

基于溶瘤腺病毒抗肿瘤免疫治疗的前景与展望

郭婉 金 瑾 肖伯端 王毅刚 周秀梅*

(浙江理工大学生命科学学院, 杭州 310018)

摘要 机体免疫系统在抗肿瘤过程中有着巨大的潜力, 但肿瘤微环境(tumor micro-environment, TME)的免疫抑制状态可引发一系列的肿瘤免疫逃逸反应, 这将使得癌症进一步恶化。溶瘤腺病毒(oncolytic adenovirus, OAds)可通过选择性复制及其溶瘤作用杀伤肿瘤细胞, 暴露肿瘤相关抗原, 活化免疫细胞, 逆转TME, 最终可引发一系列抗肿瘤免疫反应。OAds存在靶向性低、免疫原性强等缺陷, 其免疫治疗效果不佳, 若对其改造则能提高肿瘤靶向性, 降低免疫原性, 同时携带免疫治疗基因, 显著提高抑癌活性。该文综述了肿瘤免疫治疗的相关机制及OAds抗肿瘤免疫治疗的研究进展。

关键词 肿瘤微环境; 溶瘤腺病毒; 肿瘤免疫治疗; 肿瘤抗原

Foregrounds and Prospects of Anti-Tumor Immunotherapy Based on Oncolytic Adenovirus

Guo Wan, Jin Jin, Xiao Boduan, Wang Yigang, Zhou Xiumei*

(College of Life Sciences, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract The immune system has great potential in the anti-tumor process, but the immunosuppressive state of tumor microenvironment (TME) can trigger a series of tumor immune escape reactions, which makes the cancer be further deteriorated. Oncolytic adenovirus (OAds) can kill tumor cells through selective replication and oncolytic effect, which can expose tumor-associated antigens, activate immune cells and reverse TME, eventually trigger a series of anti-tumor immunoreaction. However, OAds has defects of low target and high immunogenicity, which led to its low immunotherapy effect. Thus, it is necessary to modify OAds to improve its tumor targeting and reduce its immunogenicity. Moreover, immunotherapy gene-armed OAds will improve its anti-cancer activity significantly. This paper reviews the progress of the mechanism of tumor immunotherapy and anti-tumor immunotherapy of OAds.

Keywords tumor microenvironment; oncolytic adenovirus; tumor immunotherapy; tumor antigen

1 引言

2017年世界卫生组织最新公布数据表明, 目前全球每年有超过1 400万新发癌症病例, 预计2030年将增至2 100万。在癌症发病率不断攀升的情况下,

2017年6月, 美国临床肿瘤学会(American society of clinical oncology, ASCO)发布癌症总体死亡率呈全球性下降趋势, 各类新兴肿瘤疗法与药物开发正在改变肿瘤治疗的格局。其中, 肿瘤免疫疗法是近年

收稿日期: 2018-04-01 接受日期: 2018-04-27

国家自然科学基金(批准号: 81272687)、浙江省自然科学基金(批准号: LY16H160056)和浙江理工大学521骨干人才项目资助的课题

*通讯作者。Tel: 0571-86843181, E-mail: zhoxiumei824@163.com

Received: April 1, 2017 Accepted: April 27, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81272687), the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (Grant No.LY16H160056) and the Grant for 521 Talent Project of Zhejiang Sci-Tech University

*Corresponding author. Tel: +86-571-86843181, E-mail: zhoxiumei824@163.com

网络出版时间: 2018-05-25 15:53:39

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180525.1553.006.html>

来国际上肿瘤治疗方面进展最快的领域, 传统的肿瘤治疗方法可能因组织间微转移与肿瘤干细胞的存在导致肿瘤复发, 而免疫疗法则通过增强肿瘤细胞的免疫原性与对免疫细胞杀伤的敏感性, 激发并增强机体的抗肿瘤免疫应答从而实现对肿瘤的监控与抑制^[1-2]。

OAds治疗肿瘤, 是充分利用其选择性杀伤肿瘤细胞与病原性的特点, 不仅具有直接溶瘤作用, 还能引起机体的抗肿瘤免疫应答。近些年, 随着靶向治疗与基因治疗研究的逐步深入, OAds已成为安全可靠的基因治疗载体, 且通过基因工程的改造可提高其肿瘤靶向性^[3]。由此可知, OAds介导的免疫治疗是一种极具潜力的肿瘤治疗方法。因此, 深入了解肿瘤的发生、发展与免疫系统的相互关系, 研究肿瘤免疫逃逸与TME的内在联系, 探索OAds引起的抗肿瘤免疫反应的作用机制, 可提供更多更有效的新型肿瘤治疗策略。

2 肿瘤免疫治疗

肿瘤免疫疗法通过激活人体免疫系统, 凭借机体完善的免疫系统识别与杀伤肿瘤细胞, 与传统的手术、放(化)疗、靶向治疗不同, 该方法不是直接针对肿瘤细胞和组织, 而是间接借助自身的免疫系统攻击肿瘤细胞。肿瘤免疫疗法的创立需追溯到19世纪, William^[4]通过注射化脓性链球菌和黏质沙雷菌激发机体免疫系统治疗癌症患者。2013年, “肿瘤免疫治疗”被*Science*杂志评选为十大科技突破之首^[5]。目前, 肿瘤联合治疗成为热点研究方向, “免疫+疗法”为治愈肿瘤提供了新思路。针对IDO通路的免疫抑制剂INCB024360^[6]、NLG-8189^[7]与NLG-919^[8]目前已进入临床阶段; PD-1/PD-L1的组合疗法取得了成效, PD-L1抑制剂Imfinzi^[9]也于2017年8月被FDA加速批准用于治疗晚期或转移性尿路上皮癌, 而PD-1单抗Nivolumab^[10]和Pembrolizumab^[11]、PD-L1单抗MPDL3280A^[12-13]、创新免疫检查点抑制剂TIM3^[14]、LAG3^[15]、GITR^[16]皆已处于临床前及临床研究阶段。

2.1 肿瘤抗原与抗肿瘤免疫

肿瘤抗原作为机体免疫系统识别肿瘤细胞的关键标记分子, 在抗肿瘤免疫中发挥重要作用。肿瘤抗原分为两类。一类是肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA), 仅存在于肿瘤细胞而不存在

于其他组织细胞, TSA的高特异性与强免疫原性使其可作为肿瘤治疗靶点^[17-18]。但只有少部分肿瘤细胞存在TSA且表达量低, 因此, 如何提高肿瘤细胞中TSA的表达成为肿瘤靶向治疗的突破点。另一类肿瘤抗原是肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA), 包括胚胎抗原与分化抗原, 同时存在于肿瘤与正常组织和细胞中, 但在肿瘤中高表达, 因此TAA对于肿瘤检测与疗效评价有重要意义^[19]。在临床检测中, 血清肿瘤抗原标志物可以作为追踪监测和判断癌症病情的依据, 如CA125作为卵巢上皮癌的抗原标志, 其血清检测试剂盒已在世界范围内被采用和公认; 甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)与癌胚抗原(carcino embryonic antigen, CEA)在多种癌症中血清阳性率均超过40%。

目前主流学说认为, 在抗肿瘤免疫中起主要作用的是细胞免疫。其中, T细胞介导的细胞免疫占主导地位, 主要通过肿瘤细胞中主要组织相容复合体I类分子(major histocompatibility complex-I, MHC-I)将肿瘤抗原提呈给CD8⁺T细胞。细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)作为表达CD8分子的T细胞亚群, 是抗肿瘤细胞免疫中的主要效应细胞, 通过分泌穿孔素与颗粒酶靶向进攻并最终裂解肿瘤细胞, CTL还可表达FasL经信号转导诱导表达Fas的肿瘤细胞凋亡。除此之外, 少部分从肿瘤细胞表面脱落的肿瘤抗原也可通过树突状细胞、巨噬细胞等专职性抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC)经MHC-II类分子呈递给CD4⁺T细胞(辅助性T细胞), 其通过表达共刺激分子CD40L活化巨噬细胞、分泌IL-2、IL-3、GM-CSF、TFN- α 等细胞因子促进巨噬细胞和CTL的增殖以及巨噬细胞的趋化作用, 从而放大免疫效应^[20-21]。体液免疫产生的抗体与补体在与肿瘤细胞特异性结合后可诱导抗体介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)^[22]与补体介导的细胞毒作用(complement-dependent cytotoxicity, CDC)^[23], 抑制肿瘤细胞的转移。由此可知, 肿瘤抗原是肿瘤细胞在机体内区别于正常细胞的存在, 也是引发免疫反应的基础, 其能成功地被免疫系统识别与捕获是开展特异性免疫治疗的前提。然而, 尽管免疫系统持续不断地清除体内癌变的细胞, 但肿瘤一旦发生便可通过各种途径衍生出一套特殊的机制逃避免疫系统的监控与清除。逃避机制包括肿瘤细胞免疫原性的减弱、效应

免疫细胞的减少、免疫信号通路的抑制以及肿瘤细胞分泌细胞因子等, 尽管其具体机制还未阐明, 但都已被证明与TME息息相关。

2.2 TME与免疫逃逸

机体内肿瘤细胞生长的环境称为TME, 由非肿瘤细胞(包括成纤维细胞、血管上皮细胞、免疫细胞等)与肿瘤基质(包括细胞代谢物、细胞营养物质、细胞因子等)组成。肿瘤细胞的代谢方式异于正常组织细胞, 主要表现为以有氧糖酵解(Warburg effect)的方式在氧气充足或无氧条件下大量摄取胞外葡萄糖为自身提供能量, 这种呼吸方式既不经济又不高效^[24]。肿瘤细胞的这种代谢方式不仅促进自身细胞群在体内的增殖与蔓延, 同时营造出低氧、低pH、营养缺乏、氧化性强等理化微环境, 影响肿瘤组织中其他细胞的代谢方式。随着肿瘤细胞生长过程中对营养物质的大量摄取以及代谢废物的不断分泌, 微环境内的免疫细胞均会受到肿瘤细胞的影响从而发生性状表型及免疫方向的改变^[25], 主要通过以下途径实现: (1)肿瘤细胞和肿瘤基质来源的免疫抑制因子(如TGF β 、PGE2、IL-10等)可上调肿瘤内皮抑制性配体(如PD-L1、PD-L2、TIM-3)和免疫抑制分子(IDO、PGE2), 从而抑制效应T细胞的活化^[26-27]; (2)肿瘤细胞的代谢物使得微环境中大部分免疫细胞分化为负性调节免疫细胞(如M2、Treg、MDSC), 可诱导机体免疫耐受从而促进肿瘤生长, 具有很强的促肿瘤转移功能^[28-29]; (3)TME中的效应T细胞与肿瘤靶细胞的识别过程也因肿瘤细胞MHC与肿瘤抗原的下调受到抑制, 使得抗肿瘤免

疫效率降低^[30]。

3 OAds介导的抗肿瘤免疫治疗

3.1 OAds参与TME的改变

因分化方向的不同, TME中活化的免疫细胞部分发挥抑瘤作用, 大多数则发挥促瘤作用。营造出抑瘤的免疫微环境是将肿瘤免疫治疗推向成功的必经之路, 其关键是如何逆转TME中的促瘤分子信号。肿瘤细胞的抗病毒机制往往受损, 故病毒能在其中大量地复制, 但在正常细胞中少量或无法增殖^[31]。OAds治疗就是利用增殖型OAds在肿瘤细胞中选择性增殖、裂解从而杀灭肿瘤的一种治疗方法, 被裂解死亡的肿瘤细胞具有免疫原性且可释放出肿瘤抗原、ATP等危险相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs), 募集非特异性免疫细胞, 产生急性促炎微环境, 进而激活特异性免疫应答, 最终介导肿瘤细胞的免疫识别与清除^[32]。

OAds作为机体异源性物质本身就是一种免疫佐剂, 在感染肿瘤组织后一定程度上能打破TME的免疫抑制状态, 产生较为强烈的抗肿瘤免疫反应。此外, OAds可作为细胞因子、共刺激分子和免疫检查点抑制剂的载体, 通过表达各种免疫相关基因或直接携带细胞因子, 活化各类被抑制的免疫效应细胞(如CTL细胞), 逆转各类免疫抑制细胞[如调节性T细胞(regulatory cells, Tregs)、髓系来源抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)]来发挥正性免疫调节作用, 使机体免疫系统朝着抗肿瘤的方向发展。目前已有许多OAds作为基因治疗的载体在攻克各类肿瘤的进程中展现了一定的成效(表1)。

表1 目前在研用于肿瘤免疫治疗的部分溶瘤腺病毒

Table 1 Part of oncolytic adenoviruses currently being studied for cancer immunotherapy

名称 Name	外源基因 Exogenous gene	适应症 Indication	研究阶段 Research stage	参考文献 Reference
LOAd703	CD40L/4-1BBL	Pancreatic cancer	Phase 1, phase 2	[33]
ONCOS-102	GM-CSF	Malignant pleural mesothelioma, platinum-resistant ovarian cancer, malignant solid tumor	Phase 1, phase 2	[34-35]
Ad5-yCD/mutTKSR39rep-mIL12	IL-12	Prostate cancer, metastatic pancreatic cancer	Phase 1	[36]
CG0070	GM-CSF	Transitional cell carcinoma, non-muscle-invasive bladder cancer	Phase 1, phase 2, phase 3	[37]
Ad-CRT/MAGE-A3	CRT/MAGE-A3	Non-small cell lung cancer, breast cancer	Preclinical	[38-39]
ZD55-IL-24	IL-24	Pancreatic cancer, lung cancer	Preclinical	[40-41]

3.2 OAds免疫治疗新策略

OAds要发挥持续性的抗肿瘤免疫作用离不开与免疫系统的协同互动和高效的杀瘤、抑瘤作用。但单独的OAds治疗因强免疫原性使其进入机体后会引引起过早或过于强烈的免疫应答, 这将导致病毒的过早清除与抗病毒免疫而非抗肿瘤免疫的激活^[42]。因此, 对OAds进行合适的改造或联合肿瘤免疫治疗的常规方法使其能及时高效地诱导抗肿瘤免疫, 是科研工作者近年来的研究重点。

3.2.1 OAds介导的细胞因子治疗 细胞因子在调节免疫、促进免疫细胞分化发育等方面发挥重要作用, 将细胞因子基因插入到病毒基因组, 不仅能直接靶向肿瘤组织, 且可随着病毒的增殖持续表达。已有大量研究证明, 携带细胞因子的OAds在体内外及免疫方面作用效果明显强于单纯病毒^[43-46]。粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 是目前应用最频繁的细胞因子, 已被整合入多种溶瘤病毒, 在临床前及临床研究中显示了一定程度的治疗效力。Hemminki等^[43]制备了表达GM-CSF的四重修饰OAds Ad5/3-E2F- Δ 24-GMCSF (CGTG-602), 在临床试验中, 将其用于治疗13例对常规疗法无效的晚期实体瘤患者, 结果表明, 12名患者有良好的耐受性, 疾病控制率为83%; 通过肿瘤标志物和放射检验, 其中75%的患者有明显的抗肿瘤免疫反应; 肿瘤活检显示有大量的免疫细胞, 尤其是T细胞向肿瘤组织聚集。He等^[41]构建的OAds ZD55-IL-24在免疫活性小鼠模型中用于靶向治疗胰腺癌 (pancreatic cancer, PC), 结果表明, 在免疫活性PC模型中, ZD55-IL-24治疗组的肿瘤形成率最低, 肿瘤生长率也显著低于ZD55组; 此外, ZD55-IL-24通过诱导更强的T淋巴细胞反应, 以及释放更高水平的IFN- γ 和IL-6介导更有效的抗肿瘤免疫作用。其他细胞因子 (如IL-15^[44]、TNF^[45]、IFN- α ^[46]) 皆已在不同肿瘤模型中呈现出较好的治疗效果。

3.2.2 OAds介导的免疫检查点阻断 免疫检查点抑制剂作为目前最有效的肿瘤免疫治疗药物, 主要分为CTLA-4单抗与PD1/D-L1单抗两种, 其通过与肿瘤细胞表面的负性共刺激分子配体结合, 阻止它们与T细胞表面的抑制性协同刺激分子结合, 从而打破T细胞的抑制状态。截至2018年3月, 已有6种免疫检查点抑制剂通过FDA批准成功上市。但由于TME中缺少T细胞, 使其药效发挥受到限制, 而OAds

可以增强T细胞的趋化作用, 成为攻克这一问题的潜在策略。早在2011年, Dias等^[47]构建的OAds Ad5/3- Δ 24aCTLA4能表达完整的人CTLA-4单克隆抗体, 并检测其在晚期实体瘤患者体内外及外周血单核细胞 (PBMC) 中的作用效果, 结果表明, 患者的T细胞在体内外都可被Ad5/3- Δ 24aCTLA4产生的CTLA-4抗体间接激活, 且Ad5/3- Δ 24aCTLA4在肿瘤组织表达的CTLA-4抗体水平是复制缺陷型病毒 (对照组) 的81倍, 这是OAds能产生完整人CTLA-4单抗的首次报道。另外, Antoni领导的团队^[48]发现, 联合溶瘤病毒与PD1单抗治疗晚期黑色素瘤可以大幅度提升癌症反应率, 推动了OAds抗肿瘤免疫研究的进展。

3.2.3 基于OAds的肿瘤疫苗 临床前研究表明, 虽然OAds在癌症治疗中显示出巨大的潜力, 但是机体预先存在的免疫防御依旧限制其作用效果^[49-50]。因此, 从溶瘤剂到溶瘤疫苗的转变似乎显得十分必要, 免疫系统的参与可能在OAds治疗中起关键作用。Sal等^[49]使用编码患者特异性肿瘤细胞突变蛋白 (neoepitopes) 的OAds作为“溶瘤特异性疫苗”, 他们通过对小鼠黑色素瘤细胞系 (B16) 外显子测序, 根据表达水平与MHC-I亲和力选择合适的新抗原表位; 将抗原表位基因转入病毒基因组后, 病毒的溶瘤效力并没有受到影响, 于是向小鼠静脉注射 3×10^{10} 个病毒颗粒, 7天后进行ELISPOT以评估针对抗原新表位的免疫应答, 结果表明, 表达肿瘤新表位的OAds在体内可诱导针对这些新表位的免疫应答, 从而引发抗肿瘤免疫反应。而Capasso带领的团队^[50]开发了一种新型溶瘤疫苗, 利用病毒作为MHC-I肿瘤表位的佐剂, 通过静电相互作用将其加载到病毒衣壳上; 他们通过使用模型抗原表位SIINFEKL研究了肽包被的条件复制腺病毒 (PeptiCRAd) 在B16-OVA黑色素瘤模型的免疫活性小鼠中的功效; 结果表明, 与单纯病毒作用相比, PeptiCRAds组显著抑制肿瘤生长, 并引发了更强烈的SIINFEKL特异性CD8⁺T细胞应答; 此外, 他们观察到用PeptiCRAd处理的小鼠脾脏中成熟树突状细胞数增加, 表明PeptiCRAd对抗原呈递细胞具有激活与趋化作用。

3.2.4 基于OAds的联合免疫疗法 临床试验中, 联合疗法往往显示更好的治疗效果, 将OAds与其他免疫疗法结合, 如CAR-T细胞治疗、免疫调节剂、放疗等, 都是未来临床治疗的主要应用方向。Jiang等^[51]构建了表达共刺激分子OX40配体 (OX40L) 的

OAds Delta-24-RGDOX, 其能诱导免疫原性细胞死亡并将淋巴细胞募集到肿瘤部位; 与对照组Delta-24-RGD相比, Delta-24-RGDOX表现出淋巴细胞的肿瘤特异性激活和靶向肿瘤相关抗原的CD8⁺T细胞增殖; 在免疫活性C57BL/6小鼠中, Delta-24-RGDOX介导了更有效的抗胶质瘤活性, 并增强肿瘤特异性的免疫记忆; 为了进一步克服病毒疗法引起肿瘤细胞表面PD-L1的上调, 从而介导免疫抑制, 他们在瘤内同时注射Delta-24-RGDOX和PD-L1抗体协同治疗。以上结果表明, 将OAds与肿瘤免疫检查点抑制剂相结合可产生更有效、更持久的肿瘤特异性免疫。Tanoue等^[52]发现, CAR T细胞疗法会增加T细胞表面PD-L1的表达, 这可能抑制其作用效果, 于是他们联合OAds与一种可表达PD-L1阻断型抗体(HDPDL1)的辅助依赖性腺病毒(HDAd)作为增强CAR T治疗效率的策略。他们将其与HER2.CAR T细胞共同作用于人类肿瘤异种移植模型, 结果显示, 单独使用HDPDL1并没有表现出抗肿瘤作用, 将OAds与HDAd联合作用(CAd-VECPDL1)可在肿瘤部位表现出溶瘤作用, 但与单独使用OAds效果相当; 然而, 相对于单独使用HER2.CAR T细胞或联合HER2.CAR T细胞与OAds, 将CAd-VECPDL1与HER2.CAR T细胞联合处理显示更强的抗肿瘤活性。

4 问题与展望

OAds的抗肿瘤免疫治疗除要保证其插入的外源基因能有效激发机体的免疫反应外, 还必须具有肿瘤靶向性。然而, OAds本身缺乏肿瘤靶向性, 且具有较强的免疫原性, 机体预先存在的抗病毒机制以及病毒感染后诱发机体产生的特异性免疫可对OAds产生显著的排斥反应。因此, 近年来围绕如何改造OAds以增强肿瘤靶向性和降低免疫原性开展了大量的基础研究, 主要包括: (1)增强转录靶向, 通过对OAds中参与细胞周期节点调控的基因进行删除或突变, 或通过肿瘤特异性启动子调控OAds E1A的表达, 均能实现对OAds的转录靶向^[53-54]; (2)提高组织或器官靶向性, 许多肿瘤无法直接进行瘤内注射OAds进行治疗, 而通过血管途径容易造成肝脏的富集与病毒的免疫清除。目前, 树突状细胞^[55]、间充质干细胞^[56]、神经干细胞^[57]等免疫细胞与干细胞以及脂质体^[58]、细胞外囊泡^[59]成为了安全有效的病毒载体, 通过静脉注射载体细胞能够将病毒运输至

肿瘤部位, 可提高溶瘤腺病毒的靶向性。

肿瘤抗原的暴露与TME的逆转是抗肿瘤免疫治疗的核心, 而OAds能够针对这两大核心问题展开有效的治疗。经改造后的重组OAds有望克服免疫系统攻击、靶向肿瘤组织、激活免疫细胞, 在肿瘤治疗中有极好的应用前景。但机体免疫系统对OAds的应答具有抗肿瘤与抗病毒双重效应, 其具体作用机制也尚未明确, 因此, 深入探索OAds免疫学相关机制以及突破TME研究中的技术瓶颈皆是亟待攻克的难题。同时, 优化载体提高OAds远程传递的靶向性以及寻找更具潜能的肿瘤干细胞作为靶点以增加OAds治疗的有效性, 都是OAds抗肿瘤治疗研究中的重中之重。相信在不久的将来, 人类必定能实现将OAds应用于抗肿瘤免疫的临床治疗。

参考文献 (References)

- 1 Rosen JM, Jordan CT. The increasing complexity of the cancer stem cell paradigm. *Science* 2009; 324(5935): 1670-3.
- 2 Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoeediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011; 331(6024): 1565-70.
- 3 何婉婉, 周立, 刘涛, 阮江星, 何滨霞, 李阿荣, 等. 溶瘤腺病毒作为癌症基因治疗载体的研究进展及安全性评价. *中国细胞生物学学报*(He Wanwan, Zhou Li, Liu Tao, Ruan Jiangxing, He Binxia, Li Arong, *et al.* Oncolytic adenovirus as a vector of gene therapy for cancer progression and safety evaluation. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2013; 35(9): 1386-91.
- 4 Hopton Cann SA, van Netten JP, van NC. Dr William Coley and tumour regression: a place in history or in the future. *Postgrad Med J* 2003; 79(938): 672-80.
- 5 Couzin Frankel J. Cancer Immunotherapy. *Science* 2013; 342(6165): 1432-33.
- 6 Boer J, Youngsciamer R, Lee F, Bowman KJ, Yang X, Shi JG, *et al.* Roles of UGT, P450, and gut microbiota in the metabolism of epacadostat in humans. *Drug Metab Dispos* 2016; 44(10): 1668-74.
- 7 Richard M, Sonja R, Duhadaway JB, Mautino MR, Munn DH, Vahanian NN, *et al.* IDO inhibits a tryptophan sufficiency signal that stimulates mTOR. *Oncoimmunology* 2012; 1(9): 1460-68.
- 8 Yan D, Lin YW, Tan X. Heme-containing enzymes and inhibitors for tryptophan metabolism. *Metallomics* 2017; 9(9): 1230-40.
- 9 Syed YY. Durvalumab: first global approval. *Drugs* 2017; 77(12): 1-8.
- 10 Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC, Gutierrez M, *et al.* PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372(4): 311-9.
- 11 Nghiem PT, Bhatia S, Lipson EJ, Kudchadkar RR, Miller NJ, Annamalai L, *et al.* PD-1 blockade with pembrolizumab in advanced merkel-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2016; 374(26): 1-2.
- 12 Powles T, Eder JP, Fine GD, Braithel FS, Loriot Y, Cruz C, *et al.*

- MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. *Nature* 2014; 515(7528): 558-62.
- 13 Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, *et al.* Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 2014; 515(7528): 563-7.
- 14 Zhu L, Na L, Fang L, Zhou Z, Jiao S, Zhao J, *et al.* Genetic polymorphisms of immune checkpoint proteins PD-1 and TIM-3 are associated with survival of patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7(18): 26168-80.
- 15 Foy SP, Sennino B, Dela TC, Cote JJ, Gordon EJ, Kemp F, *et al.* Poxvirus-based active immunotherapy with PD-1 and LAG-3 dual immune checkpoint inhibition overcomes compensatory immune regulation, yielding complete tumor regression in mice. *PLoS One* 2016; 11(2): e0150084.
- 16 Patel M, Kim J, Theodos D, Jackson C, Tam A, Velarde E, *et al.* Agonist anti-GITR monoclonal antibody and stereotactic radiation induce immune-mediated survival advantage in murine intracranial glioma. *J Immunother Cancer* 2016; 4(1): 1-13.
- 17 Veluchamy JP, Spanholtz J, Tordoir M, Thijssen VL, Heideman DAM, Verheul HMW, *et al.* Combination of NK cells and cetuximab to enhance anti-tumor responses in RAS mutant metastatic colorectal cancer. *PLoS One* 2016; 11(6): e0157830.
- 18 Taylor LA, O'Day C, Dentchev T, Hood K, Chu EY, Ridky TW, *et al.* p15 Expression differentiates nevus from melanoma. *Am J Pathol* 2016; 186(12): 3094-9.
- 19 Hao Y, Jin C, Wang J. Expression and clinical significance of Muc1, p63 protein in diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma and conventional papillary thyroid carcinoma. *J Otorhinol Head Neck Surg* 2013; 27(9): 457-61.
- 20 Butler MO, Ansén S, Tanaka M, Imataki O, Berezovskaya A, Mooney MM, *et al.* A panel of human cell-based artificial APC enables the expansion of long-lived antigen-specific CD4⁺ T cells restricted by prevalent HLA-DR alleles. *Int Immunol* 2010; 22(11): 863-73.
- 21 Marzo AL, Kinnear BF, Lake RA, Frelinger JJ, Collins EJ, Robinson BW, *et al.* Tumor-specific CD4⁺ T cells have a major "post-licensing" role in CTL mediated anti-tumor immunity. *J Immunol* 2000; 165(11): 6047-55.
- 22 Dilillo DJ, Ravetch JV. Differential Fc-receptor engagement drives an anti-tumor vaccinal effect. *Cell* 2015; 161(5): 1035-45.
- 23 Duensing TD, Watson SR. Complement-dependent cytotoxicity assay. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018; 2018(2): pdb.prot093799.
- 24 Pavlova NN, Thompson CB. The emerging hallmarks of cancer metabolism. *Cell Metab* 2016; 23(1): 27-47.
- 25 孙林冲, 高平. 代谢重编程在调控肿瘤免疫微环境中的作用. *生物化学与生物物理进展*(Sun Linchong, Gao Ping. Regulation of cancer metabolic reprogramming on immune microenvironment. *Progress in Biochemistry and Biophysics*) 2017; 44(8): 688-96.
- 26 Sha W, Olesch C, Hanaka H, Rådmark O, Weigert A, Brüne B. Necrosis in DU145 prostate cancer spheroids induces COX-2/mPGES-1-derived PGE2 to promote tumor growth and to inhibit T cell activation. *Int J Cancer* 2013; 133(7): 1578-88.
- 27 Zhou G, Levitsky H. Towards curative cancer immunotherapy: overcoming posttherapy tumor escape. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012(3): 124187.
- 28 Charbonneau B, Goode EL, Kalli KR, Knutson KL, Derycke MS. The immune system in the pathogenesis of ovarian cancer. *Crit Rev Immunol* 2013; 33(2): 137-64.
- 29 Görgün GT, Whitehill G, Anderson JL, Hideshima T, Maguire C, Laubach J, *et al.* Tumor-promoting immune-suppressive myeloid-derived suppressor cells in the multiple myeloma microenvironment in humans. *Blood* 2013; 121(15): 2975-87.
- 30 Sethumadhavan S, Silva M, Philbrook P, Nguyen T, Hatfield SM, Ohta A, *et al.* Hypoxia and hypoxia-inducible factor (HIF) downregulate antigen-presenting MHC class I molecules limiting tumor cell recognition by T cells. *PLoS One* 2017; 12(11): e0187314.
- 31 Keskinen P, Nyqvist M, Sareneva T, Pirhonen J, Melén K, Julkunen I. Impaired antiviral response in human hepatoma cells. *Virology* 1999; 263(2): 364-75.
- 32 Christopher L, Bryan O, Jan S, Fanger GR, Meaghan S, Arnold O, *et al.* Going viral: a review of replication-selective oncolytic adenoviruses. *Oncotarget* 2015; 6(24): 19976-89.
- 33 Eriksson E, Milenova I, Wenthe J, Stähle M, Leja-Jarblad J, Ullenhag G, *et al.* Shaping the tumor stroma and sparking immune activation by CD40 and 4-1BB signaling induced by an armed oncolytic virus. *Clin Cancer Res* 2017; 23(19): 5846-57.
- 34 Kuryk L, Haavisto E, Garofalo M, Capasso C, Hirvinen M, Pesonen S, *et al.* Synergistic anti-tumor efficacy of immunogenic adenovirus ONCOS-102 (Ad5/3-D24-GM-CSF) and standard of care chemotherapy in preclinical mesothelioma model. *Int J Cancer* 2016; 139(8): 1883-93.
- 35 Ranki T, Pesonen S, Hemminki A, Partanen K, Kairemo K, Alanko T, *et al.* Phase I study with ONCOS-102 for the treatment of solid tumors—an evaluation of clinical response and exploratory analyses of immune markers. *J Immunother Cancer* 2016; 4(1): 17.
- 36 Freytag SO, Barton KN, Zhang Y. Efficacy of oncolytic adenovirus expressing suicide genes and interleukin-12 in preclinical model of prostate cancer. *Gene Ther* 2013; 20(12): 1131-39.
- 37 Packiam VT, Lamm DL, Barocas DA, Trainer A, Fand B, Clark W, *et al.* An open label, single-arm, phase II multicenter study of the safety and efficacy of CG0070 oncolytic vector regimen in patients with BCG-unresponsive non-muscle-invasive bladder cancer: Interim results. *Urol Oncol* 2017; doi: 10.1016/j.urolonc.2017.07.005.
- 38 刘新莉, 赵丹, 李晓曦, 李岩, 马萍. 重组腺病毒Ad-CRT/MAGE-A3联合表柔比星抑制乳腺癌细胞增殖及侵袭. *中国肿瘤生物治疗杂志*(Liu Xinli, Zhao Dan, Li Xiaoxin, Li Yan, Ma Ping. Inhibitory effect of recombinant adenovirus Ad-CRT/MAGE-A3 combined with epirubicin on proliferation and invasion of breast cancer cells. *Chinese Journal of Cancer Biotherapy*) 2012; 19(5): 491-5.
- 39 Liu X, Sun N, Dong Y, Li J, Liu Y, Ren Y, *et al.* Anticancer effects of adenovirus-mediated calreticulin and melanoma-associated antigen 3 expression on non-small cell lung cancer cells. *Int Immunopharmacol* 2015; 25(2): 416-24.
- 40 Zhong S, Yu D, Wang Y, Qiu S, Wu S, Liu XY. An armed oncolytic adenovirus ZD55-IL-24 combined with ADM or DDP

- demonstrated enhanced antitumor effect in lung cancer. *Acta Oncologica* 2010; 49(1): 91-9.
- 41 He B, Huang X, Liu X, Xu B. Cancer targeting gene-viro-therapy for pancreatic cancer using oncolytic adenovirus ZD55-IL-24 in immune-competent mice. *Mol Biol Rep* 2013; 40(9): 5397-405.
- 42 Wang S, Li X, Wang P, Li H, Du X, Liu M, *et al.* The efficacy of oncolytic adenovirus is mediated by T cell responses against virus and tumor in Syrian hamster model. *Clin Cancer Res* 2016; 23(1): 239-49.
- 43 Hemminki O, Parviainen S, Juhila J, Turkki R, Linder N, Lundin J, *et al.* Immunological data from cancer patients treated with Ad5/3-E2F-Δ24-GMCSF suggests utility for tumor immunotherapy. *Oncotarget* 2015; 6(6): 4467-81.
- 44 Yan Y, Li S, Jia T, Du X, Xu Y, Zhao Y, *et al.* Combined therapy with CTL cells and oncolytic adenovirus expressing IL-15-induced enhanced antitumor activity. *Tumour Biol* 2015; 36(6): 4535-43.
- 45 Hirvonen M, Rajecki M, Kapanen M, Parviainen S, Rouvinen-Lagerström N, Diaconu I, *et al.* Immunological effects of a TNF-α armed oncolytic adenovirus. *Hum Gene Ther* 2015; 26(3): 134-44.
- 46 Larocca CJ, Han J, Gavrikova T, Armstrong L, Oliveira AR, Shanley R, *et al.* Oncolytic adenovirus expressing interferon alpha in a syngeneic Syrian hamster model for the treatment of pancreatic cancer. *Surgery* 2015; 157(5): 888-98.
- 47 Dias JD, Hemminki O, Diaconu I, Hirvonen M, Bonetti A, Guse K, *et al.* Targeted cancer immunotherapy with oncolytic adenovirus coding for a fully human monoclonal antibody specific for CTLA-4. *Gene Ther* 2012; 19(10): 988-98.
- 48 Ribas A, Dummer R, Puzanov I, Vanderwalde A, Andtbacka R, Michielin O, *et al.* Oncolytic virotherapy promotes intratumoral T cell infiltration and improves anti-PD-1 immunotherapy. *Cell* 2017; 170(6): 1109-19.
- 49 Sal MF, Moreno R, Pomés JDS, Arias-Badia M, Fajardo CA, Al-Zaher A, *et al.* 53P Oncolytic adenovirus expressing tumor neoepitopes as a vaccine. *Ann Oncol* 2017; 28(suppl 11): mdx711.034.
- 50 Capasso C, Hirvonen M, Garofalo M, Romaniuk D, Kuryk L, Sarvela T, *et al.* Oncolytic adenoviruses coated with MHC-I tumor epitopes increase the antitumor immunity and efficacy against melanoma. *Oncoimmunology* 2016; 5(4): e1105429.
- 51 Jiang H, Rivera-Molina Y, Gomez-Manzano C, Clise-Dwyer K, Bover L, Vence LM, *et al.* Oncolytic adenovirus and tumor-targeting immune modulatory therapy improve autologous cancer vaccination. *Cancer Res* 2017; 77(14): 3894-907.
- 52 Tanoue K, Rosewell SA, Watanabe N, Porter CE, Rana B, Gottschalk S, *et al.* Armed oncolytic adenovirus expressing PD-L1 mini-body enhances anti-tumor effects of chimeric antigen receptor T-cells in solid tumors. *Cancer Res* 2017; 77(8): 2040-51.
- 53 Zhang J, Lai W, Li Q, Yu Y, Jin J, Guo W, *et al.* A novel oncolytic adenovirus targeting Wnt signaling effectively inhibits cancer-stem like cell growth via metastasis, apoptosis and autophagy in HCC models. *Biochem Bioph Res Co* 2017; 491(2): 469-77.
- 54 Zhang KJ, Zhang J, Wu YM, Qian J, Liu XJ, Yan LC, *et al.* Complete eradication of hepatomas using an oncolytic adenovirus containing AFP promoter controlling E1A and an E1B deletion to drive IL-24 expression. *Cancer Gene Ther* 2012; 19(9): 619-29.
- 55 Li ZL, Xuan L, Li HC, Wang ZM, Chong T. Dendritic cells serve as a “Trojan horse” for oncolytic adenovirus delivery in the treatment of mouse prostate cancer. *Acta Pharmacol Sin* 2016; 37(8): 1121-8.
- 56 Rincón E, Cejalvo T, Kanojia D, Alfranca A, Rodríguez-Milla MÁ, Rag H, *et al.* Mesenchymal stem cell carriers enhance antitumor efficacy of oncolytic adenoviruses in an immunocompetent mouse model. *Oncotarget* 2017; 8(28): 45415-31.
- 57 Kim JW, Kane JR, Young JS, Chang AL, Kanojia D, Qian S, *et al.* Neural stem cell-mediated delivery of oncolytic adenovirus. *Curr Protoc Hum Genet* 2015; 85: 13.11.1-9.
- 58 Mendez N, Herrera V, Zhang L, Hedjran F, Feuer R, Blair SL, *et al.* Encapsulation of adenovirus serotype 5 in anionic lecithin liposomes using a bead-based immunoprecipitation technique enhances transfection efficiency. *Biomaterials* 2014; 35(35): 9554-61.
- 59 Liu J, Ma J, Tang K, Huang B. Therapeutic use of tumor cell-derived extracellular vesicles. *Methods Mo Biol* 2017; 1660: 433-40.