

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.04.008

· 基础研究 ·

PD-1 单抗联合顺铂或吉西他滨化疗对 KRAS 突变非小细胞肺癌 A549 细胞移植瘤小鼠模型的治疗作用

李雄兵, 周瑞芬, 李佳丽, 王汉姣, 王超, 李婧, 曹喆, 舒诚荣(咸宁市中心医院 肿瘤内科, 湖北 咸宁 437000)

[摘要] **目的:** 探讨程序性死亡受体-1(PD-1)单抗联合顺铂或吉西他滨在 KRAS 基因突变非小细胞肺癌(NSCLC)A549 细胞移植瘤小鼠模型治疗中的作用。**方法:** 构建免疫系统-肿瘤人源化 A549 细胞小鼠移植瘤模型, 将 60 只小鼠按随机数字表法分成 6 组(10 只/组), 分别为对照组(200 μ L/kg PBS)、PD-1 单抗组(20 mg/kg PD-1 单抗)、顺铂组(3 mg/kg 顺铂)、PD-1 单抗+顺铂组(20 mg/kg PD-1 单抗+3 mg/kg 顺铂)、吉西他滨组(30 mg/kg 吉西他滨)和 PD-1 单抗+吉西他滨组(20 mg/kg PD-1 单抗+30 mg/kg 吉西他滨)。TUNEL 和 DAPI 双染色法检测移植瘤组织中细胞凋亡水平, 测量移植瘤体积和质量并计算肿瘤生长抑制率, 免疫组化法检测移植瘤微血管密度(MVD)。**结果:** 成功构建免疫系统-肿瘤人源化 NSCLC A549 细胞小鼠移植瘤模型, PD-1 单抗+顺铂组移植瘤的细胞凋亡率、肿瘤生长抑制率均最高, 移植瘤体积、质量和 MVD 均最小, 与其他 5 组小鼠比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论:** 顺铂与 PD-1 单抗具有协同活性, 而吉西他滨拮抗 PD-1 单抗的治疗作用。提示 PD-1 单抗联合顺铂对 KRAS 突变 NSCLC A549 细胞移植瘤小鼠的疗效更好。

[关键词] PD-1 单抗; 顺铂; 吉西他滨; 非小细胞肺癌; KRAS 突变; 免疫治疗

[中图分类号] R734.2; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)04-0371-06

Therapeutic effect of PD-1 monoclonal antibody combined with cisplatin or gemcitabine chemotherapy in a mouse xenograft model with KRAS mutant non-small cell lung cancer A549 cells

LI Xiongbing, ZHOU Ruifen, LI Jiali, WANG Hanjiao, WANG Chao, LI Jing, CAO Zhe, SHU Chengrong (Department of Oncology, Xianning Central Hospital, Xianning 437000, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutic effect of programmed death-1 monoclonal antibody (PD-1 mAb) combined with cisplatin and gemcitabine in the treatment of transplanted tumor with KRAS gene mutant non-small cell lung cancer (NSCLC) A549 cells in mice. **Methods:** By constructing an immune system-tumor humanized mouse xenograft model with NSCLC A549 cells, 60 mice were randomly divided into 6 groups (10 mice/group), namely control group (200 μ L/kg PBS), PD-1 mAb group (20 mg/kg PD-1 mAb), cisplatin group (3 mg/kg cisplatin), PD-1 mAb+cisplatin group (20 mg/kg PD-1 mAb+3 mg/kg cisplatin), gemcitabine group (30 mg/kg gemcitabine) and PD-1 mAb+gemcitabine group (20 mg/kg PD-1 mAb+30 mg/kg gemcitabine). TUNEL and DAPI double staining were used to detect the level of apoptosis in transplanted tumor tissues. The volume and mass of transplanted tumors were detected, and the growth inhibition rate of transplanted tumor was measured. The microvessel density (MVD) of transplanted tumor was determined by immunohistochemistry. **Results:** The humanized mouse xenograft model of NSCLC A549 cells was successfully constructed. Compared with the other five groups, the apoptosis rate and tumor growth inhibition rate in the PD-1 mAb+cisplatin group were the highest, and the tumor volume, mass, and MVD were the smallest (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Cisplatin has a synergistic activity with PD-1 mAb, while gemcitabine can antagonize the therapeutic effect of PD-1 mAb. It is suggested that PD-1 mAb combined with cisplatin chemotherapy is better for KRAS mutant NSCLC A549 cell transplanted tumor mice.

[Key words] PD-1 monoclonal antibody (PD-1 mAb); cisplatin; guicitabine; non-small cell lung cancer (NSCLC); KRAS mutation; immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(4): 371-376. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.04.008]

[基金项目] 湖北省卫生健康委员会科研项目(No. WJ2019M095)

[作者简介] 李雄兵(1984—),男,硕士,主治医师,主要从事肿瘤的临床治疗研究。E-mail: llixiongbini@163.com

[通信作者] 周瑞芬, E-mail: suixiang3160@163.com

肺癌是世界上发病率和病死率最高的肿瘤, 85%~90%肺癌为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者^[1]。NSCLC治疗多以手术为主, 然而约有30%~55%的局部复发和远处转移发生率^[2]。研究^[3]发现, 人类肿瘤中常发生KRAS突变, 其与不良的临床结局相关。在肺癌中约30%~40%的细胞存在KRAS突变, 其通过活性氧介导的生长因子信号促进PD-L1表达^[4]。PD-1主要在T细胞上表达, 其与PD-L1相互作用导致T细胞功能受到抑制^[5]。因此, 阻断PD-1/PD-L1相互作用成为解锁被抑制的免疫功能的一种逻辑策略, 并构成了在肿瘤免疫治疗中使用免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI) PD-1单抗及其联合用药方案的基础^[6-7]。PD-1单抗与标准化疗药物联合使用已被证明可以进一步提高其抗肿瘤活性, 改善肿瘤患者的临床预后^[8-9]。顺铂和吉西他滨为常用的化疗药物, 目前, 有关PD-1单抗联合顺铂或吉西他滨在KRAS突变NSCLC免疫治疗中的作用研究尚少见报道, 且该类研究使用鼠源性实验模型居多, 其说服力不足。因此, 本研究通过构建免疫系统-肿瘤双人源化NSCLC A549细胞小鼠移植瘤模型, 观察PD-1单抗联合顺铂或吉西他滨对移植瘤治疗中的作用, 为NSCLC临床治疗方案的选择提供参考实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、细胞及主要试剂

雌性、5~7周龄、体质量(22.15±2.11)g的重度联合免疫缺陷SPF级小鼠(NOD/ShiLtJGpt-Prkdc^{em26Cd52}Il2rg^{em26Cd22}/Gpt, NCG)购自北京 Vital River 实验动物技术公司(实验动物合格证号: ZS-202106150022)。饲养环境设置: 明/暗交替(12 h/12 h), 在40%~70%的相对湿度、(22±2)°C室温下, 小鼠自由饮水(经高压蒸汽灭菌的饮用水)和摄食。动物实验方案已获得咸宁市中心医院实验动物福利伦理委员会批准(No.22016)。

KRAS突变型人NSCLC细胞A549购自ATCC细胞库, 在100 U/mL青霉素+100 μg/mL链霉素+10%胎牛血清的DMEM培养基中, 于37 °C、5%CO₂培养箱中培养。高倍显微镜下观察细胞生长状态, 当细胞生长状态良好时, 取对数生长期的细胞接种到培养板中培养。

自咸宁市中心医院输血科获取5份人新鲜外周静脉血(5 mL/份), 以获取人外周血单个核细胞(PBMC), 采样前获得所在医院医学伦理委员会批准(伦理审批号: KY20221028)。小鼠淋巴细胞分离液购自中国天津市灏洋生物科技有限公司, 胎牛血清、

DEME培养基购自美国Sigma公司, 磷酸盐缓冲液(PBS)购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司, 顺铂购自中国齐鲁制药有限公司, PD-1单抗购自美国默沙东公司, 吉西他滨购自美国礼来公司, Ficoll-Paque™ PREMIUM 1.084淋巴细胞分离液、抗人流式检测抗体购自美国GE Healthcare公司, PE-CD3e、FITC-CD45抗体自美国BD公司, KRAS(#sc-30)购自美国圣克鲁斯生物技术公司, 含gDNA Eraser的Primer Script RT试剂盒、SYBR Premix Ex Taq RNase H试剂盒购自日本TaKaRa公司, 免疫组织化学试剂盒购自康为世纪有限公司, TUNEL绿色检测试剂盒购自瑞士罗氏公司, CD33 PE-Cy7荧光单克隆抗体试剂购自美国BD公司。

1.2 细胞培养

将人PBMC接种于培养皿中, 采用DMEM高糖培养基, 其中加入10 mL 10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素, 于37 °C、5% CO₂培养箱中培养。细胞贴壁并覆盖90%皿底时弃去培养基, 消化3 min(加3 mL胰酶溶液), 加5 mL培养基终止消化, 进行细胞传代。待细胞状态良好并于对数生长期时, 胰酶消化并收集细胞, 用PBS调整细胞密度为5×10⁶个/mL, 冰上保存。

1.3 人源化NSCLC小鼠模型的构建与鉴定

在实验研究开始前, 小鼠先在一个无病原体控制的环境中度过7 d的适应期。用Ficoll密度梯度离心法获得人PBMC后, 通过尾静脉将PBMC注射入小鼠体内(1×10⁷个细胞/只)。PBMC移植14 d后, 将对数生长期的人A549细胞接种于小鼠右前肢腋部皮下(5×10⁶个细胞/只)。移植3周后, 抽取重建小鼠的静脉血, 分离PBMC, 加抗人CD3⁺、CD45⁺T细胞荧光抗体标记, 流式细胞仪分析评估其中人免疫细胞的比例, 通过FlowJo 10软件进行分析。期间每3 d测量1次小鼠体质量和移植瘤体积。将实验结束后、实验过程中濒临死亡的小鼠、肿瘤长度大于15 mm或患有溃疡性肿瘤的小鼠立即处死, 以避免不必要的疼痛和痛苦。

1.4 实验动物分组及治疗

皮下移植人A549细胞后, 观察小鼠皮下移植瘤生长情况, (2次/1周), 皮下移植瘤达约100 mm³时, 将模型小鼠按随机数字表法分为6组(10只/组): 对照组、PD-1单抗组、PD-1单抗+顺铂组、吉西他滨组和PD-1单抗+吉西他滨组。造模第7天开始给予治疗: (1)对照组, 腹腔注射200 μL/kg PBS; (2)PD-1单抗组, 静脉注射20 mg/kg的PD-1单抗, 1次/3 d; (3)顺铂组, 腹腔注射3 mg/kg的顺铂, 1次/3 d; (4)吉西他滨组, 腹腔注射30 mg/kg的吉西他滨, 1次/3 d;

(5) PD-1 单抗+顺铂组、PD-1 单抗+吉西他滨组用药剂量及次数同上, 同时给药, 治疗持续至第 28 天。

1.5 TUNEL 和 DAPI 双染色法检测移植瘤组织中细胞凋亡水平

处死各组小鼠, 切取移植瘤组织并在 4% 多聚甲醛溶液中固定 1 d 后, 浓度梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋, 切片厚 5 μm 。在处理移植瘤组织 15 天后, 根据试剂盒说明书, 进行 TUNEL 染色 (绿色)。用 DAPI 作为反染色 (蓝色), 显示细胞核。荧光显微镜下, 细胞核中绿色颗粒为凋亡细胞, 凋亡细胞数量通过随机选取 3 个 ($\times 200$) 视野计数 TUNEL 染色细胞总数量获得。

1.6 移植瘤体积与质量观察及肿瘤生长抑制率计算

(1) 每组取 7 只小鼠, 造模后第 7 天开始, 用游标尺测量皮下肿瘤的最大长、短径, 分别于第 7、10、14、18、21、24、28、31、35、38、42、45 天进行检测。依据公式 [肿瘤体积 (V) = (长度 \times 宽度²) / 2] 计算小鼠体内移植瘤体积均数, 绘制肿瘤生长曲线。(2) 造模 45 d 后, 处死所有小鼠, 取出移植瘤, 称移植瘤质量并测量移植瘤体积。依据公式 [肿瘤生长抑制率 = (对照组平均瘤体积 - 治疗组平均瘤体积) / 对照组平均瘤体积 \times 100%] 计算肿瘤生长抑制率。

1.7 免疫组化法检测移植瘤微血管密度 (microvascular density, MVD)

干预治疗后, 处死小鼠并取移植瘤, 在 4% 多聚甲醛溶液中固定后, 脱水、透明、石蜡包埋后, 切成 4 μm 厚切片, 显微镜下观察, 取 6 个高倍视野/张切片, 计算 MVD 平均值。

1.8 统计学处理

采用 SPSS23.0 软件对数据进行分析。呈正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间数据比较采用 t 检验, 多组间数据比较用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建双人源化 NSCLC A549 细胞小鼠移植瘤模型

将人 PBMC 及人 A549 细胞输入或接种于小鼠体内, 第 21 天后流式细胞术检测小鼠外周血中人 CD45⁺、CD3⁺ T 细胞含量, 结果发现来自同一供体不同小鼠外周血中两种 T 细胞的比例不同, CD45⁺、CD3⁺ T 细胞比例分别为 25.9%、27.3%, 符合 $> 25\%$ 即建模成功的标准^[10]。结果表明, 成功构建了免疫系统-肿瘤人源化 NSCLC A549 细胞移植瘤小鼠模型。

2.2 各组小鼠移植瘤组织中肿瘤细胞凋亡率比较

TUNEL 和 DAPI 双染色法检测结果 (图 1) 显示, 小鼠移植瘤组织中肿瘤细胞凋亡率从高到低排序为 PD-1 单抗+顺铂组 (52.14 \pm 8.15)%、PD-1 单抗组 (17.33 \pm 6.39)%、PD-1 单抗+吉西他滨组 (16.24 \pm 5.14)%、顺铂组 (15.27 \pm 4.25)%、对照组 (4.19 \pm 1.39)% 和吉西他滨组 (4.16 \pm 1.28)%; 其中 PD-1 单抗+顺铂组的细胞凋亡率最高, 与其他各组小鼠比较差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 其余各组比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。结果表明, PD-1 单抗+顺铂治疗可有效促进小鼠移植瘤细胞凋亡, 具有较强的抗肿瘤作用。

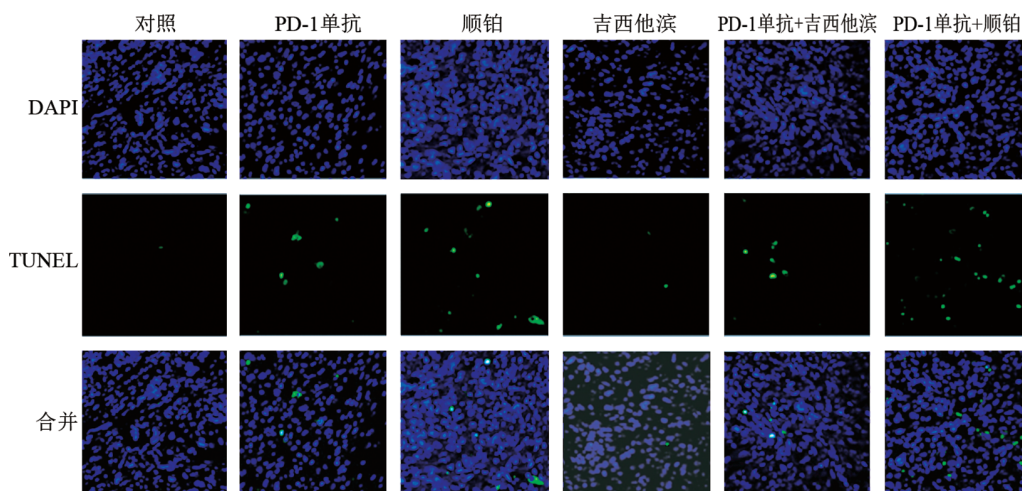


图 1 各组小鼠移植瘤组织 DAPI+TUNEL 双染色结果 ($\times 200$)

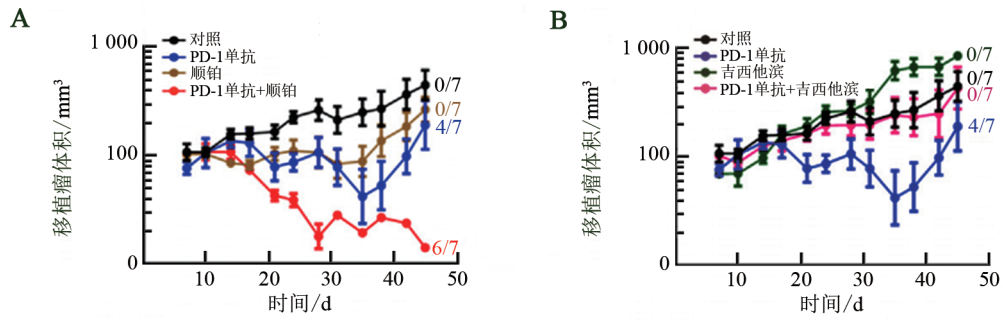
2.3 各组小鼠移植瘤体积和质量比较

至造模第 45 天时, 分析小鼠移植瘤体积和质量 (图 2, 表 1) 发现, 与对照组比较, 其他各组小鼠的移植瘤

体积均显著减小, 移植瘤生长趋势均显著减缓, 其中 PD-1 单抗+顺铂组小鼠移植瘤体积和质量均最小 (均 $P < 0.05$)。PD-1 单抗+吉西他滨组与对照组比较差

异无统计学意义($P>0.05$),其他各组小鼠与对照组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。其中,PD-1单抗组有4只小鼠移植瘤消失,而另外3只小鼠移植瘤在治疗停止7 d后开始显著生长;PD-1单抗+吉西他滨组7只小鼠移植瘤依旧持续生长;PD-1单抗+顺

铂组有6只小鼠移植瘤消失,停止治疗后,另1例小鼠移植瘤未见明显生长。结果表明,顺铂与PD-1单抗之间存在协同作用,而吉西他滨与PD-1单抗之间存在明显的拮抗作用。



A: 对照组、PD-1 单抗组、顺铂组和 PD-1 单抗+顺铂组的比较; B: 对照组、PD-1 单抗组、吉西他滨组和 PD-1 单抗+吉西他滨组的比较。各条曲线右侧的数字表示实验结束时肿瘤小鼠接近于正常无肿瘤小鼠的数量。

图2 各组小鼠移植瘤生长体积比较

2.4 各组小鼠移植瘤生长抑制率比较

至造模第45天时,PD-1单抗+顺铂组小鼠的肿瘤生长抑制率最高,与其他各组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),而吉西他滨组小鼠的肿瘤生长抑制率呈负数形式,且PD-1单抗+吉西他滨组的肿瘤生长抑制率显著低于PD-1单抗组,结果表明吉西他滨不仅无治疗效果,反而促进小鼠移植瘤的生长,对PD-1单抗治疗有拮抗作用,见表1。

2.5 各组小鼠移植瘤MVD比较

分析移植瘤组织MVD(表1)发现,PD-1单抗+顺铂组小鼠移植瘤中MVD最低,与其他各组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),而PD-1单抗+吉西他滨组与对照组比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。结果表明,PD-1单抗+顺铂治疗可有效降低移植瘤中MVD。

表1 造模第45天时各组小鼠移植瘤质量、体积、生长抑制率及MVD比较

分组	n	质量/g	体积/mm ³	生长抑制率/%	MVD(条/mm ²)
对照组	7	2.84±0.91	418.25±8.54	0	57.58±5.15
PD-1 单抗组	7	1.25±0.36*	178.44±9.84*	57.33±3.24*	42.15±4.33*
顺铂组	7	1.94±0.54*	241.18±6.57*	42.34±3.14*	25.14±3.84*
吉西他滨组	7	4.15±1.05*	841.78±2.15*	-101.26±3.05*	102.54±7.05*
PD-1 单抗+吉西他滨组	7	2.79±0.89	412.47±9.15	1.38±0.19*	56.25±5.03
PD-1 单抗+顺铂组	7	0.29±0.05* [△]	14.58±1.14* [△]	96.51±3.65* [△]	3.12±1.02* [△]

与对照组比较,* $P<0.05$;与其余4个治疗组比较,[△] $P<0.05$ 。

3 讨论

现阶段,对恶性肿瘤的治疗主要在消除肿瘤细胞的同时,尽量减少对正常组织细胞的伤害。传统治疗方法主要是放疗、化疗和手术等带有创伤性的治疗方式,虽然可以杀死肿瘤细胞,但由于其缺乏特异性,在对周围正常组织造成损伤的同时,又不能彻底消灭微小残余的病灶组织,使得治愈率较低,增加了肿瘤的复发和病死率。肿瘤治疗的第4种模式是

指用免疫系统甄别健康和恶变组织、“非我”和“自我”的特点,提高疗效^[11-12]。研究结果^[13]显示,80%的肿瘤患者单独使用PD-1单抗因其原发性耐药致使免疫治疗无效,小部分治疗有效患者还会因发生继发性耐药而使肿瘤复发。因而为进一步提高和稳定PD-1单抗的治疗效果,抗血管生成药物、化疗药物和其他免疫治疗药物联合等治疗方式的研究层出不穷。顺铂是早期NSCLC的常用化疗药物,与单纯手术相比,新辅助化疗能降低患者肿瘤分期、消除微转

移灶和提高完全切除率,以达到改善患者围手术期情况的目的^[14]。吉西他滨作为肺癌一线的药物,介导 DNA 合成,联用铂类药物效果最佳,但部分患者表现为不耐受而降低其疗效^[15]。

为了探讨 PD-1 单抗联合顺铂或吉西他滨化疗对 KRAS 突变 NSCLC 免疫治疗的作用,本研究成功建立了双人源化 NSCLC 小鼠模型,结果发现 PD-1 单抗联合顺铂化疗对 KRAS 突变 NSCLC 小鼠的治疗效果更好。李惠等^[16]建立了人源化 NSCLC 小鼠模型,对比顺铂组、PD-1 单抗组、顺铂联合 PD-1 单抗组和对照组的肿瘤复发与转移情况,结果发现,顺铂联合 PD-1 单抗组的治疗效果更好,其潜在的抗肿瘤机制可能是通过广泛浸润肿瘤中的 CD8⁺ T 细胞,刺激 CD8⁺ T 细胞释放颗粒酶 B,调控机体的免疫功能,进而杀灭肿瘤细胞。CORREALE 等^[17]建立了结肠癌 MC38 细胞小鼠模型,对比顺铂组、PD-1 单抗组、顺铂联合 PD-1 单抗组和对照组的疗效,发现联合治疗组 CD8⁺ T 细胞数量最多,其机制可能是通过 CXCL9/CXCL10/CCL5 轴刺激浸润 T 细胞,进而改善结肠癌的临床结局。本研究结果提示,顺铂与 PD-1 单抗具有协同作用,而吉西他滨能拮抗 PD-1 单抗的治疗作用,并不适用于 KRAS 突变 NSCLC 患者的免疫治疗,这与 GLORIEUX 等^[18]的研究结果一致。

PD-1 单抗可降低顺铂引起 PD-L1 的过表达,增强自身免疫细胞对肿瘤细胞的杀伤作用,逆转机体免疫耐药状态,降低肿瘤细胞的逃逸现象,进而改善疗效及患者预后。顺铂与 PD-1 单抗具有协同活性可能是通过诱导 DNA 损伤来刺激 cGAS/STING 信号通路来增强趋化因子的表达,增加 IFN- β 1 和 CXCL9/10/11 的表达,有效促进 CD8⁺ T 细胞浸润肿瘤组织,激活 T 细胞的功能,如 IFN- γ 的分泌增加,进而增强 PD-1 单抗的治疗效果,产生治疗协同作用^[19-21]。吉西他滨是一种抗代谢的核苷类药物,其通过消耗肿瘤细胞的脱氧核苷来阻止肿瘤细胞 DNA 的合成,进而促进肿瘤细胞凋亡。GLORIEUX 等^[18]的研究则推测,吉西他滨可能通过抑制 T 细胞浸润到肿瘤组织中,从而对免疫系统有抑制作用,但是抑制 T 细胞浸润的确切分子机制尚不清楚,有待进一步研究确证。而杨雅萌等^[15]的研究显示,PD-1 单抗联合吉西他滨的治疗效果优于单独使用 PD-1 单抗治疗,与本研究成果存在差异的原因可能是本研究延长了对小鼠的观察时间至造模后的 45 d,不仅能观察到用药开始到结束后的指标变化,还能观察到用药结束后到处死小鼠之前的肿瘤生长持续变化趋势。本研究发现,PD-1 单抗和吉西他滨联合使用使得小鼠的肿瘤生长抑制率(1.38 \pm 0.19)%显著低于 PD-1 单抗组(57.33 \pm

3.24)% ,说明吉西他滨对 PD-L1 单抗有拮抗作用,会抵消其抑制肿瘤效应。结果表明,PD-1 单抗与吉西他滨联用并不适用于 KRAS 突变 NSCLC 模型小鼠的免疫治疗。

综上所述,PD-1 单抗与顺铂具有协同抗肿瘤活性,而吉西他滨与 PD-1 单抗具有拮抗作用。提示 PD-1 单抗联合顺铂化疗对 KRAS 突变 NSCLC 细胞移植瘤小鼠的疗效更好,而吉西他滨拮抗 PD-1 单抗的机制还有待深入研究。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* Cancer statistics, 2022[J]. *CA A Cancer J Clinicians*, 2022, 72(1): 7-33. DOI: 10.3322/caac.21708.
- [2] HOPSTAKEN J S, DE RUITER J C, VAN DIESEN J N A, *et al.* Treatment of non-small cell lung cancer[J/OL]. *Ned Tijdschr Geneesk*, 2021, 165(1): D5486[2023-11-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33651512/>.
- [3] GLORIEUX C, HUANG P. Regulation of CD137 expression through K-Ras signaling in pancreatic cancer cells[J/OL]. *Cancer Commun (Lond)*, 2019, 39(1): 41[2023-05-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6615207/>. DOI: 10.1186/s40880-019-0386-4.
- [4] GLORIEUX C, XIA X J, HE Y Q, *et al.* Regulation of PD-L1 expression in KRAS-driven cancers through ROS-mediated FGFR1 signaling[J/OL]. *Redox Biol*, 2021, 38: 101780[2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7658718/>. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101780.
- [5] 胡红梅, 于秋红, 杨毅, 等. 基于靶点人源化小鼠的 PD-1/CTLA-4 双特异性抗体及其 IgG1 亚型的抗癌活性评价[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(5): 380-386. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.05.003.
- [6] 陈静利. 外周血细胞在 PD-1/PD-L1 抑制剂治疗中的预测价值[J]. *医学研究生学报*, 2022, 35(7): 778-784. DOI: 10.16571/j.cnki.1008-8199.2022.07.019.
- [7] 张百灵, 成细瑶, 黄永棋, 等. PD-1/PD-L1 靶向抑制剂的研究进展[J]. *沈阳药科大学学报*, 2022, 39(7): 887-892. DOI: 10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2020.1022.
- [8] GUO C, ZHANG J, CHEN Y, *et al.* Anti-PD-1 antibody combined with drug-eluting bead transarterial chemoembolization for Barcelona clinic liver cancer stage A/B hepatocellular carcinoma beyond the Milan criteria[J]. *HPB*, 2022, 24(S1): S178. DOI: 10.1016/j.hpb.2022.05.358.
- [9] 邵亦成, 蒋敬庭. PD-1/PD-L1 抑制剂治疗乳腺癌: 现状、问题与对策[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(2): 99-107. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.02.001.
- [10] LIN S H, HUANG G H, CHENG L, *et al.* Establishment of peripheral blood mononuclear cell-derived humanized lung cancer mouse models for studying efficacy of PD-L1/PD-1

- targeted immunotherapy[J]. *MAbs*, 2018, 10(8): 1301-1311. DOI: 10.1080/19420862.2018.1518948.
- [11] HAMILTON G, RATH B. Pharmacogenetics of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer: predictive validity of polymorphisms of ERCC1[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2018, 14(1): 17-24. DOI: 10.1080/17425255.2018.1416095.
- [12] ASSI R, KANTARJIAN H, RAVANDI F, *et al.* Immune therapies in acute myeloid leukemia: a focus on monoclonal antibodies and immune checkpoint inhibitors[J]. *Curr Opin Hematol*, 2018, 25(2): 136-145. DOI: 10.1097/moh.0000000000000401.
- [13] DAFNI U, TSOURTI Z, VERVITA K, *et al.* Immune checkpoint inhibitors, alone or in combination with chemotherapy, as first-line treatment for advanced non-small cell lung cancer. A systematic review and network meta-analysis[J]. *Lung Cancer*, 2019, 134: 127-140. DOI: 10.1016/j.lungcan.2019.05.029.
- [14] CHIU L C, LIN S M, LO Y L, *et al.* Immunotherapy and vaccination in surgically resectable non-small cell lung cancer (NSCLC)[J/OL]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9(7): 689 [2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8310081/>. DOI: 10.3390/vaccines9070689.
- [15] 杨雅萌, 罗丹凤. 吉西他滨联合PD-1单抗对肺癌小鼠肿瘤体内增殖能力的影响[J]. *重庆医学*, 2022, 51(4): 551-556. DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2022.04.003.
- [16] 李惠, 郭文文, 王荟荟, 等. 抗PD-1单抗联合顺铂的新辅助治疗策略对NSCLC人源化小鼠模型肿瘤复发与转移的影响[J]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(6): 751-758. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2022.06.003.
- [17] CORREALE P, AQUINO A, GIULIANI A, *et al.* Treatment of colon and breast carcinoma cells with 5-fluorouracil enhances expression of carcinoembryonic antigen and susceptibility to HLA-a(*)02.01 restricted, CEA-peptide-specific cytotoxic T cells *in vitro*[J]. *Int J Cancer*, 2003, 104(4): 437-445. DOI: 10.1002/ijc.10969.
- [18] GLORIEUX C, XIA X J, YOU X, *et al.* Cisplatin and gemcitabine exert opposite effects on immunotherapy with PD-1 antibody in KRAS-driven cancer[J/OL]. *J Adv Res*, 2022, 40: 109-124[2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9481954/>. DOI: 10.1016/j.jare.2021.12.005.
- [19] FOURNEL L, WU Z R, STADLER N, *et al.* Cisplatin increases PD-L1 expression and optimizes immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2019, 464: 5-14. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.08.005.
- [20] FOURNEL L, WU Z R, STADLER N, *et al.* Cisplatin increases PD-L1 expression and optimizes immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2019, 464: 5-14. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.08.005.
- [21] TRAN L, ALLEN C T, XIAO R, *et al.* Cisplatin alters antitumor immunity and synergizes with PD-1/PD-L1 inhibition in head and neck squamous cell carcinoma [J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(12): 1141-1151 [2023-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5712281/>. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0235.

[收稿日期] 2023-11-09

[修回日期] 2024-02-20

[本文编辑] 党瑞山