

胶质母细胞瘤免疫治疗研究进展

刘梦昱¹, 谢 飞¹, 张 鑫¹, 赵鹏翔^{1,2*}

1.北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京 100124;

2.北京工业大学激光工程研究院, 北京 100124

摘 要: 免疫治疗旨在提高机体对肿瘤的免疫应答。如今所采用的主要手段包括提高机体部分的免疫应答或针对靶向抗原刺激机体产生相应的免疫应答。其中,后者通常将重新启动免疫应答的细胞引入体内使免疫系统直接作用于靶标抗原。临床上,主要将免疫治疗应用于黑色素瘤和前列腺癌等实体瘤的治疗中。中枢神经系统曾被认为是免疫特权区,然而近年来大量的研究表明脑部的免疫系统处于高水平活化状态并能够与脑部肿瘤相互作用。因此,研究并利用这种免疫作用对于恶性脑部肿瘤的治疗十分重要。针对近年来恶性胶质母细胞瘤的免疫治疗进展进行了总结,并对中枢神经系统和胶质母细胞瘤的免疫机制、免疫治疗疫苗及 T 细胞疗法在肿瘤治疗中的研究进行了详细的介绍,以期为进一步有效的靶向治疗手段进而大幅提高 GBM 患者的生存时间带来新的思路。

关键词: 胶质母细胞瘤;免疫治疗;疫苗;T 细胞;临床试验

DOI:10.19586/j.2095-2341.2019.0034

Review of Immunotherapy for Glioblastoma

LIU Mengyu¹, XIE Fei¹, ZHANG Xin¹, ZHAO Pengxiang^{1,2*}

1.College of Life Science and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China;

2.Beijing Engineering Researching Center of Laser Technology, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China

Abstract: Immunotherapy aims to increase the body's immune response to tumors. The primary means used today include increasing the immune response in the body part or generating a corresponding immune response against the targeted antigen stimulating organism. Among them, the latter usually introduces cells that restart the immune response into the body to directly act on the target antigen by the immune system. Clinically, immunotherapy is mainly applied to the treatment of solid tumors such as melanoma and prostate tumor. The central nervous system was once thought to be an immune privilege zone, but in recent years a large number of studies have shown that the brain's immune system is at a high level of activation and can interact with brain tumors. Therefore, research and use of this immune function is very important for the development of treatment of malignant brain tumors. This article summarized recent advances in immunotherapy for malignant glioblastoma, and provided a detailed introduction to the immunological mechanisms of central nervous system and glioblastoma, immunotherapy vaccines, and T cell therapy in cancer therapy.

Key words: glioblastoma; immunotherapy; vaccine; T cell; clinic trail

根据脑胶质瘤细胞与正常神经胶质细胞形态的比较、在组织中的定位以及对各类脑部细胞的鉴定,脑胶质瘤被认为是一种原生于神经胶质祖细胞的颅内肿瘤^[1~3]。在中枢神经系统中,该肿瘤包含了多种类型的癌细胞,如星形胶质细胞瘤、

少突状胶质细胞瘤和室管膜细胞瘤等^[4,5]。只有很少一类的脑胶质瘤可以直接通过手术切除治愈,而如成人弥漫性胶质瘤等大多数脑胶质瘤均对现今所有针对肿瘤的标准治疗手段表现出不同程度的耐药性或抗性。其中,胶质母细胞瘤(glio-

收稿日期:2019-03-29; 接受日期:2019-04-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(81602408);北京市激光应用技术工程技术研究中心开放课题(BG0046-2018-03);北京工业大学2018 日新人才项目支持经费(015000514118003)资助。

作者简介: 刘梦昱,博士研究生,主要从事脑胶质瘤治疗与分子机制研究。E-mail: mengyuliu@emails.bjut.edu.cn。* 通信作者: 赵鹏翔,讲师,硕士生导师,主要从事炎症与分子肿瘤学研究。E-mail: zpx@bjut.edu.cn

blastoma, GBM) 具有极高的致死率且侵袭性极强,是最常见的原发性脑部肿瘤^[6]。在进行标准的治疗后,GBM 患者始终具有较差的预后,中位生存期仅为 10~11 个月^[7]。由于 GBM 难以治愈且极易复发,使新的治疗方法亟待研究。

恶性肿瘤患者的免疫系统普遍受到抑制,因此对于具有较强侵袭能力的肿瘤来说,这一特点使其成为治疗的靶标。同时恶性肿瘤患者的免疫系统在很大程度上也受到外部因素的影响,如化学疗法、营养失调和类固醇的使用等。肿瘤的免疫治疗是一种作用于癌症患者免疫系统的组成部分的治疗手段。其中,一部分肿瘤免疫治疗由特定抗体组成,这些抗体能够与癌细胞表达蛋白相结合并抑制其功能。其他肿瘤免疫治疗还包括了疫苗及 T 细胞的接种。对于神经系统肿瘤的免疫治疗来说,GBM 始终是该疗法的首要靶标。

最早发现的肿瘤与免疫治疗研究领域相关的现象是观察到患者感染之后肿瘤可能会出现溶解的现象,该现象在进展期胰腺癌的局部被首次发现^[8]。1891 年 William 等^[9]根据这一现象展开治疗,他们将失活的酿脓链球菌和粘质沙雷氏菌注射在患者的肿瘤部位,通过诱导免疫系统活化,使活性升高的免疫细胞攻击肿瘤,同时对患者使用疫苗从而抑制肿瘤的生长。另外,使用卡介苗 (*Bacillus calmette-guérin*, BCG) 对膀胱癌患者进行治疗也再次证明了免疫治疗在肿瘤临床治疗中的价值^[10]。虽然具有一定疗效,但是这些早期非特异免疫治疗的使用常会带来无法预期的结果。如今,仍有使用基因编辑的活性细菌,如沙门氏菌,进行相关肿瘤治疗的研究^[11]。在 GBM 中,将活性菌应用于手术创口处以诱导局部炎症反应的治疗仍然存有极大地争议。许多特异针对肿瘤的免疫治疗不断发展,这些治疗方法不仅依赖于广义的免疫反应,还能够针对靶标抗原产生特异性免疫作用,该类手段在一些免疫原性较恶性的肿瘤如黑素瘤中的应用,已被证明具有一定效果^[12]。另外,早期研究发现从 GBM 肿瘤中能够分离出淋巴细胞,以此为基础,针对淋巴细胞对 GBM 患者治疗作用的研究产生了大量具有争议性的结果^[13]。尽管没有得到明确的研究结果,肿瘤浸润淋巴细胞的活性和特异性使淋巴细胞仍然成为重要的肿瘤免疫治疗的研究靶点。

随着免疫学、肿瘤学和分子生物学等相关学

科的不断发展和多学科交叉分析研究使得肿瘤免疫治疗在基础和临床研究中均取得了快速的发展。Sipuleucel-T 是首个由美国 FDA 批准的针对恶性肿瘤的免疫治疗疫苗。与易普利姆玛抗体相似,Sipuleucel-T 是一类树突细胞肿瘤疫苗,通过 Sipuleucel-T 人源多克隆抗体抑制细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 分子 (cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, CTLA-4)。另外,其他基于免疫的治疗方法还包括抑制程序性死亡蛋白 1 (programmed cell death protein 1, PD-1) 及其配体 PD-L1,以及生物工程嵌合抗原受体 T 细胞,这些方法在针对实体瘤和白血病患者治疗中获得了巨大的抗肿瘤疗效^[14,15]。同时,这些结果也促进了神经肿瘤治疗领域的研究和发展。本文将对 GBM 的免疫治疗现状进行系统的综述,详细阐述免疫治疗方法在临床测试中的进展,并针对该领域的治疗前景进行讨论,以期为 GBM 的免疫治疗研究提供参考。

1 中枢神经系统免疫学概述

由于血脑屏障的存在,中枢神经系统曾经被认为是“免疫赦免”区。然而如今大量的研究证实了中枢神经系统具有活跃的免疫系统并受到严格的调控。已有研究表明室周器官能够对外周血液的感染情况进行监察;另外通过受到血管中病原体相关分子的刺激,软脑膜和脉络丛等多血管区也能够引起小胶质细胞的活化从而活化免疫系统。这些小胶质细胞集中分布在脑灰质中,较少部分分布在白质中。在受到感染后,小胶质细胞能够产生促炎症分子,不仅如此,在消除神经毒性碎片中小胶质细胞也具有重要作用。由于中枢神经系统缺少淋巴管,普遍认为免疫系统在其中的作用十分有限,而脑部的类淋巴系统能够通过组织液将细胞废物运输至脑脊髓液将其从脑部移除。同时在中枢神经系统中也能够检测到处于活化形式的循环淋巴球,但无法检测到 T 细胞^[16]。对于肿瘤患者,由于其血脑屏障被破坏,渗透的淋巴球,特别是 T 细胞,在 GBM 患者中的数目显著增加,这一现象表明免疫系统与肿瘤存在着重要的相互作用。肿瘤细胞具有多种策略以应对免疫系统的攻击,如下调主要组织相容性复合物的表达、增加 CTLA-4、PD-1、IL-10 和 TGF- β 的表达以

及通过招募参与调控的 T 细胞进入骨髓而使机体无法产生免疫应答^[17]。同时,肿瘤与血管的屏障也受到了抑制作用,由肿瘤形成的新生血管通常呈无组织形态,并且这些具有异常流体动力学以及未成熟周皮细胞的血管为淋巴细胞发挥免疫作用增加了更多的阻碍。另外,在小鼠实验及临床的观察中发现纷乱的免疫系统使得针对肿瘤的免疫治疗疗效受到限制。这些发现均表明了大脑是一个免疫异常区域,同时脑部免疫微环境为 GBM 肿瘤免疫治疗带来了可能性。

2 GBM 的免疫抑制机制

多年来 GBM 作为恶性肿瘤相关的免疫抑制模型被深入研究。虽然在 GBM 患者的循环系统中能够检测到肿瘤细胞,但是 GBM 很少会转移至颅外区。许多理论认为产生该现象的原因是脑胶质瘤细胞很难在脑外部生存,或者由于肿瘤发展速度过快限制了肿瘤细胞在脑外部区域增殖的时间。尽管如此,GBM 患者及 GBM 啮齿动物模型仍然表明其受损的细胞免疫使得体内的免疫系统受到了抑制。另外与其他肿瘤相比,GBM 中存在着渗透入脑部的 T 细胞且具有较少的体细胞突变,虽然没有明确的证据表明 GBM 患者中增加的感染率与免疫抑制有直接关系,但是这些肿瘤的生长确实受到局部和全身免疫系统的影响^[18]。虽然 GBM 中免疫作用机制尚未明确,但是由肿瘤内在因素及宿主对来源于中枢神经系统的肿瘤抗原产生的免疫应答起到重要的作用。有研究发现黑素瘤细胞能够表达一种新生的肿瘤抗原,将该抗原植入小鼠脑部后,特异性免疫肿瘤抗原的 T 细胞被高度抑制,甚至当未被抑制的 T 细胞在外周淋巴组织中再次遇到该种肿瘤抗原后,T 细胞也无法产生促炎性细胞因子以发挥免疫作用^[19]。但该研究也发现在小鼠的皮下或肺部肿瘤中的大部分免疫功能仍能够保存下来^[19]。有理论认为脑部肿瘤相关的免疫抑制受到转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 的调控。研究发现在肿瘤微环境中,能够检测到小胶质细胞分泌的 TGF- β 。同时,与患有皮下肿瘤或非脑部肿瘤的小鼠相比,患有脑部肿瘤小鼠的血清中能够检测到较高水平的 TGF- β 。虽然通过药物抑制 TGF- β 信号通路能够部分解除小鼠体内的免疫抑

制,但是仍然无法延长患有脑部肿瘤小鼠的生存期^[19]。同时对组织自身骨髓细胞的研究表明迁移的骨髓细胞对 GBM 相关产生的免疫抑制具有重要作用。Bloch 等^[20]发现从 GBM 患者外周血分离的巨噬细胞中能够检测到高水平的 PD-L1,作为 PD-1 的配体,PD-L1 能够限制 T 细胞的免疫活性。相应的,将这些巨噬细胞与同一 GBM 患者来源的 T 细胞进行共培养后,这些 T 细胞的活性也受到了抑制^[21]。最新研究发现 GBM 通过诱导 T 细胞中的鞘氨醇-1-磷酸盐受体 1 (sphingosine 1-phosphate receptor 1, S1P1) 表达的下调引起循环系统内 T 细胞进入骨髓而导致免疫功能受到抑制^[22,23]。

GBM 免疫抑制相关的肿瘤内在因素主要包括能够抑制免疫应答的信号通路产物。研究发现 GBM 肿瘤细胞能够通过表达吡哆胺 2,3-脱氧酶催化色氨酸分解代谢成犬尿素,该代谢通路与 T 细胞的免疫耐受以及免疫抑制相关^[24]。也有研究发现在 GBM 肿瘤细胞中,信号转导及转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 参与抑制了免疫细胞的活性^[25],并发现人 GBM 样品中 STAT3 的表达会受到所有肿瘤细胞和免疫细胞中 IL-10 的调控^[25]。另外,研究发现可溶性因子如 TGF- β 、IL-10 以及前列腺素等,在 GBM 患者体内具有调控免疫抑制的作用^[26]。值得注意的是,GBM 中的小胶质细胞与巨噬细胞的数量远远大于浸润到脑部的 T 细胞,同时这些肿瘤微环境中少量的 T 细胞与其他类型肿瘤中的 T 细胞也具有显著的区别,如黑素瘤和肺癌等^[27]。也有部分研究结果表明,GBM 相关的骨髓细胞呈 M2 型免疫表型,该表型的骨髓细胞处于免疫抑制状态,同时其他动物模型结果发现外周血中的髓系细胞是引起免疫应答的必要条件^[22]。因此,在未来的 GBM 免疫治疗中骨髓细胞成为重要的靶点。

肿瘤的免疫治疗中,在利用骨髓细胞等产生抗肿瘤的免疫应答的同时,需要减少或中和免疫抑制分子的生物活性并且辅以佐剂治疗。如今,促进 GBM 患者产生抗肿瘤免疫应答治疗的关键在于免疫检查点抑制剂的研究,并且针对骨髓相关治疗使用免疫检查点抑制剂的同时,仍需要联合其他治疗手段。由于 GBM 患者在接收手术切除肿瘤之后使用皮质固醇类及化学药物进行治疗

后产生免疫抑制,且 GBM 具有独特的免疫抑制特性,因此针对 GBM 患者所采取的大多数免疫治疗均需要考虑这些特点从而增加了治疗的难度。虽然现行的免疫治疗手段针对肿瘤抗原的作用十分有限,但是对于诱导个体产生抗肿瘤的免疫应答是有效的。

3 GBM 疫苗的研究现状

免疫治疗方法可以分为主动治疗和被动治疗^[28]。被动治疗涉及肿瘤抗原的抗体或针对靶向药的免疫偶联物。主动治疗主要包括使用疫苗以刺激患者自身的免疫系统。同时,这些免疫治疗还包括基于细胞或以非细胞为基础的疫苗。下文对 GBM 免疫治疗中出现的相关疫苗研究进展进行介绍。

3.1 肽段疫苗

免疫治疗中,通常通过人类白细胞抗原(human leukocyte antigen,HLA)A2 分型结合肽段来促使蛋白质短序列对免疫系统产生作用。HLA-A2 是最常见的人类白细胞抗原分型,同时为了使其作用的范围更广,将 HLA-A2 抗原与其他 I 类 HLA 结合,使能够接受肽段作用的人口覆盖率达到 70%^[29]。如今肽段疫苗的靶点蛋白主要包括受体酪氨酸蛋白磷酸酶 Z1 (receptor-type tyrosine-protein phosphatase zeta,PTPRZ1)、蛋白转运蛋白 Sec61 亚基 G (protein transport protein Sec61 subunit gamma,SEC61G)、腱生蛋白 C (tenascin C, TNC) 以及表皮生长因子受体 (epithelial growth factor receptor, EGFR)^[30]。研究发现近 33% 的 GBM 患者中出现 EGFR 的活性变体 EGFRvIII^[31],该变体也是 GBM 患者的不良预后指标。该类疫苗的二期临床试验中,对具有 EGFRvIII 变体的 GBM 患者注射靶向肽段疫苗,随后对接受治疗的 GBM 患者的免疫原性、无进展生存期和总生存期进行监测。18 位患者的检测结果显示,注射疫苗患者的中位无进展生存期和总生存期分别为 14.2 个月和 26 个月,而作为对照组的患者,其中位无进展生存期和总生存期分别为 6.3 个月和 15 个月,注射疫苗后能够显著增加 GBM 患者的无进展生存期及总生存期,该结果表明该类疫苗具有良好的发展前景^[32]。

根据 2016 年 WHO 的分类,具有 IDH 突变的

脑胶质瘤为主要的脑胶质瘤亚型,而以 IDH1 为靶点的肽段疫苗已进入临床试验阶段。Schumacher 等^[33]使用具有转基因人源主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) I 类和 II 类分子的小鼠模型进行研究,该类小鼠中能够表达 IDH1-R132H 来源的突变,实验中 Schumacher 等阐述了 CD4 阳性的辅助性 T 细胞调控该类小鼠的免疫应答机制。随后的研究使用 IDH-R132H 突变肽段疫苗开展了两项一期临床试验。其中,NOA-16 临床实验中将该肽段疫苗进行皮下注射并局部联合咪喹莫特使用。咪喹莫特为 TLR7 激动剂,能够活化骨髓细胞。而另一临床试验将肽段疫苗与佐剂 GM-CSF 和油佐剂 Montanide ISA-51 结合使用。虽然结果尚待分析,但是这些实验为 IDH 突变的脑胶质瘤患者提供了新的治疗手段。

在多种恶性肿瘤包括脑胶质瘤中均能检测到端粒酶逆转录酶 (telomerase reverse transcriptase, TERT) 表达水平的增加。同时在 GBM 中 TERT 启动子具有极高的突变发生率^[34]。基于这些发现,在胰腺癌患者中,通过转染树突状细胞过表达 TERT 生产疫苗并作用于 TERT 抗原的治疗已进行了临床测试,其中已有一位患者展现了良好的治疗效果^[35]。而针对 GBM 患者使用基于 TERT 肽段疫苗的免疫治疗临床应用仍尚待研究。

近年来,使用多种肽段的疫苗治疗研究已逐渐开始进行,与单一肽段肿瘤疫苗相比,多肽疫苗的使用更加复杂,因此临床研究进展较为缓慢。其中,IMA-950 是一种含有 11 种肿瘤相关肽段和合成型乙型肝炎病毒标记肽 IMAHBV-001 的多肽疫苗。一期临床实验结果表明,虽然只有两例病例报道了剂量限制的毒性作用与疫苗有潜在的关系,但生存曲线数据并无显著性变化^[36]。

3.2 热休克蛋白疫苗

热休克蛋白 (heat-shock protein, HSP) 是一类分子伴侣,能够通过帮助蛋白折叠和细胞内定位来提高蛋白质的稳定性^[37]。如缺氧、炎症及氧化应激等不良的环境,能够诱导 HSP 的活化^[38]。而持续暴露在这种不良环境中的新生肿瘤细胞可以依靠活化的 HSP 来保持细胞活性。针对 12 名复发的 GBM 患者开展了 HSP 疫苗的一期研究,结果证实了疫苗的安全性,并通过对患者活检进行淋巴细胞浸润表达的 IFN- γ 检测和鉴定,结果

表明注射疫苗之后干扰素-g (interferon-g, IFN-g) 产物的测定结果说明了外周白细胞对 HSP-96 肽产生了免疫应答。同时,通过疫苗产生了免疫应答患者的中位总生存期提高至 47 周,而无免疫应答患者的中位生存期仅为 16 周^[39]。在随后的二期临床试验中,对 41 名经过了手术切除再复发的 GBM 患者注射了 HSPPPC-96 疫苗。该群患者无进展生存期的中位生存时间为 19.1 周,总生存期的中位生存时间为 42.6 周,结果表明注射疫苗患者的无进展生存期及总生存期均得到了显著性的延长,同时二期临床试验也再次验证了疫苗的安全性^[40]。

3.3 自体疫苗

自体疫苗技术依赖于患者自身的免疫系统,该技术以将患者自身的肿瘤细胞经过编辑再引入的方式进行间接的体外修饰。从而使患者的免疫系统,特别是其中的 T 淋巴细胞,受到这些修饰后肿瘤细胞相关抗原的刺激。同时,肿瘤细胞也能通过辐照或者病毒编辑而增加细胞自身的免疫原性或者降低其逃避免疫系统的能力^[18,41,42]。有研究将新城鸡瘟病毒 (newcastle disease virus, NDV) 与自体肿瘤联合作为疫苗使用,该病毒能够在肿瘤细胞中选择性复制并使肿瘤细胞具有免疫原性^[43]。研究中 23 名 GBM 患者手术切除肿瘤后使用无毒的 NDV 进行治疗。同时设立未使用 NDV 治疗的患者作为对照组。与对照组相比,接受 NDV 治疗的 GBM 患者无进展生存期和总生存期的中位时间均得到提高^[44]。也有研究使用自体同源福尔马林固定肿瘤疫苗 (autologous formalin-fixed tumor vaccines, AFTV) 对 GBM 患者进行治疗,该疫苗使用固定的肿瘤组织刺激机体以增加 T 细胞对肿瘤抗原的敏感性。在一期/二期临床实验中,22 名新被诊断的 GBM 患者经过手术切除后接受 AFTV 联合放射治疗,其无进展生存期及总生存期均得到延长^[45]。

3.4 树突状细胞疫苗

近年来肿瘤免疫治疗的大量研究表明,树突状细胞在起始免疫应答、诱导免疫以及破坏免疫耐受等方面发挥着重要的作用,因而成为了重要的肿瘤免疫治疗细胞工具。树突状疫苗也越来越受到关注。树突细胞疫苗通常在获取 GBM 患者自身的树突状细胞后,使用手术切除分离得到的

脑胶质瘤抗原进行刺激,从而获得树突细胞疫苗。并且由于 GBM 肿瘤内部具有高度异质性,树突状细胞疫苗可能受到多重抗原刺激从而针对 GBM 发挥更强的免疫效果^[46]。树突状细胞疫苗 Sipuleucel-T 通过树突状细胞与融合蛋白 PA2024 在体外共孵化获得,并已开始转移性前列腺癌的治疗中使用,治疗结果表明经过该疫苗注射,患者的平均存活时间能够延长超过 4 个月^[47]。DCVax-L 是另一种针对 GBM 的树突状细胞疫苗,该疫苗的一期临床实验中,23 名 GBM 患者手术切除肿瘤后使用从外周血单核细胞分离的自体树突状细胞免疫原性溶解产物进行治疗。另外在制备成溶解产物之前,还对这些 GBM 患者使用了粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和 IL-4 作为树突状细胞的补充。结果表明该疫苗的安全性较好、副作用小且没有发现剂量限制毒性作用,进行治疗后 GBM 患者无进展生存期及总生存期的中位生存时间分别为 15.9 个月和 31.4 个月^[48]。最新的临床三期实验结果表明,使用 DCVax-L 疫苗进行瘤内注射的 GBM 患者的存活率显著增加,其中大约 20%~30% 患者比接受标准治疗患者的生存期延长了 2~3 倍^[49]。除此之外,ICT-107 树突状细胞疫苗也被应用于脑胶质瘤肿瘤干细胞的靶标治疗。脑胶质瘤肿瘤干细胞是患者在放化疗中产生治疗耐受的重要根源。在该疫苗的临床试验中,17 名新诊断的 GBM 患者接受了 ICT-107 树突状疫苗联合肿瘤干细胞的抗原治疗。结果表明治疗后 GBM 患者无进展生存期及总生存期的中位时间分别为 16.9 个月及 38.4 个月,其中 5 名患者在二次切除后发现其肿瘤干细胞标志物 CD133 阳性细胞数显著减少^[50]。ICT-107 疫苗随后的临床二期试验结果表明使用疫苗治疗的患者总生存时间得到一定提高^[51]。ICT-107 疫苗的临床三期试验正在进行中。与 ICT-107 疫苗相似,另一针对脑胶质瘤肿瘤干细胞的树突状细胞疫苗 ICT-121 的靶点为 CD133 阳性脑胶质瘤细胞,如今正在针对该疫苗进行临床研究。

3.5 以病毒蛋白为基础的疫苗

大量研究表明能够在 90%~100% 的 GBM 中发现人源巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV) 及其核酸^[52]。虽然 CMV 在 GBM 的发病机理及进展中的作用仍在研究,但由于该类抗原在肿瘤细胞中广泛存在、而在正常组织周围无法被检测到的

特点,使其在免疫治疗中的作用受到关注^[53]。同时也有研究发现,接受 DCVax-L 疫苗治疗的患者体内产生了特异性抗 CMV 细胞毒性 T 细胞免疫应答^[54]。已有研究在少数 GBM 患者中开展了以 CMV 为靶标的免疫治疗。有研究表明复发的 GBM 患者在接受 CMV 特异性 T 细胞与 TMZ 联合治疗后,无肿瘤进展期长达 17 个月^[55]。Reap 等^[56]随后发现树突状细胞疫苗对增强 CMV 特异性 T 细胞的功能具有重要作用。研究中 22 名 GBM 患者随机接受含有 CMV pp65 特异性 T 细胞的树突状细胞及 CMV 疫苗或生理盐水注射。与生理盐水注射的对照组相比,接受疫苗治疗的患者其 CMV 特异性 CD8 T 细胞均对 IFN- γ 、TNF- α 和 CCL3 抗原显示阳性反应。同时,这些增加的 CD8 T 细胞的患者的总生存期也得到了提高。最近的研究中 Batich 等^[57]分析了 11 位 GBM 患者在进行标准量 TMZ 和放疗后继续接受加强剂量的 TMZ 联合 CMV pp65 和树突状细胞疫苗的治疗。结果发现接受疫苗注射后,患者体内 CMV pp65 的免疫应答显著提高,同时患者的无进展生存期和总生存期均得到了提高,其中 4 名患者的无进展生存期达到了 59~64 个月。

4 T 细胞治疗

嵌合抗原受体 T 细胞疗法(CART 疗法)在治疗血液肿瘤方面获得了快速的发展,近年来也有研究将基因编辑改造的 T 细胞疗法应用于 GBM 的免疫治疗中。CART 疗法通过融合胞外结合域与 T 细胞受体的胞内信号结构域形成嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR),活化 T 淋巴细胞使其能够特异性识别肿瘤相关抗原再经大量扩增后输送到患者体内^[58]。CAR T 细胞的活化不依赖于 MHC,因此可以不受 HLA I 类分子的下调或肿瘤为逃避 T 细胞的识别而产生的抗原缺乏的影响^[59]。同时由于经过改造,该类细胞能够通过血管壁迁移进入实体瘤并召集更多的免疫应答组分而发挥更强大的作用^[60]。CAR 作为脑胶质瘤特异性抗原,包括了 HER2、IL-13Ra2 以及 EGFRvIII 抗原,在体内模型中具有潜在的抗肿瘤活性^[61]。值得注意的是,研究发现在 GBM 患者中 CAR 促进产生 HER2 抗体的同时还能够识别 CD133 阳性的肿瘤干细胞群,这一发现能够促进

针对肿瘤复发的治疗研究^[62]。随着越来越多的研究发现促使 CART 细胞疗法应用于更多的 GBM 临床治疗中。

5 展望

免疫治疗无疑是肿瘤治疗的一场革命。在多种类型的肿瘤中使用免疫治疗均发现了其具有良好的疗效,特别是免疫检查点抑制剂以及 CART 细胞疗法的应用。但是,免疫治疗并不适用于所有的肿瘤治疗,甚至在已经通过免疫治疗产生免疫应答的患者体内会发生无法产生持续效果的现象。但是已有大量研究证明了免疫治疗对 GBM 的疗效,并且临床研究表明一些免疫治疗手段已趋于成熟。早期的研究发现大多数 GBM 为免疫抑制肿瘤,因此如今通过联合多种治疗手段旨在激活 GBM 肿瘤的免疫能力的相关研究已发展出了多种免疫治疗手段。现今,免疫治疗已成为 GBM 患者的标准治疗手段之一,这些不断更新的临床及实验结果也为未来治愈 GBM 开拓了新的研究思路并带来了希望。

参 考 文 献

- [1] Lathia J D, Mack S C, Mulkearns-Hubert E E, *et al.*. Cancer stem cells in glioblastoma[J]. *Genes Dev.*, 2015, 29(12): 1203-1217.
- [2] Hambardzumyan D, Amankulor N M, Helmy K Y, *et al.*. Modeling adult gliomas using RCAS/t-va technology[J]. *Transl. Oncol.*, 2009, 2(2): 89-IN6.
- [3] Weller M, Wick W, Aldape K, *et al.*. Glioma[J]. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 2015, 1: 15017.
- [4] Louis D N, Perry A, Reifenberger G, *et al.*. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: A summary[J]. *Acta Neuropathol.*, 2016, 131(6): 803-820.
- [5] 汪超甲,王辉,胡钧涛,等. CRISPR/Cas9 敲除 pyk2 基因对人脑胶质瘤细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响[J]. *生物技术进展*, 2017, 7(4): 338-344.
- [6] Delgado-Lopez P, Corrales-Garcia E. Survival in glioblastoma: A review on the impact of treatment modalities[J]. *Clin. Transl. Oncol.*, 2016, 18(11): 1062-1071.
- [7] Zhu P, Du X L, Lu G, *et al.*. Survival benefit of glioblastoma patients after FDA approval of temozolomide concomitant with radiation and bevacizumab: A population-based study[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(27): 44015.
- [8] Chin K M, Chan C Y, Lee S Y. Spontaneous regression of pancreatic cancer: A case report and literature review[J]. *Int. J. Surgery Case Rep.*, 2018, 42(C): 55-59.
- [9] McCarthy E F. The toxins of William B. Coley and the

- treatment of bone and soft-tissue sarcomas[J]. *Iowa Orthop. J.*, 2006, 26(26): 154.
- [10] Chakrabarty A M. Microorganisms and cancer: Quest for a therapy[J]. *J. Bacteriol.*, 2003, 185(9): 2683-2686.
- [11] Wen M, Zheng J H, Choi J M, *et al.* Genetically-engineered *Salmonella typhimurium* expressing TIMP-2 as a therapeutic intervention in an orthotopic glioma mouse model[J]. *Cancer Lett.*, 2018, 433: 140-146.
- [12] Lebbé C, Weber J S, Maio M, *et al.* Survival follow-up and ipilimumab retreatment of patients with advanced melanoma who received ipilimumab in prior phase II studies[J]. *Ann. Oncol.*, 2014, 25(11): 2277-2284.
- [13] Woroniecka K, Chongsathidkiet P, Elsamadicy A, *et al.* Flow cytometric identification of tumor-infiltrating lymphocytes from glioblastoma[J]. *Methods Mol. Biol.*, 2018, 1741: 221.
- [14] Nunes-Xavier C E, Angulo J C, Pulido R, *et al.* A critical insight into the clinical translation of PD-1/PD-L1 blockade therapy in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Curr. Urol. Rep.*, 2019, 20(1): 1.
- [15] Heynckes S, Daka K, Franco P, *et al.* Crosslink between temozolomide and PD-L1 immune-checkpoint inhibition in glioblastoma multiforme[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):117.
- [16] Wilson J, Chumas P, Goodden J, *et al.* Response to the letter to the editor systemic inflammatory response in pediatric central nervous system tumors[J]. *Acta Neuroch.*, 2018, 160(6): 1-2.
- [17] Jiang G M, Tan Y, Wang H, *et al.* The relationship between autophagy and the immune system and its applications for tumor immunotherapy[J]. *Mol. Cancer*, 2019, 18(1): 17.
- [18] Felthun J, Reddy R, McDonald K L. How immunotherapies are targeting the glioblastoma immune environment[J]. *J. Clin. Neurosci. Off. J. Neurosurg. Soc. Austr.*, 2018, 47: 20.
- [19] Jackson C M, Kochel C M, Nirschl C J, *et al.* Systemic tolerance mediated by melanoma brain tumors is reversible by radiotherapy and vaccination[J]. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, 2015, 22(5): 1161.
- [20] Orin B, Crane C A, Rajwant K, *et al.* Gliomas promote immunosuppression through induction of B7-H1 expression in tumor-associated macrophages[J]. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, 2013, 19(12): 3165-3175.
- [21] Van W D B, Kleijn A, Teunissen C E, *et al.* Oncolytic virotherapy in glioblastoma patients induces a tumor macrophage phenotypic shift leading to an altered glioblastoma microenvironment[J]. *Neuro Oncol.*, 2018, 20(11):1494-1504.
- [22] Melanie G, Heppner F L, Lemos M P, *et al.* Dendritic cells permit immune invasion of the CNS in an animal model of multiple sclerosis[J]. *Nat. Med.*, 2005, 11(3): 328-34.
- [23] Chongsathidkiet P, Farber S H, Woroniecka K, *et al.* IMST-11. downregulation of sphingosine-1-phosphate receptor type 1 mediates bone marrow T-cell sequestration in patients and mice with glioblastoma [J]. *Neuro Oncol.*, 2016, 18(6): 88.
- [24] Reardon D A, Gokhale P C, Klein S R, *et al.* Glioblastoma e-radiation following immune checkpoint blockade in an orthotopic, immunocompetent model[J]. *Cancer Immunol. Res.*, 2016, 4(2): 124-135.
- [25] Esposito C L, Nuzzo S, Catuogno S, *et al.* STAT3 gene silencing by aptamer-siRNA chimera as selective therapeutic for glioblastoma[J]. *Mol. Ther. Nucl. Acids*, 2018, 10: 398-411.
- [26] Js H, Eh J, My K, *et al.* Glioma-secreted soluble factors stimulate microglial activation: The role of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α [J]. *J. Neuroimmunol.*, 2016, 298: 165-171.
- [27] Valentini D, Rao M, Meng Q, *et al.* Identification of neoepitopes recognized by tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) from patients with glioma [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(28): 19469-19480.
- [28] Kapp K, Volz B, Curran M A, *et al.* EnanDIM - a novel family of L-nucleotide-protected TLR9 agonists for cancer immunotherapy[J]. *J. Immunother. Cancer*, 2019, 7(1):5.
- [29] Neidert M C, Schoor O, Trautwein C, *et al.* Natural HLA class I ligands from glioblastoma: Extending the options for immunotherapy[J]. *J. Neuro Oncol.*, 2013, 111(3): 285-294.
- [30] Marian Christoph N, Oliver S, Claudia T, *et al.* Natural HLA class I ligands from glioblastoma: Extending the options for immunotherapy[J]. *J. Neuro Oncol.*, 2013, 111(3): 285-294.
- [31] Wong A J, Ruppert J M, Bigner S H, *et al.* Structural alterations of the epidermal growth factor receptor gene in human gliomas[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 89(7): 2965-2969.
- [32] Sampson J H, Heimberger A B, Archer G E, *et al.* Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma [J]. *J. Clin. Oncol.*, 2010, 28(31): 4722.
- [33] Theresa S, Lukas B, Stefan P, *et al.* A vaccine targeting mutant IDH1 induces antitumour immunity [J]. *Nature*, 2014, 512(7514): 324-327.
- [34] Diplas B H, He X, Brosnancashman J A, *et al.* The genomic landscape of TERT promoter wildtype-IDH wildtype glioblastoma[J]. *Nat. Commun.*, 2018, 9(1): 2087-2098.
- [35] Landi D, Hegde M, Ahmed N. Human cytomegalovirus antigens in malignant gliomas as targets for adoptive cellular therapy[J]. *Front. Oncol.*, 2014, 4: 338.
- [36] Rampling R, Peoples S, Mulholland P J, *et al.* A cancer research UK first time in human phase I trial of IMA950 (novel multi peptide therapeutic vaccine) in patients with newly diagnosed glioblastoma[J]. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, 2016, 22(19): 4776.
- [37] Hua G, Yan Y, Guo L, *et al.* Prognostic role of HSPs in human gastrointestinal cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. *Oncotargets Ther.*, 2018, 11: 351-359.
- [38] Wruck F, Avellaneda M J, Koers E J, *et al.* Protein folding mediated by trigger factor and Hsp70: New insights from single-molecule approaches[J]. *J. Mol. Biol.*, 2018, 430(4): 438-449.
- [39] Crane C A, Han S J, Ahn B, *et al.* Individual patient-specific immunity against high-grade glioma after vaccination with autologous tumor derived peptides bound to the 96 kD chaperone protein[J]. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*,

- 2013, 19(1): 205–214.
- [40] Bloch O, Crane C A, Fuks Y, *et al.*. Heat-shock protein peptide complex-96 vaccination for recurrent glioblastoma; A phase II, single-arm trial [J]. *Neuro Oncol.*, 2014, 16(2): 274–279.
- [41] Choi P J, Tubbs R S, Oskouian R J. Emerging cellular therapies for glioblastoma multiforme [J]. *Cureus*, 2018, 10(3): e2305.
- [42] Sayegh E T, Oh T, Fakurnejad S, *et al.*. Vaccine therapies for patients with glioblastoma [J]. *J. Neuro Oncol.*, 2014, 119(3): 531–546.
- [43] Schirmacher V, Haas C, R, Ahlert T, *et al.*. Human tumor cell modification by virus infection: An efficient and safe way to produce cancer vaccine with pleiotropic immune stimulatory properties when using Newcastle disease virus [J]. *Gene Ther.*, 1999, 6(1): 63–73.
- [44] Hans H S, Matteo M B, Philipp B, *et al.*. Antitumor vaccination of patients with glioblastoma multiforme: A pilot study to assess feasibility, safety, and clinical benefit [J]. *J. Clin. Oncol.*, 2004, 22(21): 4272–4281.
- [45] Berzofsky J A, Terabe M, Trepel J B, *et al.*. Cancer vaccine strategies: Translation from mice to human clinical trials [J]. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2018, 67(12): 1863–1869.
- [46] Santos P M, Butterfield L H. Dendritic cell-based cancer vaccines [J]. *J. Immunol.*, 2018, 200(2): 443.
- [47] Slovin S F. Sipuleucel-T: When and for whom to recommend it [J]. *Oncology*, 2017, 31(12): 900.
- [48] Prins R M, Horacio S, Vera K, *et al.*. Gene expression profile correlates with T-cell infiltration and relative survival in glioblastoma patients vaccinated with dendritic cell immunotherapy [J]. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, 2011, 17(6): 1603.
- [49] Liao L M, Ashkan K, Tran D D, *et al.*. First results on survival from a large Phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma [J]. *J. Transl. Med.*, 2018, 16(1): 142.
- [50] Phuphanich, Surasak, Rudnick, *et al.*. Phase I trial of a multi-epitope-pulsed dendritic cell vaccine for patients with newly diagnosed glioblastoma [J]. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2013, 62(1): 125–135.
- [51] Hdeib A, Sloan A. Immunotherapy for malignant primary brain tumors with ICT-107, a dendritic cell vaccine [J]. *Expert Opin. Orphan Drugs*, 2017, 5(1): 85–89.
- [52] Rahman M, Dastmalchi F, Karachi A, *et al.*. The role of CMV in glioblastoma and implications for immunotherapeutic strategies [J]. *OncoImmunology*, 2019, 8(1): e1514921.
- [53] Liu Z, Poiret T, Meng Q, *et al.*. Epstein-barr virus- and cytomegalovirus-specific immune response in patients with brain cancer [J]. *J. Transl. Med.*, 2018, 16(1): 182.
- [54] Prins R M, Cloughesy T F, Liao L M. Cytomegalovirus immunity after vaccination with autologous glioblastoma lysate [J]. *New England J. Med.*, 2008, 359(5): 539–41.
- [55] Tania C, Leone B, Corey S, *et al.*. Ex vivo functional analysis, expansion and adoptive transfer of cytomegalovirus-specific T-cells in patients with glioblastoma multiforme [J]. *Immunol. Cell Biol.*, 2012, 90(9): 872.
- [56] Reap E A, Suryadevara C M, Batich K A, *et al.*. Dendritic cells enhance polyfunctionality of adoptively transferred T cells that target cytomegalovirus in glioblastoma [J]. *Cancer Res.*, 2018, doi: canres.0469.2017.
- [57] Batich K A, Reap E A, Archer G E, *et al.*. Long-term survival in glioblastoma with cytomegalovirus pp65-targeted vaccination [J]. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, 2017, 23(8): 1898–1909.
- [58] Prinzing B L, Gottschalk S M, Krenciute G. CAR T-cell therapy for glioblastoma: Ready for the next round of clinical testing? [J]. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 2018, doi: 14737140.2018.1451749.
- [59] Woroniecka K I, Rhodin K E, Chongsathidkiet P, *et al.*. T-cell dysfunction in glioblastoma: Applying a new framework [J]. *Clin. Cancer Res.*, 2018, doi: clincanres.0047.2018.
- [60] Miao H, Choi B D, Suryadevara C M, *et al.*. EGFRvIII-specific chimeric antigen receptor T cells migrate to and kill tumor deposits infiltrating the brain parenchyma in an invasive xenograft model of glioblastoma [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(4): e94281.
- [61] Sahin A, Sanchez C, Bullain S, *et al.*. Development of third generation anti-EGFRvIII chimeric T cells and EGFRvIII-expressing artificial antigen presenting cells for adoptive cell therapy for glioma [J]. *PLoS ONE*, 2018, 13(7): e0199414.
- [62] Grada Z, Hegde M, Byrd T, *et al.*. TanCAR: A novel bispecific chimeric antigen receptor for cancer immunotherapy [J]. *Mol. Ther. Nucl. Acids*, 2013, 2(7): e105.