

Volume 2 / Number 7 / June / 2019



肿瘤标志物通讯

TUMORBIOMARKER COMMUNICATIONS

广西抗癌协会肿瘤标志专业委员会专刊

创新 · 转化 · 合作 · 共享

2019年第七期
(总期第9期)



www.tumorbiomarker.com

中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会

本期主编 余红平



- 广西医科大学附属肿瘤医院副院长，博士生导师
- 广西肿瘤防治研究所副所长
- 全国卫生产业企业管理协会肿瘤预防与治疗康复副会长
- 中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会常务委员
- 中国抗癌协会肿瘤科普防治专业委员会常务委员
- 中国医药教育协会健康管理专业委员会常务委员
- 中国临床肿瘤学会肿瘤大数据专家委员会委员
- 广西抗癌协会第七届理事会副理事长
- 广西抗癌协会肿瘤标志委员会主任委员
- 广西抗癌协会肿瘤精准治疗专业委员会副主任委员
- 广西医师协会临床流行病学与循证医学副主任委员
- 《中国癌症防治杂志》常务编委
- 《应用预防医学》杂志副主编

卷首语

“毕竟西湖六月中，风光不与四时同”，经过各位专家和工作人员的辛勤耕作，我们在这阳光明媚的初夏迎来了第九期《肿瘤标志物通讯》。

本着促进肿瘤标志物领域信息即时互通与传递的目的，经余红平教授、邓伟教授、张力图教授、于起涛教授、岑洪教授、周韶璋教授等专家的精心遴选，本期《肿瘤标志物通讯》从基础理论、创新技术、临床应用、产业发展、免疫治疗这五个方面，对肿瘤标志物领域的最新进展进行了汇总凝练和精彩点评，内容涵盖了采用高通量的多位点基因编辑技术，对肿瘤转移的基因间相互作用进行系统研究的应用；肠道微生物群作为早期癌症靶向性无创生物标志物的前景分析；外泌体技术在肿瘤等疾病的基础研究、转化应用和诊断治疗中的潜力；肿瘤精确免疫治疗和联合免疫治疗在抗肿瘤治疗中的地位以及CAR-T治疗的历史、现状和未来走向等最新、最前沿、最实用的科技信息，在此分享给专委会的广大会员。

希望本期《通讯》能为读者带来全新的阅读体验。愿《肿瘤标志物通讯》越办越好！

目次

一 基础理论篇 01

- 1 *Nature Methods*: 陈斯迪组开发可在体内大规模研究基因互作新方法-----02
- 2 *Nature*: 数万个意外变异? 今日《自然》发现单碱基编辑会造成RNA脱靶突变-----03
- 3 *Nature*: 肿瘤肝脏转移的分子机制-----04
- 4 *Nature* 子刊: p53研究风云再起, 顾伟团队发现p53诱导细胞铁死亡的必需基因和分子机制-----06
- 5 *Nature*: 发现p38 γ 是肝癌的一个新的治疗靶标-----08

二 技术创新篇 09

- 1 *Gut*: 肠道微生物分析-肝癌早期诊断的利器-----10
- 2 *Nature* 子刊: 光标记肠道菌群, 提高粪便菌群移植治疗可行性-----12
- 3 *Cell* 重磅: 外泌体组成的重新评估-----14
- 4 *Cell*: 环形RNA在天然免疫过程中的重要功能-----16
- 5 *Cell*: 贝勒医学院最新研究! 利用肠道菌群发现早期癌症! -----18
- 6 The Impact of Intratumoral and Gastrointestinal Microbiota on Systemic Cancer Therapy-----20

三 临床应用篇 22

- 1 *Nature*重磅: TNF抑制剂, 既能提高免疫治疗效果还能降低副作用-----23
- 2 一箭双雕! 自身免疫标志物或可预测PD-1抑制剂的疗效和免疫相关不良事件-----24
- 3 原来你是这样的Opdivo[®]-----27
- 4 以下该文让我们重新认识PD-1抗体抑制剂-----28
- 5 *Cell* 子刊: PD-1抗体抗癌的真相, 我们理解错了! 麻省总医院科学家发现, 与PD-1抗体结合的T细胞只有收到DC细胞的指令才抗癌-----34

四 产业发展篇 37

- 1 改良的新型PD-1敲减anti-CD19 CAR-T细胞治疗让白血病母亲获得新生-----38
- 2 *NEJM*: CAR-T治疗的前世、今生和未来-----39
- 3 *NEJM*: 抗CD19 CAR-T治疗复发/难治弥漫大B细胞淋巴瘤II期临床研究数据-----41
- 4 CAR-T治疗淋巴瘤: 单点制备, 全球运送, 疗效有保障-----42
- 5 *Nature Medicine*: 北大朱军组报道安全有效的抗CD19 CAR-T细胞疗法-----44

五 免疫治疗专栏 45

- 1 免疫治疗超进展探因-----46
- 2 采用生物标志物预测结肠直肠癌患者是否适合接受免疫治疗-----47
- 3 *Cell*: 癌细胞“暗渡”PD-L1, 远程解除免疫系统的“武装”-----48
- 4 克隆性MET扩增决定EGFR突变非小细胞肺癌酪氨酸激酶抑制剂耐药-----50

六 身边的新闻 52

- 1 医学服务“一带一路”-----52

七 活动简讯 53

- 1 广西医科大学附属肿瘤医院承办2019中国肿瘤学大会主旨报告遴选暨肿瘤新进展研讨会取得圆满成功-----53
- 2 广西肿瘤标志物和肿瘤免疫治疗学术大会胜利召开-----54

八 广西医科大学附属肿瘤医院简介 56

基础理论篇



本期执行主编：邓伟

- 广西医科大学附属肿瘤医院主任医师
- 广西医科大学附属肿瘤医院遗传资料库负责人
- 中国抗癌协会肿瘤流行病学专业委员会委员
- 广西抗癌协会肿瘤标志专业委员会常务委员
- 广西抗癌协会肿瘤免疫治疗专业委员会常务委员

一 目次

- 1 *Nature Methods*: 陈斯迪组开发可在体内大规模研究基因互作新方法
- 2 *Nature*: 数万个意外变异? 今日《自然》发现单碱基编辑会造成RNA脱靶突变
- 3 *Nature*: 肿瘤肝脏转移的分子机制
- 4 *Nature*子刊: p53研究风云再起, 顾伟团队发现p53诱导细胞铁死亡的必需基因和分子机制
- 5 *Nature*: 发现p38 γ 是肝癌的一个新的治疗靶标

二 导语

CRISPR相关的基因编辑技术当之无愧是当今癌症研究中最热门的生物技术之一。本期精选*Nature*及其子刊近期发表的两篇文章, 均以CRISPR基因编辑为基本的技术手段, 或采用高通量的多位点基因编辑技术, 对肿瘤转移的基因间相互作用进行系统的研究; 或在探讨基因编辑存在意外脱靶效应和安全性等问题的同时, 提出切实可行的改良方案, 使该技术能更好地服务人类。此外, 在本期推荐的另外三篇文章中, 研究人员以独特的视角分别对肿瘤肝脏转移的分子机制、p53诱导细胞铁死亡的必需基因以及肝癌治疗的新靶标进行探索, 这些研究成果将为肿瘤基础研究向临床应用的转化奠定相关的理论基础。

Nature Methods:

陈斯迪组开发可在体内大规模研究基因互作新方法

肿瘤转移是一个复杂的过程，受到多基因的调控，也是实体瘤患者死亡的主要原因之一。目前系统性理解影响肿瘤转移的基因间相互作用仍是一个挑战。相比于Cas9系统，CRISPR-Cas12a (Cpf1) 不需要tracrRNA (trans-activating CRISPR RNA)，可同时在多位点进行基因编辑，因此在体内利用Cpf1分析基因互作具有潜在的优势。

来源：BioArt；广西医科大学附属肿瘤医院余红平教授推荐

【邓伟教授点评】该研究提出了一种在活体内大规模研究基因相互作用的新方法——MCAP，其利用CRISPR-Cas12a (Cpf1) 进行高通量的多位点基因编辑，对肿瘤转移的基因间相互作用进行系统的研究。该项新技术可以显著提高体内双基因敲除筛选的速度，为肿瘤三维基因组学研究提供新的手段。

2019年4月8日，耶鲁大学陈斯迪组在 *Nature Methods* 杂志上发表文章 *In vivo profiling of metastatic double knockouts through CRISPR-Cpf1 screens*，该研究发明了一种在活体内大规模研究基因相互作用的新方法 (MCAP)，利用此方法首次实现了体内高通量双基因敲除筛选，并且找到了一系列对癌症转移有直接因果关系的基因间相互作用。

MCAP 全称为 *massively parallel CRISPR-Cpf1/Cas12a crRNA array profiling*，即大规模 Cpf1/Cas12a crRNA 阵列筛选技术 (图1)。这是一项基于 Cpf1/Cas12a 酶的技术，研究人员通过设计合成并克隆一个约 77 万 4 千条 barcode 标记的基因双敲除 crRNA 阵列，分别针对接近 12 万个不同的双敲除 / 单敲除 / 无敲除对照特异性地靶向了 325 对癌症转移病灶中出现的基因组合。

接下来，研究人员使用慢病毒载体介导的感染，实现了大规模双基因突变筛选并直接应用于癌症转移这个生物学和病理学的重要问题。通过对小鼠肺癌细胞原位瘤和转移灶等一系列样品中整合的 crRNA 阵列的直接高通量测序，快速制作了大规模 crRNA 阵列定量图谱。通过对不同的双敲除-单敲除-无敲除对照 crRNA 阵列的定量分析、同基因对不同 crRNA 阵列的保守性分析、细胞-原位瘤-转移灶对比分析以及基因间协同作用定量分析，研究人员找到并验证了与肿瘤转移相关的重要的基因相互作用。

尽管本工作重点研究肺癌转移，但 MCAP 这项新技术也可以广泛用于其他细胞类型和其他方面的生物医学研究，抑或其他癌症种类和病例过程相关的基因间相互作用研究。该方法可以显著提高体内双基因敲除筛选的速度，为加速生物医学研发提供新的工具。

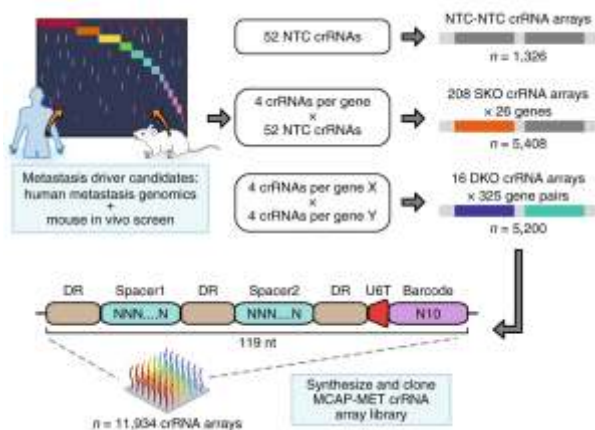


图1 MCAP示意图

参考文献:

Chow RD, Wang G, Ye L, et al. *In vivo profiling of metastatic double knockouts through CRISPR-Cpf1 screens*[J]. *Nat Methods*, 2019, 16(5):405-408.

Nature: 数万个意外变异?

今日《自然》发现单碱基编辑会造成RNA脱靶突变

CRISPR基因编辑技术自诞生以来,就一直是生物学家们的关注焦点。这不仅因为其编辑基因的便捷性,还在于其可能的脱靶效应及潜在的安全隐患。先前不少研究指出,CRISPR基因编辑技术带来的脱靶效应会造成大量意外突变,带来致癌等风险。但由于实验设计方面的缺陷,这些脱靶效应是否真实存在,在很长时间里都没有定论,也在过去几年里引来了学者们的多轮讨论……

来源:学术经纬;广西医科大学附属肿瘤医院邓伟主任医师推荐

【邓伟教授点评】大多数单碱基编辑突变效应的研究主要集中在DNA层面上,然而,近期研究发现这一技术也会诱导大量RNA的变异。这表明在考虑单碱基基因编辑的意外脱靶效应时,我们不能只考虑遗传物质上的变异。令人欣喜的是,该研究还进一步提出了一种单碱基编辑改良的方案,从而显著地减少这些意外的RNA变异。

今年2月,由中国科学家共同领衔的两支独立团队曾在顶尖学术期刊《科学》上背靠背发表两篇文章,为我们带来了最新的洞见^[1,2]。其中,斯坦福大学的Lars Steinmetz教授、中科院上海营养与健康研究所李亦学研究员、以及中科院神经科学研究所杨辉研究员领衔的联合团队表明,设计良好的CRISPR/Cas9基因编辑系统不会产生明显的脱靶效应,为关于这一系统脱靶率的争议划上了句号。但与此同时,这支联合团队,以及中科院遗传发育所高彩霞研究员课题组同时报道,一直以来被认为“更安全”的单碱基编辑系统,却会出现严重的脱靶效应,带来安全隐患。而今日在线发表于《自然》的这项研究则表明,单碱基编辑系统的脱靶效应比想象中还要严重——它不仅会带来DNA的脱靶突变,还会在RNA上带来大量变异^[3]。或许是由于其重要性,本研究得到了加速上线资格。

在展开介绍这项研究之前,我们先来了解一下“单碱基编辑系统(图1)”究竟是怎么回事。之前,科学家们开发了数种编辑器,在G/C碱基对与A/T碱基对之间做精准的相互转换。由于这种基因编辑技术不像CRISPR/Cas系统那样涉及DNA断裂,因此也被人们认为具有更高的安全性。然而,这一猜想并没有得到上述两篇《科学》论文的支持。相反,“最让我们震惊的是,以BE3为代表的单碱基编辑脱靶率竟然这么高,比自然突变高出了20倍之多。”杨辉研究员今年早些时候在接受《上观新闻》的采访^[4]时说道。

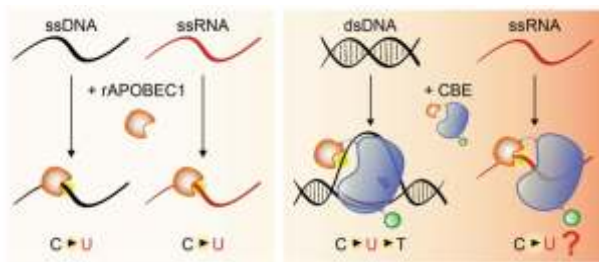


图1 常见单碱基编辑系统的简单示意图^[3]

而这一“单碱基编辑系统”中用到的一类关键的酶(由胞嘧啶转换为胸腺嘧啶),其最初更为人所知的功能是修饰RNA。这也让本研究的科学家团队开始调查,常见的单碱基编辑系统是否会诱导RNA的脱靶突变。在肝脏和胚胎肾脏细胞系中,研究人员发现,能够有效对DNA进行单碱基编辑的系统,会在全RNA转录组中引入数万个由胞嘧啶转换为尿嘧啶的变异。论文称,这涉及了38%~58%的表达基因。具体来看,这些变异可能会造成错义突变和无义突变,还会影响RNA的剪接位点和5'与3'端的非编码区域。在另一种靶向腺嘌呤的单碱基编辑系统中,研究人员也观察到了“类似的结果”。这些结果揭示了单碱基编辑所不为人知的全新风险。

不过研究人员也指出,单碱基编辑是一类极有潜力的基因编辑技术,这项研究的目的并不是为了泼上一盆冷水,而是为了让人们意识到在这项技术上,还有不少可以提高的空间。正如设计精良的CRISPR/Cas系统可以有效避免脱靶效应一样,迭代

优化的单碱基编辑系统也有望避免这些问题。在论文中，研究人员就提出了一种解决方案——他们对用于单碱基编辑的关键酶进行了筛选和改良，找到了两种在保持DNA编辑效力的同时，还可以减少RNA脱靶效应的酶。在人类细胞中，这两种改良的酶分别能将RNA意外变异率减少390倍和3 800倍。此外，研究人员还指出，这两种减少RNA脱靶效应的酶，在DNA编辑上的精准性也有所提升。

在论文摘要的最后，研究人员指出这些结果对于基础科研和临床应用都有很重要的价值。正视一项突破性技术所存在的问题，再辅以人类的智慧进行改良，最终将技术更好地服务于人类，这才是我们应有的理性精神。

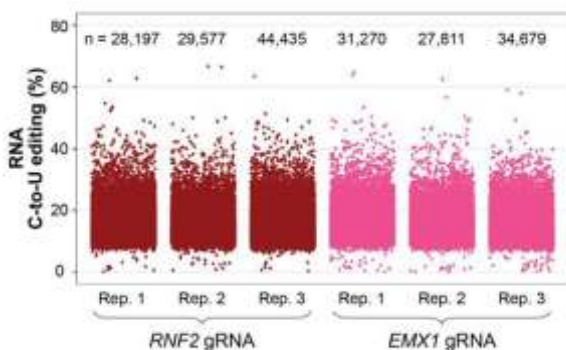


图2 研究人员发现，RNA转录组出现了大量意外变异^[1]

参考文献：

[1] Jin S, Zong Y, Gao Q, et al. Cytosine, but not adenine, base editors induce genome-wide off-target mutations in rice[J]. Science, 2019, 364(6437):292-295.

[2] Zuo E, Sun Y, Wei W, et al. Cytosine base editor generates substantial off-target single-nucleotide variants in mouse embryos. Science, 2019, 364(6437):289-292.

[3] Grünewald J, Zhou R, Garcia SP, et al. Transcriptome-wide off-target RNA editing induced by CRISPR-guided DNA base editors[J]. Nature, 2019, 569(7756):433-437.

[4] Zuo E, Sun Y, Wei W, et al. Cytosine base editor generates substantial off-target single-nucleotide variants in mouse embryos[J]. Science, 2019, 364(6437):289-292.

Nature：肿瘤肝脏转移的分子机制

基础理论篇

肿瘤转移是绝大部分肿瘤患者死亡的罪魁祸首。近年来发现，原位肿瘤在发生肝脏转移前会在肝脏内诱导形成一个有利于肿瘤细胞转移的微环境，但是调控这一过程的机制目前仍不清楚。最近研究表明，在胰腺肿瘤早期，肝脏内肝细胞的STAT3活化增强并产生更多分泌血清淀粉样蛋白A1和A2（serum amyloid A1 and A2, SAA），这主要依赖于原发肿瘤内非肿瘤细胞产生的IL-6。阻断IL-6-STAT3-SAA信号通路可阻止肿瘤转移前微环境的形成，进而抑制肿瘤的肝脏转移。

来源：BioArt；广西医科大学附属肿瘤医院周先果博士推荐

【邓伟教授点评】 该研究揭示肝细胞内IL-6-STAT3-SAA信号调控网络是肝内肿瘤预转移形成的基础，靶向这一信号通路有望能抑制肿瘤的肝脏转移，并为相关药物的研发提供理论依据。

肿瘤转移是绝大部分肿瘤患者死亡的最直接原因,是制约肿瘤治疗效果和预后的最大障碍。早在1889年, Paget就提出种子(肿瘤)-土壤(靶器官)学说,认为不同组织器官对同一肿瘤转移机会不均等^[1]。2005年Kaplan等首次提出“肿瘤转移前微环境(pre-metastatic niche)”的概念,发现骨髓来源的VEGFR⁺VLA-4⁺造血祖细胞到达靶器官后,与靶器官内固有的成纤维细胞上的VLA-4配体fibronectin相互作用,形成肿瘤转移前微环境^[2]。随后,一系列研究发现原发性肿瘤细胞通过释放可溶性因子、microRNA、囊泡等促进靶器官内形成转移前微环境,进而促进肿瘤转移。肝脏是代谢的枢纽,也是肿瘤转移的靶器官之一。肿瘤在发生肝脏转移前会在肝脏内形成转移前微环境,但是调控这一过程的机制目前仍不清楚。

近日,美国宾夕法尼亚大学的研究团队在*Nature*杂志上发表了题为“Hepatocytes direct the formation of a pro-metastatic niche in the liver”的研究论文,报道了肿瘤肝脏转移的分子机制。文章指出在胰腺肿瘤早期,肝脏内肝细胞的STAT3活化增强并产生更多分泌血清淀粉样蛋白A1和A2(serum amyloid A1 and A2, SAA),而STAT3的活化和SAA分泌依赖于原发肿瘤内非肿瘤细胞产生的IL-6。阻断IL-6-STAT3-SAA信号通路可阻止肿瘤转移前微环境的建立,进而抑制肿瘤的肝脏转移。

在本项研究工作中,研究人员通过胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)小鼠模型(LSL-KrasG12D⁺; LSL-Trp53⁺ R127H⁺; Pdx1-cre (KPC))阐述肿瘤肝脏转移的机制。研究人员发现16周的KPC荷瘤小鼠的肝脏内骨髓细胞数量增加,伴随纤维连接蛋白和I型胶原的蓄积,骨髓细胞积聚和细胞外基质沉积是肿瘤转移前微环境的重要特征,揭示肝脏内转移微环境的形成。研究人员进一步将KPC来源的PDAC细胞注射至对照和KPC小鼠内,发现KPC小鼠肝脏内形成显著的转移瘤,揭示KPC小鼠对肿瘤转移性肝脏定植更加敏感。

研究人员进一步通过RNAseq分析KPC和对照小鼠肝脏内基因表达情况,发现KPC小鼠肝脏SAA和S100家族基因表达均显著增强,IL-6-JAK-STAT3信号通路富集。免疫荧光染色验证发现,KPC小鼠肝脏内约80%~90%的肝细胞中STAT3发生磷酸化,而对照组肝细胞内STAT3磷酸化低于2%。作者进而建立肝细胞特异性敲除Stat3的小鼠模型(Stat3flox/flox Alb-cre)并接种肿瘤,发现Stat3flox/flox Alb-cre小鼠肝脏内肿瘤转移前微环境和肿瘤的定植被阻断,表明肝细胞内STAT3的活化对肝脏内形成肿瘤转移前微环境起重要作用。

IL-6是肝细胞中STAT3信号通路的基础^[3]。为验证IL-6对肝细胞内STAT3信号通路的影响,作者原位接种PDAC细胞至Il6^{-/-}小鼠内,发现荷瘤Il6^{-/-}小鼠肝细胞内STAT3活化降低,伴随着骨髓细胞聚集、细

胞外基质蓄积的减少和SAA的表达的降低,但不影响原发肿瘤的生长、增殖和血管密度。且Il6^{-/-}小鼠对肿瘤转移性肝脏定植的易感性也显著低于对照组。此外,通过IL-6R抗体阻断IL-6信号通路,也可显著抑制肝脏内形成肿瘤转移前微环境。值得注意的是,作者发现IL-6主要来源于原发肿瘤内的基质细胞而非肿瘤细胞本身。以上结果表明,来自于原发肿瘤内非肿瘤细胞产生的IL-6是肝细胞STAT3信号通路的重要调控者。

SAA蛋白是急性期反应物。与荷瘤小鼠体内循环SAA水平升高一致,PDAC病人体内循环SAA水平也升高,而且7例病人中有5例病人肝细胞内SAA和pSTAT3升高并伴随着肿瘤的肝脏转移。患者生存分析发现:体内循环SAA浓度越高,病人预后越差。此外,非小细胞肺癌和结直肠癌肝转移患者体内均检测到高水平循环SAA。而Saa^{-/-}(Saa1^{-/-} Saa2^{-/-}双敲除)敲除小鼠可阻断肝脏内形成肿瘤转移前微环境但不影响原发肿瘤的生长,以上结果表明IL-6介导的肿瘤转移前微环境的形成依赖于SAA。

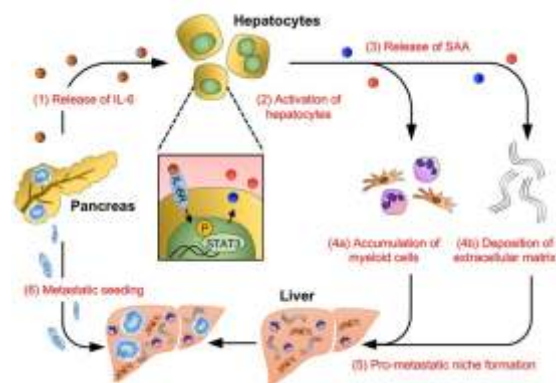


图1 肝内预转移巢形成的概念模型

综合以上结果,这项工作发现原发肿瘤微环境内产生的IL-6激活肝细胞中STAT3,增加循环SAA的浓度,进而改变肝脏内免疫和基质微环境,建立肿瘤转移前微环境(图1)。此研究发现肝细胞内IL-6-STAT3-SAA信号调控网络是肿瘤转移前微环境形成的基础,靶向肝细胞内这一信号通路可能会预防肿瘤患者的肝脏转移。

参考文献:

- [1] Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1989, 8(2):98-101.
- [2] Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche[J]. *Nature*, 2005, 438(7069):820-827.
- [3] Schmidt-Arras D, Rose-John, S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy[J]. *J Hepatol*, 2016, 64(6):1403-1415.

Nature子刊：p53研究风云再起， 顾伟团队发现p53诱导细胞铁死亡的必需基因和分子机制

铁死亡(ferroptosis)是近几年发现的一种新的细胞死亡方式。它与帕金森综合征、胰腺癌等多种疾病相关，通过激活或抑制铁死亡可以干预疾病的发展。p53基因是最早发现的抑癌基因，p53基因主要通过诱导细胞周期停滞、诱导细胞凋亡等方式抑制癌症。最近，哥伦比亚大学顾伟教授团队研究发现，ALOX12基因是p53介导的通过铁死亡抑制肿瘤进展所必须的。同时，揭示了p53诱导铁死亡的分子机制，为通过铁死亡来干预疾病的研究奠定了基础。这项研究成果发表于Nature子刊 *Nature Cell Biology* 杂志。

来源：iNature；广西医科大学附属肿瘤医院周先果博士推荐

【邓伟教授点评】 细胞铁死亡是最近几年才被发现的一种细胞死亡方式，也当前的研究热点之一。目前研究已表明，铁死亡在肿瘤发生发展中起重要作用，但相关机制尚不清楚。因此，深入研究铁死亡的作用机理，研究其在癌症中的作用，对肿瘤治疗靶点的寻找和靶向药物的研发具有重要意义。

铁死亡(ferroptosis)是在小分子物质诱导下发生的氧化性细胞死亡形式，具有铁离子依赖性。由细胞内脂质活性氧(ROS)生成与降解的平衡失调所致。铁死亡与帕金森综合征、胰腺癌、糖尿病并发症、肾功能衰竭、心脑血管疾病等多种疾病相关，并发现可以通过激活或抑制铁死亡来干预疾病的发展，因此铁死亡成为近年来的研究热点。铁死亡受到细胞内信号通路的严密调控，铁死亡主要由谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)调控，一旦GPX4异常，就会导致细胞抗氧化能力降低、ROS堆积、最终引起细胞铁死亡(图1)。

2019年4月8日，哥伦比亚大学顾伟教授团队在Nature子刊 *Nature Cell Biology* 杂志发表了题为“ALOX12 is required for p53-mediated tumour suppression through a distinct ferroptosis pathway”的研究论文。他们的研究表明，p53的激活会促进细胞铁死亡，然而，令人惊讶的是，p53激活对GPX4功能没有明显影响。这说明，p53并非通过GPX4来诱导铁死亡。细胞中的细胞脂质过氧化物的水平除了由GPX4调控外，还可以通过脂氧合酶调控。哺乳动物脂氧合酶家族由(ALOXE3、ALOX5、ALOX12、ALOX12B、ALOX15和ALOX15B)组成。作者通过RNA干扰(RNAi)介导的功能丧失筛选，确定确定这些脂氧合酶是否是p53介导的铁死亡所必需的。定量PCR分析证实，六种脂氧合酶的每一种的表达均通过RNAi介导的敲低而单独降低。通过RNAi敲低了ALOX12的表达，铁死亡被显著且特异性地阻断，其他五种脂氧合酶中的任何一种都没有。蛋白质免疫印迹分析显示ALOX12消耗对p53水平或p53介导的胱氨酸/谷氨酸转运蛋白SLC7A11的下调没有影响。通过CRISPR/Cas9敲除ALOX12，细胞的铁死亡也被抑制了，这些研究表明，ALOX12是p53介

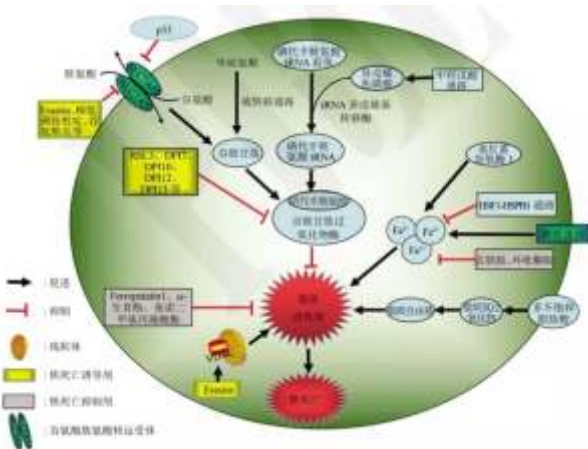


图1 铁死亡的机制

导的铁死亡所必须的。进一步研究表明，ALOX12失活减少了由活性氧应激诱导的p53介导的细胞凋亡，并且在异种移植肿瘤模型中消除了p53对肿瘤生长的抑制。

ALOX12基因位于人类染色体17p13.1上，这是人类癌症中单等位基因缺失的热点。一个ALOX12等位基因的丢失足以加速E μ -Myc淋巴瘤模型中的肿瘤发生。此外，来自人类癌症的ALOX12错义突变消除了其对多不饱和脂肪酸氧合能力，并诱导p53介导的铁死亡。进一步表明ALOX12对p53介导的铁死亡至关重要。作者还发现，ALOX12对于由小分子抑制剂erastin或GPX4抑制剂诱导的铁死亡是不必要的。相反，ACSL4是GPX4抑制剂诱导铁死亡所必需的，但对于p53介导的铁死亡是不必要的。虽然许多研究表明GPX4抑制作为诱导细胞凋亡的中心节点，但该研究数据确定了p53诱导铁死亡的独特机制。该研究发现并证实了p53能够通过抑制SLC7A11的转录来间接激活ALOX12功能，从而导致ROS应激后ALOX12依赖性的铁死亡（图2）。

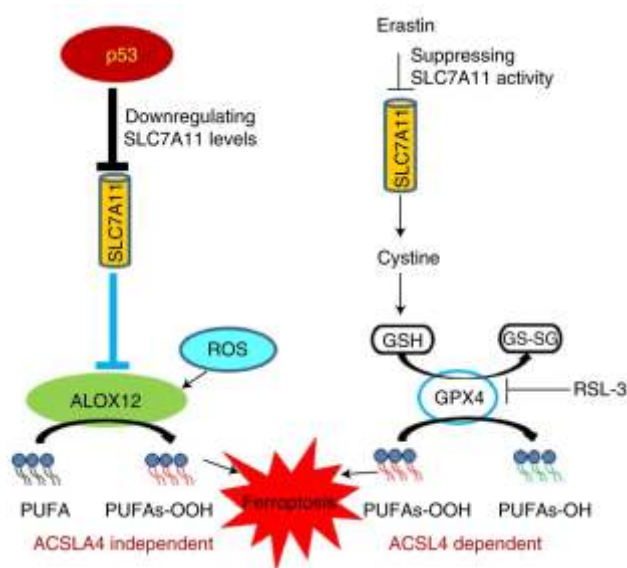


图2 ALOX12在多个肿瘤细胞系中参与调节p53介导的铁死亡

总的来说，该论文发现并证实了ALOX12基因是p53介导的通过铁死亡抑制肿瘤进展所必须的。从而揭示了p53诱导铁死亡的分子机制，也为通过铁死亡来干预疾病的研究奠定了基础。

参考文献：Chu B, Kon N, Chen D, et al. ALOX12 is required for p53-mediated tumour suppression through a distinct ferroptosis pathway[J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(5):579-591.



Nature: 发现p38 γ 是肝癌的一个新的治疗靶标

当前，肝癌几乎没有可用的治疗选择。一种参与细胞应激反应的酶可能成为治疗肝癌的新型药物靶点。在一项新的研究中，西班牙国立心血管病研究中心（CNIC）的Guadalupe Sabio及其团队发现作为p38激酶的四种类型之一的p38 γ 蛋白对肝细胞的细胞分裂起始至关重要。这项研究成果发表于*Nature*。

来源：生物谷；广西医科大学附属肿瘤医院余红平教授推荐

【邓伟教授点评】 细胞周期是一个严格调节的过程，由保守的细胞周期蛋白依赖性激酶（CDK）-环蛋白复合物1控制。然而，对G0至G1转变的控制尚不完全清楚。该研究表明p38 γ 与CDK家族成员具有高度序列同源性、抑制敏感性和底物特异性；p38 γ 可以充当CDK样激酶，并与CDK协同作用，调节进入细胞周期。因此，p38 γ 可能是肝癌治疗的一个新靶标，希望今后能针对这一靶标开发出相应的靶向药物并用于肝癌的治疗。

2017年西班牙国家癌症发病率数据显示，每年大约有5 862人检测到肝癌（4 252名男性和1 610名女性），这使得它成为男性中第七大最常见的癌症，女性中第十七大最常见的癌症。与欧盟的统计数据相一致的是，西班牙的男性肝癌发病率为12/100 000，西班牙的女性肝癌发病率为3.5/100 000。

Sabio对p38蛋白家族有着长期的兴趣，这些蛋白在遭受应激的细胞中被激活。如今，在这项新的研究中，她的研究团队证实p38 γ 在肝脏的细胞分裂起始中发挥着重要的作用。“p38激酶家族的四个成员是如此相似以至于它们起初似乎具有重叠或冗余的功能”，Sabio说，“但是，由于与西班牙赫罗纳大学的Silvia Osuna和西班牙国家肿瘤研究中心（CNIO）的研究人员的合作，对它们的三维结构的详细分析显示，这四个成员中的p38 γ 也与另一个称为CDK的蛋白家族有着密切的相似之处。众所周知，这些蛋白是细胞分裂和细胞周期的的调节因子，并且在癌症产生中发挥着重要的作用。”在研究与CDK的这种相似性的实验室研究中，这些研究人员发现CDK2抑制剂也降低了p38 γ 的活性。他们还发现p38 γ 和CDK2均作用于一种在调节细胞周期中起着重要作用的肿瘤抑制蛋白。

为了测试p38 γ 是否参与细胞分裂，论文第一作

者Antonia Tomás-Loba在缺乏这种酶的小鼠中研究了化学诱导肝癌的结果。“研究结果真的很有希望”，Tomás-Loba说，“在缺乏p38 γ 或用阻断它的活性的抑制剂进行治疗的小鼠中，肝细胞癌的产生减慢了。”Sabio说，这些结果“可能适用于人类肝癌患者”。确实，与西班牙萨拉曼卡大学的研究人员一起开展的研究表明p38 γ 的含量随着肝纤维化的产生而增加。肝纤维化先于肝癌出现，在肝癌患者中更多地产生。这些结果表明在未来，人们有可能利用特异性靶向p38 γ 的药物治疗这类癌症。靶向p38 γ 的优点在于这种酶似乎控制着应对应激的细胞周期起始，因此抑制这一过程将不会影响不断增殖的组织，比如肠内膜或毛囊。

参考文献：

Tomás-Loba A, Manieri E, González-Terán B, et al. p38 γ is essential for cell cycle progression and liver tumorigenesis[J]. *Nature*, 2019, 568(7753):557-560.

新技术篇

本期执行主编：张力图



- 广西医科大学附属肿瘤医院临床实验研究中心主任
- 广西医科大学附属肿瘤医院临床实验研究部主任、基础学科带头人
- 广西医科大学肿瘤医学院医学基础教研室主任
- 广西“新世纪十百千人才工程”第二层次人选
- 中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会委员
- 中国抗癌协会肿瘤病因专业委员会委员
- 中国医药生物技术协会医药生物技术科研实验室建设与管理分会委员
- 中国生物化学与分子生物学会临床应用分会医学实验室质量管理委员会常委
- 广西医师协会检验分会副主任委员
- 广西抗癌协会常务理事
- 广西抗癌协会肿瘤病理专业委员会副主任委员
- 《中国癌症防治杂志》编委

一 目 次

- 1 Gut: 肠道微生物分析-肝癌早期诊断的利器
- 2 Nature子刊: 光标记肠道菌群, 提高粪便菌群移植治疗可行性
- 3 Cell 重磅: 外泌体组成的重新评估
- 4 Cell: 环形RNA在天然免疫过程中的重要功能
- 5 Cell: 贝勒医学院最新研究! 利用肠道菌群发现早期癌症!
- 6 The Impact of Intratumoral and Gastrointestinal Microbiota on Systemic Cancer Therapy

二 导 语

肠道菌群在人体中参与人体免疫平衡、血管生成、代谢调控、调节生物钟及循环节律、药物代谢、骨髓间质干细胞衰老等多种生理作用。同时肠道微生物还从多维度深度介入肿瘤发生发展并能影响药物疗效。此外, 随着测序技术的发展, 肠道微生物群分析作为早期肝癌靶向性无创生物标志物的工具成为可能。本期精选近期发表的四篇文章, 均以肠道微生态分析为基本的技术手段, 或发现大肠杆菌可以帮助快速、廉价地鉴定DNA损伤蛋白质和人体细胞中的作用机制; 或成功构建了早期肝癌的肠道菌群诊断模型, 并实现了跨地域的独立验证, 说明该诊断模型在中国多地域人群中的普适性; 或创造出一个简单有效的方法来标记和跟踪移植的肠道微生物群、助力粪便移植疗法的临床应用; 又或者讨论了微生物群可能影响全身和抗肿瘤免疫的机制, 以及该领域的突出问题。此外, 在本期推荐的另三篇文章中, 研究人员以独特的视角聚焦外泌体技术在肿瘤研究中的应用, 揭示其在肿瘤等疾病的基础研究、转化应用和诊断治疗中的潜力。



Gut: 肠道微生物分析-肝癌早期诊断的利器

该研究是全球第一次临床大样本描述肝癌患者的肠道微生物特征、第一次报道了早期肝癌的肠道微生物标志物诊断模型的成功建立和跨区域验证。在浙江大学郑树森院士和李兰娟院士指导下，浙江大学、郑州大学和新疆医科大学协同创新，整合基因测序和大数据分析的最新技术，实现跨学科、跨中心、跨地区的交叉合作，成功构建了早期肝癌的肠道菌群诊断模型，并实现了跨地域的独立验证，说明该诊断模型在中国多地域人群中的普适性，取得了该项具有国际影响的重大研究成果：肠道微生物-靶向标记代表了一种有潜力的肝癌早期诊断的无创工具。

来源：奇点网；广西医科大学附属肿瘤医院李科志教授推荐

【李科志教授点评】随着测序技术的发展，肠道微生物群分析作为早期肝癌靶向性无创生物标志物的工具成为可能。上一篇文章阐述了大肠杆菌可以帮助快速、廉价地鉴定DNA损伤蛋白质和人体细胞中的作用机制并展望其临床应用前景。本文则具体的以我国多中心肝癌患者为研究对象，建立基于肠道微生态的肝癌早诊工具，为未来的肝癌无创早诊提供了强有力的新技术支持。

►► 研究背景

肝癌是世界范围内引起人类死亡的第三大癌种，主要原因是乙肝病毒的持续感染和乙肝病毒诱导的肝硬化。因为缺乏肝癌早期阶段的特异性症状和缺少早期诊断的标记物，大多数肝癌患者都是在晚期才被诊断出来，因而不能得到较好的治疗（死亡率比发生率为0.95）。所以，急需一种肝癌的新诊断标记物和新治疗策略以用于改善肝癌患者的预后水平。

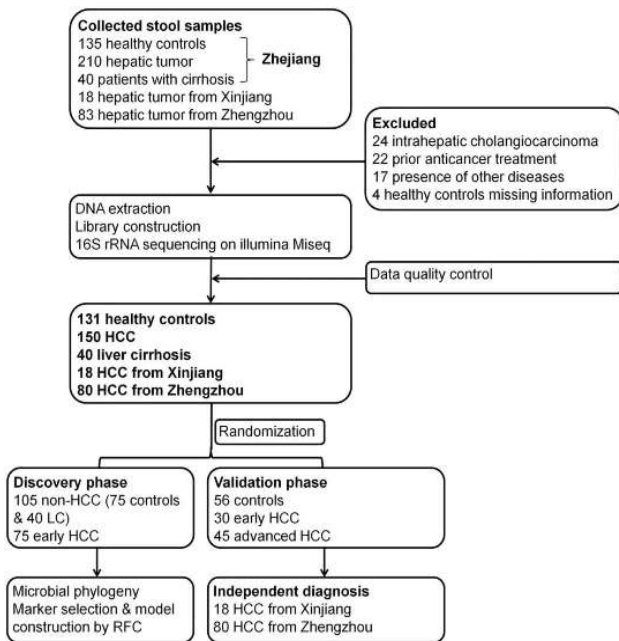
人类肠道微生物一直以来都是一个和人体共生的最重要的微生态系统。最近有关于动物模型的研究表明肠道微生物通过肠道-微生物-肝这一轴线促进了肝癌的发展。然而，直到现在，肝癌患者的肠道微生物特性还没被报道。

肠道微生物作为包括2型糖尿病，结直肠癌等特殊疾病或癌症的无创性诊断工具一直是个引入瞩目的研究领域，作者之前就基于98个肝硬化患者和83个健康对照的肠道微生物的15个基因生物标记物设立了精准患者鉴别指数，借助肠道微生物标记物实现了对

胰腺癌的有力分类。这提示了肠道微生物有作为无创诊断工具的可能。但是，肠道微生物对于肝癌的诊断潜力还不能得到准确评价，基于此，本文开展了研究。

►► 研究成果

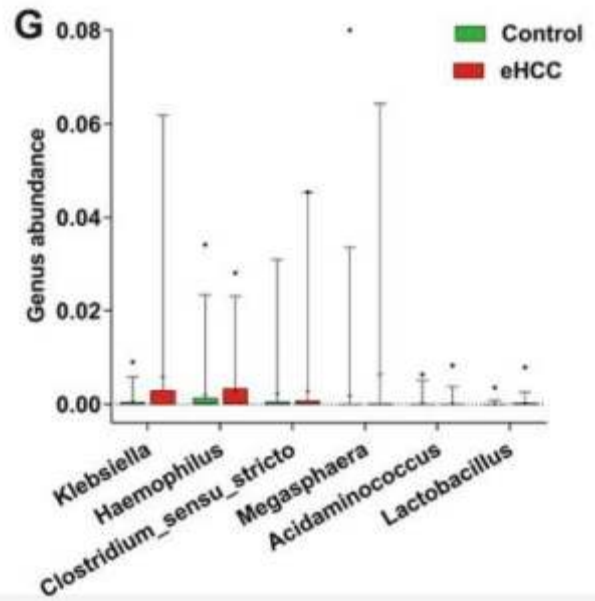
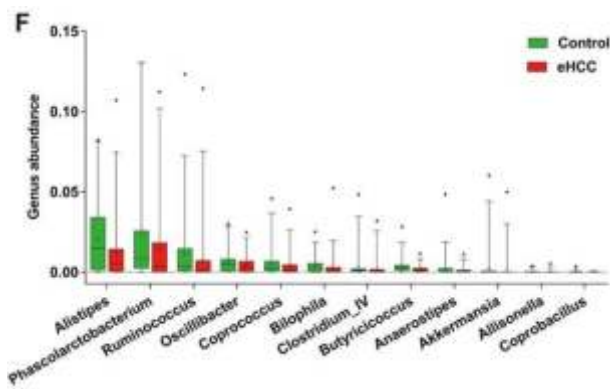
研究人员在华东、华中和西北地区共采集了486份粪便样本，经过对捐赠者进行严格的病理诊断和调查，最后纳入了浙江地区的150例肝癌患者，131例健康人对照和40例肝硬化患者，随机分成诊断模型构建队列和验证队列（构建队列组成包括75例早期肝癌患者，75例健康人和40例肝硬化患者；验证队列组成包括30例早期肝癌患者，45例晚期肝癌患者和56个健康人）。486份粪便样本中来自新疆的18例肝癌患者和来自郑州的80例肝癌患者被单独组成了另一组验证队列，用来检验这个早期诊断模型在跨地区患者群体中的效果。



研究人员对采集的486份粪便样本的筛选流程

研究人员发现，肝硬化患者的肠道微生物多样性与健康人相比显著降低，而早期肝癌患者相比肝硬化患者却是显著增加的。与肝硬化患者相比，早期肝癌患者的放线菌门细菌明显增加，而且，包括 Gemmiger、Parabacteroides 和 Paraprevotella 在内的13个属的细菌明显富集。

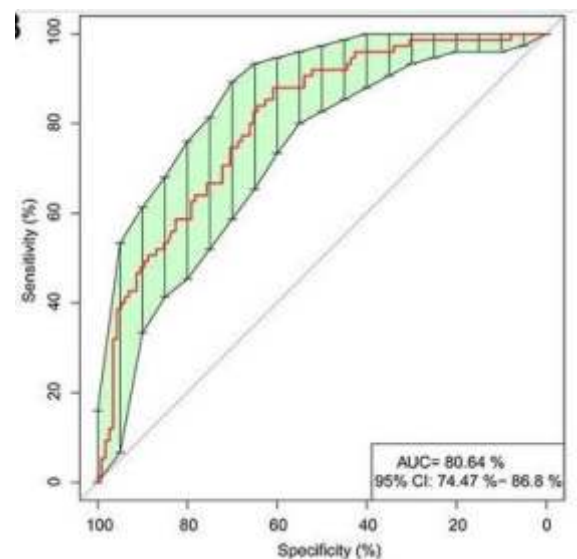
而与健康人相比，早期肝癌患者疣微菌门 (Verrucomicrobia) 细菌明显减少，从属的水平上来看，包括 Alistipes、考拉杆菌属 (Phascolarctobacterium) 和瘤胃球菌属 (Ruminococcus) 在内的12个属的细菌也明显减少了，与此同时，包括克雷伯氏菌属 (Klebsiella) 和嗜血菌属 (Haemophilus) 在内的6个属的细菌则增加了。



与健康人 (绿) 相比，早期肝癌患者 (红) 几个属的肠道微生物丰度的变化，F为减少的12个属，G为增加的6个属

通过比较，研究人员确定，肝硬化患者与早期肝癌患者，还有健康人与早期肝癌患者之间的肠道微生物组成确实差异很大。这样看来，使用肠道微生物特征来区分健康人与早期肝癌患者应该是可行的。

接下来，研究人员构建了一个用来诊断早期肝癌患者的随机森林 (random forest) 分类器模型。随机森林模型是一种比较新的机器学习模型，比经典的机器学习模型预测精度更高，而且没有显著增加运算量。



AUC值为80.64%，即红色曲线下面积 (绿色部位为95%置信区间)



模型构建成功之后就要进入验证阶段了。在和构建队列同属浙江地区的验证队列中，诊断模型区分健康人和早期肝癌患者的AUC值虽然略低于构建队列，但也达到了76.80%。为了表明诊断模型的特异性，研究人员还使用队列中的晚期肝癌患者的数据进行了验证，发现，在区分健康人与晚期肝癌患者时，AUC值为80.40%，说明这个诊断模型对晚期肝癌患者的诊断也是有效的。

最后，还有两个没上场的来自新疆和郑州的队列，在这两个与浙江遥遥相望的地区招募的队列中，预测模型还能有良好的预测效果吗？结果没有让研究人员失望，在新疆队列中，AUC值为79.20%，而郑州队列更是达到了81.70%。

文章总结

本文证明了大人群肝癌早期患者肠道微生物的特征性改变，明确了导致肝癌发展的候选关键微生物，

鉴定了特异性的微生物标记物并且验证了其在中国三个不同地区的3类人群的诊断效率。所以，作者建议把肠道微生物-靶向生物标记物作为肝癌早期患者的无创诊断工具。系统调查其中的关键菌属或者种类可能会进一步提高肠道微生物-靶向生物标记物对于肝癌的诊断价值，而微生物标记物和现在常见的诊断方法相结合对于肝癌患者的诊断是非常有帮助的。当然，对不同国家或者不同民族的更多人群进行肠道微生物-靶向生物标记物的验证研究会更有助于提高肝癌诊断的效率和稳定性，而这也是未来更早实现微生物标记物用于肝癌早期诊断和早期治疗所需要的。

参考文献：

Ren Z, Li A, Jiang J, et al. Gut microbiome analysis as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for early hepatocellular carcinoma[J]. Gut, 2019, 68(6):1014-1023.

Nature子刊：

光标记肠道菌群，提高粪便菌群移植治疗可行性

创新技术篇

在过去的十年中，我们对肠道微生物群的多种生理和病理功能的理解有了很大的飞跃。粪便微生物群移植（FMT）作为多种疾病的潜在疗法，包括艰难梭菌感染、炎症性肠病、肠易激综合征等等，这进一步促进了人们对肠道微生物群研究的兴趣。

目前，全世界已经完成或正在进行200多项FMT临床试验，但是，我们对移植细菌如何存活、定殖和功能仍然知之甚少。一个很重要的原因是缺乏可行的方法来跟踪移植的微生物并评估其生存能力。尽管可以通过宏基因组测序和生物信息学分析纵向研究移植的微生物群的存活和定殖，但是这些程序复杂且昂贵。因此亟需一个简单有效的方法来标记和跟踪这些移植的肠道微生物群。

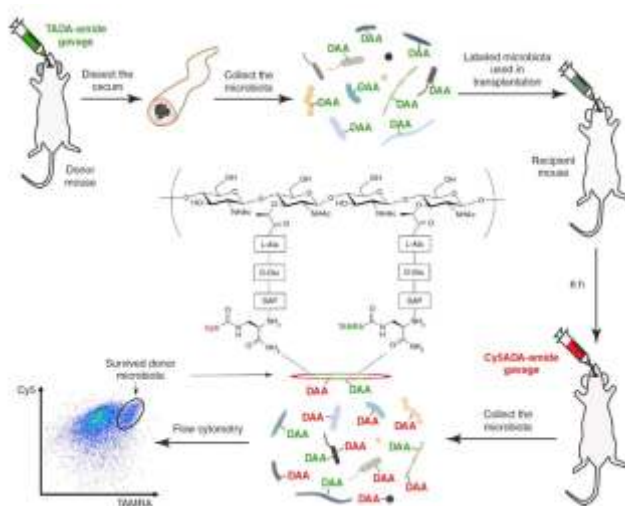
来源：BioWorld；广西医科大学附属肿瘤医院李科志教授推荐

【李科志教授点评】肠道微生物除了具有作为早期诊断标志物的潜力之外，还有直接通过粪便菌群移植进行临床治疗的作用。本研究开创性的提出了一个跟踪移植微生物群的新技术，此技术有望极大的促进粪便移植治疗法的研究和临床应用。

2019年3月21日，上海交通大学医学院附属仁济医院杨朝勇团队和北京大学陈兴合作，开发了基于荧光D-氨基酸（FDAA）的探针标记肠道微生物群，用于荧光跟踪和评估粪便移植微生物群的存活率。

这项研究通过荧光标记来实现移植的肠道微生物群的活力和代谢的可视化，对于促进粪便微生物群移植（FMT）的研究，和提高其临床治疗的功效有重要的促进作用。

这项研究以 Assessing the viability of transplanted gut microbiota by sequential tagging with D-amino acid-based metabolic probes 为题发表在最新一期的 *Nature Communications* 杂志上。

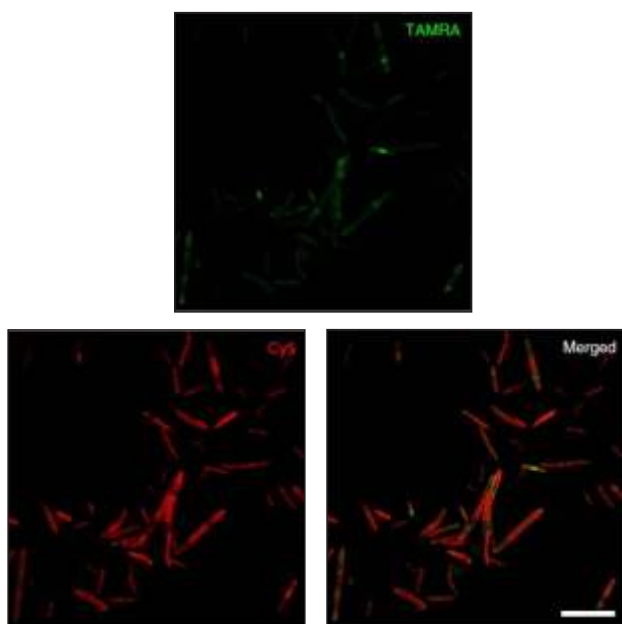


双色荧光标记移植肠道微生物群

肽聚糖 (peptidoglycans, PGN) 在大都数细菌中普遍存在, 已有研究表明, 荧光D-氨基酸 (FDAA) 可用于细菌PGN的代谢标记, 而且FDAA可以高效标记细菌且没有其他影响。

FDAA仅在活细菌中通过代谢掺入细菌PGN中, 从而标记细菌。在该研究中, 研究人员首先用一种颜色的FDAA (绿色) 标记供体小鼠的肠道微生物群。然后取出这些被标记的微生物群, 再移植到受体小鼠肠道内。

移植6小时后, 再通过另外一种颜色 (红色) 标记移植后小鼠的肠道微生物群, 这样, 只有移植后存活且有活性的微生物群含有两种FDAA荧光标记, 可以通过双色荧光显微镜或流式细胞仪很容易地检测。



被两种荧光标记的移植肠道微生物

目前, 全世界有超过200个FMT临床试验。然而, 我们对这种微生物疗法的了解仍然有限。

这项研究开发了一种新的策略, 使用基于D-氨基酸的代谢探针 (STAMP) 的顺序标记肠道微生物群, 通过可视化的荧光将移植的微生物群和受体原生的微生物群有效区分开, 从而有效监测移植微生物群的存活和代谢活动, 进而评估其生存能力。

研究人员还使用STAMP荧光探针揭示了肠道微生物的分裂模式, 显示了STAMP用于研究体内微生物学的潜力。

该研究进一步展示了STAMP在研究小鼠和人类粪便微生物的可行性, 表明这将会是一种有用的策略, 用于研究肠道微生物群, 破译粪便微生物群移植的复杂生物学行为, 并可能提高其治疗患者的疗效。

参考文献:

Wang W, Lin L, Du Y, et al. Assessing the viability of transplanted gut microbiota by sequential tagging with D-amino acid-based metabolic probes[J]. Nat Commun. 2019, 2019, 10(1):1317.



Cell 重磅：外泌体组成的重新评估

人们对外泌体的诊断和治疗潜力越来越感兴趣，但是对这些细胞外囊泡的确切描述仍然是未知的。针对这个问题，来自美国范德堡大学医学中心的Robert J. Coffey课题组在近期的Cell杂志上发表文章，根据严格的分离方法对外泌体进行了重新评估，挑战了这些细胞间通信载体的一些公认特性。

来源：外泌体之家；广西医科大学附属肿瘤医院宁淑芳教授推荐

【宁淑芳教授点评】近年来，外泌体在肿瘤等疾病的基础研究、转化应用和诊断治疗中展现出了巨大潜力。目前传统的外泌体分离方法还不能将外泌体与其他EVs（细胞外囊泡）亚群彻底分离。该研究对传统的外泌体分离方法进行改善，采用两步法，首先使用高分辨率密度梯度离心从小细胞外囊泡（sEVs）中分离出非囊泡部分，然后通过直接免疫亲和捕获（DIC）从其他类型的sEVs中分离出真正的经典外泌体。另外，该研究根据严格的分离方法对外泌体组成进行了重新评估，确定了蛋白质、RNA和DNA在小细胞外囊泡和非囊泡细胞外物质之间的差异分布，并确定小细胞外囊泡不是活跃的DNA释放载体，annexin A1是经典质膜形成的微泡的一个标志蛋白。

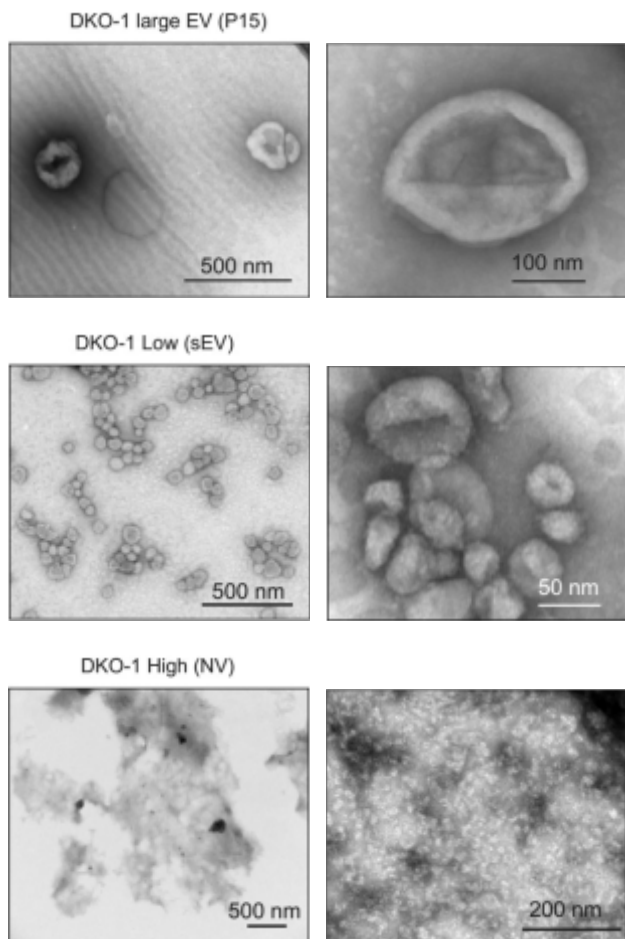
细胞释放不同大小、不同细胞内起源的胞外小泡（EVs）。EVs的异质性和非囊泡性细胞外纳米颗粒的存在对我们理解不同分泌成分的组成和功能特性构成了主要障碍。更精确地了解RNA、DNA和蛋白质所在的正确细胞外组分，并确定它们的分泌机制，对于识别生物标志物和设计未来的药物干预至关重要。

外泌体是由内体衍生的40~150nm的小细胞外囊泡(sEVs)，由大多数细胞分泌。RNA（包括mRNA、microRNA[miRNA]和其他非编码RNA）、DNA和脂质被报道积极和选择性地整合到腔内小泡(ILVs)中，这些小泡位于多泡内体(MVEs)中，是外泌体的前体。除了形成外泌体中膜蛋白的组分，内体膜的向内出芽被认为会导致胞质蛋白和其他成分被吞噬到ILVs的腔内的机制。MVEs与质膜融合后，将ILVs作为外泌体释放到细胞外空间。相比之下，微泡是由质膜脱落产生的150~1000 nm的大细胞外膜泡（IEVs）。然而，至今仍然缺乏区分微泡和外泌体的特异性标记物。

最近人们对EVs的兴趣越来越大，主要是由于发现外泌体在分泌的细胞外RNA(exRNA)的转运中起作用，包括细胞外miRNA和mRNA转运。Argonautes(Agos)是重要的miRNA加工蛋白，外泌体介导Ago蛋白分泌仍是一个悬而未决的问题。其他RNA结合蛋白(RBPs)也被报道存在于外泌体中，可能具有RNA分选的作用。然而，细胞外囊泡和纳米颗粒的异质性，以及纯化策略的差异，使当前外泌体的分析变得混乱。

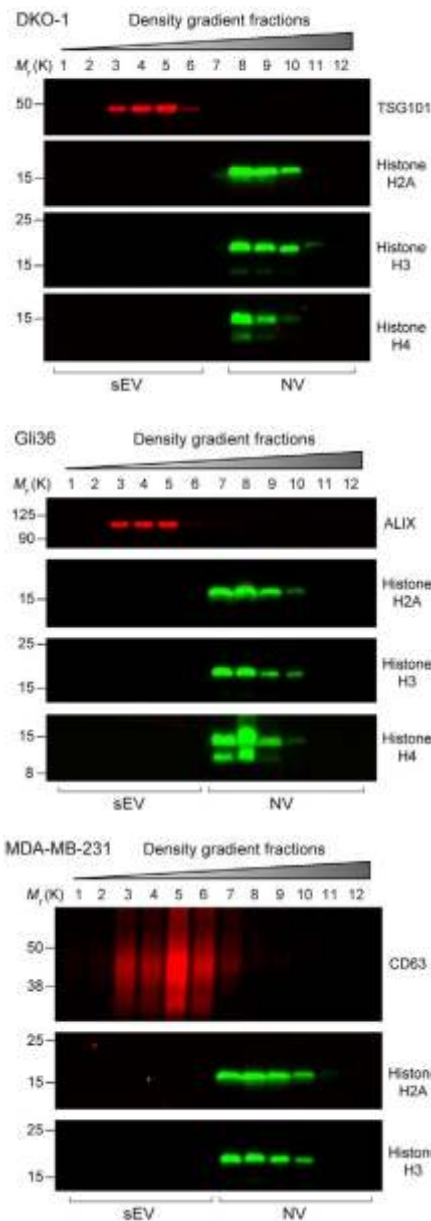
该研究采用高分辨率密度梯度分离技术将sEVs从非囊泡性颗粒中分离出来，并采用直接免疫亲和捕获技术（direct immunoaffinity capture, DIC）将外泌体从其他类型的sEVs中分离出来。DIC在无超离的情况下，以经典的外泌体四次跨膜蛋白为靶点，采用捕获珠进行分离。蛋白质组学和核酸分析表明，细胞外RNA和蛋白质在sEVs和非囊泡组分中有不同的表达。包括Ago1-4在内的许多与外泌体装载exRNA相关的RBPs与带有外泌体标记蛋白CD63、CD81和

CD9的经典外泌体无关。外泌体缺乏细胞骨架元素和常见的糖酵解酶；这些高度丰富的胞质蛋白的缺乏表明外泌体的装载一定是一个高度调控的过程。这些研究是使用人类结肠癌(DKO-1)和胶质母细胞瘤(Gli36)癌细胞系进行的。这一主要发现在正常人类肾上皮细胞和血浆中得到了证实。



DKO-1细胞分泌的大细胞外囊泡 (IEV)、小细胞外囊泡 (sEV) 和非囊泡组分的电镜图

人们一直认为外泌体是细胞外DNA分泌的载体，使它们成为癌症患者液体活检的诱人目标。该研究提供的证据表明，双链DNA(dsDNA)和DNA结合组蛋白不存在于外泌体或任何其他类型的sEV中。相反，该研究证明细胞外dsDNA和组蛋白的活跃分泌是通过自噬和MVE依赖的机制发生的，而不依赖于外泌体。此外，该研究确定annexinA1是经典质膜形成的微泡的一个标志蛋白。这些发现更精确地阐明了外泌体成分，为探索其功能特性提供了更坚实的基础。



细胞外dsDNA和组蛋白的分泌不依赖于外泌体和小细胞外囊泡

该研究表明，真正的外泌体在生物分子成分方面的范围要比人们普遍接受的小得多。虽然外泌体的分类标准本质上不是非常的精准的，但科学命名法的精确性对于确保实验观察之间的一致性至关重要。正确地将功能定位到适当的细胞外实体将是其作为生物标志物或治疗手段成功应用的必要条件。

参考文献：

Jeppesen DK, Fenix AM, Franklin JL, et al. Reassessment of Exosome Composition[J]. Cell, 2019, 177(2): 428-445

Cell: 环形RNA在天然免疫过程中的重要功能

近年来，围绕“环状RNA”的研究工作越来越受到重视与关注甚至是热捧，以中科院生化细胞所陈玲玲研究员为代表的一批国内的优秀科学家近年来在“环状RNA”领域做出了系列重要的工作，然而由于“环状RNA”在生物体内功能不祥的原因，依然有许多研究同行对相关领域抱有半信半疑的态度，尽管2017年Rajewsky研究组在Science上发文表明了一类“环状RNA”在小鼠体内缺失会导致异常的神经元活性和行为障碍。围绕“环状RNA”生物学功能的研究显然需要进一步的推动。4月25日，陈玲玲课题组、杨力课题组与上海交大附属仁济医院的沈南研究组合作在Cell发表了最新的研究成果，研究揭示了环形RNA在自体免疫中的重要功能，并首次解析了环形RNA的调控作用机制。

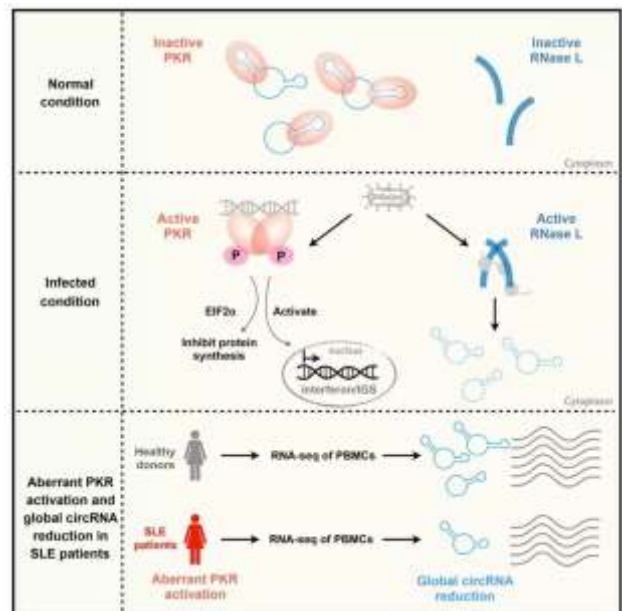
来源：BioArt；广西医科大学附属肿瘤医院宁淑芳教授推荐

【宁淑芳教授点评】该项研究首次阐明了环状RNA的降解机制及其特殊二级结构特征，并把环状RNA与天然免疫应答调控机制以及自身免疫疾病——系统性红斑狼疮(SLE)发病机制联系在一起开展研究，为环形RNA在天然免疫中的重要功能研究奠定基础，也为红斑狼疮等自身免疫疾病的发病机制和未来干预治疗提供了新的思路与潜在靶点。

2019年4月25日，中科院生化细胞所陈玲玲研究员与中科院-马普学会计算生物学伙伴研究所杨力研究员以及上海交通大学医学院附属仁济医院沈南研究员合作在Cell上发表了题为“Structure and degradation of circular RNAs regulate PKR activation in innate immunity”的研究论文。首次阐述了环形RNA在细胞受病毒感染时的降解机制，及其通过形成分子内双链结构结合天然免疫因子参与抗病毒免疫的重要新功能，并揭示环形RNA低表达与自身免疫性疾病——系统性红斑狼疮(SLE)密切相关。该工作为环形RNA在天然免疫中的重要功能研究奠定基础，并为自身免疫病的临床诊断和治疗提供了新思路。

在这项研究中，科研人员首次发现并解析了环形RNA形成16-26 bp的双链RNA茎环结构，并以此为基础结合天然免疫因子PKR (double-stranded RNA-activated protein kinase, 双链RNA依赖性蛋白激酶)的特性。在正常细胞状态下，参与抗病毒的PKR分子被束缚在环形RNA分子的茎环结构上，活性受到抑制，避免了过度激活引起机体的免疫反应

(下图中)。而当细胞被病毒感染时，RNase L在病毒刺激下可以作用于环形RNA，将其切割降解(下图中)。而缓慢的环形RNA生成速度不足以回补这些被降解的环形RNA，PKR被释放参与到细胞的抗病毒免疫过程中。



系统性红斑狼疮是一种自体免疫疾病。研究人员对系统性红斑狼疮病人来源的外周血单核细胞分析表明，在病人体内环形RNA数量很低（上图）；而对环形RNA行使切割功能的RNase L处于弱激活状态。与之对应，天然免疫因子PKR及其下游免疫信号通路则在体内过度激活运转。研究人员通过技术手段增加环形RNA数量，则可以显著抑制病人来源外周血单核细胞和T细胞中的PKR活性及其下游免疫信号通路。

这些发现不仅首次揭示了环形RNA的降解途径及其特殊二级结构特征，并提示环形RNA发挥免疫调控的全新功能。相关研究进展为环形RNA代谢和功能研究奠定了重要基础，也为红斑狼疮等自身免疫病的临床诊断和治疗提供了新思路。

参考文献：

Liu CX, Li X, Nan F, et al. Structure and Degradation of Circular RNAs Regulate PKR Activation in Innate Immunity[J]. Cell, 2019, 177(4):865-880.

Cell 重磅:

贝勒医学院最新研究! 利用肠道菌群发现早期癌症!

近年来,微生物在疾病治疗领域的研究逐渐兴起,美国白宫甚至曾策划过“国家微生物组计划”,再次将微生物研究推向高潮。微生物与人体健康息息相关,影响着营养代谢、免疫防御等众多生理过程,同时研究发现微生物与精神分裂、帕金森、结肠炎、癌症等相关。

来源:转化医学网;广西医科大学附属肿瘤医院李科志教授推荐

近日,来自贝勒医学院(Baylor College of Medicine)和奥斯汀德克萨斯大学(University of Texas at Austin)的研究人员领导的一个科学家小组则恰好利用大肠杆菌,发现可能引发DNA损伤的人类蛋白,且这种蛋白可能会促使细胞发生癌变。他们的研究结果以“Bacteria-to-Human Protein Networks Reveal Origins of Endogenous DNA Damage”为题发表在医学杂志Cell上。

中的益生菌和有害细菌分别起着不同的作用。有害细菌会将消化的食物和一些其他物质分解成多种致癌物(亚硝酸胺等),之后人体将会把这些致癌物吸收。

举个简单的例子,大众普遍认为易致癌的烧烤食物,是因为过度食用烧烤食物,可以被肠道微生物代谢产生损伤DNA的物质。所以肠道微生物在癌症发展中发挥了不可替代的作用。

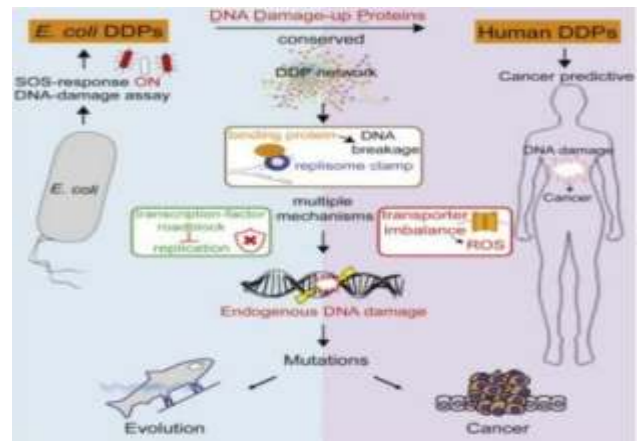
而导致癌症突变的内在机制可能是DNA损伤的结果。尽管环境的损害,如紫外线照射或烟草烟雾,可导致DNA损伤,但大多数DNA损伤是由于涉及细胞成分和分子(包括蛋白质)的细胞过程造成的。在这项研究中,我们发现,当某些蛋白质被细胞过度分泌时,会对DNA造成损害,从而导致癌症。因此,当务之急便是弄清这些蛋白质的身份。

为了确定这些蛋白质的身份,罗森博格和他的同事设计了一种非常规的方法。他们通过观察蛋白质来搜索促进人体细胞DNA损伤的蛋白质,这些蛋白质在过量产生时会在细菌大肠杆菌中引起DNA损伤。



恶性肿瘤(癌症)是由正常细胞的原癌基因受到诱变剂激活而转化为不受控制的异常细胞引起的。恶性肿瘤会不停消耗机体的资源,挤占空间并在短时间内快速的分裂增殖。我们都知道相当一部分的致癌物来自食物,食物在肠道被彻底分解吸收的。

过去的几十年中,人们的饮食习惯发生了巨大变化,可能会对宿主的免疫反应产生影响并引发炎症,并且极大的影响肠道微生物群的组成。因为在肠道内大约有着十几万亿的细菌,它们有好有坏。肠道菌群



不仅如此，研究人员还对细菌进行了基因改造，以便在DNA被破坏时发出红色荧光。然后，他们分别过表达大肠杆菌中存在的4 000个基因中的每一个，并确定哪些基因使细菌发红光。

“我们发现了一个广泛而多样的蛋白质网络，当它们过量生产时，会导致DNA损伤的方式改变细胞，”Rosenberg说。“正如预期的那样，这些蛋白质中的一些参与DNA加工或修复，但令人惊讶的是，大多数蛋白质与DNA没有直接关联。例如，一些DNA损伤蛋白参与分子在细胞膜上的转运”。

当研究人员寻找他们在细菌中发现的DNA“损伤”蛋白质的人类蛋白质亲属（protein relatives）时，他们发现了284个氨基酸序列。有趣的是，他们确定这些人类蛋白质与癌症更相关，而不是随机的蛋白质组。

此外，蛋白质的RNA（蛋白质产生的指标）预测了肿瘤的诱变（mutagenesis）和患者预后不良。当研究人员在实验室中过量产生人体细胞中的这些蛋白质时，一半的蛋白质会引发DNA损伤和突变。

我们发现大肠杆菌可以帮助快速，廉价地鉴定

DNA损伤蛋白质和人体细胞中的作用机制。已知一些蛋白质及其机制与癌症有关，但是其他许多蛋白质并没有被怀疑在致癌名单中，“贝勒医学院分子和人类遗传学，分子病毒学和微生物学教授，Dan L Duncan综合癌症中心成员，共同通讯作者Christophe Herman博士说。

“我认为识别DNA可以被破坏的方式非常特别。这项研究为开发保护我们基因组的新机制以及它们的功能障碍如何改变我们的DNA完整性并导致癌症开辟了新的途径，”德克萨斯大学奥斯汀分校生物科学副教授，Baylor的Dan L Duncan综合癌症中心成员，共同通讯作者Kyle M. Miller博士说。“这是模型生物发现能够揭示人类细胞和癌症如何发挥作用的基本生物过程的力量另一个例子。”

之前已有研究表明：操纵微生物成分可作为一种有效的策略，来预防或减轻癌症易感性。肠道微生物群的组成会以一种不依赖基因型的方式，影响并改变主要的碳代谢。无论对癌症治疗还是诊断，我们都期望能将肠道细菌的作用尽快运用到临床实践中，造福更多的癌症患者。

参考文献

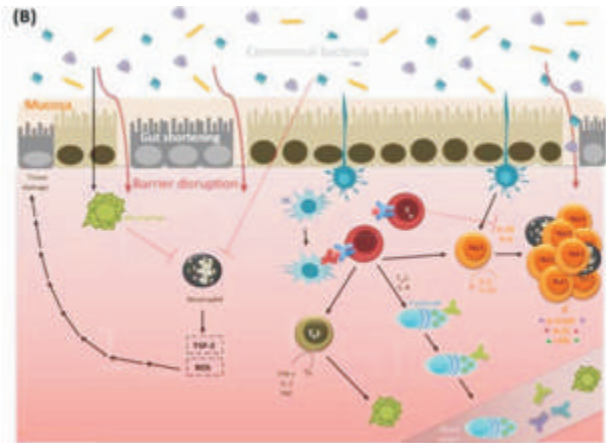
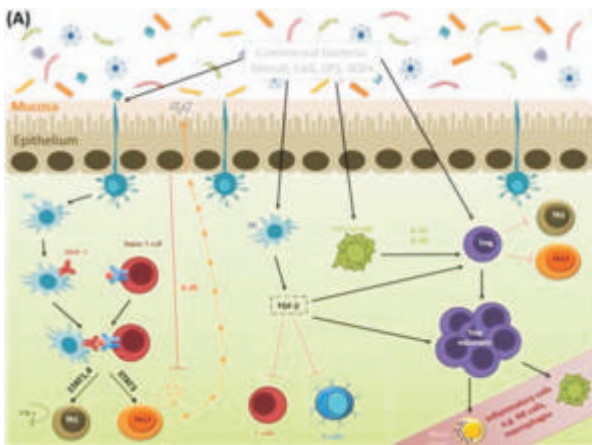
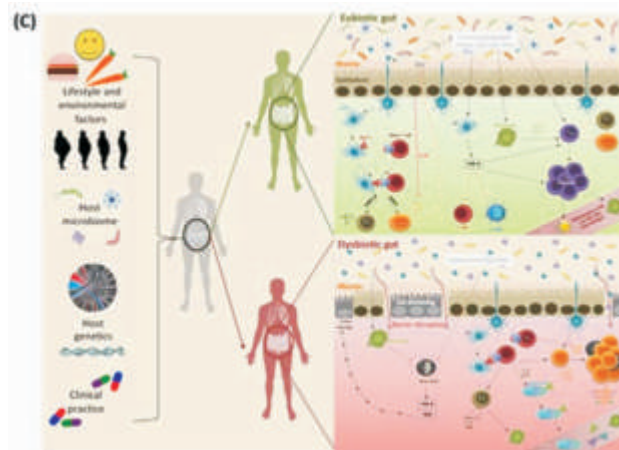
Xia J, Chiu LY, Nehring RB, et al. Bacteria-to-Human Protein Networks Reveal Origins of Endogenous DNA Damage[J]. Cell, 2019, 176(1-2):127-143.

The Impact of Intratumoral and Gastrointestinal Microbiota on Systemic Cancer Therapy

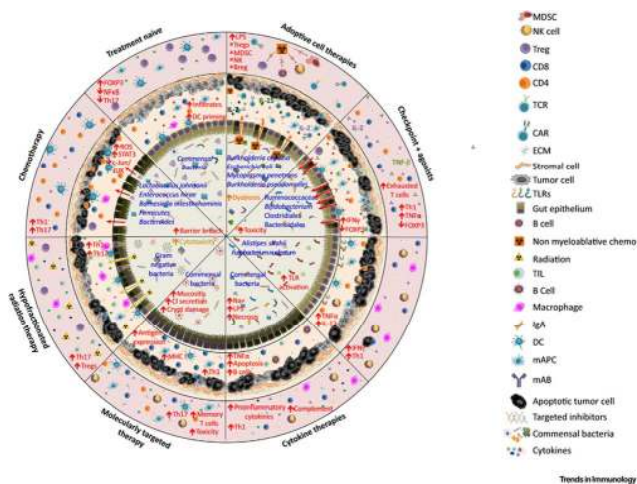
来源：Trends in Immunology；广西医科大学附属肿瘤医院刘海洲教授推荐

肿瘤内和胃肠道菌群对全身癌症治疗的影响

胃肠道菌群是一个复杂的微生物群体，被称为人类的“第二基因组”。目前的研究表明，肠道菌群除维持肠道正常的结构外，还会影响宿主的新陈代谢、炎症以及免疫等生理功能。肠道共生菌与宿主的肠道免疫系统有重要关系，并且肠道菌群还会影响宿主全身免疫系统，比如促进宿主免疫系统发育等。除了微生物本身的调节作用外，微生物代谢产物也可以影响宿主免疫相关基因的表达。越来越多的研究表明，肠道菌群通过参与化疗、免疫治疗等抗癌过程，影响免疫治疗疗效。比如，嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)等肠道共生菌在顺铂和奥铂发挥抗癌作用的过程中起到了重要作用。本文讨论了微生物群可能影响全身和抗肿瘤免疫的机制，以及该领域的突出问题。



如上图所示：肠道菌群平衡与失调。生态位内的微生物群落不断变化，而体内平衡是通过免疫系统不同分支之间持续、动态的相互作用来维持的。这种平衡是微妙的，如果被破坏就称为“失调”，将导致包括癌症在内的多种慢性疾病。A：表示肠道免疫平衡时会保持完整的肠道上皮细胞屏障，这是吸收营养和保护粘膜免受致病细菌侵害的关键。B：在失调的情况下，促炎细胞因子会增加，促使树突状细胞（DC）和辅助性T淋巴细胞诱导分化产生Th17和Th1细胞。与健康肠道不同的是组织保护受到先天免疫和适应性免疫机制之间的粘膜免疫的严格调控。C：平衡和失调受到复杂的多因素影响，如环境因素、免疫调节异常、遗传学、微生物群和总体健康状况等。APC是指抗原提呈细胞，DC是树突细胞，TGF- β 是指转化生长因子 β ，LPS是脂多糖。



右图所示：肠道菌群及其对癌症治疗的反应是多维和复杂的，关于对抗癌症治疗的反应的影响有几个机制。本图显示了多种治疗在肠道（棕色）、肿瘤（橙色）和血液系统（红色）水平的这种复杂关系，这些治疗包括化疗、放疗、分子靶向治疗、基于细胞因子的治疗、检查点抑制剂、过继细胞治疗和这对先天免疫的药物。

随着测序技术以及免疫治疗技术的不断发展，胃肠道菌群研究备受关注，通过胃肠道菌群研究进行各种疾病与治疗的进展也日新月异，包括自闭症、关节炎以及癌症等。本文以胃肠道和瘤内微生物群为研究对象，将所有的研究进展汇总在一起，系统的阐明了胃肠道菌群与癌症免疫治疗的影响，可以说通过这一篇综述我们可以掌握微生物与免疫治疗的方方面面，选题新颖而且内容全面。在介绍进展的同时也提出了目前该方向面临的一些挑战和待解决的问题。整个思路值得我们借鉴。基于本综述探讨的内容，可以看出通过胃肠道菌群进行抗癌治疗是一个可行的辅助手段，但是肠道的微生物非常复杂，我们目前还无法知道其中最佳的抗癌微生物组合，也不知道不同组合适应哪一种癌症类型治疗。目前仅有个别研究尝试研究

针对某种癌症的最佳菌种组合，而且发表的文章也不错。

所以，进一步阐明胃肠道菌群在影响癌症反应方面的影响和靶向性是未来的一个方向，相信这方面的研究会越来越受到重视。而且目前这类研究大部分还集中在研究阶段，比如在小鼠中或者细胞系中进行研究，离临床应用还有很长的一段路要走，所以寻找合适方向进行临床试验也是一个不错的方向。

参考文献：

Cogdill AP, Gaudreau PO, Arora R, et al. The Impact of Intratumoral and Gastrointestinal Microbiota on Systemic Cancer Therapy[J]. Trends Immunol, 2018, 39(11):900–920.



临床应用篇

本期执行主编：于起涛



- 广西医科大学附属肿瘤医院呼吸肿瘤内科主任，主任医师
硕士生导师
- 中国抗癌协会癌症康复与姑息治疗专业委员会全国委员
及广西分会副主任委员
- 广西抗癌协会肿瘤免疫治疗专业委员会主任委员
- 广西抗癌协会肿瘤标志专业委员会副主任委员
- 广西医师协会肿瘤科医师专业委员会副主任委员
- 广西抗癌协会理事会常务理事
- 广西抗癌协会淋巴瘤专业委员会副主任委员

目次

- 1 *Nature*重磅：TNF抑制剂，既能提高免疫治疗效果还能降低副作用
- 2 一箭双雕！自身免疫标志物或可预测PD-1抑制剂的疗效和免疫相关不良事件
- 3 原来你是这样的Opdivo®
- 4 以下该文让我们重新认识PD-1抗体抑制剂
- 5 *Cell* 子刊：PD-1抗体抗癌的真相，我们理解错了！麻省总医院科学家发现，与PD-1抗体结合的T细胞只有收到DC细胞的指令才抗癌

导语

肿瘤免疫治疗是当前肿瘤治疗领域最具前景的研究方向之一，肿瘤精确免疫治疗的最终目标是筛选出能从特定的免疫治疗中获益的肿瘤患者群体。为了扩大肿瘤免疫治疗获益人群，联合免疫治疗是未来抗肿瘤治疗的方向。只有深入了解肿瘤免疫逃避机制和肿瘤相关免疫微环境，才能将免疫治疗、放化疗及靶向治疗等方法有机结合起来，为晚期实体瘤患者的治疗带来新希望。同时，我们还注意到免疫治疗本身所带来的毒副作用，精准治疗要求的另一层意思包括如何在有效预测疗效的基础上遴选出潜在治疗致损的患者，本期选编了几篇关于免疫治疗如何增效减毒的文章与读者分享。

Nature重磅:

TNF抑制剂,既能提高免疫治疗效果还能降低副作用

临床应用篇

来源:生物探索;广西医科大学附属肿瘤医院于起涛教授推荐

【于起涛教授点评】自2018年6月Nivolumab和pembrolizumab在中国大陆上市开始,再到一系列国产PD-1抑制剂的上市,中国免疫治疗元年正式开启。但如何选者免疫治疗的优势人群,提高免疫治疗的有效率,降低免疫治疗的副作用函待解决。该文章从基础及临床前研究发现TNF抑制剂与抗PD-1和抗CTLA-4治疗联合治疗能增效减毒,可喜可贺,但从基础走到临床应用还有很长的路要走。希望更多的研究成果最终能为免疫治疗锦上添花。

2018年诺贝尔生理学或医学奖花落“分子刹车”——PD-1和CTLA-4。我们知道,PD-1和CTLA-4是一种免疫细胞蛋白(T淋巴细胞),负责防止这些细胞破坏其他细胞,如癌细胞。这些T细胞表面蛋白发挥“刹车”活性,提高免疫系统对肿瘤细胞的攻击性。而肿瘤坏死因子(TNF)可介导炎症反应,杀伤或抑制肿瘤细胞,并激活免疫系统中的白细胞等。

目前,免疫治疗组合Nivolumab(抗PD-1)和Ipilimumab(抗CTLA-4)对黑色素瘤、肾细胞癌和非小细胞肺癌有效。然而,它们也常常伴随严重免疫反应以及一些不良事件,因此有必要降低患者Ipilimumab/Nivolumab的推荐剂量。在小鼠实验中,联合使用替代抗PD-1和抗CTLA-4单克隆抗体治疗可移植肿瘤模型是有效的,但也会加重自身免疫性结肠炎。来自Cima和Clinica Universidad de Navarra的研究人员近期发表在*Nature*杂志上的研究表明,临床运用TNF抑制剂联合CTLA-4和PD-1免疫疗法治疗小鼠,可改善其结肠炎病程,并提高抗肿瘤效果。

病,而使用Ipilimumab和Nivolumab治疗进一步加重了这种疾病。当人类结肠癌细胞异种移植到这些小鼠体内时,人类TNF的预防性阻断改善了移植小鼠的结肠炎和肝炎,并且保留了对移植瘤的免疫治疗控制。该项研究结果为癌症免疫治疗中联合免疫检查点阻断的疗效和毒性分离提供了临床可行的策略。

Cima高级研究员兼联合主任Ignacio Melero博士解释说:“在这项研究中,我们发现,肿瘤坏死因子的免疫调节功能是可有可无的,并且在一定程度上对这种联合免疫疗法的抗肿瘤活性有害”。

“我们已经证实,在应用免疫疗法之前预防性阻断TNF可以避免不良反应,改善这些动物模型中对治疗的反应。这使我们能够更好地调整药物剂量,从而达到更强大的抗肿瘤功效。”论文第一作者、Cima研究员Pedro Berraondo博士补充道。

研究人员计划下一步在临床中进行实践。Melero博士说:“尽管我们已经在动物模型中取得这样的可喜结果,我们还是要保持谨慎的态度。如果能在病人身上重复这项研究结果,那我们将颠覆治疗癌症的模式。”

▶▶ 抗肿瘤坏死因子治疗的新颖性

免疫疗法使越来越多的癌症患者受益,研究也逐渐倾向将各类免疫治疗手段结合起来,例如,PD-1联合CTLA-4抑制药物对最具侵袭性的皮肤癌(黑色素瘤)、肾癌和肺癌具有显著疗效。然而,40%的患者遭受严重的副作用,所以这正是为什么在这项研究中,预防这些副作用的发生,对于这种联合免疫疗法的成功如此重要的原因。

此外,TNF在免疫治疗中的阻断并不新鲜,但其在抗PD-1和抗CTLA-4治疗中的预防性应用是以前没有尝试的。Berraondo博士说:“虽然临床证据尚不充分,但研究显示抑制TNF在晚期癌症患者中具有良



<https://doi.org/10.1038/s41586-019-1162-y>

值得注意的是,在联合Ipilimumab和Nivolumab治疗后,结肠炎患者的肠道中的TNF表达上调。于是,研究人员建立了一个过继转移人外周血单核细胞的Rag2^{-/-} Il2rg^{-/-}小鼠模型,产生移植物抗宿主疾



好的安全性。我们在实验室的研究结果以及既往临床经验表明，我们需要开展一项临床试验来测试这种联合免疫疗法的安全性和有效性。事实上，我们也正在评估一项潜在的临床试验方案，以研究预防性TNF阻断对人体内nivolumab（抗PD-1）和ipilimumab（抗-CTLA-4）治疗的影响。”

以下短评针对“Nature重磅：TNF抑制剂，既能提高免疫治疗效果还能降低副作用”此文：

参考文献：

- [1] Pretreatment with TNF inhibitors may improve outcomes of combination cancer immunotherapy [EB/OL]. [2019-05-02]. https://www.eurekalert.org/pub_releases/2019-05/udn-pwt050219.php.
- [2] Perez-Ruiz E, Minute L, Otano I, et al. Prophylactic TNF blockade uncouples efficacy and toxicity in dual CTLA-4 and PD-1 immunotherapy[J]. Nature, 2019, 569(7756):428-432.

JAMA Oncology 一箭双雕！自身免疫标志物或可预测PD-1抑制剂的疗效和免疫相关不良事件

临床应用篇

来源：肿瘤资讯；广西医科大学肿瘤医院于起涛教授推荐

【于起涛教授点评】目前，免疫治疗的临床试验已经在各种肿瘤中遍地开花，所得结果令人振奋不已。当然，肿瘤免疫治疗相关不良反应的临床表现与化疗、分子靶向治疗相比大有不同。“如何预测患者免疫治疗过程中会发生何种不良反应？”依旧是我们肿瘤科医生一直探索的问题。此文的研究结论给我们在免疫治疗的不良反应预测上提供了一个新的寻找线索，指明了一条新的研究方向。

精准医学时代，为了实现免疫治疗患者个性化管理，临床上迫切需要预测哪些患者在免疫治疗过程中更容易发生免疫相关不良事件（irAEs），但目前为止尚未发现可预测irAEs发生与否的生物标志物。近期，日本Honda Y教授团队一项样本量为137例患者的回顾性研究荣登*JAMA Oncology*杂志，该研究评估了先前存在类风湿因子、抗核抗体或抗甲状腺抗体的晚期非小细胞肺癌（NSCLC）患者接受免疫检查点抑制剂单药治疗的疗效和不良反应事件。

▶▶ 研究背景

以程序性细胞死亡受体-1（PD-1）途径为靶点的治疗已改善了多种恶性肿瘤的临床疗效。抑制性受体主要表达于活化T细胞表面，PD-1通过与PD-L1/PD-L2相互作用，调节T细胞效应器的活性。因此，由单克隆抗体阻断PD-1和PD-L1信号通路可使T细胞再次产生其介导的抗肿瘤免疫，并在患者亚群中产生持久的抗肿瘤作用。纳武利尤单抗（nivolumab）和帕博利珠单抗（pembrolizumab）单药治疗已成为晚期NSCLC患者替代标准化疗新的治疗选择。

研究显示，irAEs也可能与纳武利尤单抗的临床应答相关。因此，临床上迫切需要识别哪些患者更可能发展为irAEs，以便实现个性化患者管理，还能提

供预防性干预措施以减轻irAEs。目前为止，还没发现可预测irAEs的生物标志物。此外，尽管已经对已有自身免疫性疾病的临床患者进行了评估，但在先前存在类风湿因子、抗核抗体或抗甲状腺抗体的NSCLC患者中，还没有评估免疫检查点抑制剂的疗效。本研究回顾性分析了既往有自身免疫标志物的晚期NSCLC患者接受抗PD-1单抗治疗的疗效。

▶▶ 研究方法

本研究收集了自2016年1月至2018年1月期间在日本仙台厚生医院接受纳武利尤单抗（3 mg/kg，每周2次）或帕博利珠单抗（每3周200 mg）单药治疗的晚期NSCLC患者。一直接受治疗直到疾病进展、产生不可接受的毒性。所有患者随访至死亡或失去联系。

筛查时抽取血样检测是否存在类风湿因子、抗核抗体、抗甲状腺球蛋白和抗甲状腺过氧化物酶抗体。如果在治疗前有任何列出的抗体存在，则认为患者具有任何先前存在的抗体；如果存在抗甲状腺球蛋白或抗甲状腺过氧化物酶抗体，则认为患者具有先前存在的抗甲状腺抗体。

▶▶ 研究结果

在137例晚期NSCLC患者中，99例患者接受了纳武利尤单抗治疗，38例患者接受了帕博利珠单抗治

疗。中位年龄68岁，134例（98%）患者的ECOG PS评分为0或1。在137例患者中，51例（37%）被诊断为鳞状细胞癌，86例（63%）患者被诊断为非鳞状NSCLC。16例（12%）EGFR突变患者。18例（13%）患者之前没有接受过化疗，而62例（45%）患者接受过1个周期的化疗，24例（18%）患者接受过2个周期的治疗，33例（24%）患者接受过3个或更多周期的治疗。27例（20%）患者PD-L1表达丰富[肿瘤比例评分(TPS)] $\geq 50\%$ ，30例（22%）患者PD-L1低表达（ $1\% \leq \text{TPS} < 50\%$ ），15例（11%）患者不表达（ $\text{TPS} < 1\%$ ），其余65例（47%）患者不确定。66例（48%）患者出现irAEs。46例（34%）患者在8周内出现症状，中位发病时间为4.7周。

2例患者（1%）出现完全缓解，41例患者（30%）出现部分缓解，53例患者（39%）出现稳定疾病，41例患者（30%）出现疾病进展。客观缓解率ORR为31%，而DCR为70%。

在66例irAEs患者中，42例（64%）患者出现了早期皮肤反应，而14例（21%）患者出现肺炎，15例（23%）患者出现甲状腺功能减退，1例（2%）患者出现甲状腺功能亢进，6例（9%）患者出现肝炎，5例（8%）患者出现肌炎或周围神经病变，2例（3%）患者出现腹泻。

irAEs的发生与性别、年龄、ECOG-PS评分、病理亚型、吸烟史和既往治疗方案无关。先前存在类风湿因子在irAEs患者中更为常见。在发生irAEs患者中，1例（2%）完全缓解，33例（50%）部分缓解，27例（41%）病情稳定，5例（8%）患者疾病进展。

在71例没有出现irAEs的患者中，1例（1%）患者表现出完全缓解（CR），8例（11%）患者表现出部分缓解（PR），26例（37%）患者稳定疾病（SD），36例（51%）患者疾病进展。发生irAEs患者的ORR（52% vs 13%， $P < 0.001$ ）和DCR（92% vs 49%， $P < 0.001$ ）明显高于未发生irAEs的患者。

发生irAEs患者和未发生irAEs患者的中位PFS分别为10.3个月和3.4个月，前者的中位PFS明显优于后者（图1A）。同样的，两组患者的12个月无进展生存率分别为44%和18%。因irAEs导致的疾病进展或死亡的HR = 0.45（95% CI, 0.30 ~ 0.68； $P < 0.001$ ）。发生和未发生irAEs患者的中位OS分别为未达到和11.4个月，这表明前者的生存率显著提高（图1B）。同样，两组患者的12个月总生存率分别为76%和47%。

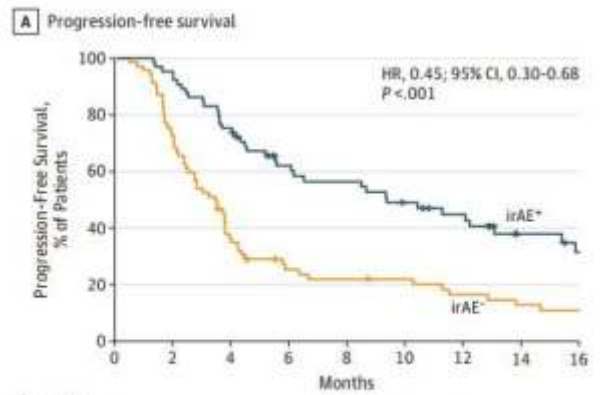
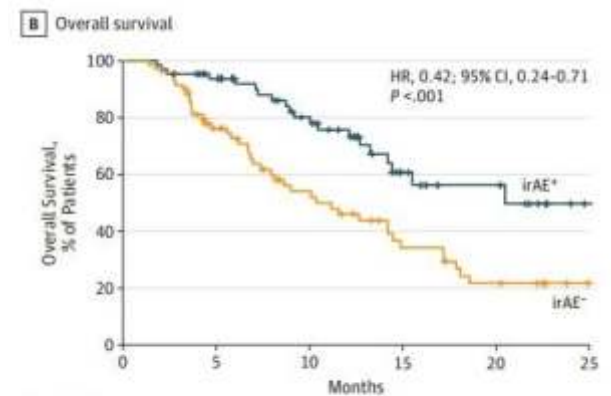


Figure 1. Progression-Free Survival and Overall Survival Among Patients With or Without Immune-Related Adverse Events (irAEs)

irAE	71	49	25	16	14	13	10	8
irAE ⁻								



No. at risk	66	57	39	17	10
irAE ⁺					
irAE ⁻	71	46	28	16	9

Kaplan-Meier curves are shown for progression-free survival (A) and overall survival (B) among patients with irAE⁺ or without irAE⁻. Tick marks indicate patients for whose data were censored on May 31, 2018.

图1. 两组患者PFS和OS分析

按患者是否预先存在抗体进行分层。之前存在抗体的患者的ORR（41%）明显高于不存在抗体的患者（18%）（ $P = 0.006$ ）。同样，观察到DCR的趋势相同，且有显著性差异（81% vs 54%， $P = 0.001$ ）。在DCR中观察到任何先前存在的抗体的类似趋势，但其他患者组之间也具有可比性。先前有任意抗体患者的irAEs明显高于没有抗体的患者（60% vs 32%， $P = 0.002$ ），先前存在类风湿因子患者的irAEs高于没有类风湿因子的患者（68% vs 40%， $P = 0.006$ ）。相比之下，有或无抗核抗体或抗甲状腺抗体的患者发生irAEs的频率相当。皮肤反应在有抗体（40% vs 18%， $P = 0.009$ ）或类风湿因子（47% vs 24%， $P = 0.02$ ）的患者中更常见。甲状腺功能减退先前存在甲状腺抗体（20% vs 1%， $P < 0.001$ ）的患者中更为常见。

先前有任意抗体患者和无抗体患者的中位PFS分别为6.5个月和3.5个月，前者预后明显优于后者（图



2A)。任何先前存在的抗体导致疾病恶化或死亡的风险比为0.53 (95% CI, 0.36 ~ 0.79; $P=0.002$)。有和无类风湿因子患者的中位PFS分别为10.1个月和3.7个月,前者预后也明显优于后者(图2B)。在类风湿因子存在的情况下,疾病进展或死亡的HR=0.61 (95% CI, 0.38 ~ 0.97; $P=0.04$)。有和无抗核抗体或甲状腺抗体的患者之间无明显PFS差异(图2 C和D)。有和无抗体的中位OS分别为17.6个月和14.6个月,无显著差异(图3)。

Figure 2. Progression-Free Survival in the Cohort

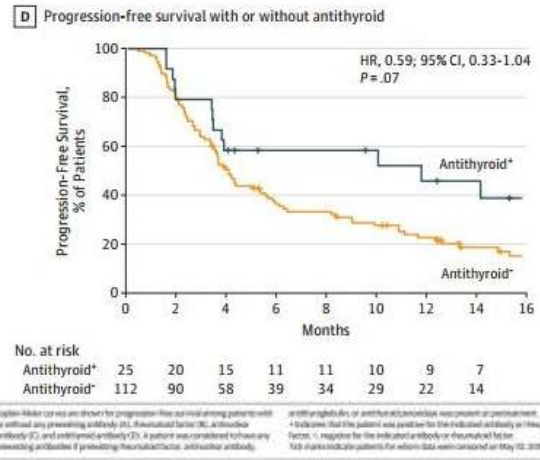
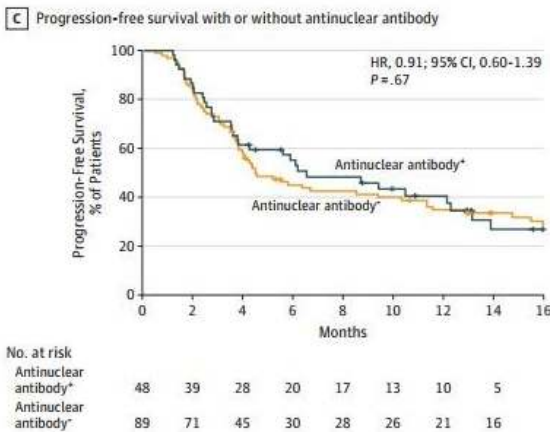
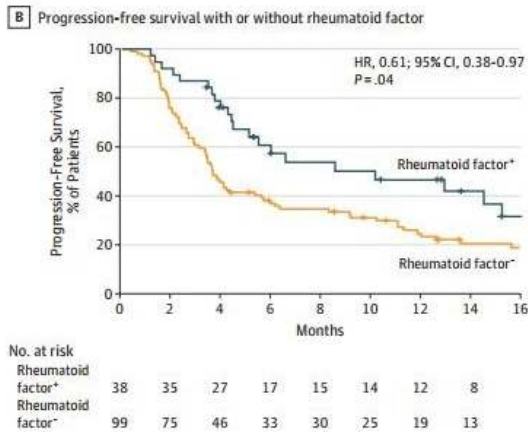
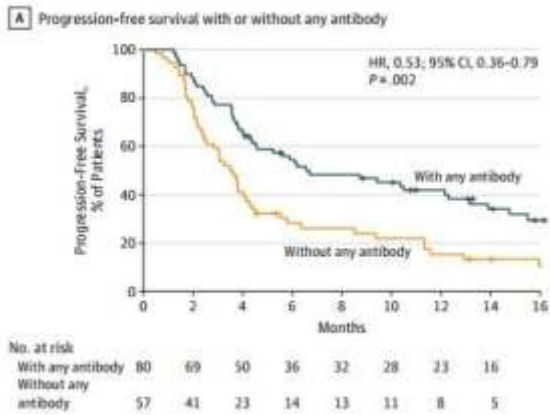


图2. 各分组PFS分析

Figure 3. Overall Survival in the Cohort

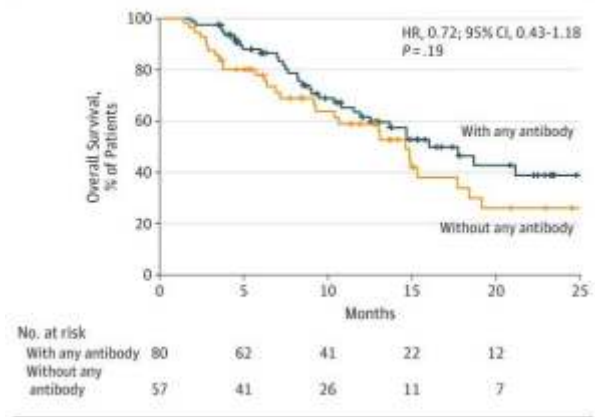


图3.OS分析

讨论和结论

尽管目前PD-1抗体在肿瘤学中普遍使用,但其安全性和有效性对于先前存在类风湿因子、抗核抗体、甲状腺球蛋白抗体或抗甲状腺过氧化物酶抗体的患者尚不清楚,后者广泛用于自身免疫性疾病的生物标志物。目前没有有效生物标志物可以用于预测irAEs。这是第一个评估先前存在的自身免疫标志物、irAEs和临床疗效相关性的回顾性研究。

irAEs的管理将有助于患者从PD-1抗体治疗中得到最大获益,因此,鉴别与irAEs相关预测因子至关重要。该研究显示,自身存在以上抗体是发生irAEs的独立预测因子。

研究显示,纳武利尤单抗和帕博利珠单抗治疗后,ORR、DCR和PFS明显优于未检测到的患者。而且,任一抗体都与irAEs显著且独立相关。当然需要更大的回顾性和前瞻性研究以阐明先前存在自身免疫标志物的患者进行免疫治疗的风险,但该研究指导我们在此类患者中正确使用免疫治疗,需密切监测不良

事件。在使用纳武利尤单抗或帕博利珠单抗治疗的NSCLC患者中，先前存在的抗体与临床疗效和irAEs显著相关。因此，这些自身免疫标记物的存在可能有助于确定NSCLC个体患者的风险-效益比，最大限度地提高治疗效益，同时最大限度地减少irAEs。

参考文献:

Toi Y, Sugawara S, Sugisaka J, et al. Profiling preexisting antibodies in patients treated with anti-PD-1 therapy for advanced non-small cell lung cancer[J/OL]. JAMA Oncol, 2018, 27.

原来你是这样的Opdivo®

临床应用篇

来源：小菜鸟读文献啦；广西医科大学肿瘤医院于起涛教授推荐

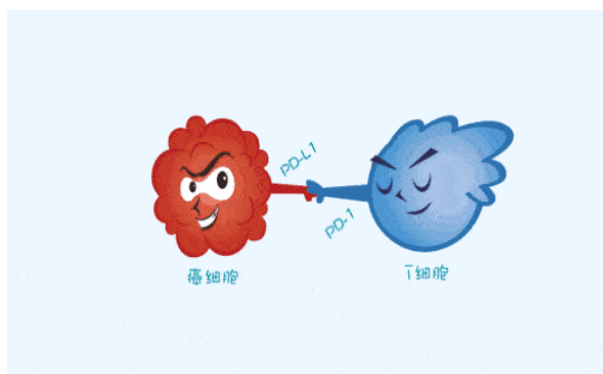


上图：百时美施贵宝公司（BMS）旗下的抗CTLA-4抗体类抗癌药YERVOY®和抗PD-1抗体类抗癌药Opdivo®

2018年的诺奖颁发给了肿瘤免疫-免疫检查点的研究及药物开发相关的两个人，一位是James P. Allison，表彰他在CTLA-4研究和药物研发中的重要作用；而另外一位即是日本科学家本庶佑（Tasuku Honjo），他在另一个大家耳熟能详的重要靶点——PD-1的研究和药物开发工作上起到了非常重要的作用。



上图：本庶佑（Tasuku Honjo）教授



上图：PD-1抗体的理论作用原理图示

针对PD-1及其配体PD-L1的药物也有很多种，其中最早一批的、最早被药物管理部门批准的，当属Opdivo®（欧狄沃，纳武单抗）和Keytruda®（可瑞达，帕博利珠单抗）了。

抗PD-1类抗癌药的研发历史也是非常漫长和复杂的。最早在1992年，本庶佑和他的同事们就发现了PD-1。但直到1999年，他们才最终明确PD-1在免疫负性调控中有重要作用。最早开发抗CTLA-4抗体和抗PD-1抗体的都是美国药物研究公司Medarex。日本小野药品工业株式会社（Ono Pharmaceutical）虽然一直和本庶佑合作，也取得了PD-1有关药物的多项专利，但后面慢了几拍（好像当时的思路选的不好，小野方面一度指望开发PD-1的化合物抑制剂），不过小野制药还是在2005年同Medarex公司合作开发了Opdivo并取得了其在日本范围内的使用权。而BMS比较有远见的看出了免疫类抗肿瘤药的前景，于2009年一举收购了在肿瘤免疫药物研发上颇有经验的Medarex，并加大了在该领域的投入。



至于由著名药企默沙东 (MSD) 开发的PD-1抗体类抗癌药keytruda, 原本默沙东方面都准备放弃继续开发了, 但由于2010年时BMS在新英格兰杂志上发表了关于其YERVOY的良好前景, 并提出同属checkpoint inhibitor的anti-PD-1类药Opdivo也可能有很好的前景, 这一下子就敲醒了默沙东方面, 让keytruda的研发计划得以继续。

功夫不负有心人。2014年, Opdivo获得了日本厚生省药物管理部门的批准, keytruda也受到美国FDA的批准用于晚期黑色素瘤的治疗。

OK, 背景介绍到此为止。下面回到我们关心的问题: 大家都认为CTLA-4抗体是通过block CTLA-4, 从而阻遏免疫抑制信号传递, 进而促进肿瘤免疫; 但作者等人研究发现CTLA-4抗体抑制剂之所以

疗效不错, 可能更多的因为抗体结合在表达CTLA-4较多的Treg上, 并通过Fc γ R介导的ADCC作用清除肿瘤浸润Treg, 从而改善肿瘤内免疫抑制的环境, 促进肿瘤免疫杀伤的。

那么, PD-1抗体抑制剂发挥抗癌作用的机制是否也不像大家想的那么简单的仅仅是对T细胞上PD-1通路的封闭?

参考文献:

Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, et al. Induced express of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death[J]. EMBO J, 1992, 11(11):3887-3895.

以下该文让我们重新认识PD-1抗体抑制剂

临床应用篇

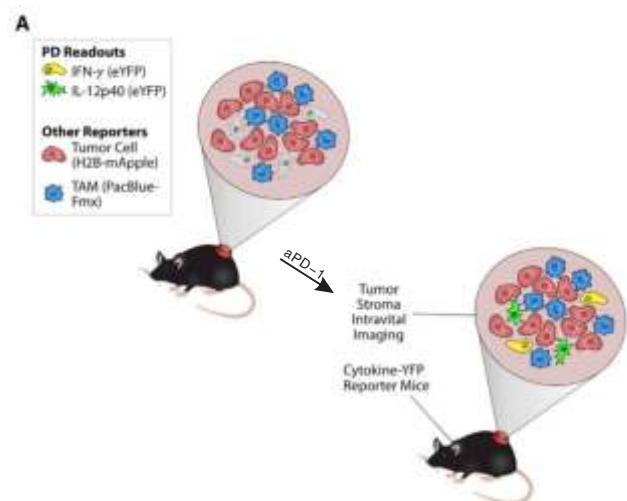
Successful Anti-PD-1 Cancer Immunotherapy Requires T Cell-Dendritic Cell Crosstalk Involving the Cytokines IFN- γ and IL-12

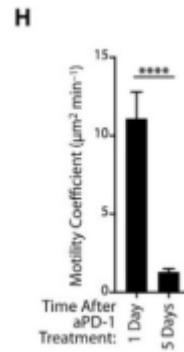
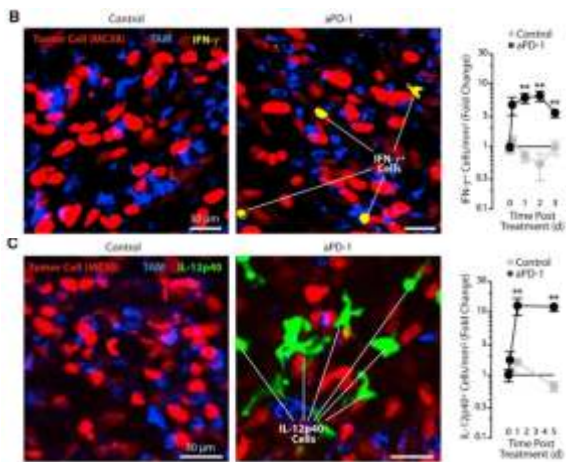
来源: Immunity; 广西医科大学肿瘤医院于起涛教授推荐

【于起涛教授点评】这又是一篇关于免疫治疗基础研究的好文。PD-1抑制剂的抗肿瘤作用除阻断T细胞上的PD-1与肿瘤细胞的PD-L1结合外, 还对免疫微环境等方面有影响。充分探索PD-1抑制剂的作用机制, 我们方能将PD-1抑制剂这把利剑使用得炉火纯青、恰到好处!

Fig.1 运用aPD-1后, 肿瘤内IFN γ ⁺细胞和IL-12⁺细胞聚集, 初步提示aPD-1治疗的机制并不那么简单, 而可能还包含DC和CD8⁺T细胞的cross-talk

首先需要明确: 作者有钱。首先作者用了活体显微成像技术 (他的lab好像很擅长这项技术), 这种操作的确是比较强的: 一般的荧光显微镜拍片, 你肯定拍的是死的吧 (切片样本), 但是人家这种技术就能在活的鼠上拍细胞维度的片子, 然后你再养这鼠几日, 然后还能再拍; 还能连续拍以观察细胞的运动。真是太强了! 作者自认为IFN- γ 和IL-12比较重要。大佬构建了只要表达IFN- γ /IL-12的细胞即能发出相应荧光的鼠。





如上图：除了有更多的IL-12⁺细胞浸润，作者还发现在aPD-1治疗后，这些IL-12⁺细胞离肿瘤边界更远、离肿瘤内的血管更近（D/E/F）；此外，作者通过实时动态分析发现这些细胞在使用aPD-1后运动显著减缓（G/H）。这些结果提示：运用aPD-1后肿瘤内IL-12⁺细胞聚集。

如上图：
A图是示意，告诉你发红光的细胞是肿瘤，蓝的是肿瘤浸润巨噬（TAM），黄的是IFN-γ⁺的细胞，绿的是IL-12⁺的细胞。

B：在运用aPD-1（PD-1抗体）后，小鼠肿瘤中IFN-γ⁺细胞增加，因为CD8⁺T细胞的武器之一就是IFN-γ，作者在这里猜测这些IFN-γ⁺的细胞多是CD8⁺T细胞。

C：运用aPD-1后，肿瘤中浸润了许多IL-12⁺的“形状诡异的”细胞。作者说因为这种细胞形态上多突触的特征，可能是树突状细胞（DC）。

本组图利用比较新的、专业的分子影像学技术，开篇就show出了本文两大主人公：在运用aPD-1后，肿瘤中出现了两种细胞的聚集：一种是IFN-γ⁺的细胞，这个可能是CD8⁺T；另一种则是IL-12⁺的细胞，看上去形状像DC。

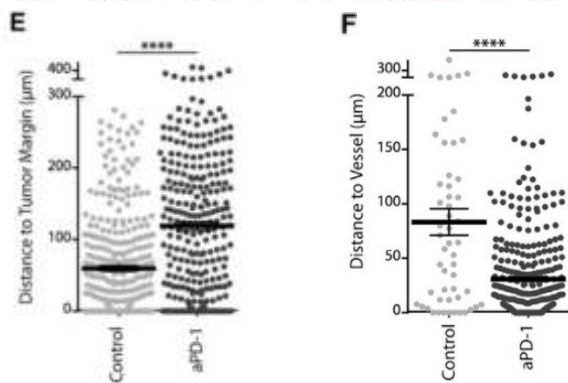
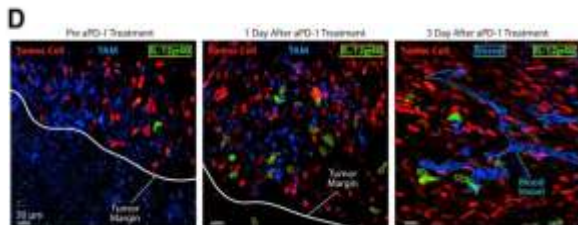
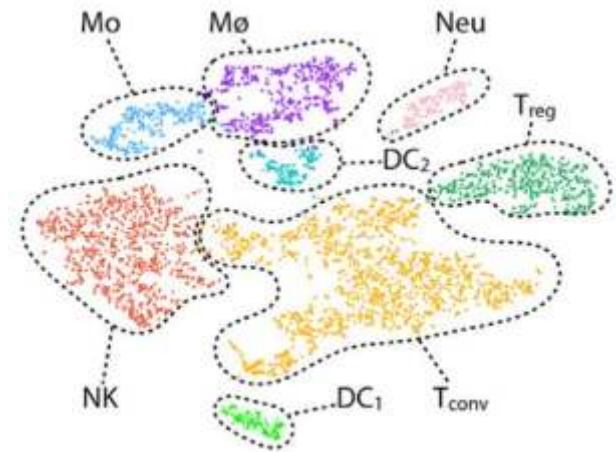
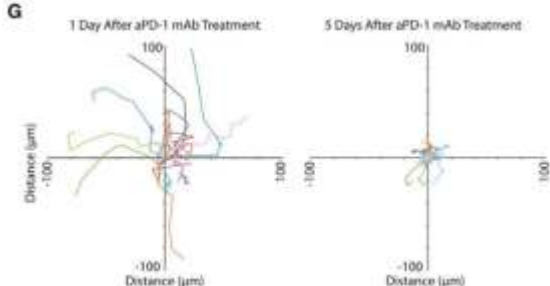


Fig.2 单细胞测序揭示：运用aPD-1后，的确有那么一小撮DC开始分泌IL-12；且他们的存在和IL-12的分泌对aPD-1疗效的实现至关重要

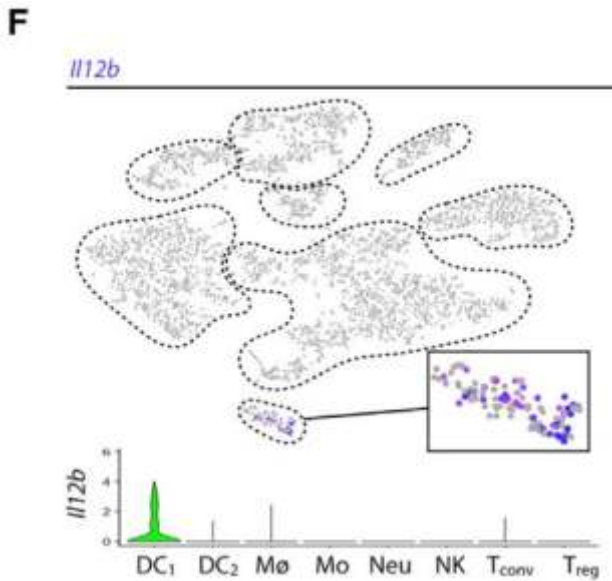
仅接着，作者在补充材料中用流式探究了上述这群IL-12⁺的“像DC细胞”的marker，发现它的确很符合DC的特征。

作者的确很有钱，下一步作者将进行单细胞测序分析。作者进行了t-SNE分析，以簇出相应的细胞群，并依照细胞marker的表达情况人工注释这些细胞群。如下图，作者发现了两个DC细胞群，为DC1和DC2





图B~E都是对一些DC marker在DC1/2间表达的 characterization, 我们略去; 图F如下: 可见, IL-12的表达只局限在DC1中。



下图G: 作者进一步发现DC1相比于DC2高表达几个已知的于IL-12产生密切相关的基因。图H/I: 在肿瘤造模完成后、aPD-1治疗之前, 利用技术手段去除DC或IL-12, 发现aPD-1的疗效都减弱/丧失了。(不难发现, 清除IL-12后好像还是有那么些阻遏生长的作用的, 但清除DC后不仅丝毫看不见疗效, 反而还又长的更快的观感。是否反映了DC除IL-12外的aPD-1疗效参与? 还是仅是技术原因导致的IL-22清除不全? 这些问题很有意思)

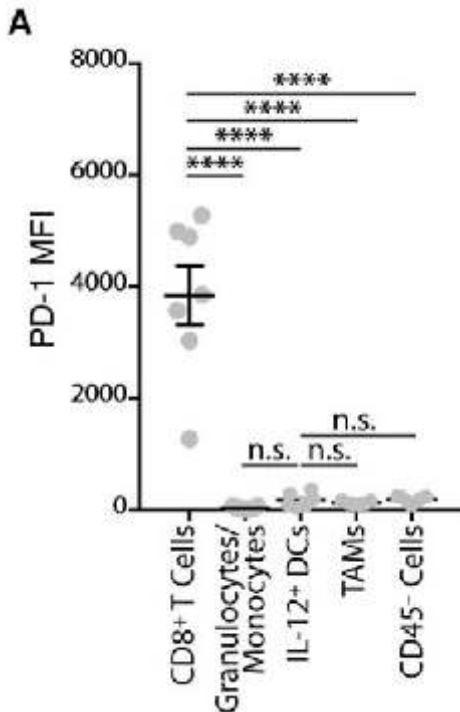
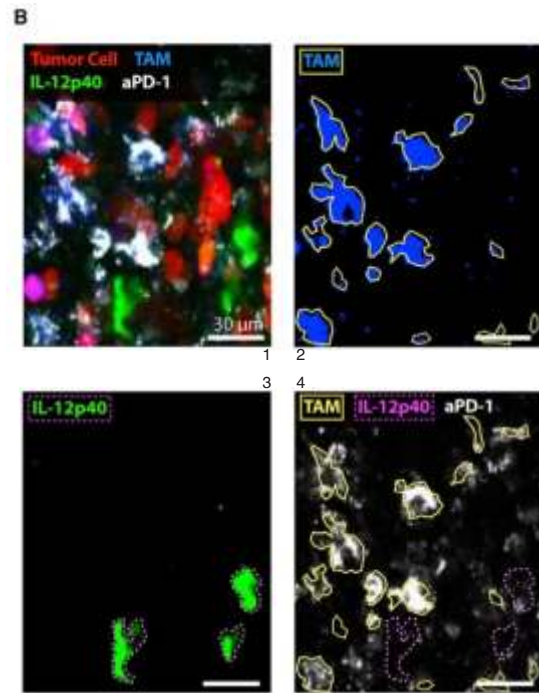


Fig.3 aPD-1治疗后, 肿瘤内CD8⁺T细胞分泌更多IFN γ , 通过IFN γ R作用于DC, 促进其IL-12产生

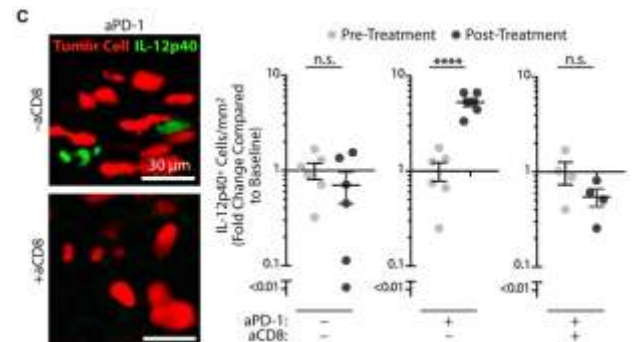
下面, 作者希望探究DC如何参与aPD-1所引起的肿瘤免疫调节中的。作者首先需要排除aPD-1直接的作用于DC的可能。因为aPD-1毕竟是抗体, 所以如果DC表达PD-1, 那么直接作用就有可能了。不过, 如下图A, PD-1并不在DC上表达。

如果不是抗原抗体结合, 那是不是吞噬之类的作用? 文献指出, 肿瘤浸润巨噬细胞TAM倒是可以通过Fc γ R的方式吞取aPD-1抗体。不过, DC的Fc γ R表达水平远低于TAM, 让这种想法也不太可能:

的确, 如下图B, 基本上所有的aPD-1最终都被TAM摄取, 而并未见IL-12⁺“DC1”细胞上摄取aPD-1。

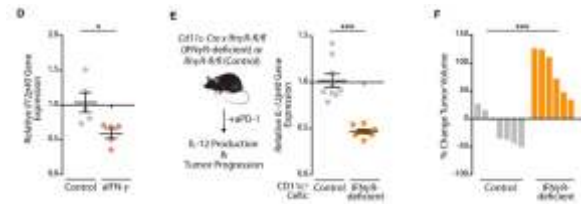


既然不是直接作用, 那就可能是间接作用。因为aPD-1的主要设计靶标就是CD8⁺T细胞, 因此作者猜测CD8⁺T细胞在和aPD-1结合后通过某种方式促进了DC分泌IL-12。



如果说“CD8⁺T细胞对aPD-1介导的DC分泌IL-12有重要作用”，那么how? 因为aPD-1治疗的效果实现核心机制就在于恢复/促进CD8⁺T细胞分泌IFN γ ，因此作者猜测DC是受到了IFN γ 的“感召”才分泌IL-12的。

如下图D: 用IFN γ 抗体去除IFN γ 并给予aPD-1治疗，发现肿瘤内的IL-12水平在IFN γ 不足的情况下产量锐减。补充材料指出，IL-12⁺DC和IL-12的MFI都明显下降。



上图E/F: 作者认为IFN γ 抗体的目标太大了，说服力不行。因此作者引入了Cd11c-Cre杂Ifn γ Rfl/fl鼠: DC特异性的不表达IFN γ 受体。结果显示: 该种鼠在aPD-1治疗后DC不能产生IL-12, aPD-1抗体的疗效也被大幅削弱。

这组图揭示了DC“感受到”IFN γ 对于其分泌IL-12的重要作用，也把aPD-1的“传统”功能（IFN γ 分泌增强）和本文发现的新机制结合了起来。

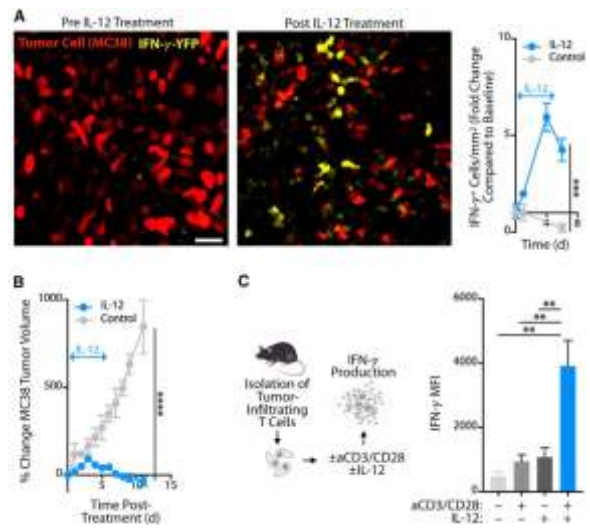
Fig.4 论证IFN γ -IL22-IFN γ 为一闭环，并指出aPD-1对促进该闭环在肿瘤中正常工作、发挥抗癌效应有重要作用

下一个问题: DC分泌的IL-12和aPD-1发挥疗效有什么关系?

上文中已经指出，IL-12⁺DC在aPD-1治疗后于肿瘤局部的聚集，这个不仅是个有趣的现象，更是aPD-1疗效实现的重要保障（图2I，图3E/F都能说明这点）。

首先作者通过一系列分析证明这些个现象/机制大部分或全部都发生在肿瘤局部。这有好几张图，就不展开了，但是这部分是不可或缺的证明步骤，否则问题就复杂化了。

作者又拿出了他的绝活: 活体成像技术。他在不给予aPD-1治疗的情况下直接给予IL-12，发现肿瘤中IFN- γ ⁺细胞显著增加（下图A），肿瘤生长也得到明显抑制（下图B）。图C是体外验证: 作者分选了肿瘤浸润T细胞，利用aCD3/CD28刺激活化并给予IL-12，发现IL-12对T细胞（尤其是活化了的）分泌IFN γ 有促进作用。



上面这组图的结论还是很有意义的: 一直说CD8⁺T分泌IFN γ 促进DC分泌IL-12，现在形成了闭环，即DC分泌IL-12也能促进CD8⁺T分泌IFN γ 。

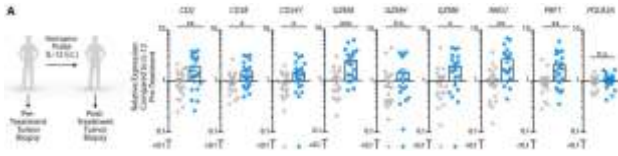
江河奔入海，受日照蒸发，作雨露落下，重汇成江河。任何闭环，能不能转的起来，取决于每一个节点是否OK。上述结果中C图中的“仅有IL-12无aCD3/CD28组”的低IFN γ 产量提醒我们: 这个闭环是否可以“越转越快、持续放大”，它的决定因素之一就是T细胞活化情况，或者说在现在这个故事背景下即是，肿瘤浸润T细胞的PD-1有没有被aPD-1很好的保护起来。否则，肿瘤浸润T细胞就不能产生足够的IFN γ ，DC也就不能分泌足够IL-12; 而即便IL-12量够，由于T细胞的PD-1被肿瘤细胞等的PD-L1“欺骗”，激活水平降低，IL-12的促IFN γ 效果可能也会大打折扣。同时，本组结果中“仅有aCD3/CD28而无IL-12组”产生IFN γ 水平并不高，这也再次强调了DC及其分泌的IL-12在aPD-1疗效发挥中的巨大作用: 没有DC产生IL-12，即便用了aPD-1也不能使CD8⁺T产生巨大杀伤能力，就好比战斗力爆棚的战士穿上了厚重的盔甲却只拿一把小水果刀一样。

后续的Fig567都属于内容的扩充，已经不再影响本文的根基理论。当然，作为高影响力的论文，它的扩充部分也有很大的启发乃至转化意义。

Fig.5 人类样本论证IL-22可通过增强细胞免疫水平发挥抗肿瘤作用

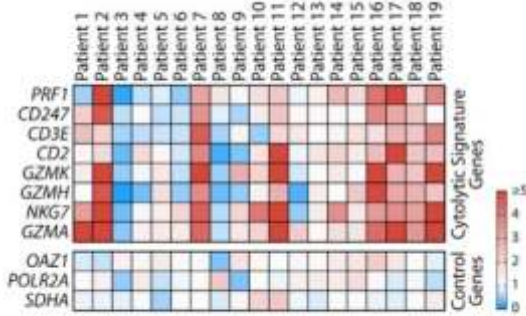
上面都是在鼠植瘤模型中做的，下面作者将利用附属医院的资源优势，从病人样本入手寻找支撑证据。作者找到了两组病人。

第一组是19位接受IL-12瘤内注射治疗（ImmunoPulse）的黑色素瘤患者。如下图A，治疗后，肿瘤活检样本内众多细胞杀伤相关基因显著上调。

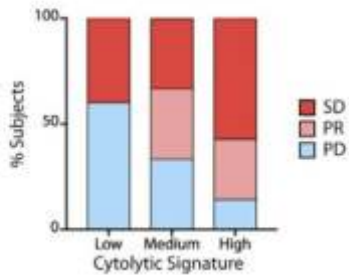


如下图C，较高的上述基因表达水平，也对应着较好的治疗效果。这提示IL-12增强了免疫细胞的杀伤功能。如下图D，作者从另一组6位不同实体瘤患者的肿瘤样本中分离得到T细胞，重复了类似于Fig4C的实验。因为这6位患者肿瘤类型不完全相同，所以数据差异较大；但在大部分患者中，都见到了类似于Fig4C的结果。

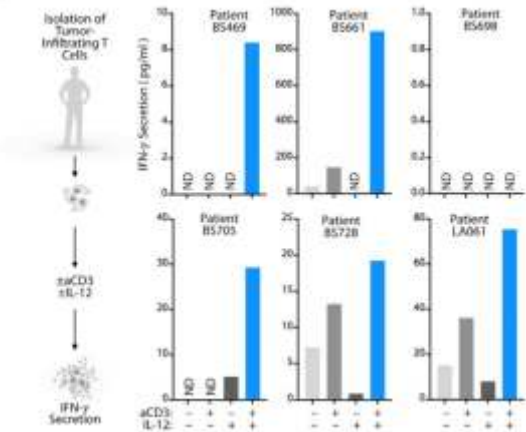
B



C



D



这组图从人类样本的角度，证明了IL-12可以增强肿瘤局部免疫细胞杀伤功能。

Fig.6 探寻IL-12⁺DC的扩增方法

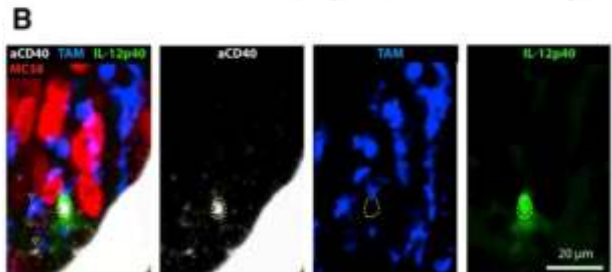
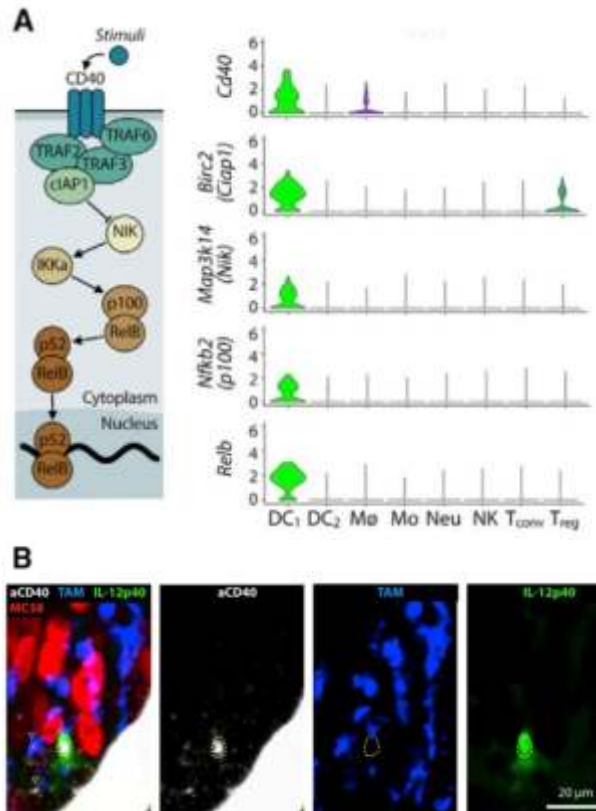
既然作者已经基本探明了IFN γ \rightarrow IL-12 \rightarrow IFN γ 的环路，且选择临床上又有如Fig5中提及的那种IL-12注射疗法，那为什么不寻思一下DC表达IL-12的机制、寻找促进DC的IL-12表达的方法？

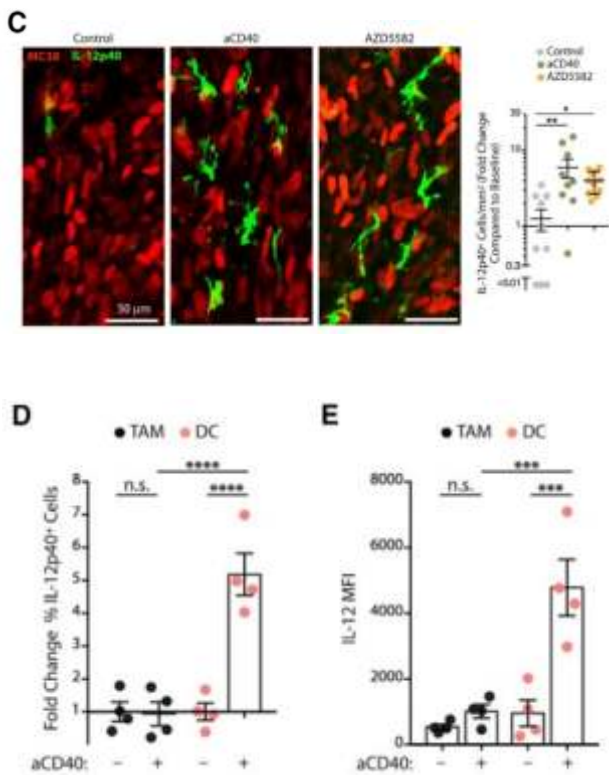
不知道作者从哪里想到了非经典的NF- κ B通路。文献指出，该通路的活化可以激活细胞毒细胞。作者又回顾了手头的单细胞测序数据，发现许多该通路中的基因在DC1中表达（如图A）。这都提示非经典的NF- κ B通路与IL-12与细胞免疫有密切的关系。那么，通过非经典的NF- κ B通路可否增加IL-12⁺DC / DC中IL-12的表达呢？

如下图A左侧的机制图，这个非经典的NF- κ B通路略微有些复杂：在无外界刺激时，TRAF2/TRAF3/cIAP复合体会结合NIK并降解之；在有刺激由CD40传入后，TRAF2/TRAF3/cIAP将会结合到CD40上，而cIAP亦会活化并泛素化标记TRAF2以促进之降解，进而使NIK得以大量聚集并引发下游反应。

感兴趣的同学可以参阅如下综述：
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5753586/>

作者这里采用了两种方式识图激活这个非经典的NF- κ B通路：aCD40作为CD40L和cIAP1的抑制剂 AZD5582。



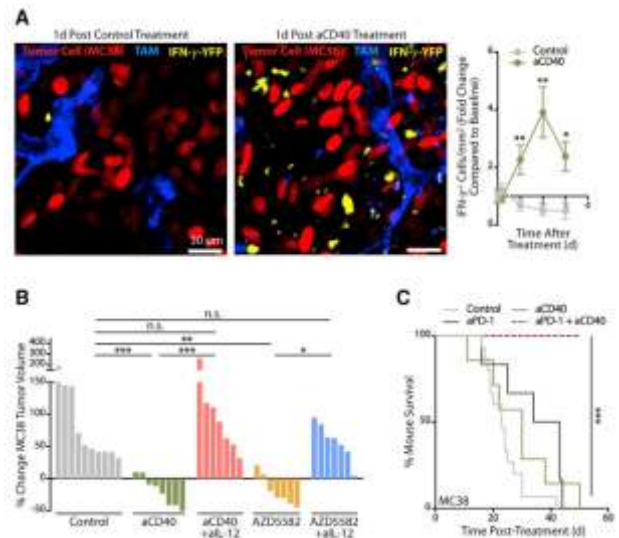


如上图B，作者通过活体成像观察发现，抗CD40抗体（aCD40）与IL-12⁺细胞及部分TAM。如上图C，两种激活非经典的NF- κ B通路的方法都使得肿瘤浸润IL-12⁺细胞数量明显增加。此外作者补充交代：体外培养的DC细胞在如上述方法激活非经典的NF- κ B通路后也见到了IL-12的大量产生。而CD40也是B细胞的重要激活受体，但作者证明了B细胞的有无不影响aCD40的疗效。图D/E证明了上述在aCD40治疗后激增的IL-12⁺细胞不是TAM，而是DC。

这组图揭示了非经典的NF- κ B通路激活对于DC分泌IL-12的促进作用。这里需要注意：上文没有论证说IFN γ 是通过非经典的NF- κ B通路激活来促进IL-12分泌的——这里完全只在探讨expand IL-12⁺DC的方法。有同学可能会疑惑：“常规”的思路，难道不是“应该”探索IFN γ 导致DC分泌IL-12的机制或者IL-12导致T细胞分泌IFN γ 增多的机制吗？我也觉得这样可能更“标准”一些。不过作者可能并不在意，或是认为有关机制已经比较清晰。既然IL-12⁺DC在aPD-1治疗的疗效发挥中起到非常重要的作用，那么从转化角度出发，就更需要知道有什么方法可以expand IL-12⁺DC。

Fig.7 扩增IL-12⁺DC可以IL-12依赖的方式增强aPD-1疗效

既然aCD40处理可以增强DC的IL-12表达，那么它是否也可以促进肿瘤中T细胞分泌IFN γ ？如下图A，是的。



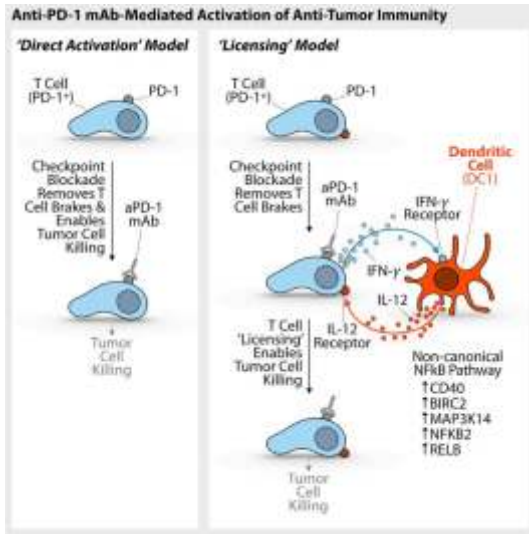
如上图B，aCD40也可以取得疗效，且其疗效是IL-12依赖性的——一旦用aIL-12清除IL-12，不管是aCD40还是AZD5582的疗效都被取消。

既然aCD40可通过促进IL-12⁺DC细胞的expansion来加强肿瘤免疫，而前文又说了aPD-1依赖于IFN γ -IL-12的loop，那么两者合用应该可以得到更好的疗效。上图C的生存分析即证明了这一点。

上图D：作者更换了肿瘤类型，发现在恶性度高、对aPD-1反应不好的B16F10恶性黑色素瘤中，联合疗法仍可取得更好的疗效。图E：对于联合疗法治愈的小鼠，50d后再次注射肿瘤，发现他们无一复发，而对照组全部复发。图F：在体荷瘤实验指出：在单用aPD-1疗效很差的时候，联合疗法却可取得极好的疗效。图G指出：单用aCD40治疗也不怎么管用、联合疗法的疗效至少部分是依赖于IL-12的。

这组图中，作者利用aCD40（通过激活非经典的NF- κ B途径来）促进DC的IL-12表达，而表达更高水平IL-12的DC强化了aPD-1的疗效。这在侧面支撑了本文的一个核心想法，即DC分泌IL-12以强化aPD-1所捍卫的肿瘤免疫。除此之外，本图尚给大家提供了临床转化的新思路：可否把以aCD40为例子的促进IL-12⁺DC扩增的药物，与aPD-1类药品联用？会不会取得更好的疗效？

下面是本文的graphic abstract



通常人们认为aPD-1类药品的主要作用机理就是blocked了T细胞的“阿喀琉斯之踵”PD-1，让肿瘤浸润T细胞“出淤泥而不染”，身处肿瘤内免疫抑制的不良环境仍能继续分泌IFN γ 发挥杀伤作用。

本文给大家描绘了不一样的另一幅图景：aPD-1与肿瘤浸润T细胞上的PD-1结合后，可能是像我们预想的一样因为blocked了PD-1，从而保护T细胞免受PD-L1的“蛊惑”并分泌出较多的IFN γ 。然而故事到此只是第一步：这些IFN γ 除了杀伤肿瘤外，还作用于DC（其实只是DC的一种，DC1）的IFN γ R上，进而促进IL-12在DC的表达。IL-12则可进一步促进T细胞细胞免疫杀伤能力，分泌IFN γ ，从而进一步增强细胞免疫杀伤；同时又形成一个闭环——IFN γ 还可反过来促进IL-12在DC的表达。

上述这一牵扯到固有免疫和细胞免疫的复杂图景——而不仅是设想中那简单的PD-1 blockage——是aPD-1疗法发挥“神奇”疗效的重要支柱。如果肿瘤浸润DC较少或未能表达足够的IL-12等，将会导致闭环断裂，严重影响aPD-1治疗的效果；而如果透过例如非经典的NF- κ B途径加强肿瘤浸润DC的IL-12表达，则可以强化aPD-1的疗效，取得更好的预后。

Cell子刊：

临床应用篇

PD-1抗体抗癌的真相，我们理解错了！麻省总医院科学家发现，与PD-1抗体结合的T细胞只有收到DC细胞的指令才抗癌

来源：奇点网；广西医科大学肿瘤医院于起涛教授推荐

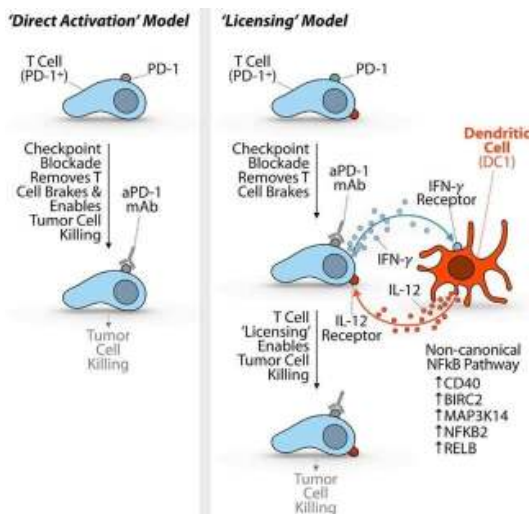
【于起涛教授点评】如果把人体的免疫系统比作武侠小说中的“江湖”，那么免疫系统中的成分则是“江湖中的各个名门正派”。而肿瘤则是隐藏在正派中“邪门歪道”。肿瘤与免疫系统的战争已经持续了无数年了，双方都施展了浑身解数想击败对方，真正的战争或许要远比我们想得更复杂。只有将各“名门正派”统一起来，联合抗敌，这才是克敌制胜的最终办法。

我们对免疫治疗机制认识可能错了。

一直以来，大家认为只要PD-1抑制剂阻止肿瘤细胞踩免疫细胞的刹车，抗肿瘤能力自然就有了。然而，事情并非可能并没有我们想象的这么简单。

最近，麻省总医院的Mikael Pittet博士领导的研究团队，在著名学术期刊*Immunity*上发表研究成果，刷新了我们对PD-1抗体起作用的认知。

他们发现，当PD-1抗体结合到T细胞的PD-1受体上后，T细胞并没有立即获得抗癌能力；只有另一种免疫细胞——树突状细胞——发放“授权”之后，杀伤性T细胞才能发挥抗肿瘤的作用。而杀伤性T细胞与树突状细胞之间需要通过干扰素- γ （IFN- γ ）和白细胞介素12（IL-12）进行信息交流，这之间涉及到一系列信号通路的激活。



左边为以前的认知，右边为本次的新发现

此外，科学家还发现了增强PD-1抗体抗癌效果的联合治疗方法，而且这种联合治疗能使小鼠保持对肿瘤的免疫记忆，防止肿瘤复发！

这个发现表明，免疫治疗不是“兵来将挡，水来土掩”这种简单的局部攻防战，在PD-1-PD-L1这条轴线背后，可能隐藏着一条更长的战线，一个更加广阔的战场。

其实Pittet博士团队的这个发现，也属偶然。

之前的研究表明，在肿瘤内，各种细胞因子，包括IFN- γ 、IL-12很活跃，并且这俩在免疫作用中扮演着重要角色^[2-3]。但是人们对它们在肿瘤免疫中发挥的作用一直不是很清楚。



Mikael Pittet博士

于是，Mikael Pittet教授团队想好好地认识下它们二位。他们将IFN- γ 和IL-12打上荧光标签，然后用一种单细胞活体成像的技术追踪这两个因子在肿瘤内的活动情况，其中肿瘤也用荧光进行了标记。

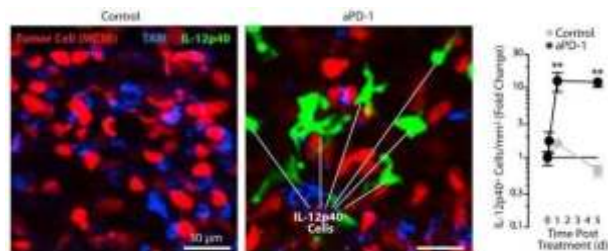
活体成像结果显示，在小鼠接受了PD-1抗体注射一天后，肿瘤中表达IFN- γ 的细胞数量增加了6倍，其中最多的就是具有肿瘤杀伤功能的杀伤性T细胞。与此同时，表达IL-12的细胞数量增加了12倍，而这些细胞在形态上很像树突状细胞，并且显示其具有运动能力。

随后，研究人员对肿瘤中的细胞进行单细胞测序，证实树突状细胞确实表达了大量的IL-12。

当他们将小鼠的树突状细胞消除后，再用PD-

1抗体进行治疗时，发现小鼠对肿瘤不再有免疫反应。而当用IL-12抗体中和掉IL-12时，PD-1抗体同样不再起作用。

这说明，只有当树突状细胞表达IL-12时，免疫治疗才会发挥作用。也就是说，树突状细胞通过表达IL-12赋予了杀伤性T细胞抗肿瘤活性。



绿色的为表达IL-12的树突状细胞

那原本置身事外的树突状细胞是如何发挥作用的呢？

研究人员将肿瘤中的杀伤性T细胞消除后，发现树突状细胞表达IL-12也被抑制了，这表明树突状细胞应该是接到了杀伤性T细胞的讯号，才开始行动。

联系到杀伤性T细胞会表达大量的IFN- γ ，科学家推测IFN- γ 可能就是发出讯号的信使。

果不其然，将IFN- γ 阻断后，IL-12的表达也大幅削弱，这表明树突状细胞可能是通过感应IFN- γ ，进而启动IL-12表达的。

研究人员用IL-12刺激杀伤性T细胞，发现杀伤性T细胞能够生产更多的IFN- γ 。这说明，杀伤性T细胞与树突状细胞，IFN- γ 与IL-12之间形成了一个相互促进的正向循环。此外，IFN- γ 还能激活另一种CD28细胞，使CD28细胞拯救耗竭的杀伤性T细胞^[4]。



树突状细胞

当然，以上看起来都是一些次要的辅助作用，好像起不到决定性作用。

实际上，IL-12的主要作用在于能激活杀伤性T细

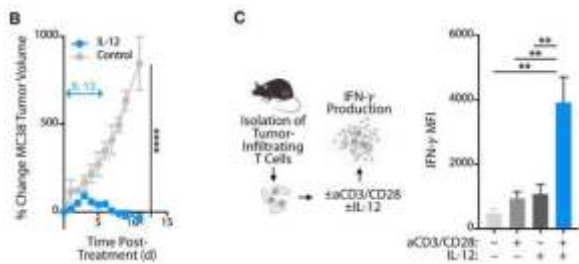


胞很多功能基因的表达。

研究人员从黑色素瘤病人身上提取了免疫治疗前后的肿瘤组织，然后将IL-12编码基因转入肿瘤组织中。检测发现，随着IL-12的表达，肿瘤组织中细胞溶解基因的表达也被激活了，表明发生了肿瘤免疫反应^[5]。

而将肿瘤组织中浸润的杀伤性T细胞分离出来，用IL-12去刺激，发现杀伤性T细胞具备了抗肿瘤活性，直接证明了IL-12能激活杀伤性T细胞。

通过这些实验，科学家证明使用PD-1抗体进行治疗后，需要树突状细胞通过表达IL-12“授权”，杀伤性T细胞才能发挥抗肿瘤功能。



IL-12增强T细胞抗肿瘤活性

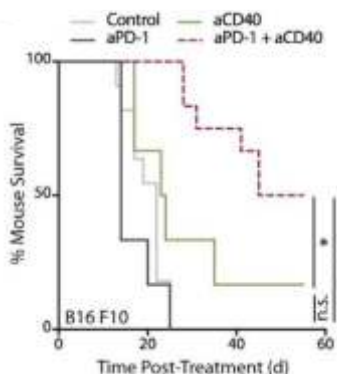
要是树突状细胞不“授权”或者“授权”受到干扰怎么办？这或许是免疫治疗无法在某些肿瘤中发挥作用的原因。

反过来想，我们是否可以人工增强树突状细胞的这种“授权”能力，增强免疫治疗的效果呢？

这需要我们知道树突状细胞生产IL-12是受到哪些因素的影响。

通过测序发现浸润到肿瘤组织中的树突状细胞生产IL-12时，是受到NF-κB通路调控的。而且，研究人员证明可以通过药物激活NF-κB信号通路，进而能增加IL-12的表达。

随后，他们在小鼠肿瘤模型中证明，在用PD-1抗体进行免疫治疗的同时，激活NF-κB信号通路进行联合治疗，可以显著提高免疫治疗的效果。



联合治疗的效果最好

并且，科学家们还发现了额外的惊喜。

当小鼠的肿瘤被联合治疗治好，再次给小鼠移植肿瘤时，肿瘤无法重建，小鼠保持了对肿瘤的免疫记忆！

当然，实际的效果还要等待进一步的研究，以及临床试验的验证。

这是科学家首次发现树突状细胞在免疫治疗中发挥了至关重要的作用，杀伤性T细胞的抗肿瘤活性需要由树突状细胞启动。这也提醒科学家，免疫治疗背后存在着复杂的作用机制，需要更加深入地探索。

对背后机制的揭示将有助于加深对癌症免疫治疗的了解，进而提高免疫治疗的效果。

Pittet博士说道：“激活NFκB通路增加了树突状细胞的数量和IL-12的表达，进一步增加了杀伤性T细胞的抗肿瘤活性。这表明，促进肿瘤内IL-12表达的药物可以进一步提升抗肿瘤反应。现在，我们需要更加深入地了解肿瘤中的树突状细胞，并探索激活这些细胞的药物是否对更多类型的肿瘤有效，以帮助更多的癌症患者。”

参考文献：

- [1] Garris CS, Arlauckas SP, Kohler RH, et al. Successful Anti-PD-1 Cancer Immunotherapy Requires T Cell-Dendritic Cell Crosstalk Involving the Cytokines IFN-γ and IL-12[J]. *Immunity*, 2018, 49(6):1148-1161.
- [2] Galon J, Angell HK, Bedognetti D, et al. The continuum of cancer immunosurveillance: prognostic, predictive, and mechanistic signatures[J]. *Immunity*, 2013, 39(1):11-26.
- [3] Nastala CL, Edington HD, McKinney TG, et al. Recombinant IL-12 administration induces tumor regression in association with IFN-gamma production[J]. *J Immunol*, 1994, 153(4):1697-706.
- [4] Hui E, Cheung J, Zhu J, et al. T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1-mediated inhibition[J]. *Science*, 355(6332):1428-1433.
- [5] Rooney MS, Shukla SA, Wu CJ, et al. Molecular and genetic properties of tumors associated with local immune cytolytic activity[J]. *Cell*, (1-2):48-61.

产业发展篇



本期执行主编：岑洪

- 广西抗癌协会淋巴瘤专业委员会主任委员
- 广西抗癌协会化疗专业委员会副主任委员
- 广西医师协会血液医师分会常委
- 广西医学会血液学分会常委
- CSCO淋巴瘤联盟专家委员会委员

一 目次

- 1 改良的新型PD-1敲减anti-CD19 CAR-T细胞治疗让白血病母亲获得新生
- 2 NEJM: CAR-T治疗的前世、今生和未来
- 3 NEJM: 抗CD19 CAR-T治疗复发/难治弥漫大B细胞淋巴瘤II期临床研究数据
- 4 CAR-T治疗淋巴瘤: 单点制备, 全球运送, 疗效有保障
- 5 Nature Medicine: 北大朱军组报道安全有效的抗CD19 CAR-T细胞疗法

二 导语

CAR-T(Chimeric Antigen Receptor T-Cell)治疗, 即嵌合抗原受体T细胞治疗。该疗法是在上世纪90年代提出来, 近几年才被改良使用到临床中的新型细胞疗法。使用第一代CAR设计的T细胞疗法在针对多种肿瘤患者治疗的初步临床试验结果是令人失望的。但在2011年, 靶向CD19和编码共刺激区的第二代CAR-T细胞在急性B淋巴细胞白血病和非霍奇金淋巴瘤的治疗上取得了突破性进展, 第一位接受CAR-T治疗的白血病小女孩艾米丽生存至今已超过六年。2017年8月, FDA批准诺华的CAR-T疗法Kymriah (tisagenlecleucel) 上市, 用于治疗罹患B细胞前体急性淋巴细胞白血病(ALL), 且病情难治或出现两次及以上复发的25岁以下患者, 这是人类历史上批准的首款CAR-T疗法, 仅仅两个月之后, 2017年10月, Kite Pharma的CAR-T疗法Yescarta (axicabtagene ciloleucel) 获得FDA批准上市, 成为第二款获批的CAR-T疗法, 用于治疗已接受两种或两种以上系统治疗的复发或难治性大B细胞淋巴瘤患者。除了疗效, Kymriah和Yescarta价格也一直备受关注, Kymriah定价为47.5万美元, Yescarta定价为37.3万美元。在中国, 国家目前也出台了相关政策, 积极鼓励进行相关领域的研究, 目前正在开展的临床研究数量, 中国已经超过了美国, 排名全球第一, 但是在规范、流程、质控及高水平工业化的过程中, 国内还有很多东西需要学习, 相信在未来, CAR-T细胞治疗技术会成为独立于手术、放疗、化疗、分子靶向治疗之外的又一类肿瘤治疗技术。



改良的新型PD-1敲减anti-CD19 CAR-T细胞治疗让白血病母亲获得新生

产业发展篇

生活为你关上一扇门，同时就会为你打开一扇窗。化疗无望时，CAR-T细胞治疗开启“希望之门”！

来源：肿瘤资讯；广西医科大学附属肿瘤医院岑洪教授推荐

2018年6月，怀有29周身孕的徐女士沉浸在即将做母亲的喜悦之中。然而，有一天，在产前检查中发现血细胞异常，到广西医科大学一附院做骨髓细胞学检查，结果出来犹如晴天霹雳。医生的诊断报告是“急性B淋巴细胞白血病（复杂核型）”。是放弃孩子，引产做化疗？还是继续妊娠，实现做母亲的梦想？如何抉择让徐女士和家人陷入困境，而徐女士的决定让人再次体会到母性的伟大。为了避免化疗对胎儿造成伤害，她毅然决定继续保胎，放弃任何白血病的治疗。

艰难地熬过1个多月的保胎时间，终于在2018年7月27日顺利产下了一个可爱的男孩。徐女士开始接受化疗，经过一个多月的治疗，白血病得到了控制，骨髓复查达到了完全缓解，眼前的一切又变得明亮了起来。徐女士说，我不怕化疗的辛苦，只要能治好病，我希望看着孩子长大、听他叫妈妈……

本以为一切都在好起来，可是经历了两次巩固化疗后，疾病进展了，骨髓的白血病细胞长到了84%，徐女士和家人再次遭受巨大打击。以后该怎么办？孩子还不会走路、还不会叫妈妈……徐女士看着躺在怀中甜甜睡去的孩子，继续活下去的愿望让她再次坚强起来。

生活总是在关上了一扇门的时候，又为你打开了另一扇门。常规的化疗已经没有希望，徐女士的主治医师打听到广西医科大学附属肿瘤医院正在进行CAR-T细胞治疗急性B淋巴细胞白血病的临床研究，让患者过来咨询。肿瘤医院淋巴血液肿瘤科的岑洪主任仔细研究了患者的病情，决定给患者进行PD-1敲减的anti-CD19 CAR-T细胞治疗。医生采集患者的外周血，武汉张同存教授团队进行CAR-T细胞培养，经过10多天的培养，CAR-T细胞达到了治疗所需的剂量。徐女士说，看着细胞输入体内，我的心情是很忐忑的，我知道这是最后的希望，万一没效……我不愿去想。

细胞回输后，徐女士经历了两周的粒细胞缺乏期，期间出现感染，发生了2级的细胞因子释放综合

征（CRS），持续高热达到40℃，出现低血压，监测白介素-6明显升高，经抗感染、输血、托珠单抗等支持治疗，血常规逐步恢复正常。一个月后复查，骨髓微小残留病变检测显示已经没有白血病细胞！经过一次CAR-T细胞治疗，患者达到了深度缓解！

岑洪主任介绍说，CAR-T细胞治疗跟传统的细胞治疗不同，科学家给CAR-T细胞安装了能识别肿瘤细胞的特殊嵌合受体，细胞进入体内，能够定向巡航到肿瘤部位，攻击肿瘤细胞。对复发难治的B淋巴细胞肿瘤，被认为是最有前景的治疗方法。未来CAR-T细胞治疗技术会成为继手术、放疗、化疗、分子靶向治疗之外的第五大肿瘤治疗技术。新技术的出现尚需时间考验，但是从CAR-T细胞治疗技术现阶段的发展来看，是很有希望的。2012年6岁的急性淋巴细胞白血病小女孩艾米莉在无药可医的情况下，尝试了研究性CAR-T细胞治疗，奇迹至此发生，治疗后她一直健康的生存至今。2017年，美国FDA批准了两款CAR-T细胞上市，诺华的CAR-T细胞疗法Kymriah在美国的定价为47.5万美元，Kite的Yescarta定价为37.3万美元。在国内，目前还处于临床研究阶段，患者可以免费获得CAR-T细胞。

CAR-T细胞在体内扩增和长期生存的能力，是患者取得持久疗效的关键，肿瘤细胞常常表达PD-L1，能够跟CAR-T细胞表面的PD-1结合，诱导CAR-T细胞程序性死亡。目前有临床研究探讨PD-1单抗联合CAR-T细胞治疗是否能进一步提高疗效，但这种情况下，由于全身使用PD-1抑制剂，除了CAR-T细胞外，患者体内其它T细胞也会受到影响，因而可能产生全身副作用。如何提高疗效，又不增加毒性是临床需要解决的关键问题。武汉张同存教授团队开展设计了一款新型的CAR-T细胞，通过导入siRNA敲减CAR-T细胞的PD-1表达，体外研究和动物实验表明，改良后的CAR-T细胞对肿瘤细胞的杀伤效应更强，在体内存活的时间更久。

目前疗效最好、最成熟的靶点是针对CD19的CAR-T细胞。急性B淋巴细胞白血病和B细胞淋巴瘤

常常表达CD19抗原，PD-1敲减的anti-19 CAR-T细胞有可能比常规的CAR-T细胞效果更好。岑洪主任介绍，目前广西医科大学附属肿瘤医院正在和武汉张同存教授团队合作联合开展的这项研究，对复发难治B细胞淋巴瘤也取得了很好的初步结果，正在进一步扩大临床试验入组病人和随访观察中。

随着对CAR-T细胞免疫疗法更深入的研究，更多的患者将会向死而生，艾米莉和徐女士的故事将会在更多的淋巴血液肿瘤患者身上得以延续。

从绝望到希望，在接受了CAR-T细胞治疗之后，Emily重获新生。细胞治疗这个全新的领域，一时间也成为了人类攻克肿瘤性疾病的关注重点。



NEJM: CAR-T治疗的前世、今生和未来

产业发展篇

6年前6岁的急性淋巴细胞白血病小女孩Emily在无药可医的情况下，尝试了研究性CAR-T细胞治疗，奇迹至此发生，治疗后她一直健康的生存至今。CD19 CAR T细胞治疗自此以百米速度进入公众视野和临床实践。其中CAR，即嵌合抗原受体，是该治疗的核心要素。美国June教授在NEJM杂志撰文论述了CAR-T细胞的发展简史，着重于现有CAR-T治疗的有效性和毒性作用，并展望了CAR-T治疗的未来发展与挑战。

来源：肿瘤资讯；广西医科大学附属肿瘤医院岑洪教授推荐

癌症免疫治疗是通过增加机体对肿瘤细胞的免疫反应达到治疗癌症的目的。免疫肿瘤学作为新型治疗策略，与化疗、手术、放疗及小分子靶向药物联合，在转移癌治疗上已取得成功。免疫肿瘤学药物涵盖广泛，包括抗体、疫苗、细胞因子、溶瘤病毒、双特异分子和细胞治疗等。基因工程化T细胞是一类新的治疗药物，嵌合抗原受体（CAR）T细胞已获FDA批准治疗白血病和淋巴瘤。

▶▶ 免疫肿瘤学

上世纪80年代，细胞输注治疗肿瘤首次用于临床，使用的细胞是转移黑色素瘤患者自体肿瘤浸润淋巴细胞或是白血病异基因供者的淋巴细胞。上世纪90年代兴起的转基因技术促进了T细胞受体或CARs T细胞的产生。CARs是工程化受体，具有明确特异性，植入免疫效应细胞（多为T细胞）内，能增加细胞功能，这些细胞输注后可植入患者体内并进行增殖。每个CAR T细胞可杀死多个肿瘤细胞，并有促进免疫监视、预防肿瘤复发、协同肿瘤浸润淋巴细胞攻击肿瘤等作用。

免疫肿瘤学的核心挑战是，多数肿瘤抗原为自身抗原，在正常组织也可表达，因此抗肿瘤免疫反应多

短暂且疗效欠佳，这是因为宿主免疫反应的进化过程中会趋向于阻止自身免疫发生，而T细胞工程恰恰可以帮助克服这种免疫耐受。

▶▶ CD19 CAR-T细胞

CARs是合成受体，植入T细胞后可以直接重塑T细胞的特异性、功能和代谢。CARs包括T细胞活化区和胞外免疫球蛋白衍生的重链与轻链，与T细胞的特异性相关。上述结构称作一代CARs，非HLA依赖性识别抗原，因其信号能力有限而不能实现持续T细胞反应。

嵌合共刺激受体，能增加T细胞增殖和抗凋亡能力，是双重信号CARs成功的基础，功能性T细胞重复抗原暴露后可有效扩增，这类受体称作二代CARs，可产生持续作用，是现代CAR-T细胞治疗的基础。

选择CD19作为靶点，是因其频繁表达于B细胞白血病和淋巴瘤，且表达程度和水平远高于其它潜在靶点，如CD20、CD22。CD19还可表达于正常B细胞，因此可致B细胞增生不良，可通过输注免疫球蛋白减轻B细胞减少对体液免疫的影响，B细胞增生不良先于机体对CAR产生的抗体反应。



2007年FDA批准研究性CD19 CAR治疗，该治疗中采用了 γ 逆转录病毒或慢病毒载体编码含CD28或4-1BB共刺激分子的CARs。临床研究很快显示出该药对复发难治B细胞肿瘤的有效性，而且治疗反应具有可持续性。

目前虽缺少各类CAR-T细胞治疗的头对头研究，但根据现有研究结果可得出如下结论：含有小鼠序列的药物可触发宿主免疫导致药物失效，缺少免疫原性可使CAR-T细胞持续存在，改善白血病复发生存，因此CAR设计以全人源化序列为优选。

▶▶ CAR-T细胞的相关毒性

所有癌症治疗均有副反应，CAR-T细胞也不例外，其毒性主要来自靶作用，与抗体单链可变区片段的特异性和T细胞活化有关。当靶细胞被清除或植入的CAR T细胞消失后，副反应也随之消失，这与传统细胞毒化疗的脱靶毒性作用完全不同。传统化疗毒性可导致组织细胞永久性遗传学改变，甚至累及干细胞，从而影响长期临床结果。

B细胞增生不良是可预测的不良反应，因为CARs靶向的是B细胞分化抗原。临床研究显示，CD19 CARs所致的B细胞增生不良更彻底，超过了利妥昔单抗，在CAR-T细胞去除后可快速恢复。CAR所致B细胞增生不良的治疗指南不断完善，成人和儿童治疗并不相同，因为儿童具有不完全的长期存活的浆细胞和较弱的体液免疫。

CAR-T细胞治疗时，部分患者出现发热、低血氧、低血压和神经系统改变，伴明显细胞因子增高，上述改变称作细胞因子释放综合征（CRS），其发生与CD19和B细胞成熟抗原（BCMA）CARs相关。就CD19 CARs而言，CRS的严重程度与肿瘤负荷相关，甚至可发展为危及生命的毛细血管渗漏综合征。对CAR治疗无反应患者少有CRS发作。CRS发生与T细胞活化和高水平细胞因子有关，如干扰素 γ 和IL-6。托珠单抗为IL-6受体拮抗剂，对严重CRS有治疗作用，已获FDA批准使用。如阻滞IL-6受体仍不能快速缓解症状，应立即糖皮质激素治疗。

所有针对CD19和BCMA的CAR T细胞治疗都具有神经毒性，双特异性抗CD19和CD3单抗blinatumomab也有类似神经毒性，因此推测神经毒性的发生与针对CD19靶抗原相关。虽然造成神经毒性的具体机制并不清楚，但毒性通常完全可逆，与癌症中枢神经系统（CNS）转移并无关系，神经毒性发

作时可发生脑水肿，目前治疗仍是经验性治疗。因为CRS风险和神经毒性，FDA要求使用CAR-T细胞治疗前，医师和医院工作人员要完成副作用治疗的相关培训。

病毒载体整合进入人体也是需要关注的安全问题。目前已有超过1 000例患者接受了T细胞受体或CAR调整后T细胞的治疗，尚未发生肿瘤转化。

▶▶ 其它类型CAR治疗

CD19 CAR-T治疗是目前最成功、也是最广为人知的CAR-T治疗，从中可得出一些结果：B细胞增生不良说明CAR-T细胞也可对正常组织造成损害，虽然CD19 CAR-T治疗的这一副作用并不威胁生命，但其它靶点的其它副作用可能会威胁生命；CD19 CAR-T治疗完全缓解后复发时CD19阴性，说明存在抗原逃逸；靶向CD19的有效性优于CD20和CD22，提示高密度CAR靶点表达疗效更优；一些髓外疾病，如后腹膜或CNS白血病，对治疗无反应，缺少髓外疾病反应率的正式评估数据；不清楚为什么急性淋巴细胞白血病的CD19 CAR-T治疗反应明显优于慢性淋巴细胞白血病或非霍奇金淋巴瘤，疾病部位、肿瘤微环境和宿主T细胞功能可能与之相关。

CAR治疗对B细胞肿瘤的有效性为其它恶性血液肿瘤的治疗提供了范例，现已开始探讨治疗多发性骨髓瘤的CAR靶点，如kappa轻链、CD138、Lewis Y抗原、BCMA、CS1、CD38和整合素 β ，其中靶向BCMA的研究结果很好。急性髓系白血病的CAR靶点也在探讨中，包括CD33、CLEC12A、CD44v6、EMR2、Tim3、CD70、Lewis Y抗原、CD123和叶酸受体 β ，其中CD123 CAR-T细胞可导致致死性并发症，因此需要谨慎评估此靶点。对缺少类似CD19这样优质靶点的疾病，同时靶向 ≥ 2 个抗原，对减少抗原逃逸、同时不加重毒性有一定作用。

▶▶ 细胞工程与合成生物学

遗传工程与合成生物学的联合与发展为制造更强功能的T细胞提供了可能：组合靶点T细胞，可识别2种抗原，增加了治疗的有效性和安全性；工程化T细胞可作为载体进入肿瘤微环境；通过可控式自杀开关进一步改善T细胞的使用安全性；核酸酶为T细胞基因敲除或转基因提供了新方法。总之，技术的发展与整合，为更强功能细胞的发展提供了无限可能。

►► 挑战与未来

Cd19 CAR-T细胞是首个获得商业批准的转基因治疗。遗传工程化T细胞作为癌症精准治疗，其中最重要的科学挑战是CAR-T细胞如何治疗实体瘤，目前最突出的例子就是颅内使用IL13R α CAR T细胞治疗多发脑恶性胶质瘤，使肿瘤显著退缩，但在其它实体瘤的治疗上仍处于探索阶段，不但要疗效显著，同时还要预防或减少相关副作用。

自体CAR-T细胞治疗的巨大花费和治疗复杂性使其广泛应用受限。目前已通过多种基因编辑技术发展出普遍适用的CAR-T细胞，并在几名急性前B淋巴细胞白血病患者中治疗成功，但普遍适用T细胞面临的巨大挑战是如何避免宿主抗移植物反应和移植物抗宿主反应。采用人类胚胎干细胞和可诱导多潜能干细胞

作为T细胞来源，采用多种技术有可能生产出具有多种优秀特质的T细胞，包括抗原特异性、无同种异体反应、组织相容性和功能增强。

细胞治疗亦可用于其它疾病治疗，如自身免疫病、感染、炎症、退行性病变、伤口愈合和纤维化等，均可能从工程化效应T细胞或调节性T细胞治疗中获益。现全球有超过250个有关CAR治疗的研究，多数集中在美国和中国，少部分在欧洲和日本。总之，CD19 CAR-T细胞治疗肿瘤的获批，促进了工程化细胞治疗其它疾病的转化。

参考文献：

June CH, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy[J]. N Engl J Med, 2018, 379(1):64-73.

NEJM：抗CD19 CAR-T治疗复发/难治弥漫大B细胞淋巴瘤II期临床研究数据

产业发展篇

弥漫大B细胞淋巴瘤（DLBCL）是最常见的非霍奇金淋巴瘤，大部分患者经过一线R-CHOP免疫联合化疗疾病得到有效控制，但是10-15%患者存在原发耐药（3个月内疾病进展），20%~35%患者出现疾病复发。复发/难治的DLBCL有40%~60%对二线化疗有效，其中50%的患者可以进行自体造血干细胞移植，所有进行自体移植的患者中，有30%~40%可以获得良好疗效。不能进行自体造血干细胞移植的患者预后极差，1年和2年生存率分别为23%和16%。CAR-T细胞免疫治疗给这部分难治/复发的DLBCL患者带来新的希望，最近新英格兰杂志公布了JULIET临床试验的II期数据。

来源：新英格兰杂志；广西医科大学附属肿瘤医院岑洪教授推荐

JULIET是一项覆盖北美、欧洲、澳大利亚和亚洲10个国家、27个中心，抗CD19 CAR-T治疗复发/难治弥漫大B细胞淋巴瘤（DLBCL）的II期临床研究。抗CD19-CAR-T治疗入组条件包括：年龄 \geq 18岁；前期接受至少两个疗程的R-CHOP方案治疗；复发/难治患者

其中包括转化型DLBCL患者，双打击或三打击淋巴瘤。排除了原发性纵隔DLBCL，原发中枢神经系统淋巴瘤以及接受过异基因移植的患者。111例患者接受了CAR-T细胞输注，93例患者可供疗效分析。92%的患者CAR-T治疗前接受了桥接化疗以清除肿瘤细胞，包括联合利妥昔单抗（54%）、吉西他滨（40%）、依托泊苷（26%）、地塞米松（25%）、顺铂（19%）和阿糖胞苷（19%）以及新药治疗，如

伊布替尼（9%）和来那度胺（7%）。93%患者接受了免疫治疗的预处理方案（73%接受氟达拉滨-环磷酰胺联合化疗，20%接受苯达莫司汀单药治疗）。

治疗3个月时，总有效率为38%，完全缓解率为32%；6个月时，总有效率为33%，完全缓解率为29%；所有患者12个月生存率估计为49%，达到完全或部分缓解患者的12个月生存率为90%。对于常规治疗预后极差的双重打击/三重打击淋巴瘤有效率为50%，完全缓解率为25%。

常见的不良反应包括：细胞因子释放综合征（58%），贫血（48%），发热（35%），中性粒细胞计数减少（34%），血小板计数减少（33%），白细胞计数减少（33%），腹泻（32%）。治疗8周内需要特别关注的3级/4级不良事件是：细胞因子释



放综合征（22%）和血细胞减少（32%）。从CAR-T回输至细胞因子释放综合征发生的中位时间为7天（除1例，其余均在9天内发生）。细胞因子释放综合征的支持治疗措施包括：吸氧（24%），气管插管（7%），大剂量升压药（6%），透析（5%），24%患者转入重症监护室进一步治疗。14%患者予以托西单抗单药阻断（5%接受一剂，9%接受二剂），10%患者予以托西单抗+糖皮质激素阻断。21%的患者在输液后8周内发生任何级别的中枢神经系统症状，中位发生时间6天（1~17天），中位持续时间为14天。12%出现3级/4级中枢反应，大部分通过阻断（糖皮质激素）缓解，未观察到致死性脑水肿。30%患者在CAT-T细胞回输后予以静脉丙球治疗。总

体有3例患者在接受CAR-T细胞回输后30内死亡，均为淋巴瘤疾病进展。

参考文献：

Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, et al. JULIET Investigators. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma[J]. N Engl J Med, 2019, 380(1):45-56.

CAR-T治疗淋巴瘤：单点制备，全球运送，疗效有保障

产业发展篇

近年来，随着靶向CD19的CAR-T细胞在难治/复发B细胞淋巴瘤的挽救性治疗中取得神奇疗效，并在全球多个研究中心的临床试验中得以证实，一个急需回答的问题是：是否可以像其它生物药物一样，建立单一的CAR-T细胞制备中心，利用冷链向全球递送细胞？运输过程又会对CAR-T细胞的临床疗效与毒副作用产生何种影响？

来源：NEJM 医学前沿；海军军医大学附属长海医院血液内科杨建民教授，广西医科大学附属肿瘤医院岑洪教授推荐

2019年1月3日来自美国宾夕法尼亚大学的Stephen Schuster等代表JULIET研究组在《新英格兰医学杂志》发表（NEJM；2018年12月1日在线发表）的国际多中心2期关键性临床试验对此作出了回答^[1]。2017年12月Schuster等在NEJM上报道了应用靶向CD19的CAR-T细胞（CTL019）治疗28例成人难治/复发B细胞淋巴瘤（弥漫大B细胞性和滤泡性）单中心2a期研究结果，总体有效率达64%（18/28例），43%（6/14例）的弥漫大B细胞淋巴瘤和71%（10/14例）滤泡性淋巴瘤获得了完全缓解^[2]。

为进一步探讨CAR-T细胞治疗是否可以通过在单一地点制备，向全国甚至全球多个治疗中心运送，该研究成员单位除包括了美国多家顶级医学中心外，还有澳大利亚和欧洲的多个医学中心加盟。在接受CAR-T细胞回输超过2个月的93例成人难治/复发性弥漫大B细胞淋巴瘤患者中，总体有效率达52%，其中40%为完全缓解。一年的无复发生存率达65%，3-

4级细胞因子释放综合征发生率22%，神经毒性发生率12%，超过28天的血细胞减少症发生率32%，有3例患者在CAR T细胞回输后30天内因原发病进展而死亡，但无患者死于CAR T、细胞因子释放综合征或脑水肿。

本研究表明中心制备、冷链运输这一治疗模式在实际应用中是可行的，即由远在万里之外的医学中心采集患者的外周血T淋巴细胞冻存后运送至细胞制备中心，中心在完成CAR-T细胞制备及各项检测后再将制备好的CAR-T细胞冻存运送回原医学中心，回输至患者体内。而且，接受CAR-T细胞回输的患者，其疗效及毒副作用的发生率与单中心研究结果相仿。

▶▶ 有趣发现之一

传统的不良预后因素在CD19-CAR-T治疗时无预后意义。在过去的几十年临床实践中，联合化疗

(CHOP) ± 放疗、免疫化疗 (R-CHOP) 以及自体或异基因造血干细胞移植是治疗弥漫大B细胞淋巴瘤的主要手段^[3], 人们还总结出诸如年龄、疾病分期、细胞起源 (ABC、GCB)、双打击或双表达等等不良预后因素^[4]。但本研究分析发现, 上述因素在CD19-CAR T治疗后疗效比较中无预后意义。这可能是由于CAR T细胞治疗的疗效产生机制完全不同于以往的传统治疗。其预后影响因素及预后分组均有待今后积累更多病例后加以总结。

▶▶ 有趣发现之二

靶抗原CD19、免疫检查点分子的表达水平与CD19-CAR T疗效无关。CD19抗原分子是CD19-CAR-T细胞攻击淋巴瘤细胞的靶点, 人们似乎有理由相信肿瘤细胞表面CD19分子的表达与否以及表达量有可能与CAR-T治疗的疗效相关。但对CAR-T输注前 (1月至1年, 许多已经超过1年) 肿瘤标本免疫荧光定量分析表明, CD19的表达量甚至不表达并不影响CAR-T细胞治疗的疗效。究其原因可能与激活CAR-T细胞所需要的相应抗原分子数量极少有关。有研究曾在体外探讨过此问题, 发现CAR-T细胞杀伤肿瘤细胞所需要的相应抗原分子数量远低于靶点相同的单克隆抗体杀伤肿瘤细胞所需要的抗原分子数量。而免疫检查点分子PD-1/PD-L1, 及其相关分子LAG3、TIM3在T细胞的表达水平, 以及表达这类分子的细胞数量对CAR T细胞疗效均无显著影响。CD19-CAR T细胞治疗B细胞淋巴瘤的疗效不及急性淋巴细胞白血病, 以往有推测可能与免疫检查点及相关抑制分子的表达有关^[5,6], 本研究虽然未能证实两者间相关性, 但也观察到PD-1/PD-L1积分最高的5例患者中, 4例无效, 1例有效的患者3月后复发。值得今后进一步研究。

▶▶ 在问题之一

入组至回输CAR T细胞时间较长。全组患者自入组至CAR-T细胞回输的中位时间是54天 (90%的患者在30天至92天), 这是否与细胞的漫长的运送有关? 因入组患者都为经过反复治疗无效的晚期淋巴瘤, 长时间的等待致使92%的患者必须在CAR T细胞回输前接受清除淋巴细胞的化疗之外的过渡性化疗。入组的165例中38例未能接受CAR T细胞回输者, 大多与淋巴瘤疾病进展有关。随着近期细胞培养、扩增设施与技术的改善, 期待此问题可以逐步得到解决。

▶▶ 在问题之二

CAR-T细胞制备失败率仍高。165例入组患者中有12例无法制备获取足够量的CAR-T细胞, 制备失败率为7.3%。该试验入组的患者都为经过多线反复联合化疗的淋巴瘤患者, 其体内T淋巴细胞由于受到各类化疗药物的反复作用, 分离至体外环境培养时, 增殖活性较差^[7]; 且目前临床试验中CAR基因转染多由逆转录病毒载体或慢病毒载体所介导, T细胞良好的增殖是CAR基因成功转染的前提, 这是高失败率的原因之一。但由于长途运送的需要而对T淋巴细胞进行冻融是否也是造成制备失败的原因? 值得进一步加以关注。

参考文献:

- [1] Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma[J]. N Engl J Med, 2019, 380:45-56.
- [2] Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA, et al. Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas[J]. N Engl J Med, 2017, 377:2545-54.
- [3] Crump M, Neelapu SS, Farooq U, et al. Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study[J]. Blood, 2017, 130:1800-8.
- [4] Sha C, Barrans S, Cucco F, et al. Molecular high-grade B-cell lymphoma: defining a poor-risk group that requires different approaches to therapy[J]. J Clin Oncol, 2018, 1801314.
- [5] Lin Y, Gustafson MP, Bulur PA, et al. Immunosuppressive CD14⁺HLA-DR(low)/-monocytes in B-cell non-Hodgkin lymphoma. Blood 2011;117:872-81.
- [6] Serafini P, Mgebroff S, Noonan K, et al. Myeloid-derived suppressor cells promote cross-tolerance in B-cell lymphoma by expanding regulatory T cells[J]. Cancer research, 2008, 68:5439-5499.
- [7] Making Better CARs for Kids. Cancer Discov, 2018, 8(5):522-523..

Nat Med: 北大朱军组报道安全有效的抗CD19 CAR-T细胞疗法

产业发展篇

嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR) T细胞疗法, 是肿瘤免疫治疗的重要手段之一。第二代抗CD19 CAR原型 (CD19-BBz) 最初在2004年被设计出来, CD19-BBz包含有FMC63单链可变片段 (scFv) 以及胞内的4-1BB共刺激和CD3 ζ 信号结构域, 由CD8 α 序列组成的铰链和跨膜结构域连接。CD19-BBz CAR通过慢病毒载体转导至T细胞内, 被转导的CAR T细胞被称为CTL019 (Kymriah)。CTL019和其他的抗CD19 CAR-T细胞在治疗复发或难治性B细胞淋巴瘤和白血病方面有较好的效果, 但治疗有可能引起严重的毒副作用, 包括严重的细胞因子释放综合症(cytokine-release syndrome, CRS)和神经毒性, 这些副作用和患者血清中炎症细胞因子的水平相关。这也迫使人们不断改进抗CD19 CAR结构, 在保证CAR-T细胞疗效的同时, 尽可能减少这些毒副作用。

来源: BioArt, 广西医科大学附属肿瘤医院岑洪教授推荐

2019年4月23日, 来自北京大学肿瘤医院的朱军教授团队和南加州大学的Si-Yi Chen教授团队合作在 *Nature Medicine* 上发表题为 “A safe and potent anti-CD19 CAR T cell therapy” 的文章, 他们改造成新的抗CD19 CAR分子 (CD19-BBz(86)), CD19-BBz(86) CAR-T细胞具有良好的治疗效果, 且不会引起严重的CRS和神经毒性。

研究人员以CD19-BBz CAR (CD19-BBz(71))原型为基础, 通过改变其中CD8 α 胞内和胞外序列产生了几种新的CD19-BBz变体 (图a)。研究人员通过体外实验发现与CD19-BBz(71) CAR T细胞相比, 转导了CD19-BBz(86)的CAR T细胞, 在与CD19⁺肿瘤细胞相互作用之后, 会产生更少的细胞因子而抗凋亡分子的表达水平却增高, 且CD19-BBz(86) CAR T细胞对CD19⁺肿瘤细胞的细胞杀伤能力并没有减弱。

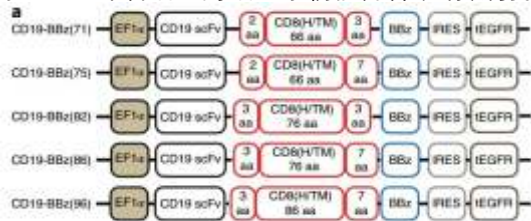


图1

随后, 研究人员通过SCID-beige小鼠肿瘤模型, 发现与原型CD19-BBz(71) CAR T细胞相比, CD19-BBz(86) CAR T细胞并不会引起小鼠的CRS。之后, 研究人员在难治性B细胞淋巴瘤患者中进行了CD19-BBz(86) CAR T细胞疗法I期临床试验。该试验招募到26名患者, 25人接受了试验治疗。在接受低剂量CD19-BBz(86) CAR T细胞组的6位患者中3位产生了治疗效果, 中剂量CD19-BBz(86) CAR T细胞组的

8位病人, 4位患者获得了部分缓解的治疗效果, 高剂量组的11位患者, 6位 (54.5%) 患者获得了完全缓解的治疗效果 (图2)。在治疗的副作用方面, 25位接受CD19-BBz(86) CAR T细胞治疗的患者中, 并没有观察到评分大于1的CRS, 也没有任何一位治疗患者有神经毒性损伤表现。检测发现, 接受CD19-BBz(86) CAR T细胞治疗患者血清中细胞因子和免疫调节分子, 如IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-17A, IL-2, IL-15, IL-5, IL-12 p70, IL-1 β 和 C反应蛋白 (CRP)都保持在较低的水平。完全或部分缓解患者血清中T细胞效应蛋白颗粒酶A和颗粒酶B的浓度, 要高于继续进展的患者。

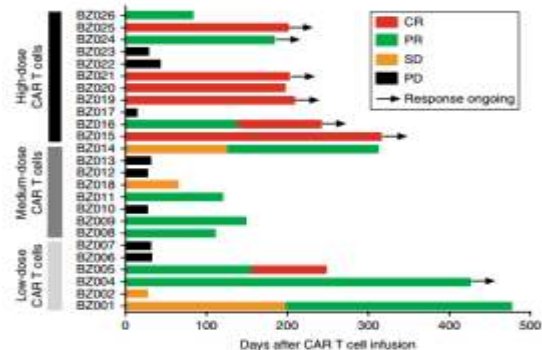


图2

总之, 本研究证明了CD19-BBz(86) CAR T细胞对治疗难治性B细胞淋巴瘤具有较好效果, 而且不会引起神经毒性和严重的CRS, 是一种安全有效的抗CD19 CAR T细胞疗法。

参考文献:

Ying Z, Huang XF, Xiang X, et al. A safe and potent anti-CD19 CAR T cell therapy[J]. Nat Med

免疫治疗专栏



本期执行主编：周韶璋

- 广西医科大学肿瘤医院呼吸肿瘤内科主任医师
医学博士硕士生导师
- 中国生物靶向治疗学会广西协作中心主任委员
- 中国CSCO青年专家委员会 (CSCO Young)委员
- 广西抗癌协会肿瘤免疫治疗专委会副主任委员
- 广西协癌协会肿瘤相关内科疾病治疗专业委员会常委
- 广西协癌协会肿瘤生物治疗专业委员会常委

一 目 次

- 1 免疫治疗超进展探因
- 2 采用生物标志物预测结肠直肠癌患者是否适合接受免疫治疗
- 3 Cell: 癌细胞“暗渡”PD-L1, 远程解除免疫系统的“武装”
- 4 克隆性MET扩增决定EGFR突变非小细胞肺癌酪氨酸激酶抑制剂耐药

二 导 语

免疫治疗的热潮尚在升温，但有人已经从潮水中撤离，进行热点下的冷思考，免疫治疗耐药机制即是研究内容之一。PD-L1与PD-1的分分合合看似小天地，实则大文章，此文给我们印象是：有时必须像癌细胞一样思考，才能“师夷之长技以制夷”！本节选编的第一篇文章即出此初衷。另外，“Right Drug, Right Patient, Right Time”是分子时代下患者精准治疗的理想模式，要达到这个要求，一个大前提是必须找到合适治疗的靶标，并在此基础上开发疗效和安全性具佳的靶向药物，而对于已经上市的分子靶向药物和免疫治疗药物，如何更精准的预测其疗效和毒副作用也显得越来越重要，希望读者透过选编的几篇文章可以感知分子时代下的这一核心要求。

免疫治疗作为一种完全不同于化疗和靶向治疗的一种全新抗肿瘤治疗方式，近几年成为肿瘤学领域持续关注的话题。由于其独特的药理作用机制，在临床使用中不可避免遇到一些独特现象，超进展（hyper-progressive disease,HPD）即是其一。

HPD在2017年被直式提出，但对于HPD的发生机制和预测其发生的标志物这两大核心问题一直没能很好的解答。

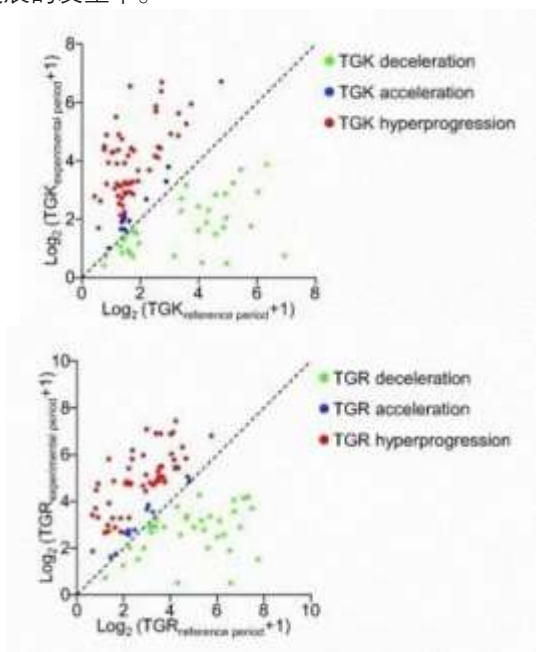
近期，韩国延世大学医学院Lee seung hyun教授的研究团队通过对263位接受PD-(L)1抑制剂治疗的非小细胞肺癌患者进行了分析，发现HPD发生率高达18.9%。通过分析HPD患者外周血CD8⁺T细胞发现，这些T细胞具有CCR7-CD45RA-CD8⁺T细胞表型频率降低，而TIGIT⁺PD-1⁺CD8⁺T细胞表型频率上升的特点。这一研究成果发表在今年的 *Annals of Oncology* 杂志上^[1]。

研究将试验观察时间定为PD-(L)1抑制剂治疗开始至之后的12周，从肿瘤生长动力学（TGK，靶病变最长直径变化）、肿瘤生长速率（TGR，靶病变体积变化）、治疗失败时间（TTF）3个指标分别计算疾病超进展的发生率。

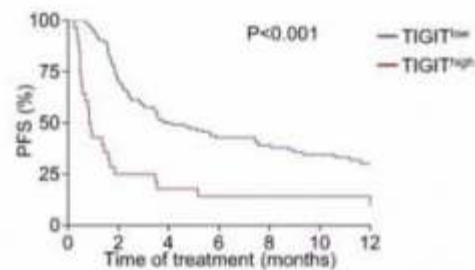
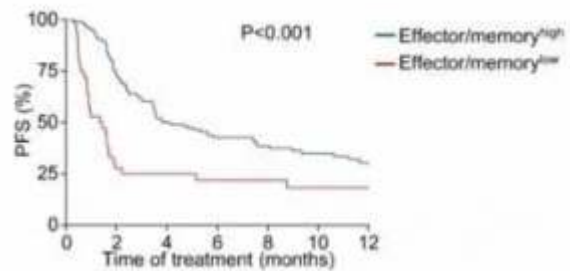
研究人员将疾病超进展定义为肿瘤生长动力学和肿瘤生长速率两个条件同时满足。根据此定义，发现在研究人群中HPD发生率为18.9%。通过对临床疗效的分析，发现HPD患者的无进展生存时间（progression-free survival,PFS）和总生存（overall survival,OS）都较无HPD的患者缩短：如果没有伴随HPD，中位PFS为48天；如果伴随HPD，中位PFS仅19天。中位OS在没有伴随HPD时为205天，否则仅为50天，很多HPD患者也失去了后续治疗的机会。

同时该团队还对这263名患者进行了分析，记录了他们接受免疫治疗的起始年龄、性别、吸烟史、肿瘤发展情况等临床病理特征数据，发现HPD的发生和患者的年龄并没有关系，在以EGFR为代表的一些癌症驱动基因也没有关系。并且，基线肿瘤发生情况和疾病超进展也无关。

到底有没有什么指标与HPD存在相关性，这一直是困扰该团队最大的问题，否则忙活了半天，仅获得一些初步的数据，正当研究人员一筹莫展的时候，他们在生物标志物的分析上终于得到了一些好消息。



图中所示TGK和TGR存在相关性



CD8⁺T淋巴细胞中效应/记忆亚群的比例越低，严重耗竭亚群比例越高，预后越差

他们发现患者外周血CD8⁺T细胞上表达不同的分子表型与HPD的发生存在相关性，提示这个分子表型可作为预测HPD发生与否潜在的分子标志物，即HPD患者CD8⁺T细胞的效应亚型和记忆亚型数量都少于非HPD患者，而耗竭型CD8⁺T细胞数量增加，后者失去效应功能，推测与HPD发生发展相关。通过识别这些亚型，对早期识别HPD可能会带来帮助。

这是首个分析亚洲NSCLC患者疾病超进展发生率的研究，研究人员确定了可以根据肿瘤生长动力学和

肿瘤生长速率计算疾病超进展发生率。近20%的发生率告诉我们，疾病超进展是一种相对常见的癌症发展模式，医生在检测和治疗时应该更加警惕。

参考文献：

Kim CG, Kim KH, Pyo KH, et al. Hyperprogressive disease during PD-1/PD-L1 blockade in patients with non-small-cell lung cancer[J]. Ann Oncol, 2019, 12.

采用生物标志物预测结肠直肠癌患者是否适合接受免疫治疗

免疫治疗专栏

周韶璋教授编译

晚期转移性结直肠癌治疗手段多样，从化疗、抗血管生成治疗、分子靶向治疗到近年来的免疫治疗，给患者和医生在临疗治疗决策中提供了多种可能性，但对于生存期有限的晚期患者而言，正确的初始治疗往往至关重要。以免疫治疗和化疗为例，谈谈晚期转移性结直肠癌在选择免疫疗法还是化疗作为初始治疗时需要考虑哪些因素？

“免疫疗法是新的，热门的事情，但有时传统化疗可能是更好的选择，”从事肿瘤基因组学的Marwan Fakih认为：“我们的研究表明，肿瘤基因组学可以帮助医生决定哪种治疗方法对每位患者最有益。采用这种个性化医疗方法，我们将能够为患者提供更好的决策，且更具成本效益。”

该研究成果于今年4月30日发表在“肿瘤学年鉴”上，研究发现转移性结直肠癌患者的肿瘤突变负荷，当与一种名为“微卫星不稳定性（MSI）”的既定生物标志物结合使用时，可以预测免疫治疗的疗效。

全面的基因组分析对于评估肿瘤潜在驱动基因以及需要大Panel检测的重要生物标志物如肿瘤突变负荷（TMB）和微卫星不稳定性（MSI）至关重要，在这项研究中，作者观察到为转移性结直肠癌患者做出治疗决策时，评估TMB和MSI的重要性。

目前，医生有时只依靠MSI状态来确定转移性结直肠癌患者接受免疫治疗与否，虽然免疫治疗改善部分患者的生存预后，但结直肠癌作为是世界上第三大常见癌症，它的临床特征构成谱也同时在发生变化，譬如它发病率一直在下降，但在年轻人中却呈上升趋势。

为患者找到正确的、个性化的治疗方法仍是在当今精准医学领域是最重要也是最基本的要求。

Fakih和他的同事回顾性分析了22名患者的数据，所有患者都有高MSI，表明他们是接受免疫检查点抑制剂治疗的潜在获益人群。患者接受pembrolizumab或nivolumab，最后通过研究了入组患者的肿瘤特征，肿瘤基因组学和结果数据，并将这些分析与包含18,140名转移性结直肠癌患者的数据库进行了比较，最后认为肿瘤细胞突变得分低于37分（设定阈值）的患者不仅能从免疫疗法中获益可能性较小，且更容易使其疾病迅速恶化。那些肿瘤突变得分高于41分的患者更可能对pembrolizumab或nivolumab有治疗反应。值得注意的是，对免疫治疗有反应的患者似乎反应更持久，大多数患者肿瘤持续缩小时间超过一年半（研究分析时间）。

这项研究结果提示携带MSI和高肿瘤突变负荷评分的患者考虑接受免疫治疗作为他们的初始治疗，而那些携带MSI和低肿瘤突变负荷评分（低于37）的患者考虑进行化疗而不是免疫治疗作为他们的初始治疗选择。当然，这个结论需要更多的研究来证实。

参考文献：

Schrock AB, Ouyang C, Sandhu J, et al. Tumor mutational burden is predictive of response to immune checkpoint inhibitors in MSI-high metastatic colorectal cancer[J]. Ann Oncol, 2019, 30.

【周韶璋教授点评】免疫治疗的热潮尚在升温, 但有人已经从潮水中撤离, 进行热点下的冷思考, 免疫治疗耐药机制即是研究内容之一。PD-L1与PD-1的分分合合看似小天地, 实则大文章, 此文给我们印象是: 有时必须像癌细胞一样思考, 才能“师夷之长技以制夷”!

在人体免疫系统中, T细胞作为捍卫健康的重要防线, 对癌细胞的识别和攻击做出重要贡献。而癌细胞为了躲避攻击, 在细胞表层会产生一种起着“隐形斗篷”作用的蛋白质, 即PD-L1, 当PD-L1与T细胞表面的PD-1蛋白相结合后, T细胞则会将癌细胞错认为正常细胞, 帮助癌细胞躲过检查, 放任它在体内扩散。也正是借助这一隐形手段, 癌细胞躲过了免疫系统的攻击。

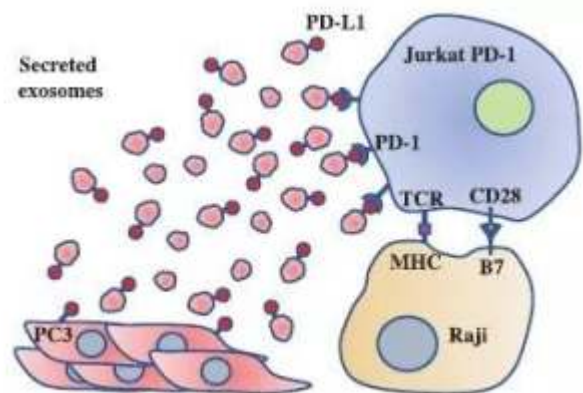
免疫疗法之所以能抗癌, 其原理正是通过阻断PD-L1或其受体PD-1起作用。当PD-L1和PD-1之间的相互作用被阻断时, 肿瘤就会失去躲避免疫系统的能力, 并且变得易受抗癌免疫攻击。

此前已有研究证明中发现, 如前列腺癌肿瘤等肿瘤, 在免疫疗法中对PD-L1抗体响应率低下, 并产生耐药性。其原因在于, 这些癌症患者的肿瘤细胞中, PD-L1蛋白水平较低或者完全缺失。

4月4日, 来自加州大学旧金山分校(UCSF)的Robert Blelloch教授及其团队在*Cell*杂志上分享了最新研究成果。他们的研究显示, 前列腺癌肿瘤其实大量表达了PD-L1, 但癌细胞并没有将PD-L1展示在其细胞表面, 而是通过被称为外泌体的分子“货船”将PD-L1偷渡出去。

这些PD-L1包装的外泌体从癌细胞中萌芽, 并通过淋巴系统或者血液流动到达淋巴结, 淋巴结正是免疫细胞被激活来产生抗体的重要防线。在那里, PD-L1蛋白充当分子破坏者, 远程解除免疫细胞的武装, 并防止它们定位肿瘤以发起抗癌攻击。

这是一项极其重要的发现。外泌体PD-L1并不是抑制肿瘤表面的免疫反应, 而是在它们到达那里之前抑制免疫细胞。与癌细胞表层发现的PD-L1不同, 外泌体PD-L1对现有的检查点抑制剂具有明显的抗药性, 但原因仍不明晰。



领导该研究的泌尿学教授Robert Blelloch表示: 之所以会想到研究外泌体, 是因为观察到了一些奇怪的现象, 例如, 在一些耐药性肿瘤中, 尽管癌细胞PD-L1蛋白水平较低, 但PD-L1 mRNA水平非常高, 此外, PD-L1蛋白实际上在某一时刻产生, 且没有被降解。

▶▶ 外泌体PD-L1阻碍免疫反应

为了证明外泌体PD-L1负责赋予免疫隐身性, 研究人员使用了对免疫检查点抑制剂耐药的小鼠前列腺癌模型。当他们将这些小鼠的癌细胞移植到健康小鼠体内时, 肿瘤迅速生长。

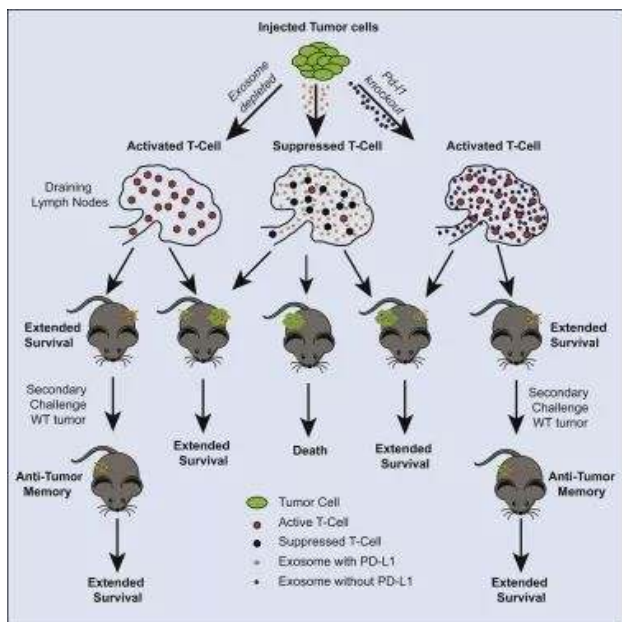
但当Robert Blelloch教授及其团队利用基因编辑CRISPR技术删除外泌体产生所需的2个基因时, 被编

辑过的癌细胞无法在基因相同的健康小鼠体内形成肿瘤。虽然被编辑和未被编辑的癌细胞都能产生PD-L1，但只有无法产生外泌体的癌细胞才能够在PD-L1被阻断时被免疫系统识别和攻击。

在另一项补充实验中，将相同的CRISPR编辑的癌细胞移植到健康小鼠中，然后立即注射携带PD-L1的外泌体。由于无法产生外泌体，CRISPR编辑的癌细胞应成为免疫系统的牺牲品。相反，注射的外泌体能够代表癌症中和免疫应答，这使得外来体缺陷的癌细胞形成肿瘤。

Blelloch教授认为，抑制外泌体释放PD-L1将成为一种新的治疗途径，无论是单独用药，还是结合当前的检查点抑制剂，都将有望克服大部分患者对现有免疫检查点抑制剂的耐药性。

新的免疫疗法



在这项新研究中，科学家们还发现了另一个令人惊讶的结果。他们通过CRISPR编辑的缺乏外泌体的癌细胞来诱导抗肿瘤免疫反应，而这种免疫反应能够

靶向通常对免疫攻击耐药的肿瘤。

研究中，Blelloch博士等首先将经CRISPR编辑的无法产生外泌体的癌细胞移植到正常小鼠体内，然后等待90天。接着，他们将未经编辑的可能具有免疫逃逸能力癌细胞移植到相同的小鼠体内。

结果显示，由CRISPR编辑的无法产生外泌体的癌细胞不再被免疫系统忽视，免疫系统能够对这些先前无法被识别的癌细胞做出强有力的反应，阻止癌细胞增殖。

同时，研究人员做出了进一步的研究，将由CRISPR编辑过无法产生外泌体的癌细胞和未被编辑的癌细胞同时被移植到同一只小鼠的不同部位后，他们再次惊讶发现，尽管两种癌细胞是同时注射的，但被CRISPR编辑过的癌细胞占主导地位，它们能够激活免疫系统发起攻击，摧毁生长在另一边由未经编辑的癌细胞发展而成的可能抵抗免疫反应的肿瘤。

这一发现也许带来一种新的免疫疗法，即，将患者的癌细胞经过基因编辑，然后此回输到体内，可以激活免疫系统攻击具有免疫反应耐药性的癌症。

参考资料：

- [1] Poggio M, Hu T, Pai CC, et al. Suppression of Exosomal PD-L1 Induces Systemic Anti-tumor Immunity and Memory[J]. Cell, 2019, 177(2):414-427.
- [2] Burr ML, Sparbier CE, Chan YC, et al. CMTM6 maintains the expression of PD-L1 and regulates anti-tumour immunity[J]. Nature, 2017, 549(7670):101-105.
- [3] Hoshino A, Costa-Silva B, Shen TL, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis[J]. Nature, 2015, 527(7578):329-335.
- [4] Cancer exports molecular 'saboteurs' to remotely disarm immune system[EB/OL].[2019-04-04].https://www.eurekalert.org/pub_releases/2019-04/uoc-cem040219.php



克隆性MET扩增决定EGFR突变非小细胞肺癌酪氨酸激酶抑制剂耐药

来源：肺癌前沿；广西省人民医院肺癌研究所里安娜教授；广西医科大学肿瘤医院周韶璋教授推荐

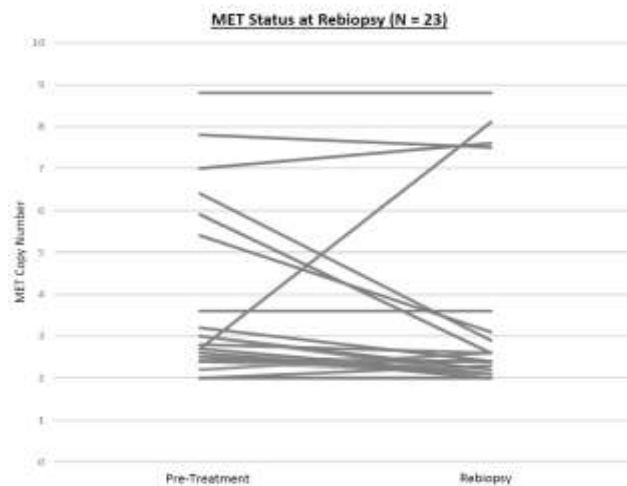
未经TKI治疗的转移性EGFR突变肺癌MET拷贝发生率的数据很少，最近来自MSK的研究报道通过NGS确认MET扩增比例约2%。MET作为一种原癌驱动基因及潜在的治疗靶点，目前熟知的异常包括MET 14外显子跳读和基因拷贝数增加。在EGFR突变的非小细胞肺癌患者中，MET基因拷贝数异常最初被发现与获得性耐药有关，随后多项研究探讨了联合MET及EGFR TKI克服耐药方面的作用；但迄今为止，研究发现针对MET高表达的病人，联合治疗的效果并不如意，目前也尚无明确的MET阳性的定义。

这是一项来自于新加坡国立癌症研究中心的研究，该研究主要目的是检测MET基因拷贝数（CNG）对未经治疗的EGFR突变阳性非小细胞肺癌的影响。这项研究是迄今最大的针对未经TKI治疗EGFR突变非小细胞肺癌合并MET拷贝的研究，研究发现MET拷贝数不能预测EGFR治疗的疗效。

研究回顾性收集200例EGFR突变并MET扩增的初治转移性肺腺癌患者，154例患者一线EGFR TKIs治疗后其疗效可评价，这154例中37例出现进展并进行了再次活检。结果发现治疗前MET高拷贝的比例为26%（52/200），中位CNG是7.6（6.4-10.1），中位MET/CEP比值是2.3（2.0-4.5）。临床特征上MET高拷贝与MET低拷贝的患者临床特征是相似的，包括年龄、性别、吸烟状态，脑转移状态以及EGFR突变无显著关系。

一线TKI中位治疗时间9.6个月，无论MET CNG的高低，中位TTF是相似的；MET高拷贝TTF为

12.2个月，低MET-CNG为13.1个月，提示MET-CNG≤5并不预示着更差的生存（ $P=0.033$ ）。37例患者一线EGFR TKI进展后接受了再活检，23例检测了MET状态。4例是高MET拷贝，在基线时有6例MET高表达的患者，在进展后MET是低表达的。相反的是，17例中16例基线MET低拷贝的患者再活检MET仍然是低拷贝。提示在未经治疗的EGFR突变阳性非小细胞肺癌中，高拷贝MET在开始状态的亚克隆并不是驱动基因。



研究团队还观察了手术切除的不同区域MET表达，发现53.8%的肿瘤标本显示至少有一个区域出现MET CNG，其中有七个肿瘤标本中，有六个部分的MET CNG存在差异，证实了MET的高度异质性。同时研究进一步发现活化的MET拷贝是原发EGFR TKI耐药或者反应比较差的原因。



8例对一线EGFR TKI治疗疗效小于6个月的患者，2例是高拷贝的，其中1例是MET扩增。这例MET扩增患者是一位62岁非吸烟女性，合并EGFR L858R突变以及共存MET扩增，厄罗替尼治疗4周后疾病进展，由于无法耐受双药联合化疗的副反应，患者选用克唑替尼每隔一天单药，病灶明显缩小，认为她是MET驱动的EGFR突变肺癌。成功分离了该患者的细胞检测提示她的MET CNG克隆与树干的EGFR突变是并存的，也预示着对EGFR TKI治疗反应的应答不良。

文章强调高精度的生物标记物检测仍是靶向治疗有效与否的基石，既往报道MET CNG在未经治疗的EGFR人群中发生率为1.4%~20.7%，考虑与不同分期、EGFR突变状态、种族、不同平台以及MET阳性定义不同有关。既往MET相关临床试验失败原因是什么？该研究提示即使选择更高的MET拷贝数，例如拷贝数 ≥ 5 ，也不一定和临床上基因驱动与否相关，尤其是合并其它驱动基因的时候。进一步采用高阈值，

以及搞清瘤内异质性和拷贝数改变是个体化治疗非常重要的。

总之，这项研究是目前为止最大样本的未经TKI治疗的EGFR突变非小细胞肺癌合并MET FISH的研究，证实MET拷贝数不能反映EGFR治疗的疗效，这可能是由于瘤内异质性及MET阈值定义不清有关，对后续如何选择参数和确定何种患者从MET抑制剂中获益有重要的提示作用。

参考文献：

Lai GGY, Lim TH, Lim J, et al. Clonal MET Amplification as a Determinant of Tyrosine Kinase Inhibitor Resistance in Epidermal Growth Factor Receptor-Mutant Non-Small-Cell Lung Cancer[J] J Clin, Oncol, 2019, 37: 876-884.

医学服务“一带一路”

“中国好医生，医术服务双一流”，这面写有中越两国文字的锦旗，是一名乳腺癌胸椎转移并截瘫的越南籍患者余氏恒（中文名）在出院前送来的。术前瘫痪的她真不敢相信自己的如此幸运，在瘫痪之后还可以重新站起来。当时在越南河内的知名医院就诊，医生告诉她无法手术治疗，她已经近乎绝望。不甘放弃的家人想到了作为东盟成员国的便利，通过互联网及各种媒体了解到广西医科大学附属肿瘤医院骨与软组织外科在这类疾病的诊治方面有着很强的实力，让许多瘫痪的病人重新站了起来，于是排除各种困难找到一个中国的翻译朋友帮忙，跨国来到我院就诊。我们的沟通让她和家人重拾信心，出于对我们的信任，她们毫不犹豫的选择了手术治疗。由于患者为越南籍，情况特殊，医院领导高度重视，立即启动“东盟病友绿色通道”，在以骨软组织外科袁振超主任、贺聚良、谭家昌副主任医师、韦荣泉护士长为核心的医护团队的精心安排下，医院开通绿色通道，急诊给这位外国病友进行了详细的检查和精准的手术治疗。手术过程非常顺利，一周后患者在家属的搀扶下已经可以扶助下床活动了。病人本人及远在越南的家属对治疗效果非常满意，为向医护团队表示谢意，出院前，他们特意委托翻译去做了一面锦旗送来医院表示感谢。



近年来，中国与东盟立足当前、着眼未来，持续深化政治互信，加强“一带一路”倡议同东盟国家发展规划对接，不断深化产能、经贸、互联互通、创新和人文交流等方面合作，双方正建设更加紧密的命运共同体。卫生领域合作是“一带一路”建设的重要内容，中国与“一带一路”参与国家的健康交流合作不断深化，中国医疗卫生领域的经验，正播撒在“一带一路”的各个角落。此乳腺癌越南籍患者正是获益于我国“一带一路”的政策。



广西医科大学附属肿瘤医院

承办2019中国肿瘤学大会主旨报告遴选暨肿瘤新进展研讨会取得圆满成功

2019年3月27-28日,由中国抗癌协会主办,广西医科大学附属肿瘤医院、广西抗癌协会、区域高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室承办的“2019中国肿瘤学大会(CCO)主旨报告遴选暨中国肿瘤新进展研讨会”在南宁隆重召开。中国抗癌协会理事长、中国工程院院士樊代明,中国抗癌协会名誉理事长、国家肿瘤临床医学研究中心主任、中国工程院院士郝希山等出席大会。大会由中国抗癌协会秘书长王瑛主持。

樊代明院士在致辞时指出,2019中国肿瘤学大会(CCO)将于8月16日-19日在重庆召开,本次大会主要是遴选2019年中国肿瘤学大会主旨报告,其本身也是一场高水平的肿瘤进展学术研讨会。中国抗癌协会以“大手拉小手”的方式,通过丰富的高水平学术交流活动,促进肿瘤诊疗新观点、新技术、新方法的推广与传播,不断提升全国肿瘤防治能力和水平,增进百姓健康福祉,服务“健康中国”战略。

广西医科大学副校长周诺为大会致辞。周诺副校长感谢中国抗癌协会、全国各地专家一直以来对广西及广西医科大学的帮助与支持,希望借此盛会,能够与各位专家搭建起人才培养、学术交流、技术共享的良好平台,进一步推动广西肿瘤相关学科的发展和建设。

本次主旨报告遴选会在中国抗癌协会的安排和协调下,所属各专业委员会、省区市抗癌协会高度重视,精心挑选知名专家学者参与大会遴选。最终,共有100多名来自全国各地的肿瘤各领域、各学科顶级专家来到大会现场作学术报告,内容涵盖肿瘤基础、肿瘤内科、肿瘤外科、肿瘤影像、肿瘤病理、肿瘤病因及流行病学等各个领域。遴选会由第一轮分会场报告和第二轮大会报告两部分组成,规模庞大,盛况空前。共有近5000名来自广西各地的医疗卫生工作者共享了这场学术盛宴。

在28日上午的分会场报告中,专家们按肿瘤内科治疗、肿瘤外科治疗、肿瘤综合治疗、肿瘤基础研究等分成了8个小组,聚焦整合医学、精准医学、转化医学等前沿,就肿瘤预防、诊断、治疗及康复等临床与研究热点领域的新观点、新技术、新方法,逐一登场作专题报告。每个分会场的前两名优胜专家,参加下午的主会场角逐,最终确定了8名专家作为2019年CCO大会作主旨报告专家。

本次CCO主旨报告遴选暨中国肿瘤新进展研讨会取得了圆满成功!会议的精心组织与会场的软硬件设施均得到了专家们的高度评价与肯定。最后,樊代明理事长向广西医科大学附属肿瘤医院院长、广西抗癌协会理事长唐卫中,广西抗癌协会法人、广西医科大学附属肿瘤医院党委书记潘灵辉颁发感谢状,以表示对承办单位的感谢。





广西肿瘤标志物和肿瘤免疫治疗学术大会胜利召开

2019年5月25日，第二届广西肿瘤标志物学术大会暨肿瘤标志物新技术全国推广培训计划(广西站)，第二届广西肿瘤免疫治疗学术大会暨第三届广西分子诊断与分子生物学研究新进展研讨会”在广西南宁隆重召开。

本届会议由广西抗癌协会、中国抗癌协会肿瘤标志专委会、广西抗癌协会肿瘤标志专委会及广西抗癌协会肿瘤免疫治疗专委会主办，广西医科大学附属肿瘤医院、《中国癌症防治杂志》编辑部、区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室及中壮瑶药防治肿瘤创新平台承办。为了贯彻落实李克强总理指出的“要集中优势力量开展疑难高发癌症治疗专项重点攻关”精神和扎实推进健康广西建设，本届大会邀请到了广西抗癌协会阳志军秘书长、云南省肿瘤医院云南省肿瘤研究所副所长王熙才教授、南京中医药大学沈晓沛教授、同济大学附属上海市肺科医院任胜祥教授、中山大学肿瘤防治中心黄岩教授、中山大学肿瘤内科梁颖教授、广州中医药大学第一附属医院梁文华教授以及省内各医院的肿瘤治疗基础研究专家共计200余人共聚南宁，本次会议设有专题报告和病例分析两大环节，就肿瘤免疫治疗和肿瘤标志等前沿观点、新技术、新方法展开了深入的交流与研讨。



大会合照



在专题报告环节，来自云南省肿瘤医院、云南省肿瘤医院常务副所长王熙才教授对miR-370在肺癌研究中的现状做了详细的报告。



南京中医药大学的沈晓沛教授就肿瘤的分子诊断与风险分层进行了精彩的报告。



广西医科大学附属肿瘤医院副院长、广西抗癌协会肿瘤标志专委会主任委员余红平教授在大会上报道了中国南部肝癌全基因组关联分析研究的进展。



广西医科大学附属肿瘤医院肿瘤治疗专家、中国生物靶向治疗学会广西协作中心主任委员周韶璋教授就“肺癌免疫治疗现有证据下的用法调优”主题发起了现有肿瘤免疫治疗的思考。

此外还有中山大学肿瘤内科梁颖教授就“晚期非小细胞肺癌抗血管生成药物治疗中国专家共识”等前沿知识进行了精彩的汇报。

在精彩的学术报告之后，是精彩的经典病例讨论环节，共有来自区内不同医院带来的5个病例分析。通过激烈的案例分析探讨让大家更深入了解到肿瘤标志物与免疫治疗的密切联系。

这一场精彩学术盛宴的圆满召开，必将推动广西癌症防治事业的快速发展。



病例分析环节的点评

广西医科大学附属肿瘤医院简介

广西医科大学附属肿瘤医院是广西唯一集医疗、教学、科研、预防保健、社区服务与康复为一体的省级肿瘤防治研究机构和三级甲等肿瘤专科医院，是全国首批“百姓放心医院”、“一带一路”国际肿瘤防治联合培训基地、国家临床药师培训基地、广西癌症中心、广西肿瘤性疾病医疗质量控制中心，获批国家疑难病症诊治能力提升工程项目。



建设中的新院区效果图



远程医学中心、多学科诊疗中心启用



PET-CT (Discovery PETCT 710)



成功施行广西首例联合肝脏离断和门静脉结扎的二步肝切除术(ALPPS)，切除巨大肝肿瘤



特聘全职法国著名医学专家(左三)，助力医院国际化发展

肿瘤学科是国家临床重点学科、国家重点(培育)学科,2010年至今,已形成肝癌、胃癌、大肠癌、乳腺癌等九大常见恶性肿瘤多学科协作诊疗团队。

医院现开放床位1200张。新院区已于2018年底奠基开工,定位为“强专科、综合辅助的国际化医院”,规划病床总数2000张,一期工程正有序推进。



每年主办中国(广西)-东盟国际肿瘤精准医学大会



主办东盟国家区域性高发肿瘤防治技术国际培训班



构建紧密型医联体,促进医疗卫生资源下沉,提升基层医疗服务体系整体效能



举办系列“广西肿瘤规范化诊疗高级研修班”提升基层医生的肿瘤规范化诊疗水平



在每年全国肿瘤防治宣传周期间举办环南湖慢跑活动,号召全社会关注肿瘤疾病、增强防癌抗癌意识



开展“广西肿瘤防治下基层、进高校、进机关”活动,普及防癌抗癌知识

中国癌症防治杂志

CHINESE JOURNAL OF ONCOLOGY PREVENTION AND TREATMENT

中国科技核心期刊

《中国癌症防治杂志》由国家卫生健康委员会主管，中国医师协会和广西肿瘤防治研究所联合主办的中国科技核心期刊，主要报道肿瘤防治的基础理论研究和临床应用的新理论、新成果、新技术及新经验等，辟有述评、专家论坛、基础研究、临床研究、流行病学研究、临床应用、综述及病例报告等栏目。

◆ 期刊收录

中国科技论文统计源期刊（中国科技核心期刊）
中国学术期刊综合评价数据库来源期刊
中国期刊网和中国学术期刊（光盘版）全文收录期刊

万方数据系统科技期刊群收录期刊
中文生物医学期刊文献数据库收录期刊
美国《化学文摘》（CA）收录期刊
美国《乌利希国际期刊指南》收录期刊

◆ 期刊获奖

2013年度中国抗癌协会系列期刊优秀期刊/优秀编辑
2015-2016年度广西优秀科技期刊
2016年度中国医师协会优秀报刊
2017年度中国抗癌协会系列期刊优秀论文组编奖
2017年度中国抗癌协会系列期刊优秀论文
2017年度中国医师协会系列期刊优秀编辑部主任
2017年度广西科学技术期刊优秀主编/优秀编辑部主任/优秀编辑
2018年度中国医师协会优秀编辑部主任
第八届广西优秀期刊奖
第四届广西期刊优秀主编/优秀编辑



优惠、奖励政策

- 免收审稿费
- 发表国家级、重大项目科研基金资助的成果论著免收论文发表版面费并奖励1500元
- 发表省部级论著免收论文发表版面费并奖励1000元



微信“扫一扫”二维码
进入《中国癌症防治杂志》微信公众号
最新录用/在线预览/论文检索/最新政策



手机“扫一扫”二维码
进入《中国癌症防治杂志》官网
在线投稿/在线查稿/最新公告/文章下载