

· 综述 ·

乳腺癌免疫治疗的研究进展

薛静 王浩

【摘要】 免疫治疗是继手术、放射治疗、化疗、内分泌治疗等之后的乳腺癌重要治疗手段。近年来,随着免疫学的不断发展,乳腺癌的免疫治疗取得了很大的进步,并日益受到临床医师的重视。笔者简述了针对乳腺癌治疗相关靶点的治疗性疫苗,如免疫检查点相关疫苗、特异性抗原疫苗、细胞疫苗、病毒载体疫苗和双特异性抗体疫苗等,同时,还介绍了近年来针对乳腺癌的预防性疫苗,这将有利于临床医师进一步了解乳腺癌免疫治疗的现状与进展。

【关键词】 乳腺肿瘤; 免疫疗法; 疫苗

【中图法分类号】 R737.9 【文献标志码】 A

乳腺癌是威胁女性生命健康的主要原因之一,当前发病率和病死率分别占女性恶性肿瘤的 25% 和 15%^[1]。随着免疫学与分子生物学的不断发展,免疫治疗成为了继传统放射治疗、化疗、手术等治疗之后的又一重要的乳腺癌治疗方法。笔者针对乳腺癌治疗相关靶点的治疗性疫苗和预防性疫苗的研究现状和进展作一综述。

一、治疗性乳腺癌疫苗

治疗性乳腺癌疫苗是一类通过消除患者体内免疫耐受,重建或增强免疫应答,起着治疗作用的新型疫苗。它是在使用常规手术、放射治疗、化疗以及新型生物治疗如单克隆抗体药物等的基础上,通过调动机体特异性抗肿瘤免疫,清除残存的零星癌细胞,防止肿瘤的复发,以便延长患者的生存期。笔者总结的相关治疗性乳腺癌疫苗临床试验见表 1^[2-29]。

(一) 免疫检查点相关疫苗

在肿瘤微环境中,肿瘤抗原激活 T 淋巴细胞的过程受多个受体、配体的相互作用,因此,这些受体或配体在肿瘤的发生、发展中扮演着重要的角色。目前,乳腺癌的研究主要针对的是淋巴细胞激活基因-3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3)、细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, CTLA-4) 和程序性死亡受体-1 (programmed cell death-1, PD-1) 等相关免疫靶点。

1. LAG-3

LAG-3 是免疫球蛋白超家族成员之一,其分子质量为 70 000,位于 12 号染色体上^[30]。它主要表达于活化的 NK 细胞、T 淋巴细胞和树突状细胞 (dendritic cell, DC) 的表面,能够抑制 T 细胞的增殖和活化,并在调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 发挥抑制作用的过程中起着重要的作用^[28]。重组可溶性 LAG-3 免疫球蛋白融合蛋白 (recombinant

soluble LAG-3 immunoglobulin fusion protein, IMP321) 与主要组织相容性复合物 (major histocompatibility complex, MHC)-II 分子有很高的亲和力,能够引起抗原提呈细胞 (antigen-presenting cells, APC) 和记忆性 T 细胞活化。已有研究在 30 例转移性乳腺癌患者中评估了 IMP321 的疗效,患者接受每 2 周 1 次 IMP321,每周 1 次 80 mg/m² 紫杉醇皮下注射,连续治疗 6 个疗程。结果表明:患者 6 个月无进展生存 (progression-free survival, PFS) 率达 90%, 并且,APC 数量、自然杀伤细胞与 CD8⁺ 效应 T 细胞的比例呈持续性增加,且未见与 IMP321 相关的不良反应^[2]。而之前已有实验证明,抗 LAG-3 联合抗 PD-1 治疗具有协同效应,并且能够防止 T 细胞耗竭和无能^[31]。

2. CTLA-4

CTLA-4 是一种免疫检查点受体,它既能在活化的 CD8⁺ 效应 T 细胞中表达,也能在肿瘤细胞中表达。并且,其能与 T 细胞共刺激受体 CD28 竞争结合其配体 CD80 或 CD86,抑制 T 淋巴细胞活化,进而阻断 CTLA-4,消除免疫系统对自身组织的外周免疫耐受和解除对 T 淋巴细胞活化的抑制,从而发挥抗肿瘤活性^[32]。目前,临床上有 2 种用于抑制 CTLA-4 的单克隆抗体。一种是 ipilimumab,多项多中心 3 期临床试验已经证明其能延长患者存活时间,故美国 FDA 已批准 ipilimumab 用于未经治疗和难治性转移性黑色素瘤患者^[33-34],而另外一种单克隆抗体 tremelimumab 已经用于多种肿瘤的临床试验中^[35]。研究者在 26 例转移性激素敏感型乳腺癌中评估了 tremelimumab 的临床疗效。这些患者每 28 d 或 90 d,接受 3 ~ 10 mg/kg 的 tremelimumab 治疗,同时每天给予 25 mg 依西美坦治疗,其主要不良反应为腹泻 (46%)、瘙痒 (42%)、便秘 (23%) 和疲劳 (23%)。其中 5 例患者中,有 4 例出现剂量限制性毒性腹泻,还有 1 例患者出现短暂性转氨酶升高,并且,患者接受 tremelimumab 联合依西美坦治疗,每 90 d 的最大耐受量 (maximum tolerated dose, MTD) 为 6 mg/kg。在接受 MTD 治疗的 13 例患者中,无一例出现 3、4 级治疗相关性腹泻,其最佳客观反应率 (objective response

表 1 治疗性乳腺癌疫苗的临床试验

疫苗及联合药物	乳腺癌类型	例数	临床试验	生物标志物或效应	临床疗效	参考文献
免疫检查点相关疫苗及联合用药						
IMP321+紫杉醇	转移性乳腺癌	30	1 期/2 期	APC、自然杀伤细胞与 CD8 ⁺ 效应 T 细胞的比例呈持续性增加	PFS 率:90%	[2]
tremelimumab+依西美坦	转移性激素敏感型乳腺癌	26	1 期	外周血中 ICOS ⁺ T 细胞/FoxP3 ⁺ 调节性 T 细胞的比率显著增加	ORR:42%	[3]
ipilimumab、冷冻消融或两者联合治疗	浸润性乳腺癌	19	1 期	外周血中 Th1、激活的 ICOS ⁺ T 细胞及 CD4 ⁺ T、CD8 ⁺ T 细胞升高	NR	[4]
pembrolizumab	PD-L1 阳性晚期三阴性乳腺癌	32	1b 期	NR	6 个月 PFS 率:23.3%	[5]
MPDL3280A	PD-L1 阳性或 PD-L1 阴性乳腺癌	54	1a 期	CD8 ⁺ T 细胞增殖和 IL-18 水平增加	ORR:19%, 其中 2 例 CR, 2 例 PR	[6]
atezolizumab	转移性三阴性乳腺癌	115	1 期	TIL 和 CD8 ⁺ T 细胞水平增加	提高生存率	[7]
特异性抗原疫苗及联合用药						
HER-2 肽+GM-CSF 佐剂	Ⅲ、Ⅵ期 HER-2 阳性乳腺癌、卵巢癌和肺癌	64	1 期	HER-2 特异性 DTH、T 细胞、Ab	NR	[8-12]
HER-2 ICD 蛋白 + GM-CSF 佐剂	Ⅱ ~ Ⅳ 期 HER-2 阳性乳腺癌和卵巢癌	29	1 期	HER-2 特异性 Ab 和 T 细胞	NR	[13]
HER-2 肽+GM-CSF 佐剂和曲妥珠单抗联合	Ⅳ期 HER-2 阳性乳腺癌	22	1 期/2 期	HER-2 特异性 T 细胞, 血浆 TGF-β 减少	NR	[14]
HER-2 蛋白 + AS15 佐剂和拉帕替尼	Ⅳ期 HER-2 阳性乳腺癌	12	1 期	HER-2 特异性 Ab 和 T 细胞免疫应答	NR	[15]
HER-2 肽+GM-CSF 佐剂	Ⅳ期 HER-2 阳性乳腺癌和卵巢癌	14	1 期	HER-2 特异性 DTH, 能分泌 IFN-γ 和溶解肿瘤细胞的 CD8 ⁺ T 细胞	NR	[16]
GP2+GM-CSF+曲妥珠单抗联合	HER-2 阳性乳腺癌	17	1b 期	IFN-γ 分泌增加	NR	[17]
STn-KLH + CY 和 KLH + CY 相对照	Ⅳ期乳腺癌	1 028	3 期	新特异性疫苗 Ab	无差异	[18]
MUC1	Ⅱ期乳腺癌	31	3 期	NR	对 OS 有益	[19-20]
肿瘤相关糖抗原 Lewis Y 与神经节苷脂 GD2	Ⅳ期乳腺癌	6	1 期	提高特异性抗体水平	潜在临床应用价值	[21]
生存素肽±IFN	晚期/复发乳腺癌	14	1 期	生存素特异性 T 细胞	SD 率:14%	[21]
乳球蛋白 cDNA	Ⅳ期乳腺癌	14	1 期	乳球蛋白特异性 T 细胞	可能获益	[22]
乳腺癌细胞疫苗及联合用药						
HER-2-DC (lapuleucel-T)	Ⅳ期 HER-2 阳性乳腺癌	18	1 期	HER-2 特异性 T 细胞增殖	SD 率:16.7%	[23]
p53-DC	Ⅳ期乳腺癌	26	2 期	p53 特异性 T 细胞:38%, Ab:42%	SD 率:42%	[24]
异源性分泌型 GM-CSF 乳腺癌肿瘤细胞 + 低剂量 CY 和 DOX	Ⅳ期乳腺癌	28	1 期	HER-2 特异 DTH 和 Ab; 最佳化疗剂量 CY 为 200 mg/m ² , DOX 为 35 mg/m ²	NR	[25]
异源性分泌型 GM-CSF 乳腺癌肿瘤细胞+低剂量 CY 和曲妥珠单抗联合	Ⅳ期 HER-2 阳性乳腺癌	20	1 期	HER-2 特异 DTH 和 CD8 ⁺ T 细胞, Tregs 和 MDSCs 减少	6 个月 CB 率:55%; PFS:7 个月; OS:42 个月	[26]
CY、噻替派、卡铂联合 DC-CIK	转移性三阴性乳腺癌	23	1 期	NR	PR 率:13%, SD 率:56.6%	[27]
病毒载体疫苗及联合用药						
PANVAC TM	转移性乳腺癌	12	1 期	特异性 CD4 ⁺ T 细胞应答, 并产生高水平的 CEA 特异性 T 细胞	SD 率:33% CR 率:8%	[28]
双特异性抗体及联合用药						
连有活化 T 细胞的抗 HER-2/CD3 双特异性抗体	转移性乳腺癌	23	1 期	诱导固有免疫应答	SD 率:59.1%	[29]

注: Ab 为抗体; APC 为抗原提呈细胞; CB 为临床受益; CEA 为癌胚抗原; CY 为环磷酰胺; CIK 为细胞因子诱导的杀伤细胞; CR 为完全缓解; DC 为树突状细胞; DOX 为多柔比星; DTH 为迟发型变态反应; GM-CSF 为粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子; HER-2 为人表皮生长因子受体 2; ICOS 为可诱导共刺激分子; ICD 为胞内结构域; IFN 为干扰素; IMP321 为重组可溶性 LAG-3 免疫球蛋白融合蛋白; KLH 为钥孔血蓝蛋白; MDSCs 为髓源性抑制细胞; MUC1 为黏蛋白 1; NR 为未报道; ORR 为客观反应率; OS 为总生存; PFS 为无进展生存; PR 为部分缓解; PD-L1 为程序性死亡受体-1; SD 为病情稳定; STn 为唾液酸 Tn; TGF-β 为转化生长因子-β; TIL 为肿瘤浸润淋巴细胞; Tregs 为调节性 T 细胞

rate, ORR) 为 42% (在 26 例患者中, 有 11 例能够稳定病情 12 周或更长的时间)^[3]。在大多数患者中, tremelimumab 能够使外周血 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞水平增加, 而 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞能够诱导可诱导共刺激分子 (inducible costimulator, ICOS) 的产生, 并且, ICOS 是抑制 CTLA-4 的潜在生物标志物。在给予 tremelimumab 治疗的患者中, 可以观察到外周血中 ICOS⁺T 淋巴细胞/FoxP3⁺ 调节性 T 细胞的比率显著增加^[3]。而在另一项试验中, 研究者对 19 例拟行乳腺切除的浸润性乳腺癌患者使用了 ipilimumab, 并对其疗效进行了评估, 患者被分成 3 组, 分别接受术前肿瘤冷冻消融、单剂量 ipilimumab 和 ipilimumab 联合肿瘤冷冻消融治疗, 其结果表明, 术前冷冻消融和应用 ipilimumab 是安全的、可耐受的^[4]。

3. PD-1/PD-L1 (programmed cell death-ligand 1, PD-L1)

PD-1 属于 CD28 家族成员, 首次在 2B4. 11 和 LyD9 2 个细胞系的程序性死亡过程中被发现, 因此命名为程序性死亡受体 1^[36]。它广泛表达于活化的 B 细胞、T 细胞、单核细胞和调节性 T 细胞等。PD-1 与其配体 (PD-L1 和 PD-L2) 相互结合后能诱导 T 细胞失能, 从而导致肿瘤免疫逃逸^[32]。目前, PD-1 抑制剂已经用于多种晚期恶性肿瘤, 并已证明有持久的临床活性^[37]。美国 FDA 已经批准 2 种 PD-1 拮抗剂 pembrolizumab 和 nivolumab 用于晚期黑色素瘤的治疗^[38], 并且其中 nivolumab 不仅对进展期黑色素瘤有效, 还能延长转移性非小细胞肺癌患者的生命。现存的动物模型^[39-41]和临床试验表明, PD-L/PD-L1 也能用于乳腺癌的治疗。在一项研究中, 研究者在 32 例 PD-L1⁺ 晚期三阴性乳腺癌中对 pembrolizumab 的疗效进行了评估^[5]。患者每 2 周静脉注射 10 mg/kg 剂量的 pembrolizumab, 并且 46. 9% 患者已经接受了至少 3 种优化化疗方案治疗, 25% 患者已经接受了 5 种或更多的化疗方案治疗。研究结果显示, 在 27 例可评估的患者中 ORR 为 18. 5%, 包括 1 例完全缓解 (complete response, CR), 4 例部分缓解 (partial response, PR) 和 7 例病情稳定 (stable disease, SD) 的患者, 患者 6 个月 PFS 率为 23. 3%, 并且与治疗相关的不良反应一般可以控制。

PD-L1 是 PD-1 的 2 个配体中最具有特征性的, 它不仅在 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞和 DC 中表达, 还能在肿瘤细胞中表达^[32]。MPDL3280A 是一种抗 PD-L1 单克隆抗体, 研究者在临床 1a 期试验中对 MPDL3280A 的疗效进行了评估, 结果表明: 54 例用于评估该药物安全性的 PD-L1 阳性或 PD-L1 阴性乳腺癌患者对该药物的耐受性很好, 其 ORR 为 19%, 包括 2 例 CR 和 2 例 PR; 在试验过程中, 63% 患者出现了轻度不良反应, 包括乏力、恶心、发热和厌食, 而只有 11% 患者出现了 3 级治疗相关的不良反应, 并且该药物能使 CD8⁺T 细胞增殖和 IL-18 水平增加^[6]。2017 年美国癌症研究协会年会发布了另一种抗 PD-L1 单克隆抗体 atezolizumab。研究者在 115 例转移性三阴性乳腺癌患者中评估了单剂量 atezolizumab 的疗效, 并且这些患者中大多数已接受过治疗。研究结果表明: 10% 的转移性三阴性乳腺癌患者产生了持久

的免疫应答, 并且, 以 atezolizumab 作为一线治疗和那些之前接受过治疗的患者 ORR 分别为 26% 和 7%, 此试验证明了 atezolizumab 是安全的, 能够提高转移性三阴性乳腺癌的生存率^[7]。

(二) 特异性抗原疫苗

1. HER-2 疫苗

HER-2 是表皮生长因子受体家族的成员之一, 其单体基本无活性, 必须形成二聚体后才能产生活化信号。华盛顿大学肿瘤疫苗研究团队对 HER-2 阳性转移性乳腺癌患者进行了初步研究, 他们测试了 HER-2 多肽或 HER-2 蛋白添加佐剂粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) 疫苗的疗效^[8-13, 42]。实验结果表明, HER-2 表位肽仅能引起短暂的 CD8⁺T 细胞应答^[9], 而 HER-2 多肽不仅可以激发 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞增殖, 还可以诱发迟发型超敏反应 (delayed-type hypersensitivity, DTH) 和持久的 CD8⁺T 细胞免疫应答^[10-12, 42], 并且还发现接种胞内结构域蛋白 HER-2 联合佐剂 GM-CSF 有着相似的作用。肿瘤疫苗研究团队对 22 例 HER-2 阳性转移性乳腺癌患者, 在给予标准曲妥珠单抗治疗的基础上联合接种 HER-2 肽疫苗, 结果表明, 通过此疗法促进了 HER-2 特异性 T 淋巴细胞应答和抗原表位扩散, 以及 TGF- β 的血浆水平下降^[14]。在另一项试验中, 研究团队对 HER-2 蛋白疫苗联合拉帕替尼的疗效进行了试验。这项试验主要在 12 例对曲妥珠单抗治疗无效的 HER-2 阳性转移性乳腺癌患者中进行。实验结果表明, 所有患者均成功诱导出 HER-2 特异性抗体, 而仅有 8% 的患者诱导出 HER-2 特异性 T 淋巴细胞^[15]。

目前, 针对 HER-2/neu 蛋白的 GP2、E75、AE37 3 种疫苗已经被广泛试验, 并且在乳腺癌的 2 期临床试验中证实了这些疫苗的疗效^[43]。在最近的一项试验中, 研究者在 17 例 HER-2 阳性乳腺癌患者中对 GP2⁺GM-CSF 联合曲妥珠单抗治疗的疗效进行了评估, 其结果显示: 在治疗过程中患者 IFN- γ 分泌增加, 未见剂量限制性或 3~5 级局部、全身不良反应, 证实了 GP2⁺GM-CSF 疫苗是安全的, 并且联合曲妥珠单抗治疗能增强免疫应答^[17]。

2. 黏蛋白 1 (mucin 1, MUC1) 疫苗

MUC1 是由英国学者 Swallow 等^[44]于 1986 年自尿中分离出来的, 是一种高分子质量 I 型跨膜糖蛋白。目前针对 MUC1 和糖类抗原的乳腺癌疫苗也已经被广泛用于治疗转移性乳腺癌的临床试验中^[45]。一项针对乳腺癌患者的研究表明, 由 MUC1 表位肽和蛋白载体钥孔血蓝蛋白 (keyhole limpet hemocyanin, KLH) 组成的肿瘤疫苗能激发产生特异性 MUC1 抗体, 但不能产生 T 细胞^[46]。患者在接种疫苗之前被给予 3 d 低剂量的环磷酰胺 (cyclophosphamide, CY) 可提高疫苗的活性, 能使抗体生成水平增高, 且能提高其中位生存期^[47]。然而, 在一项 3 期临床试验中, KLH+CY 共轭乙酰氨基半乳糖抗原与单用 KLH+CY 相比, 结果却不能证明此观

点^[18]。而另一项研究分析了 MUC1 特异性抗原疫苗 L-BLP25 对乳腺癌的疗效,发现在表达 MUC1 的乳腺癌小鼠模型中,联合来曲唑治疗的 L-BLP25 疫苗能诱导抗原特异性免疫应答,明显提高小鼠的生存率^[48]。

在一项关于氧化型甘露聚糖 MUC1 融合蛋白(oxidized mannan-MUC1 fusion protein, M-FP)的 3 期临床试验中,研究者进行了长达 12~15 年的随访,结果显示:对照组患者复发率为 60% (15 例患者中有 9 例出现复发),其复发的平均时间为 65.8 个月,而接受疫苗 M-FP 的患者复发率则为 12.5% (16 例患者中有 2 例复发),其复发的平均时间为 118 个月,并且,在随访过程中未见与 M-FP 相关的不良反应和自身免疫性疾病迹象^[19]。还有研究表明,以聚乙二醇黄金纳米颗粒(gold nanoparticles, AuNP)为基础的疫苗能使嵌合肽固定;这种嵌合肽由起源于 MUC1 的糖肽序列和 T 细胞表位 p30 序列组成,该疫苗能够显著诱导小鼠 MHC-II 介导的免疫应答,而且,用 AuNP 治疗的小鼠血清能识别人乳腺癌 MCF-7 细胞^[49]。

3. 针对端粒酶的疫苗

端粒酶是由 RNA 和相关蛋白质组成的核糖核蛋白体复合物,它属于专一依赖 RNA 的逆转录酶。当其被激活时,能利用自身的 RNA 为模板合成端粒 DNA,维持端粒的长度,从而使细胞永生并发展成为肿瘤。端粒酶的活性决定于人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT),因而 hTERT 的过度表达与肿瘤的发生、发展有着重要的关系。在一项试验中,研究者在 19 例转移性乳腺癌中观察了在添加佐剂 GM-CSF 的情况下 hTERT 肽的疗效,结果显示,接种疫苗后产生了新的肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL),并且诱导了 hTERT 特异性 CD8⁺T 细胞应答,表明 hTERT 肽有可能提高患者生存率^[45]。

4. 针对生存素的疫苗

生存素是 1997 年 Ambrosini 等^[50]用效应细胞蛋白酶受体-1cDNA 克隆出的细胞凋亡抑制蛋白家族的又一新成员。它是目前发现的最强的凋亡抑制因子^[51-52]。研究表明,生存素在 60 种肿瘤细胞系中普遍高表达,并且肺癌和乳腺肿瘤细胞系表达最高^[53]。在最近报道的一项试验中,研究者将携带有生存素抗原基因的重组腺相关病毒感染 DC,然后观察 DC 激活的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)对乳腺癌细胞的杀伤作用。结果表明,经过此方法感染的 DC 可有效的激活特异性 CTL 杀伤乳腺肿瘤细胞^[54]。

5. 针对其他的肿瘤抗原疫苗

在乳腺癌细胞表面还存在着多种抗原表位,比如 p53、乳球蛋白和其他糖类抗原,这些肿瘤靶向抗原很少被研究。

(三)细胞疫苗

细胞疫苗可直接或间接依赖 DC 提呈肿瘤抗原,激活肿瘤免疫。而 lapuleucel-T 就是一种细胞疫苗,它由自体来源的外周血中的单个核细胞构成,并且,还负载了 HER-2 和 GM-CSF 的聚合蛋白。在一项针对该细胞疫苗的研究中,研

究者对 18 例 HER-2 阳性转移性乳腺癌患者进行了试验。研究结果显示:接种该疫苗能活化 T 淋巴细胞,促进其增殖和分泌 IFN- γ ,并且,其中 1 例患者部分缓解持续>6 个月,3 例患者 SD 持续>12 个月^[23]。而另一项针对 26 例转移性乳腺癌患者的研究,对负载 p53 抗原的 DC 疫苗也进行了分析,发现其中 38% 患者出现新的特异性 p53 细胞应答,42% 患者 SD^[24]。

已有研究评估了异源性乳腺肿瘤细胞通过基因修饰分泌 GM-CSF 的疗效^[55]。在疫苗接种部位,GM-CSF 的旁分泌作用促进了大量 DC 聚集,并提呈乳腺肿瘤抗原,从而激活 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞^[56]。有研究者按特定的时间顺序为 28 例转移性乳腺癌患者接种了该疫苗,同时给予一系列低剂量的 CY 或多柔比星。该研究结果显示,低剂量的 CY 可以选择性诱导调节性 T 细胞凋亡,从而增强疫苗免疫应答的活性^[25]。而另一项研究对 20 例 HER-2 阳性转移性乳腺癌患者,按顺序给予小剂量 CY 或每周 1 次曲妥珠单抗克隆抗体,结果显示,35% 患者发生 DTH,并且,通过 4 个周期的治疗,患者免疫系统的多功能特异性 HER-2 CD8⁺T 细胞水平增加^[26]。

有研究者对 23 例经蒽环类及紫杉类药物预处理的转移性三阴性乳腺癌患者进行了研究,以 CY 作初始化疗,随后全部患者给予 CY、噻替派、卡铂化疗 2 个周期,并且,在化疗间期输注 3 次 DC-细胞因子诱导的杀伤细胞,然后再口服 CY 维持治疗。研究结果显示:患者 PR 率为 13%,SD 率为 56.6%,疾病进展率为 30.4%,在治疗过程中最常见的严重不良反应为中性粒细胞减少症(100%)和贫血(69.7%),但未出现治疗相关死亡事件^[27]。

(四)病毒载体疫苗

病毒载体疫苗可根据病毒的基因转导功能和免疫原性制备。它是将肿瘤抗原基因重组到病毒基因组中,然后筛选出能够表达肿瘤抗原基因的病毒,将其重组制成疫苗,因而病毒载体疫苗既能表达肿瘤抗原又能表达病毒抗原,从而激活 CD4⁺、CD8⁺辅助性 T 细胞,产生特异性细胞和体液免疫应答。在一项关于病毒载体疫苗的研究中,研究者在 12 例转移性乳腺癌患者中评估了 PANVAC 疫苗(一种以痘病毒为基础的病毒载体疫苗)的疗效,该疫苗包含了 MUC1、CEA 和 3 个 T 细胞共刺激因子,试验结果表明,PANVAC 能引起特异性 CD4⁺T 细胞应答,并产生高水平的 CEA 特异性 T 细胞,其中患者 SD 率为 33%,CR 率为 8%,并且,只出现了与治疗相关的轻度不良反应^[28]。

(五)双特异性抗体

双特异性抗体,又称双价抗体或双功能抗体,可以同时特异性结合 2 个不同的抗原,具有特异性和双功能性,因而在肿瘤免疫治疗中扮演着越来越重要的角色。2014 年 12 月,美国 FAD 批准安进公司研发的治疗费城染色体阴性难治性或复发性 B 细胞急性淋巴细胞白血病的双特异性 T 细胞 CD3 结合 CD19 靶向抗体药物 blinatumomab 用于临床^[57]。

表 2 关于预防乳腺癌复发疫苗的临床试验

疫苗	乳腺癌类型	样本量	临床试验	生物标志物	临床疗效	参考文献
HER-2 E75 肽疫苗+GM-CSF 佐剂	辅助疗法后没有疾病征兆的早期 HER-2 阳性乳腺癌	试验组:108 例; 对照组:79 例	1 期/2 期	HER-2 特异性记忆性 T 细胞;Tregs 和 TGF- β 增加	5 年 DFS 率: 87.7%	[58]
HER-2 DC 内接种	DCIS	27 例	1 期	HER-2 特异性 T 细胞;50% 外科手术残留的 DCIS 中 HER-2 表达低下	手术后 NED 者占 18.5%	[59]

注:DC 为树突状细胞;DICS 为导管原位癌;DFS 为无疾病生存;GM-CSF 为粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子;HER-2 为人类表皮生长因子受体 2;NED 为无疾病征象;TGF- β 为转化生长因子- β ;Tregs 为调节性 T 细胞

ertumaxomab 是一种靶向 HER-2/CD3 的双特异性抗体,目前已经进入乳腺癌的临床研究阶段。有研究者评价了抗 HER-2/CD3 双特异性抗体同时联合低剂量的 IL-2 和 GM-CSF 在 23 例转移性乳腺癌患者中的疗效,研究结果表明:59.1% 患者 SD,并且能诱导外周血单核细胞特异性抗-SK-BR-3 和固有免疫应答,在整个过程中没有发现任何剂量限制性不良反应^[29]。

二、乳腺癌的预防性疫苗

机体的免疫系统有一个独特而强大的特征,即能够通过免疫记忆预防疾病。如果能通过这种机制对乳腺癌患者接种疫苗,让机体自身形成抑制癌细胞生长的微环境,这样疫苗便有可能实现乳腺癌免疫预防的目的,其预防过程包括一级预防和二级预防。本综述涉及的乳腺癌预防性疫苗的临床试验如表 2^[58-59]。

(一)一级预防

乳腺癌的一级预防相对于二级预防更受学者们关注。乳腺癌的特征表明了一级预防的可实施性。首先,可以鉴别高风险乳腺癌个体;其次,应用他莫昔芬、雷洛昔芬和芳香酶抑制剂等激素药物已经能够预防部分乳腺癌;最后,乳腺癌的发生、发展是一个缓慢的过程,可以在发病的窗口期接种疫苗,建立主动免疫来预防疾病。最近一项研究对他莫昔芬在乳腺癌一级预防中的效果进行了评估,发现他莫昔芬能够降低罹患乳腺癌的风险^[60]。这为乳腺癌预防性疫苗的成功研制提供了前进的动力。

(二)二级预防

二级预防又称为临床前期预防,是指在疾病的临床前期做好早期发现、早期诊断、早期治疗的“三早”预防措施。一项在乳腺 DCIS 患者中进行的研究发现,以 HER-2 为靶点的 DC 疫苗可以诱导大量的 HER-2 特异性 T 细胞产生,并且发现经手术治疗后的 27 例 HER-2 过表达的 DCIS 患者接种疫苗后,有 5 例(18.5%)患者疾病症状消失,22 例术中残留病灶的患者接种疫苗后有 11 例(50%)HER-2 表达转为阴性^[59]。

E75 是一种人白细胞抗原 A2/A3 限制的 HER-2/neu 多肽^[58]。当它联合 GM-CSF 时能充分诱导出抗 HER-2 免疫应答^[61]。研究者对应用标准化治疗后无肿瘤且淋巴结阳性(一个剂量递增的研究)或淋巴结阴性(一个剂量优化的研究)的 195 例乳腺癌患者,进行了 HER-2 表位肽 E75 联合佐剂 GM-CSF 的疗效评估。然而,195 例患者中只有 187 例患者得到了有效评估,其中 108 例患者接种了疫苗,79 例未接

种疫苗。研究结果显示:接种疫苗组和对照组 5 年 DFS 分别为 89.7% 和 80.2%,而给予最佳剂量和小剂量的患者,其 5 年 DFS 分别为 94.6% 和 87.1%,并且,该疫苗毒性低,能诱导抗原表位扩散,以及外周血调节性 T 细胞和 TGF- β 水平下降,记忆性 T 细胞增加^[58]。

三、结语

随着免疫学与分子生物学的不断发展,乳腺癌的免疫治疗越来越受到学者们关注。但是,在乳腺癌的免疫治疗中,免疫系统在疾病的发生、发展过程中扮演着双重角色,它不但能够消灭疾病,亦能促进肿瘤的生长。虽然多项临床试验证明乳腺癌免疫治疗相关靶点及乳腺癌的疫苗可以调节机体的免疫系统从而改善患者的预后,但是,乳腺癌的免疫治疗仍存在着许多问题,乳腺癌与免疫系统之间的关系亟待学者们进一步研究与探索。

参 考 文 献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Bridnone C, Gutierrez M, Mefti F, et al. First-line chemioimmunotherapy in metastatic breast carcinoma: combination of paclitaxel and IMP321 (LAG-3Ig) enhances immune responses and antitumor activity [J]. J Transl Med, 2010, 8:71.
- [3] Vonderheide RH, Lorusso PM, Khalil M, et al. Tremelimumab in combination with exemestane in patients with advanced breast cancer and treatment-associated modulation of inducible costimulator expression on patient T cells [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(13): 3485-3494.
- [4] McArthur HL, Diab A, Page DB, et al. A pilot study of preoperative single-dose Ipilimumab and/or cryoablation in women with early-stage breast cancer with comprehensive immune profiling [J]. Clin Cancer Res, 2016, 22(23): 5729-5737.
- [5] Nanda R, Chow LQ, Dees EC, et al. Pembrolizumab in patients with advanced triple-negative breast cancer: phase Ib KEYNOTE-012 study [J]. J Clin Oncol, 2016, 34(21): 2460-2467.
- [6] Cha E, Wallin J, Kowanetz M. PD-L1 inhibition with MPDL3280A for solid tumors [J]. Semin Oncol, 2015, 42(3):484-487.
- [7] No authors listed. Atezolizumab extends survival for breast cancer [J]. Cancer Discov, 2017, 7(6):OF10.
- [8] Disis ML, Grabstein KH, Sleath PR, et al. Generation of immunity to the HER-2/neu oncogenic protein in patients with breast and ovarian cancer using a peptide-based vaccine [J]. Clin Cancer Res, 1999, 5(6): 1289-1297.

- [9] Knutson KL, Schiffman K, Cheever MA, et al. Immunization of cancer patients with a HER-2/neu, HLA-A2 peptide, p369-377, results in short-lived peptide-specific immunity [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(5): 1014-1018.
- [10] Disis ML, Schiffman K, Gooley TA, et al. Delayed-type hypersensitivity response is a predictor of peripheral blood T-cell immunity after HER-2/neu peptide immunization [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(4): 1347-1350.
- [11] Knutson KL, Schiffman K, Disis ML. Immunization with a HER-2/neu helper peptide vaccine generates HER-2/neu CD8 T-cell immunity in cancer patients [J]. *J Clin Invest*, 2001, 107(4): 477-484.
- [12] Razazan A, Behravan J, Arab A, et al. Conjugated nanoliposome with the HER2/neu-derived peptide GP2 as an effective vaccine against breast cancer in mice xenograft model [J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0185099.
- [13] Disis ML, Schiffman K, Guthrie K, et al. Effect of dose on immune response in patients vaccinated with an her-2/neu intracellular domain protein-based vaccine [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(10): 1916-1925.
- [14] Gall VA, Philips AV, Qiao N, et al. Trastuzumab increases HER2 uptake and cross-presentation by dendritic cells [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(19): 5374-5383.
- [15] Kim SB, Ahn JH, Kim J, et al. A phase I study of a heterologous prime-boost vaccination involving a truncated HER2 sequence in patients with HER2-expressing breast cancer [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2015, 2: 15 031.
- [16] Murray JL, Gillogly ME, Przepiorka D, et al. Toxicity, immunogenicity, and induction of E75-specific tumor-lytic CTLs by HER-2 peptide E75 (369-377) combined with granulocyte macrophage colony-stimulating factor in HLA-A2+ patients with metastatic breast and ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(11): 3407-3418.
- [17] Clifton GT, Litton JK, Arrington K, et al. Results of a phase Ib trial of combination immunotherapy with a CD8+ T cell eliciting vaccine and trastuzumab in breast cancer patients [J]. *Ann Surg Oncol*, 2017, 24(8): 2161-2167.
- [18] Miles D, Roche H, Martin M, et al. Phase III multicenter clinical trial of the sialyl-TN (STn)-keyhole limpet hemocyanin (KLH) vaccine for metastatic breast cancer [J]. *Oncologist*, 2011, 16(8): 1092-1100.
- [19] Perpes Lde P, da Luz FA, Pultz Bdos A, et al. Peptide vaccines in breast cancer: The immunological basis for clinical response [J]. *Biotechnol Adv*, 2015, 33(8): 1868-1877.
- [20] Vassilaros S, Tsibanis A, Tsikkinis A, et al. Up to 15-year clinical follow-up of a pilot Phase III immunotherapy study in stage II breast cancer patients using oxidized mannan-MUC1 [J]. *Immunotherapy*, 2013, 5(11): 1177-1182.
- [21] Hutchins LF, Makhoul I, Emanuel PD, et al. Targeting tumor-associated carbohydrate antigens: a phase I study of a carbohydrate mimetic-peptide vaccine in stage IV breast cancer subjects [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(58): 99 161-99 178.
- [22] Kim SW, Goedegebuure P, Gillanders WE. Mammaglobin-A is a target for breast cancer vaccination [J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(2): e1069940.
- [23] Park JW, Melisko ME, Esserman LJ, et al. Treatment with autologous antigen-presenting cells activated with the HER-2 based antigen lapuleucel-T: results of a phase I study in immunologic and clinical activity in HER-2 overexpressing breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(24): 3680-3687.
- [24] Svane IM, Pedersen AE, Johansen JS, et al. Vaccination with p53 peptide-pulsed dendritic cells is associated with disease stabilization in patients with p53 expressing advanced breast cancer; monitoring of serum YKL-40 and IL-6 as response biomarkers [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(9): 1485-1499.
- [25] Emens LA, Asquith JM, Leatherman JM, et al. Timed sequential treatment with cyclophosphamide, doxorubicin, and an allogeneic granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-secreting breast tumor vaccine: a chemotherapy dose-ranging factorial study of safety and immune activation [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(35): 5911-5918.
- [26] Chen G, Gupta R, Petrik S, et al. A feasibility study of cyclophosphamide, trastuzumab, and an allogeneic GM-CSF-secreting breast tumor vaccine for HER2+ metastatic breast cancer [J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(10): 949-961.
- [27] Wang X, Ren J, Zhang J, et al. Prospective study of cyclophosphamide, thiotepa, carboplatin combined with adoptive DC-CIK followed by metronomic cyclophosphamide therapy as salvage treatment for triple negative metastatic breast cancers patients (aged <45) [J]. *Clin Transl Oncol*, 2016, 18(1): 82-87.
- [28] Yu LY, Tang J, Zhang CM, et al. New immunotherapy strategies in breast cancer [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2017, 14(1): E68.
- [29] Lum LG, Thakur A, Al-Kadhimi Z, et al. Targeted T-cell therapy in stage IV breast cancer: A phase I clinical trial [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(10): 2305-2314.
- [30] Kok M. LAG-3: another brake to release in breast cancer? [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(12): 2907-2908.
- [31] Shin DS, Ribas A. The evolution of checkpoint blockade as a cancer therapy: what's here, what's next? [J]. *Curr Opin Immunol*, 2015, 33: 23-35.
- [32] Bedognetti D, Maccalli C, Bader SB, et al. Checkpoint inhibitors and their application in breast cancer [J]. *Breast Care (Basel)*, 2016, 11(2): 108-115.
- [33] Mohr P, Ascierto P, Arance A, et al. Real-world treatment patterns and outcomes among metastatic cutaneous melanoma patients treated with ipilimumab [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2017. [2017-03-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29044660>.
- [34] Oh A, Tran DM, McDowell LC, et al. Cost-effectiveness of nivolumab-ipilimumab combination therapy compared with monotherapy for first-line treatment of metastatic melanoma in the United States [J]. *J Manag Care Spec Pharm*, 2017, 23(6): 653-664.
- [35] Comin-Anduix B, Escuin-Ordinas H, Ibarrondo FJ. Tremelimumab: research and clinical development [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 1767-1776.
- [36] 黄晓嘉,唐海林,谢小明. 程序性死亡配体 1 在三阴性乳腺癌中的研究进展 [J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2017, 11(4): 234-237.
- [37] Lipson EJ, Forde PM, Hammers HJ, et al. Antagonists of PD-1 and PD-L1 in cancer treatment [J]. *Semin Oncol*, 2015, 42(4): 587-600.

- [38] Robert C, Long GV, Brady B, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(4): 320-330.
- [39] Josefsson A, Nedrow JR, Park S, et al. Imaging, biodistribution, and dosimetry of radionuclide-labeled PD-L1 antibody in an immunocompetent mouse model of breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(2): 472-479.
- [40] Loi S, Dushyanthen S, Beavis PA, et al. RAS/MAPK activation is associated with reduced tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer; therapeutic cooperation between MEK and PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(6): 1499-1509.
- [41] Black M, Barsoum IB, Truesdell P, et al. Activation of the PD-1/PD-L1 immune checkpoint confers tumor cell chemoresistance associated with increased metastasis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(9): 10 557-10 567.
- [42] Costa RLB, Soliman H, Czerniecki BJ, et al. The clinical development of vaccines for HER2+ breast cancer: Current landscape and future perspectives [J]. *Cancer Treat Rev*, 2017, 61: 107-115.
- [43] Clifton GT, Mittendorf EA, Peoples GE. Adjuvant HER2/neu peptide cancer vaccines in breast cancer [J]. *Immunotherapy*, 2015, 7(11): 1159-1168.
- [44] Swallow DM, Griffiths B, Bramwell M, et al. Detection of the urinary 'PUM' polymorphism by the tumour-binding monoclonal antibodies Ca1, Ca2, Ca3, HMFG1, and HMFG2 [J]. *Dis Markers*, 1986, 4(4): 247-254.
- [45] Cimino-Mathews A, Foote JB, Emens LA. Immune targeting in breast cancer [J]. *Oncology (Williston Park)*, 2015, 29(5): 375-385.
- [46] Musselli C, Ragupathi G, Gilewski T, et al. Reevaluation of the cellular immune response in breast cancer patients vaccinated with MUC1 [J]. *Int J Cancer*, 2002, 97(5): 660-667.
- [47] Miles DW, Towilson KE, Graham R, et al. A randomised phase II study of sialyl-Tn and DETOX-B adjuvant with or without cyclophosphamide pretreatment for the active specific immunotherapy of breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 1996, 74(8): 1292-1296.
- [48] Degregorio M, Degregorio M, Wurz GT, et al. L-BLP25 vaccine plus letrozole for breast cancer: Is translation possible? [J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(8): 1422-1424.
- [49] Cai H, Degliangeli F, Palitzsch B, et al. Glycopeptide-functionalized gold nanoparticles for antibody induction against the tumor associated mucin-1 glycoprotein [J]. *Bioorg Med Chem*, 2016, 24(5): 1132-1135.
- [50] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma [J]. *Nat Med*, 1997, 3(8): 917-921.
- [51] 张帅, 刘波, 张波, 等. 生存素表达对缺氧人肺动脉平滑肌细胞凋亡与增殖的影响[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2015, 38(1): 45-49.
- [52] Qiu Y, Li X, Yi B, et al. Protein phosphatase PHLPP induces cell apoptosis and exerts anticancer activity by inhibiting survivin phosphorylation and nuclear export in gallbladder cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(22): 19 148-19 162.
- [53] Garg H, Suri P, Gupta JC, et al. Survivin: a unique target for tumor therapy [J]. *Cancer Cell Int*, 2016, 16: 49.
- [54] 徐亮, 熊秋云. Survivin 在乳腺癌中作用的研究进展[J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2012, 6(4): 429-435.
- [55] Davis-Sproul JM, Harris MP, Davidson NE, et al. Cost-effective manufacture of an allogeneic GM-CSF-secreting breast tumor vaccine in an academic cGMP facility [J]. *Cytotherapy*, 2005, 7(1): 46-56.
- [56] Soiman H, Mediavilla-Vaaarela M, Antonia SJ. A GM-CSF and CD40L bystander vaccine is effective in a murine breast cancer model [J]. *Breast Cancer (Dove Med Press)*, 2015, 7: 389-397.
- [57] Clifton GT, Gall V, Peoples GE, et al. Clinical development of the E75 vaccine in breast cancer [J]. *Breast Care (Basel)*, 2016, 11(2): 116-121.
- [58] Sharma A, Koldovsky U, Xu S, et al. HER-2 pulsed dendritic cell vaccine can eliminate HER-2 expression and impact ductal carcinoma in situ [J]. *Cancer*, 2012, 118(17): 4354-4362.
- [59] Smith SG, Foy R, McGowan JA, et al. Prescribing tamoxifen in primary care for the prevention of breast cancer: a national online survey of GPs' attitudes [J]. *Br J Gen Pract*, 2017, 67(659): e414-e427.
- [60] Clifton GT, Peoples GE, Mittendorf EA. The development and use of the E75 (HER2 369-377) peptide vaccine [J]. *Future Oncol*, 2016, 12(11): 1321-1329.

(收稿日期:2017-04-06)

(本文编辑:罗承丽)

薛静, 王浩. 乳腺癌免疫治疗的研究进展[J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2018, 12(1): 43-49.