

免疫检测点在宫颈癌中的研究进展

杨 潇, 王艳清, 鲜 舒, 程艳香

(武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

摘 要: T细胞是杀伤表达肿瘤特异性抗原的肿瘤细胞的重要成分。众所周知, 肿瘤免疫逃逸是肿瘤发生发展的一个重要机制。免疫检测点治疗是以 T细胞的调节通路为靶点来提高抗肿瘤效应的治疗方法。近年来, 免疫检测点参与肿瘤免疫逃逸而受到极大的关注, 并在肿瘤免疫治疗方面取得了有效进展。全文就免疫检测点与宫颈癌治疗的应用研究进展作一综述。

关键词: 免疫检测点; PD-1; CTLA-4; 宫颈癌

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)03-0258-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.03.B017

Advances in Immune Checkpoint Therapy in Cervical Cancer

YANG Xiao, WANG Yan-qing, XIAN Shu, et al.

(Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: T cells are important components of killing tumor cells that express tumor specific antigen. It is well known that tumor immune escape is an important mechanism of tumor development. Immune checkpoint therapy is a therapeutic approach to improve the anti-tumor effect by targeting regulatory pathway of T cells. In recent years, the immune checkpoint is involved in tumor immune escape, and it has made great progress in tumor immunotherapy. In this paper, we reviewed the progress in the application of Immune checkpoint and cervical cancer treatment.

Subject words: immune checkpoint; PD-1; CTLA-4; cervical cancer

宫颈癌是女性生殖系统的常见恶性肿瘤, 严重威胁着我国妇女健康^[1]。近年来肿瘤免疫靶向治疗受到广泛关注, 尤其是免疫检测点阻断治疗已进入临床试验并用于多种肿瘤的治疗。免疫检测点包括细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4, CTLA-4), 程序性死亡因子-1 (programmed death-1, PD-1), T 细胞免疫球蛋白黏蛋白-3 (T cell immunoglobulin domain and mucin domain-3, Tim-3), 它们通过与肿瘤细胞表面相应配体结合以诱导 T 细胞的免疫抑制反应, 促进 T 细胞功能的衰竭, 促使肿瘤细胞逃避免疫系统的监视^[2]。FDA 批准的三种免疫疗法药物中, 一种是 2011 年得到批准的特异性结合 T 细胞表面 CTLA-4 受体的抗体类药物 Ipilimumab^[3]。另外两种是 2014 年得到

获批的特异性结合 T 细胞表面 PD-1 受体的抗体类药物, Pembrolizumab 与 Nivolumab, 用于黑色素瘤、非小细胞肺癌等的治疗^[4,5]。PD-1 和 CTLA-4 抗体是癌症免疫疗法中的重要成员, 为晚期黑色素瘤患者带来了前所未有的希望, 并且在其他癌症类型中也显示出了巨大的潜力。本文重点就免疫检测点 PD-1 和 CTLA-4 参与肿瘤发生发展的重要机制, 以及在宫颈癌的治疗中的研究进展作一综述。

1 免疫检测点功能介绍

1.1 PD-1/PD-Ls 结构与表达分布

PD-1 是一种负性共刺激分子, 主要表达在活化的 T 细胞、自然杀伤细胞和 B 细胞上, 属于 CD28 免疫球蛋白家族成员。PD-L1 和 PD-L2 是 PD-1 的两个配体, 均属于 I 型跨膜糖蛋白, 包含含 IgC 和 IgV 两个结构域。PD-L1 属于 B7 家族, 表达在多种细胞类型, 包括 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、树突状细胞、骨髓来源的肥大细胞、上皮细胞、内皮细胞, 且多种恶

基金项目: 湖北省科技厅科技项目支撑计划 (2015BCA313); 湖北省卫计委一般面上项目 (WJ2015MB084); 国家自然科学基金 (81302273)

通讯作者: 程艳香, 副主任医师, 副教授, 博士; 武汉大学人民医院妇产科, 湖北省武汉市武昌区解放路 238 号 (430060); E-mail: doctornancy@qq.com

收稿日期: 2017-02-20; **修回日期:** 2017-08-29

性肿瘤细胞在活化 T 细胞产生的细胞因子 IFN- γ 刺激下细胞表 PD-L1 的表达明显上调^[6,7]。与 PD-L1 不同的是,PD-L2 仅表达于活化的树突状细胞、巨噬细胞、骨髓来源的肥大细胞^[8]。在胸腺中,PD-L1 大多在皮质中表达,而 PD-L2 的表达局限在骨髓间充质干细胞^[9]。虽然 PD-L2 对 T 细胞的功能也有一定的影响,但至今尚无确切定论,也有研究表明其可参与肿瘤免疫逃逸过程^[10]。

1.2 CTLA-4 结构与表达分布

CTLA-4,是一类与 CD28 高度同源的分子,定位于染色体 2q33,是活化 T 淋巴细胞表面表达的一种抑制性受体,与 CD28 共刺激分子一样,CTLA-4 与 B7 家族分子具有高度的亲和性,CD28 与 CTLA-4 有共同的配体 CD80(B7.1)和 CD86(B7.2)。CTLA-4 与 CD80/CD86 结合强度要高于 CD28。当抗原与 T 细胞表面的抗原受体(T cell receptor,TCR)结合时,CD28 可以通过强化 TCR 信号通路来激活 T 细胞免疫功能。起初 CTLA-4 被认为是另一种共刺激分子,后来证实 CTLA-4 与 CD28 的作用完全相反,T 细胞活化后可上调细胞表面抑制性受体 CTLA-4 的表达,抑制 T 细胞的活化,对抗 CD28 的共刺激作用以及下调 T 细胞免疫应答反应^[11,12]。

2 免疫检测点参与肿瘤免疫逃逸发生的机制

肿瘤免疫逃逸是肿瘤发生发展的先决条件^[13]。肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes,TILs)到达肿瘤部位后,通过 TCR 识别肿瘤细胞抗原,释放干扰素 γ (INF- γ)以及 T 细胞毒性颗粒杀伤肿瘤细胞。肿瘤可通过建立不同机制逃避免疫系统的监视,包括 T 细胞功能丧失和 T 细胞耗竭,其主要依赖于免疫抑制性受体的表达,如 CTLA-4、PD-1、Tim-3^[14]。

2.1 PD-1/PD-Ls 在宫颈癌中的作用

近年来的研究发现 T 细胞 PD-1 受体及其配体 B7-H1/PD-L1 和 B7-DC/PD-L2 在维持免疫抑制肿瘤微环境中发挥重要的作用^[15]。宫颈癌等多种肿瘤细胞表面高表达 PD-L1,当肿瘤细胞表面表达的 PD-L1 与 T 淋巴细胞表面表达的 PD-1 结合时,可激活 PD-1 下游信号通路,诱导 T 细胞衰竭,抑制细胞因

子释放,使 T 细胞抗肿瘤免疫功能减弱,促使肿瘤逃脱免疫系统的监视^[16,17]。Yang 等^[18]发现,PD-1/PD-L1 表达与由 HPV 感染诱导的宫颈上皮内瘤变进展程度呈正相关。宫颈癌患者外周血中 PD-1 表达与肿瘤分化程度相关,淋巴结转移和侵袭密切相关,在宫颈癌微环境中,T 细胞高表达 PD-1 以及树突状细胞高表达 PD-L1 可以抑制 T 细胞的增殖和功能,Treg 细胞表面高表达 PD-1,增强 IL-10 和 TGF- β 的分泌,抑制 IFN- γ 生成,负性调控抗肿瘤免疫应答反应^[19],表明 PD-1/PD-L1 信号途径可能通过 Treg 细胞以及相应的效应因子 TGF- β 和 IL-10 促进宫颈癌的进展过程。也有研究表明 PD-1 可以通过影响下游 Akt 和 Ras 信号通路途径来调控 T 细胞的细胞周期和抑制细胞增殖^[20]。

血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A,VEGF-A)作为促血管生成的分子在肿瘤生长增殖中起关键作用,其可通过上调肿瘤细胞表面 PD-L1 以及其他免疫检测点的表达,抑制 CD8⁺T 细胞的功能^[21]。另外,表达于抗原提呈细胞上的 PD-L1 也可以与 CD80 结合,从而抑制免疫应答,抑制细胞因子的产生^[20]。Zhang 等^[22]研究报道,宫颈癌大鼠模型中,放疗一个月后 PD-1 和 PD-L1 的表达明显升高,且与 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞的百分比呈负相关,表明放化疗可通过活化 PD-1/PD-L1 途径诱导免疫抑制反应;且相比于 CD4⁺T 细胞,PD-1 的表达与 CD8⁺T 细胞具有更高的相关性。其可能的机制是,放疗可引起树突状细胞聚集,肿瘤细胞脱氧腺苷一磷酸的释放,以及 I 型干扰素依赖的肿瘤特异性 CD8⁺T 反应,CD8⁺T 产生 IFN- γ ,最终导致肿瘤细胞表面 PD-L1 的表达升高^[23]。因此,当免疫系统受抑制时,肿瘤细胞可成功逃脱免疫系统的监视,促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移。

2.2 CTLA-4 在宫颈癌中的作用

目前 CTLA-4 在宫颈癌中的研究主要集中在 CTLA-4 基因多态性与宫颈癌易感性间的关系。一项 meta 分析研究表明,CTLA-4 基因的+49A/G 和 318c/T 多态性与发生宫颈癌风险性显著性相关^[24]。CTLA-4-318T/C 和 CT60G/A 可以通过改变个体的免疫反应性来影响宫颈癌易感性^[25]。另研究报道显示,晚期宫颈癌患者外周血 T 细胞表面的 CD28 分子表达下降,CTLA-4 表达升高,这些分子的表达失调导致淋巴细胞功能受损和由于免疫抑制性反应促进的肿瘤

的发生和发展^[26]。

与 PD-1 类似,CTLA-4 也是通过抑制 T 免疫功能进一步诱导 T 细胞衰竭而发挥作用^[27]。尽管有研究表明,CTLA-4 抑制 T 细胞功能可能是通过协同 CD28 信号共同激活 TCR 下游蛋白磷酸酶 SHP2 和 PP2A 的表达。也有研究表明,在体内外实验均观察到,CTLA-4 可以通过抗原提呈细胞 (antigen-presenting cell, APC) 捕获共刺激配体 CD80 和 CD86 并进行跨细胞内吞,之后这些共刺激配体在表达 CTLA-4 的细胞内进行降解,CD28 共刺激信号减少,最终导致 T 细胞活化受抑制^[28]。目前 CTLA-4 负性调控 T 细胞免疫功能的具体通路机制仍在研究探索中。

3 免疫检测点免疫治疗

PD-1 和 CTLA-4 均为抑制性免疫受体,但 CTLA-4 主要在淋巴结内 APC 诱导 T 细胞活化的阶段通过干扰共刺激信号发挥免疫抑制作用,而 PD-1 并不影响共刺激信号,而是在肿瘤部位 T 细胞的效应阶段通过干扰肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) 抗原受体信号来发挥免疫抑制作用^[29]。由于 PD-1 抑制性抗体是在肿瘤部位发挥作用,因此,PD-1 抑制性抗体的抗肿瘤作用有可能优于 CTLA-4 抑制性抗体,且副作用更小。

3.1 PD-1 抑制剂治疗

目前多种肿瘤免疫治疗的临床试验研究大多以 PD-L1/PD-1 信号轴作为治疗靶点。美国 FDA 从 2014 年末至今依次批准了 Pembrolizumab 和 Nivolumab 均为 PD-1 的新型抗体药物,用于治疗晚期黑色素瘤、肾细胞癌和非小细胞肺癌等^[30]。研究发现 96% 的晚期宫颈癌患者高表达 PD-L1,提示抗 PD-1 或抗 PD-L1 治疗可能成为晚期宫颈癌治疗的新策略^[31]。最新的研究表明,PD-1/PD-L1 抑制剂通过增强肿瘤抗原特异性 CD8⁺T 细胞增殖和功能,抑制调节性 T 细胞 (Treg 细胞) 和抑制髓源性抑制细胞 (MDSC),上调细胞因子和 T 记忆细胞的产生来增强抗肿瘤作用^[32]。Heeren 等^[33]通过流式细胞术分型和免疫细胞亚群计数发现,淋巴结转移阳性宫颈癌微环境中 CD4⁺T 细胞低表达和 CD8⁺T 细胞高表达,伴随 HLA-DR、ICOS、PD-1、CTLA-4 的表达升高;且在淋巴结阳性宫颈癌组织中发现抗原提呈细

胞 CD11c(hi)CD14(+)PD-L1(+)亚型升高,它能够促进 FoxP3(+) 的调节性 T 细胞 (Treg) 的表达,提示 CD14(+)PD-L1(+) APC/Treg 轴可能成为解决微环境免疫抑制问题的新的靶点,从而提高转移性宫颈癌患者免疫治疗的疗效。

众所周知,高危型人乳头瘤病毒 (high risk-human papilloma virus, HR-HPV) 持续性感染是致宫颈癌的必要条件,大约有 98.5% 的侵袭性宫颈癌中可检测到 HPV 的存在,提示着 HPV 感染与 CIN 以致进一步导致的宫颈癌有着密切的联系^[34]。研究发现病毒感染导致的肿瘤表现出特殊的免疫学特性,这些癌症对免疫检测点抑制剂的反应明显与其他肿瘤不同^[35]。病毒感染引起的肿瘤中 PD-L1 的表达相对于非感染肿瘤更高。与 HPV 阴性肿瘤相比,HPV 阳性肿瘤中 PD-L1 的表达水平由 29% 升高到 70%^[36]。提示着阻断 PD-1/PD-L1 间的相互作用可能为 HPV 阳性宫颈癌患者的治疗提供新的治疗策略。

3.2 CTLA-4 抑制剂治疗

目前以 CTLA-4 为靶点的阻断药物受到广泛关注并成为肿瘤靶向免疫治疗的研究热点^[37]。2011 年 FDA 批准的易普利姆玛 (Ipilimumab) 是一种靶向 CTLA-4 的单克隆抗体药物,其可阻断 CTLA-4 与配体结合,增强 T 细胞的免疫应答功能。在临床试验中,与对照组相比,Ipilimumab 治疗能够显著性改善转移性黑色素瘤患者总生存期^[38,39]。Ipilimumab 在多种肿瘤,如恶性转移性黑色素细胞瘤^[40]、前列腺癌^[41]、卵巢癌^[42] 的临床 I 期和 II 期试验中均取得比较好的疗效,增强抗肿瘤免疫反应。实验冷冻消融是目前用于靶向治疗肿瘤结节的有效方法,有研究结果表明,阻断 CTLA-4 与冷冻消融治疗的有效联合将增强抗肿瘤免疫和抑制肿瘤转移^[43]。

肿瘤免疫治疗的关键在于寻找一种既可以诱导免疫反应又不引起自身免疫疾病的方法。肿瘤部位的调节性 T 细胞可通过抑制 CD8⁺T 细胞诱导抗肿瘤免疫反应抑制作用。然而当抑制 Treg 细胞功能时有诱导自身免疫的风险。同时全身性 CTLA-4 抗体治疗在抗肿瘤的同时也会诱导自身免疫反应^[44]。然而有研究发现,在大鼠宫颈癌模型中,肿瘤部位局部阻断 CTLA-4 联合系统性 Treg 细胞消除,能够有效诱导抗肿瘤免疫反应,并未观察到自身免疫反应现象^[45]。两者联合可能成为潜在的免疫治疗的新方法。

3.3 PD-1 与CTLA-4 抑制剂联合治疗

CTLA-4 的激活主要抑制淋巴组织中 T 细胞活化早期阶段免疫反应。因此,当阻断 CTLA-4 时可能会导致广泛的、非特异性的免疫系统激活,发生与免疫系统激活相应的不良反应。与 CTLA-4 不同的是,PD-1 主要在周围组织和肿瘤微环境中与其配体相互作用。因此,PD-1 抑制剂的作用更具有针对特异性。研究表明,卵巢癌荷瘤小鼠中阻断一种检查位点 PD-1 的表达能够上调其他检查位点如 CTLA-4 和 LAG-3 的表达,相比于单纯一种免疫检测点抑制剂,联合运用两种或者三种免疫检测点抑制剂能够使荷瘤小鼠的生存期从 20% 提高到 40%^[46]。由于 CTLA-4 与 PD-1 的作用机制不同,因此也就意味着两种药物联合使用或许会获得更佳的治疗效果。2013 年,Ⅰ期临床试验的结果证明:CTLA-4 抗体药物 (Ipilimumab) 与 PD-1 抗体药物 (Nivolumab) 联合用药能够抑制 50% 晚期黑色素瘤患者的肿瘤恶化情况^[47]。最近,抗 CTLA-4 抗体药物 Ipilimumab 已在Ⅲ期黑色素瘤中得到批准,并且联合 Nivolumab 可以作为晚期和转移性黑色素瘤的一线治疗方法^[48]。免疫检测点 CTLA-4 和 PD-1 阻断剂药物也已经进入晚期宫颈癌Ⅱ期临床试验研究^[49]。

3.4 PD-1、CTLA-4 抑制剂与 HPV E6、E7 疫苗联合疗法

宫颈癌的发病特征在于持续性的人乳头瘤状病毒 (human papillomavirus, HPV) 的感染。E6 和 E7 基因持续性表达是 HPV 的主要致病因素,E6 和 E7 蛋白能够激发机体抗肿瘤的细胞毒性淋巴细胞应答 (CTL), 因此将 E6、E7 蛋白被视为肿瘤特异性抗原用于疫苗的开发^[50]。近几年,针对 HPV 的相关预防性疫苗的成功上市使宫颈癌的预防研究取得了重大的突破。然而,由于 E6、E7 蛋白的免疫原性较差,仍然缺乏有效的治疗疫苗。有报道称,靶向 E7 蛋白的 DC(DEC205)疫苗联合 PD-L1 抑制剂能够显著提高宫颈癌免疫治疗疗效^[51]。CCL21 佐剂联合 PD-1 抑制剂组成的 DNA 疫苗可减少肿瘤内 VEGF 和 IL-10 以及脾脏内 IL-4 的表达,并诱导脾脏 IFN- γ 的表达,大大增强细胞毒性 T 淋巴细胞和淋巴细胞的增殖率,增强抗肿瘤免疫反应,并且能够显著性抑制肿瘤细胞的增殖^[52]。Rice 等^[53]研究同样证实了 HPV-E6/E7 疫苗联合 PD-1 抑制剂的抗肿瘤效果,

并发现 HPV-E6/E7 疫苗联合 PD-1 抑制剂能够减少宫颈癌中肿瘤细胞 PD-L1 的表达以及减少 PD-1 表达阳性的 T 细胞的数量,而 CD8⁺ T 细胞的表达水平无变化。另有研究发现,融合细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4 (CTLA-4) 与 HPV16 E7、E6 疫苗作为融合性治疗 DNA 疫苗 (pCTLA4-E7E6) 与单纯性 E6、E7 疫苗相比,能够提高治疗性疫苗的抗肿瘤作用^[54]。因此,研究表明免疫检测点疗法联合 HPV E6、E7 疫苗能够显著提高疫苗的治疗效果,并有可能成为宫颈癌治疗的新策略,并进一步应用于临床试验研究。目前一项有关 Nivolumab 在由病毒引起的肿瘤中安全性和有效性Ⅰ/Ⅱ期试验正在进行 (NCT02488759)。一项 Nivolumab 联合 HPV-16 疫苗治疗 HPV16 阳性肿瘤的Ⅱ期临床试验也在试行中。

综上所述,免疫检测点疗法联合其他疗法是宫颈癌及其他肿瘤治疗中的一项重大进步。根据病毒感染导致的癌症的免疫特殊性,检测点抑制剂或检查点抑制剂组合可能成为 HPV 感染致宫颈癌的有前途的治疗药物,尚需要更多生物以及临床水平试验来进行验证。在宫颈癌治疗中 PD-1 抑制性抗体、PD-L1 抑制性抗体、CTLA-4 抑制性抗体以及肿瘤疫苗之间可能存在协同作用。尽管检测点抑制剂已经产生巨大临床效应,但是还有很多问题尚未解决,如缺乏评估肿瘤反应的标准化预测因子,时间、剂量和给药方式以及对免疫系统激活产生副作用的不可预测性^[55]。因此,仍需进一步深入研究免疫检测点在宫颈癌中的作用机制及疗效,有效管理药物运用中的不良反应事件也将成为将来研究的重点。

参考文献:

- [1] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 9-29.
- [2] Fourcade J, Sun Z, Pagliano O, et al. PD-1 and Tim-3 regulate the expansion of tumor antigen-specific CD8⁺ T cells induced by melanoma vaccines[J]. Cancer Res, 2014, 74(4): 1045-1055.
- [3] Sharma P, Wagner K, Wolchok JD, et al. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps[J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(11): 805-812.
- [4] Sunshine J, Taube JM. PD-1/PD-L1 inhibitors[J]. Curr Opin Pharmacol, 2015, 23: 32-38.
- [5] Swaika A, Hammond WA, Joseph RW. Current state of

- anti-PD-L1 and anti-PD-1 agents in cancer therapy [J]. *Mol Immunol*, 2015, 67(2 Pt A): 4–17.
- [6] Yamazaki T, Akiba H, Iwai H, et al. Expression of programmed death 1 ligands by murine T cells and APC[J]. *J Immunol*, 2002, 169(10): 5538–5545.
- [7] Sui X, Ma J, Han W, et al. The anticancer immune response of anti-PD-1/PD-L1 and the genetic determinants of response to anti-PD-1/PD-L1 antibodies in cancer patients[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(23): 19393–19404.
- [8] Zhong X, Tumang JR, Gao W, et al. PD-L2 expression extends beyond dendritic cells/macrophages to B1 cells enriched for V(H)11/V(H)12 and phosphatidylcholine binding[J]. *Eur J Immunol*, 2007, 37(9): 2405–2410.
- [9] Liang SC, Latchman YE, Buhlmann JE, et al. Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses [J]. *Eur J Immunol*, 2003, 33(10): 2706–2716.
- [10] Latchman Y, Wood CR, Chernova T, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(3): 261–268.
- [11] Schneider H, Mandelbrot DA, Greenwald RJ, et al. Cutting edge: CTLA-4 (CD152) differentially regulates mitogen-activated protein kinases (extracellular signal-regulated kinase and c-Jun N-terminal kinase) in CD4+ T cells from receptor/ligand-deficient mice [J]. *J Immunol*, 2002, 169(7): 3475–3479.
- [12] Su TH, Chang TY, Lee YJ, et al. CTLA-4 gene and susceptibility to human papillomavirus-16-associated cervical squamous cell carcinoma in Taiwanese women[J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(6): 1237–1240.
- [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] Voron T, Colussi O, Marcheteau E, et al. VEGF-A modulates expression of inhibitory checkpoints on CD8+ T cells in tumors[J]. *J Exp Med*, 2015, 212(2): 139–148.
- [15] Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients[J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 563–567.
- [16] Okazaki T, Chikuma S, Iwai Y, et al. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(12): 1212–1218.
- [17] Heeren AM, Punt S, Bleeker MC, et al. Prognostic effect of different PD-L1 expression patterns in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix[J]. *Mod Pathol*, 2016, 29(7): 753–763.
- [18] Yang W, Song Y, Lu YL, et al. Increased expression of programmed death (PD)-1 and its ligand PD-L1 correlates with impaired cell-mediated immunity in high-risk human papillomavirus-related cervical intraepithelial neoplasia[J]. *Immunology*, 2013, 139(4): 513–522.
- [19] Chen Z, Pang N, Du R, et al. Elevated expression of programmed death-1 and programmed death ligand-1 negatively regulates immune response against cervical cancer cells[J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 6891482.
- [20] Patsoukis N, Brown J, Petkova V, et al. Selective effects of PD-1 on Akt and Ras pathways regulate molecular components of the cell cycle and inhibit T cell proliferation[J]. *Sci Signal*, 2012, 5(230): ra46.
- [21] Joseph RW, Parasramka M, Eckel-Passow JE, et al. Inverse association between programmed death ligand 1 and genes in the VEGF pathway in primary clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cancer Immunol Res*, 2013, 1(6): 378–385.
- [22] Zhang SA, Niyazi HE, Hong W, et al. Effect of EB13 on radiation-induced immunosuppression of cervical cancer HeLa cells by regulating Treg cells through PD-1/PD-L1 pathway[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(3): 1010428317692237.
- [23] Dovedi SJ, Adlard AL, Lipowska-Bhalla G, et al. Acquired resistance to fractionated radiotherapy can be overcome by concurrent PD-L1 blockade[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(19): 5458–5468.
- [24] Liu P, Xu L, Sun Y, et al. The association between cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 and cervical cancer[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(4): 2893–2903.
- [25] Xiong YH, He L, Fei J. Genetic variations in cytotoxic T lymphocyte antigen-4 and susceptibility to cervical cancer [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 18(1): 71–76.
- [26] Kosmaczewska A, Bocko D, Ciszak L, et al. Dysregulated expression of both the costimulatory CD28 and inhibitory CTLA-4 molecules in PB T cells of advanced cervical cancer patients suggests systemic immunosuppression related to disease progression[J]. *Pathol Oncol Res*, 2012, 18(2): 479–489.
- [27] Chen X, Shao Q, Hao S, et al. CTLA-4 positive breast cancer cells suppress dendritic cells maturation and function[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(8): 13703–73715.
- [28] Qureshi OS, 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.
- [29] Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited[J]. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23: 515–548.
- [30] Hazarika M, Chuk MK, Theoret MR, et al. U.S. FDA Approval Summary: Nivolumab for Treatment of Unresectable or Metastatic Melanoma Following Progression on Ipili-

- mumab[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(14):3484–3488.
- [31] Enwere EK, Kornaga EN, Dean M, et al. Expression of PD-L1 and presence of CD8-positive T cells in pre-treatment specimens of locally advanced cervical cancer[J]. Mod Pathol, 2017, 30(4):577–586.
- [32] Duraiswamy J, Freeman GJ, Coukos G. Therapeutic PD-1 pathway blockade augments with other modalities of immunotherapy T-cell function to prevent immune decline in ovarian cancer[J]. Cancer Res, 2013, 73(23):6900–6912.
- [33] Heeren AM, Koster BD, Samuels S, et al. High and inter-related rates of PD-L1 + CD14 + antigen-presenting cells and regulatory T cells mark the microenvironment of metastatic lymph nodes from patients with cervical cancer[J]. Cancer Immunol Res, 2015, 3(1):48–58.
- [34] Garland SM, Brotherton JM, Condon JR, et al. Human papillomavirus prevalence among indigenous and non-indigenous Australian women prior to a national HPV vaccination program[J]. BMC Med, 2011, 9:104.
- [35] Kanaan H, Kourie HR, Awada AH. Are virus-induced cancers more sensitive to checkpoint inhibitors?[J]. Future Oncol, 2016, 12(23):2665–2668.
- [36] Turnell AS, Grand RJ. DNA viruses and the cellular DNA-damage response [J]. J Gen Virol, 2012, 93(Pt10):2076–2097.
- [37] Van Elsas A, Suttmüller RP, Hurwitz AA, et al. Elucidating the autoimmune and antitumor effector mechanisms of a treatment based on cytotoxic T lymphocyte antigen-4 blockade in combination with a B16 melanoma vaccine: comparison of prophylaxis and therapy[J]. J Exp Med, 2001, 194(4):481–489.
- [38] Hodi FS, O’day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma[J]. N Engl J Med, 2010, 363(8):711–723.
- [39] Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma [J]. N Engl J Med, 2011, 364(26):2517–2526.
- [40] Weber JS, O’day S, Urban W, et al. Phase I/II study of ipilimumab for patients with metastatic melanoma[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(36):5950–5956.
- [41] Van Den Eertwegh AJ, Versluis J, Van Den Berg HP, et al. Combined immunotherapy with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transduced allogeneic prostate cancer cells and ipilimumab in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase 1 dose-escalation trial[J]. Lancet Oncol, 2012, 13(5):509–517.
- [42] Hodi FS, Butler M, Oble DA, et al. Immunologic and clinical effects of antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 in previously vaccinated cancer patients[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(8):3005–3010.
- [43] Waitz R, Solomon SB, Petre EN, et al. Potent induction of tumor immunity by combining tumor cryoablation with anti-CTLA-4 therapy[J]. Cancer Res, 2012, 72(2):430–439.
- [44] Maker AV, Attia P, Rosenberg SA. Analysis of the cellular mechanism of antitumor responses and auto-immunity in patients treated with CTLA-4 blockade [J]. J Immunol, 2005, 175(11):7746–7754.
- [45] Tuve S, Chen BM, Liu Y, et al. Combination of tumor site-located CTL-associated antigen-4 blockade and systemic regulatory T-cell depletion induces tumor-destructive immune responses[J]. Cancer Res, 2007, 67(12):5929–5939.
- [46] Huang RY, Francois A, McGray AR, et al. Compensatory upregulation of PD-1, LAG-3, and CTLA-4 limits the efficacy of single-agent checkpoint blockade in metastatic ovarian cancer[J]. Oncoimmunology, 2017, 6(1):e1249561.
- [47] Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma[J]. N Engl J Med, 2013, 369(2):122–133.
- [48] Tanaka R, Fujisawa Y, Sae I, et al. Severe hepatitis arising from ipilimumab administration, following melanoma treatment with nivolumab[J]. Jpn J Clin Oncol, 2017, 47(2):175–178.
- [49] Boussios S, Seraj E, Zarkavelis G, et al. Management of patients with recurrent/advanced cervical cancer beyond first line platinum regimens; Where do we stand? A literature review[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2016, 108:164–174.
- [50] Hoory T, Monie A, Gravitt P, et al. Molecular epidemiology of human papillomavirus[J]. J Formos Med Assoc, 2008, 107(3):198–217.
- [51] Liu Z, Zhou H, Wang W, et al. A novel dendritic cell targeting HPV16 E7 synthetic vaccine in combination with PD-L1 blockade elicits therapeutic antitumor immunity in mice[J]. Oncoimmunology, 2016, 5(6):e1147641.
- [52] Moeini S, Saeidi M, Fotouhi F, et al. Synergistic effect of programmed cell death protein 1 blockade and secondary lymphoid tissue chemokine in the induction of anti-tumor immunity by a therapeutic cancer vaccine [J]. Arch Virol, 2017, 162(2):333–346.
- [53] Rice AE, Latchman YE, Balint JP, et al. An HPV-E6/E7 immunotherapy plus PD-1 checkpoint inhibition results in tumor regression and reduction in PD-L1 expression [J]. Cancer Gene Ther, 2015, 22(9):454–462.
- [54] Gan L, Jia R, Zhou L, et al. Fusion of CTLA-4 with HPV16 E7 and E6 enhanced the potency of therapeutic HPV DNA vaccine[J]. PLoS One, 2014, 9(9):e108892.
- [55] Kourie HR, Awada G, Awada A. H. Learning from the “tsunami” of immune checkpoint inhibitors in 2015 [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2016, 101:213–220.