

· 综述 ·

乳腺肿瘤免疫微环境及其在临床免疫治疗中的应用

谭璐媛 王妍 钟文静 龚畅

【摘要】 免疫微环境中存在不同激活状态的免疫细胞。不同分子表型的乳腺肿瘤中免疫细胞浸润程度不同,其免疫细胞的数量和状态可作为预测乳腺肿瘤患者预后和疗效的重要指标。因此,研究免疫细胞之间及其与肿瘤细胞之间的相互作用机制以及免疫细胞作为诊断标志物和治疗靶点的临床应用价值,是当今肿瘤领域的热点。笔者总结了肿瘤免疫微环境在乳腺肿瘤发生、发展中的作用及其作为免疫治疗靶点的临床应用潜能。

【关键词】 乳腺肿瘤; 肿瘤微环境; 淋巴细胞, 肿瘤浸润; 免疫疗法

【中图分类号】 R737.9

【文献标志码】 A

恶性肿瘤的无限增殖、抗凋亡、侵袭、转移和产生耐药是其区别于其他疾病的显著特点。既往研究多从肿瘤本身的角度探索肿瘤发生、发展的机制并从中寻找克服肿瘤的靶点,如肿瘤干细胞理论^[1]、肿瘤表观遗传学^[2]、肿瘤遗传学^[3]和肿瘤细胞凋亡^[4]等;而从肿瘤微环境的角度出发,探索其与肿瘤细胞相互作用^[5],近年逐渐成为研究的热点。1989 年,Paget^[6]提出了“种子与土壤”的理论,乳腺肿瘤微环境(“土壤”)可影响乳腺癌细胞(“种子”)的种植、存活、侵袭和转移。乳腺癌转移早期易转移至肝、肺、骨等器官,体现出特定的微环境对肿瘤细胞的吸引力。同时,作为“种子”的乳腺癌细胞亦可通过携带着自身特异蛋白质和遗传物质的外泌体,触发靶器官的微环境发生必要的分子反应如炎症、血管形成等,以做好接纳肿瘤细胞的准备^[7]。肿瘤微环境是由固有的与适应性免疫细胞、成纤维细胞、细胞外基质、可溶性分子以及脉管系统等组成的复杂网络,共同调控肿瘤的生长、侵袭与转移^[5]。

一、免疫微环境及其临床意义

免疫系统由免疫器官、免疫细胞和免疫分子组成,共同执行免疫功能。其具体作用如下:(1)通过自身免疫耐受和免疫调节,使免疫系统内环境保持稳定;(2)通过免疫防御抵抗并识别和清除外来入侵的抗原,如病原微生物等;(3)通过免疫监视,时时识别和清除体内发生突变的肿瘤细胞、衰老细胞、死亡细胞或其他有害的“非己”成分。

借助免疫缺陷鼠模型,学者们提出免疫系统具备发现和消除宿主产生的肿瘤细胞的功能,并进一步明确免疫系统对肿瘤发生、发展的作用——存在免疫缺陷的小鼠,由于缺乏相关细胞因子和免疫细胞刺激因子,相比正常免疫的小鼠更

易发生恶性肿瘤,这一现象体现了免疫系统对肿瘤的免疫监视作用^[8]。然而,研究证实,由于肿瘤具有逃避免疫监视的能力——免疫逃逸,免疫系统完好的机体仍能发生肿瘤^[9-10]。免疫逃逸的机制与肿瘤表面主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 型分子表达低下影响抗原提呈、肿瘤抗原突变、诱导免疫抑制细胞因子形成、肿瘤细胞低表达或不表达协同刺激分子影响 T 细胞活化等原因有关。肿瘤发生后,肿瘤细胞在与免疫系统不断相互作用的过程中逐渐获得免疫逃逸的功能^[11]。后来,科学家们在肿瘤免疫监视和免疫逃逸的基础上提出了肿瘤免疫微环境的概念^[5]。免疫微环境通过多种途径影响肿瘤的发生、发展:(1)促进肿瘤血管生成;(2)影响肿瘤生物学特性;(3)筛选出更适合宿主微环境生存的肿瘤细胞;(4)调节肿瘤干细胞活性等。

免疫微环境主要成分包括 T 细胞(70%~80%)、B 细胞(10%~20%)、巨噬细胞(5%~10%)、自然杀伤细胞及树突状细胞^[12]。乳腺癌免疫微环境中包括天然和适应性免疫系统的细胞群^[13]。其中,适应性免疫系统已是目前乳腺癌研究的热点,而肿瘤相关中性粒细胞及巨噬细胞作为天然免疫的代表在乳腺癌中所起的作用也逐渐为学者所认识^[14]。因此,笔者将围绕乳腺癌阐述乳腺肿瘤免疫微环境的作用。

1. 适应性免疫——T 细胞

乳腺癌微环境中,T 细胞浸润比例约占 80%^[15]。T 细胞作为淋巴细胞的主要成员之一,其生物学功能包括直接杀伤靶细胞,协助体液免疫和细胞免疫,维持机体免疫反应的平衡,对特异性抗原产生记忆等。T 细胞产生的免疫应答是细胞免疫。细胞免疫的主要形式:(1)效应 T 细胞与靶细胞特异性结合,使靶细胞的细胞膜通透性发生改变,导致靶细胞肿胀、破裂而死亡;(2)释放各种淋巴细胞因子,招募多种免疫成分协同杀伤靶细胞,使免疫效应扩大和增强。按 T 细胞在免疫应答中的功能及表面标志物的不同,可将其分成若干亚群^[13],包括 CD4⁺的辅助性 T 细胞(T helper cell, Th)1、Th2、Th17, CD8⁺细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)及 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)。

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2018.03.008

基金项目:国家科技部重点研发计划资助项目(2017YFC1309100);国家自然科学基金资助项目(81472466,81672594,81772836);广东省自然科学基金资助项目(2014A03036003,2016A050502018);中山大学培育计划资助项目(17ykjc13)

作者单位:510120 广州,中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤中心

通信作者:龚畅,Email:changgong282@163.com

Th1 细胞通过分泌干扰素 γ 和 IL-2 激活 CD8⁺T 细胞,并通过增强 CTL 杀伤功能促进细胞免疫,同时,其自身也可通过分泌大量的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)直接发挥肿瘤杀伤作用;而 Th2 通过分泌 IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13 促进 B 细胞增殖、成熟和抗体生成,扮演着促进体液免疫以及抑制细胞免疫的角色^[16]。在乳腺癌动物模型中, Th2 细胞不仅通过分泌 IL-4 和 IL-13 促进原发肿瘤的生长,还通过分泌 IL-4、IL-13 激活 M2 型巨噬细胞。研究证实 M2 型巨噬细胞可以通过分泌趋化因子配体 18(chemokine ligand 18, CCL18)促进乳腺癌的侵袭和转移^[17]。正常情况下,免疫微环境中的 Th1 与 Th2 保持一定的比例,共同维持免疫平衡。当发生恶性肿瘤时,该动态平衡被打破,偏向于 Th1 或 Th2 的优势应答,称为 Th1/Th2 偏移。Th1/Th2 偏移导致的免疫失调进一步促进肿瘤发展^[18]。另有一类 CD4⁺Th 细胞,由于因特异性产生 IL-17 效应因子而被命名为 Th17 细胞,其主要通过分泌 IL-17A、IL-17F、IL-6、IL-21、IL-22 等介导体内炎症反应^[19]。肿瘤微环境中慢性炎症的持续存在对启动、维持和促进肿瘤生长有重要意义。在人乳腺癌组织标本中,由 Th17 特异性分泌的 IL-17 表达量高于同源的正常组织,并在乳腺癌组织中观察到 Th17 的大量募集,提示肿瘤微环境中的成分对 Th17 细胞有趋化作用^[20]。Kato 等^[21]证实 IL-17 是一个促肿瘤血管生成的细胞因子,主要通过促进成纤维细胞产生 VEGF 发挥促肿瘤作用。

CD8⁺ CTL 是抗肿瘤细胞免疫的主要细胞成分,通过识别肿瘤抗原特异性杀伤肿瘤细胞。首先,由肿瘤细胞表面 MHC I 型分子提呈肿瘤抗原,在被激活的 CTL 识别了特异性抗原决定簇后,在 Th1 细胞分泌的细胞因子作用下进一步增殖、分化为具有特异性杀伤功能的效应 CTL;然后,效应 CTL 通过释放穿孔素及颗粒酶使肿瘤细胞死亡,或者通过表达细胞凋亡相关膜表面分子 FasL、分泌 TNF- β 分别和肿瘤细胞表面 Fas 和 TNF-R 结合,从而激活细胞内 Caspase 系统诱导肿瘤细胞凋亡^[22]。研究者主要在 HER-2 阳性型及三阴性乳腺癌组织中观察到 CD8⁺CTL 的浸润,与这 2 种乳腺癌亚型基因组较高的不稳定性相关^[23-24]。基因组不稳定性导致新抗原的产生增加,而这些新抗原可以被 CTL 所识别,导致 CTL 在这些亚型中浸润程度较高^[25]。此外,CTL 的肿瘤杀伤效果取决于共刺激与共抑制信号即免疫检查点之间的平衡。正常情况下,免疫检查点分子抑制 CTL 功能,从而阻止过度或不恰当的免疫功能,限制持久而广泛的免疫反应。

Treg 主要发挥抑制免疫系统功能,限制过度的免疫应答避免正常组织损伤。这类细胞的共同特点是在免疫检测中均为 FOXP3⁺,但是,根据其表面标志物、产生的细胞因子和作用机制的不同,Treg 又可分为 CD4⁺CD25⁺Treg、I 型调节性 T 细胞(type 1 regulatory T cell, Tr1),和 Th3 等多种亚型^[26]。在乳腺癌组织中,乳腺癌细胞通过分泌前列腺素 E2 和利用转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)信号通路,招募 Treg 至肿瘤微环境,阻止多种免疫细胞包括 CTL、Th1、B 细胞、自然杀伤细胞的抗肿瘤免疫反应,促进肿瘤进展,抑制肿瘤免疫成为肿瘤免疫治疗中的一个障碍。不同亚型 Treg 的抑制免疫机制如下:(1)CD4⁺CD25⁺Treg 通过

接触抑制的方式抑制 T 细胞的活化和增殖;(2)Tr1 通过分泌 IL-10 和 TGF- β 抑制 CTL 和 Th1 的抗肿瘤活性;(3)Th3 可通过消耗 IL-2 抑制其他免疫细胞活化间接减弱机体抗肿瘤能力^[27]。Treg 由 CD4⁺幼稚 T 细胞经外周抗原刺激分化或胸腺自然分化而来,而 CD4⁺幼稚 T 细胞的招募是 CCL18 依赖性的。本课题组的研究者观察到在敲除 PITPNM3 基因后,肿瘤中的浸润 Treg 数量显著减少。因此,PITPNM3 基因可作为免疫治疗的有效靶点,抑制 CD4⁺幼稚 T 细胞招募至肿瘤,从而抑制 Treg 在肿瘤中的原位分化^[28]。

2. 适应性免疫——B 细胞

B 细胞相比于 T 细胞,在乳腺癌免疫中的作用尚未被研究得十分透彻。已知理论为,B 细胞通过参与抗体产生及表达 MHC II 型分子向 CD4⁺T 细胞提呈抗原,在 T 细胞相关的抗肿瘤免疫中发挥调节作用^[29]。Schmidt 等^[30]在乳腺癌中进行了一个抗体分泌分析实验,发现乳腺癌细胞及其干细胞的标志物神经节苷脂 D3,可作为趋化肿瘤浸润 B 细胞的肿瘤抗原,促使 B 细胞分泌抗体。B 细胞可分泌 IgG 等调控肿瘤特异性凋亡^[31],除了通过分泌抗体所起的直接杀伤作用,还起到抗原提呈作用。抗体与肿瘤相关抗原结合后,将吸引大量免疫细胞,如与肿瘤结合的 IgG 可激活树突状细胞和 T 细胞,进一步导致强大的抗肿瘤免疫^[32]。

B 细胞某一个亚型所发挥的免疫功能不依赖于 T 细胞,可以通过分泌如 IL-10 和 TGF- β 等细胞因子发挥抑制肿瘤免疫的作用。因此,这部分 B 细胞甚至被称作“诱发肿瘤的 B 细胞”。在乳腺癌小鼠模型中,这种亚型的 B 细胞通过将 Th 细胞转化为 Treg 促进乳腺癌肺转移^[33]。虽然以上研究均提示了 B 细胞在肿瘤免疫中的潜在作用,但仍需进一步探索其具体作用机制及与肿瘤免疫微环境中其他成分的相互作用。

3. 天然防御——巨噬细胞

肿瘤标本中发现的肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)基于其参与的主要生物学过程可分为 2 类,即经典活化的 M1 和选择性活化的 M2 巨噬细胞。具有 M1 表型的 TAM 通过激活 NF- κ B 产生 I 型细胞因子,包括 TNF- α 和一氧化氮合酶,与促炎症微环境相关,具有吞噬功能和细胞毒性,可以抑制肿瘤生长。M1 巨噬细胞可能参与抗肿瘤免疫反应,但在临床病理标本中,由于缺乏独特的生物标志物较难将其准确鉴定出来^[34]。M2 表型的 TAM(M2-TAM)与免疫抑制微环境相关。M2-TAM 由 IL-4 和 IL-13 激活,通过以下机制发挥促肿瘤生长的作用:(1)产生抑制机体的适应性免疫细胞因子如 TGF- β 和 IL-10;(2)通过分泌金属基质蛋白酶和尿激酶型纤溶酶原激活剂,参与组织修复和基质重塑;(3)通过分泌 VEGF 等,促进血管生成,促进肿瘤生长。

TAM 和乳腺癌细胞之间的相互作用也可能是肿瘤亚型依赖性的。体外研究显示 TAM 与 ER 阳性乳腺癌细胞共培养产生 M1 表型的 TAM,而与三阴性乳腺癌细胞共培养则分化为 M2 表型^[35]。TAM 的免疫抑制活性也可以通过称为程序性死亡配体 1(programmed death ligand 1, PD-L1)的免疫检测点受体来介导,TAM 分泌的 VEGF、IL-1 β 、TNF、IL-10 可吸

引 Treg 并促进肿瘤细胞表面表达 PD-L1,抑制效应 T 细胞的功能,介导肿瘤细胞向远处浸润、转移^[36]。

4. 天然防御——中性粒细胞

中性粒细胞是外周血中数量最为庞大的白细胞,通过血液循环进入肿瘤微环境,便成为肿瘤相关中性粒细胞(tumor-associated neutrophil, TAN)。TAN 具有 2 种表型:一种具有抗肿瘤特性,被称作 N1 型;另一种则促进肿瘤生长、侵袭和转移,称为 N2 型。该特点与 TAM 的双重表型类似。对于中性粒细胞 2 种表型的分化,现有 2 种解释:(1)与其活化程度有关,活化程度较高时,表现为 N1 表型,可通过释放细胞毒性物质、肿瘤排斥和增强抗肿瘤免疫记忆等机制发挥抗肿瘤作用;活化程度较低的 N2 表型,则可通过分泌抑制免疫的细胞因子、分泌促肿瘤血管生成的细胞因子等促进肿瘤的发生、发展^[37]。(2)中性粒细胞的表型分化由肿瘤免疫微环境中的 TGF- β 诱导,受 TGF- β 的调节发挥相应作用^[14]。

二、免疫标志物的预后预测价值

1. T 细胞

肿瘤浸润的 Th1/Th2 基因比值可作为预测预后的免疫指标,乳腺癌浸润 Th1 升高和 Th2 降低与较好的预后相关。在动物模型及人乳腺癌中均发现,肿瘤间质浸润的 Th2 数量明显高于 Th1 细胞数量^[38]。乳腺癌基因表达谱的相关研究显示,Th1 相关细胞因子通路的激活与较好的预后相关,而 Th2 相关细胞因子激活则与较差预后相关^[39]。

另外,高水平的 CTL 浸润与更好的临床结果相关。来自 4 个不同队列的 12 439 例肿瘤患者的大型研究显示,CTL 的浸润程度越高,乳腺癌患者相对死亡风险越低,在肿瘤的中心和肿瘤周围有 CTL 浸润的患者相比无浸润患者的绝对生存期显著提高^[24]。亚组分析显示,CTL 浸润的预测预后价值主要体现在 ER 阴性和 HER-2 富集型乳腺癌中,在管腔型(luminal 型)中并不显著。另一项纳入 1 334 例原发性乳腺癌患者的回顾性研究同样显示,在 ER 阴性及 HER-2 富集型乳腺癌中 CTL 的浸润数量与 OS 显著相关,肿瘤浸润 CTL 数量是一个独立的预后预测因子,与肿瘤分级、淋巴结转移、肿瘤大小、脉管浸润和 HER-2 表达水平无关^[23]。

研究发现,肿瘤浸润的 CD4⁺幼稚 T 细胞与人乳腺癌中的 Treg 在 T 细胞受体基因序列中有大量重叠,而与循环系统中的 Treg 则几乎没有重叠,提示在肿瘤中的 Treg 主要由 CD4⁺幼稚 T 细胞发育而成,并非招募而来;并且,该研究发现 CD4⁺幼稚 T 细胞与 Treg 浸润在乳腺癌患者中均呈现为较差的预后^[40]。乳腺癌浸润 Treg 显著高于正常乳腺组织,并且,Treg 浸润与高危临床病理因素相关,如肿瘤级别高、ER 阴性等。在三阴性及 HER-2 阳性型乳腺癌中,Treg 显示出呈高水平浸润,并且与较差预后显著相关^[41]。CD8/FOXP3 比值是反映肿瘤是否处于激活状态的免疫微环境的参数,也是激活免疫应答中 CTL 和 Treg 分别参与的“角色”作用的体现,更高的 CD8/FOXP3 比值被证实与 ER 阴性乳腺癌患者更好的生存预后相关^[42]。

2. B 细胞

少量研究探索了 B 细胞对乳腺癌预后的预测价值。Mohammed 等^[43]对 130 例早中期乳腺癌患者石蜡标本进行

分析,发现 37.69% (49/130) 出现 CD20⁺B 细胞的高水平浸润,且在 Cox 回归分析中得出高水平 CD20⁺B 细胞与 DFS 延长正相关。Mahmoud 等^[44]观察了 1 470 例乳腺癌组织标本,用免疫组织化学标记并计算 CD20⁺B 细胞数,发现相对于肿瘤中心,CD20⁺B 细胞数在远离肿瘤的基质中更高,高浸润水平的 CD20⁺B 细胞与高级别肿瘤、激素受体阴性、基底样型乳腺癌亚型显著正相关,在多因素生存分析中,无论分布位置,高浸润水平的 CD20⁺B 细胞均与 ER 阴性的乳腺癌特异性生存期延长相关,并且是预测预后的独立因素。B 细胞的基因高表达在乳腺癌中被证明与较长的无进展和无转移生存相关,并且在三阴性乳腺癌中更显著^[45]。高表达 B 细胞和干扰素信号基因特征与更长的无复发生存时间相关^[46]。

3. 巨噬细胞

CD68 可作为识别 M1 和 M2 巨噬细胞的标志物,而 CD163 则是 M2 巨噬细胞的特异性标志物^[47]。研究结果证实,高表达 CD68 和 CD163 与不良预后相关,这表明了 M2 巨噬细胞在乳腺癌患者中的作用^[47-49]。此外,研究证实 M2-TAM 可大量产生 CCL18,其在血液或肿瘤间质中高表达,与肿瘤细胞的转移和乳腺癌患者的预后差有关,提示来自 TAM 的 CCL18 通过其受体 PTPN3 在促进乳腺癌转移中起关键作用^[17]。间充质样乳腺癌细胞通过粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)将巨噬细胞激活为 TAM 样表型。相反地,来自 TAM 的 CCL18 在其培养系统和人源化小鼠中,诱导癌细胞发生上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),形成正反馈环路。人乳腺癌临床标本中的 GM-CSF 高表达与 TAM 含量更多、EMT 及高转移和患者生存率降低均有关^[50-51]。

4. 中性粒细胞

一项回顾性研究对 105 例未经治疗的乳腺癌病理标本进行 TAN 的计数,结果显示,TAN 的浸润与分子亚型显著相关,其中,三阴性乳腺癌 TAN 浸润率最高(88%),HER-2 过表达型次之(53%),luminal 型最低(5%)^[52]。高浸润的 TAN 在其他癌中与预后差正相关^[53],但 TAN 与乳腺癌预后的关系并未得到证实。

5. 其他肿瘤相关免疫细胞

骨髓来源的抑制细胞(marrow-derived suppressor cell, MDSC)是具有免疫抑制活性的未成熟骨髓细胞的异质群体,在不同类型癌症(包括乳腺癌)的肿瘤微环境中可观察到 MDSC,并且可在小鼠模型中被表达^[54-55]。MDSC 具有不同的表型,通过流式细胞技术可鉴别人的 MDSC,其中最常见表型为 CD11b β ⁺CD33⁺表型^[56]。更重要的是,乳腺癌患者肿瘤中 MDSC 的存在与晚期疾病和预后差相关^[57]。

此外,来自 NanoString 免疫学组基因特征如 TRAF1、NFKB1 和 CXCL13 特异性基因与肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)水平相关,是三阴性乳腺癌患者独立的良好预后因素^[58]。TIL 可作为独立的乳腺癌预测预后的免疫标志物。高淋巴细胞浸润的乳腺癌定义为 50% 的肿瘤区域被 TIL 占据,高淋巴细胞浸润的 ER 阴性、HER-2 阳

性乳腺癌患者具有更长的 DFS 及 OS^[59]。

三、免疫标志物的疗效预测价值

在疗效预测价值方面,高水平的肿瘤 CTL 浸润,与新辅助化疗的 pCR 率正相关。然而,这些研究均为回顾性、非随机研究,因此需要更高级别的循证医学证据证实肿瘤浸润 CTL 的水平与预后以及化疗获益之间的联系^[38, 60]。对于早中期新辅助化疗的乳腺癌患者,新辅助治疗前中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)与新辅助化疗 pCR 率相关。新辅助前较低的 NLR (<2.06) 与较高的 NLR 乳腺癌患者相比, pCR 率更高,提示 NLR 可作为新辅助化疗疗效的预测因子^[61]。其他研究还报道了特异性免疫基因特征与 HER-2 阳性乳腺癌患者接受曲妥珠单抗抗体新辅助和辅助治疗的反应性相关^[62],但其疗效预测价值尚未被证实。

四、免疫治疗靶点的临床应用

由于免疫系统与肿瘤发生、发展关系密切,科学家试图通过加强免疫监视、减弱免疫逃逸、影响免疫微环境的方法来控制肿瘤,因此,免疫治疗应运而生,并在临床实践中取得了一定的治疗效果。

1. 靶向治疗药物曲妥珠单抗抗体的免疫机制

曲妥珠单抗抗体是人源化的针对 HER-2 蛋白的 IgG1 单克隆抗体。在乳腺癌细胞系中,靶向 HER-2 的单克隆抗体治疗可拮抗过表达 HER-2 的肿瘤的一系列相关生长信号的激活和传导,导致细胞增殖抑制和表型改变,包括抑制肿瘤细胞生长,HER-2 下调,逆转细胞因子抵抗, E-钙黏蛋白表达水平恢复,血管内皮生长因子产生减少等^[63-64]。然而,除了这些效应外,曲妥珠单抗抗体治疗的免疫相关机制包括:抗体依赖性细胞介导的细胞毒性;补体依赖性细胞毒性;通过 IgG 受体(抗体依赖性细胞吞噬作用)对单克隆抗体-靶细胞的吞噬作用;抗原呈递细胞的对免疫复合物(单克隆抗体和肿瘤抗原)摄取;诱导免疫细胞之间包括自然杀伤细胞和树突状细胞的串扰;诱导免疫调节细胞因子(即 I 型和 II 型干扰素)的产生;诱导肿瘤抗原的交叉呈递,特异性引发适应性免疫应答(即肿瘤抗原特异性 T 淋巴细胞反应)^[65]。

在 HER-2 阳性乳腺癌患者中,单独使用曲妥珠单抗抗体进行新辅助治疗获得完全或部分缓解的患者,与疗效不佳的患者相比,其肿瘤特征表现为肿瘤相关淋巴细胞高度浸润和增强的抗体依赖性细胞毒性能力^[66]。这些研究证据表明曲妥珠单抗抗体的抗肿瘤作用部分来源于靶向免疫微环境的效应。

2. 免疫检查点抑制剂

程序性死亡因子 1(programmed death 1, PD-1)是在接触了抗原后的 T 细胞上表达的细胞受体^[67],与其在抗原呈递细胞上正常表达并且在肿瘤细胞上异常表达的配体 PD-L1 或 PD-L2 的结合,导致 T 细胞的免疫效应被阻断。一项来源于 660 例临床病例的调查研究探索了 PD-1 阳性表达的 TIL 与临床病理因素的关系,发现在 HER-2 型、基底样型及 luminal B 型中 PD-1 阳性表达的 TIL 最常见,并且与更差的预后相关^[68]。

在临床抗肿瘤治疗方面,PD1/PD-L1 抗体在特定的肿瘤亚型中显示了一定的抗肿瘤作用。一项 Ib 期的 KEYNOTE-012 临床试验,其研究目的是评估晚期三阴性乳腺癌患者中抗 PD-1 抗体(pembrolizumab)的有效性和安全性,研究结果显示患者的总体反应率为 18.5% (5/27)^[69]。另一项 I 期临床研究,在转移性三阴乳腺癌中应用一种名为 MPDL3280A 的抗 PD-L1 抗体(atezolizumab)^[70],在本次试验中可评估疗效的 9 例患者中,总体反应率为 33% (1 例完全缓解,2 例部分反应)。KEYNOTE-012 和 MPDL3280A 相关的试验都显示出可接受的安全性和耐受性,并报告了 3~4 级不良反应。

基于对转移性三阴性乳腺癌中抗 PD-1 免疫治疗的安全性和有效性的临床试验所取得的结果,目前一些临床研究正在探索 PD-1 免疫治疗结合已有的乳腺癌治疗的疗效。一项名为 PANACEA 的临床试验,旨在评估抗 PD-1 单克隆抗体 MK-3475 与曲妥珠单抗抗体联合应用于转移性 HER-2 阳性乳腺癌,既往接受过曲妥珠单抗抗体后进展的患者的疗效(NCT02129556)^[71]。

细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(cytotoxic lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)是 T 细胞表面表达的信号分子,通过与抗原提呈细胞膜表面的 B7 类分子结合转导抑制性信号给 T 细胞。抗 CTLA-4 抗体(Ipilimumab)是免疫检查点抑制剂,用作转移性黑色素瘤的治疗。抗 CTLA-4 单克隆抗体用于治疗乳腺癌的公开数据很少。一项包含 26 例 ER 阳性的转移性乳腺癌 I 期临床试验中,入组患者接受抗 CTLA-4 单克隆抗体(tremelimumab)联合依西美坦治疗,11 例患者无进展生存期达 12 周以上^[72]。

3. 肿瘤疫苗 HER-2/neu (E75)

肿瘤疫苗是近年研究的热点之一,其原理是将肿瘤抗原以多种形式(肿瘤细胞、肿瘤相关蛋白或多肽、表达肿瘤抗原的基因等)导入患者体内,克服肿瘤引起的免疫抑制状态,增强免疫原性,激活患者自身的免疫系统,诱导机体细胞免疫和体液免疫应答,从而达到控制或清除肿瘤的目的^[73]。

乳腺癌治疗性疫苗相关临床研究最广泛深入的是 HER-2 疫苗。2005 年,在高风险复发乳腺癌患者中,用 E75(来自 HER-2/neu 蛋白的另一种免疫原性肽)与 GM-CSF 作为辅助,进行临床试验^[74]。研究对象为淋巴结阳性、HER-2 阳性乳腺癌患者,将人类淋巴细胞抗原 A2 阳性患者作为试验组,阴性患者作为对照组。研究者观察到,无一例患者产生剂量限制性毒性,有 4 例患者出现全身或局部毒性,E75 特异性 CTL 的克隆扩增以剂量依赖性反应方式在接种 1 个月达到峰值。在已存在一定水平的特定 CTL 的患者中观察到有效的 CTL 扩增,接种疫苗组患者 OS 为 100%,对照组患者为 93%。接种的淋巴结阳性乳腺癌患者只有 8% 复发,其中 21% 的对照组患者在 22 个月内复发。接种疫苗和对照组患者的 DFS 率分别为 85.7% 和 59.5%。因此,在高危复发性乳腺癌患者中,无论有无针对 E75 的预先存在的 CTL 应答,该疫苗均可产生较好疗效^[74]。后续仍有一系列研究探索了 E75 疫苗的有效性及其安全性,所有结果均显示 E75 疫苗是安全、有效的。

除了 E75 疫苗外,来源于 HER-2 的多肽 GP2 也展现了与 E75 疫苗类似的免疫原性。一项随机 2 期临床试验(NCT00524277)对 GP2 疫苗进行了评估($n=170$),34 个月的中期随访数据表明,去除初次疫苗接种后 6 个月内复发的患者,疫苗接种组相比对照组患者无进展生存率有提高的趋势,但差异无统计学意义(94% 比 85%, $P=0.1$)^[75]。

4. 嵌合型抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)技术

CRA-T 是通过基因改造后获得靶抗原单克隆抗体单链可变区 scFv 的 T 细胞。CAR-T 通过抗原抗体结合的原理特异性识别肿瘤细胞表面的抗原,因此无 MHC 限制性,还可以避免因肿瘤细胞 MHC 下调或丢失导致的免疫逃逸,并且通过在嵌合基因设计时增加共刺激分子信号,可增强 CAR-T 细胞的肿瘤杀伤活性^[76]。

Carpenito 等^[77]的研究表明间皮素特异性 CAR-T(mesoCAR-T)可以有效杀死小鼠体内表达间皮素的移植瘤细胞,从而降低肿瘤负荷。2009 年,Zhao 等^[78]发现曲妥珠单抗抗体单链可变区 scFv 修饰的 CAR-T 在小鼠体内可有效杀死 HER-2 阳性的乳腺癌细胞,同时可引起大量干扰素释放。2014 年,Sun 等^[79]构造的靶向 HER-2 的 chA21-28zCAR-T 被证实可有效抑制小鼠体内 SKBR3 移植瘤的生长。目前,CAR-T 应用于乳腺癌患者的临床试验正在逐步开展,其中一项关于应用可识别上皮细胞黏附分子的 CAR-T(EpCAM CAR-T)治疗鼻咽癌和乳腺癌的临床试验(NCT02915445)于 2016 年开始招募受试对象,拟采用不同剂量的 EpCAM CAR-T 治疗受试对象,以发现可应用的最大剂量的 EpCAM CAR-T,并了解安全性和不良反应,从而确认这种实验性干预是否能帮助鼻咽癌或乳腺癌患者^[80]。该研究预计于 2019 年完成。此外,一项关于 CAR-T 治疗晚期 HER-2 阳性乳腺癌的临床试验(NCT02547961)于 2017 年完成,该研究对受试对象应用 HER-2 靶向的 CAR-T 治疗,以不良反应发生的人数以及肿瘤负荷量为主要指标,探究 HER-2-CAR-T 细胞注射治疗晚期 HER-2 阳性乳腺癌的安全性和疗效^[81],但其最终结果尚未公布。

五、结语

免疫系统与肿瘤的发生、发展的关系近年来逐渐被科学家所关注,从而打开了抗肿瘤治疗的新局面,推动了肿瘤治疗不断发展。既往常借助外科手术切除、化疗、放射治疗等外部抗肿瘤手段,但手术切除常因癌细胞侵犯邻近组织或远处转移而效果受限;放化疗亦受限于对体内正常组织的毒性。传统疗法在治疗获益的同时,也会对机体产生较大负担。靶向疗法在细胞分子水平上针对明确的致癌位点设计相应的治疗药物,其优点是靶向药物可特异性选择致癌位点相结合发生作用,使肿瘤细胞特异性死亡,而不伤及肿瘤周围正常组织细胞,但靶向治疗也存在肿瘤基因突变,产生药物耐受性,导致长期治疗效果下降等不足。从肿瘤的起源,即人体自身免疫系统出发,通过调动机体的免疫系统,增强肿瘤微环境抗肿瘤的免疫力,从而控制和杀伤肿瘤细胞,为肿瘤治疗开辟出一条新的道路。免疫治疗作为现今肿瘤研

究的热点,定会成为未来人类克服肿瘤的新武器。

参 考 文 献

- [1] Ajani JA, Song S, Hochster HS, et al. Cancer stem cells: the promise and the potential[J]. *Semin Oncol*, 2015, 42 Suppl 1: S3-17.
- [2] Verma M, Rogers S, Divi RL, et al. Epigenetic research in cancer epidemiology: trends, opportunities, and challenges [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014, 23(2): 223-233.
- [3] Kane JR, Miska J, Young JS, et al. Sui generis: gene therapy and delivery systems for the treatment of glioblastoma [J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17 Suppl 2: ii24-ii36.
- [4] Baader E, Toloczko A, Fuchs U, et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated proliferation of tumor cells with receptor-proximal apoptosis defects [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(17): 7888-7895.
- [5] Hui L, Chen Y. Tumor microenvironment: Sanctuary of the devil [J]. *Cancer Lett*, 2015, 368(1): 7-13.
- [6] Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889 [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1989, 8(2): 98-101.
- [7] Hoshino A, Costa-Silva B, Shen TL, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis [J]. *Nature*, 2015, 527(7578): 329-335.
- [8] Mumm JB, Emmerich J, Zhang X, et al. IL-10 elicits IFN gamma-dependent tumor immune surveillance [J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(6): 781-796.
- [9] Heinrich EL, Walser TC, Krysan K, et al. The inflammatory tumor microenvironment, epithelial mesenchymal transition and lung carcinogenesis [J]. *Cancer Microenviron*, 2012, 5(1): 5-18.
- [10] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674.
- [11] Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 252-264.
- [12] Beatty GL, Gladney WL. Immune escape mechanisms as a guide for cancer immunotherapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(4): 687-692.
- [13] Ruffell B, Au A, Rugo HS, et al. Leukocyte composition of human breast cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(8): 2796-2801.
- [14] Gregory AD, Houghton AM. Tumor-associated neutrophils: new targets for cancer therapy [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(7): 2411-2416.
- [15] Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(1): 105-113.
- [16] Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations [J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 445-489.
- [17] Chen J, Yao Y, Gong C, et al. CCL18 from tumor-associated macrophages promotes breast cancer metastasis via PTPN23 [J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(4): 541-555.
- [18] Gaur P, Singh AK, Shukla NK, et al. Inter-relation of Th1, Th2, Th17 and Treg cytokines in oral cancer patients and their clinical significance [J]. *Hum Immunol*, 2014, 75(4): 330-337.
- [19] Martin F, Apetoh L, Ghiringhelli F. Controversies on the role of Th17 in cancer: a TGF- β -dependent immunosuppressive activity? [J]. *Trends Mol Med*, 2012, 18(12): 742-749.
- [20] Yang L, Qi Y, Hu J, et al. Expression of Th17 cells in breast cancer

- tissue and its association with clinical parameters [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2012, 62(1):153-159.
- [21] Kato M, Oiso N, Itoh T, et al. Necrobiosis lipoidica with infiltration of Th17 cells into vascular lesions [J]. *J Dermatol*, 2014, 41(5):459-461.
- [22] Liu S, Lachapelle J, Leung S, et al. CD8+ lymphocyte infiltration is an independent favorable prognostic indicator in basal-like breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(2):R48.
- [23] Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG, et al. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(15):1949-1955.
- [24] Ali HR, Provenzano E, Dawson SJ, et al. Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12,439 patients [J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(8):1536-1543.
- [25] Curtis C, Shah SP, Chin SF, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups [J]. *Nature*, 2012, 486(7403):346-352.
- [26] Liu S, Foulkes WD, Leung S, et al. Prognostic significance of FOXP3+ tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer depends on estrogen receptor and human epidermal growth factor receptor-2 expression status and concurrent cytotoxic T-cell infiltration [J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(5):432.
- [27] Shin JI, Ha SJ. Regulatory T cells-an important target for cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11(6):307.
- [28] Su S, Liao J, Liu J, et al. Blocking the recruitment of naive CD4+ T cells reverses immunosuppression in breast cancer [J]. *Cell Res*, 2017, 27(4):461-482.
- [29] Nelson BH. CD20+ B cells: the other tumor-infiltrating lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2010, 185(9):4977-4982.
- [30] Schmidt M, Bohm D, von Tonne C, et al. The humoral immune system has a key prognostic impact in node-negative breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(13):5405-5413.
- [31] Kotlan B, Simsa P, Teillaud JL, et al. Novel ganglioside antigen identified by B cells in human medullary breast carcinomas: the proof of principle concerning the tumor-infiltrating B lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2005, 175(4):2278-2285.
- [32] Carmi Y, Spitzer MH, Linde IL, et al. Allogeneic IgG combined with dendritic cell stimuli induce antitumor T-cell immunity [J]. *Nature*, 2015, 521(7550):99-104.
- [33] Olkhanud PB, Damdinsuren B, Bodogai M, et al. Tumor-evoked regulatory B cells promote breast cancer metastasis by converting resting CD4(+) T cells to T-regulatory cells [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(10):3505-3515.
- [34] Tang X. Tumor-associated macrophages as potential diagnostic and prognostic biomarkers in breast cancer [J]. *Cancer Lett*, 2013, 332(1):3-10.
- [35] Hollmen M, Roudnicki F, Karaman S, et al. Characterization of macrophage-cancer cell crosstalk in estrogen receptor positive and triple-negative breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2015, 5:9188.
- [36] Radvanyi L, Pilon-Thomas S, Peng W, et al. Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer--letter [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(19):5541.
- [37] Fridlender ZG, Sun J, Kim S, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN [J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(3):183-194.
- [38] Droeser R, Zlobec I, Kilic E, et al. Differential pattern and prognostic significance of CD4+, FOXP3+ and IL-17+ tumor infiltrating lymphocytes in ductal and lobular breast cancers [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12:134.
- [39] Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, et al. CD4(+) follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(7):2873-2892.
- [40] Su S, Liao J, Liu J, et al. Blocking the recruitment of naive CD4+ T cells reverses immunosuppression in breast cancer [J]. *Cell Res*, 2017, 27(4):461-482.
- [41] Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG, et al. An evaluation of the clinical significance of FOXP3+ infiltrating cells in human breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 127(1):99-108.
- [42] West NR, Kost SE, Martin SD, et al. Tumour-infiltrating FOXP3(+) lymphocytes are associated with cytotoxic immune responses and good clinical outcome in oestrogen receptor-negative breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(1):155-162.
- [43] Mohammed ZM, Going JJ, Edwards J, et al. The relationship between lymphocyte subsets and clinico-pathological determinants of survival in patients with primary operable invasive ductal breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(6):1676-1684.
- [44] Mahmoud SM, Lee AH, Paish EC, et al. The prognostic significance of B lymphocytes in invasive carcinoma of the breast [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 132(2):545-553.
- [45] Iglesia MD, Vincent BG, Parker JS, et al. Prognostic B-cell signatures using mRNA-seq in patients with subtype-specific breast and ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(14):3818-3829.
- [46] Ascierto ML, Kmiecik M, Idowu MO, et al. A signature of immune function genes associated with recurrence-free survival in breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 131(3):871-880.
- [47] Medrek C, Ponten F, Jirstrom K, et al. The presence of tumor associated macrophages in tumor stroma as a prognostic marker for breast cancer patients [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12:306.
- [48] Mahmoud SM, Lee AH, Paish EC, et al. Tumour-infiltrating macrophages and clinical outcome in breast cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65(2):159-163.
- [49] Tainen S, Tumelius R, Rilla K, et al. High numbers of macrophages, especially M2-like (CD163-positive), correlate with hyaluronan accumulation and poor outcome in breast cancer [J]. *Histopathology*, 2015, 66(6):873-883.
- [50] Su S, Liu Q, Chen J, et al. A positive feedback loop between mesenchymal-like cancer cells and macrophages is essential to breast cancer metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(5):605-620.
- [51] Huang D, Song SJ, Wu ZZ, et al. Epstein-barr virus-induced VEGF and GM-CSF drive nasopharyngeal carcinoma metastasis via recruitment and activation of macrophages [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13):3591-3604.
- [52] Soto-Perez-de-Celis E, Chavarri-Guerra Y, Leon-Rodriguez E, et al. Tumor-associated neutrophils in breast cancer subtypes [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2017, 18(10):2689-2693.
- [53] Carus A, Ladekar M, Hager H, et al. Tumour-associated CD66b+ neutrophil count is an independent prognostic factor for recurrence in localised cervical cancer [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(10):2116-2122.
- [54] Vincent J, Mignot G, Chalmin F, et al. 5-Fluorouracil selectively kills

- tumor-associated myeloid-derived suppressor cells resulting in enhanced T cell-dependent antitumor immunity[J]. *Cancer Res*, 2010,70(8):3052-3061.
- [55] Chafe SC, Lou Y, Sceneay J, et al. Carbonic anhydrase IX promotes myeloid-derived suppressor cell mobilization and establishment of a metastatic niche by stimulating G-CSF production[J]. *Cancer Res*, 2015,75(6):996-1008.
- [56] Yu J, Du W, Yan F, et al. Myeloid-derived suppressor cells suppress antitumor immune responses through IDO expression and correlate with lymph node metastasis in patients with breast cancer[J]. *J Immunol*, 2013,190(7):3783-3797.
- [57] Markowitz J, Wesolowski R, Papenfuss T, et al. Myeloid-derived suppressor cells in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013,140(1):13-21.
- [58] Lee HJ, Lee JJ, Song IH, et al. Prognostic and predictive value of NanoString-based immune-related gene signatures in a neoadjuvant setting of triple-negative breast cancer; relationship to tumor-infiltrating lymphocytes[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2015,151(3):619-627.
- [59] Loi S, Sirtaine N, Piette F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98[J]. *J Clin Oncol*, 2013,31(7):860-867.
- [60] Oda N, Shimazu K, Naoi Y, et al. Intratumoral regulatory T cells as an independent predictive factor for pathological complete response to neoadjuvant paclitaxel followed by 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide in breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012,136(1):107-116.
- [61] Chen Y, Chen K, Xiao X, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is correlated with response to neoadjuvant chemotherapy as an independent prognostic indicator in breast cancer patients; a retrospective study[J]. *BMC Cancer*, 2016,16:320.
- [62] Perez EA, Thompson EA, Ballman KV, et al. Genomic analysis reveals that immune function genes are strongly linked to clinical outcome in the North Central Cancer Treatment Group n9831 Adjuvant Trastuzumab Trial[J]. *J Clin Oncol*, 2015,33(7):701-708.
- [63] Slivkowski MX, Lofgren JA, Lewis GD, et al. Nonclinical studies addressing the mechanism of action of trastuzumab (Herceptin) [J]. *Semin Oncol*, 1999,26(4 Suppl 12):60-70.
- [64] Hudis CA. Trastuzumab-mechanism of action and use in clinical practice[J]. *N Engl J Med*, 2007,357(1):39-51.
- [65] Bianchini G, Gianni L. The immune system and response to HER2-targeted treatment in breast cancer[J]. *Lancet Oncol*, 2014,15(2):e58-68.
- [66] Gennari R, Menard S, Fagnoni F, et al. Pilot study of the mechanism of action of preoperative trastuzumab in patients with primary operable breast tumors overexpressing HER2 [J]. *Clin Cancer Res*, 2004,10(17):5650-5655.
- [67] Nguyen LT, Ohashi PS. Clinical blockade of PD1 and LAG3--potential mechanisms of action[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015,15(1):45-56.
- [68] Muenst S, Soysal SD, Gao F, et al. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013,139(3):667-676.
- [69] 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.
- [70] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of radiotherapy and surgery in early breast cancer. An overview of the randomized trials. [J]. *N Engl J Med*, 1995,333(22):1444-1455.
- [71] Burugu S, Asleh-Aburayaand K, Nielsen TO. Immune infiltrates in the breast cancer microenvironment: detection, characterization and clinical implication[J]. *Breast Cancer*, 2017,24(1):3-15.
- [72] 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.
- [73] Keogh E, Fikes J, Southwood S, et al. Identification of new epitopes from four different tumor-associated antigens; recognition of naturally processed epitopes correlates with HLA-A * 0201-binding affinity[J]. *J Immunol*, 2001,167(2):787-796.
- [74] Peoples GE, Gurney JM, Hueman MT, et al. Clinical trial results of a HER2/neu (E75) vaccine to prevent recurrence in high-risk breast cancer patients[J]. *J Clin Oncol*, 2005,23(30):7536-7545.
- [75] Mittendorf EA, Ardavanis A, Litton JK, et al. Primary analysis of a prospective, randomized, single-blinded phase II trial evaluating the HER2 peptide GP2 vaccine in breast cancer patients to prevent recurrence[J]. *Oncotarget*, 2016,7(40):66192-66201.
- [76] Brentjens RJ, Riviere I, Park JH, et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias [J]. *Blood*, 2011,118(18):4817-4828.
- [77] Carpenito C, Milone MC, Hassan R, et al. Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells containing CD28 and CD137 domains [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2009,106(9):3360-3365.
- [78] Zhao Y, Wang QJ. A herceptin-based chimeric antigen receptor with modified signaling domains leads to enhanced survival of transduced T lymphocytes and antitumor activity [J]. *J Immunol*, 2009,183(9):5563-5574.
- [79] Sun M, Shi H, Liu C, et al. Construction and evaluation of a novel humanized HER2-specific chimeric receptor [J]. *Breast Cancer Res* 2014,16(3):R61.
- [80] U.S. National Institutes of Health. EpCAM CAR-T for treatment of nasopharyngeal carcinoma and breast cancer [EB/OL]. [2017-09-10]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02915445?term=NCT02915445&rank=1>.
- [81] U.S. National Institutes of Health. Chimeric antigen receptor-modified T Cells for breast cancer [EB/OL]. [2017-09-10]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02547961?term=NCT02547961&rank=1>.

(收稿日期:2017-09-19)

(本文编辑:刘军兰)

谭璐媛,王妍,钟文静,等. 乳腺肿瘤免疫微环境及其在临床免疫治疗中的应用[J/CD]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2018, 12(3):165-171.