

免疫疗法在三阴性乳腺癌中的研究进展

唐苗强 刘敏

摘要 三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)指雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人类表皮细胞生长因子受体-2(HER-2)均不表达的一种乳腺癌亚型。正因为缺乏有效受体靶点,所以目前没有特效治疗药物,并且与其他基底细胞癌比较,其更容易转移和复发,因此生存率较低。越来越多的研究表明,免疫疗法是一种有希望的治疗策略,被誉为对抗癌症的突破,所以对TNBC的免疫治疗研究十分重要。本文从免疫检查点阻断、过继性免疫治疗、肿瘤疫苗以及中医药治疗等方面对TNBC近期的免疫治疗做一综述。

关键词 三阴性乳腺癌 免疫检查点阻断 过继性免疫治疗 肿瘤疫苗 中医药

中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.01.005

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)作为最具攻击性的乳腺癌类型,表现出高组织病理学分级、高远处转移率、低存活率,约占所有乳腺癌病例的15%^[1]。目前TNBC的治疗仍以手术、化疗和放疗为主,但其长期临床疗效并不理想,主要表现为毒性不良反应大,复发率高,预后差。近年来,随着免疫疗法的进步,为治疗这种破坏性乳腺癌亚型提供了新的治疗策略。可以预见的是,通过免疫疗法干预,可以明确地靶向消灭癌细胞,同时保留正常细胞。现在已经开发和试验了多种免疫疗法,为TNBC患者提供了新的治疗方向。

一、免疫检查点阻断

在人体的免疫系统中,各种共刺激和抑制分子形成一个复杂的信号通路,共同参与调控人类的免疫功能。如果把免疫检查点形象的比做免疫系统的刹车,那么阻断免疫检查点则相当于松开刹车,进而促进机体攻击肿瘤。目前研究较多的免疫检查点主要包括以下几种:

1. 程序性死亡受体1及其配体:程序性死亡受体1(programmed death-1, PD-1)是T细胞活化时表达在T细胞上的关键共抑制受体之一。在与其配体PD-L1(programmed death L1)结合后,PD-1被激活,致使T细胞增殖、激活、细胞因子的产生受到抑制,代谢和细胞毒性T淋巴细胞(CTLs)杀伤功能也

会被改变,最终导致活化的T细胞死亡。机体进化出共抑制通路,控制T细胞反应的幅度和持续时间,以限制组织损伤并维持自身耐受。然而,肿瘤细胞可以通过表达PD-L1以逃避宿主的免疫监视。此外,肿瘤细胞变体也能通过免疫检查点分子的上调、免疫抑制代谢途径的激活和特异性表面抗原的改变来逃避免疫系统杀伤,这些均为免疫检查点抑制剂在肿瘤学中的临床应用提供了科学依据^[2]。

免疫检查点抑制剂(ICI)在几种癌症中的临床成功,为免疫疗法在TNBC中的应用奠定了基础,相对于化疗,免疫治疗剂具有毒性不良反应小的特征,许多癌症患者已经体验到了持久的疗效和长期的生存益处^[3]。截至目前,阿特朱单抗(atezolizumab)已被FDA特别批准联合化疗用于治疗PD-L1阳性且不能手术切除的局部晚期或转移性TNBC^[4]。在一项针对晚期TNBC的临床研究(IMpassion-130)中,atezolizumab联合白蛋白结合型紫杉醇(nab-paclitaxel)在PD-L1阳性患者中显示了临床益处^[5]。该研究比较了nab-paclitaxel+atezolizumab和nab-paclitaxel+安慰剂,结果显示,前者可以延长患者的总生存期。在2019年的美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)上, Schmid等更新了总体生存(OS)结果,报告PD-L1阳性亚组的中位OS改善了7个月(25.0个月 vs 18.0个月),这项研究表明了免疫检查点抑制剂在PD-L1阳性亚组的转移性TNBC一线治疗中的重要性^[6]。另一项临床研究中(NCT02730130), Ho等^[7]研究了人源化抗PD-1单克隆抗体帕姆单抗(pembrolizumab)联合放疗(RT)治疗转移性三阴性乳腺癌疗效和安全性,结果显示,

基金项目:江苏省中医药科技发展计划项目(YB201955)

作者单位:210000 南京中医药大学(唐苗强);215000 南京中医药大学附属苏州市中医医院肿瘤科(唐苗强、刘敏)

通讯作者:刘敏,主任医师,硕士生导师,电子信箱:liumin6958@163.com

pembrolizumab 和 RT 联合治疗被发现是安全的,并且在预后差、转移性三阴性乳腺癌患者中表现出令人兴奋的疗效,这些结果未来将为恶性乳腺癌患者应用 ICI 和 RT 联合治疗的试验设计提供参考,而 pembrolizumab 也有望成为继 atezolizumab 之后第 2 个正式获批的用于治疗 TNBC 的免疫抑制剂。

2. 细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4: 细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (CTLA-4) 是一种由活化的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞产生的跨膜受体,其作用是下调或终止 T 细胞活化。与 PD-1 比较,CTLA-4 在 TNBC 临床方面的研究非常有限,主要集中在抗 CTLA-4 检查点抑制剂联合其他免疫检查点抑制剂或靶向药物应用方面。Bernier 等^[8] 研究发现,重氮酰胺 A 的一种新的合成衍生物 (DZ-2384) 作为免疫检查点抑制剂的补充,与小鼠抗 CTLA-4 检查点抑制剂之间具有明显的协同作用,可以减少 TNBC 肿瘤大小,提高生存率,为开发治疗转移性 TNBC 提供了新的方法。Wang 等^[9] 研究发现,黑色素瘤抗原-A (MAGE-A) 在 TNBC 中高度表达,并与预测高度转移因子相关。所以 CTLA-4 抑制剂可能对表达该抗原的 TNBC 患者具有强烈的免疫效应。

3. 白细胞分化抗原 47: 白细胞分化抗原 47 (cluster differentiation 47, CD47) 也称为整合素相关蛋白,是一种在各种癌细胞表面高度表达的跨膜蛋白。新出现的证据表明,CD47 通过与吞噬性免疫细胞上的信号调节蛋白- α (SIRP- α) 结合来防止吞噬,从而在肿瘤细胞上作为主要的抗吞噬信号发挥作用,此外用 CD47 阻断剂阻断 SIRP- α /CD47 相互作用可促进实体瘤细胞在体外的吞噬功能,并减少体内实体瘤的生长,这表明抗 CD47 抗体疗法可能是一种有效的治疗各种实体瘤的方法^[10]。Lehmann 等^[11] 报道,肿瘤中免疫浸润的丧失与 TNBC 患者的病死率相关。CD47 的表达,是导致肿瘤免疫逃逸的主要机制之一。Yuan 等^[12] 通过对比良性乳腺病变与三阴性乳腺癌,发现 TNBC 组织中 CD47 阳性率明显高于良性乳腺病变。该研究首次证明了 CD47 表达增加和 TNBC 预后不良之间的联系,即 CD47 的表达是 TNBC 预后不良的标志。总的来说,这些发现表明 CD47 具有作为 TNBC 预后标志和治疗靶点的潜力。

4. 其他免疫检查点: 受到 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 靶向免疫疗法临床益处的启发,淋巴细胞激活基因 3 (LAG-3)、T 细胞免疫球蛋白和黏蛋白-3 (TIM-3) 也迅速引起了人们的极大兴趣,并进行了

仔细的研究。LAG-3 的过度表达是防止淋巴细胞过度活化所必需的,并且 LAG-3 与 PD-1 结合介导了 T 细胞衰竭^[13]。相关研究数据表明 LAG-3 抑制 T 细胞活化和细胞因子分泌,从而促进肿瘤免疫逃逸^[14]。TIM-3 被认为是 CD4⁺ T 辅助细胞和 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞的负调节因子。研究发现,在各种癌症中,TIM-3 表达的上调是通过其在衰竭的 T 细胞和癌症干细胞中的作用而实现的^[15]。Saleh 等^[16] 研究发现,这两个免疫检查点这可能与 TNBC 对 PD-1/PD-L1 阻滞剂产生耐受性有关。总的来说,这几种免疫检查点分子的表达水平彼此强烈相关,可能通过不同的途径发挥作用,这是联合应用不同免疫检查点阻滞剂的理论基础,有可能成为新的免疫治疗研究热点。这也将为肿瘤的治疗提供更多的选择和方法。

二、过继性细胞免疫疗法

该疗法是通过将自体或异体产生的免疫细胞在体外激活,然后进行增殖或结构功能的改造,最后再回输到患者体内,从而达到消除肿瘤细胞的目的。许多过继免疫疗法,在过去的 10 年中已有报道,然而,由于抗肿瘤活性低,它们的治疗效果有限。当下研究较多的就是嵌合抗原受体疗法和细胞因子诱导的杀伤性细胞疗法。

1. 嵌合抗原受体疗法: 嵌合抗原受体 (CARs) 是合成受体,当通过技术手段被导入到 T 细胞中时,它们可以改变 T 细胞的方向以识别肿瘤特异性抗原,然后得到活化而变成细胞溶解剂,并最终溶解肿瘤细胞^[17]。随着研究的深入,越来越多的靶点抗原用于构建嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T),并证明在三阴性乳腺癌中有效,如神经节苷脂 GD2 (disialoganglioside GD2)、糖蛋白黏蛋白 1 (MUC1)、表皮生长因子受体 (EGFR)、硫酸软骨素蛋白聚糖 4 (chondroitin sulfate proteoglycan 4, CSPG4) 等,但这些抗原在 TNBC 中的表达水平参差不齐,因此单独使用某一种 CAR-T 细胞进行治疗,有可能会造成疾病的复发或转移。为了解决这个问题,将针对不同 TNBC 抗原的 CAR-T 细胞联合应用是一个合理的选择^[18]。

嵌合抗原受体自然杀伤细胞 (CAR-NK) 与 CAR-T 细胞具有相同的基本结构框架。有研究以组织因子 (TF) 为靶向分子,并研发了第 2 代 TF 靶向抗体样免疫偶联物 (称为 L-ICON),使用嵌合抗原受体 (CAR) 方法,测试 TF-CAR-NK 细胞,用于 TNBC 免疫疗法的临床前评估,该免疫疗法使用 TF-CAR-NK 细胞作为单剂疗法并结合 L-ICON。研究

结果表明,TF-CAR-NK 细胞在体外可单独杀伤 TNBC 细胞,L-ICON 可增强 TF-CAR-NK 细胞对 TNBC 细胞的杀伤作用;此外,TF-CAR-NK 细胞在体内对肿瘤细胞系和患者肿瘤来源的异种小鼠模型中的 TNBC 具有治疗作用^[19]。这些研究让人们看到了 CAR-NK 疗法在肿瘤方面的应用前景,也为 TNBC 患者的免疫治疗开辟了新途径。

2. 细胞因子诱导的杀伤性细胞治疗:细胞因子诱导的杀伤性细胞(cytokine-induced killer, CIK)是一群异质细胞,可通过体外培养从外周血单核细胞扩增出多种细胞因子,包括干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素-2(IL-2)等。作为一个异质性细胞群体,CIK 被证明具有 T 细胞和 NK 细胞的双重表型,并能够以不受主要组织相容性复合体(MHC)限制的方式识别和溶解肿瘤细胞目标。Li 等^[20]回顾性研究了 CIK 免疫疗法和 TNBC 预后之间的关系,77 例术后 TNBC 患者接受了 CIK 免疫疗法,结果显示,CIK 过继免疫疗法与标准化疗方案相结合,显著改善了 TNBC 患者的总体生存率(OS),并且观察到,尽管差异无统计学意义,但联合治疗增加了无病生存期(DFS),且 CIK 细胞免疫疗法不良反应轻微。Pan 等^[21]通过将 CIK 细胞与 TNBC 细胞共培养,发现 CIK 可能增加凋亡的 TNBC 细胞。在此项研究中,黏着斑激酶(FAK),一种调节细胞功能的非受体蛋白酪氨酸激酶,具有调节对 CIK 敏感的肿瘤细胞的潜力。在 TNBC 细胞中调低 FAK 表达或用 FAK 抑制剂处理 TNBC 细胞,然后与 CIK 共培养,增加了 TNBC 细胞的死亡,这表明 FAK 在使肿瘤细胞对 CIK 敏感方面发挥重要作用。CIK 疗法联合 FAK 抑制剂可能是 TNBC 患者的一种新的治疗策略。

三、肿瘤疫苗

与放疗、化疗等传统疗法比较,肿瘤疫苗的优势在于其高度特异性以及不良反应较小。但是由于现有技术的限制,其临床疗效尚不太令人满意。目前,大量的免疫原细胞或分子正在进行研究,以研发 TNBC 肿瘤疫苗。其中包括糖蛋白黏蛋白 1(MUC1)、叶酸受体 α (FR α)、癌症睾丸抗原(CTA)、人 α -乳清蛋白、Runt 相关转录因子 2(Runx2)、转录因子 Brachyury、抗原递呈细胞(APCs),此外还有基于树突状细胞(dendritic cell, DC)的肿瘤疫苗、个性化肽疫苗(PPV)甚至使用死亡受体 5(DR5)的基因疫苗以及粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和淋巴细胞组合而成的细胞因子疫苗^[22]。虽然目前还没有真正应用

于临床的 TNBC 肿瘤疫苗,但是,相关的研究已经呈现出“百花齐放”的态势,相信在不久的将来,肿瘤疫苗会成为 TNBC 的重要预防和治疗手段。

四、中医药对 TNBC 免疫疗法的研究

中医对乳腺癌的研究历史,可谓是源远流长,很早就记载了乳腺癌是一种恶病质,并详细记载了其临床症状和恶变过程,就其病因病机来说,传统中医认为,乳腺癌的发病与肝脏、脾脏、胃等脏腑功能失调、气血阴阳失衡以及情志不遂等因素密切相关。对于乳腺癌的治疗,中医更是有一套完整的辨证论治体系。从预防一直到肿瘤的破溃,皆有法可依,有方可循。

随着传统中药的发展,许多草药已经被很好地证明可以治疗癌症。它们具有改善患者功能状态、临床症状、免疫功能和存活率的优点。同时,它们引起较少的不良反应,适合长期治疗。因此,中药对三阴性乳腺癌免疫方面的研究,近些年也迅速兴起,但主要集中在中药提取物方面。Hao 等^[23]通过对淫羊藿素(从传统中草药淫羊藿中分离的淫羊藿苷的水解产物)的研究,发现其能降低中性粒细胞上 PD-1 的表达,与 PD-1/CTLA-4 阻断剂的联合应用能显著抑制黑素瘤的生长,增强抗肿瘤效果。因此,淫羊藿素和抗 PD-1/CTLA-4 药物的联合疗法的设计可能代表一种有希望的基于免疫的治疗方案,有可能提高肿瘤患者的治疗效果,也为开发针对 TNBC 的联合免疫疗法提供了依据。Adila 等^[24]研究了中药甘草提取物甘草多糖(GUPS)在免疫增强方面的作用,发现 GUPS 可以促进 DC 的成熟,增强其功能,提升 DC 疫苗的抗肿瘤效果,具有很强的免疫增强活性。这表明它具有与疫苗或癌症免疫疗法一起用作免疫刺激剂的潜力,而这或许可以弥补 TNBC 的过继性细胞免疫疗法以及基于 DC 的肿瘤疫苗治疗的不足。

除了中药提取物,值得一提的还有中医药复方疗法,它不仅着眼于癌细胞的攻杀,而且重视培补正气,即调动机体自身的免疫力以抗癌,这与当下肿瘤的免疫疗法机制可以说是不谋而合,具体来说,就是通过益气养阴、温阳补血等方法,再结合非药物治疗,如心理治疗、饮食治疗、康复治疗等改变机体的内部环境,消除肿瘤生存的“土壤”,最终实现机体的阴阳平衡,即达到机体内部环境的稳态^[25]。针对 TNBC 的中药复方临床研究更是很多,如黄芪解毒汤、柴胡疏肝散以及一些经验用方,运用于 TNBC 术后、放疗、化疗及晚期复发转移等多个阶段都表现出不俗的成绩,虽然

对其作用机制还缺乏清晰的认识,但从实际临床效果来看,可以确定的是,中医药与其他疗法之间具有很强的互补性,需要进一步的发掘和研究^[26,27]。

五、展 望

随着免疫疗法在其他类型肿瘤中展现出良好的治疗效果,针对三阴乳腺癌的免疫治疗方法的研究也在不断进行。但不论是免疫检查点阻断,还是过继性免疫疗法或肿瘤疫苗,单一的免疫疗法所表现出的效果还是有限的,而越来越多的研究表明,中医药在治疗 TNBC 方面有不错的效果和广阔的应用前景,应当发挥中医治疗肿瘤的特色和中西医结合抗癌的优势,联合包括免疫疗法在内的多种方法提高临床疗效,这可能是未来研究的方向,但毋庸置疑的是,中医药与免疫疗法会占据越来越重要的地位。

参考文献

- 1 Elias AD. Triple - negative breast cancer: a short review[J]. *Am J Clin Oncol*, 2010, 33(6): 637 - 645
- 2 Kagihara JA, Andress M, Diamond JR. Nab - paclitaxel and atezolizumab for the treatment of PD - L1 - positive, metastatic triple - negative breast cancer: review and future directions[J]. *Expert Rev Precis Med Drug Dev*, 2020, 5(2): 59 - 65
- 3 Palleschi M, Maltoni R, Sarti S, et al. Immunotherapy: the end of the "dark age" for metastatic triple - negative breast cancer? [J]. *Breast J*, 2020, 26(4): 739 - 742
- 4 Cortés J, André F, Gonalves A, et al. IMpassion132 Phase III trial: atezolizumab and chemotherapy in early relapsing metastatic triple - negative breast cancer[J]. *Future Oncol*, 2019, 15(17): 1951 - 1961
- 5 Schmid P, Adams S, Rugo HS, et al. Atezolizumab and nab - paclitaxel in advanced triple - negative breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(22): 2108 - 2121
- 6 Schmid P, Rugo HS, Adams S, et al. Atezolizumab plus nab - paclitaxel as first - line treatment for unresectable, locally advanced or metastatic triple - negative breast cancer (IMpassion130): updated efficacy results from a randomised, double - blind, placebo - controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(1): 44 - 59
- 7 Ho AY, Barker CA, Arnold BB, et al. A phase 2 clinical trial assessing the efficacy and safety of pembrolizumab and radiotherapy in patients with metastatic triple - negative breast cancer[J]. *Cancer*, 2020, 126(4): 850 - 860
- 8 Bernier C, Soliman A, Gravel M, et al. DZ - 2384 has a superior preclinical profile to taxanes for the treatment of triple - negative breast cancer and is synergistic with anti - CTLA - 4 immunotherapy [J]. *Anticancer Drugs*, 2018, 29(8): 774 - 785
- 9 Wang H, Sang M, Geng C, et al. MAGE - A is frequently expressed in triple negative breast cancer and associated with epithelial - mesenchymal transition[J]. *Neoplasma*, 2016, 63(1): 44 - 56
- 10 Willingham SB, Volkmer JP, Gentles AJ, et al. The CD47 - signal regulatory protein alpha (SIRPα) interaction is a therapeutic target for

- human solid tumors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(17): 6662 - 6667
- 11 Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple - negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(7): 2750 - 2767
- 12 Yuan JP, Shi XH, Chen C, et al. High expression of CD47 in triple negative breast cancer is associated with epithelial - mesenchymal transition and poor prognosis [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(3): 3249 - 3255
- 13 Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG, et al. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target [J]. *Immunological reviews*, 2017, 276(1): 80 - 96
- 14 Long L, Zhang X, Chen FC, et al. The promising immune checkpoint LAG - 3: from tumor microenvironment to cancer immunotherapy[J]. *Genes Cancer*, 2018, 9(5 - 6): 176 - 189
- 15 Das M, Zhu C, Kuchroo VK. Tim - 3 and its role in regulating anti - tumor immunity[J]. *Immunol Rev*, 2017, 276(1): 97 - 111
- 16 Saleh R, Toor SM, Khalaf S, et al. Breast cancer cells and PD - 1/PD - L1 blockade upregulate the expression of PD - 1, CTLA - 4, TIM - 3 and LAG - 3 immune checkpoints in CD4⁺ T Cells[J]. *Vaccines*, 2019, 7(4): 149
- 17 Sadelain M, Brentjens R, Rivière I. The basic principles of chimeric antigen receptor design[J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(4): 388 - 398
- 18 Harrer DC, Drrie J, Schaft N. CSPG4 as target for CAR - T - Cell therapy of various tumor entities - merits and challenges [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23): 5942
- 19 Hu ZW. Tissue factor as a new target for CAR - NK cell immunotherapy of triple - negative breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 2815
- 20 Li M, Wang Y, Wei F, et al. Efficiency of cytokine - induced killer cells in combination with chemotherapy for triple - Negative breast cancer[J]. *J Breast Cancer*, 2018, 21(2): 150 - 157
- 21 Pan MR, Wu CC, Kan JY, et al. Impact of FAK expression on the cytotoxic effects of CIK therapy in triple - negative breast cancer[J]. *Cancers*, 2019, 12(1): 94
- 22 Razazan A, Behravan J. Single peptides and combination modalities for triple negative breast cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(5): 4089 - 4108
- 23 Hao HB, Zhang Q, Zhu H, et al. Icaritin promotes tumor T - cell infiltration and induces antitumor immunity in mice [J]. *Eur J Immunol*, 2019, 49(12): 2235 - 2244
- 24 Adila A, Yuan PF, Alimu A, et al. Preparation, characterization, and immuno - enhancing activity of polysaccharides from *glycyrrhiza uralensis* [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(1): 159
- 25 周宜强主编. 实用中医肿瘤学 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 2006, 2: 1
- 26 谢荣丹, 龙凤. 三阴性乳腺癌的中医药治疗研究进展 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(28): 84 - 87
- 27 张佳慧, 于明薇, 马云飞, 等. 中医药治疗三阴性乳腺癌研究进展 [J]. *北京中医药*, 2020, 39(2): 182 - 185

(收稿日期: 2020 - 07 - 01)

(修回日期: 2021 - 01 - 12)