

## 妇科肿瘤专题

## • 专家述评 •



**[作者简介]** 向阳,教授、主任医师、博士研究生导师、首批协和学者特聘教授。中国医学科学院中国协和医科大学北京协和医院肿瘤妇科中心主任,国际滋养细胞肿瘤学会执行主席,中华医学会妇科肿瘤分会副主任委员,中国医师协会妇产科分会妇科肿瘤专委会主任委员,中国医师协会整合医学分会妇产疾病整合专委会主任委员,中华医学会妇产科学分会委员,中国抗癌协会妇科肿瘤专委会常务委员,中国优生科学协会阴道镜和宫颈病理学分会常务委员,北京医学会妇科肿瘤分会主任委员,北京医学会妇产科分会副主任委员,北京医师协会妇产科分会副会长。主要致力于妇科肿瘤的临床及基础研究。获北京市科技进步二等奖 2 次,中华医学科技奖 2 次,国家科技进步二等奖、北京市医学科技奖一等奖、高教部科技进步二等奖、北京市科技进步二等奖、华夏医学科技奖二等奖。2004 年获得由人事部等七部委授予的“首批新世纪百万人才工程国家级人选”称号,并享受国务院政府特殊津贴。发表论文 400 余篇,其中 SCI 收录 70 余篇。主编《宋鸿钊滋养细胞肿瘤学》《滋养细胞肿瘤的诊断与治疗》《协和妇产科查房手册》《妇产科手术要点难点及对策》《妊娠滋养细胞肿瘤协和 2017 观点》等多部专著,主译《Novak 妇科学》《临床妇科肿瘤学》等多部译著。

## 妇科肿瘤免疫治疗的新靶点\*

程红燕,向阳<sup>△</sup>

100730 北京,中国医学科学院/北京协和医学院/北京协和医院 妇产科

**[摘要]** 虽然作用于程序性细胞死亡蛋白 1/程序性死亡配体 1 (PD-1/PD-L1) 和细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4 (CTLA-4) 的抗体已成功应用于晚期实体瘤的治疗,但其疗效仍不够高。需寻找新的免疫靶点以便为难治性肿瘤患者寻求替代治疗。根据受体与配体结合后发挥的作用,可将免疫靶点分为共刺激分子和共抑制分子,共抑制分子包括:T 细胞免疫球蛋白黏蛋白-3 (TIM-3)、含免疫球蛋白及 ITIM 结构域的 T 细胞免疫受体 (TIGIT)、淋巴细胞活化基因 3 (LAG-3)、T 细胞激活抑制物免疫球蛋白可变区结构域 (VISTA) 以及 B7 家族的 B7-H3 和 B7-H4;共刺激分子包括 CD27、OX40、4-1BB、CD40、糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体 (GITR) 和诱导共刺激因子 (ICOS) 等。本文就新兴的免疫靶点在妇科恶性肿瘤的临床前和临床研究进展作一简要阐述。

**[关键词]** 免疫治疗;妇科肿瘤;T 细胞受体;抗原递呈细胞;分子靶向治疗

**[中图分类号]** R737.3 **[文献标志码]** A **doi:**10.3969/j.issn.1674-0904.2021.05.003

**引文格式:** Cheng HY, Xiang Y. Emerging targets of immunotherapy in gynecologic cancer [J]. J Cancer Control Treat, 2021, 34(5): 392-400. [程红燕,向阳. 妇科肿瘤免疫治疗的新靶点 [J]. 肿瘤预防与治疗, 2021, 34(5): 392-400.]

## Emerging Targets of Immunotherapy in Gynecologic Cancer

Cheng Hongyan, Xiang Yang

Department of Obstetrics and Gynecology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

**Corresponding author:** Xiang Yang, E-mail: xiangy@pumch.cn

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81971475, No. 81972451) and the Chinese Academy of Medical Sciences Initiative for Innovative Medicine (No. CAMS-2017-I2M-1-002).

**[收稿日期]** 2021-03-16

**[基金项目]** \* 国家自然科学基金 (编号:81971475、81972451); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (编号: CAMS-2017-I2M-1-002)

**[通讯作者]** <sup>△</sup> 向阳, E-mail: xiangy@pumch.cn

**[Abstract]** Although programmed cell death protein 1/programmed death-ligand 1 (PD-1/PD-L1) and cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) have been successfully applied in the treatment of tumors, their efficiency is still not high enough. New immune targets need to be identified in order to

seek alternative treatment strategies for patients with refractory tumors. Immune targets can be divided into stimulating and inhibiting molecules according to their functions after receptor-ligand binding. These targets include co-inhibitory molecules, such as T cell immunoglobulin-3 (TIM-3), T cell immunoglobulin and ITIM domain (TIGIT), lymphocyte activation gene-3 (LAG-3), V-type immunoglobulin domain-containing suppressor of T cell activation (VISTA) and B7 family (B7-H3 and B7-H4), and co-stimulatory molecules, such as CD27, OX40, 4-1BB, CD40, glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor (GITR) and inducible co-stimulator (ICOS). In this review, the characteristics and preclinical/clinical progress of gynecological malignancies are briefly discussed.

**[Key words]** Immunotherapy; Gynecologic neoplasms; T cell receptors; Antigen presenting cells; Molecular targeted therapy

免疫治疗已成为继外科手术、放射治疗、抗肿瘤化学药物治疗之后,恶性肿瘤治疗的重要支柱<sup>[1]</sup>。经典的程序性细胞死亡蛋白 1 (programmed cell death protein 1, PD-1)/程序性死亡配体 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 和细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4, CTLA-4) 是研究最成熟的免疫检查点通路,作用于 PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 的免疫检查点抑制剂的应用极大地改变了黑色素瘤和非小细胞肺癌等实体肿瘤的治疗方式,有显著的疗效和持久的治疗反应,目前有从二线转成一线治疗的趋势<sup>[2-3]</sup>。已有大量研究报道了 PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 抑制剂在晚期妇科肿瘤中的应用,但其临床获益率有限,由于免疫信号通路和免疫微环境的不断变化和相互作用,使用单一的免疫靶向药物不太可能获得抗肿瘤作用<sup>[4]</sup>。因此,深入了解肿瘤免疫的通路,寻找新的免疫靶点在妇科肿瘤的免疫治疗中至关重要。本文总结了以下妇科肿瘤免疫治疗的新靶点。

## 1 共抑制分子

### 1.1 TIM-3

T 细胞免疫球蛋白黏蛋白-3 (T cell immunoglobulin-3, TIM-3) 是一类 I 型跨膜蛋白,首次被发现表达于分泌干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 的细胞,包括 CD4+ 的 T 辅助 (Th1) 细胞和 CD8+ 的细胞毒性 T (Tc1) 细胞,还有 Th17 细胞,树突状细胞、单核细胞和调节性 T 细胞 (Tregs)、NK 细胞和肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocytes, TILs)<sup>[4-5]</sup>。TIM-3 通过与其配体半乳糖凝集素-9 和癌胚抗原相关细胞黏附分子-1 (carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1, CEACAM-1) 结合从而促进钙离子内流、细胞聚集和凋亡,进而抑制 T 细胞的激活和增殖<sup>[6]</sup>。CEACAM-1 和 TIM-3 在 T 细胞上共表达,共同发挥免疫抑制作用<sup>[7]</sup>。

TIM-3 的表达被认为是 T 细胞耗竭的标志之

一<sup>[6]</sup>。在卵巢癌和宫颈癌的 TILs 中均可检测到 TIM-3 的高表达。Yan 等<sup>[8]</sup>的研究发现卵巢癌和宫颈癌组织中 TIM-3+CD4+T 细胞的比例明显高于患者外周血和非 TILs 组织中 TIM-3+CD4+T 细胞,且肿瘤来源的 TIM-3+CD4+T 细胞产生 IFN- $\gamma$  和白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 的能力受损,但和 TIM-3-CD4+T 细胞相比表达更高水平的 CD25、Foxp3、CTLA-4 和糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体 (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor, GITR)。同时晚期卵巢癌患者 T 细胞上 TIM-3 的表达显著高于早期卵巢癌患者,且复发卵巢癌患者外周血中 TIM-3+CD4+T 细胞的水平也显著高于初治卵巢癌患者,该研究认为卵巢癌组织中 TIM-3 的表达与预后不良相关<sup>[9-10]</sup>。此外抗 TIM-3 抗体和抗 CD137 抗体联合治疗可以抑制卵巢癌荷瘤小鼠的肿瘤生长,约 60% 的荷瘤小鼠能够获得长期生存<sup>[11]</sup>。另一项研究表明,在宫颈癌中,肿瘤转移淋巴结中 TIM-3 的表达显著高于正常淋巴结<sup>[12]</sup>。在子宫内膜癌中的研究表明,肿瘤内的 NK 细胞表现出更多的共抑制分子,例如 TIM-3 和含免疫球蛋白及 ITIM 结构域的 T 细胞免疫受体 (T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains, TIGIT),并且这些分子的表达随着疾病的严重程度而增加<sup>[13]</sup>。目前已有多项针对 TIM-3 抗体单独或联合 PD-1 抑制剂的 I 期临床实验正在进行 (NCT03652077、NCT03099109、NCT02608268、NCT02817633 等)。

### 1.2 TIGIT

TIGIT 是 2009 年首次被鉴定为 T 细胞和 NK 细胞的免疫检查点分子,可以在记忆 T 细胞、Treg 细胞和自然杀伤 T (natural killer T, NKT) 细胞上检测到<sup>[14]</sup>。TIGIT 与免疫激活分子 CD226 (又称 DNAM-1 分子) 竞争同一组配体: CD155 (脊髓灰质炎病毒受体) 和 CD112 (Nectin-2 或脊髓灰质炎病毒受体 2)<sup>[15]</sup>。TIGIT 与 CD155 的亲和力高于 CD112<sup>[16]</sup>。TIGIT 与 CD 结合后参与抑制 T 细胞,使 T 细胞从分

泌 IL-2 改为分泌 IL-10, 而 TIGIT 与 CD112 的相互作用较弱, 在肿瘤免疫中的作用还不清楚<sup>[17]</sup>。

TIGIT 的配体在多种妇科肿瘤组织中均被发现表达。Oshima 等<sup>[18]</sup>利用基因表达谱分析和免疫组化在卵巢癌细胞系 OV-90 表面和 48.4% 的卵巢癌组织样本中发现了 TIGIT 的配体之一 Nectin-2 的高表达, 此外抗 Nectin-2 的抗体可抑制 OV-90 细胞的体外增殖, 在小鼠肿瘤模型中, Nectin-2 单抗可通过抗体依赖性细胞毒性机制发挥抗肿瘤作用。在宫颈癌中, 有研究发现 TIGIT 的另一配体 CD155 在宫颈癌组织中的表达高于宫颈上皮内瘤变和正常宫颈组织, CD155 的表达可增强肿瘤细胞的活力, 从而促进肿瘤细胞的进行性生长<sup>[19]</sup>。在子宫内膜癌中, 共抑制分子例如 TIGIT 和 TIM-3 的高表达与淋巴结侵袭和疾病晚期有关<sup>[13]</sup>。TIGIT 的相关研究仍处于早期研究阶段, 目前至少有 3 种药物 (AB154、BGB-A1217 和 MK7684) 正在进行晚期实体瘤的临床实验。

### 1.3 LAG-3

淋巴细胞活化基因-3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3) 最早是由 Triebel 等<sup>[20]</sup>在 1990 年报道, 其在结构上类似于 CD4 共受体, LAG-3 与组织相容性复合体 II (major histocompatibility complex II, MHC II) 具有高亲和力, 因此, MHC II 被认为是 LAG-3 典型的配体。纤维蛋白原样蛋白 1 作为 LAG-3 的配体比 MHC II 的作用更为重要<sup>[21]</sup>。LAG-3 可表达于 T 细胞和 NK 细胞, 阻断 LAG-3 可改善细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 的增殖和效应功能<sup>[22-25]</sup>。

LAG-3 在卵巢癌和宫颈癌的发生发展中起着重要作用, Tu 等<sup>[24]</sup>通过分析 Oncomine 和 PrognoScan 数据库发现 LAG-3、PD-1、CTLA-4 和 TIM-3 可能是卵巢癌的预后因素和治疗靶点。在宫颈癌转移瘤引流区的淋巴结中 LAG-3 水平明显高于正常淋巴结<sup>[12]</sup>。在上皮性卵巢癌中, 肿瘤来源的 CD8<sup>+</sup>T 细胞的效应功能受损, 并有 LAG-3 和 PD-1 的共表达富集。而 IL-10、IL-6 和肿瘤来源的抗原递呈细胞 (antigen presenting cells, APC) 共同上调了 LAG-3 和 PD-1 的表达。联合阻断 LAG-3 和 PD-1 可有效增强 CD8<sup>+</sup>T 细胞的增殖和增强细胞因子的产生<sup>[25]</sup>。目前有多项正在进行的单独使用 LAG-3 单抗或联合使用 PD-1 单抗治疗妇科肿瘤的早期临床实验 (NCT03250832、NCT03538028、NCT01968109、NCT03365791) 正在进行。

### 1.4 VISTA

T 细胞激活抑制物免疫球蛋白可变区结构域 (V-type immunoglobulin domain-containing suppressor of T cell activation, VISTA) 也称为 C10orf54、B7-H5 或血小板受体 Gi24 的前体。VISTA 的胞外结构域与 B7 家族配体 PD-L1 和 PD-L2 同源<sup>[26]</sup>。VISTA 主要表达于髓系细胞、单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞, 在 T 淋巴细胞中, VISTA 主要在 naïve CD4<sup>+</sup>和 FoxP3<sup>+</sup>Tregs 上表达<sup>[26-27]</sup>。值得注意的是, VISTA 即可作为配体又可作为受体发挥作用, 但这些作用并不相互排斥<sup>[28]</sup>。最近发表的一项研究表明 VSIG-3 是 VISTA 的配体, 二者结合可显著减少人 T 细胞产生细胞因子和驱化因子<sup>[29]</sup>。而 VISTA 的配体功能最早是由 Wang 等<sup>[26]</sup>报道的, 该研究发现 VISTA 抗体可抑制激活后的 T 细胞产生 IL-2 和 IFN- $\gamma$ , VISTA 可能通过抑制早期 T 细胞受体的激活和阻止细胞分裂来负性调控 T 细胞的功能, 但对 T 细胞的凋亡影响很小, 目前 VISTA 的受体尚未被确定。

VISTA 在人卵巢癌和子宫内膜癌中高表达, 但在正常卵巢上皮和正常子宫内膜标本中不表达或低表达。在 Mulati 等<sup>[30]</sup>的研究中, 体外肿瘤细胞中表达 VISTA 可抑制 T 细胞增殖和细胞因子的产生, 而在人子宫内膜癌细胞和卵巢癌细胞中沉默 VISTA 的表达可恢复 T 细胞增殖和细胞因子的分泌, 体内研究发现, 抗 VISTA 抗体治疗可延长荷瘤小鼠的生存时间。在卵巢癌和宫颈癌中, 肿瘤细胞或肿瘤来源的免疫细胞上 VISTA 高表达可能与肿瘤晚期和淋巴结转移显著相关<sup>[31-32]</sup>。在最近本课题组的一项研究发现 VISTA 在 98.2% 的妊娠滋养细胞肿瘤组织中广泛过表达, 但在正常成人和胎儿组织中不表达<sup>[33]</sup>。迄今为止, 有两项关于 VISTA 单抗的 I 期药物临床实验: 一项是正在研究的 CA-170, 一类选择性靶向 PD-1 和 VISTA 的口服小分子双拮抗剂 (NCT02812875), 该研究结果暂未公布; 另一种是 Jassen 公司开发的 VISTA 单抗 JNJ-61610588 (NCT02671955), 在此项研究中, 有 12 名患者被招募, 其中有 1 例发生了与细胞因子释放综合征相关的剂量限值不良反应, 因此提前终止了这项临床实验。

### 1.5 B7-H3 和 B7-H4

B7-H3 (CD276) 和 B7-H4 (B7x 或 B7S1) 均属于 B7 家族免疫调节配体的成员, 二者受体尚未被确定, 有研究表明 B7-H3 和 B7-H4 的潜在受体可能分别为髓系细胞触发受体 2 和 B、T 淋巴细胞衰减因

子,他们共同参与了免疫的共刺激和共抑制途径<sup>[34-35]</sup>。这两种配体的 mRNA 在大多数外周组织中均可以找到,但在蛋白质水平并没有组成性表达。研究表明 B7-H3 和 B7-H4 蛋白在多种肿瘤,包括肺癌、乳腺癌、胰腺癌和卵巢癌中均高表达<sup>[36-37]</sup>。

在妇科肿瘤中,B7-H3 在高级别型和 II 型子宫内膜癌中的表达高于低级别肿瘤和子宫内膜样腺癌,且与患者总生存呈负相关<sup>[38]</sup>。我们前期研究发现 B7-H3 在几乎所有的妊娠滋养细胞肿瘤病理亚型中高表达,与临床结局不相关<sup>[33]</sup>。在卵巢癌中,所有类型的原发及转移的浆液性和子宫内膜样癌中均可检测到 B7-H4 细胞质和细胞膜的表达,而在正常卵巢组织中 B7-H4 始终阴性<sup>[39]</sup>。

除了单独表达以外,B-H3 和 B7-H4 也在多种妇科肿瘤组织中共表达。Zang 等<sup>[40]</sup>的研究中,103 例卵巢交界肿瘤和卵巢癌样本中,B7-H3 和 B7-H4 在 93% 和 100% 的卵巢肿瘤中表达。Han 等<sup>[41]</sup>的研究发现 B7-H3 和 B7-H4 在宫颈癌中均高表达,它们通过抑制 IL-10 和转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor-beta, TGF- $\beta$ ) 的产生,促进免疫抑制微环境的形成,从而导致宫颈癌的而发展,且与患者不良预后有关。目前关于 B7-H3 和 B7-H4 的临床实验均处于早期阶段,未有相关结果报道。

## 2 共刺激分子

### 2.1 TNF 受体超家族

2.1.1 CD27 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)受体超家族包含死亡受体和结合 TNF 受体相关因子的受体(Traf)的受体<sup>[42]</sup>。CD27 属于 Traf 样受体,仅在淋巴细胞上表达,naïve CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 细胞也表达低水平的 CD27<sup>[43]</sup>。CD27 与其配体 CD70 之间相互作用可能促进 CD8<sup>+</sup>T 细胞分化为效应 T 细胞,并通过 T-B 细胞和/或 B-B 细胞间的相互作用促进 T 细胞增殖和 B 细胞分化<sup>[44]</sup>。

在妇科肿瘤中仅有卵巢癌有 CD27/CD70 相关研究报道,其发现 CD70 在卵巢癌组织中高表达,在正常卵巢组织中不表达,CD70 在耐药卵巢癌细胞系 A2780 的 mRNA 水平和蛋白质水平高表达。与 CD70 抗体共培养后,发现顺铂耐药细胞的增殖明显下降,在小鼠模型中,CD70 过表达的小鼠的 CD8<sup>+</sup>T 细胞表现出比野生型小鼠更强的抗肿瘤反应<sup>[45-47]</sup>。近期美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)报道了一项关于 CD27 激动剂 Varlilumab 联合 PD-1 抑制剂治疗晚期卵巢癌的 1/2 期

临床实验(NCT02335918)的结果,共 66 例患者被纳入实验,有 49 例患者可评估疗效,其中部分缓解 5 例(10%),疾病稳定 19 例(39%)。结果表明 Varlilumab 联合 PD-1 抑制剂对晚期卵巢癌有显著的抗肿瘤作用。

2.1.2 OX40 OX40(CD134)是 TNF 超家族成员之一,为分子量 50kDa 的糖蛋白,结构上具有胞浆尾部、跨膜结构与和胞外区域<sup>[48]</sup>。OX40 主要在活化的效应 CD4<sup>+</sup>T 细胞,尤其是 Treg 细胞和 NKT 细胞上表达<sup>[49]</sup>。OX40 的配体 CD252 主要在活化的 APC 上表达,包括树突状细胞、B 细胞和吞噬细胞<sup>[49]</sup>。Treg 是众所周知的免疫抑制细胞,可以抑制效应 T 细胞分泌 IL-10 和 TGF- $\beta$  等因子的分泌,而 OX40 与其配体结合后可抵消 Treg 的负性调控作用,削弱其抑制能力<sup>[50]</sup>。

Ramser 等<sup>[51]</sup>评估了 47 例高级别浆液性卵巢癌样本发现卵巢癌中 OX40 的高表达可能与良好的化疗敏感性和预后有关。在动物模型中,单独使用 PD-1 抑制剂或 OX40 激动剂对肿瘤生长无明显影响,当联合使用 PD-1 抑制剂和 OX40 激动剂可产生显著的抗肿瘤作用,60% 的小鼠在接种肿瘤 90 天后达到无瘤状态<sup>[52]</sup>。除了蛋白质水平的表达,OX40 在 RNA 水平上也有表达,Zhao 等<sup>[53]</sup>分析了 30 例宫颈癌和 20 例正常宫颈组织标本,发现宫颈癌组织的免疫微环境中 OX40mRNA 水平显著低于正常宫颈组织,高级别鳞状细胞癌中的水平略低于低级别鳞状细胞癌。目前有一项 OX40 激动剂针对卵巢癌的 II 期临床实验正在进行(NCT03267589)。

2.1.3 4-1BB 4-1BB 又称为 CD137 或 TNFRSF9,属于 TNF 受体超家族成员,主要在活化的 T 细胞和 APC 上表达<sup>[54]</sup>。4-1BB 的配体与 OX40 的配体类似,在未激活的 T 细胞上并不是组成性表达,在被激活的 24 小时内诱导表达,在几天内达到高峰。因此,在一定条件下,OX40 和 4-1BB 与 OX40 和 4-1BB 的配体在活化的 T 细胞和 APC 上的表达可以互相平行,这表明它们可能存在相似的作用<sup>[55]</sup>。

在卵巢癌中 4-1BB 的相关动物研究证明 4-1BB 共刺激和 PD-1 共抑制联合分子治疗可诱导协同抗肿瘤免疫反应,增强顺铂治疗的敏感性<sup>[56]</sup>。另一项研究报道联合抗 TIM-3 和 4-1BB 单抗治疗可显著抑制小鼠卵巢癌肿瘤的生长,60% 的小鼠在接种肿瘤 90 天后达到无瘤状态<sup>[11]</sup>。目前没有专门研究 4-1BB 相关的药物在妇科肿瘤中的临床实验。

2.1.4 CD40 CD40 是一种 I 型跨膜蛋白,主要表

达于 B 细胞,也表达于树突状细胞、单核细胞、血小板和巨噬细胞,还表达于造血细胞、成纤维细胞、上皮细胞和内皮细胞<sup>[57-58]</sup>。CD40 的配体 CD40L 为 CD154,二者结合后可在体液免疫应答的启动和发展中发挥重要作用,能在体外触发 B 细胞间的粘附、增殖、扩张、分化和抗体转换,是生发中心形成和发展以及亲和力成熟所必须的,是记忆 B 细胞和体内浆细胞生成必不可少的过程<sup>[59]</sup>。

多项研究表明,肿瘤细胞可以利用 CD40/CD40L 通路维持增殖能力和生存,建立免疫抑制微环境。Wang 等<sup>[60]</sup>的研究中发现卵巢癌组织中 CD40 的低表达与晚期疾病和预后不良相关。Melichar 等<sup>[61]</sup>的研究检测了 8 个卵巢癌细胞系,其中 5 个细胞系中 CD40 高表达,且 IFN- $\gamma$  可增强 CD40 的表达。体外细胞实验证明,腺病毒介导的 CD40 配体治疗可诱导来自新鲜手术标本的卵巢癌细胞的凋亡,同时还可增加卵巢癌细胞对顺铂治疗的敏感性<sup>[62-63]</sup>。在宫颈癌中,CD40 在人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染的宫颈上皮内瘤变和晚期鳞癌中过表达,但在正常宫颈上皮中低表达。此外,CD40 对宫颈癌细胞的刺激可激活 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号通路,增强特异性 CTL 细胞的杀伤作用<sup>[64]</sup>。CD40 激活巨噬细胞在子宫内膜癌细胞的生存和侵袭中发挥双重作用,CD40 活化的 I 型巨噬细胞可显著增强细胞毒性并抑制肿瘤生长,而 CD40 活化的 II 型巨噬细胞可增强细胞侵袭和生存能力,因此,CD40 在肿瘤相关巨噬细胞中的作用可能会限制 CD40 激动剂在子宫内膜癌中的治疗发展<sup>[65]</sup>。目前有正在进行的 CD40 激动剂 ADC-1013 用于人类实体肿瘤的临床实验,早期结果显示肿瘤内注射临床剂量的 ADC-1013 在患者中反应的耐受性好(NCT02379741)<sup>[66]</sup>。

**2.1.5 GITR** GITR 又名 TNFRSF18,是一种 II 型跨膜受体,主要表达于活化的 B 细胞、NK 细胞和 T 细胞,特别是 Treg 细胞<sup>[67]</sup>。作为共刺激因子,GITR 可参与 T 细胞的增殖、活化和细胞因子的产生,在 Treg 细胞免疫耐受的维持中也起着关键作用。

GITR 的相关研究已经在卵巢癌和宫颈癌中有报道。Lu 等<sup>[68]</sup>的研究中发现单独使用 PD-1 抑制剂或 GITR 激动剂均表现出较弱的抗肿瘤作用,而联合使用 PD-1 抑制剂和 GITR 激动剂治疗可显著抑制小鼠卵巢癌的肿瘤生长,80% 的荷瘤小鼠获得长期生存,还可增强化疗药物的敏感性。类似地,另一项研究表明,腺病毒载体治疗 T 细胞疫苗 AD-P14

和 GITR 激动剂单独治疗仅能治愈 10% 和 30% 的宫颈癌小鼠肿瘤,而二者联用可使完全缓解率达到 100%,使荷瘤小鼠达到长期生存<sup>[69]</sup>。然而有研究显示,在 HPV 感染的宫颈组织标本中 GITR 阳性率为 75.9%,而随着宫颈癌前病变的进展,宫颈组织中的 GITR 阳性率逐渐增高,GITR 可能参与了 HPV 诱导的宫颈癌的进展<sup>[70]</sup>。

2018 年 ASCO 会议公布了一种 GITR 激动剂(MK-1248)在 37 例晚期实体瘤患者中单独或联合使用 PD-1 抑制剂(NCT02553499)一期临床实验的结果,其中 1 例患者获得完全缓解,2 例达到部分缓解,结果显示 MK-1248 对治疗剂量有良好的耐受性,未出现治疗相关死亡。

**2.1.6 ICOS** 诱导共刺激因子(inducible co-stimulator, ICOS)又名 CD278,属于 CD28 受体超家族成员,与共刺激分子 CD28 和免疫抑制分子 CTLA-4 具有显著的同源性,主要表达于活化的 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 细胞<sup>[71]</sup>。在体外结合 ICOS 与其配体 B7-H2 可诱导抗炎因子 IL-10 的释放,而阻断 ICOS 信号可致 T 细胞分化不良,从而减少 IL-4 的产生<sup>[72-73]</sup>。

研究表明 ICOS 的配体 B7-H2 在铂耐药卵巢癌细胞系的 mRNA 和蛋白质水平均高表达<sup>[46]</sup>。在 Conrad 等<sup>[74]</sup>的研究中,卵巢癌组织微环境中,ICOS<sup>+</sup>Treg 细胞水平显著升高,肿瘤浆细胞样树突状细胞表达高水平的 ICOS 配体可共同刺激 ICOS<sup>+</sup>Treg 细胞的表达,并可被 ICOS 配体的抗体所阻断,生存分析显示 ICOS<sup>+</sup>Treg 细胞可能是预后不良的预测因子。与 TIM-3 类似,ICOS 也不太可能被用作单一的治疗方法,因为它们不能独立诱导细胞毒性免疫反应。虽然有关 ICOS 在妇科肿瘤中相关研究较少,但目前已有几种相关抗体在筛选中,并在动物模型上取得了令人鼓舞的结果。目前正在进行的临床实验研究 ICOS 激动剂 JTX-2011 和 GSK3359609 与 PD-1 抑制剂或 CTLA-4 抑制剂联合治疗晚期实体肿瘤的临床实验目前正在进行中(NCT02904226、NCT03693612、NCT02723955)。

## 2.2 B7-H6

B7-H6 是近年来新发现的 B7 家族成员,分子量 51kDa,为 I 型跨膜蛋白。B7-H6 可结合其位于 NK 细胞上的受体-天然细胞毒性受体 3(natural cytotoxicity receptor 3, NCR3),然后触发 NK 细胞的抗肿瘤细胞毒性作用,导致细胞因子分泌<sup>[75]</sup>。B7-H6 可表达于黑色素瘤、神经母细胞瘤和血液系统或骨髓肿瘤细胞的表面<sup>[76]</sup>。

在妇科肿瘤中, B7-H6 主要在卵巢癌细胞的胞膜和胞质中表达, 与外周血中的 NK 细胞相比, 肿瘤相关的 NK 细胞中激活受体 NCR3 的表达显著降低, 这种受体表达减少与其可溶性配体 B7-H6 的表达有关, 且其表达水平与肿瘤晚期和远处转移相关<sup>[77-78]</sup>。在宫颈癌中, B7-H6 的表达与宫颈癌疾病进展和分期呈正相关, 且在宫颈腺癌中的表达水平高于鳞状细胞癌<sup>[79]</sup>。B7-H6 在妇科肿瘤中的研究处于基础阶段, 目前尚无相关正在进行的临床实验。

### 3 讨论

肿瘤免疫治疗相关研究日新月异, 如何将新靶点的基础研究应用到临床实践是当前研究的重点之一。虽然作用于 PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 的抗体已经广泛应用于晚期实体瘤的治疗, 但在妇科肿瘤中已报道的总体缓解率并不令人十分满意。免疫相关的靶点繁多, 针对不同的肿瘤需要全面了解各靶点以及其受体在肿瘤或 TILs 中的表达后选择合适的靶点, 在前期研究的基础上逐步尝试。一般情况下, 针对单独靶点的药物并不能成功诱导细胞毒性免疫反应, 而联合用药可提高疗效, 但也可能增加药物不良反应。在最近发表的一项 II 期随机临床试验中, PD-1 抑制剂 Nivolumab 治疗复发性卵巢癌的客观缓解率为 12%, 而联合 CTLA-4 抑制剂 Ipilimumab 可提高客观缓解率至 31.4%, 且毒副反应可耐受<sup>[80]</sup>。此外, 联合靶向治疗药物也可有助于减轻免疫治疗的副作用, 同时提高药物疗效。我们的临床经验例如抗血管生成药物阿帕替尼联合使用 PD-1 抑制剂卡瑞利珠单抗, 可降低卡瑞利珠单抗导致的特异性毛细血管瘤的发生, 同时亦可增强抗肿瘤作用。同样也有研究表明预防性阻断 TNF 可提高 CTLA-4 和 PD-1 双重抑制剂免疫治疗的抗肿瘤疗效, 减轻免疫相关性的结肠炎和肝炎<sup>[81-82]</sup>。

另一个值得注意的问题是联合用药的顺序, 特别是当共抑制分子和共刺激因子药物联合使用。已有研究表明, 同时阻断 PD-1 和 OX40 并没有增加 OX40 激动剂的抗肿瘤作用, 而是上调了 T 细胞共抑制受体的表达水平, 反而加速了肿瘤中 T 细胞的消耗, 显著削弱了 OX40 激动剂的治疗效果, 而先使用 OX40 激动剂, 再延迟使用 PD-1 抑制剂可减少 T 细胞消耗, 维持 T 细胞增殖, 从而增强 OX40 激动剂的抗肿瘤作用<sup>[83]</sup>。

由于免疫系统相互作用和调节的复杂性, 免疫靶向分子的药效指标的预测比较困难。根据 PD-1

抑制剂使用的临床经验, 我们可以通过检测肿瘤组织或 TILs 中的相关免疫靶点配体或受体的表达、微卫星不稳定性、肿瘤突变负荷和错配修复缺陷等来预测药物的作用<sup>[84]</sup>。此外, 循环生物标志物和肠道微生物群在动态监测肿瘤免疫状态中也起着至关重要的作用<sup>[85]</sup>。

### 4 总结与展望

尽管针对免疫靶点的基础研究和临床试验数量众多, 但在妇科肿瘤中的研究仍处于早期阶段。目前, 卵巢癌的靶向治疗越来越受到人们的重视, 旨在预防宫颈癌的 HPV 疫苗逐渐普及, 子宫内膜癌的内分泌治疗也日趋规范。免疫治疗以其固有的特异性、适应性和持久记忆反应, 仍可为难治性和复发性疾病患者提供补救治疗。这些新出现的免疫靶点的表达模式与治疗反应密切相关, 相关研究多处于早期实验阶段, 其潜在的机制和相互作用需要进一步研究阐明。

#### [参考文献]

- [1] Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy [J]. *Science*, 2015, 348(6230): 56-61.
- [2] Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(19): 1823-1833.
- [3] Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(1): 23-34.
- [4] Monney L, Sabatos CA, Gaglia JL, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease [J]. *Nature*, 2002, 415(6871): 536-541.
- [5] Xu Y, Zhang H, Huang Y, et al. Role of TIM-3 in ovarian cancer [J]. *Clin Transl Oncol*, 2017, 19(9): 1079-1083.
- [6] Zhu C, Anderson AC, Schubart A, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(12): 1245-1252.
- [7] Huang YH, Zhu C, Kondo Y, et al. CEACAM1 regulates TIM-3-mediated tolerance and exhaustion [J]. *Nature*, 2015, 517(7534): 386-390.
- [8] Yan J, Zhang Y, Zhang JP, et al. Tim-3 expression defines regulatory T cells in human tumors [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58006.
- [9] Fucikova J, Rakova J, Hensler M, et al. TIM-3 dictates functional orientation of the immune infiltrate in ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(15): 4820-4831.
- [10] Wu J, Liu C, Qian S, et al. The expression of Tim-3 in peripheral blood of ovarian cancer [J]. *DNA Cell Biol*, 2013, 32(11): 648-

- 653.
- [11] Guo Z, Cheng D, Xia Z, *et al.* Combined TIM-3 blockade and CD137 activation affords the long-term protection in a murine model of ovarian cancer[J]. *J Transl Med*, 2013, 11 : 215.
- [12] Heeren AM, Rotman J, Stam AGM, *et al.* Efficacy of PD-1 blockade in cervical cancer is related to a CD8<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T-cell subset with operational effector functions despite high immune checkpoint levels[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1) : 43.
- [13] Degos C, Heinemann M, Barrou J, *et al.* Endometrial tumor micro-environment alters human NK cell recruitment, and resident NK cell phenotype and function[J]. *Front Immunol*, 2019, 10 : 877.
- [14] Yu X, Harden K, Gonzalez LC, *et al.* The surface protein TIGIT suppresses T cell activation by promoting the generation of mature immunoregulatory dendritic cells[J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(1) : 48-57.
- [15] Zhang B, Zhao W, Li H, *et al.* Immunoreceptor TIGIT inhibits the cytotoxicity of human cytokine-induced killer cells by interacting with CD155[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65(3) : 305-314.
- [16] Stanietsky N, Simic H, Arapovic J, *et al.* The interaction of TIGIT with PVR and PVRL2 inhibits human NK cell cytotoxicity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 106(42) : 17858-17863.
- [17] Dougall WC, Kurtulus S, Smyth MJ, *et al.* TIGIT and CD96: New checkpoint receptor targets for cancer immunotherapy[J]. *Immunol Rev*, 2017, 276(1) : 112-120.
- [18] Oshima T, Sato S, Kato J, *et al.* Nectin-2 is a potential target for antibody therapy of breast and ovarian cancers[J]. *Mol Cancer*, 2013, 12 : 60.
- [19] Textor S, Dürst M, Jansen L, *et al.* Activating NK cell receptor ligands are differentially expressed during progression to cervical cancer[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(10) : 2343-2353.
- [20] Triebel F, Jitsukawa S, Baixeras E, *et al.* LAG-3, a novel lymphocyte activation gene closely related to CD4[J]. *J Exp Med*, 1990, 171(5) : 1393-1405.
- [21] Wang J, Sanmamed MF, Datar I, *et al.* Fibrinogen-like protein 1 is a major immune inhibitory ligand of LAG-3[J]. *Cell*, 2019, 176(1-2) : 334-347. e12.
- [22] Grosso JF, Kelleher CC, Harris TJ, *et al.* LAG-3 regulates CD8<sup>+</sup> T cell accumulation and effector function in murine self- and tumor-tolerance systems[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(11) : 3383-3392.
- [23] Lui Y, Davis SJ. LAG-3: A very singular immune checkpoint[J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(12) : 1278-1279.
- [24] Tu L, Guan R, Yang H, *et al.* Assessment of the expression of the immune checkpoint molecules PD-1, CTLA4, TIM-3 and LAG-3 across different cancers in relation to treatment response, tumor-infiltrating immune cells and survival[J]. *Int J Cancer*, 2020, 147(2) : 423-439.
- [25] Matsuzaki J, Gnjatic S, Mhawech-Fauceglia P, *et al.* Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8<sup>+</sup> T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(17) : 7875-7880.
- [26] Wang L, Rubinstein R, Lines JL, *et al.* VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(3) : 577-592.
- [27] ElTanbouly MA, Croteau W, Noelle RJ, *et al.* VISTA: A novel immunotherapy target for normalizing innate and adaptive immunity[J]. *Semin Immunol*, 2019, 42 : 101308.
- [28] Nowak EC, Lines JL, Varn FS, *et al.* Immunoregulatory functions of VISTA[J]. *Immunol Rev*, 2017, 276(1) : 66-79.
- [29] Wang J, Wu G, Manick B, *et al.* VSIG-3 as a ligand of VISTA inhibits human T-cell function[J]. *Immunology*, 2019, 156(1) : 74-85.
- [30] Mulati K, Hamanishi J, Matsumura N, *et al.* VISTA expressed in tumour cells regulates T cell function[J]. *Br J Cancer*, 2019, 120(1) : 115-127.
- [31] Liao H, Zhu H, Liu S, *et al.* Expression of V-domain immunoglobulin suppressor of T cell activation is associated with the advanced stage and presence of lymph node metastasis in ovarian cancer[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3) : 3465-3472.
- [32] Kuang L, He Y. Potential value of V-domain Ig suppressor of T-cell activation for assessing prognosis in cervical cancer and as a target for therapy[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13(1) : 26-37.
- [33] Zong L, Zhang M, Wang W, *et al.* PD-L1, B7-H3 and VISTA are highly expressed in gestational trophoblastic neoplasia[J]. *Histopathology*, 2019, 75(3) : 421-430.
- [34] Hashiguchi M, Kobori H, Ritprajak P, *et al.* Triggering receptor expressed on myeloid cell-like transcript 2 (TLT-2) is a counter-receptor for B7-H3 and enhances T cell responses[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(30) : 10495-10500.
- [35] Carreno BM, Collins M. BTLA: A new inhibitory receptor with a B7-like ligand[J]. *Trends Immunol*, 2003, 24(10) : 524-527.
- [36] Fauci JM, Straughn JM Jr, Ferrone S, *et al.* A review of B7-H3 and B7-H4 immune molecules and their role in ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2012, 127(2) : 420-425.
- [37] Wang JY, Wang WP. B7-H4, a promising target for immunotherapy[J]. *Cell Immunol*, 2020, 347 : 104008.
- [38] Brunner A, Hinterholzer S, Riss P, *et al.* Immunoeexpression of B7-H3 in endometrial cancer: Relation to tumor T-cell infiltration and prognosis[J]. *Gynecol Oncol*, 2012, 124(1) : 105-111.
- [39] Tringler B, Liu W, Corral L, *et al.* B7-H4 overexpression in ovarian tumors[J]. *Gynecol Oncol*, 2006, 100(1) : 44-52.
- [40] Zang X, Sullivan PS, Soslow RA, *et al.* Tumor associated endothelial expression of B7-H3 predicts survival in ovarian carcinomas[J]. *Mod Pathol*, 2010, 23(8) : 1104-1112.
- [41] Han S, Wang Y, Shi X, *et al.* Negative roles of B7-H3 and B7-H4 in the microenvironment of cervical cancer[J]. *Exp Cell Res*,

- 2018, 371(1) : 222-230.
- [42] Arch RH, Gedrich RW, Thompson CB. Tumor necrosis factor receptor-associated factors ( TRAFs )--a family of adapter proteins that regulates life and death[J]. *Genes Dev*, 1998, 12(18) : 2821-2830.
- [43] Lens SM, Tesselaar K, van Oers MH, *et al.* Control of lymphocyte function through CD27-CD70 interactions [ J ]. *Semin Immunol*, 1998, 10(6) : 491-499.
- [44] Hendriks J, Gravestein LA, Tesselaar K, *et al.* CD27 is required for generation and long-term maintenance of T cell immunity[J]. *Nat Immunol*, 2000, 1(5) : 433-440.
- [45] Koch M, Krieger ML, Stölting D, *et al.* Overcoming chemotherapy resistance of ovarian cancer cells by liposomal cisplatin: Molecular mechanisms unveiled by gene expression profiling [ J ]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(8) : 1077-1090.
- [46] Aggarwal S, He T, FitzHugh W, *et al.* Immune modulator CD70 as a potential cisplatin resistance predictive marker in ovarian cancer [ J ]. *Gynecol Oncol*, 2009, 115(3) : 430-437.
- [47] Keller AM, Schildknecht A, Xiao Y, *et al.* Expression of costimulatory ligand CD70 on steady-state dendritic cells breaks CD8 + T cell tolerance and permits effective immunity [ J ]. *Immunity*, 2008, 29(6) : 934-946.
- [48] Aspeslagh S, Postel-Vinay S, Rusakiewicz S, *et al.* Rationale for anti-OX40 cancer immunotherapy [ J ]. *Eur J Cancer*, 2016, 52 : 50-66.
- [49] Jensen SM, Maston LD, Gough MJ, *et al.* Signaling through OX40 enhances antitumor immunity [ J ]. *Semin Oncol*, 2010, 37(5) : 524-532.
- [50] Kroemer A, Xiao X, Vu MD, *et al.* OX40 controls functionally different T cell subsets and their resistance to depletion therapy [ J ]. *J Immunol*, 2007, 179(8) : 5584-5591.
- [51] Ramser M, Eichelberger S, Däster S, *et al.* High OX40 expression in recurrent ovarian carcinoma is indicative for response to repeated chemotherapy [ J ]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1) : 425.
- [52] Guo Z, Wang X, Cheng D, *et al.* PD-1 blockade and OX40 triggering synergistically protects against tumor growth in a murine model of ovarian cancer [ J ]. *PLoS One*, 2014, 9(2) : e89350.
- [53] Zhao M, Li Y, Wei X, *et al.* Negative immune factors might predominate local tumor immune status and promote carcinogenesis in cervical carcinoma [ J ]. *Virol J*, 2017, 14(1) : 5.
- [54] Gramaglia I, Cooper D, Miner KT, *et al.* Co-stimulation of antigen-specific CD4 T cells by 4-1BB ligand [ J ]. *Eur J Immunol*, 2000, 30(2) : 392-402.
- [55] Croft M. Costimulation of T cells by OX40, 4-1BB, and CD27 [ J ]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2003, 14(3-4) : 265-273.
- [56] Wei H, Zhao L, Hellstrom I, *et al.* Dual targeting of CD137 co-stimulatory and PD-1 co-inhibitory molecules for ovarian cancer immunotherapy [ J ]. *OncoImmunology*, 2014, 3 : e28248.
- [57] van Kooten C, Banchereau J. Functions of CD40 on B cells, dendritic cells and other cells [ J ]. *Curr Opin Immunol*, 1997, 9(3) : 330-337.
- [58] Bourgeois C, Rocha B, Tanchot C. A role for CD40 expression on CD8 + T cells in the generation of CD8 + T cell memory [ J ]. *Science*, 2002, 297(5589) : 2060-2063.
- [59] Elgueta R, Benson MJ, de Vries VC, *et al.* Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system [ J ]. *Immunol Rev*, 2009, 229(1) : 152-172.
- [60] Wang P, Zhang Z, Ma Y, *et al.* Prognostic values of GMPS, PR, CD40, and p21 in ovarian cancer [ J ]. *PeerJ*, 2019, 7 : e6301.
- [61] Melichar B, Patenia R, Gallardo S, *et al.* Expression of CD40 and growth-inhibitory activity of CD40 ligand in ovarian cancer cell lines [ J ]. *Gynecol Oncol*, 2007, 104(3) : 707-713.
- [62] Jiang E, He X, Chen X, *et al.* Expression of CD40 in ovarian cancer and adenovirus-mediated CD40 ligand therapy on ovarian cancer in vitro [ J ]. *Tumori*, 2008, 94(3) : 356-361.
- [63] Qin L, Qiu H, Zhang M, *et al.* Soluble CD40 ligands sensitize the epithelial ovarian cancer cells to cisplatin treatment [ J ]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 79 : 166-175.
- [64] Hill SE, Youde SJ, Man S, *et al.* Activation of CD40 in cervical carcinoma cells facilitates CTL responses and augments chemotherapy-induced apoptosis [ J ]. *J Immunol*, 2005, 174(1) : 41-50.
- [65] Dumas G, Dufresne M, Asselin é, *et al.* CD40 pathway activation reveals dual function for macrophages in human endometrial cancer cell survival and invasion [ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(2) : 273-283.
- [66] Irenaeus SMM, Nielsen D, Ellmark P, *et al.* First-in-human study with intratumoral administration of a CD40 agonistic antibody, ADC-1013, in advanced solid malignancies [ J ]. *Int J Cancer*, 2019, 145(5) : 1189-1199.
- [67] Watts TH. TNF/TNFR family members in costimulation of T cell responses [ J ]. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23 : 23-68.
- [68] Lu L, Xu X, Zhang B, *et al.* Combined PD-1 blockade and GITR triggering induce a potent antitumor immunity in murine cancer models and synergizes with chemotherapeutic drugs [ J ]. *J Transl Med*, 2014, 12 : 36.
- [69] Hoffmann C, Stanke J, Kaufmann AM, *et al.* Combining T-cell vaccination and application of agonistic anti-GITR mAb ( DTA-1 ) induces complete eradication of HPV oncogene expressing tumors in mice [ J ]. *J Immunother*, 2010, 33(2) : 136-145.
- [70] Padovani CT, Bonin CM, Tozetti IA, *et al.* Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor expression in patients with cervical human papillomavirus infection [ J ]. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2013, 46(3) : 288-292.
- [71] Watanabe M, Hara Y, Tanabe K, *et al.* A distinct role for ICOS-mediated co-stimulatory signaling in CD4 + and CD8 + T cell subsets [ J ]. *Int Immunol*, 2005, 17(3) : 269-278.

- [72] Witsch EJ, Peiser M, Hutloff A, *et al.* ICOS and CD28 reversely regulate IL-10 on re-activation of human effector T cells with mature dendritic cells [J]. *Eur J Immunol*, 2002, 32 (9) : 2680-2686.
- [73] Dong C, Juedes AE, Temann UA, *et al.* ICOS co-stimulatory receptor is essential for T-cell activation and function [J]. *Nature*, 2001, 409 (6816) : 97-101.
- [74] Conrad C, Gregorio J, Wang YH, *et al.* Plasmacytoid dendritic cells promote immunosuppression in ovarian cancer via ICOS costimulation of Foxp3 (+) T-regulatory cells [J]. *Cancer Res*, 2012, 72 (20) : 5240-5249.
- [75] Chen Y, Mo J, Jia X, *et al.* The B7 family member B7-H6: A new bane of tumor [J]. *Pathol Oncol Res*, 2018, 24 (4) : 717-721.
- [76] Schlecker E, Fiegler N, Arnold A, *et al.* Metalloprotease-mediated tumor cell shedding of B7-H6, the ligand of the natural killer cell-activating receptor NKp30 [J]. *Cancer Res*, 2014, 74 (13) : 3429-3440.
- [77] Zhou Y, Xu Y, Chen L, *et al.* B7-H6 expression correlates with cancer progression and patient's survival in human ovarian cancer [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8 (8) : 9428-9433.
- [78] Pesce S, Tabellini G, Cantoni C, *et al.* B7-H6-mediated downregulation of NKp30 in NK cells contributes to ovarian carcinoma immune escape [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4 (4) : e1001224.
- [79] Gutierrez-Silerio GY, Franco-Topete RA, Haramati J, *et al.* Positive staining of the immunoligand B7-H6 in abnormal/transformed keratinocytes consistently accompanies the progression of cervical cancer [J]. *BMC Immunol*, 2020, 21 (1) : 9.
- [80] Zamarin D, Burger RA, Sill MW, *et al.* Randomized phase II trial of nivolumab versus nivolumab and ipilimumab for recurrent or persistent ovarian cancer: An NRG oncology study [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38 (16) : 1814-1823.
- [81] 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.
- [82] Li W, Wei Z, Yang X, *et al.* Salvage therapy of reactive capillary hemangiomas: Apatinib alleviates the unique adverse events induced by camrelizumab in non-small cell lung cancer [J]. *J Cancer Res Ther*, 2019, 15 (7) : 1624-1628.
- [83] Messenheimer DJ, Jensen SM, Afentoulis ME, *et al.* Timing of PD-1 blockade is critical to effective combination immunotherapy with anti-OX40 [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23 (20) : 6165-6177.
- [84] Wu X, Gu Z, Chen Y, *et al.* Application of PD-1 blockade in cancer immunotherapy [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2019, 17 : 661-674.
- [85] Yi M, Yu S, Qin S, *et al.* Gut microbiome modulates efficacy of immune checkpoint inhibitors [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11 (1) : 47.