

• 中国肿瘤青年科学家奖专栏-专家论坛 •



马瑜婷 教授,北京协和医学院博士研究生导师,中国医科院系统医学研究院研究员、所长助理、免疫平台主任。兼任中国抗癌协会肿瘤微环境、肿瘤代谢专业委员会(常务)委员,中国免疫学会委员、中国青年科技工作者协会理事、江苏省免疫学会常务理事。研究方向为应激(化疗导致的细胞应激、压力触发的精神应激等)对抗肿瘤免疫应答的调控机制,建立“应激的免疫感知与免疫调控”理论体系,筛选肿瘤免疫治疗新靶点及开发相关药物、诊断试剂。在 Nat Med、Science、Nat Immunol、Immunity 等 SCI 期刊发表论文 50 余篇(通信/第一作者论文 23 篇),总计影响因子>590,SCI 总他引频次>6 900 次。获批美国专利 1 项,中国发明专利 1 项。入选国家万人计划、海外高层次人才、江苏省双创团队领军人才等。主持及承担国家自然科学基金优青、面上、国际(地区)合作交流项目、江苏省自然科学基金杰出青年项目等 12 余项。担任 Cancer Immunol Immunother、Front Immunol、Front Oncol 期刊副主编及 Commun Biol、Immunother Adv、Curr Res Immunol、《中国免疫学杂志》等期刊编委。获中国青年女科学家奖、中国肿瘤青年科学家奖、法国科德利耶青年学者奖等奖项;曾获全国先进工作者、全国三八红旗手、全国向上向善好青年、江苏省青年五四奖章、江苏省优秀共产党员等荣誉称号。

砷剂调控肿瘤细胞命运的机制及激活抗肿瘤免疫的潜力

陈锦锋^① 马瑜婷^②

摘要 中药砷剂的主要活性成分是三氧化二砷(arsenic trioxide, ATO),对急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)等血液肿瘤显示出良好的临床疗效。尽管 ATO 在体外实验中能高效杀伤多种癌细胞,其单药治疗实体肿瘤的临床获益却并不理想,而联合用药以及药物靶向递送等策略也尚未取得突破。ATO 药物作用机理复杂,可诱导活性氧的生成、抑制谷胱甘肽过氧化物酶及多种代谢限速酶的活性、引发细胞氧化应激、激活线粒体介导的细胞凋亡通路等。长期以来,ATO 的细胞毒性及其诱导肿瘤细胞死亡的机制一直是研究的重点,ATO 能否增强肿瘤细胞的免疫原性、调控抗肿瘤免疫应答尚存在认知空白。本文总结 ATO 的临床应用现状,归纳了其对多种细胞死亡方式的影响,分析了相关分子机制。此外,基于诱导免疫原性细胞死亡的理念,本文初步探讨了利用砷剂制备预防型及治疗型肿瘤全细胞疫苗的可能,并展望了该疫苗联合多种免疫治疗策略提升实体瘤疗效的思路和可能性。

关键词 三氧化二砷 免疫原性死亡 肿瘤疫苗 抗肿瘤免疫

doi:10.12354/j.issn.1000-8179.2021.20210903

Cell fate regulatory mechanisms of arsenicals and their potential in triggering anti-tumor immunity

Jinfeng Chen¹, Yuting Ma²

Correspondence to: Yuting Ma; E-mail: yuting_ma1984@163.com

¹Institute of Systems Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China; ²Suzhou Institute of Systems Medicine, Suzhou 215123, China

Abstract As a principal bioactive member of arsenic compounds, arsenic trioxide (ATO) is highly effective in treating hematologic malignancies, particularly acute promyelocytic leukemia (APL). Although ATO has strong tumoricidal activities *in vitro*, the clinical benefits of ATO monotherapy against solid tumors are often limited. Strategic exploration of novel ATO-based anti-cancer therapies have recently been promoted because of various drug combinations and targeted drug delivery approaches. However, breakthroughs in therapeutic outcomes have rarely been achieved. To that end, multiple mechanisms of action have been documented for ATO, including triggering reactive oxygen species generation, inhibiting the activity of glutathione peroxidase and several rate-limiting metabolic enzymes, causing oxidative stress, and initiating the mitochondrial apoptotic pathway. In particular, researches have long been focused on ATO cytotoxicity and the molecular

作者单位:①中国医学科学院系统医学研究院,北京协和医学院(北京市 100005);②苏州系统医学研究所

通信作者:马瑜婷 yuting_ma1984@163.com

mechanisms underlying ATO-induced cell death. However, whether ATO can boost tumor immunogenicity and influence anti-tumor immunity remains largely unknown. Therefore, we intend to summarize the current clinical applications of ATO, recapitulate its impacts on various cell death modalities, and analyze molecular associations among different cell death pathways. This review also preliminarily explores the possibility of whole-cell tumor vaccine development by maximizing ATO-triggered immunogenic cell death. Furthermore, the combination of immunotherapies with ATO-based tumor vaccine may provide novel possibilities for cancer treatment.

Keywords: arsenic trioxide (ATO), immunogenic cell death, tumor vaccine, anti-tumor immune response

砷剂治疗疾病在中国已有逾 2000 年的历史,近年来,其在肿瘤治疗领域的应用受到广泛关注。砷剂与细胞中多种生物分子的巯基以及蛋白质中的半胱氨酸残基有很高的亲和力,而这些蛋白大多参与胞内氧化还原状态的调节。因此,砷剂暴露会导致胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成和累积,进而触发多种应激反应和死亡方式,包括氧化应激、自噬、凋亡、程序性坏死、焦亡、铁死亡等^[1-5]。抗氧化剂 N-乙酰-L-半胱氨酸能阻断三氧化二砷(arsenic trioxide, ATO)诱导的细胞死亡,提示 ROS 是关键触发因素^[6]。细胞死亡过程能引发肿瘤抗原的暴露,并伴随着一系列“危险信号”分子(又称 cell death-associated molecular patterns, CDAMPs)的释放,引发肿瘤细胞“抗原性”与“佐剂原性”的双重提升,有助于增强肿瘤细胞的“免疫原性”^[7]。目前,ATO 诱导的细胞死亡是否能影响肿瘤细胞的免疫原性尚未明确。本文主要总结 ATO 的临床应用现状和发展瓶颈,分析 ATO 可能诱导的多种细胞死亡方式,及其相互调控的分子机制,并就 ATO 用于肿瘤免疫治疗的新策略及可行性进行探讨和展望。

1 砷剂治疗肿瘤的概况

上世纪 70 年代以来,张亭栋、马军、陈竺、王振义等国内多位医学专家先后在 ATO 治疗急性早幼粒

细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)的疗效和机制探索中获得重大突破。多项国内外研究证实,ATO 对原发性和复发性 APL 患者的完全缓解率(complete response, CR)可达 85%~90%,且 5 年生存率较高^[8]。鉴于其良好的临床治疗效果,ATO 相继被美国食品药品监督管理局、欧洲药品管理局批准用于 APL 的治疗^[9]。

ATO 在 APL 治疗上的成功为其他类型血液肿瘤的治疗提供了理论依据。研究发现,ATO 与全反式维甲酸联合可治疗携带 IDH2 突变的急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)(约占 AML 患者的 20%)^[10]。对于 FLT3-ITD 突变型 AML(约占 AML 患者的 25%),ATO 能诱导内质网应激等促进肿瘤细胞凋亡,改善患者预后^[11]。此外,对慢性髓细胞白血病、复发和获得性耐药的多发性骨髓瘤、成人 T 细胞白血病和骨髓增生异常综合症患者,ATO 也具有治疗潜力^[12-15]。值得注意的是,APL 对 ATO 有较高的敏感性,低剂量药物(0.15 mg·kg⁻¹/d)便可有效治疗患者,而大多数非 APL 血液肿瘤需要较高剂量的药物(0.25 mg·kg⁻¹/d),其临床应用受限于严重的不良反应(表 1, ClinicalTrail.gov 网站已公布的部分血液肿瘤临床试验)。

表1 ATO 治疗血液肿瘤的临床试验

癌种	NCT编号	单/联用	给药方式	剂量(mg·kg ⁻¹)	临床应答情况
急性早幼粒细胞白血病	NCT01191541	联用	静脉	0.15, 0.20, 0.25	CR(100%)
	NCT00551460	联用	静脉	0.15	CR(85%)
	NCT00003934	联用	静脉	0.15	DFS(90%)
	NCT00093483	联用	静脉	0.15	CR(75%)
	NCT00020111	单用	静脉	0.15	CR(85%)
	NCT03048344	单用	口服	5, 10, 15(mg)	NA
骨髓增生异常综合征	NCT00274781	联用	静脉	0.25	CBRR(38%)
	NCT00621023	联用	静脉	0.25	ORR(10%)
	NCT00671697	联用	静脉	0.15, 0.20, 0.25	CR(8%)/SD(45%)
	NCT00195104	联用	静脉	0.25	CR(17%)
多发性骨髓瘤	NCT00661544	联用	静脉	0.15, 0.25	CR+PR(85%)
	NCT00469209	联用	静脉	0.25	CR(10%)
	NCT00201695	联用	静脉	0.15, 0.25	ORR(36%)
	NCT00006021	联用	静脉	0.25	CR(33%)/ PR(66%)

CR: 完全缓解率; DFS: 无病生存率(3年); CBRR: 临床受益反应率; ORR: 总体缓解率; SD: 疾病稳定; NA: 未展示

ATO 能有效控制晚期原发性肝癌肺转移, 延长患者总体生存期^[16]。然而, 对于其他大多数实体肿瘤(如肺癌、食道癌、胃癌、大肠癌、胰腺癌、膀胱癌、子宫癌、乳腺癌、口腔癌等), 其临床应用非常有限。可能原因包括: 1) 药物难以到达并留存于肿瘤病灶; 2) 药物在体内代谢失活并排出; 3) 药物损伤正常组织和免疫系统, 产生较强的不良反应。为改善 ATO 对实体瘤的疗效, 研究者尝试了多种联合策略。遗憾的是, ATO 与放疗、化疗、小分子靶向药物等联用虽然能增强其胞毒作用, 但临床疗效的改善并不显著。近年来, 脂质体、聚合物胶束、多孔硅等纳米载体递送策略极大地提高了 ATO 的生物利用度, 改善了其体内药代动力学, 提高了靶向性, 降低了不良反应^[17]。然而, ATO 纳米药物也面临着一些技术瓶颈, 包括: 载药量低、缓释量常难以满足治疗需求; 易被单核吞噬细胞系统等清除; 病灶局部药物聚积可抑制免疫细胞浸润。因此, 探索合适的剂量、给药途径、药物联合策略是 ATO 用于实体瘤治疗的重要命题(表 2,

表2 ATO 治疗实体肿瘤的临床试验

癌种	NCT编号	单/联用	给药途径	剂量(mg·kg ⁻¹)	临床应答情况
前列腺癌	NCT00004149	单用	静脉	0.20	无客观临床应答
肺癌	NCT01470248	单用	静脉	0.32, 0.25	SD(11%)/PD(79%)
胰腺癌	NCT00053222	单用	静脉	0.30	无客观临床应答
肾癌	NCT00005069	单用	静脉	0.30	SD(24%)/PD(76%)
膀胱癌	NCT00009867	单用	静脉	0.30	无客观临床应答
	NCT00036842	单用	静脉	0.25	无客观临床应答
肠癌	NCT00449137	联用	静脉	0.15, 0.20	无客观临床应答
恶性脑胶质瘤	NCT00720564	联用	静脉	0.20	无客观临床应答
	NCT00095771	联用	静脉	0.15	未显著增强放疗
神经母细胞瘤	NCT00024258	单用	静脉	0.15, 0.25	SD(24)/PD(76%)
皮肤癌	NCT01791894	单用	静脉	0.30	NA
子宫内膜癌	NCT01184053	单用	静脉	0.25	无客观临床应答
黑色素瘤	NCT00571116	联用	静脉	0.05, 0.15	无客观临床应答

SD: 疾病稳定; PD: 疾病进展; NA: 未展示

研究发现, ATO 引发的氧化应激会扰乱细胞内蛋白折叠, 错误折叠蛋白累积于内质网中可诱导内质网应激, 触发未折叠蛋白反应、内质网相关蛋白质降解等以恢复细胞稳态。持续或过度的内质网应激可促进 ROS 生成, 引发恶性循环并导致细胞凋亡^[18]。ATO 可破坏线粒体膜的通透性, 释放细胞色素 C 并与 APAF1、半胱氨酸蛋白酶 9(CASP9)结合形成凋亡小体, 招募并活化 CASP3/6/7 等, 对胞内蛋白进行高效切割, 诱导细胞以 CASP 依赖的方式凋亡^[19]。此外, ATO 能显著增加 BCL-2 家族中促凋亡蛋白(如 BAX、

ClinicalTrail.gov 网站已公布的部分实体肿瘤临床试验)。

2 砷剂调控肿瘤细胞命运的分子机制

ATO 作用下的肿瘤细胞命运如何, 不同细胞命运的关键调控机制如何, 是值得深入探索的重要科学问题。ATO 可直接或间接作用于细胞内诸多分子及信号通路, 影响多种细胞应激和死亡方式, 包括: 氧化应激、内质网应激、自噬、凋亡、程序性坏死、焦亡、铁死亡等。图 1 显示细胞应激反应与死亡方式的关键调控机制和形态学特征: 凋亡细胞膜起泡、DNA 浓缩以及断裂, 形成凋亡小体并释放内容物; 自噬过程形成自噬小体, 随后与溶酶体结合成自噬溶酶体对隔离底物进行降解; 程序性坏死中磷酸化的 MLKL 能插入细胞膜形成孔道, 膜破裂, 该过程常伴随 ROS 的增加; 焦亡主要依靠 CASP 的激活, 并活化 GSDM 蛋白转位到膜上, 形成孔洞, 胞质外流; 铁死亡表现为线粒体变小、脊变少、脂质过氧化等, 该过程受 GPX4、ASCL4 等调控。

BAK) 的表达及其向线粒体的转运^[20]。ATO 诱导的 ROS 还能直接开启线粒体膜通透性转换孔, 导致凋亡诱导因子的释放及入核, 诱导核固缩及染色质碎片化, 触发非 CASP 依赖的凋亡^[21]。

自噬是细胞在外界不良刺激下维持内环境稳态的重要机制。自噬溶酶体可降解自身蛋白或受损细胞器, 以便循环使用代谢产物。研究表明, ATO 可增强自噬相关蛋白 LC3A/B、Beclin1 的表达, 激活 JNK、p38-AMPK 通路, 并抑制 PI3K/Akt-mTOR 通路, 从而引发自噬。ATO 联合卡莫司汀可以提高 ROS/GSH

比例,诱导实体瘤细胞发生自噬性死亡^[22]。ATO 处理人成骨肉瘤细胞,可导致转录因子 TFEB 在 Ser142 位点去磷酸化并入核,继而促进自噬溶酶体必需蛋白的表达,加速自噬性死亡^[6]。自噬对肿瘤进展的影响具有双面性,一方面,自噬可缓解内质网应激与氧化应激,减少 DNA 损伤和基因突变,限制细胞的癌变及快速增殖,阻碍肿瘤的早期发生;另一方面,自噬可帮助癌细胞适应恶劣的肿瘤微环境,促进其存活和进展。而在肿瘤治疗过程中,自噬一方面有助于癌细胞产生药物抵抗,另一方面也能参与诱导自噬样细胞死亡(由自噬分子机制驱动的非凋亡、非坏死的细胞死亡形式)。

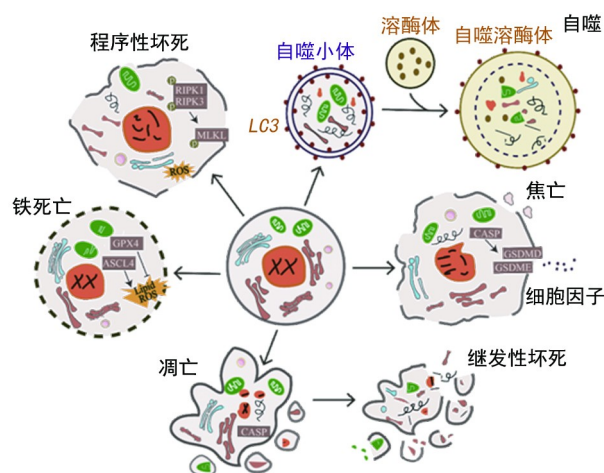


图1 细胞应激反应与死亡方式的关键调控机制和形态学特征

焦亡是一种程序性的细胞炎性坏死,依赖于 CASP1/4/5/11、颗粒酶等的活化,以及其对 Gasdermin (GSDM)蛋白家族分子的切割。GSDM 的 N 端结构域能在细胞膜上寡聚成孔,引发细胞裂解性死亡并促进白介素-1 细胞因子家族成员的成熟与释放。无机砷可诱导 β 细胞焦亡和炎症小体的活化^[2],而 ATO 处理胶质瘤细胞 U251 后能激活 CASP3 和 GSDME 依赖的焦亡和乳酸脱氢酶的释放^[3]。

铁死亡是一种依赖于二价铁离子、由酯氧合酶介导的新型细胞死亡形式。ROS 等自由基在胞内聚集、以谷胱甘肽过氧化物酶 GPX4 为核心的抗氧化系统的耗竭,最终可导致脂膜上的不饱和脂肪酸发生脂质过氧化,并造成细胞膜破裂。ATO 可诱导大量 ROS 生成,提示 ATO 可能和铁死亡密切相关。最新研究证实,无机砷可诱导胰岛细胞 MIN6 发生铁死亡,且该过程可以被铁死亡小分子抑制剂 ferrostatin-1 阻断^[4]。

程序性坏死是一种受丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 RIPK1 和 RIPK3 精密控制的、CASP 非依赖性的细胞死亡。由 RIPK1 和 RIPK3 形成的坏死小体可导致 MLKL 的寡聚化和磷酸化,最终产生细胞膜损伤、

胞质肿胀、细胞器膨大、释放细胞内容物并引发炎症反应。目前尚缺乏 ATO 能诱导细胞程序性坏死的直接报道,但有研究表明,ROS 能通过直接氧化 RIPK1 上的三个关键半胱氨酸,增强其自身磷酸化,促进程序性坏死的发生^[5]。

在不同的细胞死亡命运的调控中,CASP8 或许是关键的分子开关。研究发现,抑制 CASP8 可导致 TNF α 诱导的细胞死亡由凋亡转变为程序性坏死。程序性坏死途径受阻时,丧失酶活性的 CASP8 可充当蛋白支架,促进炎症小体复合物形成并导致细胞焦亡^[23],而自噬导致的 CASP8 降解能促使凋亡转变为程序性坏死^[24]。值得注意的是,本课题组前期研究提示,不同的细胞死亡形式可同时存在于肿瘤组织中。可能因为:肿瘤组织的细胞构成复杂(肿瘤细胞、基质细胞、多种免疫细胞);肿瘤细胞克隆存在高度的异质性;组织内不同区域的微环境有差异;细胞死亡逐渐进行而并非同步发生。此外,就单个细胞而言,不同的细胞死亡途径能否同时或先后激活,不同细胞死亡途径的关键执行分子能否借助相分离等机制富集在细胞内不同区域,值得细致观察、深入探索。

3 砷剂诱导肿瘤发生免疫原性细胞死亡

细胞应激及死亡可打破组织局部稳态,引发免疫应答和炎症反应。细胞死亡如何被免疫系统有效感知,不同细胞死亡形式引发免疫应答的类型是否相同,均是值得深入探索的问题。传统观点认为凋亡可诱导免疫耐受,尽管具体机制尚不够明确,但凋亡过程中 CASP3/6/7 的激活可以下调固有免疫应答的多个关键调控因子(如 cGAS、MAVS、IRF3 等)^[25]。细胞坏死过程中伴随着细胞内容物的大量释放,有学者认为这些物质属于细胞固有成分,而非诱导产生的“危险信号”,虽然能诱导强烈的炎症反应,但并不一定能激活抗肿瘤免疫应答^[26]。肿瘤细胞的“免疫原性”是指癌细胞被免疫系统识别和清除的特性,由“抗原性”及“佐剂原性”共同决定。濒死的肿瘤细胞能释放肿瘤抗原,并释放或暴露多种损伤相关分子模式(DAMPs),包括钙网蛋白(CALR)、高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、腺苷三磷酸(ATP)、I 型干扰素(IFN α/β)、膜联蛋白 A1(ANXA1)等。上述“危险信号”分子可调控抗肿瘤免疫应答,也成为公认的免疫原性细胞死亡的生物标志物^[7]。图 2 显示 ATO 用于治疗型疫苗制备的策略:ATO 介导的癌细胞死亡不仅暴露肿瘤抗原,同时能释放一系列“危险信号”分子(如 ATP、CALR、F-actin、IFN α/β 、HMGB1、AnexA1),这些信号分子能与单核细胞、髓系树突状细胞(DC)细胞上的相关受体结合,促进抗原吞噬和提呈,并激活 T 细胞,最终抑制肿瘤生长。

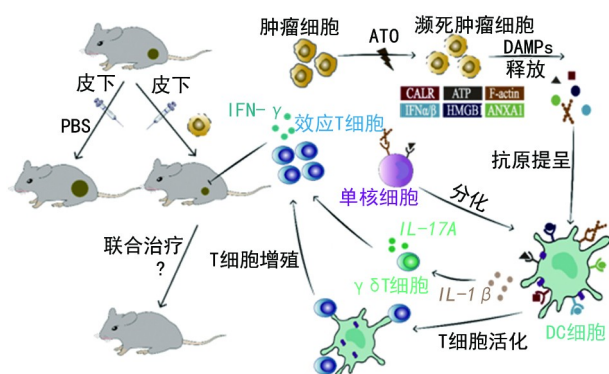


图2 ATO 用于治疗型疫苗制备的策略

该领域研究的关键科学问题包括:不同细胞死亡形式对肿瘤细胞“免疫原性”的影响、对上述“危险信号”分子释放的调控机制。多项研究表明,凋亡并非意味着免疫耐受,蒽环类药物诱导肿瘤细胞凋亡可促进 CALR 和磷脂酰丝氨酸暴露于胞膜表面,增强其抗原的摄取和提呈,提升其免疫原性。借助泛 CASP 抑制剂 Z-VAD-fmk 不可逆地阻断细胞凋亡,虽然不影响肿瘤细胞的死亡,但其免疫原性显著下降^[27]。濒死细胞释放 ATP 依赖于凋亡和自噬通路,多种 CASP 分子、自噬相关基因 (autophagy related genes, ATG) 都参与了这一过程。ATG5 和 ATG7 缺陷型肿瘤细胞的自噬通路受阻,ATP 释放量显著减少,化疗效果大幅降低^[28]。ATP 的膜外释放也受到 CASP 蛋白的调控,CASP3 可切割缝隙连接蛋白家族成员 PANX1,后者活化后形成跨膜通道并导致 ATP 的释放,而 Z-VAD-fmk 可以有效阻止该过程^[28]。程序性坏死通路的活化有助于 ATP 和 HMGB1 的释放,从而增强肿瘤细胞的免疫原性。RIPK3 或 MLKL 缺陷型肿瘤对化疗不敏感,借助三磷酸腺苷双磷酸酶抑制剂提高组织内 ATP 浓度,联合使用 TLR4 激动剂能显著增强上述缺陷型肿瘤细胞的化疗效果^[29]。目前,尚不明确铁死亡是否参与调控肿瘤细胞的免疫原性,特别是“危险信号”分子的释放和暴露,有文献提示 HMGB1 可能是铁死亡相关的 DAMPs^[30]。

4 砷剂对免疫细胞的直接作用

除了诱导肿瘤细胞死亡,砷剂可直接作用于免疫细胞,引发免疫功能障碍。砷剂可改变免疫细胞 DNA 甲基化水平,导致基因表达谱重编程,影响细胞的脂质代谢、pH 调节、NF-κB 信号转导等^[31]。低浓度的 ATO 能诱导单核细胞坏死,减少 DC 的产生,降低 DC 的吞噬、抗原提呈和细胞因子分泌功能^[32]。巨噬细胞是参与抗原呈递和清除非己成分的专职吞噬细胞。体外实验提示,ATO 可严重阻碍单核细胞向巨噬细胞分化,并通过 NF-κB 途径抑制巨噬细胞的黏附能力和吞噬活性^[33]。砷的积累还能抑制淋巴细胞增殖、迁移和活化,诱导 T 细胞凋亡,并通过增加氧化应激和减

少 IL-2 的分泌来抑制 T 细胞活性,这也是慢性砷中毒导致鲍文病的主要原因^[34]。ATO 对免疫细胞的抑制效应也被运用于治疗自身免疫疾病,如改善骨髓移植造成的排斥反应和缓解系统性红斑狼疮^[35-36]。值得注意的是,ATO 在某些情况下还可以作为佐剂增强免疫应答。ATO 能增强自然杀伤细胞 (NK) 对 APL 的杀伤活性^[37]。低剂量的 ATO 能诱导氧化应激和亚硝化应激,选择性地清除调节性 T 细胞 (Treg),增强效应 T 细胞对结肠癌和乳腺癌的杀伤活性^[38]。骨髓来源的抑制性细胞 (MDSC) 对建立及维持免疫耐受、免疫抑制至关重要,ATO 可诱导 MDSC 凋亡或促进其分化,该发现有助于拓展探索 ATO 临床应用的新可能^[39]。

5 结语与展望

传统的砷剂治疗主要通过静脉滴注的方式,虽然有部分口服制剂被批准用于临床治疗,但目前应用较少。虽然砷剂在体外实验中具有广谱的抗癌活性,然而其应用于实体肿瘤的临床治疗进展有限,仅在原发性晚期肝癌治疗中显示出一定效果。究其原因,主要有如下几点:1) ATO 是水溶性化合物,容易全身扩散,难以富集至肿瘤病灶部位。由于肝脏是重要的解毒器官,ATO 相对富集,局部浓度相对较高,更易诱导肝癌细胞死亡;2) ATO 的全身扩散容易导致免疫细胞死亡,引发系统性免疫抑制;3) 由于 ATO 具有较强的不良反应,体内用药的剂量受限,难以达到有效杀伤肿瘤细胞的浓度;4) 由于 ATO 的高水溶性,纳米载体材料包裹 ATO 并靶向递送的策略虽然有应用前景,但严重受限于低下的药物包封率。因此,探索砷剂治疗实体瘤的新策略有望带来重要临床突破。

部分化疗药物预处理的肿瘤细胞能用作预防型疫苗,接种至小鼠皮下可有效抑制肿瘤的再活化。对于肿瘤患者而言,治疗型疫苗的应用前景远大于预防型疫苗。本团队新开展的预实验提示,实体瘤细胞在 ATO 处理后能出现多种细胞应激反应和死亡方式,可释放多种“危险信号”分子,具备增强肿瘤细胞免疫原性的潜力。因此,借助 ATO 在体外预处理自体来源的肿瘤细胞,可制备治疗型全细胞肿瘤疫苗。该策略具有如下优势:可有效避免药物在体内的不良反应;可广泛覆盖肿瘤细胞表达的多种抗原;可选择最佳治疗窗口多次注射;可根据特定肿瘤类型优化药物浓度和处理时间等条件,最大限度地诱导免疫原性细胞死亡,通过激活持久的抗肿瘤免疫降低肿瘤的复发和转移。

上述治疗型疫苗可与其它多种治疗策略联用,旨在实现协同抗癌效应。近些年来,基于免疫检查点阻

断的免疫疗法取得了巨大的突破,但治疗应答率亟需提升,新型不良反应的发生也带来新的挑战。肿瘤微环境中缺乏 T 淋巴细胞浸润,也称为“冷肿瘤”,是导致 PD-1 单抗疗效不佳的原因之一,而联合使用周期素依赖性激酶抑制剂(如 dinaciclib)诱导免疫原性死亡,激活 DC 并增加 T 细胞浸润有望显著提升 PD-1 单抗的疗效^[40]。基于 ATO 的治疗型全细胞肿瘤疫苗与免疫检查点阻断联用,是否能发挥 1+1>2 的效果值得尝试和探索,该策略对晚期肿瘤患者的临床获益,很有可能大于化疗。

参考文献

- [1] Gibson S. A matter of balance between life and death: targeting reactive oxygen species (ROS)-induced autophagy for cancer therapy[J]. *Autophagy*, 2010, 6(7):835-837.
- [2] Pei P, Yao X, Jiang L, et al. Inorganic arsenic induces pyroptosis and pancreatic β cells dysfunction through stimulating the IRE1 α /TNF- α pathway and protective effect of taurine[J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 125:392-402.
- [3] Wang J, Zhan L, Cai Z, et al. Arsenic trioxide induces gasdermin E mediated pyroptosis in astrogloma cells[J]. *Transl Cancer Res*, 2020, 9(3):1926-1930.
- [4] Wei S, Qiu T, Yao X, et al. Arsenic induces pancreatic dysfunction and ferroptosis via mitochondrial ROS-autophagy-lysosomal pathway[J]. *J Hazard Mater*, 2020, 384:121390.
- [5] Zhang Y, Su S, Zhao S, et al. RIP1 autophosphorylation is promoted by mitochondrial ROS and is essential for RIP3 recruitment into necrosome[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:14329.
- [6] Wu B, Tan M, Cai W, et al. Arsenic trioxide induces autophagic cell death in osteosarcoma cells via the ROS-TFEB signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(1):167-175.
- [7] Ma Y, Pitt J, Li Q, et al. The renaissance of anti-neoplastic immunity from tumor cell demise[J]. *Immunol Rev*, 2017, 280(1):194-206.
- [8] Zhang TD, Chen GQ, Wang ZG, et al. Arsenic trioxide, a therapeutic agent for APL[J]. *Oncogene*, 2001, 20(49):7146-7153.
- [9] Wang QQ, Jiang Y, Naranmandura H. Therapeutic strategy of arsenic trioxide in the fight against cancers and other diseases[J]. *Metallomics*, 2020, 12(3):326-336.
- [10] Mugoni V, Panella R, Cheloni G, et al. Vulnerabilities in mIDH2 AML confer sensitivity to APL-like targeted combination therapy[J]. *Cell Res*, 2019, 29(6):446-459.
- [11] Takahashi S, Harigae H, Yokoyama H, et al. Synergistic effect of arsenic trioxide and flt3 inhibition on cells with flt3 internal tandem duplication[J]. *Int J Hematol*, 2006, 84(3):256-261.
- [12] Chen SJ, Zhou GB, Zhang XW, et al. From an old remedy to a magic bullet: molecular mechanisms underlying the therapeutic effects of arsenic in fighting leukemia[J]. *Blood*, 2011, 117(24):6425-6437.
- [13] Munshi NC, Tricot G, Desikan R, et al. Clinical activity of arsenic trioxide for the treatment of multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2002, 16(9):1835-1837.
- [14] Hermine O, Dombret H, Poupon J, et al. Phase II trial of arsenic trioxide and alpha interferon in patients with relapsed/refractory adult T-cell leukemia/lymphoma[J]. *Hematol J*, 2004, 5(2):130-134.
- [15] Vey N, Bosly A, Guerci A, et al. Arsenic trioxide in patients with myelodysplastic syndromes: a phase II multicenter study[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(16):2465-2471.
- [16] Hu H T, Yao QJ, Meng YL, et al. Arsenic trioxide intravenous infusion combined with transcatheter arterial chemoembolization for the treatment of hepatocellular carcinoma with pulmonary metastasis: Long-term outcome analysis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 32(2):295-300.
- [17] Zhao S, Zhang X, Zhang J, et al. Intravenous administration of arsenic trioxide encapsulated in liposomes inhibits the growth of C6 gliomas in rat brains[J]. *J Chemother*, 2008, 20(2):253-262.
- [18] Chong W, Shastri M, Eri R. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious nexus implicated in bowel disease pathophysiology[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(4):771.
- [19] Medda N, De S, Maiti S. Different mechanisms of arsenic related signaling in cellular proliferation, apoptosis and neo-plastic transformation[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 208:111752.
- [20] Nutt L, Gogvadze V, Uthaisang W, et al. Indirect effects of Bax and Bak initiate the mitochondrial alterations that lead to cytochrome c release during arsenic trioxide-induced apoptosis[J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(4):459-467.
- [21] Kang Y, Yi M, Kim M, et al. Caspase-independent cell death by arsenic trioxide in human cervical cancer cells: reactive oxygen species-mediated poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation signals apoptosis-inducing factor release from mitochondria[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(24):8960-8967.
- [22] Kuo C, Liu T, Chen L, et al. Combination of arsenic trioxide and BCNU synergistically triggers redox-mediated autophagic cell death in human solid tumors[J]. *Free radic Biol Med*, 2011, 51(12):2195-2209.
- [23] Fritsch M, Günther S, Schwarzer R, et al. Caspase-8 is the molecular switch for apoptosis, necroptosis and pyroptosis[J]. *Nature*, 2019, 575(7784):683-687.
- [24] Long J, Ryan K. New frontiers in promoting tumour cell death: targeting apoptosis, necroptosis and autophagy[J]. *Oncogene*, 2012, 31(49):5045-5060.
- [25] Ning X, Wang Y, Jing M, et al. Apoptotic caspases suppress type I interferon production via the cleavage of cGAS, MAVS, and IRF3[J]. *Mol Cell*, 2019, 74(1):19-31.
- [26] Yatim N, Cullen S, Albert M. Dying cells actively regulate adaptive immune responses[J]. *Nature Rev Immunol*, 2017, 17(4):262-275.
- [27] Casares N, Pequignot M, Tesniere A, et al. Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death[J]. *J Exp Med*, 2005, 202(12):1691-1701.
- [28] Wang Y, Martins I, Ma Y, et al. Autophagy-dependent ATP release from dying cells via lysosomal exocytosis[J]. *Autophagy*, 2013, 9(10):1624-1625.
- [29] Yang H, Ma Y, Chen G, et al. Contribution of RIP3 and MLKL to immunogenic cell death signaling in cancer chemotherapy[J]. *On-*

- coimmunology, 2016, 5(6):e1149673.
- [30] Wen Q, Liu J, Kang R, et al. The release and activity of HMGB1 in ferroptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 510(2):278-283.
- [31] Cui X, Kobayashi Y, Akashi M, et al. Metabolism and the paradoxical effects of arsenic: carcinogenesis and anticancer[J]. *Cur Med Chem*, 2008, 15(22):2293-2304.
- [32] Bahari A, Salmani V. Environmentally relevant dose of arsenic interferes in functions of human monocytes derived dendritic cells[J]. *Toxicol Lett*, 2017, 275:118-122.
- [33] Lemarie A, Morzadec C, Merino D, et al. Arsenic trioxide induces apoptosis of human monocytes during macrophagic differentiation through nuclear factor-kappaB-related survival pathway down-regulation[J]. *J Pharm Exp Ther*, 2006, 316(1):304-314.
- [34] Huang H, Lee C, Yu H. Arsenic-induced carcinogenesis and immune dysregulation[J]. *Int J Environ Res Pub Health*, 2019, 16(15):2746.
- [35] Liu X, Su Y, Sun X, et al. Arsenic trioxide alleviates acute graft-versus-host disease by modulating macrophage polarization[J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(11):1744-1754.
- [36] Hamidou M, Néel A, Poupon J, et al. Safety and efficacy of low-dose intravenous arsenic trioxide in systemic lupus erythematosus: an open-label phase II a trial (Lupsenic)[J]. *Arth Res Ther*, 2021, 23(1):70.
- [37] Alex A, Ganesan S, Palani H, et al. Arsenic trioxide enhances the NK cell cytotoxicity against acute promyelocytic leukemia while simultaneously inhibiting its bio-genesis[J]. *Front Immunol*, 2018, 9:1357.
- [38] Thomas-Schoemann A, Batteux F, Mongaret C, et al. Arsenic trioxide exerts antitumor activity through regulatory T cell depletion mediated by oxidative stress in a murine model of colon cancer[J]. *J Immunol (Baltimore)*, 2012, 189(11):5171-5175.
- [39] Gao Q, Jiang J, Chu Z, et al. Arsenic trioxide inhibits tumor-induced myeloid-derived suppressor cells and enhances T-cell activity[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(4):2141-2150.
- [40] Hossain D, Javaid S, Cai M, et al. Dinaciclib induces immunogenic cell death and enhances anti-PD1-mediated tumor suppression[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(2):644-654.

(2021-06-15 收稿)

(编辑: 郑莉 校对: 武斌)

作者简介

陈锦锋 研究方向为应激与肿瘤免疫。

E-mail: cpu_jinfeng@163.com



· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国肿瘤临床》文章推荐：腹膜癌研究历程及腹膜肿瘤学学科建设

腹膜癌是指在腹膜上发生和(或)发展的一类恶性肿瘤,分为原发性和继发性,是长期以来临床肿瘤学中的难题。近40年来,腹膜癌逐渐成为临床肿瘤学领域的热点问题,在基本定义、基础理论、临床实践和腹膜肿瘤学学科发展等方面取得了令人欣慰的成绩。作为新兴学科,腹膜肿瘤学是临床肿瘤学实践的结晶,在知识体系建设、核心技术发展和人才团队建设等方面,取得了阶段性进展,也存在大量学术争鸣。为此,2021年第48卷第17期《中国肿瘤临床》专家论坛栏目刊发了李雁教授撰写的《腹膜癌研究历程及腹膜肿瘤学学科建设》一文,该文旨在系统性回顾腹膜癌的研究历程和腹膜肿瘤学学科发展现状,为其全面发展提供参考。

阅读本文请登录网站 www.cjco.cn 或关注本刊微信公众号(扫描文章下方二维码)查看。

