

· 前沿与进展 ·

ADVANCES IN
PHARMACEUTICAL SCIENCES



诱导肿瘤发生免疫原性细胞死亡的疗法研究进展

卞正颖, 许卓, 唐铁军, 郭薇*

(中国药科大学生命科学与技术学院, 江苏 南京 210009)

[摘要] 激活机体的适应性抗肿瘤免疫应答对于长期的抗肿瘤疗效具有重要意义。放射治疗和某些化疗药物等不仅可以诱导细胞凋亡, 还可以诱导肿瘤细胞免疫原性细胞死亡 (ICD)。发生 ICD 的肿瘤细胞释放损伤相关分子模式 (DAMPs), 招募抗原呈递细胞吞噬加工肿瘤细胞抗原, 并进一步激活 T 细胞适应性免疫应答。因此, 将 ICD 诱导剂应用到肿瘤治疗中, 对于改善癌症患者预后、延长患者生存期具有重要意义。综述 ICD 的分子标记以及 ICD 诱导剂研究进展, 为 ICD 诱导剂的临床应用提供参考。

[关键词] 免疫原性细胞死亡; 内质网应激; 化疗; 放射治疗; 联合治疗

[中图分类号] R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2021) 02-0119-11

Advances of Research on Therapies for Inducing Tumor Immunogenic Cell Death

BIAN Zhengying, XU Zhuo, TANG Tiejun, GUO Wei

(School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] It is fundamental to activate systemic immune response for long-term anti-tumor efficacy *in vivo*. Radiotherapy and chemotherapy can not only induce apoptosis, but also immunogenic cell death (ICD) of tumor cells. Once tumor cells undergo ICD, dying cells release damage-related molecular patterns (DAMPs), which then recruit antigen-presenting cells to engulf and process tumor cell antigens, and further activate adaptive immune response. Therefore, the application of ICD inducers in tumor therapy is of great significance for improving the prognosis and prolonging survival of cancer patients. This article reviews the biomarkers of ICD and the research progress of ICD inducers to provide reference for the clinical application of ICD inducers.

[Key words] immunogenic cell death; endoplasmic reticulum stress; chemotherapy; radiotherapy; combination therapy

传统抗肿瘤化疗药物的设计, 旨在抑制肿瘤生长、发育和增殖, 通常具有较高的细胞毒性和较低的靶向性, 易引起多种副作用, 产生耐药性, 对于一些恶性程度高的中晚期肿瘤治疗效果不佳。一些化疗药物引起的细胞死亡是非免疫原性的, 死亡的肿瘤细胞可被机体清除而不激活免疫反应, 是一种耐受性过程, 从而无法产生长效的抗肿瘤效果^[1-2]。然而, 在临床研究发现, 某些化疗药物如蒽环类药物、奥沙利铂等不仅能够诱导肿瘤细胞凋亡, 而

且能够引起肿瘤患者瘤内细胞毒性 CD8⁺T 细胞增多、调节性 T 细胞 (T regulatory cells, Treg) 减少^[3-4], 产生适应性免疫应答。动物模型研究显示, 蒽环类药物或奥沙利铂在免疫完全小鼠中的抗肿瘤效果好于免疫缺陷小鼠, 说明这种适应性免疫应答的激活依赖于机体免疫系统的作用^[5-6]。蒽环类药物和奥沙利铂这类化疗药物, 能够诱导肿瘤细胞死亡, 并且激活机体免疫系统来对抗死细胞抗原, 赋予死亡的肿瘤细胞免疫原性, 这一过程称为免疫原性细胞死亡 (immunogenic cell death, ICD)。当细胞发生 ICD, 将死的细胞产生新的抗原表位并释放损伤相关分子模式 (damage associated molecular patterns, DAMPs), 招募抗原呈递细胞, 识别、吞噬死细胞抗原, 并将其呈递给 T 细胞, 激活适应性免疫应答

接受日期: 2020-06-11

项目资助: 国家自然科学基金 (No. 81573444)

*** 通讯作者:** 郭薇, 副教授;

研究方向: 生物大分子药物, 肿瘤免疫;

Tel: 025-83271544; **E-mail:** guowei1205@cpu.edu.cn

识别并清除肿瘤抗原, 从而产生长效的抗肿瘤免疫效应^[7]。因此, 将 ICD 诱导剂合理、安全地应用到肿瘤治疗中, 对于激活机体抗肿瘤免疫, 产生长远的抗肿瘤效果具有重要意义。本文就 ICD 的分子标记以及目前临床前或临床研究中潜在的 ICD 诱导剂研究进展进行综述, 以期对新型 ICD 诱导剂的研发及其临床应用提供参考。

1 免疫原性细胞死亡的分子标记

1.1 未折叠蛋白反应相关分子标记

内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是蛋白质合成、折叠、运输以及储存钙离子的主要场所。当 ER 中蛋白质加工发生错误时, 为了快速发现并准确应对这些错误, 维持 ER 稳态, 产生进化保守的适应性机制, 称为未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR)^[8]。适当的 UPR 能够维持细胞稳态, 促进细胞存活, 而过度激活的 UPR 则会引起 ER 应激。ICD 是一种促炎性细胞死亡, 发生 ICD 的关键是产生持续的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和 ER 应激。ICD 引起的 ER 应激伴随着免疫刺激因子以及 DAMPs 的释放, 与固有免疫细胞表面的模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 结合, 刺激免疫系统产生肿瘤相关抗原特异性 T 细胞, 进一步诱导肿瘤细胞死亡以及免疫记忆的建立。

ICD 前期, ER 分子伴侣钙网蛋白 (calreticulin, CRT) 转位至细胞膜表面, 作为 “eat me” 信号, 被吞噬细胞表面的 CD91 受体识别, 并促进树突状细胞 (dendritic cell, DC) 成熟, 刺激 DC 吞噬将死的肿瘤细胞^[9-10]。萘环类药物和奥沙利铂诱导的 ICD, 其 CRT 转位由蛋白激酶 R 样内质网激酶 (protein kinase R-like ER kinase, PERK) 磷酸化介导, 随后引起真核细胞起始因子 2 α (eukaryotic initiation factor 2 α , eIF2 α) 磷酸化, CRT 从 ER 转运至高尔基体, 最终以可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感性因子附着型的蛋白受体 (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor, SNARE) 依赖的方式转位到细胞膜表面^[10]。此外, 其他胞质伴侣分子, 如热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70)、HSP90 也可外翻至细胞膜表面, 作为 “eat me” 信号^[11]。

ICD 前期、早期、中期, 将死的肿瘤细胞通过自噬途径分泌三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 到胞外。ATP 作为一种 “find me” 信号, 在细胞外环境中, 与抗原递呈细胞 (antigen presentation cells, APCs) 上的离子型 (P2X7) 和代谢型 (P2Y2) 嘌呤受体结合, 刺激 APCs 成熟和趋化诱导^[12-14]。细胞外 ATP 可激活半胱天冬酶 1 (caspase1) 依赖的炎症小体 NLRP3 复合物促进白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 分泌, 进而促进 CD8⁺ T 细胞以及 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞产生 IL-17, 诱导抗肿瘤免疫反应^[14]。

ICD 晚期, 将死的肿瘤细胞释放高迁移率族蛋白 1 (high mobility group box, HMGB1), HMGB1 是一种非组蛋白染色质结合蛋白。细胞凋亡晚期, HMGB1 从细胞核中释放出来与 DC 上的 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 的结合, 激活 DC 并促进 DC 向 T 细胞呈递抗原。TLR4 结合 HMGB1 后触发了 TLR4/MyD88 信号通路, 通过抑制吞噬体和溶酶体之间的融合来增强肿瘤抗原, 并加速 DC 对抗原成分的吞噬^[5, 15]。

CRT 转位、HMGB1 释放和 ATP 分泌被认为是 ICD 发生的 3 个必要条件^[5, 12, 16]。此外, ER 应激引起的胞内相关信号通路激活, 也可作为 ICD 的分子标记。临床研究发现, 使用萘环类药物治疗急性髓系白血病, 促使肿瘤细胞需肌醇酶 1 α (inositol-requiring enzyme-1 α , IRE1 α) 二聚化和磷酸化, 产生核酸内切酶活性, 剪切 X 盒结合蛋白 1 (X-box binding protein 1, XBP1) 形成 XBP1 剪切体 XBP1s 和 XBP1u, 其中 XBP1s 可作为急性髓系白血病患者预后良好的指标^[17]。

1.2 干扰素相关分子标记

一些 ICD 诱导剂还可以激活 TLR3 信号通路, 产生 I 型干扰素 (interferon, IFN), 增加死亡细胞免疫原性, 通过与肿瘤细胞上的 IFN- α/β 受体结合, 触发分泌和旁分泌途径, 导致趋化因子配体 10 (CXCL10) 的释放, 有助于抗肿瘤免疫应答^[18]。

近年来, 研究显示干扰素刺激基因 (stimulator of interferon genes, STING) 信号通路的激活, 能够产生有效的抗肿瘤免疫应答。一些 ICD 诱导剂能够

通过激活 STING 信号通路, 诱导适应性抗肿瘤免疫。DNA 拓扑异构酶 II 抑制剂替尼泊苷 (teniposide) 能够诱导肿瘤细胞 ICD, 并通过激活 STING 依赖的固有免疫信号通路, 增强抗程序性细胞死亡蛋白-1 (programmed death-1, PD-1) 免疫治疗的有效性^[19]。

2 免疫原性细胞死亡诱导剂的分类及作用机制

目前, ICD 诱导剂分为 I 型 ICD 诱导剂和 II 型 ICD 诱导剂, 目前临床和临床前研究中已报道的 I 型 ICD 诱导剂和 II 型 ICD 诱导剂如表 1 所示。I 型 ICD 诱导剂诱导肿瘤细胞非 ER 靶向的凋亡, 引起温和的 ER 应激以及 ICD 相关的免疫原性分子释放;

II 型 ICD 诱导剂选择性靶向 ER, 通过 ROS 依赖的 ER 应激释放危险信号和凋亡信号^[8]。大多数临床抗肿瘤药物, 如蒽环类药物、奥沙利铂、硼替佐米、环磷酰胺以及放射治疗 (下称放疗), 均属于 I 型 ICD 诱导剂。金丝桃素光动力疗法、溶瘤病毒疗法等属于 II 型 ICD 诱导剂。I 型和 II 型 ICD 诱导剂分别在细胞凋亡的不同阶段发挥作用。在细胞凋亡前期, II 型 ICD 诱导剂相比于 I 型 ICD 诱导剂, 能够引起更剧烈的 ER 应激反应和高水平的 ROS, 并且释放更多的 DAMPs, 有助于抗肿瘤免疫应答^[7]。但是, 这一长期的持续性反应促进自身调节性炎症循环以及肿瘤基质降解, 导致肿瘤细胞转移^[20]。

表 1 I 型和 II 型肿瘤免疫原性细胞死亡诱导剂及其作用机制

Table 1 Inducers of type I and type II Immunogenic cell death and their mechanisms

ICD 诱导剂	DAMPs	诱导细胞死亡的靶标	作用机制	参考文献	
I 型 ICD 诱导剂	米托蒽醌和蒽环类药物	ecto-CRT、ERp57、ATP、HSP70、HMGB1	细胞核 (DNA 或 DNA 复制相关蛋白)	<ul style="list-style-type: none"> 插入 DNA 和抑制 DNA 拓扑异构酶 II, 发挥细胞生长抑制和细胞毒性作用 凋亡细胞会释放 ATP 充当“find me”信号, 将单核细胞和巨噬细胞募集到细胞凋亡部位 垂死的肿瘤细胞释放的 ATP 刺激 DC 上的嘌呤受体 P2X7, 引起细胞内 K⁺ 流出和 NALP3-ASC 炎性小体的活化, 驱动 caspase-1 介导的 pro-IL1β 成熟和 IL-1β 分泌 蒽环类药物诱导 IL-17 产生的 $\gamma\delta$T 淋巴细胞 ($\gamma\delta$T17 细胞) 	[12-13, 16, 20-22]
	奥沙利铂	ecto-CRT、ERp57、ATP、HSP70、HMGB1	细胞核 (DNA 或 DNA 复制相关蛋白)	<ul style="list-style-type: none"> 与 DNA 的相互作用形成 DNA 加合物, DNA 加合物抑制转录, 抑制错配修复机制 诱导 DC 的成熟 	[23]
	环磷酰胺	ecto-CRT、HMGB1	细胞核 (DNA)	<ul style="list-style-type: none"> 刺激趋化因子及其配体的表达增加 刺激免疫细胞产生细胞因子, 促进 Th2 向 Th1 转化 	[24]
	紫草素	ecto-CRT、HSP70、ecto-GRP78	胞浆 (肿瘤特异性丙酮酸激酶 M2 蛋白, 蛋白酶体的 20S 亚基)	<ul style="list-style-type: none"> 促进 DC 的表型和功能成熟, 进而刺激 T 细胞 促进 T 细胞向 Th17 细胞的分化 恢复 NK 细胞的细胞毒性 提高 CTL 活性 NF-κB 信号的下调, 减少促肿瘤细胞因子的产生 	[25-27]
	7A7 (EGFR 特异性抗体)	ecto-CRT、ERp57、HSP70、HSP90	细胞表面 (EGFR)	<ul style="list-style-type: none"> 抑制肿瘤细胞生长并诱导其 G₀/G₁ 期同步化 高浓度时诱导肿瘤细胞凋亡 引起 DC 的表型成熟 增加 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞和 DC 对肿瘤的浸润 	[28-29]
	硼替佐米	HSP90	胞浆 (26S 蛋白酶体或内质网相关降解机制, 癌性抑制因子 2A)	<ul style="list-style-type: none"> 产生 NK 细胞和 CD8⁺T 细胞抑制肿瘤生长 促进肿瘤细胞和 DC 抗原交叉呈递, 负载肿瘤抗原的 DC 诱导 T 细胞中 IFNγ 的产生 	[30-33]
	强心苷	ecto-CRT、ATP、HMGB1	细胞表面 (Na ⁺ , K ⁺ -ATP 酶)	<ul style="list-style-type: none"> 参与了 SRC 激酶-EGFR-MAPK 通路, 导致肿瘤细胞生长停滞 抑制 DNA 拓扑异构酶和糖酵解, 促进细胞凋亡 与其他化疗药物 (如丝裂霉素 C 或顺铂) 联合使用时, 才能在体内触发 ICD 	[34-35]
	紫外线照射 (UVC)	ecto-CRT、ERp57、ATP、HSP70、HMGB1	细胞核 (DNA 或 DNA 复制相关蛋白)	<ul style="list-style-type: none"> CD8⁺T 细胞和 NK 细胞介导的肿瘤生长抑制 经 UVC 处理的肿瘤细胞可刺激 DC 吞噬作用和成熟, 刺激产生 IFNγ 的 CD8⁺T 细胞 经 UVC 处理的肿瘤细胞刺激的 DC 抗原加工和促炎细胞因子产生 	[36-37]
	放射疗法	ecto-CRT、ERp57、ATP、HSP70、HMGB1	细胞核 (DNA 或 DNA 复制相关蛋白)	<ul style="list-style-type: none"> 诱导 DNA 损伤, 诱导肿瘤细胞凋亡 DAMPs 释放, 刺激 DC, 局部大剂量放疗增加了肿瘤浸润 DC 的数量 放疗可以诱导 ICD, 激活 DC, 使肿瘤中 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞浸润增加, 抑制 T_{reg} 	[38-39]
	高静水压 (HHP)	ecto-CRT、ATP、HMGB1、HSP70、HSP90	细胞蛋白质	<ul style="list-style-type: none"> 刺激 DC 吞噬作用 表达高水平的共刺激分子, 刺激大量的肿瘤特异性 T 淋巴细胞产生 	[40]

续表 1

ICD 诱导剂	DAMPs	诱导细胞死亡的靶标	作用机制	参考文献	
II 型 ICD 诱导剂	金丝桃素光动力疗法 (Hyp-PDT)	ecto-CRT、ATP、ecto-HSP70、HSP90	内质网	<ul style="list-style-type: none"> • 金丝桃素主要定位于内质网, 照射后引起 Phox-ER 应激和不同 UPR 信号通路的激活, 最终导致基于 Bax/BAK 的线粒体凋亡 • 抑制促肿瘤细胞因子的信号传导 NF-κB 激活 • 抑制肿瘤细胞衍生的肿瘤促进细胞因子, 例如 TNF, IL-6 和 GM-CSF • 抑制促进肿瘤转移的癌源性 MMP9 的分泌 	[41-45]
	柯萨奇病毒 B3	ecto-CRT、ATP、HMGB1	内质网	<ul style="list-style-type: none"> • 诱导 ER 应激 • 增加肿瘤内血管的数量 • 增加 CD8⁺T 淋巴细胞的数量 	[46-47]
	Pt ^{II} N-杂环卡宾配合物	ecto-CRT、ATP、HMGB1	内质网	<ul style="list-style-type: none"> • 通过 PERK 激活诱导 ER 应激反应 	[48]

CRT: 钙网蛋白; HSP: 热休克蛋白; HMGB1: 高迁移率族蛋白 B1; EGFR: 表皮生长因子受体; NK 细胞: 自然杀伤细胞; CTL: 细胞毒性 T 淋巴细胞; NF- κ B: 核因子- κ B; TNF: 肿瘤坏死因子; GM-CSF: 粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子; MMP9: 基质金属蛋白酶 9; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶

2.1 化疗药物

化疗药物对免疫系统的影响涉及免疫应答多个环节, 其作用广泛、机制复杂。近年来研究显示化疗药物作为 ICD 诱导剂的巨大潜力。下文对目前临床用作 ICD 诱导剂的几种化疗药物进行介绍。

2.1.1 蒽环类药物 蒽环类药物包括蒽二酮 (米托蒽醌等) 和蒽吡唑 (阿霉素、表阿霉素、柔红霉素等) 已经用于治疗小儿肉瘤、白血病等。蒽环类药物主要通过嵌入 DNA 双链碱基、抑制 DNA 拓扑异构酶 II 发挥细胞毒性作用。2005 年, 阿霉素作为首个 ICD 诱导剂被报道^[49], 阿霉素诱导的有别于凋亡的细胞死亡表现出 ICD 的特征, 例如 DAMPs 释放, 包括凋亡前期 CRT 转位、凋亡早期 ATP 分泌、凋亡中晚期 HSP70 释放以及凋亡晚期 HMGB1 释放。

蒽环类药物诱导的 ER 应激反应依赖于 CRT 转位^[10,41] 和 ATP 释放^[50]。垂死的肿瘤细胞释放的 ATP 与 DC 上的嘌呤受体 P2X7 结合, 引起细胞内 K⁺ 外流和炎症小体 NALP3 活化, 驱动 caspase1 介导的 IL-1 分泌。蒽环类药物处理的肿瘤细胞, 通过自分泌和旁分泌途径产生 I 型 IFN, 诱导细胞死亡^[6]。此外, 蒽环类药物诱导产生 IL-17 的 $\gamma\delta$ T 细胞在肿瘤部位积累, 先于细胞毒性 T 细胞在肿瘤部位的聚集^[51]。

有研究显示, 阿霉素-脂质体-微泡复合物可增强阿霉素诱导的 ICD。该复合物诱导肿瘤细胞凋亡增多, CRT 暴露和 DAMPs 释放增加, 同时进一步促进 DC 成熟^[52]。此外, 有研究表明, 阿霉素与 DC 疫苗联合使用可增强抗肿瘤免疫应答。经 DC 疫

苗和阿霉素处理的小鼠转移瘤内 CD8⁺ T 淋巴细胞数量增加, 血清 IFN- γ 水平升高, 肿瘤转移生长受到抑制^[53]。

蒽环类药物是一类有效的 ICD 诱导剂, 但其因为副作用大而受限于临床应用。因此目前需要寻找能够诱导 ICD 并且副作用小的治疗方案。

2.1.2 环磷酰胺 环磷酰胺是最广泛使用的烷化剂之一, 用于治疗血液系统和实体恶性肿瘤。环磷酰胺具有显著的免疫调节活性, 最显著的是其抑制 Treg 的能力, 从而消除肿瘤微环境中的免疫抑制^[54]。环磷酰胺还可以诱导表现出 ICD 的特征, 包括细胞表面标记的改变和可溶性 DAMPs 的释放^[7], 导致肿瘤特异性免疫反应的激活。

2.1.3 硼替佐米 蛋白酶体抑制剂硼替佐米于 2003 年被 FDA 批准, 并推荐作为多发性骨髓瘤患者的一线治疗药物。将硼替佐米处理的肿瘤细胞与 DC 共孵育, 负载抗原的 DC 可以诱导 T 细胞产生 IFN- γ , 在硼替佐米处理的肿瘤细胞中加入 HSP90 抑制剂会减少产生 IFN- γ 的 T 细胞的数量^[55]。硼替佐米作为一种 ICD 诱导剂, 其作用机制有待进一步研究。

2.1.4 基于铂的化疗药物 基于铂的化疗药物, 在肿瘤临床治疗中至关重要。奥沙利铂可直接诱导肿瘤细胞发生 ICD, 而顺铂则需要额外的诱导剂来激活其免疫原性^[56]。2 种铂药物均可触发 CRT 转位以及 HSP70、ATP 和 HMGB1 的释放, 但奥沙利铂是已被确定的 ICD 诱导药物。奥沙利铂通过靶向核 DNA 来阻止 DNA 合成, 抑制转录, 并且抑制错配修复机制^[57]。体外研究显示, 将 DC 与奥沙利铂共孵育

会导致 DC 细胞程序性死亡受体配体 1 (programmed death receptor ligand 1, PD-L1) 表达增加, 从而抑制 T 细胞增殖^[58]。这一现象表明将奥沙利铂与抗 PD-L1 抗体联合用于癌症治疗, 可以启动有效的抗肿瘤免疫应答。

近年来还发现其他基于铂 (Pt) 的化合物具有 ICD 诱导剂的特征, Pt^{II}N-杂环卡宾配合物显示 II 型 ICD 诱导剂的特征, 即诱导氧化应激、CRT 暴露以及 HMGB1、ATP 释放, 被鉴定为首个小分子免疫-化学治疗剂。Pt-NHC 是另一种独特的环金属复合物, 它选择性地定位于 ER, 并通过 PERK 诱导 ER 应激反应^[59]。最近发现新型铂基化合物 R, R-1, 2-环己二胺焦磷酸铂 (II) (PT-112) 可诱发 ICD, 临床研究表明, PT-112 与 PD-L1 免疫检查点抑制剂具有协同作用^[60]。免疫原性或免疫刺激性 Pt 候选化合物为基于铂的联合免疫化疗药物的研发提供可能。

2.1.5 天然药物化学成分 强心苷 (cardiac glycoside, CG) 是一类天然衍生化合物大家族, 其结构多样, 但具有共同的母核结构。CG 是 I 型 ICD 诱导剂, 在 Na⁺/K⁺-ATP 酶的 α 亚单位有一个主要靶点^[61]。特定 α 亚基的过表达与肿瘤细胞反应性之间存在相关性^[62]。CG 抑制 Na⁺/K⁺-ATP 酶, 增加细胞内 Na⁺ 和 Ca²⁺ 水平, 同时耗尽细胞内 K⁺, 细胞内高水平的 Na⁺ 阻断了 Na⁺/Ca²⁺ 交换器的逆向转运蛋白活性, 有利于 Ca²⁺ 在 ER 和线粒体内的积累。这会导致轻微的 ER 或线粒体应激反应, 影响肿瘤细胞的增殖和活性。有证据表明, CG 参与了 SRC 激酶-EGFR-MAPK 通路 (伴随着线粒体 ROS 的产生), 导致肿瘤细胞生长停滞^[61]。此外, CG 抑制 DNA 拓扑异构酶活性和糖酵解途径也证明 CG 的促凋亡作用^[34]。

紫草素是从中药紫草中分离出来的萘醌类化合物, 是蛋白酶活性的抑制剂。紫草素抑制蛋白酶体的 20S 亚单位, 导致多泛素化蛋白的积累, 紫草素处理的肿瘤细胞通过诱导的线粒体应激触发 ICD, 诱导 HSP70、HSP90 和 HMGB1 的释放。紫草素处理的肿瘤细胞裂解物可促进 DC 的分化和成熟^[27]。紫草素处理的肿瘤细胞可以促进 T 细胞向 Th17 细胞的分化, 这对于 ICD 相关的抗肿瘤免疫十分重要; 此外, 紫草素恢复了自然杀伤细胞

(natural killer cell, NK) 的杀伤作用, 有研究表明用负载紫草素处理的肿瘤细胞的 DC 免疫小鼠脾细胞, 该脾细胞中细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 活性提高^[63]。

汉黄芩素是黄芩中发现的一种黄酮类化合物。汉黄芩素已被证明通过触发 ER 应激反应, 导致依赖于 PERK/AKT 的 CRT 和膜联蛋白 A1 (annexin A1) 暴露在细胞膜上, 从而诱导 ICD^[64]。汉黄芩素通过诱导 HMGB1 和 ATP 的释放, 随后激活 DC 并诱导促炎细胞因子的释放, 进而产生强大的抗肿瘤免疫效应^[64]。

近年来, 随着肿瘤免疫治疗在临床应用中取得重大突破, 化疗药物与肿瘤免疫治疗的联合疗法也迎来了新的契机。

2.2 放疗

在临床应用中发现, 放疗可诱导 DNA 损伤和肿瘤细胞凋亡, 也可诱导肿瘤细胞原位 ICD 并刺激 T 细胞介导的抗肿瘤效应。放疗可选择性杀死照射范围内的肿瘤细胞。越来越多的证据表明, 放疗可以利用宿主的免疫系统攻击非照射部位的肿瘤细胞。这种免疫驱动作用不仅有助于消除疾病局部照射部位的肿瘤, 也可以消除远端转移的肿瘤细胞, 这一现象被称为远位效应 (abscopal effects)。放疗触发 ICD, 导致 CRT 易位至细胞表面且释放 HMGB1 和 ATP 之类的 DAMPs, 并在体外和体内诱导 T 细胞产生 IFN- γ , 促进 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤作用^[65]。

临床上, 放疗以剂量依赖性方式诱导肿瘤细胞 ICD, 通常 2~20 Gy 能够有效诱导 ICD^[66]。局部放疗联合免疫检查点抑制剂, 例如抗细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte antigen 4, CTLA4) 或抗 PD-1, 能够利用放疗的促免疫原性作用。此外, 放疗联合某些化疗药物也可有效诱导 ICD, 但是化疗药物可能抵消放疗的免疫原性, 因此需要进一步评估这些药物在放疗中的具体作用。

放疗和抗肿瘤免疫的未来研究的目标是利用免疫系统完全消除肿瘤或使肿瘤细胞永久保持休眠^[67]。目前研究着重于能激发 ICD 的宿主、肿瘤类型与治

疗相关的特征, 有助于个体化治疗, 并以合理的方式指导放疗与化学疗法, 以及免疫检查点抑制剂或相关共刺激受体激动剂结合的治疗方案的选择。

2.3 光动力疗法

光动力疗法 (photodynamic therapy, PDT) 是一种微创治疗方法^[68], 可引起 II 型 ICD 免疫反应。PDT 是肿瘤组织选择性摄取光敏剂, 并通过特定波长的光激活, 产生氧化应激反应, 导致位于光敏剂作用部位的肿瘤细胞被破坏^[69]。

目前该领域研究最深入的能诱导 ICD 的光敏剂是金丝桃素, 是一种葱醌衍生物, 能靶向定位于 ER, 经照射后引起 ER 应激和 UPR 信号通路的激活, 最终导致细胞死亡^[42]。金丝桃素介导的光动力学疗法 (hypericin-mediated photodynamic therapy, Hyp-PDT) 还可以抑制肿瘤细胞核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 活性。在一定剂量下, Hyp-PDT 可以下调肿瘤细胞衍生的肿瘤促进细胞因子; 此外, Hyp-PDT 还能够抑制基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP-9) 的分泌, 从而抑制肿瘤转移^[43]。

目前已知的诱导 ICD 的光敏剂有金丝桃素、5-丙氨酸^[70]、孟加拉玫瑰醋酸酯^[71]、糖结合氯^[72]、酞菁类^[73]等, 许多光敏剂正被不断的开发和研究, 因此基于 PDT 的 ICD 诱导剂具有广阔的研究前景。

2.4 溶瘤病毒疗法

病毒可以诱导和阻断多种细胞死亡途径。包膜病毒需要膜蛋白和脂质才能产生后代病毒。因此, 病毒会诱发 ER 应激和 UPR。溶瘤病毒 (oncolytic virus, OV) 可诱导细胞死亡, 类似于化学疗法诱导的 ICD。OVs 通过产生病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 和释放肿瘤相关抗原 (tumor associated antigens, TAAs) 来产生促炎反应, 因此可作为一种原位肿瘤疫苗。多种 OV 诱导的细胞死亡表现出 ICD 的典型特征, 包括 CRT 的表面表达增加, 细胞外 ATP 和 HMGB1 的水平升高。每种病毒与宿主 UPR 之间的相互作用是复杂的, 对此研究尚不完善, 因此还需要更深入的研究。

Talimogene laherparepvec (T-VEC) 是一种 I

型单纯疱疹病毒, 可表达粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), 目前在美国和欧洲被批准用于治疗黑色素瘤。研究表明, 体外感染 T-VEC 后, 黑色素瘤细胞释放 HMGB1、ATP 增加, CRT 的表面表达增加。同时发现, 黑色素瘤细胞对 T-VEC 的敏感性与 STING 表达呈负相关。研究表明, 溶瘤性 HSV-1 可以使 STING 低表达的肿瘤消退。因此, T-VEC 有可能通过在 STING 缺陷型肿瘤中表达 STING 以介导抗肿瘤反应^[74]。

此外, 柯萨奇病毒 B3^[46-47]、牛痘病毒^[75]均可诱导 ICD。柯萨奇病毒 B3 是一种 RNA 病毒, 它在宿主细胞的胞浆中复制, 扰乱动态平衡, 导致细胞死亡, 大量未折叠或错误折叠的病毒被膜蛋白在 ER 积聚, 诱导 ER 应激。感染柯萨奇病毒 B3 后, 非小细胞肺癌 (nonsmall cell lung cancer, NSCLC) 细胞 CRT 转位增加, ATP 和 HMGB1 增加。柯萨奇病毒 B3 还可以通过增加肿瘤内血管的数量、CD8⁺ T 细胞的数量来增强肿瘤微环境的免疫原性, 柯萨奇病毒 B3 孵育后的裸鼠肿瘤的分析显示, 肿瘤内巨噬细胞、DC、粒细胞和 NK 细胞积聚, 炎性免疫细胞在肿瘤部位的浸润增多, 有助于肿瘤消退^[46-47]。

OVs 是新型的免疫疗法, 可在实体瘤内复制, 并干扰免疫系统。OVs 优先在肿瘤细胞中复制, 同时可以通过基因修饰, 以灭活干扰病毒蛋白并且引起 ER 应激或激活 ROS 信号通路, 以实现诱导 ICD^[76]。

2.5 新型 ICD 诱导剂

近年来, 研究发现了一些新的手段与 ICD 诱导剂结合, 以引发广泛的抗肿瘤反应, 新型 ICD 诱导剂如表 2 所示。

低温等离子体 (non-thermal plasmas, NTP) 具有诱导 ICD 的潜力, 有研究显示, NTP 处理的 CT26 结直肠癌细胞, 主要组织相容性复合物 I 类分子 (major histocompatibility complex I, MHC I) 和 CRT 的表面表达增加。NTP 诱导细胞产生的 ROS 和一氧化氮可以迅速改变细胞的氧化状态, 并诱导 ER 应激。NTP 作为一种独特的 ROS 和一氧化氮递送系统可成功诱导肿瘤细胞 ICD, 是一种潜在的癌

症辅助疗法。NTP 诱导的 ICD 的具体机制须深入研究, 并进一步优化治疗方案。此外, 免疫疗法是当今癌症治疗的重大突破, NTP 或可与化疗甚至治疗性癌症疫苗相结合^[85]。纳米颗粒包裹的阿霉素、光

敏剂二氢卟吩 e6 可以有效刺激 DC 细胞募集, 有助于 DC 更好地暴露和传播 TAA^s^[86]。结合化疗、PDT 与免疫疗法, 为癌症治疗提供新的思路。

表 2 新型肿瘤免疫原性细胞死亡诱导剂及其作用机制

Table 2 Novel inducers of tumor immunogenic cell death and their mechanisms

ICD 诱导剂	DAMPs	作用机制	参考文献
RIG-I 类解旋酶	ecto-CRT、ERp57、ATP、HSP70、HMGB1	<ul style="list-style-type: none"> • 促炎 I 型干扰素的表达 • MHC-I 分子和 CD95 的上调 • CRT 转位到细胞表面 • HMGB1 和 HSP70 的释放 • 促进 DC 成熟 • 促进 CD8⁺DC 有效吞噬凋亡的肿瘤细胞 	[77]
溶瘤肽 RT53 和 LTX-315	ecto-CRT、ATP、HMGB1	<ul style="list-style-type: none"> • caspase 和 eIF2α 依赖的途径触发 CRT 暴露 • ATP 和 HMGB1 释放 • T 细胞浸润增加 	[78-79]
纳米脉冲刺激	ecto-CRT、ATP、HMGB1	<ul style="list-style-type: none"> • 刺激 caspase3/7 的激活 • 激活免疫应答 	[80]
溶瘤病毒	ecto-CRT、ATP、HMGB1	<ul style="list-style-type: none"> • 增加分泌 IFN-γ 的 HER-2 特异性 CD8⁺TIL 的数量 • 增加肿瘤抗原特异性 CD8⁺T 细胞的瘤内浸润 	[81-82]
杂化蛋白氧纳米载体	ecto-CRT、ATP、HMGB1	<ul style="list-style-type: none"> • 促进 DC 的成熟 • T 淋巴细胞、NK 细胞和 TDLNs 的激活 	[83]
近红外光免疫治疗	ecto-CRT、ATP、HMGB1、HSP70、HSP90	<ul style="list-style-type: none"> • 促进 DC 的成熟 • 激活宿主抗肿瘤免疫反应 	[84]

HER-2: 人表皮生长因子受体 2; TIL: 肿瘤浸润淋巴细胞; TDLNs: 肿瘤引流淋巴结

维甲酸诱导基因 I 类 (retinoic acid inducible gene I, RIG-I) 解旋酶可通过产生 IFN 来诱导抗病毒应答程序, 其激活的肿瘤细胞释放高水平的 HMGB1, 此外, 其在肿瘤细胞中的信号传导可导致线粒体氧化应激^[77]。

许多新型疗法也通过诱导肿瘤细胞产生 ICD, 促进抗肿瘤免疫反应。研究显示, LTX-315、RT53 等溶瘤肽可诱导肿瘤细胞产生 ICD, 释放大量的 DAMPs, 这些 DAMPs 类似于肿瘤原位疫苗, 促进肿瘤消退以及 T 细胞在肿瘤部位的浸润^[78-79]。相较于传统放疗, 纳米脉冲刺激 (NPS) 是一种有效的非热物理疗法, 该疗法是用超短电脉冲刺激肿瘤细胞, 抑制肿瘤生长, 其作用机制是诱导肿瘤细胞 caspase3/7 激活, DAMPs (包括 CRT、ATP 和 HMGB1) 释放增加^[80]。杂化蛋白氧纳米载体疗法是一种氧自足光动力疗法, 将光敏剂和氧气共同靶向递送至肿瘤细胞, 诱导了肿瘤细胞 ICD, 并释放了 DAMPs, 在转移性乳腺癌模型中, 杂化蛋白氧纳米载体疗法诱导抗肿瘤免疫, 破坏原发性肿瘤并有效抑制远端肿瘤和肺转移瘤^[83]。其他物理疗法, 如近红外光免疫疗法, 也显示出诱导 ICD 的潜力^[87]。

3 结语

目前, 临床和临床前研究显示, 传统放疗、化疗和免疫疗法等多种手段在临床应用中均可作为诱导 ICD 的治疗方法, 同时诱导 ICD 的药物处理的肿瘤细胞可作为疫苗在体内诱发保护性的抗肿瘤免疫反应。判断一种分子 / 药物诱导肿瘤细胞 ICD 的金标准是体内疫苗接种实验 (vaccination assay), 即在无佐剂的情况下, ICD 诱导剂处理的肿瘤细胞注射到免疫完全小鼠体内, 能够引起小鼠抗原适应性免疫应答, 并能够保护小鼠免受同类型肿瘤的攻击^[2]。此过程的关键是杀伤的肿瘤细胞能够引起机体产生抗原特异性抗肿瘤免疫反应。肿瘤细胞产生的 DAMPs, 如钙网蛋白、HSP70、HSP90、HMGB1、ATP 等能够促进 DC 细胞激活及与 T 细胞之间抗原呈递, 从而激活适应性免疫应答。但是并不是所有的 DAMPs 产生都能够引起适应性免疫应答。CRT 外翻、HMGB1 和 ATP 的释放等, 可以作为体外初步筛选 ICD 诱导剂的标志。

当肿瘤细胞发出的 ICD 信号被抑制, 免疫系统对这些信号的感知受到阻碍, 或 CD8⁺T 细胞等免疫效应因子耗竭时, ICD 诱导剂产生的抗肿瘤疗效会

失效。目前 ICD 诱导剂的临床应用趋势, 倾向于将其与免疫疗法或靶向药物联合用于抗肿瘤治疗^[7]。Gao 等^[87]发现, 联合使用阿霉素和小分子吡啶胺 2, 3-双加氧酶 1 (indoleamine 2, 3-dioxygenase 1, IDO1) 抑制剂 (NLG919) 能显著抑制 4T1 小鼠乳腺癌肿瘤细胞的体内生长。Fend 等^[88]研究显示, 工程化溶瘤牛痘病毒 VVWR-TK-RR-Fc α 1 通过 I 型 IFN 信号通路, 可增加 CD8⁺ T 细胞在肿瘤部位的浸

润, 并改善肿瘤微环境中 CD4⁺ T 细胞与 Treg 细胞的比例, 这一工程化溶瘤牛痘病毒与免疫检查点抑制剂 (ICB) 或其他 ICD 诱导剂联合使用, 可以增强其抗肿瘤效果。ICD 诱导剂可以启动强大的抗肿瘤免疫, 与免疫疗法联合使用可以增强这种免疫反应, 因此将传统的化疗、放疗等 ICD 诱导手段联合免疫疗法以及新型的递送手段用于癌症治疗, 联合疗法为 ICD 诱导剂的临床应用提供了无限的可能。

【参考文献】

- [1] Nagata S, Tanaka M. Programmed cell death and the immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(5): 333-340.
- [2] Kono H, Rock K L. How dying cells alert the immune system to danger[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(4): 279-289.
- [3] Ladoire S, Mignot G, Dabakuyo S, et al. *In situ* immune response after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer predicts survival[J]. *J Pathol*, 2011, 224(3): 389-400.
- [4] Correale P, Rotundo M S, Del Vecchio M T, et al. Regulatory (FoxP3⁺) T-cell tumor infiltration is a favorable prognostic factor in advanced colon cancer patients undergoing chemo or chemoimmunotherapy[J]. *J Immunother*, 2010, 33(4): 435-441.
- [5] Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy[J]. *Nat Med*, 2007, 13(9): 1050-1059.
- [6] Michaud M, Martins I, Sukkurwala A Q, et al. Autophagy-dependent anticancer immune responses induced by chemotherapeutic agents in mice[J]. *Science*, 2011, 334(6062): 1573-1577.
- [7] Pol J, Vacchelli E, Aranda F, et al. Trial watch: immunogenic cell death inducers for anticancer chemotherapy[J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(4): e1008866. Doi: 10.1080/2162402X.2015.1008866.
- [8] Rufo N, Garg A D, Agostinis P. The unfolded protein response in immunogenic cell death and cancer immunotherapy[J]. *Trends Cancer*, 2017, 3(9): 643-658.
- [9] Garg A D, Krysko D V, Verfaillie T, et al. A novel pathway combining calreticulin exposure and ATP secretion in immunogenic cancer cell death[J]. *EMBO J*, 2012, 31(5): 1062-1079.
- [10] Panaretakis T, Kepp O, Brockmeier U, et al. Mechanisms of pre-apoptotic calreticulin exposure in immunogenic cell death[J]. *EMBO J*, 2009, 28(5): 578-590.
- [11] Garg A D, Martin S, Golab J, et al. Danger signalling during cancer cell death: origins, plasticity and regulation[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(1): 26-38.
- [12] Ghiringhelli F, Apetoh L, Tesniere A, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome in dendritic cells induces IL-1-dependent adaptive immunity against tumors[J]. *Nat Med*, 2009, 15(10): 1170-1178.
- [13] Elliott M R, Chekeni F B, Trampont P C, et al. Nucleotides released by apoptotic cells act as a find-me signal to promote phagocytic clearance[J]. *Nature*, 2009, 461(7261): 282-286.
- [14] Galluzzi L, Pietrocola F, Bravo-San Pedro J M, et al. Autophagy in malignant transformation and cancer progression[J]. *EMBO J*, 2015, 34(7): 856-880.
- [15] Shiratsuchi A, Watanabe I, Takeuchi O, et al. Inhibitory effect of Toll-like receptor 4 on fusion between phagosomes and endosomes/lysosomes in macrophages[J]. *J Immunol*, 2004, 172(4): 2039-2047.
- [16] Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death[J]. *Nat Med*, 2007, 13(1): 54-61.
- [17] Schardt J A, Weber D, Eyholzer M, et al. Activation of the unfolded protein response is associated with favorable prognosis in acute myeloid leukemia[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(11): 3834-3841.
- [18] Zhou J, Wang G, Chen Y, et al. Immunogenic cell death in cancer therapy: present and emerging inducers[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(8): 4854-4865.
- [19] Wang Z, Chen J, Hu J, et al. cGAS/STING axis mediates a topoisomerase II inhibitor-induced tumor immunogenicity[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(11): 4850-4862.
- [20] Radogna F, Diederich M. Stress-induced cellular responses in immunogenic cell death: implications for cancer immunotherapy[J].

- Biochem Pharmacol*, 2018, 153: 12-23.
- [21] Fucikova J, Kralikova P, Fialova A, *et al.* Human tumor cells killed by anthracyclines induce a tumor-specific immune response[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(14): 4821-4833.
- [22] Tewey K M, Rowe T C, Yang L, *et al.* Adriamycin-induced DNA damage mediated by mammalian DNA topoisomerase II[J]. *Science*, 1984, 226(4673): 466-468.
- [23] Raymond E, Chaney S G, Taamma A, *et al.* Oxaliplatin: a review of preclinical and clinical studies[J]. *Ann Oncol*, 1998, 9(10): 1053-1071.
- [24] Schiavoni G, Sistigu A, Valentini M, *et al.* Cyclophosphamide synergizes with type I interferons through systemic dendritic cell reactivation and induction of immunogenic tumor apoptosis[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(3): 768-778.
- [25] Chen J, Xie J, Jiang Z, *et al.* Shikonin and its analogs inhibit cancer cell glycolysis by targeting tumor pyruvate kinase-M2[J]. *Oncogene*, 2011, 30(42): 4297-4306.
- [26] Lu L, Qin A, Huang H, *et al.* Shikonin extracted from medicinal Chinese herbs exerts anti-inflammatory effect via proteasome inhibition[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 658(2/3): 242-247.
- [27] Chen H M, Wang P H, Chen S S, *et al.* Shikonin induces immunogenic cell death in tumor cells and enhances dendritic cell-based cancer vaccine[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(11): 1989-2002.
- [28] Garrido G, Rabasa A, Sánchez B, *et al.* Induction of immunogenic apoptosis by blockade of epidermal growth factor receptor activation with a specific antibody[J]. *J Immunol*, 2011, 187(10): 4954-4966.
- [29] Garrido G, Lorenzano P, Sánchez B, *et al.* T cells are crucial for the anti-metastatic effect of anti-epidermal growth factor receptor antibodies[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(11): 1701-1710.
- [30] Spisek R, Charalambous A, Mazumder A, *et al.* Bortezomib enhances dendritic cell (DC)-mediated induction of immunity to human myeloma via exposure of cell surface heat shock protein 90 on dying tumor cells: therapeutic implications[J]. *Blood*, 2007, 109(11): 4839-4845.
- [31] Tseng L M, Liu C Y, Chang K C, *et al.* CIP2A is a target of bortezomib in human triple negative breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(2): R68. Doi: 10.1186/bcr3175.
- [32] Chang C L, Hsu Y T, Wu C C, *et al.* Immune mechanism of the antitumor effects generated by bortezomib[J]. *J Immunol*, 2012, 189(6): 3209-3220.
- [33] Davies A M, Lara P N Jr, Mack P C, *et al.* Incorporating bortezomib into the treatment of lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(15 Pt 2): s4647-s4651.
- [34] Prassas I, Diamandis E P. Novel therapeutic applications of cardiac glycosides[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(11): 926-935.
- [35] Menger L, Vacchelli E, Adjemian S, *et al.* Cardiac glycosides exert anticancer effects by inducing immunogenic cell death[J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(143): 143ra199. Doi: 10.1126/scitranslmed.3003807.
- [36] Brusa D, Migliore E, Garetto S, *et al.* Immunogenicity of 56°C and UVC-treated prostate cancer is associated with release of HSP70 and HMGB1 from necrotic cells[J]. *Prostate*, 2010, 69(12): 1343-1352.
- [37] Dudek A M, Garg A D, Krysko D V, *et al.* Inducers of immunogenic cancer cell death[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2013, 24(4): 319-333.
- [38] Huang J, Wang Y, Guo J, *et al.* Radiation-induced apoptosis along with local and systemic cytokine elaboration is associated with DC plus radiotherapy-mediated renal cell tumor regression[J]. *Clin Immunol*, 2007, 123(3): 298-310.
- [39] Selzer E, Hebar A. Basic principles of molecular effects of irradiation[J]. *Wien Med Wochenschr*, 2012, 162(3/4): 47-54.
- [40] Fucikova J, Moserova I, Truxova I, *et al.* High hydrostatic pressure induces immunogenic cell death in human tumor cells[J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(5): 1165-1177.
- [41] Garg A D, Krysko D V, Vandenabeele P, *et al.* The emergence of phox-ER stress induced immunogenic apoptosis[J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(5): 786-788.
- [42] Buytaert E, Callewaert G, Hendrickx N, *et al.* Role of endoplasmic reticulum depletion and multidomain proapoptotic BAX and BAK proteins in shaping cell death after hypericin-mediated photodynamic therapy[J]. *FASEB J*, 2006, 20(6): 756-758.
- [43] Du H Y, Olivo M, Mahendran R, *et al.* Hypericin photoactivation triggers down-regulation of matrix metalloproteinase-9 expression in well-differentiated human nasopharyngeal cancer cells[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(7/8): 979-988.
- [44] Garg A D, Krysko D V, Vandenabeele P, *et al.* Hypericin-based photodynamic therapy induces surface exposure of damage-associated molecular patterns like HSP70 and calreticulin[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(2): 215-221.
- [45] Garg A D, Nowis D, Golab J, *et al.* Photodynamic therapy: illuminating the road from cell death towards anti-tumour immunity[J]. *Apoptosis*, 2010, 15(9): 1050-1071.

- [46] Miyamoto S, Inoue H, Nakamura T, *et al.* Coxsackievirus B3 is an oncolytic virus with immunostimulatory properties that is active against lung adenocarcinoma[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(10): 2609-2621.
- [47] Liu Z, Zhang H M, Yuan J, *et al.* The immunity-related GTPase Irgm3 relieves endoplasmic reticulum stress response during coxsackievirus B3 infection via a PI3K/Akt dependent pathway[J]. *Cell Microbiol*, 2012, 14(1): 133-146.
- [48] Sukkurwala A Q, Adjemian S, Senovilla L, *et al.* Screening of novel immunogenic cell death inducers within the NCI mechanistic diversity set[J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3: e28473. Doi: 10.4161/onci.28473.
- [49] Casares N, Pequignot M O, Tesniere A, *et al.* Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death[J]. *J Exp Med*, 2005, 202(12): 1691-1701.
- [50] Martins I, Tesniere A, Kepp O, *et al.* Chemotherapy induces ATP release from tumor cells[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(22): 3723-3728.
- [51] Ma Y, Aymeric L, Locher C, *et al.* Contribution of IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells to the efficacy of anticancer chemotherapy[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(3): 491-503.
- [52] Huang F Y, Lei J, Sun Y, *et al.* Induction of enhanced immunogenic cell death through ultrasound-controlled release of doxorubicin by liposome-microbubble complexes[J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(7): e1446720. Doi: 10.1080/2162402X.2018.1446720.
- [53] Kawano M, Tanaka K, Itonaga I, *et al.* Dendritic cells combined with doxorubicin induces immunogenic cell death and exhibits antitumor effects for osteosarcoma[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(3): 2169-2175.
- [54] Ahlmann M, Hempel G. The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, 78(4): 661-671.
- [55] Nawrocki S T, Carew J S, Dunner K Jr, *et al.* Bortezomib inhibits PKR-like endoplasmic reticulum (ER) kinase and induces apoptosis via ER stress in human pancreatic cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(24): 11510-11519.
- [56] Martins I, Kepp O, Schlemmer F, *et al.* Restoration of the immunogenicity of cisplatin-induced cancer cell death by endoplasmic reticulum stress[J]. *Oncogene*, 2011, 30(10): 1147-1158.
- [57] Tesniere A, Schlemmer F, Boige V, *et al.* Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin[J]. *Oncogene*, 2010, 29(4): 482-491.
- [58] Tel J, Hato S V, Torensma R, *et al.* The chemotherapeutic drug oxaliplatin differentially affects blood DC function dependent on environmental cues[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(7): 1101-1111.
- [59] Wong D Y, Ong W W, Ang W H. Induction of immunogenic cell death by chemotherapeutic platinum complexes[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, 54(22): 6483-6487.
- [60] Kepp O, Kroemer G. A novel platinum-based chemotherapeutic inducing immunogenic cell death[J]. *Oncoimmunology*, 2020, 9(1): 1729022. Doi: 10.1080/2162402X.2020.1729022.
- [61] Diederich M, Muller F, Cerella C. Cardiac glycosides: from molecular targets to immunogenic cell death[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 125: 1-11.
- [62] Lefranc F, Mijatovic T, Kondo Y, *et al.* Targeting the $\alpha 1$ subunit of the sodium pump to combat glioblastoma cells[J]. *Neurosurgery*, 2008, 62(1): 211-221.
- [63] Su L, Yan G Z, Guan B J, *et al.* Shikonin derivatives protect immune organs from damage and promote immune responses *in vivo* in tumour-bearing mice[J]. *Phytother Res*, 2012, 26(1): 26-33.
- [64] Yang Y, Li X J, Chen Z, *et al.* Wogonin induced calreticulin/annexin A1 exposure dictates the immunogenicity of cancer cells in a PERK/AKT dependent manner[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e50811. Doi: 10.1371/journal.pone.0050811.
- [65] Adkins I, Fucikova J, Garg A D, *et al.* Physical modalities inducing immunogenic tumor cell death for cancer immunotherapy[J]. *Oncoimmunology*, 2015, 3(12): e968434. Doi: 10.4161/21624011.2014.968434.
- [66] Golden E B, Frances D, Pellicciotta I, *et al.* Radiation fosters dose-dependent and chemotherapy-induced immunogenic cell death[J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3: e28518. Doi: 10.4161/onci.28518.
- [67] Golden E B, Apetoh L. Radiotherapy and immunogenic cell death[J]. *Semin Radiat Oncol*, 2015, 25(1): 11-17.
- [68] van Straten D, Mashayekhi V, de Bruijn H S, *et al.* Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions[J]. *Cancers (Basel)*, 2017, 9(2): 19. Doi: 10.3390/cancers9020019.
- [69] Garg A D, Agostinis P. ER stress, autophagy and immunogenic cell death in photodynamic therapy-induced anti-cancer immune responses[J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2014, 13(3): 474-487.
- [70] Ji J, Fan Z, Zhou F, *et al.* Improvement of DC vaccine with ALA-

- PDT induced immunogenic apoptotic cells for skin squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(19): 17135-17146.
- [71] Panzarini E, Inguscio V, Fimia G M, *et al.* Rose bengal acetate photodynamic therapy (RBAC-PDT) induces exposure and release of damage-associated molecular patterns (DAMPs) in human HeLa cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105778. Doi: 10.1371/journal.pone.0105778.
- [72] Tanaka M, Kataoka H, Yano S, *et al.* Immunogenic cell death due to a new photodynamic therapy (PDT) with glycoconjugated chlorin (G-chlorin)[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(30): 47242-47251.
- [73] Li X, Zheng B D, Peng X H, *et al.* Phthalocyanines as medicinal photosensitizers: developments in the last five years[J]. *Coordin Chem Rev*, 2017, 379: 147-160.
- [74] Bommareddy P K, Zloza A, Rabkin S D, *et al.* Oncolytic virus immunotherapy induces immunogenic cell death and overcomes STING deficiency in melanoma[J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(7): 1591875. Doi: 10.1080/2162402X.2019.1591875.
- [75] Heinrich B, Klein J, Delic M, *et al.* Immunogenicity of oncolytic vaccinia viruses JX-GFP and TG6002 in a human melanoma *in vitro* model: studying immunogenic cell death, dendritic cell maturation and interaction with cytotoxic T lymphocytes[J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 2389-2401.
- [76] van Vloten J P, Workenhe S T, Wootton S K, *et al.* Critical interactions between immunogenic cancer cell death, oncolytic viruses, and the immune system define the rational design of combination immunotherapies[J]. *J Immunol*, 2018, 200(2): 450-458.
- [77] Duewell P, Steger A, Lohr H, *et al.* RIG-I-like helicases induce immunogenic cell death of pancreatic cancer cells and sensitize tumors toward killing by CD8⁺ T cells[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(12): 1825-1837.
- [78] Zhou H, Forveille S, Sauvat A, *et al.* The oncolytic peptide LTX-315 triggers immunogenic cell death[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(3): e2134. Doi: 10.1038/cddis.2016.47.
- [79] Pasquereau-Kotula E, Habault J, Kroemer G, *et al.* The anticancer peptide RT53 induces immunogenic cell death[J]. *PLoS One*, 2018, 13(8): e0201220. Doi: 10.1371/journal.pone.0201220.
- [80] Nuccitelli R, McDaniel A, Anand S, *et al.* Nano-pulse stimulation is a physical modality that can trigger immunogenic tumor cell death[J]. *J Immunother Cancer*, 2017, 5: 32. Doi: 10.1186/s40425-017-0234-5.
- [81] Lee P, Gujar S. Potentiating prostate cancer immunotherapy with oncolytic viruses[J]. *Nat Rev Urol*, 2018, 15(4): 235-250.
- [82] Gujar S, Pol J G, Kim Y, *et al.* Antitumor benefits of antiviral immunity: an underappreciated aspect of oncolytic virotherapies[J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(3): 209-221.
- [83] Chen Z, Liu L, Liang R, *et al.* Bioinspired hybrid protein oxygen nanocarrier amplified photodynamic therapy for eliciting anti-tumor immunity and abscopal effect[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(8): 8633-8645.
- [84] Ogawa M, Tomita Y, Nakamura Y, *et al.* Immunogenic cancer cell death selectively induced by near infrared photoimmunotherapy initiates host tumor immunity[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(6): 10425-10436.
- [85] Lin A G, Xiang B, Merlino D J, *et al.* Non-thermal plasma induces immunogenic cell death *in vivo* in murine CT26 colorectal tumors[J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(9): e1484978. Doi: 10.1080/2162402X.2018.1484978.
- [86] Ni J, Song J, Wang B, *et al.* Dendritic cell vaccine for the effective immunotherapy of breast cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 126: 110046. Doi: 10.1016/j.biopha.2020.110046.
- [87] Gao J, Deng F, Jia W. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase enhances the therapeutic efficacy of immunogenic chemotherapeutics in breast cancer[J]. *J Breast Cancer*, 2019, 22(2): 196-209.
- [88] Fend L, Yamazaki T, Remy C, *et al.* Immune checkpoint blockade, immunogenic chemotherapy or IFN- α blockade boost the local and abscopal effects of oncolytic virotherapy[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(15): 4146-4157.



【专家介绍】郭薇：博士，中国药科大学生命科学与技术学院副教授。科研方向主要为免疫性疾病生物药物研发以及 T 细胞免疫失衡机制的研究，曾在美国哈佛医学院肿瘤免疫中心访学。主持国家自然科学基金项目 3 项，省级项目 5 项，发表 SCI 文章多篇；入选江苏高校“青蓝工程”中青年学术带头人，江苏省“六大人才高峰”，江苏省“333 高层次人才培养工程”第三层次培养对象；编写教材《生物化学》《药学细胞生物学》，参与“药学的生物化学”课程被评为国家级精品课程。