



· 综述 ·

# 放疗免疫调节效应研究的进展 ——从基础到临床

王 妤, 毕 楠

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放疗科, 北京 100021

[摘要] 既往观点认为, 放射治疗主要通过破坏肿瘤细胞脱氧核糖核酸双链直接发挥杀伤肿瘤细胞的作用, 近年来研究发现, 放疗也可通过上调局部与全身免疫反应, 间接产生积极有效的抗肿瘤免疫应答。然而, 放疗的免疫调节效应具有双面性, 一方面可激活并产生抗肿瘤免疫促进效应, 另一方面也可能产生免疫抑制作用。其中, 放疗正向调节适应性与固有性抗肿瘤免疫反应的关键分子机制主要包括: 诱导免疫原性细胞凋亡从而促进T淋巴细胞的增殖与活化; 激活环磷酸鸟苷-腺苷合成酶-干扰素基因刺激蛋白通路引发 I 型干扰素反应; 改变肿瘤细胞表型, 加强其免疫原性与抗原可视度; 刺激肿瘤细胞与基质细胞释放多种炎症因子, 重塑肿瘤免疫微环境; 上调肿瘤细胞表面免疫检查点以及死亡受体等的表达, 促进免疫识别与抗肿瘤免疫应答。而放疗负向抑制免疫反应的主要机制包括: 诱导肿瘤细胞上调多种免疫抑制因子的基因表达; 增强包括调节性T细胞、髓系来源抑制性细胞在内的多种免疫抑制细胞的功能与作用; 导致淋巴细胞的数量减少以及免疫效应细胞的耗竭等。基于以上关于放疗免疫调节效应的机制原理探索, 目前在放疗联合免疫治疗的临床实践中也显示出重大的研究进展, 包括免疫治疗时代背景下的放疗远隔效应, 即放疗照射野以外产生的有效抗肿瘤免疫应答, 以及立体定向放疗或低剂量放疗联合免疫检查点抑制剂治疗时显著增加的疗效获益。然而, 目前对于放疗联合免疫治疗产生的协同作用机制及其具体影响因素等仍不明确, 未来需要在放疗与免疫治疗联合治疗的最佳放疗剂量、放疗分割模式、放疗照射部位与靶区设计、免疫药物选择以及放疗与免疫联合治疗顺序等研究方向开展深入探索, 以进一步提高临床疗效, 促进放疗免疫调节生物学效应的临床转化应用。本文将对放疗的免疫调节效应以及放疗与免疫治疗联合协同作用的基础与临床研究最新进展进行系统综述, 以为放疗联合免疫治疗的理论基础发展与临床实践进步提供参考。

[关键词] 放射治疗; 免疫调节; 免疫检查点抑制剂; 远隔效应

中图分类号: R730.5 文献标志码: A DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2023.12.003

**Advancements in the research of immunomodulatory effects of radiation therapy: from basic to clinical** WANG Yu, BI Nan (Department of Radiation Oncology, National Cancer Center/National Clinical Research Center for Cancer/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Correspondence to: BI Nan, E-mail: binan\_email@163.com

[Abstract] Previously, radiotherapy was considered to directly kill tumor cells by deoxyribonucleic acid double-strand break. Recent studies have found that radiotherapy can also produce positive and effective anti-tumor effect by upregulating local and systemic immune responses. However, the immunomodulatory effect of radiotherapy is double-sided. On the one hand, it can activate anti-tumor immune-promoting effect, on the other hand, it may also produce immunosuppressive effect. The key molecular mechanisms of the positive regulation of adaptive and innate anti-tumor response by radiotherapy primarily include: induction of immunogenic cell death to promote the proliferation and activation of T lymphocytes; activation of the cyclic GMP-AMP synthase-stimulator of interferon genes pathway to induce type I interferon response; changing the phenotype of tumor cells to enhance their immunogenicity and antigen visibility; stimulating tumor cells and stromal cells to release a variety of inflammatory factors

第一作者: 王 妤 (ORCID: 0009-0008-1769-9387), 在读博士研究生, 住院医师。

通信作者: 毕 楠 (ORCID: 0000-0001-7201-2930), 主任医师, E-mail: binan\_email@163.com。

and reshape the tumor immune microenvironment; upregulating the expression of immune checkpoint and death receptor on the surface of tumor cells to promote immune recognition and anti-tumor immune response. In addition, the mechanisms of negative immune suppression by radiotherapy mainly include: induction of tumor cells to upregulate the gene expression of multiple immunosuppressive factors; enhancing the function and effect of various immunosuppressive cells, including regulatory T cells and myeloid-derived suppressor cells; leading to the decreased number of lymphocytes and the depletion of immunologic effector cells. Based on the above exploration of the mechanisms and principle of the immunomodulatory effect of radiotherapy, significant progress has also been shown in the clinical practice of combining radiotherapy with immunotherapy, such as the abscopal effect in the context of immunotherapy era, that is, the effective anti-tumor immune responses generated outside the irradiation field of radiotherapy, as well as the increased efficacy benefit when stereotactic body radiation therapy or low-dose radiotherapy combined with immune checkpoint inhibitors. However, at present, the synergistic mechanism of radiotherapy plus immunotherapy and its influencing factors are unclear. In the future, more in-depth investigations on optimal radiotherapy dose, segmentation regimens, irradiation sites and target volume design, immunotherapy agent selection and the sequence of combining radiotherapy with immunotherapy are necessary, in order to further improve efficacy and promote the translational application of immunomodulatory biological effects of radiotherapy. This article systematically reviewed the latest advancements of basic and clinical research on the immunomodulatory effect of radiotherapy and the synergy of combining radiotherapy with immunotherapy, aiming to provide guidance on the development of theoretical basis and clinical practice regarding the combination of radiotherapy and immunotherapy.

[ **Key words** ] Radiotherapy; Immunomodulatory; Immune checkpoint inhibitor; Abscopal effect

放疗在恶性肿瘤的治疗中具有重要作用,是局部治疗的有效方法之一。传统观点认为,放疗可通过直接或间接地破坏脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)双链从而杀伤肿瘤细胞,近年来多项研究<sup>[1-3]</sup>发现,放疗也能够通过调节局部以及全身免疫反应,发挥抗肿瘤免疫效应。目前,随着免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)的发展与免疫治疗的推广,放疗的免疫调节效应以及放疗与免疫治疗联合应用的协同作用,引起了广泛的关注与讨论。然而,放疗的免疫调节效应具有双面性,既能增强宿主抗肿瘤免疫反应,也可能在某些情况下产生免疫抑制效应。在放疗联合ICI治疗的临床实践中,观察到放疗照射野外的远处病灶可出现有效的抗肿瘤免疫应答,即“远隔效应(abscopal effect)”,进一步证实了放疗的免疫调节与免疫协同作用<sup>[4]</sup>。因此,放疗与ICI的联合应用可能产生复杂的交互影响。本文将围绕放疗免疫调节效应的最新研究进展,阐明其作用机制,分析放疗与免疫治疗协同作用的潜在理论基础,并探讨放疗联合ICI治疗的临床应用成果与亟待解决的问题,以期为提高恶性肿瘤的综合治疗效果提供参考。

## 1 放疗的正向免疫激活效应

### 1.1 放疗诱导免疫原性细胞死亡,促进T细胞介导的抗肿瘤免疫反应

放疗发挥抗肿瘤免疫反应中存在关键的分子机制,主要包括电离辐射引发免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD),这一过程能够导致肿瘤细胞释放特异性抗原,从而刺激肿瘤特异性T淋巴细胞亚群的克隆扩增<sup>[5-6]</sup>。抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC)捕获特异性抗原并与主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)结合后,抗原呈递并激活辅助性T细胞(T helper cell, Th)。活化的T细胞主要包括细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)以及自然杀伤(natural killer, NK)细胞,这些细胞均能够发挥抗肿瘤免疫效应,从而有效地消灭肿瘤细胞<sup>[7]</sup>。因此,放疗引发ICD的这一关键机制主要在于刺激T淋巴细胞的募集与分化,促进T淋巴细胞识别并有效地攻击肿瘤细胞。

研究<sup>[8]</sup>认为,放疗能够通过形成活性氧(reactive oxygen species, ROS)等氧化应激源,引发内质网应激从而介导肿瘤ICD的发生。Li等<sup>[9]</sup>发现近红外射线辐照后可诱导细胞表面强烈的内质网应激反应以及钙网蛋白暴露,从而

刺激树突状细胞 (dendritic cell, DC) 的抗原呈递功能, 并通过增加CD8<sup>+</sup> T淋巴细胞增殖以及细胞毒性细胞因子分泌等一系列免疫反应的激活, 促进ICD相关的抗肿瘤免疫应答。因此, ICD这一过程伴随着多种抗原释放的增加以及损伤相关分子模式 (damage-associated molecular pattern, DAMP), 从而参与免疫反应信号转导通路的激活, 促进抗肿瘤免疫反应<sup>[10-11]</sup>。DAMP是放疗诱导ICD发生所必须的关键分子步骤, 其中主要包括钙网蛋白和热激蛋白的细胞表面表达、高迁移率族蛋白B1的释放以及三磷酸腺苷的主动分泌<sup>[12-13]</sup>。DAMP能够使肿瘤相关性抗原 (tumor-associated antigen, TAA) 的表达增加, 这些抗原主要是放疗驱动免疫原性突变所致的新抗原, 同时伴随着炎症因子的释放, DAMP也可增强活化CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞的功能, 近期的一些研究显示放疗能够重塑肿瘤浸润性T淋巴细胞的T细胞受体库<sup>[14-15]</sup>。

### 1.2 放疗激活干扰素基因刺激蛋白通路, 引发 I 型干扰素反应

干扰素基因刺激蛋白 (stimulator of interferon genes, STING) 是内质网膜上的一种衔接蛋白, 用于调控先天免疫信号转导。环磷酸鸟苷-腺苷合酶 (cyclic GMP-AMP synthase, cGAS) 是一种核苷酸转移酶, 能够感知细胞质DNA并激活STING-TBK1-IRF-3信号轴, 诱导产生 I 型干扰素信号。cGAS-STING通路与 I 型干扰素信号是宿主感应病原体DNA并激活免疫应答反应的关键机制, 并且多项研究证实cGAS-STING在自身免疫性疾病、抗病毒以及抗肿瘤的先天性与适应性免疫反应中具有重要作用<sup>[16-17]</sup>。而放疗促进抗肿瘤免疫应答的另一个关键机制就是通过激活cGAS-STING信号转导通路, 引发 I 型干扰素级联反应以发挥作用<sup>[18]</sup>。首先, 放疗促进细胞核中双链DNA (double-stranded DNA, dsDNA) 的释放, 增加线粒体外膜的通透性, 并且触发细胞质中线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 的暴露, dsDNA与mtDNA均是启动cGAS-STING通路以及随后 I 型干扰素转录的有效介质, 随后, I 型干扰素信号在激活DC

中有着至关重要的作用, DC被活化成熟后能够将抗原呈递至T淋巴细胞, 随后肿瘤抗原特异性T淋巴细胞效应被启动, 并且T淋巴细胞数量大幅增加, 进一步促进了T淋巴细胞的激活与肿瘤适应性免疫反应的扩增<sup>[19-21]</sup>。目前, STING已成为抗肿瘤免疫治疗领域的潜在药物靶点与研究热点, 非核苷酸合成STING激动剂已在动物模型中被初步证实具有潜在疗效, 未来将可能成为与放疗协同增敏的新型抗肿瘤免疫疗法<sup>[22]</sup>。

### 1.3 放疗增强肿瘤细胞MHC-I 表达, 增加抗原可视度

MHC-I 类分子结合来源于细胞内的内源性抗原肽, 能够在细胞表面显示并传递抗原信息, 通过与CD8<sup>+</sup>T细胞结合而让合成异常蛋白的病理性细胞被其识别并被有效杀伤, 例如一些表达突变蛋白的肿瘤细胞, 因此, MHC-I 型肿瘤抗原是抗肿瘤免疫反应中重要的一环。然而, 在多种恶性肿瘤的发生、发展过程中, 肿瘤细胞常常缺失或低表达MHC-I 类分子, 从而逃避T淋巴细胞的识别与攻击, 即肿瘤细胞能够通过失去MHC-I 类抗原呈递的机制以实现免疫逃逸, 而这不仅会损害先天性免疫应答的抗肿瘤作用, 更会削弱一些通过重新激活CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞从而发挥抗肿瘤效应的免疫治疗效果<sup>[23-24]</sup>。近年来研究<sup>[25-26]</sup>发现, 放疗能够通过上调肿瘤细胞表面的MHC-I 类分子表达, 增加CD8<sup>+</sup>及CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞浸润及其对肿瘤细胞的抗原识别, 以提高宿主免疫系统对于肿瘤细胞的识别杀伤能力。Lin等<sup>[27]</sup>的研究显示, 放疗诱导肿瘤细胞产生的小细胞外囊泡 (small extracellular vesicle, sEV), 即一种携带MHC分子的纳米级囊泡, 能够富集肿瘤抗原与热激蛋白, 从而成为新型TAA并增强肿瘤抗原呈递与抗原可视性, 促进CD8<sup>+</sup>及CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞的免疫浸润及其对肿瘤细胞的抗原识别, 以增强抗肿瘤免疫效应。Seyedin等<sup>[28]</sup>发现放疗能够以剂量依赖的方式增加MHC-I 的结直肠癌细胞表面表达, 并在动物模型中增强对ICI的疗效应答。2023年, 于金明院士团队<sup>[29]</sup>发现放疗还可上调宫颈癌上皮细胞的MHC-II 类基因表达, 以提高其免疫原性。



#### 1.4 放疗促进多种炎症因子释放, 激活肿瘤微环境

除了直接的肿瘤细胞杀伤作用, 放疗还能够调节肿瘤免疫微环境 (tumor immune microenvironment, TIME), 使其从免疫抑制的“冷”肿瘤状态转变为免疫激活的“热”肿瘤状态<sup>[30]</sup>。首先, 放疗可刺激肿瘤细胞与基质细胞释放促炎介质、趋化因子的释放, 包括CXCL9、CXCL10、CXCL11与CXCL16等, 能够促进DC、巨噬细胞与T淋巴细胞的免疫浸润并增加细胞丰度, 从而有效激活TIME<sup>[31]</sup>。此外, Ren等<sup>[32]</sup>发现, 宫颈癌放疗后可诱导肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophages, TAM) 的数量增加, 并促进M2表型巨噬细胞向M1表型诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 阳性巨噬细胞的极化转变, 以及生物颗粒吞噬能力的显著增加。而M1表型iNOS阳性巨噬细胞能够诱导Th1趋化因子表达, 释放多种炎性细胞因子, 募集CD8<sup>+</sup>及CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞, 进而发挥肿瘤杀伤作用<sup>[33]</sup>。因此, 放疗能够重编码TAM表型, 有助于将免疫抑制性巨噬细胞转化为具有免疫原性的促炎性巨噬细胞, 从而介导有效的抗肿瘤免疫反应。Sun等<sup>[34]</sup>发现单磷酸脂质A与干扰素 $\gamma$ 能够将TAM重编码为具有抗肿瘤活性的M1表型巨噬细胞, 通过TAM释放的细胞因子间接激活CTL发挥抗肿瘤免疫效应。因此, 放疗驱动应激信号重塑TIME的理论原理, 主要在于放疗能够促进多种免疫调节蛋白、黏附分子、细胞因子以及促氧化剂等增加, 从而正向激活肿瘤微环境与抗肿瘤免疫应答<sup>[35]</sup>。

#### 1.5 放疗上调肿瘤细胞表面免疫检查点与死亡受体等表达

放疗导致肿瘤细胞DNA双链的破坏, 通过ATM/ATR/Chk1激酶途径, 直接上调肿瘤细胞表面的程序性细胞死亡蛋白配体-1 (programmed cell death protein ligand 1, PD-L1) 表达, 因此可能更有助于PD-L1抑制剂与程序性死亡蛋白-1 (programmed cell death protein 1, PD-1) 抑制剂发挥作用, 增强放疗联合ICI治疗的协同作用。

此外, 放疗也可通过增加干扰素 $\gamma$ 等方式间接上调肿瘤细胞表面的PD-L1等免疫检查点表达水平, 因此放疗是提高ICI疗效的潜在有效方案之一<sup>[31, 36]</sup>。死亡受体FAS是一种能够诱导程序性细胞死亡的细胞表面分子, FAS与其特异性配体FAS-L结合后可使得诱导细胞死亡的信号复合体募集, 随后激活介导细胞凋亡的细胞凋亡蛋白酶, 启动细胞毒性信号, 从而有效地促进局部与全身抗肿瘤免疫应答。Yu等<sup>[37]</sup>在肝转移临床前模型中观察到了系统性免疫荒漠状态, 即活化的抗原特异性FAS<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞与FAS-L<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>F4/80<sup>+</sup>单核细胞源性巨噬细胞相互作用后发生凋亡, 并且肝转移癌患者的外周血T淋巴细胞数量减少, T淋巴细胞多样性与功能性均降低, 而肝定向放疗能够消除免疫抑制性的肝脏巨噬细胞, 增加肝脏T淋巴细胞的存活率。因此, 肝转移瘤可通过与FAS/FAS-L途径相关的CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞缺失协同宿主外周耐受机制引起获得性免疫耐药, 而放疗可消除该免疫抑制并促进全身抗肿瘤免疫反应<sup>[37]</sup>。此外, 有研究显示, 放疗可活化内源性凋亡信号转导通路, 上调肿瘤细胞表面的FAS凋亡受体表达, 介导CTL与肿瘤细胞FAS的结合并促进肿瘤细胞凋亡, 因此FAS表达上调可能是放疗增加肿瘤细胞对于免疫反应介导细胞死亡易感性的重要机制之一<sup>[6]</sup>。

## 2 放疗的负向免疫抑制效应

### 2.1 放疗诱导慢性 I 型干扰素和干扰素刺激基因表达

放疗导致肿瘤细胞内dsDNA的积累, 从而激活cGAS/STING信号转导通路, 促进 I 型干扰素基因的转录<sup>[19]</sup>。STING能够通过其下游的传导信号激活不同的干扰素刺激基因。然而, 在某些情况下, 干扰素信号也可能产生有害影响, 导致治疗抵抗, 例如肿瘤细胞的重复照射可诱导慢性 I 型干扰素与干扰素刺激的基因表达, 能够诱导效应T淋巴细胞表达抑制性因子并使T淋巴细胞功能耗竭, 从而通过多种抑制途径介导治疗抵抗与肿瘤免疫逃逸<sup>[38-39]</sup>。2016年, Benci等<sup>[40]</sup>发现延长的干扰素信号协同导致PD-L1依赖性与PD-1非依赖性的ICI治疗抵抗, 以及ICI与放疗联合治

疗抵抗，持续的干扰素信号转导使得肿瘤细胞获得STAT1相关表观基因组变化，并增加干扰素刺激基因和多种T细胞抑制受体配体的表达，而I型与II型干扰素均能导致以上肿瘤抵抗与ICI耐药。

## 2.2 放疗上调肿瘤表面PD-L1与IDO表达

放疗激活cGAS-STING信号转导通路从而促进干扰素刺激基因转录，而干扰素 $\gamma$ 与I型干扰素均能够上调肿瘤细胞表面的PD-L1表达，从而增加肿瘤细胞的免疫逃逸，并进一步诱导T淋巴细胞耗竭，削弱抗肿瘤免疫反应。此外，有研究显示放疗不仅能够上调肿瘤细胞表面的PD-L1表达，还能够调节肿瘤微环境中免疫细胞表面包括PD-L1在内的多种免疫检查点配体的表达，从而产生抗肿瘤免疫抑制效应<sup>[21, 41]</sup>。同时，吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2, 3-dioxygenase, IDO)是肿瘤细胞与免疫细胞均具有的一种与肿瘤增殖与免疫抑制相关的酶，也能够被干扰素 $\gamma$ 与I型干扰素上调，作为免疫抑制因子发挥作用。先前研究显示，IDO能够导致T淋巴细胞耗竭并上调抑制性受体与配体的表达，与此同时，DC表面IDO1过表达与T淋巴细胞扩增减少相关，在多种肿瘤中，IDO1与患者较差的临床预后相关<sup>[42-43]</sup>。

## 2.3 放疗激活并增强抑制性免疫细胞的功能

放疗激活的STING信号转导通路能够进一步增强调节性T淋巴细胞(regulatory T cell, Treg)、髓系来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)的动员，从而消除肿瘤免疫原性。既往研究<sup>[44]</sup>发现放疗可诱导肿瘤组织内Treg数量的显著增加，而Treg与MDSC在癌症与其他疾病中被证明具有负向调控免疫应答的功能。其中，MDSC通过多种途径和机制发挥免疫抑制功能，可通过表达Arg-1及iNOS，并产生ROS等抑制淋巴细胞功能的免疫应答。肿瘤病灶的局部放疗能够上调CC族趋化因子配体(chemokine ligand, CCL)2与CCL5的产生，这与Treg以及单核细胞的募集有关，募集的单核细胞通过肿瘤坏死因子- $\alpha$ 介导的方式激活Treg，抑制肿瘤免疫反应，降低疗效<sup>[33, 45]</sup>。

Persa等<sup>[46]</sup>认为在不同剂量的放疗后，Treg产生的转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor, TGF- $\beta$ )与白细胞介素10(interleukin-10, IL-10)等增加，通过分泌TGF- $\beta$ 与IL-10等抑制性细胞因子，Treg能够进一步增强MDSC的免疫抑制作用，从而削弱淋巴细胞的先天性与适应性免疫反应<sup>[47-48]</sup>。

## 2.4 放疗引起淋巴细胞减少与免疫效应细胞耗竭

淋巴细胞减少是放疗中常见的不良反应之一，由于骨髓造血干细胞对于放射线极为敏感，因此，即使相对较低的放疗剂量也可能导致骨髓暂时性功能抑制，而较高的放疗剂量可能会导致骨髓造血功能不可逆转的损害。在临床实践中，往往给予患者能够达到杀伤肿瘤细胞目的的一定照射剂量，因此部分患者在放疗期间可能出现较严重的骨髓功能抑制，使得淋巴细胞数量大幅减少、抗肿瘤免疫功能相应降低<sup>[49]</sup>。此外，外周血循环中的单核细胞也对电离辐射高度敏感，每周连续5日重复的常规分割放疗可能造成潜在的细胞毒性损伤，使迁移至外周循环的免疫效应细胞耗竭，抑制抗肿瘤免疫效应，并加速衰老相关的克隆造血，甚至可能导致外周循环单核细胞的长期升高<sup>[50]</sup>。放疗导致淋巴细胞减少的另一个潜在机制是淋巴器官的受照，幼稚T细胞对放射线极为敏感，即使低剂量照射淋巴器官也会导致p53介导的快速凋亡，这与淋巴细胞数量减少、T细胞促凋亡活性以及不良生存结局相关<sup>[33]</sup>。

## 3 放疗联合免疫治疗的远隔效应

### 3.1 放疗远隔效应的定义与初步探索

约60年前，肿瘤放疗学家就发现了放疗的“远隔效应”，即在远离放疗照射野的部位观察到肿瘤的有效治疗反应<sup>[51]</sup>。当时文献报道的放疗远隔效应并不多，1960年—2018年仅报告47例。然而，随着免疫治疗时代的到来，这一数字迅速增长，可能由于放疗与ICI的联合应用，促进全身免疫系统产生抗肿瘤效应。2012年Postow等<sup>[52]</sup>在1篇病例报道中首次提及放疗联合ICI治疗的远隔效应：1例黑色素瘤患者，接受寡转移灶局部放疗联合伊匹木单抗(ipilimumab)免疫治疗，随后该患者出现放疗野以外的远处病变消



退。随后,越来越多的研究陆续报道了放疗联合ICI治疗时的远隔效应,并观察到放疗野外远端病灶内免疫细胞的浸润增加与抗肿瘤免疫反应的增强。2015年,Golden等<sup>[53]</sup>通过放疗调节粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子免疫原性的一项理论论证性临床试验,首次临床验证了放疗的远隔效应。该研究采用西蒙两段式设计,共纳入了41例患者,第一阶段10例患者纳入研究,其中在4例患者中观察到远隔效应。第二阶段,纳入另外31例患者,累积41例患者中有11例(26.8%, 95% CI: 14.2~42.9)出现远隔效应。根据患者的远隔缓解状态进行分组后,无远隔缓解患者的死亡风险是有远隔缓解患者的2倍以上。该研究结果表明,放疗与免疫治疗联合能够在实体转移性肿瘤中引起远隔效应,且转移部位的远隔缓解可以预测更好的生存结局<sup>[53]</sup>。

### 3.2 放疗联合免疫远隔效应的临床研究进展

2017年,Shaverdian等<sup>[54]</sup>对于晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)接受人源化PD-1单克隆抗体帕博利珠单抗(pembrolizumab)免疫治疗的I期KEYNOTE-001研究进行了二次分析,发现相较于从未接受放疗的患者,在帕博利珠单抗治疗前(中位间隔时间9个月)接受放疗的患者有显著增加的生存获益,提示放疗联合帕博利珠单抗可协同获益。2019年的多中心随机对照II期PEMBRO-RT研究<sup>[55]</sup>,在晚期NSCLC患者中通过局部立体定向放射治疗(stereotactic body radiation therapy, SBRT)联合帕博利珠单抗维持免疫治疗,观察到了显著更高的客观缓解率,初步明确了晚期NSCLC中局部SBRT联合免疫治疗的可行性与有效性。随后,Theelen等<sup>[56]</sup>对II期PEMBRO-RT研究以及I/II期MDACC研究进行了汇总分析,发现相较于帕博利珠单抗单药治疗,放疗联合帕博利珠单抗能够显著改善转移性NSCLC患者生存情况,提高了照射野外(远隔)有效率与最佳远隔病灶控制率,由此证明了放疗联合ICI治疗具有远隔效应与协同获益。

目前,关于放疗联合免疫治疗远隔效应的多项临床研究正在进行之中,包括卢铀团队开展的

晚期NSCLC中SBRT联合低剂量放疗(low-dose radiotherapy, LDRT)联合PD-1抑制剂信迪利单抗(sintilimab)免疫治疗的一项I期临床研究(NCT03812549),旨在探索不同放疗分割模式在放疗与免疫治疗联合应用中的临床效果与安全性。来自韩国的一项前瞻性单臂研究KROG22-11(NCT05733156)将纳入多发转移的晚期癌症患者,以远隔效应发生率为主要研究终点,在未来进一步分析SBRT同步联合LDRT带来的远隔效应获益。

### 3.3 放疗远隔效应的潜在机制

2018年,Formenti等<sup>[57]</sup>发现在化疗失败的晚期NSCLC患者中,放疗联合细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)抑制剂能够有效地诱导全身性T淋巴细胞抗肿瘤反应。该研究中,CTLA-4抑制剂单药或联合化疗均未能显示显著效果,但CTLA-4抑制剂联合放疗具有显著的抗肿瘤效应,对受试者血样本分析,发现放疗后血清干扰素 $\beta$ 升高与T淋巴细胞克隆的早期动态变化是强有力的疗效预测因子。对其中1例评效完全缓解的患者进行分析,发现CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞的大量扩增并识别由放疗上调的基因编码的新抗原。该研究对远隔效应发生机制的解释是:放疗诱导的免疫原性突变暴露给机体免疫系统后,导致照射野外的肿瘤受到循环免疫细胞的攻击而出现远处抗肿瘤应答。目前,对于临床中可观察到的放疗联合ICI治疗时远隔效应的确切机制仍不明确。2022年,于金明院士团队<sup>[4]</sup>总结并提出可以从宏观、分子与基因三个层面理解放疗与免疫治疗联合的远隔效应:宏观层面,全身系统性的ICI治疗有效,使得远隔部位的肿瘤细胞死亡、肿瘤体积缩小;分子层面,放疗联合ICI治疗时照射野外有细胞因子激活、抗原释放、DAMP等分子层面的改变,产生远隔部位的抗肿瘤分子应答;基因层面,局部放疗联合ICI治疗可导致远隔部位肿瘤细胞内DNA损伤等情况出现。

### 3.4 放疗远隔效应的影响因素

放疗联合ICI治疗的远隔效应影响因素很多,主要包括放疗的剂量与分割、放疗照射部

位、患者的疾病状态与肿瘤特点、放疗联合免疫治疗的顺序、免疫药物选择等。在放疗的分割剂量方面,有学者认为放疗对免疫应答的正向调节在一定范围内可能具有“剂量依赖性”,但 $\geq 15$  Gy的高剂量放疗导致免疫抑制效应增加<sup>[4, 58]</sup>。2021年, Herrera等<sup>[59]</sup>发现LDRT更能够发挥免疫调节作用,通过诱导先天性与适应性免疫应答,实现分子层面的抗肿瘤免疫激活。Patel等<sup>[60]</sup>也发现低剂量率照射后能够重塑TIME,以增强对于ICI治疗的疗效应答。此外,LDRT还能够改善效应免疫细胞在远处肿瘤病灶中的浸润与功能<sup>[61]</sup>。由此,有学者提出将这种LDRT照射野外出现的肿瘤治疗反应命名为“放疗远端效应(radscopal effect)”,以期通过低剂量率照射,更有效地配合ICI发挥远隔部位的抗肿瘤免疫效应<sup>[4]</sup>。

此外,免疫治疗的药物选择对于放疗与免疫治疗联合的远隔效应可能也具有一定影响,由于淋巴细胞在放疗的免疫调节效应中具有重要作用<sup>[48]</sup>,放疗联合ICI,例如CTLA-4、PD-1/PD-L1抑制剂等,能够通过扩大效应T淋巴细胞的作用,发挥放疗与免疫治疗时的协同作用。其中,放疗联合CTLA-4抑制剂是首先被证实有效的放疗免疫组合之一<sup>[57]</sup>,然而肿瘤细胞的PD-L1表达往往会在放疗后出现上调,因此放疗联合PD-1/PD-L1抑制剂也具有很强的理论基础,并已在多项临床研究中得到证实,目前免疫治疗的药物种类不断扩大,例如TGF- $\beta$ 等不同靶点的新型免疫调节剂、癌症疫苗等,众多的基础及临床前研究为放疗联合免疫治疗的不同模式奠定了理论基础。

#### 4 结语

综上所述,从基础研究到临床转化应用,放疗的免疫调节效应都具有重要作用与意义,一方面放疗能够通过多种机制促进抗肿瘤免疫应答,增加免疫联合治疗效果,另一方面放疗也可通过不同途径产生免疫抑制作用,降低患者的适应性与先天性免疫反应。其中,放疗正向促进局部与全身抗肿瘤免疫反应的关键原理包括:诱导ICD从而促进T淋巴细胞增殖与活化;激活STING通

路引发I型干扰素反应;上调肿瘤细胞表面的MHC-I表达,增强肿瘤细胞免疫原性与抗原可视觉度;刺激肿瘤细胞与基质细胞多种炎症因子的标志性释放,重塑TIME;增加肿瘤细胞表面免疫检查点以及FAS表达,加强抗肿瘤免疫效应。放疗的负向免疫抑制机制则主要包括:放疗诱导慢性I型干扰素和干扰素刺激基因表达;上调肿瘤表面PD-L1与IDO表达;增强抑制性免疫细胞的功能;引起淋巴细胞减少与免疫效应细胞耗竭。此外,远隔效应与放疗远端效应,是构成放疗联合ICI协同作用的重要基础,并已在临床实践中得到了疗效获益的初步验证。目前,放疗免疫联合治疗的最佳临床模式仍在探索之中,值得未来进一步研究,这将显著改善癌症患者的生存预后,促进多学科综合诊疗的科学进步,从基础到临床层面推动癌症精准治疗的蓬勃发展。

**利益冲突声明:**所有作者均声明不存在利益冲突。

#### [参 考 文 献]

- [1] KORNEPATI A V R, ROGERS C M, SUNG P, et al. The complementarity of DDR, nucleic acids and anti-tumour immunity [J]. *Nature*, 2023, 619(7970): 475-486.
- [2] MCLAUGHLIN M, PATIN E C, PEDERSEN M, et al. Inflammatory microenvironment remodelling by tumour cells after radiotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(4): 203-217.
- [3] HUANG R X, ZHOU P K. DNA damage response signaling pathways and targets for radiotherapy sensitization in cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 60.
- [4] ZHANG Z F, LIU X, CHEN D W, et al. Radiotherapy combined with immunotherapy: the dawn of cancer treatment [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 258.
- [5] GALLUZZI L, VITALE I, WARREN S, et al. Consensus guidelines for the definition, detection and interpretation of immunogenic cell death [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1): e000337.
- [6] FUCIKOVA J, KEPP O, KASIKOVA L, et al. Detection of immunogenic cell death and its relevance for cancer therapy [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(11): 1013.
- [7] O' DONNELL J S, TENG M W L, SMYTH M J. Cancer immunoediting and resistance to T cell-based immunotherapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(3): 151-167.
- [8] VORONOVA V, VISLOBOKOVA A, MUTIG K, et al. Combination of immune checkpoint inhibitors with radiation therapy in cancer: a hammer breaking the wall of resistance

- [ J ] . *Front Oncol*, 2022, 12: 1035884.
- [ 9 ] LI W, YANG J, LUO L H, et al. Targeting photodynamic and photothermal therapy to the endoplasmic reticulum enhances immunogenic cancer cell death [ J ] . *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3349.
- [ 10 ] MA Y C, ZHANG Y X, LI X Q, et al. Near-infrared II phototherapy induces deep tissue immunogenic cell death and potentiates cancer immunotherapy [ J ] . *ACS Nano*, 2019, 13(10): 11967–11980.
- [ 11 ] HAYASHI K, NIKOLOS F, LEE Y C, et al. Tipping the immunostimulatory and inhibitory DAMP balance to harness immunogenic cell death [ J ] . *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6299.
- [ 12 ] AHMED A, TAIT S W G. Targeting immunogenic cell death in cancer [ J ] . *Mol Oncol*, 2020, 14(12): 2994–3006.
- [ 13 ] MUIRE P J, SCHWACHA M G, WENKE J C. Systemic T cell exhaustion dynamics is linked to early high mobility group box protein 1 (HMGB1) driven hyper-inflammation in a polytrauma rat model [ J ] . *Cells*, 2021, 10(7): 1646.
- [ 14 ] DE MARTINO M, DAVIAUD C, VANPOUILLE-BOX C. Radiotherapy: an immune response modifier for immunoncology [ J ] . *Semin Immunol*, 2021, 52: 101474.
- [ 15 ] YAN C H, MA X X, GUO Z B, et al. Time-spatial analysis of T cell receptor repertoire in esophageal squamous cell carcinoma patients treated with combined radiotherapy and PD-1 blockade [ J ] . *Oncoimmunology*, 2022, 11(1): 2025668.
- [ 16 ] FANG L, HAO Y, YU H H, et al. Methionine restriction promotes cGAS activation and chromatin untethering through demethylation to enhance antitumor immunity [ J ] . *Cancer Cell*, 2023, 41(6): 1118–1133.e12.
- [ 17 ] CAROZZA J A, BÖHNERT V, NGUYEN K C, et al. Extracellular cGAMP is a cancer cell-produced immunotransmitter involved in radiation-induced anti-cancer immunity [ J ] . *Nat Cancer*, 2020, 1(2): 184–196.
- [ 18 ] GARLAND K M, SHEEHY T L, WILSON J T. Chemical and biomolecular strategies for STING pathway activation in cancer immunotherapy [ J ] . *Chem Rev*, 2022, 122(6): 5977–6039.
- [ 19 ] LONG Y, GUO J X, CHEN J L, et al. GPR162 activates STING dependent DNA damage pathway as a novel tumor suppressor and radiation sensitizer [ J ] . *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 48.
- [ 20 ] MOTWANI M, PESIRIDIS S, FITZGERALD K A. DNA sensing by the cGAS-STING pathway in health and disease [ J ] . *Nat Rev Genet*, 2019, 20(11): 657–674.
- [ 21 ] DU S S, CHEN G W, YANG P, et al. Radiation therapy promotes hepatocellular carcinoma immune cloaking via PD-L1 upregulation induced by cGAS-STING activation [ J ] . *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2022, 112(5): 1243–1255.
- [ 22 ] CHIN E N, SULPIZIO A, LAIRSON L L. Targeting STING to promote antitumor immunity [ J ] . *Trends Cell Biol*, 2023, 33(3): 189–203.
- [ 23 ] DHATCHINAMOORTHY K, COLBERT J D, ROCK K L. Cancer immune evasion through loss of MHC class I antigen presentation [ J ] . *Front Immunol*, 2021, 12: 636568.
- [ 24 ] YAMAMOTO K, VENIDA A, YANO J, et al. Autophagy promotes immune evasion of pancreatic cancer by degrading MHC-I [ J ] . *Nature*, 2020, 581(7806): 100–105.
- [ 25 ] JIN W J, ZANGL L M, HYUN M, et al. ATM inhibition augments type I interferon response and antitumor T-cell immunity when combined with radiation therapy in murine tumor models [ J ] . *J Immunother Cancer*, 2023, 11(9): e007474.
- [ 26 ] ZENG H, ZHANG W J, GONG Y, et al. Radiotherapy activates autophagy to increase CD8<sup>+</sup> T cell infiltration by modulating major histocompatibility complex class-I expression in non-small cell lung cancer [ J ] . *J Int Med Res*, 2019, 47(8): 3818–3830.
- [ 27 ] LIN W Z, XU Y Y, CHEN X C, et al. Radiation-induced small extracellular vesicles as “carriages” promote tumor antigen release and trigger antitumor immunity [ J ] . *Theranostics*, 2020, 10(11): 4871–4884.
- [ 28 ] SEYEDIN S N, HASIBUZZAMAN M M, PHAM V, et al. Combination therapy with radiation and PARP inhibition enhances responsiveness to anti-PD-1 therapy in colorectal tumor models [ J ] . *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2020, 108(1): 81–92.
- [ 29 ] LIU C, LI X H, HUANG Q Y, et al. Single-cell RNA-sequencing reveals radiochemotherapy-induced innate immune activation and MHC-II upregulation in cervical cancer [ J ] . *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 44.
- [ 30 ] LIU S B, WANG W K, HU S Y, et al. Radiotherapy remodels the tumor microenvironment for enhancing immunotherapeutic sensitivity [ J ] . *Cell Death Dis*, 2023, 14(10): 679.
- [ 31 ] WANG Y F, LIU Z G, YUAN H F, et al. The reciprocity between radiotherapy and cancer immunotherapy [ J ] . *Clin Cancer Res*, 2019, 25(6): 1709–1717.
- [ 32 ] REN J L, LI L L, YU B F, et al. Extracellular vesicles mediated proinflammatory macrophage phenotype induced by radiotherapy in cervical cancer [ J ] . *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 88.
- [ 33 ] ZHAI D Y, AN D D, WAN C, et al. Radiotherapy: brightness and darkness in the era of immunotherapy [ J ] . *Transl Oncol*, 2022, 19: 101366.
- [ 34 ] SUN L J, KEES T, ALMEIDA A S, et al. Activating a collaborative innate-adaptive immune response to control metastasis [ J ] . *Cancer Cell*, 2021, 39(10): 1361–1374.e9.
- [ 35 ] RODRIGUEZ-RUIZ M E, VITALE I, HARRINGTON K J, et al. Immunological impact of cell death signaling driven by radiation on the tumor microenvironment [ J ] . *Nat Immunol*, 2020, 21(2): 120–134.
- [ 36 ] STANISZEWSKA M, IKING J, LÜCKERATH K, et al. Drug and molecular radiotherapy combinations for metastatic castration resistant prostate cancer [ J ] . *Nucl Med Biol*, 2021, 96/97: 101–111.
- [ 37 ] YU J L, GREEN M D, LI S S, et al. Liver metastasis restrains



- immunotherapy efficacy via macrophage-mediated T cell elimination [ J ] . *Nat Med*, 2021, 27(1): 152–164.
- [ 38 ] KUMAR V, BAUER C, STEWART J H 4th. Cancer cell-specific cGAS/STING signaling pathway in the era of advancing cancer cell biology [ J ] . *Eur J Cell Biol*, 2023, 102(3): 151338.
- [ 39 ] BOUKHALED G M, HARDING S, BROOKS D G. Opposing roles of type I interferons in cancer immunity [ J ] . *Annu Rev Pathol*, 2021, 16: 167–198.
- [ 40 ] BENCI J L, XU B H, QIU Y, et al. Tumor interferon signaling regulates a multigenic resistance program to immune checkpoint blockade [ J ] . *Cell*, 2016, 167(6): 1540–1554.e12.
- [ 41 ] WU Y, SONG Y Q, WANG R Z, et al. Molecular mechanisms of tumor resistance to radiotherapy [ J ] . *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 96.
- [ 42 ] NOZAWA H, TAIRA T, SONODA H, et al. Enhancement of radiation therapy by indoleamine 2, 3 dioxygenase 1 inhibition through multimodal mechanisms [ J ] . *BMC Cancer*, 2023, 23(1): 62.
- [ 43 ] LIU M, LI Z Y, YAO W R, et al. IDO inhibitor synergized with radiotherapy to delay tumor growth by reversing T cell exhaustion [ J ] . *Mol Med Rep*, 2020, 21(1): 445–453.
- [ 44 ] WEICHSELBAUM R R, LIANG H, DENG L F, et al. Radiotherapy and immunotherapy: a beneficial liaison? [ J ] . *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(6): 365–379.
- [ 45 ] MONDINI M, LOYHER P L, HAMON P, et al. CCR2-dependent recruitment of tregs and monocytes following radiotherapy is associated with TNF $\alpha$ -mediated resistance [ J ] . *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(3): 376–387.
- [ 46 ] PERSA E, BALOGH A, SÁFRÁNY G, et al. The effect of ionizing radiation on regulatory T cells in health and disease [ J ] . *Cancer Lett*, 2015, 368(2): 252–261.
- [ 47 ] WANG J Y, ZHAO X Q, WAN Y Y. Intricacies of TGF- $\beta$  signaling in Treg and Th17 cell biology [ J ] . *Cell Mol Immunol*, 2023, 20(9): 1002–1022.
- [ 48 ] BRANDMAIER A, FORMENTI S C. The impact of radiation therapy on innate and adaptive tumor immunity [ J ] . *Semin Radiat Oncol*, 2020, 30(2): 139–144.
- [ 49 ] CORTIULA F, REYMEN B, PETERS S, et al. Immunotherapy in unresectable stage III non-small cell lung cancer: state of the art and novel therapeutic approaches [ J ] . *Ann Oncol*, 2022, 33(9): 893–908.
- [ 50 ] YOSHIDA K, FRENCH B, YOSHIDA N, et al. Radiation exposure and longitudinal changes in peripheral monocytes over 50 years: the adult health study of atomic-bomb survivors [ J ] . *Br J Haematol*, 2019, 185(1): 107–115.
- [ 51 ] LAW A W, MOLE R H. Direct and abscopal effects of X-radiation on the thymus of the weanling rat [ J ] . *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*, 1961, 3: 233–248.
- [ 52 ] POSTOW M A, CALLAHAN M K, BARKER C A, et al. Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma [ J ] . *N Engl J Med*, 2012, 366(10): 925–931.
- [ 53 ] GOLDEN E B, CHHABRA A, CHACHOUA A, et al. Local radiotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to generate abscopal responses in patients with metastatic solid tumours: a proof-of-principle trial [ J ] . *Lancet Oncol*, 2015, 16(7): 795–803.
- [ 54 ] SHAVERDIAN N, LISBERG A E, BORNAZYAN K, et al. Previous radiotherapy and the clinical activity and toxicity of pembrolizumab in the treatment of non-small cell lung cancer: a secondary analysis of the KEYNOTE-001 phase 1 trial [ J ] . *Lancet Oncol*, 2017, 18(7): 895–903.
- [ 55 ] THEELEN W S M E, PEULEN H M U, LALEZARI F, et al. Effect of pembrolizumab after stereotactic body radiotherapy vs pembrolizumab alone on tumor response in patients with advanced non-small cell lung cancer: results of the PEMBRO-RT phase 2 randomized clinical trial [ J ] . *JAMA Oncol*, 2019, 5(9): 1276–1282.
- [ 56 ] THEELEN W S M E, CHEN D W, VERMA V, et al. Pembrolizumab with or without radiotherapy for metastatic non-small-cell lung cancer: a pooled analysis of two randomised trials [ J ] . *Lancet Respir Med*, 2021, 9(5): 467–475.
- [ 57 ] FORMENTI S C, RUDQVIST N P, GOLDEN E, et al. Radiotherapy induces responses of lung cancer to CTLA-4 blockade [ J ] . *Nat Med*, 2018, 24(12): 1845–1851.
- [ 58 ] CHEN Y, GAO M, HUANG Z Q, et al. SBRT combined with PD-1/PD-L1 inhibitors in NSCLC treatment: a focus on the mechanisms, advances, and future challenges [ J ] . *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 105.
- [ 59 ] HERRERA F G, RNET C, OCHOA DE OLZA M, et al. Low-dose radiotherapy reverses tumor immune desertification and resistance to immunotherapy [ J ] . *Cancer Discov*, 2022, 12(1): 108–133.
- [ 60 ] PATEL R B, HERNANDEZ R, CARLSON P, et al. Low-dose targeted radionuclide therapy renders immunologically cold tumors responsive to immune checkpoint blockade [ J ] . *Sci Transl Med*, 2021, 13(602): eabb3631.
- [ 61 ] BARSOUMIAN H B, RAMAPRIYAN R, YOUNES A I, et al. Low-dose radiation treatment enhances systemic antitumor immune responses by overcoming the inhibitory stroma [ J ] . *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e000537.

( 收稿日期: 2023-08-17 修回日期: 2023-10-24 )