

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.01.017

肿瘤免疫治疗和化疗的协同效应及其作用机制

Synergistic antitumor effects of immunotherapy and chemotherapy and the underlying mechanisms

刘洋^{1,2}综述;曹雪涛¹审阅(1. 中国医学科学院基础医学研究所,北京协和医学院基础学院 免疫学系,北京 100005; 2. 河南大学 生命科学学院,河南 开封 475000)

[摘要] 近年来肿瘤治疗领域受到关注的热点之一是免疫治疗与化疗的联合应用,大量基础与临床的研究结果表明,恰当的免疫化疗(chemoimmunotherapy)能够取得较单一疗法更优的抗肿瘤效果,超越了以往认为化疗对免疫系统具有抑制作用、免疫治疗与化疗难以一起应用的传统观念。免疫化疗具有协同抗肿瘤效果的机制是多方面的,化疗可通过增强肿瘤细胞免疫原性、去除免疫抑制以及调节免疫应答反应等方式增强免疫治疗效果;另外,免疫治疗能够逆转肿瘤细胞的化疗耐药性,从而提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性并降低化疗的毒性作用等。目前,肿瘤免疫治疗与化疗协同作用的机制尚未完全清楚,相信通过其相关机制的不断阐明,将进一步提高免疫化疗的抗肿瘤效果并推动其临床应用。

[关键词] 肿瘤;免疫治疗;化疗;免疫化疗;免疫抑制;细胞死亡

[中图分类号] R730.51; R730.53; R730.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2014)01-0098-06

肿瘤的生物治疗以其独特的优势越来越广泛地应用于肿瘤的临床治疗。化疗(chemotherapy)作为肿瘤三大传统治疗方法之一,通过细胞毒类化疗药物杀灭肿瘤细胞以达到治疗肿瘤的目的,但由于其选择性差和毒性强等,化疗对免疫系统具有一定程度的损伤或抑制作用,因此,传统观念认为化疗与免疫治疗(immunotherapy)之间是相互拮抗的,难以一起配伍使用。随着肿瘤生物学与肿瘤免疫学基础理论的发展,新近的研究结果表明,免疫治疗和化疗的联合使用在多种肿瘤治疗中取得了较单一疗法更优的效果^[1]。大量的研究证明免疫化疗的联合使用具有多项优点,它不仅能逆转肿瘤晚期导致的免疫抑制、提高肿瘤抗原的交叉提呈作用、促进杀伤性T细胞增殖并使其更易杀伤肿瘤细胞,还可以在一定程度上减少化疗的毒性作用以及降低肿瘤细胞耐药性的发生。因此,免疫治疗与化疗的联合使用可作为肿瘤治疗中一种合理方案在未来临床实践中得到广泛重视和应用。本文对免疫治疗与化疗在肿瘤治疗中的协同效应及其机制的研究作一综述。

1 化疗的免疫调节作用

1.1 化疗增强肿瘤细胞对免疫杀伤的敏感性

细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)通过分泌细胞因子参与免疫应答,并对肿瘤细胞等抗原物质具有直接的杀伤作用。CTL可通过释放穿孔素、颗粒酶杀伤靶细胞以及通过FasL介导靶细胞的凋亡两种方式发挥作用。不同化疗药物如紫

杉醇(paclitaxel, PTX)、多柔比星(doxorubicin, DOX)和顺铂(cisplatin, CIS)处理肿瘤细胞之后,可增强肿瘤细胞对CTL特异性杀伤作用的敏感性^[2],这一效果是通过上调肿瘤细胞表面的甘露糖-6-磷酸受体(mannose-6-phosphate receptors, MPR)来实现的^[3]。早期实验^[4-5]表明,MPR可以绑定到颗粒酶B上(Granzyme B, GrzB),并可能在GrzB调节的细胞杀伤过程中起作用。近期实验表明,化疗引起肿瘤细胞表面MPR的上调,能使活化CTL细胞产生的GrzB更易透过并进入肿瘤细胞^[5]。但这一上调作用维持的时间较短,因此对化疗和免疫治疗的联合应用选择恰当的时机十分重要。用3-甲基腺嘌呤下调atg5,可以阻止化疗引发的肿瘤细胞表面MPR上调^[2]。当用siRNA阻断MPR表达时,不同的化疗药物就会降低GrzB的吸收量,CTL细胞介导的杀伤肿瘤细胞作用也显著降低^[6]。重要的是,化疗通过使肿瘤细胞对GrzB敏感,可以在一定程度上避开CTLs调节的杀伤过程中对穿孔素的需求,由此使CTLs可以不经过细胞间接触和抗原识别就能对旁观者肿瘤细胞(bystander tumor cells)进行杀

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No. 31270913)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31270913)

[作者简介] 刘洋(1990-),女,河南省平顶山市人,北京协和医学院2014级直博生,肿瘤免疫研究方向。E-mail: liuyang2010bio@163.com

[通信作者] 曹雪涛(Cao Xuetao, corresponding author), E-mail: caoxt@immunol.org

伤^[2,7]。MPR 细胞受体的表达调控与化疗药物引起的肿瘤细胞自噬 (autophagy) 紧密相关^[1], 自噬是这一免疫化疗协同效应的机制之一, 但是, 关于自噬如何影响 MPR 细胞受体表达调控的详细作用机制目前尚不明确。

1.2 化疗能增强肿瘤细胞的免疫原性

免疫原性 (immunogenicity) 指能够刺激机体产生特异性抗体或致敏淋巴细胞的能力。化疗药物可通过引起一系列细胞反应来增强肿瘤细胞的免疫原性。

1.2.1 化疗促进肿瘤细胞表达和释放免疫原性物质

当化疗引起肿瘤细胞的应激反应时, 细胞表面热激蛋白 (heat shock proteins, HSPs), 尤其是 HSP70/90 在应激状态下表达增加^[8], 这是肿瘤细胞免疫原性的重要体现。用蒽环霉素 (anthracycline) 处理的肿瘤细胞可通过钙网蛋白 (calreticulin, CRT) 转运到细胞表面来介导免疫反应, 促使树突状细胞 (dendritic cell, DC) 激发肿瘤特异性的 T 细胞免疫反应^[9]。某些烷化剂所致肿瘤细胞的 DNA 交联损伤也能使其具有一定的免疫原性^[10]。化疗药物可通过调节肿瘤抗原表达的质或量, 来改变肿瘤细胞的免疫原性, 比如, 甲基化制剂 5-氮-2c-脱氧胞苷 (5-aza-2'-deoxy cytosine, DAC) 除诱导肿瘤抗原表达外, 也可诱导 MHC I 类分子及 ICAM-1 的表达, 从而介导 CTLs 更为有效地杀伤肿瘤细胞^[11]。

化疗后自噬性强的肿瘤细胞所释放三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 的量高于自噬缺陷细胞, 后者不能在体内激发 T 细胞或者在局部募集 CD4 和 CD8, 并且自噬性强的癌细胞可招致 DC 和 T 细胞到瘤床^[12]。由此可推测, 肿瘤细胞免疫原性信号的产生可能与化疗导致的自噬相关。化疗在大多数情况下可引起分解代谢酶的激活来破坏细胞器, 最终导致肿瘤细胞的死亡, 与此过程相关的同样是细胞自噬。包括化疗在内的肿瘤治疗方法均会引起细胞自噬, 如三氧化二砷 (arsenic trioxide) 可通过引起自噬来抑制细胞分裂从而引发细胞死亡, 在人脑胶质瘤细胞系 (human glioma lines) 中, 这一作用的特点是细胞表面出现酸性自噬泡 (acidic vesicular organelles)^[13]。一种与死亡相关的蛋白激酶底物 Beclin-1, 也可以诱发细胞凋亡^[14]。丝氨酸/苏氨酸激酶 mTOR 是自噬的负调节器, 可能与肿瘤细胞的增殖扩散、存活和死亡相关^[15]。

1.2.2 化疗诱导肿瘤细胞发生免疫原性死亡

通过化疗等手段处理肿瘤细胞并引起其凋亡的同时, 细胞表面表达能引起机体免疫反应的蛋白分子, 从

而引发特异性抗肿瘤免疫反应, 这一现象被称为肿瘤的免疫原性细胞死亡 (immunogenic cell death, ICD)。化疗促进肿瘤细胞产生 ICD 时, 死亡细胞的质膜成分会在特定的时间顺序上发生变化, 包括 CRT 和 HSPs 的暴露, 以及可作为内源性危险信号的 ATP 和高迁移率蛋白-1 (high-mobility group box 1, HMGB1) 的释放^[16]。单一剂量的化疗药物可通过诱导 ICD 产生, 使其与 DC 受体结合, 诱导它发育为成熟 DC 并将肿瘤抗原加工提呈给 T 细胞, 使其释放细胞因子诱导产生效应 T 细胞, 最终在几种分子和细胞环路间引发肿瘤特异性的免疫反应^[1], 这是一种由联合的免疫原性信号在时空上界定的特殊自噬过程。肿瘤细胞的免疫原性死亡及其抗原的特征性表达为肿瘤免疫化疗提供了新的治疗依据和手段, 同时也可用生物标记来预测机体抗肿瘤免疫的产生^[17]。能诱导 ICD 产生、肿瘤细胞可产生有效信号、机体免疫系统能识别信号并作出反应, 是能成功引起免疫反应所需的三个重要要素, 研究以上三方面相互作用, 有助于发现新的 ICD 诱导物, 并在临床上采用有效策略去赋予没有免疫原性的死亡细胞具有激发免疫反应的性能。此外, 如何将 ICD 诱导物与无免疫原性的传统化疗有效结合, 也是未来研究的方向之一。

1.3 化疗对免疫抑制性细胞的清除作用

肿瘤宿主体内存在大量的免疫抑制性细胞, 如调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 和髓源性抑制细胞 (myeloid derived suppressor cells, MDSC), 对抗肿瘤免疫反应有抑制作用。化疗可通过引发细胞凋亡等机制清除免疫抑制性细胞如 Treg、MDSC, 有利于免疫治疗充分发挥效应^[18-19]。一些抗代谢药, 如弗达拉滨 (fludarabine) 能降低 B 细胞型慢性淋巴细胞白血病患者体内 Tregs 的功能和总数^[20]。化疗除了可以消除 Treg 细胞, 也能通过促进 Th1 免疫反应等方式间接增强抗肿瘤的免疫应答。对非小细胞肺癌 (non-small-cell lung carcinoma, NSCLC) 患者进行治疗时, 化疗药物 PTX 能降低 Tregs 含量, 这一效应是 TAX 有选择地通过 Fas 介导细胞凋亡, 并上调 Th1 细胞因子 IFN- γ 、IL-2, 以及 CD4⁺、CD8⁺ 效应 T 细胞中的 CD44 实现的^[15]。对于 MDSC, 化疗药物 5-FU 具有在不明显损伤免疫系统其他细胞情况下选择性杀伤 MDSC 的特性。5-FU 可减少脾脏中的 MDSC^[21]。在肿瘤小鼠模型中, 用抗代谢药物吉西他滨 (gemcitabine) 可降低其体内 MDSC 水平, 并增强 CD8⁺ T 细胞和 NK 细胞活性^[21-22]。此外, 在注射编码 CRT 的 DNA 疫苗之前使用顺铂, 可

降低荷瘤小鼠体内外周 MDSC 的水平^[23]。由此可见,化疗虽然会导致淋巴细胞数量减少,但与此同时,与免疫抑制相关的 CD4⁺、CD25⁺、Foxp3⁺ 调节性 T 细胞以及 MDSC 同样被消除,随之更有利于诱导自身反应性 T 细胞(主要针对肿瘤抗原)的生成与抗肿瘤免疫应答反应^[24],可见,化疗通过清除免疫抑制性细胞有利于增强抗肿瘤免疫反应的诱导。

1.4 化疗改变肿瘤微环境以促进抗原交叉提呈和抗肿瘤免疫应答

免疫细胞和免疫分子并不是全部起抗肿瘤作用,其作用的发挥有赖于其所处的环境。一些化疗药物可通过抑制肿瘤微环境中不利于抗肿瘤免疫的因素调控肿瘤抗原的表达,以及对 T 细胞辅助分子的激活和抑制来影响肿瘤微环境,从而有利于抗肿瘤免疫应答的生成,这些与抗原的加工提呈相关。例如,化疗可引起肿瘤细胞大量释放 HMGB1^[25],HMGB1 的释放是肿瘤化疗诱导免疫应答的途径之一,其机制是 HMGB1 募集并激活 iDC,促进 DC 成熟及增强 DC 向淋巴结的移动,它可与 DC 的 TLR4 结合,抑制吞噬体与溶酶体的融合,以防止被 DC 吞噬的肿瘤抗原进一步降解。HMGB1 通过增加抗原的交叉提呈激活抗原特异性 CD8⁺ T 细胞,增强抗肿瘤效应。化疗药物用量的多少会产生不同的作用效果,如在单一剂量或无毒低剂量下,一些化疗药物对 DC 的成熟和功能有明显作用,影响 CD4⁺ T 细胞形成,可加强抗癌的免疫反应^[26]。在晚期癌症患者治疗中反复使用低剂量环磷酰胺,可明显减少 Tregs 并加强 NK 细胞和 T 细胞效应物功能^[27],增强免疫治疗效果。而传统化疗进行的重复循环治疗会引起毒性作用和严重的免疫抑制^[28],如在 PTX 的标准治疗中,具抗肿瘤作用的巨噬细胞、NK 细胞和效应 T 细胞的作用受到抑制^[29],影响免疫系统抗肿瘤作用。由此可见,免疫化疗的协同效应既取决于化疗药物的剂量,也取决于肿瘤宿主抗原提呈细胞能力的激发^[30],这与肿瘤微环境有关。

2 免疫治疗对化疗的增强效应

免疫治疗不仅能重建人体免疫系统,保护患者机体平衡不受破坏,还能有效解决患者对化疗的不敏感等难题。它可通过增强抗肿瘤的免疫反应提高患者对化疗的敏感性,既能保证化疗疗效又能提高人体免疫力和减少化疗药物毒性作用。

2.1 免疫细胞对化疗的增效作用

2.1.1 DC DC 是目前所知抗原提呈能力最强的专职性抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),

在免疫应答中发挥重要作用。用肿瘤抗原致敏 DC 再轮回机内可进行抗肿瘤生物治疗,已用于临床试治 B 细胞淋巴瘤、黑素瘤、前列腺癌、多发性骨髓瘤等患者^[31]。第二军医大学免疫学研究所于 2002 年通过 SFDA 的正式批准,在国内开展了多中心随机对照的自体 DC 联合化疗治疗晚期转移性肿瘤患者的临床实验。这种以 DC 疫苗为基础的“序贯性免疫化疗”(sequential chemoimmunotherapy),将 DC 疫苗和化疗联合使用,开展了 II 期临床试验,试治晚期肿瘤患者,经联合治疗的癌症患者有效率(CR + PR)明显高于常规化疗组,取得了显著疗效。

2.1.2 DC + CIK 细胞免疫疗法 又称 CLS 生物治疗,是在体外培养诱导干细胞分化为 DC,再用经抗原刺激的树突状细胞诱导 CIK 细胞产生特异性肿瘤杀伤作用。将 DC 和自体 CIK 的过继细胞疗法与大剂量化疗(HDC)结合用于治疗转移性乳腺癌(MBC),联合治疗组患者的免疫功能与生活质量显著提高,疾病控制率(DCR)也有所提高,取得了比单独使用化疗药物更好的效果^[32]。

2.1.3 $\gamma\delta$ T 细胞 $\gamma\delta$ T 细胞是执行固有免疫功能的 T 细胞,具有多种生物活性,能分泌多种细胞因子,如 $\gamma\delta$ T17 细胞能产生 IL-17,对肿瘤信号具有放大作用。IL-17A-IL-17R 通路功能缺失时,能明显降低化疗效果,当把 $\gamma\delta$ T 细胞过继转移到 IL-17A 宿主时,可恢复化疗疗效,由此推断, $\gamma\delta$ T 细胞具有一定的化疗增效作用^[33]。

2.2 细胞因子(cytokines)对化疗的增强效应

细胞因子可诱导免疫细胞的活化、增殖,激发宿主对肿瘤的免疫反应,是近年来肿瘤免疫研究的新热点。细胞因子联合化疗、放疗或手术治疗可提高治疗效果^[34]。目前,用于抗肿瘤研究的细胞因子主要有干扰素类、白细胞介素类、集落刺激因子类等。

2.2.1 干扰素- α (IFN- α) 关于免疫治疗与化疗的协同效应,我国学者早在上世纪 90 年代就对此开展了研究,将 IFN- α 与 IL-2 激活的杀伤细胞/DOX(过继性免疫化疗)联合治疗人肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)荷瘤裸鼠,HCC 生长受到抑制,鼠的生存期也显著延长,取得了比单独治疗更好的效果^[35]。将 IFN- α 与 DOX 联合治疗白血病小鼠也取得同样的显著效果^[36]。近几年研究^[37]显示,IFN- α 联合化疗治疗慢性粒细胞白血病可减低化疗药物的剂量,可显著促进患者的康复。同时在联合化疗药物治疗黑素瘤^[38]及肾癌^[39]的临床试验中,也有较好的临床获益,可以猜测 IFN- α 具有一定的化疗增效作用。但是,IFN- α 具有明显的剂量相关

毒性,包括严重的肝毒性等^[40-41]。基于疗效与不良反应的考虑,IFN- α 在治疗肿瘤患者的剂量选择方面仍需进一步的探究。

2.2.2 白细胞介素(interleukin, IL) IL-2 于1992年和1997年分别被FDA批准用于治疗肾癌和黑素瘤。低剂量的环磷酰胺与IL-2基因修饰的肿瘤疫苗、IL-1联合使用时,可增强抗肿瘤的免疫效应,其效果优于单用IL-2基因修饰的肿瘤疫苗^[42]。IL-2联合化疗治疗转移性黑素瘤,32.5%的患者能获得持久的临床反应^[43]。在IL-8等介导下,化疗可增强肿瘤对细胞死亡的敏感性^[44-45],这一过程也需要死亡受体FAS配体(FASL)、TNF相关的凋亡诱导配体(TRAIL)的参与。IL-1 β 可以提高5-FU和吉西他滨的治疗效果^[46]。目前,白细胞介素抗肿瘤效果明确,需解决的问题是选择最佳的给药方式及给药剂量,以达到增强化疗效果、减少毒性的目的。

2.2.3 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factors, TNF)

TNF是由激活的单核/巨噬细胞、T淋巴细胞等产生的,具有广泛的生物学效应,可引起部分肿瘤血管出血性坏死,调节机体的免疫功能,特异性杀伤肿瘤细胞。TNF具有抗肿瘤协同作用及化疗增敏作用^[47]。将TNF与化疗剂melphalan在鼠骨肉瘤ILP模型中协同使用时,能取得轻度高热优化的抗肿瘤效应^[48];用重组改构的人肿瘤坏死因子(rnhTNF)与化疗联合应用治疗晚期胃癌,利于提高患者的近期有效率,可以改善患者的生活状况。临床研究中同样发现^[49],重组改构人TNF- α 能明显提高化疗药物(如多柔比星、环磷酰胺等)的敏感性。

2.2.4 褪黑素(melatonin, MLT) MLT与肿瘤的发生、发展及治疗有一定的关系。在体外试验中发现,MLT可以提高顺铂对2种人卵巢癌细胞系的敏感性,提高顺铂的化疗疗效^[50]。在针对人乳腺癌MCF-7细胞的实验中,联合使用MLT和5-FU,可提高抑制率;但对于遗传性乳腺癌HBC-4细胞,MLT却无抑制作用,说明了MLT对5-FU增敏机制的复杂性^[51]。在MLT的临床综合评价方面,经过多年观察发现在肿瘤临床治疗中MLT联合化疗组能使肿瘤消退率、2年生存期均明显高于单独化疗组,从临床试验角度证明了MLT对化疗的增敏作用^[52]。

3 免疫化疗临床应用进展

免疫化疗的协同效应在基础研究中取得进展的同时,也在临床试验中取得了一系列令人振奋的结果。用替莫唑胺(temozolomide, TMZ)治疗多形性成胶质细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)时发

现,高剂量TMZ能在不损伤 $\gamma\delta$ T细胞抗肿瘤功能的情况下抑制其杀伤作用^[53]。化疗和不同肿瘤疫苗的联合使用可有效提高临床反应^[54]。给胰腺癌患者注射DC疫苗后再以Gem进行化疗,可明显降低肿瘤的生长并提高胰腺癌患者的存活率^[55]。对视网膜细胞瘤(retinoblastoma, RB)进行卡铂-DC-Ag-CIK-卡铂串联治疗时,发现经卡铂处理后有部分RB细胞死亡,在卡铂存在情况下,CIK对RB细胞的细胞毒作用增强了5倍以上,这一效果是通过增强细胞凋亡作用实现的^[56],证实化疗药物结合细胞的免疫治疗,会比单独化疗效果显著。用一种刚获批准的用于治疗不可切除或转移性黑素瘤的人源anti-CTLA-4单克隆抗体ipilimumab,在治疗小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)患者的临床II期试验中,能改善患者预后并可能维持化疗的诱导效应^[57]。一些能够诱导ICD的化疗药物,如环磷酰胺、多柔比星、奥沙利铂和米托蒽醌已被FDA批准用于肿瘤治疗,近年来在临床治疗上也取得一些成功^[58]。用多西他赛(docetaxel)处理肿瘤细胞,发现化疗对肿瘤细胞产生免疫原性调节使之易被CTLs杀伤,这是一种不同于免疫原性细胞死亡的现象,说明一些化疗药也会在不产生ICD的情况下调节抗肿瘤的免疫反应^[59]。现在的研究重点多在探索这些药物在原有药效之外的其他效应,试图发现新的ICD诱导物,以及验证患者在免疫化疗的协同效应中是否有益。

4 结语

免疫治疗与化疗联合应用在肿瘤治疗中有协同效应。一方面是由于化疗(特别是在低剂量药物作用下)通过增加肿瘤细胞免疫原性、加强抗原的加工提呈、消除免疫抑制相关的MDSC和Treg细胞等方式,激发特异性抗肿瘤免疫反应;另一方面,免疫细胞和细胞因子通过增强肿瘤细胞对化疗的敏感性以提高化疗效果。但是,目前对于协同机制的研究尚不全面,例如,化疗药物通过自噬引起的细胞凋亡是否是免疫治疗和化疗诸多协同效应的作用机制之一?如何利用已经发现的机制去设计新的用药方案以提高免疫化疗的抗肿瘤效果?这些问题值得深入研究。此外,免疫治疗对化疗增敏效应的机制目前了解甚少。

探索免疫化疗协同作用的过程也面临一些挑战。目前的数据多数是在多次治疗后得到的,多次治疗会造成毒性作用和严重的免疫抑制,说明在免疫化疗联合治疗中可能会存在其他的作用机制。如

何选择最佳给药方式及给药剂量, 增强治疗效果、减少毒性, 是未来需要解决的重要问题。

化疗与免疫治疗的抗癌增强效应使得联合治疗成为未来肿瘤治疗的发展趋势之一, 如何才能使免疫化疗的协同治疗更有效, 关键在于深入了解两者联合作用的机制。如果这一协同效应能得到进一步的研究证实, 那么就可以从中找到新的免疫相关生物标志物, 有助于预测机体抗肿瘤免疫的产生以及判定联合治疗成功的可能性, 根据患者个体情况差异实施不同的治疗策略。

[参 考 文 献]

- [1] Ramakrishnan R, Gabrilovich DI. Novel mechanism of synergistic effects of conventional chemotherapy and immune therapy of cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(3): 405-410.
- [2] Ramakrishnan R, Huang C, Cho HI, et al. Autophagy induced by conventional chemotherapy mediates tumor cell sensitivity to immunotherapy [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(21): 5483-5493.
- [3] van-der-Most RG, Currie AJ, Robinson BW, et al. Decoding dangerous death: How cytotoxic chemotherapy invokes inflammation, immunity or nothing at all [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(1): 13-20.
- [4] Trapani JA, Sutton VR, Thia KY, et al. A clathrin/dynamin-and mannose-6-phosphate receptor-independent pathway for granzymeB-induced cell death [J]. *J Cell Biol*, 2003, 160(2): 223-233.
- [5] Motyka B, Korbitt G, Pinkoski MJ, et al. Mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor is a death receptor for granzyme B during cytotoxic T cell-induced apoptosis [J]. *Cell*, 2000, 103(3): 491-500.
- [6] Zitvogel L, Galluzzi L, Smyth MJ, et al. Mechanism of action of conventional and targeted anticancer therapies: Reinstating immunosurveillance [J]. *Immunity*, 2013, 39(1): 74-88.
- [7] Ramakrishnan R, Assudani D, Nagaraj S, et al. Chemotherapy enhances tumor cell susceptibility to CTL-mediated killing during cancer immunotherapy in mice [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(4): 1111-1124.
- [8] Srivastava P. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(3): 185-194.
- [9] Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death [J]. *Nat Med*, 2007, 13(1): 54-61.
- [10] Rad AN, Pollara GS, Chiang C, et al. The differential in fluence of allogeneic tumor cell death via DNA damage on dendritic cell maturation and antigen presentation [J]. *Cancer Res*, 2004, 63(16): 5143-5150.
- [11] Fonsatti E, Nicolay HJ, Sigalotti L, et al. Functional up-regulation of human leukocyte antigen class I antigens expression by 5-aza-2'-deoxycytidine in cutaneous melanoma: Immunotherapeutic implications [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(11): 3333-3338.
- [12] Michaud M, Martins I, Sukkurwala AQ, et al. Autophagy-dependent anticancer immune responses induced by chemotherapeutic agents in mice [J]. *Science*, 2011, 334(6062): 1573-1577.
- [13] Kanzawa T, Kondo Y, Ito H, et al. Induction of autophagic cell death in malignant glioma cells by arsenic trioxide [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(9): 2103-2108.
- [14] Zalckvar E, Berissi H, Mizrachy L, et al. DAP-kinase-mediated phosphorylation on the BH3 domain of beclin 1 promotes dissociation of beclin 1 from Bel-XL and induction of autophagy [J]. *EMBO Rep*, 2009, 10(3): 285-292.
- [15] Guertin DA, Sabatini DM. An expanding role for mTOR in cancer [J]. *Trends Mol Med*, 2005, 11(8): 353-361.
- [16] Vacchelli E, Senovilla L, Eggermont A, et al. Trial watch: Chemotherapy with immunogenic cell death inducers [J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(3): e23510.
- [17] Green DR, Ferguson T, Zitvogel L, et al. Immunogenic and tolerogenic cell death [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(5): 353-363.
- [18] Zhang L, Dermawan K, Jin M, et al. Differential impairment of regulatory T cells rather than effector T cells by paclitaxel-based chemotherapy [J]. *Clin Immunol*, 2008, 129(2): 219-229.
- [19] Le HK, Graham L, Cha E, et al. Gemcitabine directly inhibits myeloid derived suppressor cells in BALB/c mice bearing 4T1 mammary carcinoma and augments expansion of T cells from tumor-bearing mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(7/8): 900-909.
- [20] Beyer M, Kochanek M, Darabi K, et al. Reduced frequencies and suppressive function of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in patients with chronic lymphocytic leukemia after therapy with fludarabine [J]. *Blood*, 2005, 106(6): 2018-2025.
- [21] Kroemer, Galluzzi L, Kepp O, et al. Immunogenic cell death in cancer therapy [J]. *Annu Rev Immunol*, 2012, 31(1): 51-72.
- [22] Suzuki E, Kapoor V, Jassar AS, et al. Gemcitabine selectively eliminates splenic Gr-1⁺/CD11b⁺ myeloid suppressor cells in tumor-bearing animals and enhances antitumor immune activity [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(18): 6713-6721.
- [23] Tseng CW, Hung CF, Alvarez RD, et al. Pretreatment with cisplatin enhances E7-specific CD8⁺ T cell-mediated antitumor immunity induced by DNA vaccination [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(10): 3185-3192.
- [24] Muranski P, Boni A, Wrzesinski C, et al. Increased intensity lympho depletion and adoptive immunotherapy: How far can we go? [J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2006, 13(12): 668-681.
- [25] Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy [J]. *Nat Med*, 2007, 13(9): 1050-1059.
- [26] Pasquier E, Kavallaris M, Andre N. Metronomic chemotherapy: New rationale for new directions [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7(8): 455-465.
- [27] Ghiringhelli F, Menard C, Puig PE, et al. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(5): 641-648.
- [28] Gottesman MM. Mechanisms of cancer drug resistance [J]. *Annu Rev Med*, 2002, 53(1): 615-627.

- [29] Javeed A, Ashraf M, Riaz A, et al. Paclitaxel and immune system [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2009, 38(4): 283-290.
- [30] Amigorena S, Savina A. Intracellular mechanisms of antigen cross presentation in dendritic cells [J]. *Curr Opin Immunol*, 2010, 22(1): 109-117.
- [31] Palucka K, Banchereau J. Dendritic-cell-based therapeutic cancer vaccines [J]. *Immunity*, 2013, 39(1): 38-48.
- [32] Ren J, Di L, Song G, et al. Selections of appropriate regimen of high-dose chemotherapy combined with adoptive cellular therapy with dendritic and cytokine-induced killer cells improved progression-free and overall survival in patients with metastatic breast cancer: reargument of such contentious therapeutic preferences [J]. *Clin Transl Oncol*, 2003, 15(10):780-788.
- [33] Ma Y, Aymeric L, Locher C, et al. Contribution of IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells to the efficacy of anticancer chemotherapy [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(3): 491-503.
- [34] Borden EC, Sondel PM. Lymphokines and cytokines as cancer treatment [J]. *Cancer*, 1990, 65(3): 800-814.
- [35] Cao X, Wang J, Zhang W, et al. Treatment of human hepatocellular carcinoma by fibroblast-mediated human interferon α gene therapy in combination with adoptive chemoimmunotherapy [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1995, 121(8):457-462.
- [36] Wang J, Cao X, Zhang W, et al. Treatment of leukemia with fibroblast-mediated interferon-alpha gene therapy alone or in combination with doxorubicin [J]. *Leukemia Res*, 1996, 20(5): 379-384.
- [37] Hehlman NR. Current CML. Therapy: Progress and dilemma [J]. *Leukemia*, 2003, 17(6): 1010-1012.
- [38] Khler KC, Egberts F, Hauschild A, et al. Adjuvant systemic treatment of melanoma [J]. *Hautarzt*, 2011, 62(6): 414, 416-422.
- [39] Groenewegen G, Walraven M, Vermaat J, et al. Argeting the endothelin axis with atrasentan in combination with IFN- α in metastatic renal cell carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(2): 284-289.
- [40] Kirkwood JM, Bender C, Agarwala S, et al. Mechanisms and management of toxicities associated with high-dose interferon alfa-2b [J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(17): 3703-3718.
- [41] Trask PC, Esper P, Riba M, et al. Psychiatric side effects of interferon therapy: Prevalence, proposed mechanisms, and future directions [J]. *J Clin Oncol*, 2000, 18(11): 2316-2326.
- [42] Cao X, Zhang W, Wan T, et al. Enhanced antitumor immune responses of IL-2 gene-modified tumor vaccine by combination with IL-1 and low dose cyclophosphamide [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 1999, 18(2):173-179.
- [43] Su PJ, Chen JS, Liaw CC, et al. Biochemotherapy with carmustine, cisplatin, dacarbazine, tamoxifen and lowdose interleukin-2 for patients with metastatic malignant melanoma [J]. *Chang Gung Med J*, 2011, 34(5): 478-486.
- [44] Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: Signaling and modulation [J]. *Science*, 1998, 281(5381): 1305-1308.
- [45] Hellwig C. T, Rehm M. TRAIL signaling and synergy mechanisms used in TRAIL-based combination therapies [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(1): 3-13.
- [46] Bruchard M, Mignot G, Derange`re, et al. Chemotherapy-triggered cathepsin B release in myeloid-derived suppressor cells activates the Nlrp3 inflammasome and promotes tumor growth [J]. *Nat Med*, 2013, 19(1): 57-64.
- [47] Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(5): 361-371.
- [48] de Wilt-JH, Tiel-ST ME, van Ijken MG, et al. Prerequisites for effective isolated limb perfusion using tumour necrosis factor alpha and melphalan in rats [J]. *Br J Cancer*, 1999, 80(1/2): 161-166.
- [49] van der-Veen AH, de Wilt JH, Eggermont AM, et al. TNF- α augments intratumoural concentrations of doxorubicin in TNF- α -based isolated limb perfusion in rat sarcoma models and enhances anti-tumour effects [J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(4): 973-980.
- [50] Futagami M, Sato S, Sakanloto T, et al. Effects of melatonin on the proliferation and cis-diamminedichloroplatinum (CD-DP) sensitivity of cultured huinan ovarian cancer cells [J]. *Gynecol Oncol*, 2001, 82(3): 544-549.
- [51] Furuya Y, Yamamoto K, Kohnob N, et al. 5-Fluorouracil attenuates an oncostatic effect of melatonin on estrogen-sensitire human breast cancer cells(MCF-7) [J]. *Cancer Lett*, 1994, 81(1): 95-98.
- [52] Lisbon P. Biochemotherapy with standard chemotherapies plus the pineal hormone melatonin in the treatment of advanced solid neoplasms [J]. *Pathologic Biologic*, 2007, 55(3/4): 201-204.
- [53] DasguptaA, McCarty D, Spencer HT. Engineered drug resistant $\gamma\delta$ T cells kill glioblastoma cell lines during a chemotherapy challenge: A strategy for combining chemo- and immunotherapy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1): 170-175.
- [54] Schlom J. Therapeutic cancer vaccines: Current status and moving forward [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2012, 104(8): 599-613.
- [55] Ghansah T, Vohra N, Kinney K, et al. Dendritic cell immunotherapy combined with gemcitabine chemotherapy enhances survival in a murine model of pancreatic carcinoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(6): 1083-1091.
- [56] Liu Q, Wang Y, Wang H, et al. Tandem therapy for retinoblastoma: Immunotherapy and chemotherapy enhance cytotoxicity on retinoblastoma by increasing apoptosis [J]. *J Cancer Res Clin*, 2013, 139(8): 1357-1372.
- [57] Spigel DR, Socinski MA. Rationale for chemotherapy, immunotherapy, and checkpoint blockadein SCLC: Beyond traditional treatment approaches [J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(5): 587-598.
- [58] Vacchelli E, Galluzzi L, Fridman WH, et al. Trial watch: Chemotherapy with immunogenic cell death inducers [J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(2): 179-188.
- [59] Hodge JW, Garnett CT, Farsaci B, et al. Chemotherapy-induced immunogenic modulation of tumor cells enhances killing by cytotoxic T lymphocytes and is distinct from immunogenic cell death [J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(3): 624-636.