

## 免疫检查点抑制剂的进展

张文欣<sup>1</sup>, 郭弘洁<sup>1</sup>, 潘孝汇<sup>1</sup>, 陈羲<sup>1</sup>, 陶泉伟<sup>2</sup>, 吴洪海<sup>2</sup>, 丁玲<sup>1\*</sup>

(1. 浙江大学药学院, 浙江 杭州 310058; 2. 杭州先导医药科技有限责任公司, 浙江 杭州 311121)

**【摘要】**免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICIs) 通过阻断免疫检查点与其配体的结合, 解除免疫检查点引起的免疫功能抑制, 从而重新激活免疫细胞发挥抗肿瘤作用。目前已有多个 ICIs 在抗肿瘤临床应用中取得显著成效, 是肿瘤治疗领域的突破性进展。靶向细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)、程序性死亡受体 1 (programmed death-1, PD-1) 及程序性死亡受体配体 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 的抑制剂已成功用于黑色素瘤和非小细胞肺癌等多种恶性肿瘤的临床治疗。基于 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 抗体药物的巨大成功, 掀起了 ICIs 研究的新浪潮。近年来发现了更多的免疫检查点如淋巴细胞激活基因 3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3)、T 细胞免疫球蛋白黏蛋白 3 (T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3, TIM-3) 和分化簇 47 (cluster of differentiation 47, CD47) 等, 针对这些蛋白的抑制剂正在开展临床前或临床研究。综述围绕目前广泛研究的免疫检查点及其抑制剂, 介绍了各免疫检查点在肿瘤免疫中的作用及其抑制剂的临床研究进展。

**【关键词】**免疫逃逸; 肿瘤微环境; 免疫检查点; 单克隆抗体; 小分子抑制剂

**【中图分类号】** R979.1; R969 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1001-5094 (2022) 12-0910-12

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2022.12.004

## Research Progress of Immune Checkpoint Inhibitors

ZHANG Wenxin<sup>1</sup>, GUO Hongjie<sup>1</sup>, PAN Xiaohui<sup>1</sup>, CHEN Xi<sup>1</sup>, TAO Quanwei<sup>2</sup>, WU Honghai<sup>2</sup>, DING Ling<sup>1</sup>

(1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Hangzhou Leading Pharmatech Co., Ltd., Hangzhou 311121, China)

**【Abstract】** Blocking the interaction of immune checkpoints and their ligands by immune checkpoint inhibitors (ICIs) may relieve immune cells from inhibition caused by immune checkpoints, thereby reinvigorating immune cells to exert anti-tumor effects. At present, numerous ICIs have witnessed remarkable progress in anti-tumor clinical application, which is a breakthrough in the field of tumor therapy. Inhibitors targeting cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 (CTLA-4), programmed death-1 (PD-1) and programmed death-ligand 1 (PD-L1) have been successfully approved for the clinical treatment of various malignant tumors such as melanoma and non-small cell lung cancer. The great success of CTLA-4 and PD-1/PD-L1 antibody thus sets off a novel upsurge of research for ICIs. In recent years, more immune checkpoints such as lymphocyte activation gene-3 (LAG-3), T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3 (TIM-3), and cluster of differentiation 47 (CD47) have been identified. To this end, preclinical or clinical researches on these proteins have been extensively undertaken. This article reviews the extensively investigated immune checkpoints and their inhibitors, and introduces the molecular mechanisms of each immune checkpoint in tumor immunity as well as the progress of their inhibitors under clinical research.

**【Key words】** immune escape; tumor microenvironment; immune checkpoint; monoclonal antibody; small molecule inhibitor

机体免疫系统具有免疫监视作用, 当体内出现恶变细胞时, 免疫系统能识别并通过细胞免疫机制特异性清除“非己”细胞, 以维持机体内环境的稳

态。然而, 肿瘤细胞通过招募免疫抑制性细胞、下调肿瘤抗原表达、诱导 T 细胞凋亡或功能耗竭, 并产生诱导抑制性免疫检查点表达的免疫抑制分子, 从而形成高度免疫抑制的肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 以逃避免疫监视<sup>[1]</sup>。研究表明, 程序性死亡受体 1 (programmed death-1, PD-1) 及程序性死亡受体配体 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 在介导肿瘤免疫逃逸中发

**接受日期:** 2022-10-19

**项目资助:** 国家自然科学基金项目 (No. 82104196, No. 82273949)

**\* 通信作者:** 丁玲, 副教授;

**研究方向:** 肿瘤药理、肿瘤与微环境;

**Tel:** 0571-88208400; **E-mail:** ld362@zju.edu.cn

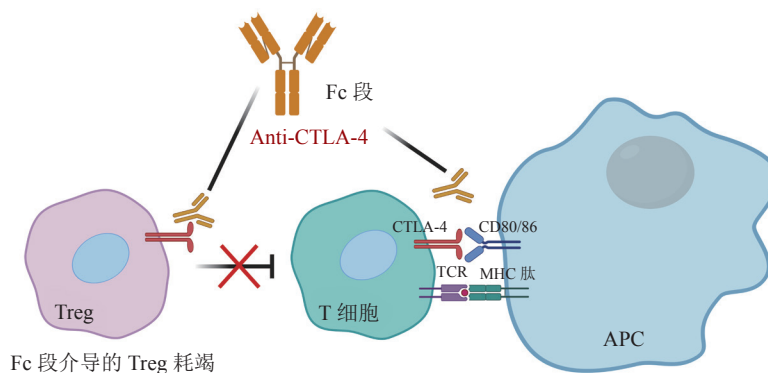
挥关键作用<sup>[2]</sup>。肿瘤细胞通过高表达 PD-L1, 以抑制肿瘤特异 T 细胞的活化、增殖和细胞因子的产生, 介导肿瘤免疫逃逸。此外, 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4) 通过反式内吞作用可减少抗原呈递细胞 (antigen-presenting cell, APC) 表面分化簇 80 (cluster of differentiation 80, CD80) / CD86 水平, 从而抑制 T 细胞活化<sup>[3]</sup>。淋巴细胞激活基因 3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3) 竞争结合主要组织相容性复合体 II 类分子 (major histocompatibility complex II, MHC II) 抑制 T 细胞活化, 介导免疫逃逸<sup>[4]</sup>。

针对免疫检查点在介导肿瘤免疫逃逸中的重要作用, 开发抑制免疫检查点活性的药物是有效的抗肿瘤策略, 这类药物统称为免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICIs)。CTLA-4 抗体伊匹单抗 (ipilimumab) 在 2011 年被美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准用于黑色素瘤治疗。随后, PD-1/PD-L1 抗体在多项临床试验中展现出显著的抗肿瘤作用, 被批准用于包括黑色素瘤、非小细胞肺癌和肾细胞癌在内的多种恶性肿瘤<sup>[5]</sup>。ICIs 在多种恶性肿瘤中显著的疗效, 使免疫治疗成为除手术、放疗和靶向治疗外极具潜力的肿瘤新疗法, 在《科学》杂志 2013 年十大科学突破中居首位。LAG-3 是继 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 后研究最成熟的免疫检查点,

已有 LAG-3 抗体获批应用于临床抗肿瘤治疗<sup>[6]</sup>。目前, 其他 ICIs, 包括 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白 3 (T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3, TIM-3)、CD47、T 细胞免疫球蛋白和 ITIM 结构域 (T cell immunoglobulin and ITIM domain protein, TIGIT) 和 T 细胞活化的 V 结构域免疫球蛋白抑制因子 (V-domain Ig suppressor of T-cell activation, VISTA) 也正在广泛地进行研究开发和临床试验。

## 1 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 抑制剂

CTLA-4 广泛表达于活化的 T 细胞。T 细胞表面受体 CD28 与 APC 上 CD80/CD86 的结合可产生共刺激信号, 与抗原特异性 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 识别 MHC 产生的第一信号共同组成 T 细胞活化的双重信号。而 CTLA-4 与 CD28 的胞外域高度同源, 且与 CD28 相比, CTLA-4 与 CD80/CD86 具有更高的亲和力, 这种高亲和力使得 CTLA-4 可以拮抗 CD28 与配体的相互作用, 从而减少共刺激信号的产生进而抑制 T 细胞活化<sup>[7]</sup>。此外, CTLA-4 也表达于调节性 T 淋巴细胞 (regulatory T cells, Tregs), Tregs 上的 CTLA-4 通过反式内吞作用促进 APC 上 CD80/CD86 内化, 减少其表达水平, 进一步发挥免疫抑制功能<sup>[3,8]</sup>。因此, 靶向阻断 CTLA-4 将解除 T 细胞的免疫抑制并允许 T 细胞活化, 进而实现肿瘤杀伤作用 (见图 1)。



CTLA-4: cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 (细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4); CD80/86: cluster of differentiation 80/86 (分化簇 80/86); TCR: T cell receptor (抗原特异性 T 细胞受体); MHC: major histocompatibility complex (主要组织相容性复合体); Treg: regulatory T cell (调节性 T 淋巴细胞); APC: antigen-presenting cell (抗原呈递细胞)

图 1 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 及抑制剂作用模式图

Figure 1 Mode of action of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 and its inhibitors

Ipilimumab 是唯一上市的 CTLA-4 单抗, 于 2011 年被 FDA 批准用于晚期黑色素瘤的治疗。至今, 其适应证已包含肾细胞癌、非小细胞肺癌以及结直肠癌等实体瘤, 约 10%~20% 的肿瘤患者可以从 ipilimumab 的治疗中获益<sup>[9]</sup> (见表 1)。此外, 阿斯利康的曲美木单抗 (tremelimumab) 与信达生物的 IBI-310 已处于 III 期临床研究。其中, 一项 tremelimumab 的 III 期临床研究 (临床试验编号: NCT03298451) 结果显示, tremelimumab 联合德瓦鲁单抗 (durvalumab) 表现出总生存期 (overall survival, OS) 的显著改善。基于这项研究, tremelimumab 获得了 FDA 的优先审查权, 将有望成为第 2 个上市的 CTLA-4 单抗<sup>[10]</sup>。除上述药物外, 已有大量 CTLA-4 抗体药物进入临床及临床前研究阶段, 主要围绕单抗的疗效以及安全性两方面展开<sup>[11]</sup>。

早期观点认为, ipilimumab 通过介导空间位阻阻断 CTLA-4 与 CD80/CD86 结合, 从而促进 T 细胞活化, 进而发挥抗肿瘤作用<sup>[12]</sup>。然而, 近期的研究发现, 抗体依赖细胞介导的细胞毒作用 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) 或许是 ipilimumab 发挥抗肿瘤作用的主要机制。研究认为, 由 Fc 段引起的 ADCC 可靶向清除高表达 CTLA-4 的 Tregs, 从而解除 Tregs 带来的免疫抑制<sup>[13]</sup>。因此, 增强 Fc 介导的 ADCC 效应已成为 CTLA-4 单抗研发的重要方向。百时美施贵宝研发的新一代 CTLA-4 单抗 BMS-986249 对 ipilimumab 的 Fc 段进行了非岩藻糖基化改造, 以期通过增强 ADCC 效应以达到对 Tregs 的有效清除, 目前该药正处于 I/II 期临床研究阶段。

CTLA-4 单抗治疗所引起的免疫相关不良事件 (immune-related adverse events, irAEs) 是限制 ipilimumab 临床应用的重要原因。常见的不良反应包括腹泻、结肠炎、皮疹以及转氨酶升高等, 严重的可导致患者死亡<sup>[14]</sup>。其中, ipilimumab 的 3 级或 4 级不良反应的发生率在 10%~15%。由于 CTLA-4 主要表达于 Tregs 以及活化的 T 细胞, 其配体则主要表达于 APC 表面, 而在多数肿瘤细胞表面无表达或低表达, 靶向 CTLA-4 常引起免疫系统中广泛的 T 细胞活化, 由此引发 irAEs<sup>[15]</sup>。基于此, 新一

代 CTLA-4 单抗 BMS-986249 通过与屏蔽肽的偶联提高其对肿瘤组织的选择性, 从而减少 irAEs 的发生。此外, 研究发现, ipilimumab 引起的 CTLA-4 溶酶体途径降解也是导致 irAEs 发生的重要原因, CTLA-4 的大量降解会导致机体免疫耐受的破坏。因此, 减弱单抗药物对 CTLA-4 的溶酶体降解作用或许是减少 irAEs 的一个新策略<sup>[16]</sup>。此外, 与其他 ICIs 联用也得到了广泛研究<sup>[17-18]</sup>。由于 CTLA-4 单抗作用于抗肿瘤免疫的早期阶段且具有长效性的特点, 与作用于 T 细胞效应阶段的 PD-1/PD-L1 单抗联用可显著改善响应率并提高抗肿瘤疗效。

## 2 程序性死亡受体 1/程序性死亡受体配体 1 抑制剂

PD-1 是一种负性共刺激分子, 表达于活化的 T 细胞、自然杀伤细胞 (natural killer, NK) 和单核细胞表面。PD-L1 作为 PD-1 的配体, 与 T 细胞表面的 PD-1 结合后, 促使 PD-1 的免疫受体酪氨酸转换基序中的酪氨酸发生磷酸化, 随后招募含 Src 同源 2 结构域蛋白酪氨酸磷酸酶 2 (Src homology region 2-containing protein tyrosine phosphatase 2, SHP-2) 引起下游蛋白激酶脾酪氨酸激酶 (spleen tyrosine kinase, Syk) 和磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 去磷酸化, 抑制下游蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB, 又称 AKT) 和细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK) 等信号传导, 最终抑制 T 细胞活化所需基因及细胞因子的转录, 发挥负向调控 T 细胞活性的作用<sup>[5]</sup>。高表达 PD-L1 的肿瘤细胞能与肿瘤特异 T 细胞的 PD-1 结合, 抑制 T 细胞活化、增殖和细胞因子的产生, 介导肿瘤免疫逃逸。因此, 阻断 PD-1/PD-L1 信号通路能恢复 T 细胞免疫杀伤功能, 激活内源性抗肿瘤免疫反应, 从而发挥抗肿瘤作用<sup>[19]</sup>。

### 2.1 程序性死亡受体 1/程序性死亡受体配体 1 抗体药物及临床应用

临床应用的 PD-1/PD-L1 单抗通过阻断 PD-1 与 PD-L1 蛋白的结合, 重新激活 T 细胞对肿瘤的免疫应答, 达到抗肿瘤的效果。自 2012 年 PD-1 单抗在 I/II 期临床试验中表现出良好安全性和抗肿瘤疗效, 多项针对黑色素瘤、非小细胞肺癌和肾细胞癌

等恶性肿瘤的Ⅲ期临床试验相继开展。针对晚期黑色素瘤的Ⅲ期临床试验 CheckMate-066<sup>[20]</sup>中, 纳武单抗 (nivolumab) 治疗组 1 年生存率显著高于达卡巴嗪组 (73% vs 42%)。此外, 2 项 nivolumab 治疗非小细胞肺癌的Ⅲ期临床试验 (CheckMate-057, CheckMate-017) 显示, nivolumab 治疗与多西他赛

相比具有显著的临床受益。PD-1/PD-L1 抗体药物具有广泛的抗癌谱, 并且在部分肿瘤患者中表现出持久而强大的疗效。截至目前, 已有 10 种 PD-1 单抗和 3 种 PD-L1 单抗被批准用于非小细胞肺癌、黑色素瘤、头颈癌、结直肠癌和胃癌等 11 个癌种的治疗<sup>[5]</sup> (见表 1)。

表 1 免疫检查点抑制剂获批药物汇总表

Table 1 List of approved immune checkpoint inhibitors

靶点	药物	上市国家/地区	适应证
CTLA-4	ipilimumab	美国	黑色素瘤、结直肠癌、肾癌、非小细胞肺癌
	nivolumab	美国、欧盟、中国	皮肤癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、头颈癌、膀胱尿路上皮癌、结肠直肠癌、肝细胞癌、食管癌、胃癌等
PD-1	pembrolizumab	美国、欧盟、中国	皮肤癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肾细胞癌、霍奇金淋巴瘤、头颈癌、膀胱尿路上皮癌、结肠直肠癌、肝细胞癌、食管癌、胃癌、三阴性乳腺癌等
	cemiplimab	美国、欧盟	皮肤癌、非小细胞肺癌
	toripalimab	中国	皮肤癌、头颈癌、膀胱尿路上皮癌
	sintilimab	中国	非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤、肝细胞癌
	camrelizumab	中国	非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤、头颈癌、肝细胞癌、食管癌
	tislelizumab	中国	非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤、膀胱尿路上皮癌
	zimberelimab	中国	霍奇金淋巴瘤
	prolgolimab	俄罗斯	皮肤癌
	dostarlimab	美国、欧盟	子宫内膜癌
	PD-L1	atezolizumab	美国、欧盟、中国
durvalumab		美国、欧盟、中国	非小细胞肺癌、小细胞肺癌、膀胱癌
avelumab		美国、欧盟	皮肤癌、肾细胞癌、膀胱尿路上皮癌
LAG-3	relatlimab	美国	转移性黑色素瘤

CTLA-4: cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 (细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4); PD-1: programmed death-1 (程序性死亡受体 1); PD-L1: programmed death-ligand 1 (程序性死亡受体配体 1); LAG-3: lymphocyte activation gene-3 (淋巴细胞激活基因 3)

虽然 PD-1/PD-L1 抗体在多类恶性肿瘤中具有显著的抗肿瘤活性, 然而其在大部分肿瘤中应答率较低。PD-1 抗体单药仅在霍奇金淋巴瘤、增生性黑色素瘤以及错配修复缺陷 (mismatch repair deficiency, dMMR) 和微卫星高度不稳定 (microsatellite instability-high, MSI-H) 的肿瘤中具有高于 50% 的应答率, 而在大部分实体瘤中应答率仅为 15%~25%<sup>[21]</sup>。开发 PD-1/PD-L1 抗体联合策略, 是提高 PD-1/PD-L1 单抗治疗应答率的策略之一, 一方面可联合抑制导致 PD-1/PD-L1 抗体耐药的因素, 如抑制其他免疫检查点、异常血管生成、免疫抑制性细胞或细胞因子等; 另一方面能诱导免疫原性癌细胞死亡和增加免疫细胞浸润。当前, 联合 PD-1/PD-L1 疗法与其他抗肿瘤药物的临床试验正在广泛进行中, 包含其他免疫疗法 [其他 ICIs、溶瘤病毒、干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon

gene, STING) 激动剂以及嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T-Cell, CAR-T) 治疗等]、放射治疗、化学疗法和分子靶向治疗等<sup>[22]</sup>。然而, 目前 FDA 批准的 PD-1/PD-L1 联合策略仅限于与化学疗法、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 靶向药物以及 CLTA-4 单抗合用。ICIs 与化疗联用在非小细胞肺癌、小细胞肺癌和三阴性乳腺癌中已获得成功<sup>[23]</sup>。PD-L1 单抗联合 VEGF 靶向抑制剂被批准用于晚期肾细胞癌的治疗<sup>[24]</sup>。此外, PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 抑制剂的联合治疗可增加黑色素瘤、肾细胞癌、非小细胞肺癌和 MSI-H 结直肠癌的持久缓解, 已被应用于临床治疗中。

此外, 寻找有效预测 PD-1/PD-L1 单抗疗效的生物标志物对于筛选应答患者至关重要<sup>[25]</sup>。大量临床研究证实, 肿瘤细胞和 (或) 肿瘤相关免疫细胞

的PD-L1表达水平与免疫治疗疗效和预后密切相关。免疫组织化学检测PD-L1表达已被批准作为非小细胞肺癌、黑色素瘤和尿路上皮癌等多类肿瘤的生物标志物。此外, 临床研究显示肿瘤突变负荷 (tumor mutation burden, TMB) 可用于评估ICIs的疗效, 高TMB者接受PD-1/PD-L1抗体治疗有效率更高。存在dMMR或MSI-H的恶性肿瘤被证实具有更好的PD-1/PD-L1抗体疗效, 是结直肠癌免疫治疗的生物标志物。此外, 肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocyte, TIL), TIL衍生的干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、肠道菌群、致癌驱动突变和外周血指标 (外周免疫细胞、循环肿瘤细胞和可溶性PD-L1) 均表明与PD-1/PD-L1抗体疗效相关, 被认为是有效的候选生物标志物<sup>[25]</sup>。然而, 单一生物标志物用以预测PD-1/PD-L1抗体疗效仍存在显著的局限性, 整合多组学层面生物标志物将为ICIs疗效预测、动态监测和预后评估创造新的机遇。

PD-1/PD-L1抗体在临床治疗中也存在irAEs<sup>[26]</sup>。3级或4级irAEs的发生率为20%~32%。但其irAEs大多程度较轻, 常见为腹泻、皮肤瘙痒和急性肾损伤等。然而, 部分患者在治疗过程中会出现假性进展与超进展<sup>[27]</sup>等罕见事件, 甚至出现致死性不良反应, 如免疫间质性肺炎和严重的皮肤毒性等。目前irAEs的发生机制尚不明确, 可能与体内免疫细胞过度活跃、炎症性细胞因子增多以及自身免疫抗体增多相关。抗体药物半衰期较长、组织滞留时间久且具有免疫系统刺激也是导致irAEs发生的重要原因。加强irAEs的临床监管是当前有效避免irAEs限制免疫治疗开展的解决策略之一。此外, 通过生物标志物准确筛选敏感人群以避免不必要的irAEs将是另一有效的策略。

## 2.2 程序性死亡受体1/程序性死亡受体配体1小分子抑制剂研究进展

PD-1/PD-L1抗体在多类恶性肿瘤中具有显著的疗效, 但仍存在单抗药物生产成本昂贵、口服生物利用度差、肿瘤渗透性差以及免疫原性等问题。与大分子抗体药物相比, 小分子药物通常具有器官或肿瘤渗透性好、对免疫系统刺激小及可以口服等优点。因此寻找靶向PD-1/PD-L1的小分子抑制剂被

认为是克服抗体药物缺陷的重要途径<sup>[28]</sup>。

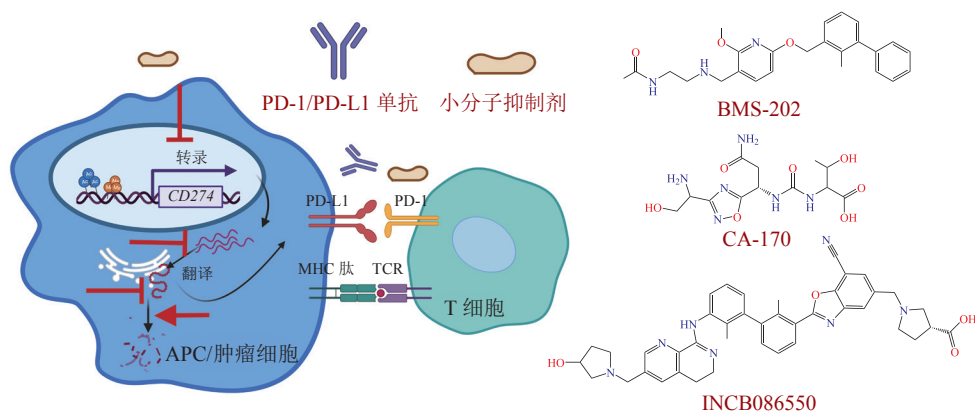
根据PD-1/PD-L1复合物的晶体结构, 开发直接阻断PD-1与PD-L1蛋白结合的小分子化合物是研发PD-1/PD-L1小分子抑制剂的主要策略之一。随着PD-1/PD-L1晶体结构的解析, 其相互作用模式以及关键位点被不断揭露, 为PD-1/PD-L1小分子抑制剂的发现提供了结构生物学基础 (见图2)。基于此, 磺酰胺类、联苯类、杂环类和噁二唑类等阻断PD-1/PD-L1结合的化合物被陆续研发, 并进行广泛的抗肿瘤临床前与临床研究<sup>[29]</sup>。AUNP-12作为首个PD-1/PD-L1通路的肽抑制剂, 在临床前研究中显著抑制了小鼠黑色素瘤以及乳腺癌的生长, 且没有显著毒性。此外, 以联苯为核心结构开发的一系列PD-1/PD-L1小分子抑制剂 (BMS-202, BMS-1001与BMS-1166等) 通过促进并结合二聚化的PD-L1导致PD-1/PD-L1无法发生相互作用。CA-170是一款口服PD-1与VISTA的双重小分子抑制剂。研究显示, CA-170在非小细胞肺癌和霍奇金淋巴瘤中总体临床受益率分别为70%和77.8%, 且生物安全性明显优于抗体药物<sup>[30]</sup>。另一种PD-L1小分子抑制剂INCB086550的I期临床试验结果显示, INCB086550治疗组患者的客观缓解率 (objective response rate, ORR) 为11.8%, 疾病控制率 (disease control rate, DCR) 为19.1%。此外, 其他的PD-1/PD-L1小分子抑制剂, 如GS-4224, ASC61, MAX-10181和IMMH-010正在临床试验中。

PD-1/PD-L1小分子抑制剂开发的另一策略是基于PD-L1的表达调控机制, 采用小分子化合物对关键环节进行干预, 从而抑制其表达或促进其降解<sup>[31]</sup>。目前已报道的小分子抑制剂主要干预了以下几个环节: 1) 表观遗传调控, 组蛋白甲基转移酶抑制剂、zeste基因增强子同源物2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2) 的药理学抑制剂与组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 抑制剂等被报道通过改变CD274启动子区甲基化或乙酰化水平从而调控PD-L1的水平, 并在多种小鼠模型中增强了PD-1/PD-L1抗体的疗效。目前, 多类表观遗传药物与ICIs的组合正在开展临床研究<sup>[32]</sup>。2) 转录调控, 表皮生长因子受体 (epithelial growth factor

receptor, EGFR)、PI3K-AKT、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、Janus 激酶-信号转导子和转录激活子 (Janus kinase-signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT) 信号通路以及细胞性骨髓细胞瘤病毒癌基因 (cellular-myelocytomatosis viral oncogene, c-Myc) 与溴结构域蛋白 4 (bromodomain-containing protein 4, BRD4) 等转录因子是调控 *CD274* 活性的关键因子<sup>[19]</sup>。因此, 基于上述信号通路或转录因子的抑制剂均报道可调控多类肿瘤细胞中 PD-L1 的表达, 并在动物模型中增强单抗的疗效。3) 转录后调控, MAPK 通路抑制剂和人类抗原 R (human antigen R, HuR) 抑制剂被报道通过不同的富含 AU 元件 (AU-rich element, ARE) 结合蛋白干预 PD-L1 mRNA 的稳定性。此外, tomivosertib 通过抑制真核起始因子 4E (eukaryotic initiation factor 4E, eIF4E) 磷酸化从而抑制 PD-L1 翻译<sup>[33]</sup>。在 II 期临床试验中, 联合 tomivosertib 治疗使 41% 的非小细胞肺癌患者在 24 周内无疾病进展。4) 翻译后修饰调控, N-糖基化被报道对于 PD-L1 蛋白的稳定性至关重要。KYA1797K 或依托泊苷靶向  $\beta$ -联蛋白可抑制寡糖基转移酶活性亚基 STT3 表达, 从而降

低结肠癌和三阴性乳腺癌小鼠模型中 PD-L1 N-糖基化和表达<sup>[34]</sup>。此外, 二甲双胍和 A-769662 激活腺苷酸活化蛋白激酶 [adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK] 使 PD-L1 发生磷酸化降解, 并增强 CTLA-4 单抗的抗肿瘤疗效。E3 泛素连接酶斑点型锌指结构蛋白 (speckle-type POZ protein, SPOP),  $\beta$ -转导重复相容蛋白 ( $\beta$ -transducin repeat-containing protein,  $\beta$ -TrCP) 以及去泛素化酶 COP9 信号复合体 (COP9 signalosome, CSN) 第 5 亚基参与 PD-L1 的泛素化降解<sup>[35]</sup>。基于此, 周期蛋白依赖性激酶 4/6 (cyclin-dependent kinases 4/6, CDK4/6) 抑制剂以及姜黄素等诱导 PD-L1 泛素化降解, 并在小鼠模型中增敏 ICIs 治疗。

虽然 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂具有巨大的抗肿瘤潜力, 但目前尚无小分子抑制剂被批准用于临床治疗。由于 PD-1/PD-L1 相互作用界面较大且小分子结合口袋小, 小分子抑制剂结合位点的发现以及结合能力的评估面临挑战, 研发 PD-1/PD-L1 小分子抑制剂因成药性和毒性问题仍进展缓慢。此外, 不同肿瘤存在 PD-L1 表达和调控机制的异质性, 针对 PD-L1 表达调控的小分子抑制剂的研究仍处于早期阶段, 需要更多的临床研究进一步明确其作用。



PD-1: programmed death-1 (程序性死亡受体 1); PD-L1: programmed death-ligand 1 (程序性死亡受体配体 1); TCR: T cell receptor (抗原特异性 T 细胞受体); MHC: major histocompatibility complex (主要组织相容性复合体); APC: antigen-presenting cell (抗原呈递细胞)

图 2 程序性死亡受体 1/ 程序性死亡受体配体 1 及抑制剂作用模式图

Figure 2 Mode of action for PD-1/PD-L1 and their inhibitors

### 3 淋巴细胞激活基因 3 抑制剂

LAG-3 是继 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 后, 又一重要的免疫检查点。LAG-3 表达于各种淋巴细胞

表面, 其与 CD4 结构相似, 且与 MHC II 的亲合能力更强<sup>[36]</sup>, 能与肽-MHC II 复合物稳定结合, 抑制 T 细胞活化<sup>[4]</sup>。此外, 纤维蛋白原样蛋白 1

(fibrinogen-like protein 1, FGL1) 也被发现是 LAG-3 的配体。LAG-3 的阻断或缺失可增强小鼠的抗肿瘤免疫。研究发现, 在接受 PD-1 单抗治疗的荷瘤小鼠中, 其 TIL 表面 LAG-3 存在代偿性上调, 联合使用 PD-1 与 LAG-3 抗体具有协同的抗肿瘤作用<sup>[37]</sup>。此外, 阻断 FGL1-LAG-3 相互作用也可以增强肿瘤免疫, 抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长<sup>[38]</sup>。

目前, 靶向 LAG-3 的疗法主要有 2 种形式: 1) 输送可溶性二聚体 LAG-3 作为辅助治疗; 2) 使用抗体阻断 LAG-3 与其配体的相互作用, 并与 PD-1 阻断治疗相结合。可溶性二聚体 LAG-3 将其的 4 个胞外 Ig 结构域与人 IgG1 的 Fc 部分融合, 其能与 APC 上 MHC II 结合, 促进 CD8<sup>+</sup> T 细胞活化<sup>[39]</sup>。在 I 期临床研究中, IMP321 (可溶性 LAG-3 蛋白) 与流感疫苗共同注射具有较好的安全性, 并提高了疫苗免疫原性, 进一步激活了 T 细胞<sup>[40]</sup>。IMP321 与其他抗肿瘤疗法联合用于实体瘤已开展了一系列临床研究, 显示可增强免疫反应和抗肿瘤活性<sup>[41]</sup>。此外, LAG-3 抗体还可以抑制 Tregs 的免疫抑制活性。Relatlimab 是首个临床开发的 LAG-3 单抗。在 II 期临床试验中, 单独使用 relatlimab 的抗肿瘤效果有限, 而将其与多种 ICIs 联用可以提高抗肿瘤疗效。Relatlimab 与 nivolumab 联合用于黑色素瘤治疗能延长患者的无进展生存期 (progression-free survival, PFS), 是 nivolumab 单药组的 2 倍 (10.1 个月 vs 4.6 个月)<sup>[6]</sup>。FDA 已批准 nivolumab 和 relatlimab 联合用于治疗患有不可切除或转移性黑色素瘤的成人和儿童患者。另一个 LAG-3 单抗 LAG525 与 spartalizumab (PD-1 单抗) 联合的 I/II 期临床试验结果表明, 联用组患者具有良好的耐受性, 并且相对于 PD-1 单抗组, 联用组具有更高比例的 6 个月或更长时间的疾病稳定期 (6.6% vs 4.5%)<sup>[42]</sup>。目前还有多种 LAG-3 抗体处于临床试验阶段, 如 GSK2831781, HLX26 和 Sym022。

尽管 LAG-3 抗体单一疗法安全性良好, 但因其配体和作用机制的多样性, LAG-3 单一疗法无法发挥良好的抗肿瘤作用。目前多项临床研究显示 LAG-3 与 PD-1/PD-L1 单抗的联用策略在疗效与安全性上具有很大的应用前景。LAG-3 与配体以及抗

体药物结合的结构域的不断明晰将促进阐明 LAG-3 调节 T 细胞活性的机制, 并为开发靶向 LAG-3 药物提供理论基础<sup>[43]</sup>。

## 4 新型免疫检查点抑制剂

### 4.1 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白 3 抑制剂

TIM-3 也是一种负性共刺激分子, 广泛表达于多种免疫细胞中。目前 TIM-3 共发现有 4 个配体, 包括半乳糖凝集素 9 (galectin9, Gal-9)、癌胚抗原相关细胞黏附分子 1、高迁移率族蛋白 B1 和磷脂酰丝氨酸, 其中 Gal-9 是 TIM-3 的主要配体。TIM-3 通过与 Gal-9 结合, 介导 TIM-3<sup>+</sup> T 细胞功能障碍和 T 细胞耗竭<sup>[44]</sup>。给予 TIM-3 抗体不仅可以增加先天性抗肿瘤活性, 如增加 NK 细胞 IFN- $\gamma$  的分泌和树突状细胞 (dendritic cell, DC) 趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 9 [chemokine (C-X-C motif) ligand 9, CXCL-9] 的释放等<sup>[45]</sup>, 还能通过促进 T 细胞分泌 IFN- $\gamma$ , 提高 T 细胞抗肿瘤免疫<sup>[46]</sup>。临床前研究显示, 抗 TIM-3 治疗在多种小鼠模型中具有抗肿瘤作用。在小鼠结肠癌模型中, 肿瘤细胞分泌的 Gal-9 可以诱导肿瘤浸润 TIM-3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 细胞凋亡, 而给予 TIM-3 抗体能有效减少其凋亡, 并延缓肿瘤的生长<sup>[47]</sup>。

目前, 靶向 TIM-3 的抗体药物 Sym023, INCAGN2390 和 LY3321367 作为单一疗法正在开展用于晚期实体瘤和淋巴瘤的临床试验 (NCT03489343, NCT03652077, NCT04443751)。LY3321367 单药在 I 期临床试验中表现出良好的安全性, 但抗肿瘤活性有限<sup>[45]</sup>。此外, 研究表明 PD-1 抗体耐药性的产生与 TIM-3 上调有关。一项 TIM-3 抗体与 PD-1 抗体联合治疗晚期实体瘤的临床试验显示, 联用组在耐受性良好的同时也显示出了更好的抗肿瘤活性<sup>[48]</sup>。目前正在广泛开展 TIM-3 抗体与 PD-1 抗体联合治疗的研究。

尽管大量的临床前和临床研究表明 TIM-3 是一个有潜力的免疫检查点, 但仍有问题亟待解决。例如, 由于 TIM-3 在多类细胞中广泛表达, 其抗体的全身应用可能会带来严重的不良反应, 因此需要研发出能特异性靶向 TILs 中 TIM-3 的抗体药物。此外, TIM-3 抗体的抗肿瘤免疫疗效也有待进一步确证。

与其他 ICIs 的联合使用是 TIM-3 抗体当前最主要的应用策略, 但其仍处于早期研究阶段, 寻找有效的生物标志物来提高合用的有效性具有关键性意义。

#### 4.2 分化簇 47 抑制剂

CD47 在机体细胞中普遍表达, 并在多种类型的实体瘤和血液系统肿瘤细胞中存在过度表达。CD47 对于肿瘤免疫的调控主要是通过通过与配体信号调节蛋白  $\alpha$  (signal regulatory protein  $\alpha$ , SIRP $\alpha$ ) 相互作用, 抑制巨噬细胞对肿瘤细胞的清除。肿瘤细胞上表达的 CD47 与巨噬细胞上的 SIRP $\alpha$  相互作用, 向巨噬细胞发出“不要吃我”信号, 从而逃避巨噬细胞对肿瘤的监控。因此, CD47-SIRP $\alpha$  被认为是肿瘤吞噬检查点信号<sup>[49]</sup>。在临床前研究中, CD47 抗体在多类实体瘤和血液系统肿瘤中都具有抗肿瘤活性, 卵巢癌、乳腺癌和结肠癌接种的荷瘤小鼠的肿瘤生长均被 CD47 抗体抑制<sup>[50]</sup>。

目前针对 CD47 的药物研发主要包括 3 个方面: 1) 靶向 CD47, 在实体瘤 I 期临床试验中, Hu5F9-G4 (CD47 人源化抗体) 的耐受性良好, 且该试验中有 2 名患者的疾病稳定期分别为 5.2 和 9.2 个月<sup>[51]</sup>。2) 靶向 SIRP $\alpha$ , 在 BI765063 (SIRP $\alpha$  人源化抗体) 的 I 期临床研究中, BI765063 显示出了单药治疗活性, 并在 1 名晚期肝癌患者中具有持久的部分缓解。3) 靶向肿瘤细胞 CD47 分子的 SIRP $\alpha$ -Fc 融合蛋白<sup>[49]</sup>, 融合蛋白既通过 SIRP $\alpha$  区段中和抑制 CD47 吞噬的信号, 也可以通过 Fc 区与巨噬细胞上 Fc 受体结合进而促进吞噬作用的激活<sup>[52]</sup>; 一项 I 期临床研究显示, TTI-621 (SIRP $\alpha$ -Fc 融合蛋白) 在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤和 T 细胞非霍奇金淋巴瘤中总体反应率分别为 29% 和 25%, 并具有良好的耐受性<sup>[53]</sup>。

CD47 被认为是具有潜力的免疫检查点, 但靶向 CD47 的治疗方案存在一定的不良反应。例如, 由于 CD47 在衰老红细胞和血小板上普遍表达, CD47 抗体的临床治疗常出现贫血与血小板减少症。目前有多种策略用以改善其不良反应, 包括将导致红细胞大量消耗的 IgG1 型 CD47 抗体转换为 Fc 受体结合能力低的 IgG4 型; 由于 SIRP $\alpha$  不在红细胞上表达, SIRP $\alpha$  靶向抗体能有效阻断 CD47 与

SIRP $\alpha$  的结合, 并且避免由于 CD47 在衰老红细胞和血小板中表达而导致 CD47 靶向抗体产生的血液毒性。同时, 为提高 CD47 抗体的疗效, 目前正在广泛开展 CD47 抗体与其他 ICIs 联用的临床试验, 仍有待进一步的研究确认。

#### 4.3 T 细胞免疫球蛋白和 ITIM 结构域抑制剂

TIGIT 主要表达于 T 细胞和 NK 细胞, 3 个配体分别是 CD155, CD112 和 CD113<sup>[54]</sup>。其中, TIGIT 与 CD155 的结合亲和力高于 CD112 和 CD113。TIGIT 与 CD155 结合会抑制 T 细胞和 NK 细胞活性, 并导致 DC 抗原呈递减少、抗炎细胞因子分泌减少, 从而导致 T 细胞活化受损。研究发现, TIGIT 抗体单药不足以抑制小鼠肿瘤的生长<sup>[55]</sup>, 但在肿瘤形成之前使用 TIGIT 单抗可以延缓肿瘤的形成与转移<sup>[56]</sup>。此外, 研究表明 TIGIT 单抗与 PD-1/PD-L1 单抗联用能增强 TIGIT 单抗的抗肿瘤作用<sup>[55]</sup>。

目前, 已有多个 TIGIT 抑制剂进入临床研究, 但均未获批上市。其中, 只有 4 个 TIGIT 抗体进入了 III 期临床试验, 包括 tiragolumab, vibostolimab, ociperlimab 和 domvanalimab。Tiragolumab 是目前研发进展最快的 TIGIT 抗体, 然而, 不久前的一项 III 期临床试验结果显示 tiragolumab 联合阿替利珠单抗 (atezolizumab) 相较于单药组未能显著延长非小细胞肺癌患者的 PFS。此外, TIGIT 抗体 vibostolimab, 可通过阻断 TIGIT 与其配体 CD112 和 CD155 之间的相互作用, 从而激活 T 淋巴细胞, 发挥抗肿瘤作用。TIGIT 抗体 domvanalimab 在治疗非小细胞肺癌的早期临床试验中联合 PD-1 抗体而疗效增强, 正在开展 III 期临床试验。Ociperlimab (BGB-A1217) 是宫颈癌治疗临床研究中最重要的 TIGIT 单抗之一。Ociperlimab 保留了 Fc 效应功能, 可有效抑制肿瘤生长, 且联合 tislelizumab 可更好地达到抑制肿瘤的效果。

#### 4.4 T 细胞活化的 V 结构域免疫球蛋白抑制因子抑制剂

VISTA 与 PD-L1 和 PD-L2 具有一定的同源性, 高度表达于髓源性抑制细胞以及免疫细胞。此外, VISTA 也被发现高度表达于人类肺癌、肾癌和结直肠癌等多类肿瘤中。目前, VISTA 已确认有 2 个具

有免疫抑制功能的结合配体: V-set 和含免疫球蛋白白结构域蛋白 3 (V-set and immunoglobulin domain containing 3, VSIG3) 和 P 选择素糖蛋白配体 1 (P-selectin glycoprotein ligand 1, PSGL-1)<sup>[57]</sup>。在生理 pH 下, VISTA 与 VSIG3 相互作用; 在酸性 pH 下, 表达 VISTA 的细胞可与 T 细胞上的 PSGL-1 结合。这 2 种相互作用都会抑制 T 细胞功能<sup>[58]</sup>。大多数有效的 VISTA 治疗的模型都依赖于组合方法。在结肠癌小鼠模型中 VISTA 和 PD-L1 联合治疗, 成功导致所有小鼠的肿瘤消退且长期存活, 治愈率远大于任一单一疗法<sup>[59]</sup>。

虽然靶向 VISTA 的抗体在多种临床前肿瘤模型中具有显著的治疗效果, 但目前尚无批准上市的抗体药物。VISTA 单抗 W-0180 (K01401-020) 尚处于 I 期临床试验阶段, 其在 pH 6~7.4 时与 VISTA 结合, 可破坏肿瘤中 PSGL-1 和 VISTA 之间的相互作用。另一个 VISTA 单抗 HMBD-002, 以高亲和力和特异性结合人和鼠 VISTA 蛋白。在 CT26 小鼠模型中, HMBD-002 治疗对肿瘤进展产生了显著的抑制作用, 对肿瘤生长的抑制率大于 60%, 且未观察到毒性。此外, HMBD-002 与 PD-L1 单抗的联用比任一单一疗法更有效, 特别是在有大量髓源性抑制细胞浸润的肿瘤中。

## 5 讨论

过去 10 年来, ICIs 快速发展并被获批用于多类恶性肿瘤的治疗。虽然 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 抑制剂展现出显著的疗效, 但由于肿瘤微环境的复杂性和肿瘤的异质性, 当前 ICIs 总体治疗的有效率较低, 并且部分 ICIs 疗法存在不良反应。为了提高对免疫疗法的反应性, 研发基于新型免疫检查点的 ICIs 以及针对多个免疫检查点的双特异性抗体用于癌症治疗是当前的一大研究热点。双特异性抗体能同时靶向 2 个不同的抗原, 作用于 2 种协同或互补的信号通路, 对表达 2 个靶点的肿瘤组织亲和力增加, 能有效增强 ICIs 的抗肿瘤免疫作用和降低 ICIs 的耐药性。目前已研发了多种针对不同免疫检查点的双特异性抗体, 如抗 PD-1/TIM-3、抗 PD-L1/TIGIT 和抗 PD-1/CTLA-4 等, 大量临床试验正在评估其安全性

和疗效。

此外, 靶向新型免疫检查点包括共抑制受体 (LAG-3, TIM-3 和 CD47 等)、共刺激受体 [糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体相关蛋白 (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor-related protein, GITR) 和肿瘤坏死因子受体超家族成员 4 (tumor necrosis factor receptor superfamily member 4, TNFRSF4, 又称 OX40) 等] 以及其他潜在靶点 [吲哚胺 2,3-双加氧酶 (indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO) 和 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 等] 的药物具有巨大的应用前景。目前, 大量 ICIs 正在开展临床前和临床研究, 然而仅有很少的药物获批上市, 新型 ICIs 的抗肿瘤作用仍有待临床试验确证。此外, 新型 ICIs 的研发仍存在许多挑战: 1) 部分检查点蛋白结构尚未完全解析, 如 LAG-3 和 VISTA, 这增加了研发靶向小分子抑制剂的难度; 2) 部分免疫检查点配体/受体识别尚不明确, 如 VISTA 和 B7-H3, 配体/受体的准确识别将是充分了解免疫检查点疗效潜力的关键; 3) 部分免疫检查点作用机制尚不明晰, 存在多种作用机制或双面性, 如 LAG-3 和 VISTA, 明确免疫检查点在肿瘤微环境中的作用机制将为 ICIs 的开发提供研究基础。目前部分临床研究表明这些新型 ICIs 单独使用不足以发挥强效的抗肿瘤作用, 免疫疗法的合理联用能最大程度实现抗肿瘤免疫的协同作用。

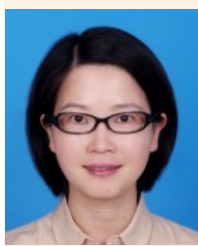
生物标志物能有效协助预测 ICIs 治疗的有效性。PD-L1 和 dMMR/MSI-H 是目前批准用于临床指征 PD-1/PD-L1 抗体疗效的生物标志物, 其他潜在的预测性生物标志物仍需要更多的临床研究证据支持。然而, 单一生物标志物用以预测疗效仍存在显著的局限性, 结合基因组、转录组、免疫特征分析和微生物组等多组学分析是更综合的预测性标志物。此外, 近几年液体活检生物标志物的发现为精准指导免疫治疗提供了实时监测的可能性。当前, 多种 ICIs 联用是肿瘤免疫治疗的一大研究热点, 未来的研究需找到能有效预测 ICIs 疗效和毒性的生物标志物, 并结合药效学参数来优化其方案和新的联合手段。

## 【参考文献】

- [1] Puleo J, Polyak K. A darwinian perspective on tumor immune evasion[J/OL]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2022, 1877(1): 188671[2022-10-19]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304419X21001694?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.bbcan.2021.188671.
- [2] Jiang X, Wang J, Deng X, et al. Role of the tumor microenvironment in PD-L1/PD-1-mediated tumor immune escape[J/OL]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 10[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6332843/>. DOI: 10.1186/s12943-018-0928-4.
- [3] Qureshi O S, Zheng Y, Nakamura K, et al. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4[J]. *Science*, 2011, 332(6029): 600–603.
- [4] Maruhashi T, Sugiura D, Okazaki I M, et al. Binding of LAG-3 to stable peptide-MHC class II limits T cell function and suppresses autoimmunity and anti-cancer immunity[J]. *Immunity*, 2022, 55(5): 912–924. e918.
- [5] Yi M, Zheng X, Niu M, et al. Combination strategies with PD-1/PD-L1 blockade: current advances and future directions[J/OL]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 28[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8780712/>. DOI: 10.1186/s12943-021-01489-2.
- [6] Tawbi H A, Schadendorf D, Lipson E J, et al. Relatlimab and nivolumab versus nivolumab in untreated advanced melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(1): 24–34.
- [7] Kennedy A, Waters E, Rowshanravan B, et al. Differences in CD80 and CD86 transendocytosis reveal CD86 as a key target for CTLA-4 immune regulation[J/OL]. *Nat Immunol*, 2022[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9477731/>. DOI: 10.1038/s41590-022-01289-w.
- [8] Zhao Y, Lee C K, Lin C H, et al. PD-L1: CD80 cis-heterodimer triggers the co-stimulatory receptor CD28 while repressing the inhibitory PD-1 and CTLA-4 pathways[J]. *Immunity*, 2019, 51(6): 1059–1073. e1059.
- [9] Korman A J, Garrett-Thomson S C, Lonberg N. The foundations of immune checkpoint blockade and the ipilimumab approval decennial[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(7): 509–528.
- [10] Llovet J M, Castet F, Heikenwalder M, et al. Immunotherapies for hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(3): 151–172.
- [11] Lingel H, Brunner-Weinzierl M C. CTLA-4 (CD152): a versatile receptor for immune-based therapy[J/OL]. *Semin Immunol*, 2019, 42: 101298[2022-10-19]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044532319300156?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.smim.2019.101298.
- [12] Wang Y, Zhang H, Liu C, et al. Immune checkpoint modulators in cancer immunotherapy: recent advances and emerging concepts[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 111[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9386972/>. DOI: 10.1186/s13045-022-01325-0.
- [13] Arce Vargas F, Furness A J S, Litchfield K, et al. Fc effector function contributes to the activity of human anti-CTLA-4 antibodies[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(4): 649–663. e644.
- [14] Bertrand A, Kostine M, Barnette T, et al. Immune related adverse events associated with anti-CTLA-4 antibodies: systematic review and meta-analysis[J/OL]. *BMC Med*, 2015, 13: 211[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4559965/>. DOI: 10.1186/s12916-015-0455-8.
- [15] Boutros C, Tarhini A, Routier E, et al. Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies alone and in combination[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(8): 473–486.
- [16] Zhang Y, Du X, Liu M, et al. Hijacking antibody-induced CTLA-4 lysosomal degradation for safer and more effective cancer immunotherapy[J]. *Cell Res*, 2019, 29(8): 609–627.
- [17] Ferris R L, Haddad R, Even C, et al. Durvalumab with or without tremelimumab in patients with recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma: eagle, a randomized, open-label phase 3 study[J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(7): 942–950.
- [18] Powles T, van der Heijden M S, Castellano D, et al. Durvalumab alone and durvalumab plus tremelimumab versus chemotherapy in previously untreated patients with unresectable, locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (danube): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(12): 1574–1588.
- [19] Yi M, Niu M, Xu L, et al. Regulation of PD-L1 expression in the tumor microenvironment[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 10[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7792099/>. DOI: 10.1186/s13045-020-01027-5.
- [20] Robert C, Long G V, Brady B, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(4): 320–330.
- [21] Ribas A, Wolchok J D. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade[J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1350–1355.
- [22] Upadhaya S, Nefelino S T, Hodge J P, et al. Combinations take centre stage in PD-1/PD-L1 inhibitor clinical trials[J]. *Nat Rev Drug Discov*,

- 2021, 20(3): 168–169.
- [23] Li Z Q, Yan H C, Gu J J, *et al.* Comparative efficacy and safety of PD-1/PD-L1 inhibitors versus platinum-based chemotherapy for the first-line treatment of advanced non-small cell lung cancer: a meta analysis of randomized controlled trials[J/OL]. *Pharmacol Res*, 2020, 160: 105194[2022-10-19]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661820315024?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.105194.
- [24] Lalani A A, McGregor B A, Albiges L, *et al.* Systemic treatment of metastatic clear cell renal cell carcinoma in 2018: current paradigms, use of immunotherapy, and future directions[J]. *Eur Urol*, 2019, 75(1): 100–110.
- [25] Ren D, Hua Y, Yu B, *et al.* Predictive biomarkers and mechanisms underlying resistance to PD-1/PD-L1 blockade cancer immunotherapy[J/OL]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 19[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6993488/>. DOI: 10.1186/s12943-020-1144-6.
- [26] Ramos-Casals M, Brahmer J R, Callahan M K, *et al.* Immune-related adverse events of checkpoint inhibitors[J/OL]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 38[2022-10-19]. <https://www.nature.com/articles/s41572-020-0160-6>. DOI: 10.1038/s41572-020-0160-6.
- [27] Kim C G, Kim K H, Pyo K H, *et al.* Hyperprogressive disease during PD-1/PD-L1 blockade in patients with non-small-cell lung cancer[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(7): 1104–1113.
- [28] Wang T, Wu X, Guo C, *et al.* Development of inhibitors of the programmed cell death-1/programmed cell death-ligand 1 signaling pathway[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(4): 1715–1730.
- [29] Pan C, Yang H, Lu Y, *et al.* Recent advance of peptide-based molecules and nonpeptidic small-molecules modulating PD-1/PD-L1 protein-protein interaction or targeting PD-L1 protein degradation[J/OL]. *Eur J Med Chem*, 2021, 213: 113170[2022-10-19]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523421000192?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113170.
- [30] Yang Y, Wang K, Chen H, *et al.* Design, synthesis, evaluation, and SAR of 4-phenylindoline derivatives, a novel class of small-molecule inhibitors of the programmed cell death-1/ programmed cell death-ligand 1 (PD-1/PD-L1) interaction[J/OL]. *Eur J Med Chem*, 2021, 211: 113001[2022-10-19]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223-5234\(20\)30973-9](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223-5234(20)30973-9). DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.113001.
- [31] Cha J H, Chan L C, Li C W, *et al.* Mechanisms controlling PD-L1 expression in cancer[J]. *Mol Cell*, 2019, 76(3): 359–370.
- [32] Hogg S J, Beavis P A, Dawson M A, *et al.* Targeting the epigenetic regulation of antitumour immunity[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(11): 776–800.
- [33] Xu Y, Poggio M, Jin H Y, *et al.* Translation control of the immune checkpoint in cancer and its therapeutic targeting[J]. *Nat Med*, 2019, 25(2): 301–311.
- [34] Ruan Z, Liang M, Lai M, *et al.* Kya1797k down-regulates PD-L1 in colon cancer stem cells to block immune evasion by suppressing the  $\beta$ -catenin/STT3 signaling pathway[J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 78: 106003[2022-10-19]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576919316790?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.106003.
- [35] Hu X, Wang J, Chu M, *et al.* Emerging role of ubiquitination in the regulation of PD-1/PD-L1 in cancer immunotherapy[J]. *Mol Ther*, 2021, 29(3): 908–919.
- [36] Maruhashi T, Sugiura D, Okazaki I M, *et al.* LAG-3: from molecular functions to clinical applications[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e001014 [2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7488795/>. DOI: 10.1136/jitc-2020-001014.
- [37] Lecocq Q, Awad R M, De Vlaeminck Y, *et al.* Single-domain antibody nuclear imaging allows noninvasive quantification of LAG-3 expression by tumor-infiltrating leukocytes and predicts response of immune checkpoint blockade[J]. *J Nucl Med*, 2021, 62(11): 1638–1644.
- [38] Wang J, Sanmamed M F, 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. e312.
- [39] Sauer N, Szlasa W, Jonderko L, *et al.* LAG-3 as a potent target for novel anticancer therapies of a wide range of tumors[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17): 9958[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9456311/>. DOI: 10.3390/ijms23179958.
- [40] Brignone C, Grygar C, Marcu M, *et al.* IMP321 (SLAG-3) safety and T cell response potentiation using an influenza vaccine as a model antigen: a single-blind phase 1 study[J]. *Vaccine*, 2007, 25(24): 4641–4650.
- [41] Atkinson V, Khattak A, Haydon A, *et al.* Eftilagimod alpha, a soluble lymphocyte activation gene-3 (LAG-3) protein plus pembrolizumab in patients with metastatic melanoma[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e001681 [2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7682474/>. DOI: 10.1136/jitc-2020-001681.
- [42] Schoffski P, Tan D S W, Martin M, *et al.* Phase 1/2 study of the LAG-3 inhibitor ieramilimab (LAG525)<sup>±</sup> anti-PD-1 spartalizumab

- (PDR001) in patients with advanced malignancies[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(2): e003776 [2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8883259/>. DOI: 10.1136/jitc-2021-003776.
- [43] Ming Q, Celiás D P, Wu C, *et al.* LAG-3 ectodomain structure reveals functional interfaces for ligand and antibody recognition[J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(7): 1031–1041.
- [44] Solinas C, De Silva P, Bron D, *et al.* Significance of TIM-3 expression in cancer: from biology to the clinic[J]. *Semin Oncol*, 2019, 46(4): 372–379.
- [45] Harding J J, Moreno V, Bang Y J, *et al.* Blocking TIM-3 in treatment-refractory advanced solid tumors: a phase 1a/b study of LY3321367 with or without an anti-PD-L1 antibody[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(8): 2168–2178.
- [46] Pang N, Alimu X, Chen R, *et al.* Activated galectin-9/TIM-3 promotes treg and suppresses Th1 effector function in chronic lymphocytic leukemia[J/OL]. *FASEB J*, 2021, 35(7): e21556[2022-10-19]. <https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1096/fj.202100013R>. DOI: 10.1096/fj.202100013R.
- [47] Kang C W, Dutta A, Chang L Y, *et al.* Apoptosis of tumor infiltrating effector TIM-3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T cells in colon cancer[J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 15659[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4616166/>. DOI: 10.1038/srep15659.
- [48] Curigliano G, Gelderblom H, Mach N, *et al.* Phase 1/1b clinical trial of sabatolimab, an anti-TIM-3 antibody, alone and in combination with spartalizumab, an anti-PD-1 antibody, in advanced solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(13): 3620–3629.
- [49] Logtenberg M E W, Scheeren F A, Schumacher T N. The CD47-SIRP $\alpha$  immune checkpoint[J]. *Immunity*, 2020, 52(5): 742–752.
- [50] Willingham S B, Volkmer J P, Gentles A J, *et al.* The CD47-signal regulatory protein  $\alpha$  (SIRP $\alpha$ ) interaction is a therapeutic target for human solid tumors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(17): 6662–6667.
- [51] Sikic B I, Lakhani N, Patnaik A, *et al.* First-in-human, first-in-class phase 1 trial of the anti-CD47 antibody Hu5F9-G4 in patients with advanced cancers[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(12): 946–953.
- [52] Johnson L D S, Banerjee S, Kruglov O, *et al.* Targeting CD47 in sézary syndrome with sirpafc[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(7): 1145–1153.
- [53] Ansell S M, Maris M B, Lesokhin A M, *et al.* Phase 1 study of the CD47 blocker TTI-621 in patients with relapsed or refractory hematologic malignancies[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(8): 2190–2199.
- [54] O'Donnell J S, Madore J, Li X Y, *et al.* Tumor intrinsic and extrinsic immune functions of CD155[J/OL]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 65: 189–196[2022-10-19]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044579X19304031?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.11.013.
- [55] Dixon K O, Schorer M, Nevin J, *et al.* Functional anti-TIGIT antibodies regulate development of autoimmunity and antitumor immunity[J]. *J Immunol*, 2018, 200(8): 3000–3007.
- [56] Zhang Q, Bi J, Zheng X, *et al.* Blockade of the checkpoint receptor tigit prevents NK cell exhaustion and elicits potent anti-tumor immunity[J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(7): 723–732.
- [57] Xie X, Chen C, Chen W, *et al.* Structural basis of VSIG3: the ligand for VISTA[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 625808[2022-10-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8027081/>. DOI: 10.3389/fimmu.2021.625808.
- [58] 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.
- [59] Liu J, Yuan Y, Chen W, *et al.* Immune-checkpoint proteins VISTA and PD-1 nonredundantly regulate murine T-cell responses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(21): 6682–6687.



**【专家介绍】**丁玲：浙江大学药学院副教授，博士生导师，研究方向为肿瘤药理，主要研究肿瘤免疫特性的调控机制、化疗对肿瘤免疫特性的影响及提高肿瘤化疗敏感性的干预策略。主持5项国家自然科学基金项目及多项省部级项目，在 *The Journal of Clinical Investigation*, *Cell Research*, *Cancer Immunology Research*, *Journal of Biological Chemistry* 等杂志发表SCI论文20余篇，单篇引用最高达200多次，授权3项发明专利。