tim-3 受体在免疫细胞表面表达增加,其相应配体 galectin-9 蛋白在 KC、HCC 细胞表达上调和 HCC 的免疫逃逸相关,Tim-3 与其配体 galectin-9 结合后能启动细胞凋亡相关的信号通路,而 Tim-3 多表达于 I 型辅助细胞和细胞毒性 T 细胞中^[30]。LAG-3 分子分布于活化的 T 淋巴细胞、NK 细胞和 DC 中,是免疫系统的负向调控分子。HCC 患者体内 CD8⁺T 细胞、CD4⁺I 型 Treg 细胞表面的 LAG-3 分子表达增加可抑制免疫活化,导致肿瘤细胞免疫逃逸^[31]。部分 HCC 患者癌组织中的单核细胞会高表达 CD48 分子,通过与 NK 细胞上的受体 2B4 相互作用,抑制 NK 细胞的肿瘤杀伤作用^[26, 32]。HCC 患者 NK 细胞中细胞毒性颗粒和 CD3 ζ 的低表达,以及自然细胞毒受体(natural cytotoxic receptor, NCR)的高表达,也会导致 NK 细胞功能受损^[33]。

2.3 细胞因子分泌异常

细胞因子的分泌异常也与 HCC 的免疫逃逸密切相关。IL-10 具有免疫抑制的功能,在大部分 HCC 患者中呈现高表达状态^[23]。IL-6、IL-22 引发的 JAK/STAT、Ras/ERK、PI3K 信号通路的活化,能促进 Bcl-2、Bcl-XL、CyclinD1 等基因的表达,同时增加 VEGF 的分泌,加速肿瘤的生长^[34]。慢性炎症导致的肝损伤和纤维化是 HCC 发生的重要原因。最新研究发现,内质网应激会导致细胞内脂肪的积累,促使非酒精性脂肪肝病的发生,并进一步募集巨噬细胞分泌 TNF。TNF 能促使肿瘤相关炎症微环境的形成,诱导

趋化因子 CCL2、CCL7、CXCL13 和细胞因子 IL-1 β 、IL-6、TGF- β 等的产生,加速肝细胞的非酒精性脂肪样变性,最终导致 HCC 的发生和发展^[35]。CCL2 也和纤维化过程中血管的形成相关。CCL2 能通过与受体 CCR2 的结合,促使单核细胞尤其是 Ly6C⁺单核细胞亚群在肝累积,并进一步分化为巨噬细胞,其分泌的 VEGF-A 和 MMP9 等细胞因子能促进纤维化组织中血管的形成^[36]。抑制相关细胞因子的产生并阻断其下游信号通路有望减缓 HCC 的发展并恢复免疫系统对肿瘤细胞的监视和杀伤能力。

3 基于肝免疫微环境的 HCC 免疫疗法

近年来,免疫治疗作为新的生物学治疗方法,在抗肿瘤治疗中得到广泛关注。临床上已有相关研究证实,免疫治疗可以有效改善 HCC 患者的预后,但其疗效仍有进一步的提升空间。免疫检查点异常和免疫细胞亚群改变是导致 HCC 免疫逃逸的主要原因,通过免疫检查点阻断、过继性细胞回输、DC 疫苗等方式有望恢复患者免疫系统对肿瘤的杀伤能力。

3.1 免疫检查点阻断

CTLA4、PD-1、TIM-3 是免疫检查点中关键的负向调控分子,其表达上调会促进 HCC 的发展,缩短患者的总体生存期^[37-38]。有研究^[39]发现,通过特异的单克隆抗体阻断免疫检查点的负向调控通路,恢复免疫系统对肿瘤细胞的识别杀伤能力将有助于 HCC 患者的治疗。曲美母单抗(tremelimumab)是针对 CTLA-4 的单克隆抗体,与 CTLA-4 结合后可以阻断其与 B7 的结合,从而抑制 B7-CTLA-4 所介导的效应 T 细胞失活。在一项临床 I 期试验中,曲美母单抗显示了很好的抗肿瘤效果,同时能显著抑制 HCV 的复制,提示曲美母单抗有望成为 HCC 治疗的新药^[40]。此外,最近的研究^[25, 41]显示,相对于正常人体中的 Treg, HCC 患者体内 Treg 细胞表面肿瘤坏死因子受体(glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor, GITR)表达上升,用相应的配体阻断该受体后能减弱 Treg 的免疫抑制功能,恢复效应 T 细胞的增殖。体外实验证明 GITR 受体阻断剂和 CTLA-4 单克隆抗体联合应用能彻底逆转肝中 Treg 介导的肿瘤免疫抑制,有望进一步进入临床试验以验证其疗效。派姆单抗(pembrolizumab)是 FDA 批准的第一个 PD-1 受体阻断剂,适用于晚期黑色素瘤的治疗,832 位患者的随机对照试验显示派姆单抗的疗效、患者反应率均明显优于 CTLA-4 受体阻断剂易普利姆玛(ipilimumab)^[42]。在针对肺癌治疗的临床 III 期试验中,派姆单抗显著延长了肿

瘤组织 PD-L1 检测阳性患者的总体生存期^[43]。此外, FDA 于 2014 年和 2015 年分别批准了 PD-1 阻断剂纳武单抗(nivolumab)用于转移性黑色素瘤和非小细胞肺癌的治疗, 其疗效与派姆单抗相当^[44]。纳武单抗和派姆单抗在 HCC 治疗中应用的临床试验尚未见报道, 但 HCC 发生发展和 PD-1/PD-L1 通路介导的免疫抑制密切相关, 利用 PD-1 阻断剂进行 HCC 治疗具有切实的可行性。此外, 最新的研究^[45-46]也表明, 前列腺素 E2 与 PD-1 共同介导了肝炎患者细胞毒性 T 淋巴细胞的功能受损, 进一步导致癌症的发生, 提示联合应用前列腺素 E2 抑制剂和 PD-1 拮抗剂能恢复肝炎患者的抗病毒能力、降低癌症发生风险。免疫检查点抑制剂在免疫治疗上有广阔的应用前景, 但其可能引发的副作用也是不可忽视的。免疫检查点抑制剂在增强机体抗肿瘤免疫的同时, 会不可避免地引发一些免疫相关的不良反应(immune-related adverse events, irAE), 对不同器官产生不同程度的影响。受影响比较大的组织器官包括: 皮肤(起疹、干燥、瘙痒)、肝(炎症)、胃肠道(结肠炎、腹泻) 和内分泌器官(垂体炎、甲状腺炎)^[47-48]。irAE 的发生率和免疫检查点抑制剂的用量呈现正相关, 且应用 PD-1 受体阻断剂所导致的 irAE 发生率和严重程度均明显小于 CTLA-4 受体阻断剂, 免疫检查点抑制剂联合应用抑制肿瘤细胞增殖的相关药物有望取得较好效果, 但 PD-1 和 CTLA-4 受体阻断剂的联合应用也会导致 irAE 的发生增加^[49-50]。如何在保证治疗效果的前提下, 降低免疫检查点抑制剂的用量以减少 irAEs 的发生是亟待解决的问题。

MAPK 家族参与的信号通路与细胞的增殖密切相关, MAPK 通路的异常活化是许多肿瘤的特征, 参与该通路的蛋白是肿瘤治疗的潜在靶标。研究^[51]显示, MAPK 通路相关蛋白激酶 BRAF、MEK 抑制剂的联合应用治疗晚期黑色素瘤的效果与 PD-1 和 CTLA-4 受体阻断剂联合应用的疗效相当, 均高于单一使用 PD-1 受体阻断剂的疗效, 提示多通路联合治疗是癌症治疗的发展方向。HCC 患者肿瘤组织中的 MAPK 通路也存在异常活化的现象。BCL-3 是和细胞增殖、凋亡调控相关的蛋白, 体内实验结果显示, 相比于普通小鼠, 肝过表达 BCL-3 的小鼠在接受二乙基亚硝胺(DEN)和苯巴比妥处理后 HCC 发生的数目和肿瘤体积均相对较小。进一步的机制研究^[52]显示, BCL-1 过表达可以抑制 MAPK 通路的激酶 ERK 和 JNK 的活化, 同时促进损伤肝细胞的凋亡, 减少 HCC 发生的可能, 是 HCC 治疗的潜在靶

标。类似的, miRNA-140-5p 能抑制 TGF- β 受体 1 (TGFBR1) 和成纤维细胞生长因子 9 (FGF9) 的表达, 从而阻断 MAPK 通路的活化, 抑制 HCC 细胞的增殖^[53]。虽然 HCC 细胞内 MAPK 通路的异常改变得到了深入研究, 多靶点激酶抑制剂索非拉尼(sorafenib)在治疗晚期肝癌的疗效也早已得到验证, 但免疫抑制性受体阻断剂和激酶抑制剂联合应用治疗 HCC 的临床试验目前仍相对较少, 值得进一步探究。HCC 的发生发展是多种因素共同导致的结果, 通过免疫抑制性受体阻断剂逆转肝的免疫抑制微环境, 同时通过 MAPK 通路蛋白激酶抑制剂抑制癌细胞增殖或许能显著延长 HCC 患者的生存期。

3.2 过继性细胞免疫治疗

过继细胞治疗(adoptive cell therapy, ACT)是指从患者体内分离出具有抗肿瘤能力的细胞, 再经细胞因子处理或肿瘤抗原刺激增强其对肿瘤的杀伤能力, 扩增后回输到患者体内进行抗肿瘤治疗。CIK 细胞膜表面特异性表达 CD3 和 CD56 分子, 其可通过分离人外周血单个核细胞后在体外和抗 CD3 单克隆抗体、IL-2、IFN- γ 共同培养一段时间后获得。CIK 细胞同时具有 T 淋巴细胞的抗瘤能力和 NK 细胞的非 MHC 限制性, 此外 CIK 细胞对包括 HCC 在内的多种实体瘤和非实体瘤均具有杀伤作用且不良反应小, 是 ACT 治疗的理想选择之一^[54]。在一项临床 III 期试验^[55]中, 230 例接受 HCC 根治性治疗(手术、局部消融等) 的患者被随机分为两组: 对照组术后只接受辅助性治疗, 肿瘤平均复发时间为 30 个月; 试验组术后接受 CIK 细胞治疗, 肿瘤平均复发时间为 44 个月, 试验组的生存期也得到了延长。但试验组也更多地出现了寒战、发热、排痰性咳嗽等副作用, 其中 1 例患者因为严重的副反应而退出治疗。CIK 细胞治疗对 HCC 是否真的有效仍需大样本临床试验进一步验证, 如何避免 CIK 细胞回输治疗带来的副作用也有待商榷。此外, 有研究^[56]发现, 肿瘤组织高表达 PD-L1 的 HCC 患者, 进行 CIK 细胞回输治疗, 疗效较好, 而正常状况下, 肿瘤患者高表达 PD-L1 则预后较差。PD-L1 的表达与 CIK 细胞疗效之间的关系和作用机制值得深入探究。

TIL 细胞的组成主要是 T 细胞, 其数量和密度与肿瘤的发展、患者的愈后密切相关, 也是 ACT 治疗的理想选择之一^[57]。自体 TIL 细胞的分离回输最初用于黑色素瘤的治疗, 部分患者肿瘤完全消退且持久有效^[58]。HCC 的发生发展也与 TIL 细胞密切相关。一项临床 I 期试验^[59]显示, 对无远处转移的原发性 HCC 患者进行根治性切除术后, 再接受

TIL 回输治疗,跟踪观察 14 个月后,15 例患者均未出现明显毒副作用,其中有 13 例未发现癌细胞,2 例患者 HCC 复发。结果说明 TIL 细胞回输对 HCC 治疗有一定疗效,但仍需进一步扩大样本量、延长观测时间进行验证。对 HCC 患者进行 TIL 细胞回输治疗也受到客观条件的限制,包括:TIL 细胞的分离扩增困难;缺乏具有 HCC 特异性且在肿瘤组织中高表达的肿瘤抗原;肝特有的免疫抑制微环境(如 Treg 细胞大量存在,肝正常组织和肿瘤组织均高表达 PD-L1 分子)抑制了 TIL 的治疗效果。这些问题的解决将有助于 TIL 在 HCC 临床治疗上的应用。PD-L1/PD-1 与 TIL 疗效的相关性已在实验中得到初步验证,运用 PD-1 阻断剂能显著增强磷脂酰肌醇聚糖 3 (glypican-3, GPC3) 诱导产生的抗原肽特异性 TIL 的肿瘤细胞杀伤能力^[60],然而其临床效果以及可能潜在的副作用仍需进一步验证。

NK 细胞在抗感染和抗肿瘤免疫中都起着十分重要的作用,NK 细胞功能的受损会增加病毒感染的可能性和癌症发生的概率^[61]。NK 细胞回输应用于肿瘤治疗始于 1980 年,患者回输了在体外杀瘤效果显著的 IL-2 活化的 NK 细胞,即 LAK 细胞,但未取得理想效果,且部分接受治疗的患者产生水肿的现象,副作用在停用 IL-2 后消失^[62],临床疗效受限可能与 IL-2 引发的 Treg 的扩增相关。NK 细胞用于 HCC 的治疗也在临床上得到了初步验证,但效果欠佳。黄宇贤等^[63]采集 30 例晚期 HCC 患者的外周血,经体外培养诱导产生 NK 细胞,回输并检测患者外周血 NK 细胞活性,结果发现接受 NK 细胞回输的患者外周血 NK 细胞活性明显增强,疾病缓解率为 13.3%,疾病控制率为 76.7%。由于 NK 细胞抑制性受体的存在,HCC 发生时 Treg 细胞的大量浸润,TGF- β 、IL-10 等免疫抑制性细胞因子的分泌,这些因素均导致回输的 NK 细胞易失活,难以取得长久的疗效。如在回输 NK 细胞的基础上用相应单克隆抗体阻断 NK 细胞的抑制性受体,则有望提升疗效。IPH2102 单抗作为 KIR2DL 受体的阻断剂用于急性髓系白血病和多发性骨髓瘤的治疗已进入临床研究阶段^[64]。此外,由于 NK 细胞也表达 PD-1 分子,可介导 NK 的功能受损,所以使用 PD-1 单克隆抗体也能增强 NK 细胞的肿瘤杀伤能力。CD16、NKG2D 等 NK 细胞活化相关受体的双特异性抗体的研究也逐步得到重视。双特异性抗体的 Fv 区能分别结合 NK 细胞活化相关受体和肿瘤相关抗原,从而介导 NK 细胞对肿瘤的杀伤。HER2(乳腺癌)^[65]、CD33^[66](急性髓系白血病)、CD30^[67](霍奇

金淋巴瘤)等肿瘤相关抗原偶联 CD16 高亲和力 Fv 区的双特异性抗体介导 NK 细胞对肿瘤的杀伤作用已得到初步的实验验证,有望进一步向临床转化。此外,NKG2D 作为在 NK 细胞和 T 细胞表面都表达的活化型受体,运用其相关的双特异性抗体能同时活化 NK 细胞和 T 细胞进行肿瘤杀伤^[68]。但是,目前 HCC 相关的双特异性抗体的研究报道较少,其与 NK 细胞联用的治疗效果值得期待。

近年来基因编辑的技术不断成熟,为科研人员定向改造免疫细胞提供了有力工具。最新一代 CAR-T 技术是通过基因工程技术重编码患者 T 细胞使其表达 CAR,增强其肿瘤杀伤的特异性,同时共表达两个共刺激因子,有效促进 T 细胞活化增值,在急性白血病和非霍奇金淋巴瘤的治疗中取得了显著的疗效^[69]。CAR-T 技术杀伤肿瘤细胞仍存在一定脱靶概率,容易损伤正常组织,Wendell 实验室^[70]对 CAR-T 技术做了最新的改进:T 细胞先通过合成的 Notch 受体(SynNotch)识别肿瘤细胞的其中一种抗原,再激活具有另一肿瘤抗原特异性的 CAR 的转录,只有同时表达两种肿瘤相关抗原的肿瘤细胞才会被识别杀伤,显著降低了损伤正常细胞的概率。靶向活化自然杀伤细胞(arget-activated natural killer cell, taNK)和 CAR-T 技术具一定的类似性,通过嵌合在 NK 细胞表面的肿瘤特异性抗体,靶向识别并摧毁肿瘤细胞^[71]。该 NK 细胞同时敲除了杀伤细胞抑制性受体(killer inhibitory receptor, KIR),有效维持了杀伤活性,同时,NK 细胞的非 MHC 限制性杀伤能更有效地避免一些低表达 MHC-I 类分子的肿瘤细胞的免疫逃逸。目前,在 HCC 治疗中,通过基因工程编辑免疫细胞,增强其抗瘤活性和特异性的研究仍相对较少。Kamiya 等^[72]在 NK 细胞表面表达活化相关的 NKG2D-CD3 ζ - DAPI0 偶联受体,并应用于 HCC 小鼠的治疗,取得了较好效果,提示了基因编辑的免疫细胞在 HCC 治疗中的广阔应用前景。基因编辑的关键是特异性抗原的选择,如何筛选具有 HCC 特异性且普遍表达在癌细胞中的抗原以避免脱靶效应将是未来该领域研究的重点。

3.3 DC 免疫疗法

DC 是目前发现的功能最强的专职 APC,在调控天然免疫和诱导特异性免疫应答过程中起着重要作用。有研究^[22-23]发现,HCC 患者体内 DC 表型和数量都存在异常改变,无法有效提呈抗原、诱导免疫活化、杀伤肿瘤细胞,所以恢复 HCC 患者 DC 的抗原提呈能力是治疗的关键环节。治疗性 DC 疫苗可以分为体外活化回输的 DC 疫苗和体内活化 DC 的

肿瘤疫苗两种类型^[73]。在 HCC 模型中进行的研究^[74]发现,用自体瘤溶解产物致敏 DC 后回输,小鼠生存期显著延长。针对 DC 疫苗的临床试验, Lee 等^[75]用 AFP、GPC3 等肿瘤相关抗原处理 DC 后回输至接受手术切术或肝动脉化疗栓塞术(TACE)等治疗后的 HCC 患者体内,取得了较好抑癌效果;试验组患者中位肿瘤复发时间明显长于对照组(36.6 个月 vs 11.8 个月)。

肿瘤干细胞存在于肿瘤细胞中,是肿瘤复发和转移的“元凶”。Sun 等^[76]成功分离了 HCC 干细胞并制备筛选了能抑制肿瘤干细胞增殖的单克隆抗体。另有研究^[77]发现,相对于肿瘤细胞,用肿瘤干细胞裂解液进行抗原荷载的 DC 能更好的诱导 T 细胞活化。在一项临床 I 期试验^[78]中,患者回输了经辐照后的肿瘤干细胞共培养的自体 DC,取得了较好的疗效。但在另外两项临床 II 期试验^[79-80]中,用自体瘤溶解产物或者肿瘤相关抗原处理 DC 后进行回输治疗,结果显示只有极少比例的患者肿瘤体积减小,开始消退,生存期延长。

DC 疫苗治疗效果个体差异大可能与患者肝固有的免疫微环境相关,如何提高 DC 疫苗的抗原提呈能力仍旧是研究的热点。通过基因工程技术对 DC 进行修饰,有望加强其抗原提呈能力^[81]。此外,将 DC 疫苗和其他治疗方法联合应用,可维持回输 DC 细胞的抗原提呈能力以提高疗效。Heo 等^[82]在未接受过索拉非尼疗法的晚期 HCC 患者中进行的 II 期临床试验表明,高剂量静脉注射靶向溶瘤牛痘病毒 JX-594 能够有效地杀死患者体内肿瘤细胞,并诱发抗肿瘤免疫反应,延长患者生存期。这一结果提示 JX-594 治疗和 DC 疫苗联合应用有望进一步提高 HCC 治疗效果。此外,射频消融术在杀死癌细胞的同时,可释放肿瘤相关抗原,活化 HCC 患者的免疫系统,与 DC 疫苗的联合治疗值得进一步深入研究^[83-84]。此外,体内靶向 DC 促进其抗原提呈的肿瘤抗原的研究也取得了一定进展。

CTP-FoxM1 融合蛋白包含胞浆转导肽(cytoplasmic transduction peptide, CTP)和肿瘤相关抗原 FoxM1,能特异性靶向 DC 并促进其抗原提呈能力。在 HCC 小鼠模型中,使用 CTP-FoxM1 融合蛋白能显著抑制肿瘤的生长,且效果优于 FoxM1 或 CTP 单独使用的结果,有望进入临床试验进一步验证其疗效^[85]。另外一项临床 I 期试验^[75]中,患者进行手术等 HCC 根治性治疗后,再接受 DC 回输,同时用 CTP- α AFP/GPC3/黑色素瘤相关抗原 1 融合蛋白疫苗在体内进一步活化回输的 DC,治疗过程中未出现

严重的副反应。试验组 12 例患者中有 9 例在治疗后的 24 周内未出现 HCC 复发,且试验组中位肿瘤进展时间显著长于对照组(36.6 个月 vs 11.8 个月),提示 DC 疫苗和肿瘤疫苗联合应用在抗肿瘤免疫中可能取得良好的效果。DC 免疫治疗的关键仍旧在于 HCC 特异性疫苗的选择,寻找特异性好的肿瘤相关抗原,在诱导抗肿瘤免疫的同时避免损伤正常机体组织将是未来 HCC 免疫治疗研究的重点。

4 展 望

肿瘤的发生是机体内细胞在遗传和环境因素作用下基因发生突变、细胞异常增殖的结果。在此过程中,肿瘤细胞与免疫系统相互作用,通过各种途径逃避免疫杀伤。肿瘤的复发也与术后部分残留肿瘤细胞的免疫逃逸相关。由于肿瘤发生发展过程的多样性、复杂性,单一的用物理或者化学方法治疗已经不再适用。在对患者进行病理、细胞、分子等多层次诊断的基础上,联合运用手术、化疗等手段和免疫学方法将是未来肿瘤治疗的发展方向。免疫学方法将在肿瘤诊断、治疗及预后支持等各方面都发挥作用。

不同的类型的肿瘤,由于其发生、发展的原因不尽相同,细胞特性、免疫逃逸机制、抗原性等也千差万别,因此对免疫疗法的易感性也不尽相同。综合考虑相应肿瘤的特点同时结合患者自身检查结果(包括是否转移、是否有特定基因突变、肿瘤细胞表面是否高表达特异性的抗原等)制定个体化的治疗方案是肿瘤治疗的最佳选择。HCC 的发生和病毒、乙醇、高脂饮食等外界因素导致的肝慢性炎症密切相关,肝自身特有的免疫抑制微环境在 HCC 免疫逃逸过程中所起的作用也不可忽视。HCC 患者治疗首先要消除其肿瘤的诱发因素。中国是乙肝大国,HBV 导致的肝长期慢性炎症是 HCC 发生的重要诱因,因此针对 HBV 感染的 HCC 患者,进行抗病毒治疗对延缓肿瘤复发、延长患者生存期有着重要意义。恢复 HCC 患者免疫系统对肿瘤的监视、杀伤能力则是免疫疗法的核心。

肿瘤患者免疫系统处于“阴盛阳衰”的状态,无论是肿瘤疫苗、细胞因子治疗、过继性细胞转移或是特异性靶点阻断,都是为了增强患者自身免疫系统对肿瘤的杀伤能力。免疫检查点抑制剂的研究是肿瘤免疫治疗的热门领域,CTLA-4、PD-1、TIM-3 等免疫检查点的异常均与 HCC 的发生密切相关。免疫检查点异常具有个体特异性,寻找患者治疗敏感的免疫检查点使用相应的检查点抑制剂能取得较好的治疗效果。此外,HCC 消融与免疫疗法的联用效果

也较为理想。肝切除、TACE 等传统治疗方法治疗后有助于 HCC 相关抗原的释放,此时再联用免疫疗法有望减少肿瘤的复发,增强疗效。基因编辑技术的成熟也为细胞免疫治疗指明了新的方向。不同 HCC 亚类所特有的肿瘤生物学标志物不断得到确定,对具有肿瘤杀伤能力免疫细胞进行相应修饰,通过抗体嵌合、抑制性受体敲除的手段进一步增强其杀伤效果有望提升细胞免疫治疗的疗效。

免疫治疗应用前景广阔,但目前依然存在一些问题,如疗效相对迟缓,易引发人体自身免疫紊乱等。相信随着研究的深入和机制的明确,这些问题将会得到逐步解决,免疫疗法将在未来的肿瘤治疗中发挥更重要的作用。

[参 考 文 献]

- [1] European Association For The Study of The Liver; European Organisation For Research And Treatment Of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2012, 56(4): 908-943. DOI: 10. 1016/j. ejca. 2011. 12. 021.
- [2] GRANT C R, LIBERAL R. Liver immunology: how to reconcile tolerance with autoimmunity[J/OL]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2016, pii: S2210-7401(16):30095-X[2016-12-20]. <http://www. sciencedirect. com/science/journal/22107401>. DOI: 10. 1016/ j. clinre. 2016. 06. 003.
- [3] CALNE R Y, SELLS R A, PENA J R, et al. Induction of immunological tolerance by porcine liver allografts[J]. *Nature*, 1969, 223(5205): 472-476.
- [4] HORST A K, NEUMANN K, DIEHL L, et al. Modulation of liver tolerance by conventional and nonconventional antigen-presenting cells and regulatory immune cells[J]. *Cell Mol Immunol*, 2016, 13(3):277-292. DOI: 10. 1038/cmi. 2015. 112.
- [5] SCHURICH A, BERG M, STABENOW D, et al. Dynamic regulation of CD8 T cell tolerance induction by liver sinusoidal endothelial cells[J]. *J Immunol*, 2010, 184(8):4107-4114. DOI: 10. 4049/jimmunol. 0902580.
- [6] DIEHL L, SCHURICH A, GROCHTMANN R, et al. Tolerogenic maturation of liver sinusoidal endothelial cells promotes B7-homolog 1-dependent CD8⁺ T cell tolerance[J]. *Hepatology*, 2008, 47(1):296-305. DOI: 10. 1002/hep. 21965.
- [7] KRUSE N, NEUMANN K, SCHRAGE A, et al. Priming of CD4⁺ T cells by liver sinusoidal endothelial cells induces CD25 low forkhead box protein 3-regulatory T cells suppressing autoimmune hepatitis[J]. *Hepatology*, 2009, 50(6):1904-1913. DOI: 10. 1002/hep. 23191.
- [8] YOU Q, CHENG L, KED R M, et al. Mechanism of T cell tolerance induction by murine hepatic Kupffer cells[J]. *Hepatology*, 2008, 48(3):978-990. DOI: 10. 1002/hep. 22395.
- [9] KNOLLE P, SCHLAAK J, UHRIG A, et al. Human Kupffer cells secrete IL-10 in response to lipopolysaccharide (LPS) challenge [J]. *J Hepatol*, 1995, 22(2): 226-9. DOI: 10. 1016 0168-8278 (95)80433-1.
- [10] BREOUS E, SOMANATHAN S, VANDENBERGHE L H, et al. Hepatic regulatory T cells and Kupffer cells are crucial mediators of systemic T cell tolerance to antigens targeting murine liver[J]. *Hepatology*, 2009, 50(2):612-621. DOI: 10. 1002/hep. 23043.
- [11] HEYMANN F, PEUSQUENS J, LUDWIG-PORTUGALL I, et al. Liver inflammation abrogates immunological tolerance induced by Kupffer cells[J]. *Hepatology*, 2015, 62(1):279-291. DOI: 10. 1002/hep. 27793.
- [12] DUNHAM R M, THAPA M, VELAZQUEZ V M. Hepatic stellate cells preferentially induce Foxp3⁺ regulatory T cells by production of retinoic acid[J]. *J Immunol*, 2013, 190(5):2009-2016. DOI: 10. 4049/jimmunol. 1201937.
- [13] YU M C, CHEN C H, LIANG X, et al. Inhibition of T-cell responses by hepatic stellate cells via B7-H1-mediated T-cell apoptosis in mice[J]. *Hepatology*, 2004, 40(6): 1312-1321. DOI: 10. 1002/hep. 20488.
- [14] BAMBOAT Z M, STABLEFORD J A, PLITAS G, et al. Human liver dendritic cells promote T cell Hyporesponsiveness[J]. *J Immunol*, 2009, 182(4):1901-1911. DOI:10. 1002/hep. 20488.
- [15] TOKITA D, SUMPTER T L, RAIMONDI G, et al. Poor allostimulatory function of liver plasmacytoid DC is associated with pro-apoptotic activity, dependent on regulatory T cells[J]. *J Hepatol*, 2008, 49(6):1008-1018. DOI: 10. 1016/j. jhep. 2008. 07. 028.
- [16] LIU H, BAKTHAVATSALAM R, MENG Z, et al. PD-L1 signal on liver dendritic cells is critical for Foxp3(+)CD4(+)CD25(+) Treg and liver tolerance induction in mice[J]. *Transplant Proc*, 2013, 45(5): 1853-1865. DOI: 10. 1016/j. transproceed. 2013. 03. 015.
- [17] GABRILOVICH D I, NAGARAJ S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(3):162-174. DOI:10. 1038/nri2506.
- [18] LEBMAN D A, EDMISTON J S. The role of TGF-beta in growth, differentiation, and maturation of B lymphocytes[J]. *Microbes Infect*, 1999, 1(15):1297-1304.
- [19] PRUDHOMME G J. Pathobiology of transforming growth factor beta in cancer, fibrosis and immunologic disease, and therapeutic considerations[J]. *Lab Invest*, 2007, 87(1): 1077-1091. DOI: 10. 1038/labinvest. 3700669.
- [20] LIPPITZ B E. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review[J/OL]. *Lancet Oncol*, 2013, 14(6): e218-228[2016-12-20]. <http://www. sciencedirect. com/science/journal/14702045>. DOI: 10. 1016/S1470-2045(12)70582-X.
- [21] THOMSON A W, KNOLLE P A. Antigen-presenting cell function in the tolerogenic liver environment[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(11):753-766. DOI: 10. 1038/nri2858.
- [22] KELLY A, FAHEY R, FLETCHER J M, et al. CD141⁺ myeloid dendritic cells are enriched in healthy human liver[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(1):135-142. DOI: 10. 1016/j. jhep. 2013. 08. 007.
- [23] HAN Y, CHEN Z, YANG Y, et al. Human CD14⁺CTLA-4⁺ regulatory dendritic cells suppress T-cell response by cytotoxic T-lymphocyte antigen-4-dependent IL-10 and indoleamine-2,3-dioxygenase production in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2014,

- 59(2): 567-579. DOI: 10.1002/hep.26694.
- [24] FU J, XU D, LIU Z, et al. Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients[J]. *Gastroenterology*,2007,132(7):2328-2339. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.102
- [25] PEDROZA GONZALEZ A, VERHOEF C, IJZERMANS J N, et al. Activated tumor-infiltrating CD4⁺ regulatory T cells restrain antitumor immunity in patients with primary or metastatic liver cancer [J]. *Hepatology*,2013, 57(1): 183-194. DOI: 10.1002/hep.26013.
- [26] WU Y, KUANG D M, PAN W D, et al. Monocyte/macrophage-elicited natural killer cell dysfunction in hepatocellular carcinoma is mediated by CD48/2B4 interactions[J]. *Hepatology*,2013, 57(3): 1107-1116. DOI: 10.1002/hep.26192.
- [27] JUNG H I, JEONG D, JI S, et al. Overexpression of PD-L1 and PD-L2 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Cancer Res Treat*,2016,2016:Epub ahead of print[2016-12-20]. <http://www.cancer.or.kr/journal/main.html?mod=vol>. DOI: 10.4143/crt.2016.066.
- [28] LIM T S, CHEW V, SIEOW J L, et al. PD-1 expression on dendritic cells suppresses CD8⁺ T cell function and antitumor immunity[J/OL]. *Oncoimmunology*,2015, 5(3): e1085146[2016-12-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1816/>. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1085146.
- [29] LI F J, ZHANG Y, JIN G X, et al. Expression of LAG-3 is coincident with the impaired effector function of HBV-specific CD8⁺ T cell in HCC patients[J]. *Immunol Lett*,2013,150(1/2):116-122. DOI: 10.1016/j.imlet.2012.12.004.
- [30] LI H, WU K, TAO K, et al. Tim-3/galectin-9 signaling pathway mediates T-cell dysfunction and predicts poor prognosis in patients with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*,2012,56(4): 1342-1351. DOI: 10.1002/hep.25777.
- [31] PEDROZA-GONZALEZ A, ZHOU G, VARGAS-MENDEZ E, et al. Tumor-infiltrating plasmacytoid dendritic cells promote immunosuppression by Tr1 cells in human liver tumors[J/OL]. *Oncoimmunology*,2015,4(6): e1008355[2016-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4485712/>. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1008355.
- [32] JINHUA X, JI W, SHOULIANG C, et al. Expression of immune checkpoints in T cells of esophageal cancer patients[J/OL]. *Oncotarget*,2016,5(3): e1085146[2016-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4839350/>. DOI: 10.18632/oncotarget.11611.
- [33] CARIANI E, PILLI M, BARILI V, et al. Natural killer cells phenotypic characterization as an outcome predictor of HCV-linked HCC after curative treatments[J/OL]. *Oncoimmunology*,2016,5(8): e1154249[2016-12-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1816/>. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1154249. eCollection 2016.
- [34] JIANG R, TAN Z, DENG L, et al. Interleukin-22 promotes human hepatocellular carcinoma by activation of STAT3[J]. *Hepatology*,2011, 54(3): 900-909. DOI: 10.1002/hep.24486.
- [35] Nakagawa H, Umemura A, Taniguchi K, et al. ER stress cooperates with hypernutrition to trigger TNF-dependent spontaneous HCC development[J]. *Cancer Cell*,2014,26(3):331-343. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.07.001.
- [36] EHLING J, BARTNECK M, WEI X Z, et al. CCL2-dependent infiltrating macrophages promote angiogenesis in progressive liver fibrosis[J]. *Gut*,2014, 63(12): 1960-1971. DOI: 10.1136/gutjnl-2013-306294.
- [37] MIZUKOSHI E, NAKAMOTO Y, ARAI K, et al. Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*,2011,53(4):1206-1216. DOI: 10.1002/hep.24149.
- [38] LI Z, LI N, LI F, et al. Genetic polymorphisms of immune checkpoint proteins PD-1 and TIM-3 are associated with survival of patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*,2016, 7(18): 26168-26180. DOI: 10.18632/oncotarget.8435.
- [39] HATO T, GOYAL L, GRETEN T F, et al. Immune checkpoint blockade in hepatocellular carcinoma: current progress and future directions[J]. *Hepatology*,2014, 60(5): 1776-1782. DOI: 10.1002/hep.27246.
- [40] SANGRO B, GOMEZ-MARTIN C, de la MATA M, et al. A clinical trial of CTLA-4 blockade with tremelimumab in patients with hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis C[J]. *J Hepatol*,2013,59(1):81-88. DOI: 10.1016/j.jhep.2013.02.022.
- [41] PEDROZA-GONZALEZ A, ZHOU G, SINGH S P, et al. GITR engagement in combination with CTLA-4 blockade completely abrogates immunosuppression mediated by human liver tumor-derived regulatory T cells ex vivo[J/OL]. *Oncoimmunology*,2015,4(12): e1051297[2016-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4635937/>. DOI:10.1080/2162402X.2015.1051297.
- [42] ROBERT C, SCHACHTER J, LONG G V, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma[J]. *N Engl J Med*,2015,372(26):2521-2532. DOI: 10.1056/NEJMoa1503093.
- [43] HERBST R S, BAAS P, KIM D W, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial[J]. *Lancet*,2016, 387(10027): 1540-1550. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01281-7.
- [44] LEE J, KEFFORD R, CARLINO M. PD-1 and PD-L1 inhibitors in melanoma treatment: past success, present application and future challenges[J]. *Immunotherapy*,2016,8(6):733-746. DOI: 10.2217/imt-2016-0022.
- [45] FISICARO P, VALDATTA C, MASSARI M, et al. Antiviral intrahepatic T-cell responses can be restored by blocking programmed death-1 pathway in chronic hepatitis B[J]. *Gastroenterology*,2010,138(2): 682-693. DOI:10.1053/j.gastro.2009.09.052.
- [46] CHEN J H, PERRY C J, TSUI Y C, et al. Prostaglandin E2 and programmed cell death 1 signaling coordinately impair CTL function and survival during chronic viral infection[J]. *Nat Med*,2015, 21(4): 327-334. DOI: 10.1038/nm.3831.
- [47] BERTRAND A, KOSTINE M, BARNETCHE T, et al. Immune related adverse events associated with anti-CTLA-4 antibodies: systematic review and meta-analysis[J/OL]. *BMC Med*,2015,13:211

- [2016-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4559965/>. DOI: 10.1186/s12916-015-0455-8.
- [48] HOFMANN L, FORSCHNER A, LOQUAI C, et al. Cutaneous, gastrointestinal, hepatic, endocrine, and renal side-effects of anti-PD-1 therapy [J/OL]. *Eur J Cancer*, 2016, 60: 190-209 [2016-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5123387/>. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.02.025.
- [49] LARKIN J, CHIARION-SILENI V, GONZALEZ R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(13): 23-34. DOI: 10.1056/NEJMc1509660.
- [50] FAJE A. Immunotherapy and hypophysitis: clinical presentation, treatment, and biologic insights [J]. *Pituitary*, 2016, 19(1): 82-92. DOI: 10.1007/s11102-015-0671-4.
- [51] UGUREL S, RÖHMEL J, ASCIERTO P A, et al. Survival of patients with advanced metastatic melanoma: the impact of novel therapies [J/OL]. *Eur J Cancer*, 2016, 53: 125-134 [2016-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26707829>. DOI: 10.1016/j.ejca.2015.09.013.
- [52] GEHRKE N, WÖRNS M A, MANN A, et al. Hepatic B cell leukemia-3 suppresses chemically-induced hepatocarcinogenesis in mice through altered MAPK and NF- κ B activation [J]. *Oncotarget*, 2016, 2016: Epub ahead of print [2016-12-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1558/>. DOI: 10.18632/oncotarget.10893.
- [53] YANG H, FANG F, CHANG R, et al. MicroRNA-140-5p suppresses tumor growth and metastasis by targeting transforming growth factor β receptor 1 and fibroblast growth factor 9 in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2013, 58(1): 205-217. DOI: 10.1002/hep.26315.
- [54] GIRAUDO L, GAMMAITONI L, CANGEMI M, et al. Cytokine-induced killer cells as immunotherapy for solid tumors: current evidence and perspectives [J]. *Immunotherapy*, 2015, 7(9): 999-1010. DOI: 10.2217/imt.15.61.
- [55] LEE J H, LEE J H, LIM Y S, et al. Adjuvant immunotherapy with autologous cytokine-induced killer cells for hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(7): 1383-1391. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.02.055.
- [56] CHEN C L, PAN Q Z, ZHAO J J. PD-L1 expression as a predictive biomarker for cytokine-induced killer cell immunotherapy in patients with hepatocellular carcinoma [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(7): e1176653 [2016-12-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1816/>. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1176653.
- [57] AZIMI F, SCOLYER R A, RUMCHEVA P, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(21): 2678-2683. DOI: 10.1200/JCO.2011.37.8539.
- [58] 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.
- [59] 荆娜, 张金超, 杨岩丽, 等. 自然杀伤细胞治疗晚期 HCC 的近期临床疗效 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2016, 23(4): 515-518. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2016.04.010.
- [60] 黄宇贤, 陈心彤, 郭坤元. 多靶点酪氨酸激酶抑制剂联合 NK 细胞的抗 HCC 作用及其分子机制 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015, 23(5): 675-683. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2016.05.015.
- [61] SAWADA Y, YOSHIKAWA T, SHIMOMURA M, et al. Programmed death-1 blockade enhances the antitumor effects of peptide vaccine-induced peptide-specific cytotoxic T lymphocytes [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(1): 28-36. DOI: 10.3892/ijo.2014.2737.
- [62] ORANGE J S. Natural killer cell deficiency [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 132(3): 515-526. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.07.020.
- [63] ROMAGNE F, BENSON D, DOMBRET H, et al. A phase I trial of the anti-inhibitory KIR mAb IPH2101 for AML in complete remission [J]. *Blood*, 2012, 120(22): 4317-4323. DOI: 10.1182/blood-2012-06-437558.
- [64] BOICE M, SALLOUM D, MOURCIN F, et al. Loss of the HVEM tumor suppressor in lymphoma and restoration by modified CAR-T cells [J]. *Cell*, 2016, 167(2): 405-418. DOI: 10.1016/j.cell.2016.08.032.
- [65] BURGA R A, NGUYEN T, ZULOVICH J, et al. Improving efficacy of cancer immunotherapy by genetic modification of natural killer cells [J]. *Cytotherapy*, 2016, 18(11): 1410-1421. DOI: 10.1016/j.jcyt.2016.05.018.
- [66] KAMIYA T, CHANG Y H, CAMPANA D. Expanded and activated natural killer cells for immunotherapy of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(7): 574-581. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0229.
- [67] BOYERINAS B, JOCHEMS C, FANTINI M, et al. Antibody-dependent cellular cytotoxicity activity of a novel anti-PD-L1 antibody avelumab (MSB0010718C) on human tumor cells [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(10): 1148-1157. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0059.
- [68] KASUYA K, SHIMAZU M, SUZUKI M, et al. Bispecific anti-HER2 and CD16 single-chain antibody production prolongs the use of stem cell like cell transplantation against HER2 over expressing cancer [J]. *Int J Mol Med*, 2010, 25(2): 209-215.
- [69] SINGER H, KELLNER C, LANIG H, et al. Effective elimination of acute myeloid leukemic cells by recombinant bispecific antibody derivatives directed against CD33 and CD16 [J]. *J Immunother*, 2010, 33(6): 599-608. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181dda225.
- [70] ROYBAL K T, WILLIAMS J Z, MORSUT L, et al. Engineering T cells with customized therapeutic response programs using synthetic notch receptors [J]. *Cell*, 2016, 167(2): 419-432. DOI: 10.1016/j.cell.2016.09.011.
- [71] REUSCH U, BURKHARDT C, FUCEK I, et al. A novel tetravalent bispecific TandAb (CD30/CD16A) efficiently recruits NK cells for the lysis of CD30⁺ tumor cells [J]. *MAbs*, 2014, 6(3): 728-739. DOI: 10.4161/mabs.28591.
- [72] STAMOVA S, CARTELLIERI M, FELDMANN A, et al. Simulta-

- neous engagement of the activatory receptors NKG2D and CD3 for retargeting of effector cells to CD33 positive malignant cells [J]. *Leukemia*, 2011, 25(6): 1053-1056. DOI: 10.1038/leu.2011.42.
- [73] PALUCKA K, BANCHEREAU J. Cancer immunotherapy via dendritic cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 265-277. DOI: 10.1038/nrc3258.
- [74] WANG Q, LUAN W, WARREN L, et al. Autologous tumor cell lysate-loaded dendritic cell vaccine inhibited tumor progression in an orthotopic murine model for hepatocellular carcinoma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2016, 23(Suppl 5): 574-582. DOI: 10.1245/s10434-015-5035-9.
- [75] LEE J H, LEE Y, LEE M, et al. A phase I/II a study of adjuvant immunotherapy with tumour antigen-pulsed dendritic cells in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2015, 113(12): 1666-1676. DOI: 10.1038/bjc.2015.430.
- [76] 孙力超, 赵璇, 遇珑, 等. 抗肝癌干细胞功能性单克隆抗体的研制 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2010, 17(2): 121-127. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.02.002.
- [77] DASHTI A, EBRAHIMI M, HADJATI J, et al. Dendritic cell based immunotherapy using tumor stem cells mediates potent anti-tumor immune responses [J]. *Cancer Lett*, 2016, 374(1): 175-185. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.01.021.
- [78] WANG X, BAYER M E, CHEN X, et al. Phase I trial of active specific immunotherapy with autologous dendritic cells pulsed with autologous irradiated tumor stem cells in hepatitis B-positive patients with hepatocellular carcinoma [J]. *J Surg Oncol*, 2015, 111(7): 862-867. DOI: 10.1002/jso.23897.
- [79] PALMER D H, MIDGLEY R S, MIRZA N, et al. A phase II study of adoptive immunotherapy using dendritic cells pulsed with tumor lysate in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2009, 49(1): 124-132. DOI: 10.1002/hep.22626.
- [80] TADA F, ABE M, HIROOKA M, et al. Phase I/II study of immunotherapy using tumor antigen-pulsed dendritic cells in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(5): 1601-1609. DOI: 10.3892/ijo.2012.1626.
- [81] 尹良伟, 马海英, 王苏平. 基因修饰 DC 在抗肿瘤免疫治疗中的应用 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2013, 20(5): 618-622. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.05.019.
- [82] HEO J, REID T, RUO L, et al. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer [J]. *Nat Med*, 2013, 19(3): 329-336. DOI: 10.1038/nm.3089.
- [83] CHU K F, DUPUY D E. Thermal ablation of tumors: biological mechanisms and advances in therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(3): 199-208. DOI: 10.1038/nrc3672.
- [84] GAMEIRO S R, HIGGINS J P, DREHER M R, et al. Combination therapy with local radiofrequency ablation and systemic vaccine enhances antitumor immunity and mediates local and distal tumor regression [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e70417 [2016-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3722166/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0070417.
- [85] SU H, LI B, ZHENG L, et al. Immunotherapy based on dendritic cells pulsed with CTPFoxMI fusion protein protects against the development of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(30): 48401-48411. DOI: 10.18632/oncotarget.10269.
- [收稿日期] 2016-10-30 [修回日期] 2016-12-27
[本文编辑] 党瑞山

· 读者 · 作者 · 编者 ·

抵制不端行为 净化学术风气

学术不端行为是指在科学研究和学术活动中的各种造假、抄袭、剽窃和其他违背科学共同惯例的行为。为抵制学术不端行为,净化学术风气,中国科协在2007年1月发布了《科技工作者科学道德规范(试行)》,将不端行为概括为以下7条。

1. 故意做出错误的陈述,捏造数据或结果,破坏原始数据的完整性,篡改实验记录和图片,在项目申请、成果申报、求职和提职申请中做虚假的陈述,提供虚假获奖证书、论文发表证明、文献引用证明等。

2. 侵犯或损害他人著作权,故意省略参考他人出版物,抄袭他人作品,篡改他人作品内容;未经授权,利用被自己审阅的手稿或资助申请中的信息,将他人未公开的作品或研究计划发表或透露给他人或为己所用;把成果归功于对研究没有贡献的人,将对研究工作做出实质性贡献的人排除在作者名单之外,僭越或无理要求著者或合著者身份。

3. 成果发表时一稿多投。

4. 采用不正当手段干扰和妨碍他人研究活动,包括故意毁坏或扣压他人研究活动中必需的仪器设备、文献资料,以及其他与科研有关的财务;故意拖延对他人项目或成果的审查、评价时间,或提出无法证明的论断;对竞争项目或成果的审查设置障碍。

5. 参与或与他人合谋隐匿学术劣迹,包括参与他人的学术造假,与他人合谋隐藏其不端行为,监察失职,以及对投诉人打击报复。

6. 参与与自己专业无关的评审及审稿工作;在各类项目评审、机构评估、出版物或研究报告审阅、奖项评定时,出于直接或间接或潜在的利益冲突而作出违背客观、准确、公正的评价;绕过评审组织机构与评议对象直接接触,收取评审对象的馈赠。

7. 以学术团体、专家的名义参与商业广告宣传。

(本刊编辑部)