

胃癌免疫治疗机制及临床应用的研究进展

欧 凯, 杨 林

(国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院, 北京 100021)

摘 要: 胃癌是发病率最高的癌症之一。现有的放化疗及手术治疗方法对于晚期胃癌患者的效果欠佳。免疫疗法方兴未艾, 有望成为治疗晚期胃癌的有效方法。胃癌患者常处于免疫抑制状态, 且分子类型多样。目前免疫疗法临床前和临床试验主要包括免疫检查点抑制剂、过继性细胞免疫疗法和癌症疫苗。提高已有免疫疗法的安全性和有效性, 根据胃癌患者的个体特征匹配合适的免疫疗法, 寻找新的免疫疗法可能是未来免疫疗法的主要发展方向。

关键词: 胃肿瘤; 免疫治疗; 免疫检查点; 过继免疫疗法; 癌症疫苗

中图分类号: R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2020)02-0125-09

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2020.02.A008

Research Advances in Mechanism and Clinical Application of Immunotherapy for Gastric Cancer

OU Kai, YANG Lin

(National Cancer Center/National Clinical Research Center for Cancer/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: Gastric cancer is one of the cancers with the highest incidence. The existing radiotherapy, chemotherapy and surgical therapy are not effective enough for patients with advanced gastric cancer. Immunotherapy has been rapidly developed and expected to be an effective method for treatment of advanced gastric cancer. Patients with gastric cancer are often in an immunosuppressive state with diverse molecular types. Currently, preclinical and clinical trials of immunotherapy mainly include immunological checkpoint inhibitors, adoptive cellular immunotherapy and cancer vaccines. The main development direction of immunotherapy in the future may be to improve the safety and effectiveness of the existing immunotherapy, according to the individual characteristics of gastric cancer patients to match appropriate immunotherapy and to search for new immunotherapy.

Key words: gastric neoplasms; immunotherapy; immune checkpoint; adoptive immunotherapy; cancer vaccine

胃癌是全球癌症发病率第五的常见癌症, 也是全球癌症死亡的第三大常见原因, 全球每年死亡例数超过 70 万例^[1]。胃癌发病率存在很大的地域差异, 约 70% 的病例发生在发展中国家, 约 50% 的病例发生在东亚, 中国发病率尤其高。胃癌发病率也有性别差异, 男性发病率约为女性的 2 倍^[2]。

手术切除是治疗进展期胃癌的主要方法, 但术后 5 年生存率仍较低, 在行辅助治疗的基础上, 5 年生存率约为 20%~25%。大多数胃癌患者诊断时已是晚期不可切除或已发生远处转移。全身化疗是晚期

胃癌患者的主要治疗手段。尽管各种化疗方案显示出抗肿瘤活性, 但其中位总生存期(OS)不尽如人意, 约为 8~10 个月, 而且化疗的不良反应也导致了其不能长期使用^[3]。

近来, 免疫治疗已经成为癌症治疗中最有前景的策略之一, 在黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾癌等肿瘤中表现出了杰出的效果^[4-6]。而对于胃癌的免疫治疗研究也方兴未艾, 多种免疫治疗策略已被开发出来, 包括免疫检查点抑制剂、细胞过继免疫治疗、癌症疫苗等^[7]。这些免疫治疗方法通过增加患者免疫系统抗肿瘤反应的能力或者增加肿瘤的免疫原性来治疗肿瘤^[8]。不过许多新型免疫治疗方法仍然处于

收稿日期: 2019-06-16; 修回日期: 2019-08-01

通信作者: 杨 林, E-mail: linyang@cicams.ac.cn

临床研究的早期阶段,胃癌患者的免疫状态和肿瘤的分子亚型可能是影响免疫治疗疗效的主要因素^[9]。

1 胃癌患者的免疫状态

1.1 胃癌患者的抗肿瘤免疫反应

患者自身的免疫反应在癌症的进展中扮演着非常重要的角色,患者免疫系统对肿瘤的反应过程被称为“免疫编辑”,该机制由三个连续渐进的阶段组成。

消除阶段:宿主通过先天性和适应性免疫应答的协同作用有效识别和消除新发肿瘤。

平衡阶段:宿主的免疫系统,包括抗原呈递细胞和效应细胞,与肿瘤的发展保持动态平衡,存活的肿瘤细胞受到抑制,但在这个过程中肿瘤的免疫原性逐渐变化,也诱导宿主的免疫反应相应改变。

逃避阶段:肿瘤细胞免疫特征改变,并将其传递给子代,从而逃避免疫抑制并增殖。其机制可能包括肿瘤抗原和主要组织相容性复合体(MHC) I类抗原表达降低,Fas-L调节,抑制性细胞因子如TGFβ1、IL-10、IL-6、VEGF,前列腺素的合成增加,以及T调节淋巴细胞(Treg)和髓源性抑制细胞(MDSC)的增加^[10]。

1.2 胃癌患者免疫抑制的表现

胃癌中的肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)由T细胞、B细胞和NK细胞等组成^[11],T细胞包括细胞毒性淋巴细胞(CD8+)、辅助性T细胞(CD4+)、记忆T细胞(CD45RO+)和T调节细胞(FoxP3+) ^[12]。TILs一方面促进肿瘤消除,另一方面辅助肿瘤增殖,其中不同细胞亚型的功能不同^[13-15]。免疫抑制性肿瘤微环境的主要组成部分之一是Treg细胞,其免疫表型为CD4+CD25+FoxP3+,主要通过抑制细胞毒性淋巴细胞(CD8+)促进肿瘤增殖^[16]。有研究表明,与血液中相比,胃癌患者肿瘤中CD4+T淋巴细胞百分比增加,CD8+T细胞数目降低(CD4+/CD8+比值升高)^[17]。而CD8+T细胞数量增加与较好的PFS和OS相关^[18]。细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA-4)和程序性死亡-1(PD-1)是Treg细胞抑制CD8+细胞增殖的重要通路,并且在胃癌中已经发现肿瘤细胞PD-L1表达上调,其与预后不良有关^[19]。

有研究根据肿瘤中是否存在TILs浸润和PD-L1的表达将肿瘤免疫微环境分为以下四种类型^[20]:

I型(TILs+PD-L1+),约占胃癌的40%,呈现适应性免疫抗性;II型(TILs-PD-L1-),约占胃癌的30%,呈现免疫豁免状态;III型(TILs-PD-L1+),约占10%,显示内在诱导;IV型(TILs+PD-L1-),约占20%,其他抑制因子在启动免疫耐受中起作用;由于PD-1阻断疗法需要存在经由PD-1/PD-L1通路而活性下调的CD8+TILs^[21],所以其对I型癌症效果较好,而II型和III型肿瘤缺乏TILs,则PD-1阻断疗法与能够在肿瘤部位诱导T细胞活化、迁移和浸润的疫苗相结合,可能会改善这些患者的临床预后^[22]。

髓源性抑制细胞(MDSCs)是一群异质性的未成熟骨髓细胞,具有抑制T细胞(CD4+和CD8+)活化和增加T细胞凋亡的能力^[23]。有研究表明,与健康个体相比,胃癌患者血液中MDSCs的数量增加,并且与不良预后相关^[24]。减少胃癌患者体内MDSCs数量可能会改善预后。MDSC还参与各种促炎细胞因子的分泌^[25]。而全身炎症反应似乎是促进血管生成、DNA改变和肿瘤增殖的原因之一^[26]。研究表明,中性粒细胞与淋巴细胞的比值(NLR)对实体癌患者具有预后价值^[27]。在肿瘤患者中,淋巴细胞减少是细胞免疫缺陷的标志,而中性粒细胞增多是全身炎症反应的标志。此外,营养不良/低蛋白血症在晚期肿瘤阶段经常发生,并与免疫抑制和全身性炎症有关^[28]。因此,将抗炎剂与增强T淋巴细胞功能的疗法结合可能会提升治疗效果。

2 胃癌的分子分型

“癌症基因组图谱(TCGA)”项目(2014)将胃癌分为四种基因组亚型。

2.1 染色体不稳定型(CIN)

大约50%的胃癌病例属于此型,此型在癌基因途径(HER2、BRAF、EGFR、MET和RAS)中具有扩增^[29]。

2.2 微卫星不稳定型(MSI)

通过分析MMR蛋白表达异常缺失的免疫组织化学或聚合酶链反应(PCR)等方法可以评估肿瘤标本是否微卫星不稳定。MSI型占胃癌的15%~30%。在一项荟萃分析报告中显示,MSI高(MSI-H)与MSI低(MSI-L)的胃癌患者相比,其死亡风险降低37%且OS延长^[30]。MSI-H胃癌患者对PD-1免疫检查点

抑制剂治疗的敏感性增加^[31]。

2.3 基因组稳定型(GS)

约占胃癌病例的 20%,其呈现出与细胞运动有关的复发性染色体间易位^[32]。

2.4 Epstein Barr 病毒相关型

通过基因原位杂交或 PCR 等技术,在大约 10% 的胃癌患者肿瘤标本中检测到 EBV 病毒,EBV 相关型胃癌在年轻患者中更常见,其对免疫疗法一般有更好的反应^[33]。

如上,可以发现 MSI 型和 EBV 相关型胃癌患者对免疫治疗的反应更好。而这两类胃癌一般具有高密度的 TILs^[34],而超过 60% 的 EBV 相关型胃癌被证实呈现出与更好预后相关的 I 型或 IV 型免疫微环境,约 70% EBV 阴性胃癌属于 II 型和 III 型微环境,表明缺乏免疫应答且预后不良^[35]。

3 目前胃癌主要的免疫治疗方法

3.1 免疫检查点抑制剂

3.1.1 作用概述

免疫检查点蛋白多数在 T 细胞表面上表达,其与抗原呈递细胞(如树突状细胞)上的配体相互作用,继而导致肿瘤免疫逃避。而免疫检查点抑制剂(如抗 PD-1 抗体)可以阻止上述受体与配体结合并促进 T 细胞介导的抗肿瘤反应。生理状态下适度的免疫抑制是有益的,但在肿瘤免疫微环境中,免疫检查点途径促进肿瘤免疫逃逸。

具体而言,细胞毒性 T 淋巴细胞蛋白-4(CTLA-4)是在活化的 T 淋巴细胞和 T 调节细胞上表达的共抑制分子,其 T 细胞上的受体与位于抗原呈递细胞(APC)上的 B7-1/B7-2 配体相互作用,随后抑制 CD28 介导的 T 细胞刺激信号^[36]。而抗 CTLA-4 抗体抑制这种相互作用,使得 T 细胞活化和增殖得到促进^[37]。

PD-1 代表共抑制性受体,其存在于活化的 T 细胞、Treg 细胞和单核细胞等表面。其有 PD-L1 和 PD-L2 两个配体。PD-L1 在免疫细胞和肿瘤细胞上均表达,而 PD-L2 主要在 APC 上表达。在肿瘤中,在肿瘤细胞上表达的 PD-L1 与活化的 T 细胞上的 PD-1 结合,并产生抑制信号,导致细胞和体液免疫反应减少^[38]。反之,通过诱导抗体介导阻断 PD-1/PD-L 途径能够增

强宿主的抗癌免疫应答^[39]。

迄今为止关于胃癌收集的数据表明,PD-L1 在约 65% 的胃癌组织中表达,CTLA-4 在 86% 的胃癌病例中表达,而这些分子在健康个体的正常胃黏膜中检测不到^[40-42]。EBV 相关和 MSI 胃癌更倾向于表达 PD-L1,表明这两类胃癌患者是 PD-1 靶向治疗的首选候选者^[43]。

3.1.2 CTLA-4 检查点抑制剂

①Ipilimumab

一项随机 II 期临床试验(NCT01585987)纳入了 143 例无法切除、局部晚期/转移性胃或胃食管接合部癌的患者,比较这些患者 1L 化疗后 ipilimumab 与氟嘧啶(BSC)维持治疗的疗效,与氟嘧啶相比,ipilimumab 没有提高疗效(中位 OS 分别为 12.7 个月和 12.1 个月),而 ipilimumab 出现 3 级 TRAEs 的比例是 23%,氟嘧啶为 9%^[44]。表明 ipilimumab 单药在 1L 化疗后维持治疗并无优势。

②Tremelimumab

一项 II 期研究纳入了 18 例晚期食管癌、胃食管接合部癌或胃腺癌患者,其使用 Tremelimumab 治疗后中位 PFS 和 OS 分别为 2.8 个月和 4.8 个月,约 1/3 患者在一年内存活^[45],但其用药剂量为每 90 天 15mg/kg,目前认为不足,现已调整为单药治疗剂量每 4 周 10mg/kg^[46]。

3.1.3 PD-1 和 PD-L1 检查点抑制剂

①抗 PD-1 抗体 nivolumab

I / II 期 CheckMate-032(NCT01928394)临床试验评估了 nivolumab 作为单药治疗或联合 ipilimumab 治疗晚期/转移性实体癌(包括胃肿瘤)的安全性和有效性^[47]。160 例患者被分为 3 个治疗组:nivolumab 3mg/kg(N3);nivolumab 1mg/kg 加 ipilimumab 3mg/kg(N1+I3);nivolumab 3mg/kg+ipilimumab 1mg/kg(N3+I1)。所有治疗组中最常见的不良事件是疲劳、瘙痒、恶心、腹泻和食欲不振,在 N3、N1I3 和 N3I1 亚组中,分别有 17%、47% 和 27% 的患者发生 ≥3 级 TRAEs。总体客观反应率(ORR)为 16%,其中 N1+I3 组中最高,为 26%。中位 OS 在 N1+I3 组(6.9 个月)中最长,其次是 N3(6.2 个月)和 N3+I1 组(4.8 个月)。与 PD-L1-肿瘤患者相比,接受 nivolumab 单药治疗、N1+I3 和 N3+I1 治疗的 PD-L1+肿瘤患者的反应率更高(19% vs 12%,40% vs 22%和 23% vs 0)。

ATTRACTION-02 (ONO-4538-12;NCT02267343) 是一项完整的对3期或更晚期胃癌患者的3L nivolumab 与安慰剂对比的试验^[48],共纳入493例胃癌患者,并随机分为接受nivolumab (n=330)或安慰剂 (n=163)。Nivolumab 与安慰剂相比,中位OS显著增加 (5.26个月 vs 4.14个月,HR=0.63, $P<0.0001$),nivolumab 组与安慰剂组相比,死亡风险较低 (68.5% vs 86.5%,HR=0.63, $P<0.0001$),在大约40% (n=192) 的肿瘤患者样本中,PD-L1 阳性肿瘤在nivolumab 组占比为12.3%,安慰剂组为16.1%。对PD-L1 表达状态的分析显示,PD-L1+肿瘤患者的中位OS在nivolumab 组为5.22个月,在安慰剂组为3.83个月 (HR=0.51)。在PD-L1-肿瘤患者中,nivolumab 组的中位OS为6.05个月,安慰剂组为4.19个月 (HR=0.72)。就中位OS而言,与安慰剂相比,nivolumab 获得了1.1个月的绝对生存获益。由于ATTRACTION-02 试验在这一难治性胃癌患者亚组中所证实的生存益处,在日本nivolumab 被批准为一种新的治疗方案,用于治疗已接受过多线治疗的晚期胃癌患者。

ATTRACTION-04 (ONO-4538-37;NCT02746796)^[48] 是一项2/3期临床试验,评估1L nivolumab 加S-1 (替加氟/吉美嘧啶/奥替拉西钾) 联合奥沙利铂 (SOX) 治疗或卡培他滨加奥沙利铂 (CAPOX) 治疗患有无法切除的晚期或复发性胃癌/胃食管接合部癌的亚洲患者的安全性和有效性。最近报道了来自该研究第一部分的39例患者的安全性和临床疗效数据。用nivolumab/SOX 和 nivolumab/CAPOX 治疗的患者的ORR 分别为67%和71%。患者中 ≥ 3 级TRAEs 的发生率分别为52%和67%,并且两种方案的活性和安全性没有差异。

目前还有多项关于nivolumab 单药或联合其他药物治疗胃癌的临床试验已经注册成功并在进行中。

②抗PD-1 抗体 pembrolizumab

KEYNOTE-012 (NCT01848834) 是一项非随机Ib 期临床试验,评估了pembrolizumab 作为单一疗法的疗效^[49],该试验纳入了39例复发或转移性胃癌或胃食管接合部癌患者,其中40%的患者患有PD-L1+肿瘤,给药以每2周10mg/kg 或每3周200mg 固定剂量给药,结果显示8例 (22%) 患者PR,中位PFS 为1.9个月,6个月PFS 为26%,中位OS 为11.4个月。13%患者发生3~4级TRAEs,表明其耐受

良好。此试验中,患有MSI-H 胃癌/胃食管接合部癌的患者对pembrolizumab 的反应概率较高。且干扰素- γ 基因表达与治疗反应有一定相关性 ($P=0.07$),表明基因表达特征可能作为检查点抑制剂的响应相关分子特征^[50]。

KEYNOTE-059 是一项II 期临床试验,包括3个队列^[51]。队列1 纳入了259例晚期胃癌或胃食管接合部癌患者,评估了pembrolizumab 单药治疗对既往多次治疗的晚期胃癌患者的疗效和安全性。参加队列1 的患者均接受了两次或更多次转移性癌症的治疗。在259例患者中,148例 (57.1%) 患者癌组织显示PD-L1+ (免疫组织化学方法)。Pembrolizumab 在259例患者中有30例 (11.6%) 引起持续ORR,完全缓解率为2.3%。中位OS 为5.5个月。无论PD-L1 表达如何,均观察到这些反应,但PD-L1+患者ORR 较高 (15.5% vs 6.4%)。18%的患者发生 ≥ 3 级TRAEs。这些结果导致FDA 批准pembrolizumab 用于PD-L1+晚期胃癌患者作为3L 治疗。该队列显示了T 细胞炎症的基因表达特征和对pembrolizumab 的反应之间的正相关 ($P=0.014$)。在队列2 中,纳入的患者是HER2-胃腺癌/胃食管接合部腺癌的患者,他们接受pembrolizumab 加联合化疗 (5-氟尿嘧啶/卡培他滨加顺铂) 6个周期,之后用pembrolizumab 加5-FU/卡培他滨维持治疗2年或直至疾病进展^[52]。总ORR 为60%,中位OS 为13.8个月,3/4级TRAEs 的发生率为76%,虽然疗效好于pembrolizumab 单药治疗,但其不良反应也较大。在队列3 中,pembrolizumab 单药疗法也作为1L 治疗进行了研究。在入组的31例患者中,所有患者均患有PD-L1+/HER2-肿瘤,ORR 为26%,中位OS 为20.7个月, ≥ 3 级TRAEs 发生率为23%。

KEYNOTE-061 (NCT02370498) 是一项正在进行的III 期临床试验,比较pembrolizumab 与紫杉醇作为2L 治疗晚期胃癌或胃食管癌患者 (铂类加氟嘧啶组合1L 治疗进展) 的疗效与安全性^[53]。治疗施用持续到疾病进展或严重不良反应的发生,主要终点是患者的PFS 和OS。该研究随机分配592例患者接受pembrolizumab 或标准剂量紫杉醇治疗。395例患者癌组织PD-L1+。Pembrolizumab 组的中位OS 为9.1个月,紫杉醇组为8.3个月 (HR=0.82, $P=0.042$)。Pembrolizumab 组12个月OS 率、18个月OS 率均高

于紫杉醇组(分别为39.8% vs 27.1%, 25.7% vs 14.8%)。PFS或ORR无差异,但pembrolizumab抗肿瘤反应更持久,治疗效果在ECOG PS 0,胃食管接合部癌和PD-L1+的患者中更显著。且该药物表现出比紫杉醇更好的安全性。

目前还有多项关于pembrolizumab单药或联合其他药物治疗胃癌的临床试验已经注册成功并在进行中。

③抗PD-L1抗体avelumab

JAVELIN 实体瘤试验(NCT01772004)评估avelumab单药治疗具有局部晚期或转移性胃癌/胃食管接合部癌患者的疗效和安全性,共纳入151例患者,其中包括62例接受avelumab作为2L或以后线治疗的患者。患者接受的剂量为每两周10mg/kg,总ORR为15%,43.3%的患者在12周时出现PFS,具体而言,接受avelumab作为1L治疗的患者的ORR、DCR和中位PFS分别为9%、57.3%和12.0周,接受avelumab作为2L或以后线治疗的患者ORR、DCR和中位PFS分别为9.7%、29.0%和6周。PD-L1+肿瘤中的ORR高于PD-L1-肿瘤。10%左右的患者出现≥3级TRAEs,最常见的不良反应是输液相关反应和疲劳,表明avelumab安全性尚可。

Javelin Gastric 300试验纳入了来自亚洲、澳大利亚、欧洲、北美洲和南美洲147个地点的371例晚期进展或复发的胃癌/胃食管接合部癌患者。研究avelumab作为无法切除,复发或转移性胃癌/胃食管癌患者的三线治疗,据报道,avelumab组OS并不优于化疗组^[54]。

目前还有多项关于avelumab单药或联合其他药物治疗胃癌的临床试验已经注册成功并在进行中。

④抗PD-L1抗体durvalumab

在一项1期试验中,28例先前接受过治疗的胃食管接合部癌患者接受了durvalumab单药治疗。ORR为7%,≥3个TRAE发生率为17%^[55]。

在一项针对各种晚期恶性肿瘤患者的durvalumab加ramucirumab(抗血管生成剂)的I期临床实验中^[56],接受过先前治疗的无法切除或转移的胃癌/胃食管接合部癌患者的初步ORR为15%,而3级TRAEs发生率为19%(没有4级或5级TRAEs)。

3.1.4 其他有潜力的免疫检查点分子

VISTA是主要在骨髓,粒细胞和T细胞表面表

达的I型膜蛋白。虽然VISTA的配体尚不清楚,但现有证据表明VISTA可作为抗原呈递细胞的配体和作为T细胞的受体,并且VISTA可抑制T细胞活化,这一功能独立于PD-1/PD-L1信号传导^[57]。对464例未接受过治疗和14例肝转移的胃癌样本分析表明,在41个胃癌样本(8.8%)中检测到VISTA在肿瘤细胞中的表达,并且2个为肝转移样本(14.3%),但未观察到与患者预后的显著相关性^[58]。

目前还有其他检查点分子,如TIM3、B7H3、LAG3和TIGIT,正在被评估为癌症免疫治疗的潜在靶点^[59]。

3.1.5 新辅助治疗中的检查点抑制剂

由于放化疗可能会损害免疫系统及免疫检查点的表达,因此有人提出在疾病的早期阶段,在新辅助治疗中增加免疫检查点抑制可能会导致更好的预后^[60]。目前多项研究正在进行中。

3.2 过继性细胞免疫疗法

T细胞和自然杀伤(NK)细胞的肿瘤杀伤能力为癌症治疗提供了另一种思路。过继性细胞免疫疗法是指从癌症患者中分离免疫细胞,随后进行调整修饰,增强其特异性识别和杀伤肿瘤细胞的能力,再进行离体扩增并将这些免疫细胞群重新回输患者体内的免疫治疗方法^[61]。该疗法适用于很多自身免疫能力低下的癌症患者,也可对免疫检查点抑制剂治疗反应差的患者应用,很有发展潜力。

3.2.1 使用NK细胞的过继免疫疗法

有研究表明NK细胞对同种异体和自体癌细胞系(包括胃癌细胞系)具有细胞毒活性^[62],且可以预防肿瘤转移扩散^[63]。

通过从癌症患者血液中分离自体外周血单核细胞并和K562细胞共培养,可以获得自体扩增的NK细胞并进行免疫治疗^[62]。羽扇豆醇(lupeol)具有刺激NK细胞对胃癌细胞的细胞溶解活性和抑制某些胃癌细胞系增殖的能力,因此羽扇豆醇与NK细胞过继免疫疗法联合可能成为胃癌的治疗策略之一^[64]。

与自体NK细胞相比,同种异体NK细胞更适合于质量控制和大规模生产,具有不受自身组织相容性抗原抑制的优点,并且不会引起移植物抗宿主排斥,似乎尤其适用于癌症免疫疗法。然而,获得足够数量的临床使用安全的NK细胞是面临的主要问题,而有研究从患有克隆性NK细胞淋巴瘤的患者

中取得 NK 细胞并建立细胞毒性细胞系,其中一种名为 NK-92 的细胞系已被输注到晚期癌症患者体内且显示出较多的临床益处和较少的不良反应^[65]。依此细胞系建立的 HER2-嵌合抗原受体(CAR)NK-92 细胞已经在原位人胶质母细胞瘤小鼠模型中显示出功效^[66]。或许以后可以成为 HER2+胃癌患者的治疗方法。

3.2.2 基于细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)的过继免疫疗法

CIK 细胞可以通过 IFN- γ 和 IL-2 处理外周血淋巴细胞获得^[67]。其主要是 CD3+CD8+CD56-细胞向终末分化的 CD56+自然杀伤 (NK)T 细胞的转变和扩增,不过一般仍含有其他种类的细胞。CIK 的细胞毒性由穿孔素释放介导,并且依赖于杀伤细胞凝集素如 NKG2D 和 NKG2D 配体之间的相互作用,体内的 CIK 细胞还可以通过分泌几种细胞因子和趋化因子来调节和增强宿主细胞免疫功能。

一些化学药物疗法(例如,多柔比星、米托蒽醌、奥沙利铂和环磷酰胺)可通过促进免疫细胞浸润到肿瘤中并通过诱导肿瘤细胞的免疫原性死亡来促进肿瘤抗原的释放而增加免疫疗法的效果^[68]。所以化疗和 CIK 疗法联合似乎可以增强疗效。治疗性胃切除术后的 II/III 期胃癌患者 CIK 疗法联合化疗作为辅助治疗的疗效评估显示,与单纯化疗组相比,患者 OS 明显延长^[69]。在晚期胃癌的病例中,一些临床研究也证实了化疗(FOLFOX4)加 CIK 疗法治疗患者的疗效,患者生活质量提高且 OS 增加^[70]。在胃癌患者中腹膜内给予 XELOX 加 CIK 细胞的联合治疗显示腹水量明显减少和 OS 增加^[71]。

3.2.3 嵌合抗原受体(CAR)-T 细胞疗法

嵌合抗原受体(CAR)-T 细胞(CAR-T)指的是从患者或者供体的血液中分离 T 细胞,活化并进行基因工程构建以表达特异抗原的受体。CAR-T 疗法是指将工程化的 CAR-T 细胞回输患者体内进行治疗的免疫疗法。CAR-T 细胞的细胞外部分是由 B 细胞受体衍生的单链可变片段组成的配体结合结构域和由 CD3 和一个或多个细胞内共刺激结构域组成的信号结构域。目前还可以设计识别两种不同抗原的 CAR-T 细胞,以及可以分泌 CAR 受体的 CAR-T 细胞,分泌的 CAR 受体可以直接杀伤肿瘤细胞,甚至能够将这种能力转移到“旁观者”T 细胞^[72]。T 细胞

受体(TCR)识别过程需要通过主要组织相容性(MHC)复合物呈递抗原。然而,相当大比例的肿瘤下调 MHC 表达以逃避免疫监视。CAR-T 细胞具有绕过对 MHC 相互作用和共刺激分子的需要的优点。

在胃癌的临床前模型中,使用对 HER2 癌蛋白特异的 CAR-T 细胞进行治疗以及使用双功能 α -HER2(Ag1)/CD3 (Ag2)RNA 工程化的 CAR-T 样人 T 细胞,诱导显著的肿瘤消退并延长荷瘤小鼠的存活^[72-73]。GC 的另一种治疗靶抗原是人癌胚抗原(CEA),一种在胃肠道癌中过表达的癌胚糖蛋白。为了增强 CAR-T 细胞的抗肿瘤活性和体内持久性,将 CAR-T 用构建体工程化,将 CEA 与 IL-2 的融合蛋白组合。与游离 IL-2 相比,CAR-T 细胞与 IL-2 的组合显著增强了对人 GC 细胞系 MKN-45 细胞的抗肿瘤活性^[74]。

一些临床试验正在研究具有不同抗原靶标的 CAR-T 细胞对于胃癌患者的疗效和安全性,包括 MUC1、EpCAM、CEA^[75]。

不过 CAR-T 细胞可能有独有的急性毒性,包括细胞因子释放综合征和 CAR-T 细胞相关性脑病综合征^[74,76],需要进一步研究和预防。

3.3 癌症疫苗

癌症疫苗是指通过利用肿瘤特异性抗原或 mRNA,通过抗原呈递细胞,大多为树突状细胞,呈递肿瘤抗原/MHC 复合物,激活免疫效应细胞,如 NK 细胞、B 淋巴细胞、幼稚和记忆 T 细胞来增强机体抗肿瘤免疫应答。

3.3.1 利用肿瘤相关抗原的癌症疫苗

HLA-A*2402 限制性 URLC10-A24-177 和血管表皮生长因子受体(VEGFR1-A12-9 1084)表位肽癌症疫苗被应用在晚期化疗耐药的胃癌患者中,结果显示诱导了特异性细胞毒性 T 细胞免疫反应并且安全性较好^[77]。一项 I 期研究表明使用 HER-2/neu 肽致敏的树突细胞疫苗可以使胃肿瘤缩小^[78]。

3.3.2 基于 RNA 转染的树突状细胞的癌症疫苗

基于 RNA 转染的树突状细胞的癌症疫苗由于需要树突状细胞表达相关抗原,相对于直接输注较为安全,且其不受 MHC 限制,可以靶向多种肿瘤相关抗原。

通过使用 GM-CSF 基因修饰的 DC 靶向免疫抑制性 IL-10 受体,取得了良好的实验结果^[79]。

3.3.3 接种癌症疫苗与化疗联合

卡介苗(BCG)辅助疫苗与单纯化疗联合应用可以显著改善局部晚期胃癌患者的手术治疗效果^[80]。使用源自人 VEGF1 和 VEGF2 的肽疫苗与标准化疗法(S1+顺铂)联合可改善晚期胃癌患者的 OS^[81]。显示化疗与疫苗接种联合是一种有效的治疗方法。

4 总结与展望

目前免疫疗法在晚期胃癌的临床前和临床实验中取得了较好的成果。免疫检查点抑制剂进展迅速,有望在数年内成为晚期胃癌的主流治疗方法之一,过继性细胞免疫疗法和癌症疫苗的研究也紧随其后。各种免疫疗法和传统治疗方法联合在合适的情况下可以减少毒副作用,增强疗效。为胃癌患者匹配个性化的免疫治疗方法并保证安全性和有效性可能是未来免疫治疗的主要发展方向,有赖于深入了解各种免疫疗法的机理,以及患者的免疫、分子及遗传特征并通过临床验证。期待免疫疗法在胃癌治疗中有更好的表现。

参考文献:

- [1] Goode EF, Smyth EC. Immunotherapy for gastroesophageal cancer[J]. J Clin Med, 2016, 5(10):84.
- [2] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. Int J Cancer, 2015, 136(5):E359-E386.
- [3] Okines AF, Norman AR, McCloud P, et al. Meta-analysis of the REAL-2 and ML17032 trials: evaluating capecitabine-based combination chemotherapy and infused 5-fluorouracil-based combination chemotherapy for the treatment of advanced oesophago-gastric cancer [J]. Ann Oncol, 2009, 20(9): 1529-1534.
- [4] 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.
- [5] Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma [J]. N Engl J Med, 2015, 373(19): 1803-1813.
- [6] Reck M, Rodríguez-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.
- [7] Matsueda S, Graham DY. Immunotherapy in gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(7): 1657-1666.
- [8] Niccolai E, Taddei A, Prisco D, et al. Gastric cancer and the epoch of immunotherapy approaches [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(19): 5778-5793.
- [9] Bonotto M, Garattini SK, Basile D, et al. Immunotherapy for gastric cancers: emerging role and future perspectives [J]. Expert Rev Clin Pharmacol, 2017, 10(6): 609-619.
- [10] Finn OJ. A believer's overview of cancer immunosurveillance and immunotherapy [J]. J Immunol, 2018, 200(2): 385-391.
- [11] Balch CM, Riley LB, Bae YJ, et al. Patterns of human tumor-infiltrating lymphocytes in 120 human cancers [J]. Arch Surg, 1990, 125(2): 200-205.
- [12] Zheng X, Song X, Shao Y, et al. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in gastric cancer: a meta-analysis [J]. Oncotarget, 2017, 8(34): 57386-57398.
- [13] Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion[J]. Science, 2011, 331(6024): 1565-1570.
- [14] Dai C, Geng R, Wang C, et al. Concordance of immune checkpoints within tumor immune contexture and their prognostic significance in gastric cancer [J]. Mol Oncol, 2016, 10(10): 1551-1558.
- [15] Sackstein R, Schatton T, Barthel SR. T-lymphocyte homing: an underappreciated yet critical hurdle for successful cancer immunotherapy[J]. Lab Invest, 2017, 97(6): 669-697.
- [16] Kang BW, Seo AN, Yoon S, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in Epstein-Barr virus-associated gastric cancer[J]. Ann Oncol, 2016, 27(3): 494-501.
- [17] Yuan L, Xu B, Yuan P, et al. Tumor-infiltrating CD4 + T cells in patients with gastric cancer [J]. Cancer Cell Int, 2017, 17(1): 114.
- [18] Liu K, Yang K, Wu B, et al. Tumor-infiltrating immune cells are associated with prognosis of gastric cancer [J]. Medicine (Baltimore), 2015, 94(39): e1631.
- [19] Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity[J]. Curr Opin Immunol, 2012, 24(2): 207-212.
- [20] Teng MW, Ngiow SF, Ribas A, et al. Classifying cancers based on T-cell infiltration and PD-L1 [J]. Cancer Res, 2015, 75(11): 2139-2145.
- [21] Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance[J]. Nature, 2014, 515(7528): 568-571.
- [22] Ma J, Li J, Hao Y, et al. Differentiated tumor immune microenvironment of Epstein-Barr virus-associated and negative gastric cancer: implication in prognosis and immunotherapy[J]. Oncotarget, 2017, 8(40): 67094-67103.
- [23] Bronte V, Brandau S, Chen SH, et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards[J]. Nat Commun, 2016, 7: 12150.
- [24] Choi BD, Gedeon PC, Herndon JE, et al. Human regulatory T cells kill tumor cells through granzyme-dependent cytotoxicity upon retargeting with a bispecific antibody[J]. Cancer Immunol Res, 2013, 1(3): 163.

- [25] Ben-Meir K, Twaik N, Baniyash M. Plasticity and biological diversity of myeloid derived suppressor cells [J]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 51: 154–161.
- [26] Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer [J]. *Nature*, 2002, 420(6917): 860–867.
- [27] Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 883–899.
- [28] Ohki S, Shibata M, Gonda K, et al. Circulating myeloid-derived suppressor cells are increased and correlate to immune suppression, inflammation and hypoproteinemia in patients with cancer[J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(2): 453–458.
- [29] Tan P, Yeoh KG. Genetics and molecular pathogenesis of gastric adenocarcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(5): 1153–1162.e3.
- [30] Zhu L, Li Z, Wang Y, et al. Microsatellite instability and survival in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Mol Clin Oncol*, 2015, 3(3): 699–705.
- [31] LeDT, UramJN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26): 2509–2520.
- [32] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma [J]. *Nature*, 2014, 513(7517): 202–209.
- [33] Kim SY, Park C, Kim HJ, et al. Deregulation of immune response genes in patients with Epstein-Barr virus-associated gastric cancer and outcomes [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(1): 137–147.e9.
- [34] Grogg KL, Lohse CM, Pankratz VS, et al. Lymphocyte-rich gastric cancer: associations with Epstein-Barr virus, microsatellite instability, histology, and survival[J]. *Mod Pathol*, 2003, 16(7): 641–651.
- [35] Ma J, Li J, Hao Y, et al. Differentiated tumor immune microenvironment of Epstein-Barr virus-associated and negative gastric cancer: implication in prognosis and immunotherapy[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(40): 67094–67103.
- [36] Melief CJ, Finn OJ. Cancer immunology[J]. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23(2): 234–236.
- [37] Simpson TR, Li F, Montalvo-Ortiz W, et al. Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of anti-CTLA-4 therapy against melanoma[J]. *J Exp Med*, 2013, 210(9): 1695–1710.
- [38] Wang J, Yuan R, Song W, et al. PD-1, PD-L1 (B7-H1) and tumor-site immune modulation therapy: the historical perspective[J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 34.
- [39] Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(26): 2455–2465.
- [40] Tran PN, Sarkissian S, Chao J, et al. PD-1 and PD-L1 as emerging therapeutic targets in gastric cancer: current evidence[J]. *Gastrointest Cancer*, 2017, 7: 1–11.
- [41] Böger C, Behrens HM, Mathiak M, et al. PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(17): 24269–24283.
- [42] Kim JW, Nam KH, Ahn SH, et al. Prognostic implications of immunosuppressive protein expression in tumors as well as immune cell infiltration within the tumor microenvironment in gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2016, 19(1): 42–52.
- [43] Gu L, Chen M, Guo D, et al. PD-L1 and gastric cancer prognosis: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182692.
- [44] Bang YJ, Cho JY, Kim YH, et al. Efficacy of sequential ipilimumab monotherapy vs best supportive care for unresectable locally advanced/metastatic gastric or gastroesophageal junction cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(19): 5671–5678.
- [45] Ralph C, Elkord E, Burt DJ, et al. Modulation of lymphocyte regulation for cancer therapy: a phase II trial of tremelimumab in advanced gastric and esophageal adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(5): 1662–1672.
- [46] Lyons TG, Ku GY. Systemic therapy for esophagogastric cancer: immune checkpoint inhibition[J]. *Chin Clin Oncol*, 2017, 6(5): 53.
- [47] Janjigian YY, Bendell J, Calvo E, et al. CheckMate-032 Study: efficacy and safety of nivolumab and nivolumab plus ipilimumab in patients with metastatic esophagogastric cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(28): 2836–2844.
- [48] Kang YK, Boku N, Satoh T, et al. Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2017, 390(10111): 2461–2471.
- [49] Muro K, Chung HC, Shankaran V, et al. Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial [J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(6): 717–726.
- [50] Charalampakis N, Economopoulou P, Kotsantis I, et al. Medical management of gastric cancer: a 2017 update[J]. *Cancer Med*, 2017, 7(1): 123–133.
- [51] Fuchs CS, Doi T, Jang RW, et al. Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: phase 2 clinical KEYNOTE-059 trial [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(5): e180013.
- [52] Bang YJ, Kang YK, Catenacci DV, et al. Pembrolizumab alone or in combination with chemotherapy as first-line therapy for patients with advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma: results from the phase II nonrandomized KEYNOTE-059 study [J]. *Gastric Cancer*, 2019, 22(4): 828–837.
- [53] Ohtsu A, Tabernero J, Bang Y J, et al. 232TIPKEYNOTE-061: pembrolizumab (MK-3475) versus paclitaxel as second-line therapy for advanced gastric or gastroesophageal junction (GEJ) adenocarcinoma [J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(Suppl 9): ix69.2–ix69.
- [54] Bang YJ, Ruiz EY, Van Cutsem E, et al. Phase III ,ran-

- domised trial of avelumab versus physician's choice of chemotherapy as third-line treatment of patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer: primary analysis of JAVELIN Gastric 300 [J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(10):2052–2060.
- [55] Segal NH, Hamid O, Hwu W. A phase I multi-arm dose-expansion study of the anti-programmed cell death-ligand-1 (PD-L1) antibody MEDI4736: preliminary data [J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(Suppl_4):iv361–iv372.
- [56] Golan T, Lin CC, Fu S, et al. PD-010 A multi-cohort phase 1 study of ramucirumab plus durvalumab: preliminary safety and clinical activity in patients with locally advanced and unresectable or metastatic gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma[J]. *Ann Oncol*, 2017, Volume 28, Issue suppl_3, June 2017, mdx263.009, <http://doi.org/10.1093/annonc/mdx263.009>.
- [57] Nowak EC, Lines JL, Varn FS, et al. Immunoregulatory functions of VISTA[J]. *Immunol Rev*, 2017, 276(1):66–79.
- [58] Böger C, Behrens HM, Krüger S, et al. The novel negative checkpoint regulator VISTA is expressed in gastric carcinoma and associated with PD-L1/PD-1: a future perspective for a combined gastric cancer therapy? [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(4):e1293215.
- [59] Sharma P, Allison JP. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential[J]. *Cell*, 2015, 161(2):205–214.
- [60] Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4):252–264.
- [61] Yang JC, Rosenberg SA. Adoptive T-cell therapy for cancer[J]. *Adv Immunol*, 2016, 130:279–294.
- [62] Voskens CJ, Watanabe R, Rollins S, et al. Ex-vivo expanded human NK cells express activating receptors that mediate cytotoxicity of allogeneic and autologous cancer cell lines by direct recognition and antibody directed cellular cytotoxicity[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29:134.
- [63] Langers I, Renoux VM, Thiry M, et al. Natural killer cells: role in local tumor growth and metastasis. [J]. *Biologics*, 2012, 6:73–82.
- [64] Wu XT, Liu JQ, Lu XT, et al. The enhanced effect of luteal on the destruction of gastric cancer cells by NK cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 16(2):332–340.
- [65] Klingemann H, Boissel L, Toneguzzo F. Natural killer cells for immunotherapy-advantages of the NK-92 cell line over blood NK cells[J]. *Front Immunol*, 2016, 7:91.
- [66] Zhang C, Burger MC, Jennewein L, et al. ErbB2/HER2-specific NK cells for targeted therapy of glioblastoma[J]. *J Natl Cancer Inst*, Volume 108, Issue 5, May 2016, djv375, <http://doi.org/10.1093/jnci/djv375>.
- [67] Guo Y, Han W. Cytokine-induced killer (CIK) cells: from basic research to clinical translation [J]. *Chin J Cancer*, 2015, 34(3):99–107.
- [68] Pfirschke C, Engblom C, Rickelt S, et al. Immunogenic chemotherapy sensitizes tumors to checkpoint blockade therapy[J]. *Immunity*, 2016, 44(2):343–354.
- [69] Zhao H, Fan Y, Li H, et al. Immunotherapy with cytokine-induced killer cells as an adjuvant treatment for advanced gastric carcinoma: a retrospective study of 165 patients[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2013, 28(4):303–309.
- [70] Jiang JT, Shen YP, Wu CP, et al. Increasing the frequency of CIK cells adoptive immunotherapy may decrease risk of death in gastric cancer patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(48):6155–6162.
- [71] Jäkel CE, Vogt A, Gonzalez-Carmona MA, et al. Clinical studies applying cytokine-induced killer cells for the treatment of gastrointestinal tumors [J]. *J Immunol Res*, 2014, 2014(1):897214.
- [72] Luo F, Qian J, Yang J, et al. Bifunctional α HER2/CD3 RNA-engineered CART-like human T cells specifically eliminate HER2+ gastric cancer[J]. *Cell Res*, 2016, 26(7):850–853.
- [73] Han Y, Liu C, Li G, et al. Antitumor effects and persistence of a novel HER2 CAR-T cells directed to gastric cancer in preclinical models[J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(1):106–119.
- [74] Shibaguchi H, Luo N, Shirasu N, et al. Enhancement of anti-tumor activity by using a fully human gene encoding a single-chain fragmented antibody specific for carcinoembryonic antigen[J]. *Oncol Targets Ther*, 2017, 10:3979–3990.
- [75] Dolcetti R, De Re V, Canzonieri V. Immunotherapy for gastric cancer: time for a personalized approach? [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6):1602.
- [76] Morgan RA, Yang JC, Kitano M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(4):843–851.
- [77] Higashihara Y, Kato J, Nagahara A, et al. Phase I clinical trial of peptide vaccination with URLC10 and VEGFR1 epitope peptides in patients with advanced gastric cancer[J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(3):662–668.
- [78] Koji K, Akihiro T, Fumiko I, et al. Prognostic significance of adoptive immunotherapy with tumor-associated lymphocytes in patients with advanced gastric cancer: a randomized trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(6):1767.
- [79] Kim JH, Kang TH, Noh KH, et al. Blocking the immunosuppressive axis with small interfering RNA targeting interleukin (IL)-10 receptor enhances dendritic cell-based vaccine potency[J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 165(2):180–189.
- [80] Popiela T, Kulig J, Czupryna A, et al. Efficiency of adjuvant immunochemotherapy following curative resection in patients with locally advanced gastric cancer [J]. *Gastric Cancer*, 2004, 7(4):240–245.
- [81] Masuzawa T, Fujiwara Y, Okada K, et al. Phase I/II study of S-1 plus cisplatin combined with peptide vaccines for human vascular endothelial growth factor receptor 1 and 2 in patients with advanced gastric cancer [J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(4):1297–1304.