

PD-1抑制剂联用的研究进展

陈岳, 刘煜*

中国药科大学生命科学与技术学院, 江苏 南京

Email: liuyu@cpu.edu.cn

收稿日期: 2021年4月20日; 录用日期: 2021年5月15日; 发布日期: 2021年5月25日

摘要

PD-1抑制剂在癌症治疗领域已获得了巨大的成功, 但仍存在很多不足。PD-抑制剂与其他疗法联用是目前临床治疗的发展方向。本文从肿瘤表型分类的角度出发, 系统性总结了PD-1抑制剂联用的分类, 并介绍了对应的经典疗法。

关键词

PD-1抑制剂联用, 肿瘤微环境, 免疫抑制细胞

Research Progress of PD-1 Inhibitor Combination

Yue Chen, Yu Liu*

School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

Email: liuyu@cpu.edu.cn

Received: Apr. 20th, 2021; accepted: May 15th, 2021; published: May 25th, 2021

Abstract

PD-1 inhibitors have achieved great success in the field of cancer treatment, but there are still many shortcomings. Combination of PD-inhibitors with other therapies is the current development direction of clinical treatment. In this paper, we systematically summarize the classification of PD-1 inhibitor combination from the perspective of tumor phenotype classification and introduce the corresponding classical therapies.

*通讯作者。

Keywords

PD-1 Inhibitor Combination, Tumor Microenvironment, Immunosuppressive Cells

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

2018年, 诺贝尔生理学或医学奖被授予给 Allison 和 Honjo, 以表彰他们发现了 PD-1 和 CTLA-4 这两个免疫检查点。他们研究的证明: 免疫系统中存在着一些“刹车”蛋白, 作为负性的免疫调节受体, 维持机体自身免疫耐受。肿瘤利用这种机制, 使得肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中的免疫细胞处于被抑制状态, 从而逃脱免疫系统的监视[1]。

PD-1/PD-L1 信号通路可以抑制 T 细胞的激活、增殖, 诱导效应 T 细胞的凋亡[2]从而避免 T 细胞杀伤肿瘤。同时 PD-1/PD-L1 信号通路可以抑制调节性 T 细胞的凋亡维持肿瘤内部免疫抑制的微环境[3]。

PD-1 抑制剂可以恢复 T 细胞的功能, 激活自身免疫系统杀伤肿瘤, 所以在不同类型的肿瘤中都有治疗潜力。2020年, 帕博利珠单抗获批治疗 MSI/MSR (微卫星不稳定性/错配修复)缺陷的癌症, 这是首个基于生物标志物分型而非癌症分型的治疗方案。此外, 激活后的免疫系统会产生记忆性 T 细胞, 在体内发挥长效的抗肿瘤效果。因此, PD-1 抑制剂是一种广谱、长效的抗肿瘤药物。

但 PD-1 抑制剂也存在很多临床不足: 患者对其整体响应率不高(25%左右) [4]、肿瘤容易耐药[5]、药物的存在副作用[6]及肿瘤可能发生超进展(hyperprogressive disease, HPD) [7]。

除了药物疗效问题外, PD-1 抑制剂还存在激烈的商业竞争。以帕博利珠单抗为例, 最初进入中国时, 其年治疗费用超过 30 万元(包含赠药)。但受国产药降价影响, 其两年治疗费用目前已降至 14 万元(包含赠药)。目前全球已有 6 款 PD-1 抑制剂上市。预计 2~3 年内, 全球将会有超过 20 款 PD-1 抗体上市, 而在研项目超百个。

为提高抗 PD-1 单抗的疗效、规避激烈的商业竞争, 临床开发的方向已从单药治疗转向联合治疗: 早在 2019 年, PD-1/PD-L1 联合治疗的临床试验数量已经超过单药治疗的 3 倍多。本文将系统性介绍抗 PD-1 单抗联用方案及其机制。

2. 肿瘤的表型及 PD-1 抑制剂联用的分类

临床上, 根据肿瘤中 T 细胞的浸润和免疫状态不同, 我们将肿瘤分为三种表型, 分别是: 免疫沙漠型(immune deserts)、免疫排斥型(immune-excluded tumors)、炎性肿瘤(inflamed tumors):

1. 免疫沙漠型肿瘤, 其内外都没有 T 细胞, 对 PD-1 抑制剂几乎无响应。肿瘤通过抑制抗原的释放和呈递, 使得 T 细胞无法被招募。

2. 免疫排斥型肿瘤, 其外部存在大量 T 细胞, 但内部很少。肿瘤通过抑制 T 细胞的浸润, 使得被招募的 T 细胞无法进入肿瘤。

3. 炎性肿瘤, 其内部有大量 T 细胞浸润, 对 PD-1 抑制剂的潜在响应效果最好。但肿瘤可以通过肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中其他途径抑制 T 细胞的活化、增殖, 使 T 细胞无法杀伤肿瘤; 另外当 T 细胞处于持续的抗原刺激或者长期暴露于慢性炎症环境中时, 会发生耗竭现象。此时, T 细胞

失去正常的免疫应答功能, 导致了肿瘤的免疫逃逸。

因此 PD-1 抑制剂的联用大致可以分为四类: 增强肿瘤抗原的释放和呈递、增强 T 细胞的肿瘤浸润、逆转肿瘤微环境的免疫抑制、增强 T 细胞的免疫应答。

3. 增强肿瘤抗原的释放和呈递

对于免疫沙漠型肿瘤, 联合疗法可以增强肿瘤抗原释放和呈递, 提高 PD-1 抑制剂的响应率。

3.1. 与放化疗联用

放化疗是过去十年与 PD-1 抑制剂联用中占比最多的类型。局部的放化疗导致肿瘤的免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD), 同时释放大量的肿瘤抗原。抗原的释放使得肿瘤被免疫系统识别, 从而促进 T 细胞向肿瘤部位迁移和浸润。

此外, 放化疗清除了肿瘤中的调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)和骨髓来源的抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs), 逆转了肿瘤的免疫抑制, 帮助浸润的 T 细胞杀伤肿瘤。

除放化疗外, 一些新技术也可以增强肿瘤抗原的释放与呈递: 如肿瘤新抗原疫苗或者溶瘤病毒等。

3.2. 与新技术联用

肿瘤新抗原是肿瘤组织内特异性地表达的抗原, 所以具有很好的安全性[8]。一项使用 DC 作为疫苗形式的临床试验(NCT00683670)表明, 其能有效地招募并激活 CD8+ T 细胞, 同时诱导 TCR 扩增[9]。

溶瘤病毒可以特异性地在肿瘤细胞中复制, 能够造成肿瘤细胞的 ICD, 激活机体的获得性免疫系统; 同时溶瘤病毒能够引发损伤相关的分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMPs)和病原相关的分子模式(Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 激活机体的固有免疫。OncoMyx 公司的一款基于兔痘病毒的溶瘤病毒与 PD-1 抑制剂联用具有很好的效果[10]。

3.3. 利用肿瘤自身的呈递机制

肿瘤会通过多种途径下调自身抗原表达, 降低自身免疫原性。所以除了使用外源性的放化疗或者疫苗等手段外, 我们还可以增强肿瘤自身的抗原呈递机制。ERAP1 全称是内质网氨肽酶 1。在呈递过程中, 胞内抗原首先会被 ERAP1 分解为小片段, 再结合 MHC 分子。肿瘤会过表达 ERAP1, 使其自身抗原被过度“修剪”, 降低抗原的免疫原性。动物模型结果表明, ERAP1 抑制剂与 PD-1 抑制剂联用优于单药, 具有很好的协同效果[11]。

除了“修剪”抗原, 肿瘤也会下调表面 MHC 分子的表达, 帮助自身免疫逃逸。PCSK9 是调控血液胆固醇代谢的关键蛋白。但研究人员发现, PCSK9 也能直接结合 MHC I 类分子, 介导其在溶酶体中的降解, 从而下调肿瘤表面 MHC 分子的表达。敲除 PCSK9 的小鼠, 肿瘤生长明显减缓; 而使用 PCSK9 抑制剂能上调肿瘤 MHC I 类分子表达量, 从而增强 PD-1 抑制剂抗肿瘤效果[12]。

4. 增强 T 细胞肿瘤浸润

对于免疫排斥型肿瘤来说, PD-1 抑制剂疗效不理想主要的原因是 T 细胞浸润不足。抗原呈递细胞将 T 细胞从淋巴结募集到肿瘤部位后, 肿瘤会限制 T 细胞的浸润[13], 主要通过如下三种方法:

首先, 肿瘤会下调某些关键趋化因子, 从而影响 T 细胞向肿瘤内部的迁移;

其次, 肿瘤会依靠成纤维细胞或者基质细胞形成质密的物理屏障来阻碍 T 细胞的浸润, 这往往伴随着 TGF- β 的高表达;

最后, 异常增生的肿瘤内部血管也会导致高渗、低氧、高间质压的 TME 的形成, 使得 T 细胞浸润

变得困难。

联用疗法也主要从这三个途径增强 PD-1 抑制剂在免疫排斥型肿瘤中的效果。

4.1. 肿瘤趋化因子

趋化因子可以促进淋巴细胞向特定部位运动,在肿瘤发生和发展过程中具有重要作用。其中,CXCL9、CXCL10 和 CCL5 这三种趋化因子已被证实可以促进 T 细胞向肿瘤浸润。因而肿瘤会下调这三种趋化因子,避免被 T 细胞杀伤。使用表观遗传学药物可以增强它们的表达[14] [15] [16]。将其联用后,具有改善现有 PD-1 抑制剂效果的潜力。

而 CXCL12 是 T 细胞浸润的抑制性的趋化因子。其由成纤维细胞分泌,能将 T 细胞诱导迁移至肿瘤外。对 CXCL12 进行抑制可以增强 T 细胞的浸润状态[17],也是一个潜在的靶点。

4.2. 肿瘤的“物理屏障”

免疫排斥型肿瘤往往会形成“坚固”的物理屏障,这同时伴随着转化生长因子- β (Transforming growth factor beta, TGF- β)的高表达[18]。TGF- β 对物理屏障的形成至关重要。它会促进成纤维细胞和基质细胞的增殖,帮助肿瘤形成质密的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的形成,同时维持肿瘤的高间质压力。研究证明,TGF- β 抑制剂可以破坏肿瘤的物理屏障,帮助 T 细胞浸润[19]。临床上,TGF- β 抑制剂与 PD-1 抑制剂联用能使肿瘤应答率显著提升[20]:在一项针对非错配修复的结肠癌中,联用组取得了 33.3%的响应率,而单药几乎无响应($P < 0.05$)。

4.3. 肿瘤血管正常化

在 VEGF 等因子驱动下,肿瘤的血管往往异常增生:形态上曲折膨胀、分布不均;功能上易渗漏,高组织间隙压,同时伴随着局部灌注不足、缺氧等问题。这阻碍了药物的递送和免疫细胞的浸润。Rakesh Jain 等提出“血管正常化”(vascular normalization)理论[21],即通过低剂量的抗血管生成药物,使肿瘤血管功能和形态上的正常化,改善药物的递送及细胞的浸润。

目前 VEGF 是与 PD-1 抑制剂联用最热门的靶点。临床上,Genentech 将阿替利珠单抗和贝伐单抗联用,在晚期肝细胞癌治疗中取得良好的协同效果,是肝细胞癌治疗领域的重大突破[22]。在总体生存期及无进展生存期两项指标上,联用方案均显著优于索拉非尼,同时患者死亡风险降低了 42% [22]。在这之前,晚期肝细胞癌的一线治疗药物仅有索拉非尼和仑伐替尼两种。而前者盘踞一线疗法位置已经长达 13 年。

5. 逆转 TME 的免疫抑制

肿瘤与其所处的环境构成了一个完整的功能实体。TME 是一个由免疫和炎症细胞,肿瘤相关的基质细胞,肿瘤周围的间质、血管、各种代谢产物和因子组成的复杂系统,在在肿瘤的发生、发展、转移过程中发挥了不可替代的作用。TME 会通过多种途径抑制浸润的 T 细胞的功能,帮助肿瘤实现免疫逃逸,促进肿瘤的恶性发展。这里主要介绍 TME 中的肿瘤代谢产物及免疫抑制细胞两类。

5.1. 肿瘤代谢产物

与正常细胞不同,肿瘤细胞会发生能量代谢的重编程。这不仅可以促进肿瘤的快速生长,还可以竞争性耗竭营养物质从而抑制免疫细胞的生长,帮助肿瘤发生免疫逃逸。

腺苷是 TME 中一个关键的免疫调节分子:可以抑制正常免疫细胞的分化成熟,发挥免疫抑制作用[23]。同时腺苷还可以作用于内皮细胞,促进肿瘤血管形成,帮助肿瘤转移。CD39、CD73 作为磷酸水解

酶先后参与腺苷的产生。将抗 CD73 抗体与抗 PD-1 抗体联用,可以降低 TME 中腺苷浓度,逆转免疫抑制[24]。腺苷在免疫细胞上的信号受体 A2aR 和 A2bR 同样是热门的联用靶点。有研究发现 IL-7 可以阻断 A2aR 的信号通路,保护 CD8+ T 细胞[25],同时解除 Treg 细胞的抑制作用[26]。

5.2. 抑制性免疫细胞

肿瘤 TME 中存在大量的免疫抑制细胞,其中比较重要的是肿瘤相关巨噬细胞(Tumor-associated macrophages, TAM)和调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)两种。

TAM 分为 M1、M2 两类。M2 型 TAM 具有广泛的促肿瘤作用:其高表达 PD-L1 并分泌免疫抑制性细胞因子;同时 M2 型 TAM 还可以促进其他免疫抑制细胞如 Treg 细胞的增殖、抑制 DC 的成熟。针对 TAM 的主要联用思路是通过重编程,将 TAM 的 M2 表型逆转为 M1 表型,例如:靶向 CSF-1R 靶点可以下调 M2 相关基因,增强 M1 表达[27];有研究人员发现二甲双胍可以通过 AMPK-NF- κ B 信号通路逆转 M2 为 M1 型巨噬细胞,增强 PD-1 抑制剂效果[28]。

Treg 是目前关注度最高的免疫抑制细胞,可以直接调控 T 细胞的功能:首先, Treg 会耗竭 TME 中 IL-2 (IL-2 是 T 细胞生长因子),抑制 T 细胞的活化与增殖;其次 Treg 高表达 CTLA-4,同时会分泌抑制性细胞因子(TGF- β , IL-10 和 IL-35),以帮助建立免疫抑制微环境[29]。最后, Treg 细胞可以分泌穿孔素和颗粒酶,直接杀伤 APC 或者效应 T 细胞[30]。

此外 Treg 也表达 PD-1,所以 PD-1 抑制剂也会解除 Treg 的受抑制状态[31],使其发挥免疫抑制作用。因此当 TME 中 Treg 细胞比例过高时,使用 PD-1 抑制剂并不能激活 T 细胞。因此特异性清除 TME 中的 Treg 细胞,对提高 PD-1 抑制剂疗效具有重大意义。

上文提到, Treg 会竞争性耗竭 TME 中的 IL-2,是因为其高表达 CD25。CD25 是 IL-2 受体 α 亚基。它的存在使得 Treg 细胞对 IL-2 的亲合力相较于正常 T 细胞提高了 100 倍。罗氏早期研发中心开发出一款 CD25 非阻断性的抗体,可以结合并通过 ADCC 效应裂解 Treg 细胞。同时由于该抗体并不阻断 CD25 结合 IL-2,所以不会对少量表达 CD25 的正常 T 细胞产生影响[32],可以特异性清除 TME 中的 Treg。

除了 CD25, TME 中大量存在的乳酸也是特异性清除 Treg 的一个重要靶点。Treg 细胞为了适应肿瘤微环境,会提高对乳酸的代谢[33]。MCT1 是 Treg 细胞表面的乳酸转运蛋白。Treg 细胞通过 MCT1 蛋白摄入乳酸,获取能量。动物模型中,将 MCT1 抑制剂与 PD-1 抑制剂联用后,小鼠肿瘤显著消退,响应率也有提升[34]。另外研究人员发现 CD36 可以通过 PPAR- β 途径调整线粒体,使其适应 TME 中高浓度的乳酸环境。动物模型中,敲除 CD36 不会影响动物健康,同时能增强 PD-1 抑制剂效果[35]。

6. 增强 T 细胞的免疫应答

在长期抗原暴露或者炎症反应后, T 细胞往往会耗竭或者失能。此时仅仅逆转 TME 中的免疫抑制已不足以恢复 T 细胞功能。耗竭性 T 细胞的特点是表面抑制性受体高表达。通过协同阻断其他抑制性受体、激活共刺激受体或者联用具有免疫调节功能的细胞因子都增强 T 细胞功能。

6.1. 与免疫检查点抑制剂联用

免疫检查点抑制剂靶点包括: CTLA-4、LAG-3、TIM-3、TIGIT 等。

CTLA-4 是最常见的免疫检查点联用靶点。虽然 CTLA-4 也是免疫检查点,但临床上发现抗 CTLA-4 抗体最主要作用机制是通过结合 TME 中的 Treg 细胞并通过 Fc 介导其清除[36],因而可以逆转 Treg 对 T 细胞的免疫抑制作用,提高 PD-1 抑制剂的响应率。目前该联用方案已经获批治疗黑色素瘤、肾细胞癌和结直肠癌[37]。

LAG-3 在 TME 中多数淋巴细胞上表达, 也具有与 PD-1 联用的潜力, 并且可能成为 PD-1 和 CTLA-4 后获批上市的第三个免疫检查点。LAG-3 可促进 Treg 分化增殖, 并抑制 NKT、DC、CD4+ T 细胞等的功能。T 细胞上的 LAG-3 与 PD-1 协同抑制 TCR 信号[38]。目前, BMS 已经披露了 Nivolumab (抗 PD-1 单抗)和 Relatlimab (抗 LAG-3 单抗)联用的三期临床数据(NCT03704077): 黑色素瘤患者无进展生存期得到明显改善。

TIM-3 在 PD-1 耐药患者肿瘤中高表达。其与 PD-1 抑制剂联用可以更好促进肿瘤消退[39]。但 TIM-3 存在多个配体, 因而 TIM-3 抑制剂的开发难度较大[40]。

TIGIT 可以抑制肿瘤抗原的释放和呈递[41]。TIGIT 与 PD-1 抑制剂联用后可显著延长小鼠的生存期[42]。目前, 罗氏的替瑞利尤单抗(抗 TIGIT 抗体)和阿特珠单抗(抗 PD-L1 抗体) 联用方案已经被 FDA 授予突破性疗法, 用于治疗一线转移性非小细胞肺癌。一项三期临床也处于开展中(NCT04294810)。

6.2. 与免疫检查点激动剂联用

大量临床前研究表明, 免疫检查点激动剂(4-1BB, OX40, ICOS, CD27, GITR)可以促进 T 细胞激活、增殖。但其单用的临床效果不佳: 往往具有很强的毒性, 同时响应率较低[43], 目前尚未有免疫检查点激动剂获批上市。所以将免疫检查点激动剂与 PD-1 抑制剂联用是热门的临床推进方向。其中比较重要的联用靶点是 4-1BB 与 OX40。

4-1BB (CD137)是 TNF 受体超家族的成员。T 细胞激活后, 4-1BB 上调表达, 并通过 NF- κ B 和 MAPK 通路, 延长 T 细胞的存活。但 4-1BB 激动剂单独给药效果并不佳, 同时具有较大的毒性[44]。而与 PD-1 抑制剂的联用则显示出很好的协同作用: 可以逆转 CD8+ T 耗竭, 增强自体的肿瘤免疫[45]。

OX40 是 T 细胞的共刺激因子, 作用与 4-1BB 类似。此外 OX40 的共刺激可以抑制 Treg 的 FOXP3 基因, 抑制 Treg 细胞的分化。动物模型中, OX40 激动剂与抗 PD-1 抗体联用取得了很好的联用收益, 可以逆转 T 细胞的耗竭[46]。

6.3. 与细胞因子联用

除了免疫检查点外, TME 中的细胞因子也是一种很重要的免疫调节靶点。白介素(IL-2、15、21)、生长因子(GM-CSF)、干扰素(IFN- α)和肿瘤坏死因子(TNF- α)都具有与 PD-1 抑制剂联用的潜力[47]。此外, 中和一些免疫抑制因子(IL-6、IL-10)也能增强 PD-1 抑制剂的临床疗效。

IL-2 是首个被用于临床治疗的肿瘤免疫药物, 对 T 细胞的发育和扩增具有重要作用。但其治疗窗口窄、半衰期短。同时 IL-2 对 Treg 细胞有更高的亲和力, 所以低剂量时会优先激活 Treg, 导致免疫抑制。而高剂量又具有很高的毒性, 会引发致命性的血管渗漏[48]。有研究表明, IL-2 与 PD-1 抑制剂联用使得小鼠肿瘤完全消退。临床研究也表明, IL-2 和 PD-1 抑制剂联用可以提高响应率[49]。

IL-15 和 IL-21 都具有与 IL-2 类似的效果。其中 IL-15 与 PD-1 抑制剂联用后患者生存率上升[50]。IL-21 在动物模型中具有更好的抗肿瘤效果, 但缺少临床数据支撑[51]。

7. PD-1 抑制剂的展望

除肿瘤治疗外, PD-1 抑制剂也被应用于其他疾病的治疗, 如 HIV 和阿尔兹海默症: HIV 病毒会上调 T 细胞表面的 PD-1, 导致其耗竭。将 PD-1 抑制剂和 TIGIT 抑制剂联用, 可以逆转这种耗竭, 增强免疫反应, 促进 HIV 的清除[52]。在针对阿尔兹海默症的研究中, 研究人员发现 PD-1 抑制剂可以募集巨噬细胞进入大脑, 清除组织中的淀粉样 β 斑块, 改善小鼠的认知反应[53]。这提示我们, PD-1 靶点在肿瘤治疗之外, 仍然具有巨大的应用潜力。

同时, 随着临床治疗和研究的深入, 我们对于 PD-1 的机制取得了更深入的认识。有研究表明, 当肿瘤抗原的释放和呈递不足时, PD-1 抑制剂的使用不但不能激活杀伤性 T 细胞, 反而使其功能紊乱, 杀死 T 细胞[54]; 还有学者发现 PD-1 在肿瘤细胞上也广泛表达, 且可以通过 AKT 和 ERK1/2 等信号通路抑制肿瘤生长。使用 PD-1 抑制剂后, 解除了 PD-1 对肿瘤的抑制。若此时 T 细胞募集和活化水平较低, PD-1 抑制剂反而可能导致肿瘤的超进展[55]。这提示我们 PD-1 抑制剂具有两重性。

联用疗法可以解决 PD-1 抑制剂在临床上遇到的很多不足, 但往往也会增强毒副作用[56]。PD-1 与 CTLA-4 的抑制剂联用后, 患者的副作用发生率明显上升[57]; PD-1 抑制剂与 EGFR 或者 ALK 抑制剂联用不仅效果不理想[58], 还可能出现严重副作用, 导致患者死亡[59]。所以如何降低联用疗法的副作用, 是目前研究的一个重点。有研究就是在 PD-1、CTLA-4 联用基础上, 对 TNF- α 进行阻断, 发现可以改善动物模型中炎症副作用, 同时增强抗肿瘤效果[60]。

8. 结语

PD-1 抑制剂是肿瘤治疗领域的重大突破, 已经获得了巨大的临床收益和商业成功, 但也面临着商业竞争加剧及临床疗效不足两方面问题。这驱使着工业界和学术界通过联合疗法寻求突破。本文从肿瘤的不同表型出发, 总结出 PD-1 联用的四种机制, 并介绍了具有代表性的联用疗法。我们相信随着研究的深入, PD-1 抑制剂会为更多的肿瘤患者带来帮助。

参考文献

- [1] Ljunggren, H.G., Jonsson, R. and Höglund, P. (2018) Seminal Immunologic Discoveries with Direct Clinical Implications: The 2018 Nobel Prize in Physiology or Medicine Honours Discoveries in Cancer Immunotherapy. *Scandinavian Journal of Immunology*, **88**, e12731. <https://doi.org/10.1111/sji.12731>
- [2] Francisco, L.M., Sage, P.T. and Sharpe, A.H. (2010) The PD-1 Pathway in Tolerance and Autoimmunity. *Immunological Reviews*, **236**, 219-242. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00923.x>
- [3] Fife, B.T. and Pauken, K.E. (2011) The Role of the PD-1 Pathway in Autoimmunity and Peripheral Tolerance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1217**, 45-59. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05919.x>
- [4] Sharma, P. and Allison, J.P. (2015) The Future of Immune Checkpoint Therapy. *Science*, **348**, 56-61. <https://doi.org/10.1126/science.aaa8172>
- [5] 严时佳, 孙蕾, 万国辉. PD-1/PD-L1 免疫治疗在肿瘤中的耐药机制和研究进展[J]. 药学学报, 2019, 54(10): 1728-1734.
- [6] 谢同济, 王守正, 邢锴元. 解析 PD-1/PD-L1 抑制剂分子结构差异与不良反应的相关性[J]. 中国肺癌杂志, 2020, 23(7): 603.
- [7] Wartewig, T., Kurgis, Z., Keppler, S., et al. (2017) PD-1 Is a Haploinsufficient Suppressor of T Cell Lymphomagenesis. *Nature*, **552**, 121-125. <https://doi.org/10.1038/nature24649>
- [8] Blass, E. and Ott, P.A. (2021) Advances in the Development of Personalized Neoantigen-Based Therapeutic Cancer Vaccines. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **18**, 215-229.
- [9] Carreno, B.M., Magrini, V., Becker-Hapak, M., et al. (2015) A Dendritic Cell Vaccine Increases the Breadth and Diversity of Melanoma Neoantigen-Specific T Cells. *Science*, **348**, 803-808. <https://doi.org/10.1126/science.aaa3828>
- [10] Rahman, M.M. and McFadden, G. (2020) Oncolytic Virotherapy with Myxoma Virus. *Journal of Clinical Medicine*, **9**, 171. <https://doi.org/10.3390/jcm9010171>
- [11] Joyce, P., Young, L., Quibell, M., et al. (2020) 446 Immunoepitome Changes Mediated by a Novel ERAP1 Inhibitor Leads to Tumor Growth Inhibition. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **8**, A472. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-SITC2020.0446>
- [12] Liu, X., Bao, X., Hu, M., et al. (2020) Inhibition of PCSK9 Potentiates Immune Checkpoint Therapy for Cancer. *Nature*, **588**, 693-698. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2911-7>
- [13] Zhang, J., Endres, S. and Kobold, S. (2019) Enhancing Tumor T Cell Infiltration to Enable Cancer Immunotherapy. *Immunotherapy*, **11**, 201-213. <https://doi.org/10.2217/imt-2018-0111>
- [14] Peng, D., Kryczek, I., Nagarsheth, N., et al. (2015) Epigenetic Silencing of TH 1-Type Chemokines Shapes Tumour

- Immunity and Immunotherapy. *Nature*, **527**, 249-253. <https://doi.org/10.1038/nature15520>
- [15] Nagarsheth, N., Peng, D., Kryczek, I., *et al.* (2016) PRC2 Epigenetically Silences Th1-Type Chemokines to Suppress Effector T-Cell Trafficking in Colon Cancer. *Cancer Research*, **76**, 275-282. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-1938>
- [16] Topper, M.J., Vaz, M., Chiappinelli, K.B., *et al.* (2017) Epigenetic Therapy Ties MYC Depletion to Reversing Immune Evasion and Treating Lung Cancer. *Cell*, **171**, 1284-1300.e21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.10.022>
- [17] Mortezaee, K. (2020) CXCL12/CXCR4 Axis in the Microenvironment of Solid Tumors: A Critical Mediator of Metastasis. *Life Sciences*, **249**, Article ID: 117534. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117534>
- [18] Tauriello, D.V.F., Palomo-Ponce, S., Stork, D., *et al.* (2018) TGF β Drives Immune Evasion in Genetically Reconstituted Colon Cancer Metastasis. *Nature*, **554**, 538-543. <https://doi.org/10.1038/nature25492>
- [19] Mariathasan, S., Turley, S.J., Nickles, D., *et al.* (2018) TGF β Attenuates Tumour Response to PD-L1 Blockade by Contributing to Exclusion of T Cells. *Nature*, **554**, 544-548. <https://doi.org/10.1038/nature25501>
- [20] Kim, H.S., Ahn, J.H., Kim, J.E., *et al.* (2020) A Phase I Study of TGF- β Inhibitor, Vactosertib in Combination with Imatinib in Patients with Advanced Desmoid Tumor (Aggressive Fibromatosis). *Journal of Clinical Oncology*, **38**, 11557. https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.11557
- [21] Huang, Y., Goel, S., Duda, D.G., *et al.* (2013) Vascular Normalization as an Emerging Strategy to Enhance Cancer Immunotherapy. *Cancer Research*, **73**, 2943-2948. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-4354>
- [22] Finn, R.S., Qin, S., Ikeda, M., *et al.* (2020) Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *New England Journal of Medicine*, **382**, 1894-1905. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1915745>
- [23] 万萍, 陈昊, 白爱平. 腺苷的免疫调节功能[J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(17): 2379-2384.
- [24] Allard, B., Pommey, S., Smyth, M.J., *et al.* (2013) Targeting CD73 Enhances the Antitumor Activity of Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 mAbs. *Clinical Cancer Research*, **19**, 5626-5635. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0545>
- [25] Koyas, A., Tucer, S., Kayhan, M., *et al.* (2021) Interleukin-7 Protects CD8+ T Cells from Adenosine-Mediated Immunosuppression. *Science Signaling*, **14**, eabb1269. <https://doi.org/10.1126/scisignal.abb1269>
- [26] Morello, A., Durand, J., Thepenier, V., *et al.* (2020) Abstract 910: A Novel Bifunctional anti-PD-1 IL-7 Fusion Protein to Reinvigorate Exhausted T Cell and Disarms Treg Suppressive Activity. *Proceedings: AACR Annual Meeting 2020*, Philadelphia, 27-28 April 2020 and 22-24 June 2020.
- [27] Webb, M.W., Sun, J., Sheard, M.A., *et al.* (2018) Colony Stimulating Factor 1 Receptor Blockade Improves the Efficacy of Chemotherapy against Human Neuroblastoma in the Absence of T Lymphocytes. *International Journal of Cancer*, **143**, 1483-1493. <https://doi.org/10.1002/ijc.31532>
- [28] Wei, Z., Zhang, X., Yong, T., *et al.* (2021) Boosting Anti-PD-1 Therapy with Metformin-Loaded Macrophage-Derived Microparticles. *Nature Communications*, **12**, 1-20. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20723-x>
- [29] Cai, J., Wang, D., Zhang, G., *et al.* (2019) The Role of PD-1/PD-L1 Axis in Treg Development and Function: Implications for Cancer Immunotherapy. *OncoTargets and Therapy*, **12**, 8437. <https://doi.org/10.2147/OTT.S221340>
- [30] Sakaguchi, S., Miyara, M., Costantino, C.M., *et al.* (2010) FOXP3+ Regulatory T Cells in the Human Immune System. *Nature Reviews Immunology*, **10**, 490-500. <https://doi.org/10.1038/nri2785>
- [31] Aksoylar, H.I. and Boussiotis, V.A. (2020) PD-1+ Treg Cells: A Foe in Cancer Immunotherapy? *Nature Immunology*, **21**, 1311-1312. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0801-7>
- [32] Solomon, I., Amann, M., Goubier, A., *et al.* (2020) CD25-Treg-Depleting Antibodies Preserving IL-2 Signaling on Effector T Cells Enhance Effector Activation and Antitumor Immunity. *Nature Cancer*, **1**, 1153-1166. <https://doi.org/10.1038/s43018-020-00133-0>
- [33] Wang, H., Franco, F. and Ho, P.C. (2017) Metabolic Regulation of Tregs in Cancer: Opportunities for Immunotherapy. *Trends in Cancer*, **3**, 583-592. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2017.06.005>
- [34] Watson, M.L.J., Vignali, P.D.A., Mullett, S.J., *et al.* (2021) Metabolic Support of Tumour-Infiltrating Regulatory T Cells by Lactic Acid. *Nature*, **591**, 645-651.
- [35] Wang, H., Franco, F., Tsui, Y.C., *et al.* (2020) CD36-Mediated Metabolic Adaptation Supports Regulatory T Cell Survival and Function in Tumors. *Nature Immunology*, **21**, 298-308. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0589-5>
- [36] Du, X., Tang, F., Liu, M., *et al.* (2018) A Reappraisal of CTLA-4 Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy. *Cell Research*, **28**, 416-432. <https://doi.org/10.1038/s41422-018-0011-0>
- [37] Rotte, A. (2019) Combination of CTLA-4 and PD-1 Blockers for Treatment of Cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **38**, 255. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1259-z>
- [38] Long, L., Zhang, X., Chen, F., *et al.* (2018) The Promising Immune Checkpoint LAG-3: From Tumor Microenvironment to Cancer Immunotherapy. *Genes & Cancer*, **9**, 176. <https://doi.org/10.18632/genesandcancer.180>

- [39] Das, M., Zhu, C. and Kuchroo, V.K. (2017) Tim-3 and Its Role in Regulating Anti-Tumor Immunity. *Immunological Reviews*, **276**, 97-111. <https://doi.org/10.1111/imir.12520>
- [40] Kuang, Z., Li, L., Zhang, P., et al. (2020) A Novel Antibody Targeting TIM-3 Resulting in Receptor Internalization for Cancer Immunotherapy. *Antibody Therapeutics*, **3**, 227-236. <https://doi.org/10.1093/abt/tbaa022>
- [41] Manieri, N.A., Chiang, E.Y. and Grogan, J.L. (2017) TIGIT: A Key Inhibitor of the Cancer Immunity Cycle. *Trends in Immunology*, **38**, 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.10.002>
- [42] Hung, A.L., Maxwell, R., Theodoros, D., et al. (2018) TIGIT and PD-1 Dual Checkpoint Blockade Enhances Antitumor Immunity and Survival in GBM. *Oncoimmunology*, **7**, e1466769. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1466769>
- [43] Garber, K. (2020) Immune Agonist Antibodies Face Critical Test. *Nature Reviews Drug Discovery*, **19**, 3-5. <https://doi.org/10.1038/d41573-019-00214-5>
- [44] Zheng, L., Judkins, C., Hoare, J., et al. (2020) 812 Urelumab (Anti-CD137 Agonist) in Combination with Vaccine and Nivolumab Treatments Is Safe and Associated with Pathologic Response as Neoadjuvant and Adjuvant Therapy for Resectable Pancreatic Cancer. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, **8**, A486-A487. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-SITC2020.0812>
- [45] Woroniecka, K.I., Rhodin, K.E., Dechant, C., et al. (2020) 4-1BB Agonism Averts TIL Exhaustion and Licenses PD-1 Blockade in Glioblastoma and Other Intracranial Cancers. *Clinical Cancer Research*, **26**, 1349-1358. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1068>
- [46] Messenheimer, D.J., et al. (2017) Timing of PD-1 Blockade Is Critical to Effective Combination Immunotherapy with Anti-OX₄₀. *Clinical Cancer Research*, **23**, 6165-6177.
- [47] Rahimi Kalateh Shah Mohammad, G., Ghahremanloo, A., Soltani, A., et al. (2020) Cytokines as Potential Combination Agents with PD-1/PD-L1 Blockade for Cancer Treatment. *Journal of Cellular Physiology*, **235**, 5449-5460. <https://doi.org/10.1002/jcp.29491>
- [48] Mullard, A. (2021) Restoring IL-2 to Its Cancer Immunotherapy Glory. *Nature Reviews Drug Discovery*, **20**, 163-165. <https://doi.org/10.1038/d41573-021-00034-6>
- [49] 郭寒菲, 白日兰, 崔久崑. 肺癌免疫检查点抑制剂的联合治疗研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2020, 23(2): 101.
- [50] Knudson, K.M., Hicks, K.C., Alter, S., et al. (2019) Mechanisms Involved in IL-15 Superagonist Enhancement of Anti-PD-L1 Therapy. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, **7**, Article No. 82. <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0551-y>
- [51] Li, Y., Cong, Y., Jia, M., et al. (2021) Targeting IL-21 to Tumor-Reactive T Cells Enhances Memory T Cell Responses and Anti-PD-1 Antibody Therapy. *Nature Communications*, **12**, 951. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21241-0>
- [52] Chew, G.M., Fujita, T., Webb, G.M., et al. (2016) TIGIT Marks Exhausted T Cells, Correlates with Disease Progression, and Serves as a Target for Immune Restoration in HIV and SIV Infection. *PLoS Pathogens*, **12**, e1005349.
- [53] Baruch, K., Deczkowska, A., Rosenzweig, N., et al. (2016) PD-1 Immune Checkpoint Blockade Reduces Pathology and Improves Memory in Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Nature Medicine*, **22**, 135-137. <https://doi.org/10.1038/nm.4022>
- [54] Verma, V., Shrimali, R.K., Ahmad, S., et al. (2019) PD-1 Blockade in Subprimed CD8 Cells Induces Dysfunctional PD-1+ CD38 HI Cells and Anti-PD-1 Resistance. *Nature Immunology*, **20**, 1231-1243. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0441-y>
- [55] Wang, X., Yang, X., Zhang, C., et al. (2020) Tumor Cell-Intrinsic PD-1 Receptor Is a Tumor Suppressor and Mediates Resistance to PD-1 Blockade Therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **117**, 6640-6650. <https://doi.org/10.1073/pnas.1921445117>
- [56] Hayashi, H. and Nakagawa, K. (2020) Combination Therapy with PD-1 or PD-L1 Inhibitors for Cancer. *International Journal of Clinical Oncology*, **25**, 818-830. <https://doi.org/10.1007/s10147-019-01548-1>
- [57] Boutros, C., Tarhini, A., Routier, E., et al. (2016) Safety Profiles of Anti-CTLA-4 and Anti-PD-1 Antibodies Alone and in Combination. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **13**, 473. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.58>
- [58] Gainor, J.F., Shaw, A.T., Sequist, L.V., et al. (2016) EGFR Mutations and ALK Rearrangements Are Associated with Low Response Rates to PD-1 Pathway Blockade in Non-Small Cell Lung Cancer: A Retrospective Analysis. *Clinical Cancer Research*, **22**, 4585-4593. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-3101>
- [59] Oshima, Y., Tanimoto, T., Yuji, K., et al. (2018) EGFR-TKI-Associated Interstitial Pneumonitis in Nivolumab-Treated Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncology*, **4**, 1112-1115. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.4526>
- [60] Perez-Ruiz, E., Minute, L., Otano, I., et al. (2019) Prophylactic TNF Blockade Uncouples Efficacy and Toxicity in Dual CTLA-4 and PD-1 Immunotherapy. *Nature*, **569**, 428-432. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1162-y>