甲状腺未分化癌免疫治疗的现状及未来

卢茜璇^{1,2}, 包黎莎^{1,2}, 潘宗富^{2,3}, 葛明华^{1,2}

1. 杭州医学院附属人民医院 浙江省人民医院耳鼻喉科-头颈外科中心头颈外科, 浙江 杭州 310014
2. 浙江省内分泌腺体疾病诊治研究重点实验室, 浙江 杭州 310014
3. 杭州医学院附属人民医院 浙江省人民医院临床药学中心药学部, 浙江 杭州 310014

[摘要] 甲状腺未分化癌(ATC)是恶性程度最高的内分泌系统肿瘤,是当前亟待攻克的医学难题。目前,针对ATC的免疫治疗研究主要包括阻断肿瘤相关巨噬细胞(TAM)的招募、诱导TAM重编程以及恢复其吞噬功能;靶向T淋巴细胞及自然杀伤细胞的相关免疫逃逸检查点;基于溶瘤病毒和树突状细胞的肿瘤疫苗以及过继免疫治疗。其中,以靶向阻断免疫检查点程序性死亡蛋白1/程序性死亡蛋白配体1为代表的免疫治疗策略已初步证实对ATC患者有获益,尤其是分子靶向抑制剂联合免疫治疗具有极佳的治疗效果。由于ATC存在极大的异质性,针对ATC开展包括生物、免疫或细胞治疗等多种免疫治疗研究,并探索下一代免疫检查点抑制剂对ATC的治疗潜力,有望为ATC患者提供更丰富的治疗策略。本文综述了ATC的免疫治疗潜在靶点以及相关的免疫疗法进展。

[关键词] 甲状腺未分化癌;免疫逃逸;临床研究;免疫治疗;综述

[中图分类号] R736.1 [文献标志码] A

Immunotherapy for anaplastic thyroid carcinoma: the present and future

LU Xixuan^{1,2}, BAO Lisha^{1,2}, PAN Zongfu^{2,3}, GE Minghua^{1,2} (1. Department of Head and Neck Surgery, Center of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Zhejiang Provincial People's Hospital, Affiliated People's Hospital of Hangzhou Medical College, Hangzhou 310014, China; 2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Endocrine Gland Diseases, Hangzhou 310014, China; 3. Department of Pharmacy, Clinical Pharmacy Center, Zhejiang Provincial People's Hospital, Affiliated People's Hospital of Hangzhou Medical College, Hangzhou 310014, China)

Corresponding authors: PAN Zongfu, E-mail: panzongfu@163.com, <https://orcid.org/>

收稿日期:2021-08-10 接受日期:2021-10-20

基金项目:国家自然科学基金(U20A20382,81872170,82173157,81802673);浙江省医药卫生科技计划(2021KY056)

第一作者:卢茜璇,硕士研究生,主要从事内分泌系统肿瘤药理研究;E-mail:luxixuan0714@163.com;<https://orcid.org/0000-0002-1405-0864>

通信作者:潘宗富,副主任药师,主要从事内分泌系统肿瘤药理研究;E-mail:panzongfu@163.com;<https://orcid.org/0000-0002-4054-6660> 葛明华,主任医师,教授,博士生导师,主要从事头颈部及甲状腺疾病研究;E-mail:geminghua@hmc.edu.cn;<https://orcid.org/0000-0001-6726-6418>

0000-0002-4054-6660; GE Minghua, E-mail: geminghua@hmc.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0001-6726-6418>

[**Abstract**] Anaplastic thyroid carcinoma (ATC) is the most malignant tumor of endocrine system, which is an urgent medical problem to be solved. At present, immunotherapy studies on ATC mainly include cutting off the recruitment of tumor-associated macrophage (TAM), inducing the reprogramming of TAM and restoring its phagocytic function, targeting related immune checkpoints on T cells and natural killer cells, tumor vaccines based on oncolytic viruses and dendritic cells, and adoptive immunotherapy. Among them, immunotherapy strategies represented by targeted blocking of programmed death-1/programmed death ligand-1 at immune checkpoint have been preliminarily confirmed to benefit ATC patients, especially the combination of molecular targeted inhibitors and immunotherapy has shown excellent therapeutic effects. Due to the great heterogeneity of ATC, it is expected to provide more therapeutic strategies for patients of ATC by carrying out various immunotherapy studies including biological, immune and cellular therapies and exploring the therapeutic potential of the next generation of immune checkpoint inhibitors. This article reviews the potential immunotherapeutic targets of ATC and the progress of immunotherapy.

[**Key words**] Anaplastic thyroid carcinoma; Immune escape; Clinical study; Immunotherapy; Review

[**缩略语**] 甲状腺未分化癌(anaplastic thyroid carcinoma, ATC);肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM);信号调节蛋白(signal regulatory protein, SIRP);集落刺激因子(colony stimulating factor, CSF);集落刺激因子1受体(colony stimulating factor-1 receptor, CSF-1R);血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF);趋化因子CC亚家族配体(chemokine CC subfamily ligand, CCL);趋化因子CC亚家族受体(chemokine CC subfamily receptor, CCR);Src同源区2蛋白酪氨酸磷酸酶(SH2-containing protein tyrosine phosphatase, SHP);程序性死亡蛋白(programmed death, PD);程序性死亡蛋白配体(programmed death ligand, PD-L);淋巴细胞活化基因(lymphocyte activation gene, LAG);T细胞免疫球蛋白黏蛋白(T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein, TIM);T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域(T-cell immunoglobulin and ITIM domain, TIGIT);嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T);UL16结合蛋白(UL16 binding protein, ULBP);趋化因子CXC亚家族受体(chemokine CXC subfamily receptor, CXCR);细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule, ICAM)

甲状腺癌是常见的内分泌系统恶性肿瘤,近年来已成为发病率增长较快的人类恶性肿瘤之一^[1]。ATC是恶性程度最高的甲状腺癌,患者中位生存期仅4.8个月^[2]。在我国每年检查出的甲状腺癌患者中,虽然诊断为ATC的患者只占少数,

但其病死率却接近100%^[3-5]。ATC的发病机制复杂、进展迅速、治疗手段有限,患者常死于局部肿瘤扩张引起的窒息或肿瘤远处转移^[6]。近年来,小分子靶向治疗和免疫治疗逐渐兴起,极大地推动了ATC的治疗进展。2018年,美国食品药品监

过表达,在ATC中表达量高于乳头状甲状腺癌,且CSF-1及其受体在ATC转移灶中的表达高于原发灶^[16],表明CSF-1表达水平可能与甲状腺癌恶性程度呈正相关,以CSF-1为靶点的药物对ATC的治疗可能有效。但目前一项评估PLX3397(CSF-1R抑制剂)联合pembrolizumab(PD-1抑制剂)对甲状腺癌及其他实体瘤治疗效果的临床研究显示,近67%的晚期甲状腺癌患者的肿瘤继续进展,提示CSF-1R抑制剂治疗肿瘤的效果有限^[17]。

Salajegheh等^[18]发现ATC组织中VEGF-A表达上调。另有研究证实,VEGF-A可导致TAM大量浸润到肿瘤中^[19]。VEGF-A信号在血管生成相关疾病尤其是癌症的进展中具有重要作用,目前已开发出许多阻断VEGF-A的药物,可有效抑制肿瘤生长和转移扩散^[20]。

CCL2作为单核细胞的趋化因子也在甲状腺癌等多种癌症中表达上调^[21-22]。CCL2可由肿瘤微环境中的肿瘤细胞和基质细胞产生,并在转移过程中募集具有促肿瘤发生活性的基质细胞来间接发挥作用^[23]。在肝癌细胞中通过敲除CCR2或使用拮抗剂阻断CCL2/CCR2通路可抑制其恶性生长和转移,并减少术后肿瘤复发及提高患者存活率^[24]。此外,阻断CCL2/CCR2通路可抑制炎性单核细胞的募集、TAM的浸润以及抑制M2型TAM表达,从而逆转肿瘤微环境的免疫抑制状态并激活效应CD8⁺T细胞抗肿瘤效应^[24]。

综上所述,由于在ATC中TAM占有核细胞的50%以上,故靶向CSF1/CSF1R信号通路、VEGF-A以及CCL2可能可以作为ATC潜在的治疗手段。

1.2 靶向TAM从M2型到M1型的极化重编程

将TAM由M2型复极化为M1型是有效的TAM免疫治疗策略^[25]。研究发现,CSF-1/CSF-1R信号不仅可以促进M2型TAM的募集,并且可以阻止M2型TAM复极化成M1型^[26],证明复极化过程可能伴随着TAM招募减弱。此外,Banerjee等^[25]研究证明,热杀死的分枝杆菌*Mycobacterium indicus pranii*可以在体外诱导TAM向M1型复极化,其与糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体抗体(DTA-1)结合可以使M2型TAM在体内向M1型转变并限制晚期黑色素瘤的进展。除此之外,目前在卵巢癌和非小细胞肺癌中已发现其他使M2型TAM向M1型复极化的方法,如在卵巢癌中通过引入减毒单核细胞增多性李斯特菌诱导M2型TAM的

极化重编程,或使用5,6-二甲基咕吨酮-4-乙酸诱导非小细胞肺癌中M2型TAM的极化重编程^[27-28]。因此,TAM极化重编程有望成为ATC的治疗方法之一。

1.3 靶向CD47-SIRP α 信号

清除异常细胞是巨噬细胞的重要功能,该过程依赖于巨噬细胞特有的“识别—吞噬”信号通路(find-me and eat-me)^[29]。SIRP α 是一种在髓细胞(包括巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞)上表达的抑制受体^[30],可以识别CD47并将其作为配体。正常细胞通过表达CD47免于被巨噬细胞吞噬,而肿瘤细胞利用了这种信号逃避巨噬细胞的杀伤。当SIRP α 与肿瘤细胞上的CD47结合时,SIRP α 酪氨酸磷酸化,招募SHP-1和SHP-2。这些磷酸酶可以抑制预吞噬细胞受体触发吞噬的能力。当SIRP α 与CD47的相互作用被阻止时,巨噬细胞的表面细胞受体能够诱导产生激活信号,从而促进巨噬细胞的吞噬能力^[30]。研究表明,人ATC肿瘤标本高表达CD47,并存在TAM(CD68⁺/CD163⁺)浸润现象^[31],阻断CD47可促进巨噬细胞对ATC细胞的吞噬作用,并且抗CD47抗体可增强肿瘤微环境TAM活化标记物的表达,促进TAM对肿瘤细胞的吞噬能力,抑制小鼠移植瘤生长^[31]。目前在其他肿瘤中的研究发现,CD47阻断剂联合抗CD20抗体治疗抗CD20难治性弥漫性大B细胞淋巴瘤和滤泡性淋巴瘤患者,客观缓解率为50%,完全缓解率可达到36%^[32]。因此,靶向CD47-SIRP α 信号的方案有望成为治疗ATC的一种潜在手段。

2 靶向T淋巴细胞及自然杀伤细胞的相关免疫检查点

效应T细胞和自然杀伤细胞是抗肿瘤的主力军,但肿瘤细胞可通过自身表达免疫检查点配体或塑造抑制性肿瘤微环境逃避细胞杀伤^[33-34]。因此,虽然ATC组织中大量浸润CD8⁺T细胞,ATC仍能逃避免疫监控。研究发现,与正常甲状腺组织相比,ATC、乳头状甲状腺癌和低分化型甲状腺癌组织的免疫相关基因显著上调,并且可以在ATC中检测到免疫共抑制分子上调,包括PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG-3、TIM-3和TIGIT^[35]。与其他亚型甲状腺癌相比,ATC组织中免疫检查点相关基因上调更明显,提示免疫检查点抑制剂治疗很有可能

对ATC患者更加有效。

2.1 靶向PD-1/PD-L1

PD-1/PD-L1是介导杀伤性T细胞耗竭的关键信号。与其他实体肿瘤相比,ATC的PD-L1扩增频率较高,这意味着ATC患者可能对PD-1/PD-L1抑制剂更敏感^[36]。目前已上市的PD-1/PD-L1抑制剂例如斯巴达珠单抗、帕博立珠单抗等均在临床试验中取得了较好的效果。在一项针对局部晚期和/或转移性ATC患者的Ⅱ期临床试验中^[37],42例ATC患者接受斯巴达珠单抗静脉注射,每4周一次,结果显示PD-L1表达越高,患者预后越好。虽然该研究的客观缓解率为19%(包括3例完全缓解和5例部分缓解),但患者中位无进展生存期和总生存期仅为1.7个月和5.9个月,表明单药治疗ATC疗效有限。因此,临床上也在积极寻找联合治疗策略。

在一项针对ATC患者免疫治疗联合放化疗的临床研究中,研究者采用了帕博立珠单抗、多西他赛和阿霉素联合容积调强放射治疗的方案,但患者不到6个月均死亡,其中1例死于肺转移,2例死于放疗后的肺部并发症^[38]。因此,免疫治疗联合放化疗对ATC的疗效须进一步探索。

PD-1/PD-L1抑制剂联用分子靶向抑制剂治疗ATC的相关研究结果显示,PD-L1在ATC中的表达与*BRAF*^{V600E}突变相关,在ATC小鼠模型中单独使用PD-L1单克隆抗体对肿瘤生长的抑制效果并不理想,但PD-L1抑制剂增强了*BRAF*抑制剂的作用,两者联用比单用具有更显著的肿瘤抑制作用(联用组的肿瘤体积减小达81%,单用PD-L1组和单用*BRAF*抑制剂组肿瘤体积分别减少8%和44%)^[39]。在临床试验中,帕博立珠单抗联合激酶抑制剂治疗ATC取得了较好的治疗效果。一项Ⅱ期临床试验中,帕博立珠单抗联合乐伐替尼治疗ATC患者总生存期达到18.5个月^[40]。在另一项研究中,研究者比较了12例ATC患者接受不同靶向抑制剂联合帕博立珠单抗治疗的疗效。其中,达拉菲尼联合曲美替尼治疗患者的总生存期为7.4个月,联用帕博立珠单抗后患者总生存期延长3.8个月;乐伐替尼治疗患者总生存期为10.4个月,联用帕博立珠单抗后总生存期延长8.25个月^[41]。

上述结果提示,相比PD-1/PD-L1抑制剂单药治疗和PD-1/PD-L1抑制剂联合放化疗,PD-1/

PD-L1抑制剂联合分子靶向抑制剂可能对ATC患者更有益。

2.2 靶向CTLA-4

CTLA-4是另一个免疫检查点,也被称为CD152。以往研究发现,CTLA-4主要参与调控淋巴结T细胞活化和树突状细胞活性抑制,CTLA-4与配体结合可以保护肿瘤细胞免受细胞毒性T淋巴细胞介导的攻击^[42]。肿瘤细胞上的B7-1(CD80)或B7-2(CD86)分子与T淋巴细胞上的CD28分子结合从而激活T淋巴细胞内的信号转导,足够水平的结合会促进T淋巴细胞增殖,增加T淋巴细胞的活性。CTLA-4是CD28的同源物,对B7亲和力更高,但CTLA-4与B7的结合并不产生刺激信号。因此,这种竞争性结合可以阻止CD28与B7结合。CD28-B7结合和CTLA-4-B7结合的相对量决定了T淋巴细胞的激活,CTLA-4与B7结合还可能产生抑制信号,抵消来自CD28-B7和TCR-MHC结合的刺激信号^[42]。研究表明,11例ATC患者中有9例下调了CTLA-4的配体B7-1的表达^[43]。目前,纳武利尤单抗(PD-1抗体)和伊匹单抗(CTLA-4抗体)联合治疗ATC患者正在进行Ⅱ期临床试验^[44],CTLA-4能否成为下一个ATC免疫治疗靶点有待明确。

2.3 靶向TIGIT

TIGIT是淋巴细胞上表达的一种抑制性受体,可与肿瘤细胞上表达的CD155相互作用,从而下调T淋巴细胞和自然杀伤细胞的活性^[45]。此外,在TIGIT与CD155相互作用之后,表达CD155的树突状细胞可能具有耐受性,导致抗原呈递减少、共刺激分子低表达、细胞炎症因子的产生减少,从而使得T淋巴细胞活化受损。TIGIT在淋巴细胞上的广泛表达使其成为一种重要的免疫检查点。2021年1月,替瑞利尤单抗(tiragolumab)获得美国食品药品监督管理局突破性疗法资格认定,用于与阿替利珠单抗联用治疗PD-L1阳性、无*EGFR*或*ALK*基因突变的转移性非小细胞肺癌。TIGIT抗体治疗卵巢癌、肺癌、子宫内膜肿瘤等的临床试验也正在开展^[46-47]。研究显示,ATC患者体内TIGIT也处于上调状态^[35],提示TIGIT可能成为ATC免疫治疗的另一个靶点。

2.4 靶向LAG-3

LAG-3(CD223)在活化的效应CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞、CD4⁺ Foxp3⁺调节性T细胞、B淋巴细

胞和一部分自然杀伤细胞中表达^[48-49]。LAG-3是一种免疫球蛋白超家族成员,由四个细胞外免疫球蛋白样结构域和一个I型跨膜结构域组成,因此在结构上类似于CD4共受体。LAG-3是T细胞活化的负调节剂,LAG-3缺乏时可增加T细胞增殖和细胞因子产生。在CD8⁺T细胞中,LAG-3表达是由T淋巴细胞活化诱导的,阻断LAG-3可以改善细胞毒性T淋巴细胞的增殖和效应功能。在肿瘤环境中,LAG-3在耗竭的CD8⁺T细胞上也高度表达^[49]。LAG-3在肿瘤浸润淋巴细胞中也与PD-1共表达,其与PD-1阻断剂的协同作用可控制肿瘤生长甚至消除肿瘤^[50]。Giannini等^[35]研究发现,ATC组织中LAG-3表达上调,但未明确LAG-3是否参与介导肿瘤免疫逃逸。目前已开展LAG-3在不同癌症中的临床试验,如转移性癌症、实体瘤等^[51]。基于LAG-3在其他癌种中的促免疫逃逸作用,其在ATC中的靶点开发价值也有待探索。

2.5 靶向TIM-3

TIM-3是一种I型跨膜蛋白,最初被鉴定为Th1和Tc1细胞的特异性标志物,其表达受Th1转录因子T-bet和另一种转录因子NFIL3调节^[19]。TIM-3在调节性T细胞、自然杀伤细胞、单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞中均有表达。研究发现,晚期甲状腺癌患者和ATC患者自然杀伤细胞介导的细胞毒性下调,且阻断PD-1和TIM-3可以通过提高自然杀伤细胞的细胞毒性发挥作用^[52],提示TIM-3是ATC免疫逃逸的潜在靶点。

3 肿瘤疫苗

肿瘤疫苗是一种重要的免疫疗法,以确定的抗原为靶点,通过诱导或扩增癌症特异性T细胞来增强肿瘤宿主的免疫反应性^[32]。肿瘤疫苗可以靶向肿瘤相关抗原。肿瘤相关抗原具有免疫原性,在肿瘤组织中过表达,而在正常组织中缺乏表达^[35],因此是肿瘤免疫治疗的重要靶点。

3.1 树突状细胞疫苗

树突状细胞是免疫系统中有用的抗原呈递细胞,成熟的树突状细胞可诱发免疫刺激并促进肿瘤微环境中的抗肿瘤反应^[53]。树突状细胞是有效的抗原呈递细胞,具有捕获、处理和呈递抗原的能力,因而可以用于研制疫苗。树突状细胞在亚群和可塑性方面具有多样性,可产生改进的治疗性疫苗。I期临床试验表明,树突状细胞疫苗免

疫治疗可用于甲状腺癌患者且没有实质性的不良反应^[54]。三碘甲状腺原氨酸可以通过增强肿瘤过程中树突状细胞介导的T细胞活化来增强抗肿瘤反应^[55]。由于甲状腺滤泡中储存的碘甲状腺素密度较大,树突状细胞疫苗治疗甲状腺癌可能比其他肿瘤更有效。目前,树突状细胞疫苗在ATC中应用的最大障碍是缺乏肿瘤特异性抗原,但随着高通量测序的发展和未来新抗原的探索,树突状细胞疫苗在ATC治疗中的应用将成为可能。

3.2 溶瘤病毒疫苗

溶瘤病毒的治疗基于病毒在肿瘤细胞中的选择性复制以及在肿瘤组织内扩散并杀死肿瘤细胞,并不损害正常组织^[56]。溶瘤病毒通过选择性杀伤肿瘤细胞和诱导全身抗肿瘤免疫双重机制发挥抗肿瘤作用。溶瘤病毒分为两类,第一类是在肿瘤细胞中优先自然复制的病毒,由于对天然抗病毒信号的敏感性提高或对致癌信号通路的依赖,在人体内是非致病性病毒;第二类是经过基因控制,用作疫苗载体的病毒。研究发现许多溶瘤病毒可抑制ATC增殖,如dl922-947、麻疹病毒、痘病毒等^[56-57]。在ATC小鼠模型中,dl922-947不仅能抑制肿瘤生长,还能使M2型TAM向M1型转变^[58-59]。另外,溶瘤病毒可破坏致肾性肿瘤微环境并诱导CD8⁺T细胞介导的抗肿瘤反应,从而起到疫苗的作用^[60]。已有研究报道溶瘤病毒感染可通过改变肿瘤微环境中的细胞因子环境和免疫细胞类型来促进识别并消灭肿瘤细胞^[60]。此外,肿瘤细胞的裂解可导致肿瘤特异性抗原的释放,而肿瘤特异性抗原之前可能由于表达受限而无法被免疫系统所识别,其暴露触发了针对肿瘤细胞的强大抗肿瘤免疫^[7]。因此,开发治疗性溶瘤病毒疫苗有望成为治疗ATC的手段。

4 过继免疫治疗

过继免疫疗法是取对肿瘤有免疫力的供体淋巴细胞转输给肿瘤患者,或取患者的免疫细胞在体外活化、增殖后,再转输入自身体内发挥抗肿瘤作用^[61]。随着肿瘤免疫生物学的快速发展,肿瘤免疫治疗的研究日渐深入。目前CAR-T细胞疗法及体外扩增自然杀伤细胞疗法的应用越来越多,特别是在乳腺癌、肺癌、结肠癌等实体瘤治疗中^[62-63]。过继免疫治疗在ATC中也有了初步的研究进展,未来或可成为治疗ATC的有效手段。

4.1 自然杀伤细胞

自然杀伤细胞的过继免疫治疗正越来越多地用于治疗不同形式的恶性肿瘤,其大规模生产技术在过去几十年中不断升级^[64]。然而,由于肿瘤细胞对自然杀伤细胞裂解的抗性、输注的自然杀伤细胞向肿瘤的浸润障碍以及肿瘤微环境中对自然杀伤细胞活性抑制等因素^[65],自然杀伤细胞过继免疫治疗实体瘤的临床疗效并不理想。研究发现,甲状腺癌中主要组织相容性复合体 I 类分子的表达减少,从而使其易受到自然杀伤细胞介导的杀伤作用^[66]。此外,ATC 表达高水平 ULBP2/5/6,并与自然杀伤细胞表面活化性受体自然杀伤细胞 2 族成员 D(NKG2D)结合,增强了 ATC 细胞对自然杀伤细胞裂解的敏感性^[66-67]。同时,ATC 细胞可吸引 CXCR3⁺ 自然杀伤细胞,进一步增强自然杀伤细胞的效果^[67]。以上研究结果表明,ATC 可能是基于自然杀伤细胞的过继免疫治疗较为有效的癌种。

4.2 CAR-T 技术

CAR-T 技术通过基因工程技术将 T 淋巴细胞激活,并装上定位导航装置——肿瘤嵌合抗原受体,使 CAR-T 特异性靶向肿瘤细胞表面异常表达的肿瘤相关抗原,并通过免疫作用释放大量能杀灭肿瘤细胞的效应因子。其优势在于 CAR-T 细胞毒性功能不依赖于肿瘤抗原的主要组织相容性复合体呈递,避免共刺激效应。在原发性和转移性手术标本中,ICAM-1 表达于分化良好的甲状腺乳头状癌的表面及 ATC 整个细胞膜,ATC 细胞上 ICAM-1 的表达可以增强肿瘤对 CAR-T 的敏感性^[68]。ATC 细胞移植瘤小鼠模型实验结果显示,相比普通 T 细胞,靶向识别 ICAM-1 的 CAR-T 抗肿瘤效果更显著,小鼠肺转移及肝转移现象均减少^[29]。因此,未来靶向识别 ICAM-1 的 CAR-T 可能是 ATC 的一个重要研究方向。

5 结 语

目前,ATC 的治疗手段及药物仍不完善,无特效药物和治疗手段。针对 ATC 的免疫治疗研究主要包括靶向 TAM、靶向 T 细胞及自然杀伤细胞的相关免疫检查点、肿瘤疫苗及过继免疫治疗。初步证实以靶向阻断免疫检查点 PD-1/PD-L1 为代表的免疫治疗策略可使 ATC 患者获益。未来 ATC 治疗将更倾向于筛选潜在获益人群,进行个体化

给药。而针对 ATC 肿瘤的极大异质性,尤其是缺乏 *BRAF* 突变或一代免疫检查点不敏感的患者,绘制 ATC 患者免疫微环境的特征图谱显得更为紧迫。在未来研究中,针对 ATC 开展生物、免疫或细胞治疗,探索下一代免疫检查点(如 TIGIT、TIM3 等)抑制剂对 ATC 的治疗潜力有望应对 ATC 的肿瘤异质性,为 ATC 患者提供更丰富的治疗策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA-Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] ONODA N, SUGITANI I, ITO K I, et al. Evaluation of the 8th edition TNM classification for anaplastic thyroid carcinoma[J]. *Cancers*, 2020, 12(3): 552.
- [3] CARCANGIU M L, STEEPER T, ZAMPI G, et al. Anaplastic thyroid carcinoma: a study of 70 cases[J]. *Am J Clin Pathol*, 1985, 83(2): 135-158.
- [4] DAVIES L, WELCH H G. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002[J]. *JAMA*, 2006, 295(18): 2164.
- [5] KEBEBEW E, GREENSPAN F S, CLARK O H, et al. Anaplastic thyroid carcinoma[J]. *Cancer*, 2005, 103(7): 1330-1335.
- [6] FAGIN J A, WELLS S A. Biologic and clinical perspectives on thyroid cancer[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(11): 1054-1067.
- [7] KUNSTMAN J W, JUHLIN C C, GOH G, et al. Characterization of the mutational landscape of anaplastic thyroid cancer via whole-exome sequencing[J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(8): 2318-2329.
- [8] AHN J, JIN M, SONG E, et al. Immune profiling of advanced thyroid cancers using fluorescent multiplex immunohistochemistry[J]. *Thyroid*, 2021, 31(1): 61-67.
- [9] KIM D I, KIM E, KIM Y A, et al. Macrophage densities correlated with CXC chemokine receptor 4 expression and related with poor survival in anaplastic thyroid cancer[J]. *Endocrinol Metab*, 2016, 31(3): 469-475.
- [10] CHÁVEZ-GALÁN L, OLLEROS M L, VESIN D, et al. Much more than M1 and M2 macrophages, there are also CD169⁺ and TCR⁺ macrophages[J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 263.
- [11] CAILLOU B, TALBOT M, WEYEMI U, et al. Tumor-associated macrophages (TAMs) form an interconnected cellular supportive network in anaplastic thyroid carcinoma[J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(7):

- e22567.
- [12] CHO J W, KIM W W, LEE Y M, et al. Impact of tumor-associated macrophages and *BRAF*^{V600E} mutation on clinical outcomes in patients with various thyroid cancers[J]. **Head Neck**, 2019, 41(3): 686-691.
 - [13] NEUBERT N J, SCHMITTNAEGEL M, BORDRY N, et al. T cell-induced CSF1 promotes melanoma resistance to PD1 blockade[J]. **Sci Transl Med**, 2018, 10(436): eaan3311.
 - [14] EDWARDS V D K, WATANABE-SMITH K, RO-FELTY A, et al. CSF1R inhibitors exhibit antitumor activity in acute myeloid leukemia by blocking paracrine signals from support cells[J]. **Blood**, 2019, 133(6): 588-599.
 - [15] LENZO J C, TURNER A L, COOK A D, et al. Control of macrophage lineage populations by CSF-1 receptor and GM-CSF in homeostasis and inflammation[J]. **Immunol Cell Biol**, 2012, 90(4): 429-440.
 - [16] MIN I M, SHEVLIN E, VEDVYAS Y, et al. CAR T therapy targeting ICAM-1 eliminates advanced human thyroid tumors[J]. **Clin Cancer Res**, 2017, 23(24): 7569-7583.
 - [17] U.S. National Library of Medicine. ClinicalTrials.gov. A combination clinical study of PLX3397 and pembrolizumab to treat advanced melanoma and other solid tumors[EB/OL]. (2019-10-09)[2020-03-05]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02452424>.
 - [18] SALAJEGHEH A, VOSGHA H, RAHMAN M A, et al. Interactive role of miR-126 on VEGF-A and progression of papillary and undifferentiated thyroid carcinoma[J]. **Hum Pathol**, 2016, 51: 75-85.
 - [19] MONNEY L, SABATOS C A, GAGLIA J L, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease[J]. **Nature**, 2002, 415(6871): 536-541.
 - [20] MATSUMOTO K, EMA M. Roles of VEGF-A signaling in development, regeneration, and tumours[J]. **J Biochem**, 2014, 156(1): 1-10.
 - [21] ANTONELLI A, FERRARI S M, FALLAHI P. Current and future immunotherapies for thyroid cancer[J]. **Expert Rev Anticancer Ther**, 2018, 18(2): 149-159.
 - [22] TANG X, AMAR S. p53 suppresses CCL2-induced subcutaneous tumor xenograft[J]. **Tumor Biol**, 2015, 36(4): 2801-2808.
 - [23] LIM S Y, YUZHALLIN A E, GORDON-WEEKS A N, et al. Targeting the CCL2-CCR2 signaling axis in cancer metastasis[J]. **Oncotarget**, 2016, 7(19): 28697-28710.
 - [24] LI X, YAO W, YUAN Y, et al. Targeting of tumour-infiltrating macrophages via CCL2/CCR2 signalling as a therapeutic strategy against hepatocellular carcinoma[J]. **Gut**, 2017, 66(1): 157-167.
 - [25] BANERJEE S, HALDER K, GHOSH S, et al. The combination of a novel immunomodulator with a regulatory T cell suppressing antibody (DTA-1) regress advanced stage B16F10 solid tumor by repolarizing tumor associated macrophages *in situ*[J/OL]. **Oncoimmunology**, 2015, 4(3): e995559.
 - [26] RYDER M, GILD M, HOHL T M, et al. Genetic and pharmacological targeting of CSF-1/CSF-1R inhibits tumor-associated macrophages and impairs BRAF-induced thyroid cancer progression[J/OL]. **PLoS One**, 2013, 8(1): e54302.
 - [27] DOWNEY C M, AGHAEI M, SCHWENDENER R A, et al. DMXAA causes tumor site-specific vascular disruption in murine non-small cell lung cancer, and like the endogenous non-canonical cyclic dinucleotide STING agonist, 2'3'-cGAMP, induces M2 macrophage repolarization[J/OL]. **PLoS One**, 2014, 9(6): e99988.
 - [28] LIZOTTE P H, BAIRD J R, STEVENS C A, et al. Attenuated *Listeria monocytogenes* reprograms M2-polarized tumor-associated macrophages in ovarian cancer leading to iNOS-mediated tumor cell lysis[J/OL]. **Oncoimmunology**, 2014, 3(5): e28926.
 - [29] TRAHTEMBERG U, MEVORACH D. Apoptotic cells induced signaling for immune homeostasis in macrophages and dendritic cells[J]. **Front Immunol**, 2017, 8: 1356.
 - [30] VEILLETTE A, CHEN J. SIRPα-CD47 immune checkpoint blockade in anticancer therapy[J]. **Trends Immunol**, 2018, 39(3): 173-184.
 - [31] SCHÜRCH C M, ROELLI M A, FORSTER S, et al. Targeting CD47 in anaplastic thyroid carcinoma enhances tumor phagocytosis by macrophages and is a promising therapeutic strategy[J]. **Thyroid**, 2019, 29(7): 979-992.
 - [32] 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.
 - [33] CICCARESE C, IACOVELLI R, BRIA E, et al. The incidence and relative risk of pulmonary toxicity in patients treated with anti-PD1/PD-L1 therapy for solid tumors: a meta-analysis of current studies[J]. **Immunotherapy**, 2017, 9(7): 579-587.
 - [34] TOPALIAN S L, TAUBE J M, ANDERS R A, et al. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy[J]. **Nat Rev Cancer**, 2016, 16(5): 275-287.
 - [35] GIANNINI R, MORETTI S, UGOLINI C, et al. Immune profiling of thyroid carcinomas suggests the existence of two major phenotypes: an ATC-Like and a PDTC-like[J]. **J Clin Endocrinol Metab**, 2019, 104(8): 3557.
 - [36] BRAUNER E, GUNDA V, VANDEN BORRE P, et al. Combining BRAF inhibitor and anti PD-L1 antibody

- dramatically improves tumor regression and anti tumor immunity in an immunocompetent murine model of anaplastic thyroid cancer[J]. **Oncotarget**, 2016, 7(13): 17194-17211.
- [37] CAPDEVILA J, WIRTH L J, ERNST T, et al. PD-1 blockade in anaplastic thyroid carcinoma[J]. **J Clin Oncol**, 2020, 38(23): 2620-2627.
- [38] CHINTAKUNTALWAR A V, YIN J, FOOTE R L, et al. A phase 2 study of pembrolizumab combined with chemoradiotherapy as initial treatment for anaplastic thyroid cancer[J]. **Thyroid**, 2019, 29(11): 1615-1622.
- [39] CAROSELLA E D, PLOUSSARD G, LEMAULT J, et al. A systematic review of immunotherapy in urologic cancer: evolving roles for targeting of CTLA-4, PD-1/PD-L1, and HLA-G[J]. **Eur Urology**, 2015, 68(2): 267-279.
- [40] DIERKS C, SEUFERT J, AUMANN K, et al. Combination of lenvatinib and pembrolizumab is an effective treatment option for anaplastic and poorly differentiated thyroid carcinoma[J]. **Thyroid**, 2021, 31(7): 1076-1085.
- [41] IYER P C, DADU R, GULE-MONROE M, et al. Salvage pembrolizumab added to kinase inhibitor therapy for the treatment of anaplastic thyroid carcinoma[J]. **J Immunother Cancer**, 2018, 6(1): 68.
- [42] TUCCILLI C, BALDINI E, SORRENTI S, et al. CTLA-4 and PD-1 ligand gene expression in epithelial thyroid cancers[J]. **Int J Endocrinol**, 2018, 2018: 1742951.
- [43] CALVO TARDÓN M, ALLARD M, DUTOIT V, et al. Peptides as cancer vaccines[J]. **Curr Opin Pharmacol**, 2019, 47: 20-26.
- [44] U.S. National Library of Medicine. ClinicalTrials. gov. Nivolumab plus ipilimumab in thyroid cancer[EB/OL]. (2017-08-11)[2021-07-19]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03246958>.
- [45] HARJUNPÄÄ H, GUILLEREY C. TIGIT as an emerging immune checkpoint[J]. **Clin Exp Immunol**, 2020, 200(2): 108-119.
- [46] U.S. National Library of Medicine. ClinicalTrials. gov. COM902 (a tigit inhibitor) in subjects with advanced malignancies[EB/OL]. (2020-04-21)[2021-10-05]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT04354246>.
- [47] U.S. National Library of Medicine. ClinicalTrials. gov. COM701 in combination with BMS-986207 and nivolumab in subjects with advanced solid tumors[EB/OL]. (2020-09-30)[2021-12-10]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04570839>.
- [48] GAGLIANI N, MAGNANI C F, HUBER S, et al. Coexpression of CD49b and LAG-3 identifies human and mouse T regulatory type 1 cells[J]. **Nat Med**, 2013, 19(6): 739-746.
- [49] HUANG C T, WORKMAN C J, FLIES D, et al. Role of LAG-3 in regulatory T cells[J]. **Immunity**, 2004, 21(4): 503-513.
- [50] WOO S R, TURNIS M E, GOLDBERG M V, et al. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape[J]. **Cancer Res**, 2012, 72(4): 917-927.
- [51] U.S. National Library of Medicine. ClinicalTrials. gov. Immuno-oncology drugs elotuzumab, anti-LAG-3 and anti-TIGIT[EB/OL]. (2019-11-05)[2021-09-10]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04150965>.
- [52] YIN M, DI G, BIAN M. Dysfunction of natural killer cells mediated by PD-1 and Tim-3 pathway in anaplastic thyroid cancer[J]. **Int Immunopharmacol**, 2018, 64: 333-339.
- [53] LANDA I, IBRAHIMPASIC T, BOUCAI L, et al. Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers[J]. **J Clin Investigation**, 2016, 126(3): 1052-1066.
- [54] BANCHEREAU J, STEINMAN R M. Dendritic cells and the control of immunity[J]. **Nature**, 1998, 392(6673): 245-252.
- [55] RUSSELL S J, PENG K W, BELL J C. Oncolytic virotherapy[J]. **Nat Biotechnol**, 2012, 30(7): 658-670.
- [56] PASSARO C, BORRIELLO F, VASTOLO V, et al. The oncolytic virus dl 922-947 reduces IL-8/CXCL8 and MCP-1/CCL2 expression and impairs angiogenesis and macrophage infiltration in anaplastic thyroid carcinoma[J]. **Oncotarget**, 2016, 7(2): 1500-1515.
- [57] MONDAL M, GUO J, HE P, et al. Recent advances of oncolytic virus in cancer therapy[J]. **Hum Vaccines Immunother**, 2020, 16(10): 2389-2402.
- [58] JIANG K, SONG C, KONG L, et al. Recombinant oncolytic newcastle disease virus displays antitumor activities in anaplastic thyroid cancer cells[J]. **BMC Cancer**, 2018, 18(1): 746.
- [59] PRESTWICH R J, ERRINGTON F, DIAZ R M, et al. The case of oncolytic viruses versus the immune system: waiting on the judgment of Solomon[J]. **Hum Gene Ther**, 2009, 20(10): 1119-1132.
- [60] KAUFMAN H L, KOHLHAPP F J, ZLOZA A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs[J]. **Nat Rev Drug Discov**, 2015, 14(9): 642-662.
- [61] 郭晓玲, 朱平. 恶性肿瘤细胞过继免疫治疗研究进展[J]. **国外医学(肿瘤学分册)**, 2004, 31(6): 418-421. GUO Xiaoling, ZHU Ping. Progress on adoptive immunotherapy in the treatment of tumors[J]. **Foreign Medical Sciences (Cancer Section)**, 2004, 31(6): 418-421. (in Chinese)
- [62] LEE D A. Cellular therapy: adoptive immunotherapy

- with expanded natural killer cells[J]. **Immunol Rev**, 2019, 290(1): 85-99.
- [63] SINGH A K, MCGUIRK J P. CAR T cells: continuation in a revolution of immunotherapy[J/OL]. **Lancet Oncol**, 2020, 21(3): e168-e178.
- [64] SUTLU T, ALICI E. *Ex vivo* expansion of natural killer cells: a question of function[J]. **Cytotherapy**, 2011, 13(6): 767-768.
- [65] TERRÉN I, ORRANTIA A, VITALLÉ J, et al. NK cell metabolism and tumor microenvironment[J]. **Front Immunol**, 2019, 10: 2278.
- [66] ANGELL T E, LECHNER M G, JANG J K, et al. MHC class I loss is a frequent mechanism of immune escape in papillary thyroid cancer that is reversed by interferon and selumetinib treatment *in vitro*[J]. **Clin Cancer Res**, 2014, 20(23): 6034-6044.
- [67] WENNERBERG E, PFEFFERLE A, EKBLAD L, et al. Human anaplastic thyroid carcinoma cells are sensitive to NK cell-mediated lysis via ULBP2/5/6 and chemoattract NK cells[J]. **Clin Cancer Res**, 2014, 20(22): 5733-5744.
- [68] FRENCH J D, HAUGEN B R. CAR T cell therapy—potential in advanced thyroid cancer?[J]. **Nat Rev Endocrinol**, 2018, 14(1): 10-11.

[本文编辑 余方 刘丽娜]

· 学术动态 ·

张进研究员团队揭示rRNA生物发生调控小鼠ES-2C-like细胞的命运转变和早期胚胎发育机制

2021年11月9日,《自然通讯》(*Nature Communications*)在线发表了浙江大学基础医学院张进研究员的最新研究成果“rRNA biogenesis regulates mouse 2C-like state by 3D structure reorganization of peri-nucleolar heterochromatin”(DOI: 10. 1038/s41467-021-26576-2)。该研究通过多组学数据整合挖掘与分子实验相结合的研究策略,发现核糖体RNA(rRNA)生物发生通过调控核仁相分离以及重塑核仁周边异染色质区高级结构来调控二细胞样胚胎干细胞(ES-2C-like细胞)命运转变以及早期胚胎发育。

小鼠二细胞(2C)阶段胚胎细胞是胚胎发育早期阶段的全能性干细胞,可以产生胚胎和胚胎外组织的所有细胞类型。研究人员发现,rRNA合成抑制剂CX-5461处理胚胎干细胞(ES细胞)可引起2C基因的高表达,且影响核仁正常相分离。核仁关键蛋白核仁素(NCL)、Fibrillarin(FBL)以及核仁磷蛋白1(NPM1)介导的相分离液滴流动性明显增加,NCL和NPM1在核仁DFC层中形成的独特环形结构消失。随后检测了CX-5461处理前后,核仁周边异染色质去表观遗传状态的变化。研究利用ChIP-seq和ATAC-seq测序实验发现,CX-5461处理后,活跃性的表观修饰H3K4me3和H3K27ac水平明显增加,抑制性的表观修饰H3K9me3和H3K27me3水平明显降低,NCL/TRIM28复合物对核仁异染色质区的结合明显降低。通过结合公开发表ChIP-seq、ATAC-seq、RNA-seq测序数据以及定量聚合酶链反应(qPCR)和ATAC-seq测序实验,进一步发现rRNA生物合成抑制是通过关键转录因子DUX蛋白来激活2C基因。核仁异染色质区表观遗传状态的变化提示染色质高级结构可能发生了变化,研究人员利用Hi-C测序技术解析了CX-5461处理前后ES细胞染色质高级结构的变化情况,发现ES细胞核仁异染色质区和MERVL区域的3D基因组高级结构与2C胚胎更为相似。在此基础上,研究人员通过细胞遗传学手段干扰rRNA生物合成,发现干扰rRNA生物合成过程中的步骤可以重现CX-5461处理后的ES细胞分子表型。最后利用CX-5461在小鼠早期胚胎上进行实验,重现了ES细胞中的分子表型,提示rRNA生物合成是调控2C胚胎向四细胞胚胎转变的关键调控因素。

余华博士、科研助理孙振、谭田雨博士研究生以及科研助理潘鸿儒为论文第一作者。研究得到国家重点研发计划、国家自然科学基金、浙江省自然科学基金等支持。