

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.09.001

· 专家论坛 ·

免疫细胞疗法在实体瘤治疗中的挑战与对策

刘莎莎, 田永贵, 张毅 (郑州大学第一附属医院 生物细胞治疗中心, 河南 郑州 450052)



张毅 二级教授、博士生导师, 郑州大学第一附属医院生物细胞治疗中心主任、郑州大学医学科学院学术副院长, 省部共建食管癌国家重点实验室副主任、河南省肿瘤免疫与生物治疗重点实验室主任。兼任中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗专委会主任委员、中国医药质量协会细胞治疗质量控制和研究分会常务副主任委员、中国研究型医院学会生物治疗学专委会副主任委员和中国抗癌协会肿瘤生物治疗专委会副主任委员等, 担任 *J Hematol Oncol*、*Biomark Res*、*Front Cell Dev Biol*、*Cancer Control*、*Front Oncol* 等英文杂志副主编或编委等。从事肿瘤免疫与细胞治疗基础研究和临床转化研究三十余年, 2011 年以来带领团队承担国家级科研项目 41 项, 2015 年以来主持细胞治疗临床试验研究项目 39 项, 发表 SCI 论文 219 篇, 授权发明专利 10 项, 先后获河南省自然科学一等奖、中国抗癌协会科技成果二等奖及中国侨界贡献奖等多个奖项。

[摘要] 近年来, 以 T 淋巴细胞为主的免疫细胞疗法在血液系统肿瘤和部分实体瘤中取得了一定的进展。然而, 其对大部分实体瘤治疗的有效性和安全性仍面临着诸多挑战, 如肿瘤抗原异质性和免疫逃逸、免疫细胞浸润能力差、免疫抑制微环境、代谢微环境阻碍和 T 细胞耗竭等, 这些问题限制了免疫细胞对实体瘤治疗的疗效进一步的提升。通过寻找新抗原、设计多靶点 CAR、过表达趋化因子受体及细胞因子、敲除抑制性信号分子、增强 T 细胞代谢能力、联合免疫检查点抑制剂, 以及表观遗传修饰等手段能够有效改善免疫细胞在实体瘤治疗中的效果。本文系统性地对 TIL、TCR-T 细胞和 CAR-T 细胞为代表的免疫细胞对实体瘤治疗的研究现状、面临的挑战和解决策略进行评述。

[关键词] 实体瘤; 免疫细胞治疗; TIL; TCR-T 细胞; CAR-T 细胞; 肿瘤微环境

[中图分类号] R392.1; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)09-0781-10

Immune cell therapies for solid tumors: an overview of challenges and counter measures

LIU Shasha, TIAN Yonggui, ZHANG Yi (Biotherapy Center, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan, China)

[Abstract] In recent years, T-lymphocyte-based immune cell therapies have achieved remarkable progress in hematologic tumors and some solid tumors. However, there still remain many challenges in immune cell therapies for solid tumors, such as antigen heterogeneity, immune evasion, poor immune cell infiltration, immunosuppressive microenvironment, metabolic obstructive microenvironment and T cell exhaustion, limiting further improvement in immune cell therapies for solid tumors. The effectiveness of immune cells in solid tumor therapy can be efficiently improved by searching for new antigens, designing multi-target CARs, overexpressing chemokine receptors and cytokines, knocking down inhibitory signaling molecules, enhancing T cell metabolic capacity, combining immune checkpoint inhibitors and epigenetic modifications. This article reviews systematically the current status of research, challenges and solution strategies of immune cell therapies for solid tumors, such as tumor-infiltrating lymphocyte (TIL) therapy, TCR-T (T cell receptor-engineered T) cell therapy and CAR-T (chimeric antigen receptor T) cell therapy.

[Key words] solid tumor; immune cell therapy; TIL; TCR-T cell; CAR-T cell; tumor microenvironment

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(9): 781-790. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.09.001]

肿瘤免疫治疗是指通过主动或被动的方法, 调动机体的免疫系统, 通过增强抗肿瘤免疫应答和打破肿瘤微环境的免疫抑制, 从而抑制和杀伤肿瘤细胞。1890 年 COLEY 给患者注射细菌毒素成功缩小肿瘤, 自此拉开了肿瘤免疫治疗的序幕。2013 年肿瘤免疫治疗被 *Science* 杂志评为年度全球十大科学研

[基金项目] 重大新药创制科技重大专项 (No. 2020ZX09201-009); 国家自然科学基金面上项目 (No. 81771781); 国家自然科学基金青年基金 (No. 82203548); 河南省重大公益专项 (No. 201300310400)

[作者简介] 刘莎莎 (1991—), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事基因工程修饰 T 细胞的基础及临床转化研究, E-mail: liushasha910729@163.com

[通信作者] 张毅, E-mail: yizhang@zzu.edu.cn

究突破之首。2014年和2017年,PD-1单抗和CD19 CAR-T(chimeric antigen receptor T)细胞分别被美国FDA批准上市。2018年诺贝尔生理或医学奖授予ALLISON教授和HONJO教授,表彰他们在“抑制负向免疫调节治疗肿瘤”中的杰出贡献。这些免疫疗法在血液系统肿瘤和实体瘤治疗中展现出良好的安全性和有效性,革命性地改变了肿瘤的治疗模式。

免疫细胞疗法是一种通过回输患者自身或者供者的免疫细胞来杀伤肿瘤的治疗方式,包括淋巴因子激活性杀伤(lymphokine-activated killer, LAK)细胞疗法、细胞因子诱导的杀伤(cytokine-induced killer, CIK)细胞疗法、自然杀伤(natural killer, NK)细胞疗法、 $\gamma\delta$ T细胞疗法、肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL)疗法、基因修饰T细胞疗法等在内的免疫细胞疗法经历了几十年的探索^[1-20],现在已进入快速发展的阶段(图1)。目前,以TIL、TCR-T(TCR-engineered T)细

胞和CAR-T细胞治疗方案为主,占据免疫细胞治疗市场的大部分版图。其中CAR-T细胞治疗在恶性血液肿瘤中展现出了巨大的潜力和应用价值,TIL和TCR-T细胞治疗在一小部分实体瘤中的应用中取得了一定的效果,然而在大部分实体瘤中这些免疫细胞疗法的有效反应率和受益者仍有限,归其原因主要可以总结为抗原异质性和免疫逃逸、免疫细胞浸润能力差、肿瘤微环境的免疫抑制和代谢微环境阻碍、T细胞耗竭等因素。随着对肿瘤免疫系统的深入探索以及基因工程技术、高通量基因测序等技术的发展,提高免疫细胞治疗疗效的策略也在不断改进。本文将TIL、TCR-T细胞和CAR-T细胞为代表,对国内外免疫细胞治疗实体瘤的基础和临床研究进展进行总结,分析当前面临的困境,并针对面临的问题提出潜在的解决办法,旨在进一步为攻克免疫细胞治疗实体瘤瓶颈提供新思路。

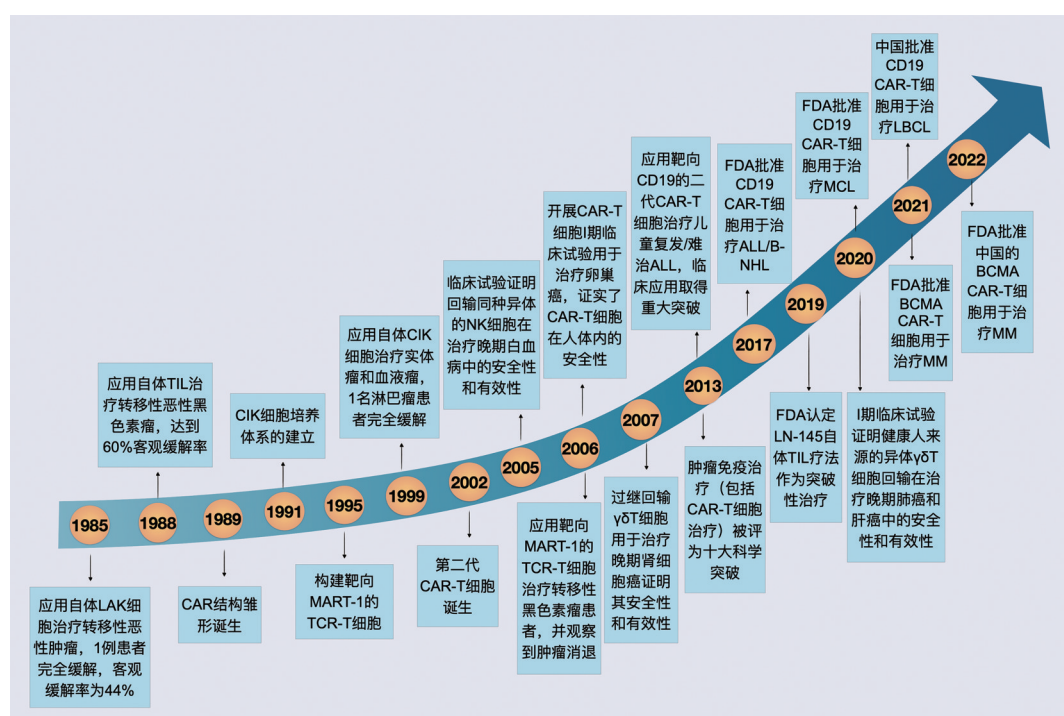


图1 免疫细胞治疗的发展简史

1 免疫细胞治疗肿瘤的成果斐然

1.1 TIL 治疗

TIL治疗是指从患者肿瘤组织中分离出淋巴细胞,在体外进行数百亿至数千亿级别的大规模扩增与培养后回输至患者体内,进而特异性地杀伤肿瘤细胞。1986年,ROSENBERG及其团队^[21-22]首次证实TIL联合环磷酰胺和IL-2治疗结肠癌小鼠肝转移达到100%治愈、肺转移治愈率达50%,为临床应用TIL

治疗晚期恶性肿瘤奠定了基础。1988年TIL疗法开展临床研究,在转移性黑色素瘤中取得了60%的客观缓解率(overall response rate, ORR)^[2]。迄今为止,已有多项TIL治疗实体瘤的临床研究正在开展,并展现出良好的疗效。其中黑色素瘤是研究最早也是最多的癌种,其次是非小细胞肺癌、卵巢癌、宫颈癌和头颈部肿瘤。多项临床试验结果表明TIL治疗实体瘤的临床反应率为35%~64%^[23]。2019年5月,美国FDA批准自体TIL疗法作为突破性疗法指定用于

在化疗期间或者化疗后病情进展的复发性、转移性或持久性宫颈癌^[15]。对肿瘤微环境的不断探索和免疫检查点抑制剂在实体瘤治疗中展现出良好的效果,也为提升TIL疗法的疗效提供了联合治疗方案的条件。多项关于TIL疗法联合免疫检查点抑制剂的临床试验(NCT02621021; NCT03645928; NCT03215810)正在开展,旨在提高TIL疗法的疗效。一项II期临床试验结果显示,66名接受过PD-1抑制剂、CTLA-4抑制剂或BRAF+MEK抑制剂治疗失败的晚期恶性黑色素瘤患者在接受TIL治疗后,疾病控制率(disease control rate, DCR)达到80.3%, ORR为36.4%,中位随访时间为8.8个月,中位反应持续时间未达到^[24]。表明TIL疗法为免疫检查点抑制剂失败的实体瘤患者带来了新的希望。

1.2 TCR-T细胞治疗

TCR-T细胞疗法是指通过体外对T细胞进行基因编辑,向T细胞转导识别特异性肿瘤抗原的TCR基因序列(α 链和 β 链),从而获得特异性识别肿瘤抗原的TCR-T细胞,TCR-T细胞经过体外培养扩增后回输患者体内发挥特异性杀伤肿瘤的功能^[25-26]。目前TCR-T细胞治疗的临床研究主要在实体瘤治疗中开展,以黑色素瘤、食管癌、直肠癌和滑膜肉瘤为主,大部分为针对特定肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA)、肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA)或新抗原(neoantigen)的特异性TCR。NY-ESO-1是研究最多的靶向抗原,其在多种癌种中均有表达^[27];其次为癌胚抗原家族,如MAGE、gp100和MART-1等,以及癌症驱动因子如WT1、KRAS和TP53。2006年ROSENBERG教授团队首次发现靶向MART-1抗原的TCR-T细胞疗法在黑色素瘤患者中展示出较好的效果,15名黑色素瘤患者过继回输MART-1特异性TCR-T细胞后,有2名患者肿瘤消退^[9]。临床试验统计结果显示,TCR-T细胞治疗在不同实体瘤治疗中ORR在0~60%之间^[23]。2022年1月25日, FDA批准一种新型TCR双特异性免疫疗法Kimmtrak (tebentafusp-tebn, IMCgp100)用于HLA-A*02:01阳性的无法切除或转移性葡萄膜黑色素瘤成人患者,是第一个获批的治疗实体瘤的双特异性T细胞接合器疗法^[28-29]。虽然TCR-T细胞疗法仍未被批准,但这个新型TCR双特异性免疫疗法的批准让人们在TCR-T细胞应用于治疗实体瘤中看到了希望。

1.3 CAR-T细胞治疗

与TCR-T细胞不同,CAR-T细胞以非MHC限制的方式识别和杀伤肿瘤细胞^[30-32]。CAR结构包含三个主要成分:识别抗原的细胞外单链可变区(single chain fragment variable, scFv),穿膜区和激活T

细胞信号转导的胞内信号区(包括共刺激信号和CD3 ζ)^[33-34]。分离患者自身或健康供体的T细胞进行激活和基因改造以产生CAR-T细胞,然后将其回输患者体内,通过细胞外结构域特异性识别表达抗原的靶细胞后,信号域刺激T细胞增殖、细胞溶解和细胞因子分泌发挥抗肿瘤作用。根据CAR结构域的组成,CAR的发展大致可分为四代^[35-37]:第一代CAR包含一个CD3 ζ 胞内结构域,由于缺乏共刺激分子和细胞因子的信号转导,第一代CAR-T细胞显示出低的细胞毒性和增殖能力,以至于在临床试验中几乎没有效果;第二代CAR通过在胞内信号转导域中添加了共刺激结构域(如CD28、4-1BB、OX40或ICOS),增强了CAR-T细胞增殖和细胞毒性的功能;第三代CAR是在第一代CAR的基础上加入两个共刺激信号域来构建;第四代CAR则是进一步引入功能性细胞因子来增强T细胞的杀伤和扩增能力。目前,以CD19、CD22、CD30、CD33、CD123、CD44v6和B细胞成熟抗原(B cell maturation antigen, BCMA)等靶点的CAR-T细胞在血液恶性肿瘤中表现出有效且持久的反应^[38]。迄今为止已有8种治疗血液肿瘤的CAR-T细胞产品被批准用于临床^[20,39-40]。CAR-T细胞在血液肿瘤患者临床治疗中取得的巨大成功使该免疫疗法向富有挑战性的实体肿瘤中转化。CAR-T细胞在治疗胰腺癌、结直肠癌、胶质母细胞瘤和间皮瘤等实体瘤患者的临床试验(NCT01935843, NCT02349724, NCT02208362, NCT03545815)^[41-44]中虽然显示了一定的可行性和安全性,但治疗疗效不尽人意,仍面临各种问题和挑战。

2 免疫细胞治疗实体瘤面临的挑战

尽管免疫细胞治疗已取得了长足的进展,并在血液系统恶性肿瘤和一部分实体瘤患者中显示出一定的临床疗效,但在实体瘤治疗领域中仍然面临着诸多挑战。这些挑战包括:(1)抗原异质性和免疫逃逸;(2)免疫细胞浸润能力不足;(3)肿瘤免疫抑制微环境;(4)T细胞耗竭;(5)肿瘤代谢微环境(图2)。

2.1 抗原异质性和免疫逃逸

抗原识别是免疫细胞治疗肿瘤的先决条件。抗原特异性的TCR-T细胞或者CAR-T细胞通过靶向TAA来发挥其强大的抗肿瘤作用。免疫细胞治疗在血液系统肿瘤中取得成功的重要原因是存在明确的、均一表达的、且肿瘤细胞特异性表达的抗原^[45]。然而,由于实体瘤抗原在免疫微环境中的强度和分布方面的异质性表达,目前用于实体瘤治疗的TAA为肿瘤组织中高度表达的抗原。TCR-T或CAR-T细胞会优先杀伤这些高表达靶向抗原的肿瘤细胞,而表达其他低密度抗原的肿瘤细胞则无法消除^[38]。一项复发性胶

胶质母细胞瘤患者接受EGFRvIII CAR-T细胞治疗的临床试验中(NCT02209376), 通过与 CAR-T 细胞输注前肿瘤标本相比, 7 例患者中有 5 例患者的肿瘤样本 EGFRvIII 的抗原表达降低; 同时肿瘤微环境的免疫评估显示, 抑制性分子的表达和 Treg 细胞的浸润增加; 这些结果表明优化 CAR 结构以克服抗原异质性和肿瘤抑制性微环境会提高 EGFRvIII CAR-T 细胞在胶质母细胞瘤治疗中的功效^[46]。实体瘤抗原异质性是造成抗原逃逸的重要原因, 也是细胞免疫治疗实体瘤的主要障碍。目前针对实体瘤抗原异质性已经开发了多种改造策略, 其一是同时靶向多种肿瘤抗原为输注的免疫细胞提供更高水平的多种抗原识别能

力, 如识别 HER2 和 IL-13R α 2 的双靶点串联型 CAR (TanCAR) 和同时靶向 HER2、IL-13R α 2、EphA2 三种抗原的三靶点 CAR (trivalent CAR) 等^[47-48]。通过构建通用靶点的 CAR-T 细胞能够靶向多种抗原, 如靶向氯毒素 (chortortoxin) 的 CAR、识别异硫氰酸荧光素的 CAR 和 Fc γ R 作为抗原结合域的 CAR 等^[49-51]。其二是分泌靶向 EGFR 的双特异性 T 细胞接合剂 (BiTE) 的 EGFRvIII-CAR-T 细胞可以规避毒性并提高对异质性胶质母细胞瘤的抗肿瘤功效^[52]。这些解决实体瘤抗原异质性的方法通过增强抗原识别和减轻抗原逃逸, 在临床前模型中显示出较好的疗效。

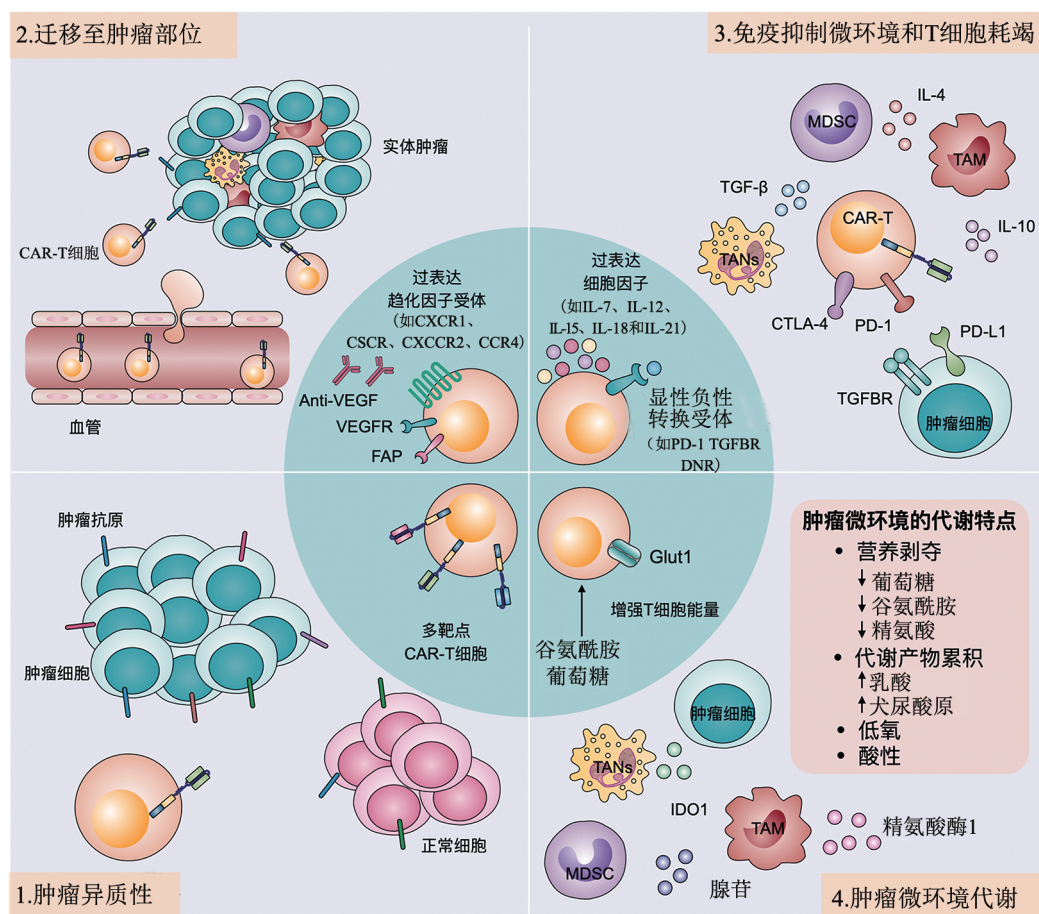


图2 免疫细胞治疗实体瘤面临的挑战

从肿瘤组织中分离、扩增得到的 TIL 可以识别非特定的多种肿瘤细胞。然而, 人类白细胞抗原 (HLA) 提呈途径的缺陷同样会导致肿瘤抗原逃逸。最多观察到的基因变化是位于染色体基因座 6p21 的 HLA I 类等位基因的缺失、重链突变或 β 2 微球蛋白突变导致 HLA 功能完全丧失, 这些变化在结直肠癌中发生率约为 44%, 非小细胞肺癌中的发生率为 40%~54%^[53]。2016 年, ROSENBERG 团队^[54]从转移性结直肠癌患者体内获得靶向 KRAS G12D 突变的 TIL 细胞 (NCT01174121),

在扩增回输至患者体内后, 有 1 例患者由于 6 号染色体上编码 HLA I 类分子基因的丢失使得疾病进展, 表明 HLA 分子的缺失是 TIL 治疗中肿瘤抗原逃逸和肿瘤复发的原因之一。

2.2 肿瘤微环境免疫浸润不足

由于回输的免疫细胞只有到达肿瘤内部后才能发挥杀伤功能, 因此实体瘤疗效不佳与肿瘤微环境中免疫细胞浸润不足密切相关, 提高免疫细胞在肿瘤部位的迁移和侵袭是实现免疫细胞效应功能的前

提^[39]。趋化因子是具有趋化能力的分子,参与调节各种免疫细胞的迁移和募集,趋化因子及其受体在介导免疫细胞的定向迁移中起着至关重要的作用^[55]。肿瘤微环境中趋化因子的表达与免疫细胞浸润和抗肿瘤反应密切相关,肿瘤细胞可以通过影响肿瘤部位趋化因子的表达以减少免疫细胞的募集^[56]。同时,免疫细胞可能无法表达与实体瘤分泌的趋化因子相匹配的趋化因子受体来进入肿瘤组织,导致归巢能力差而无法有效控制肿瘤生长^[57]。许多研究结果^[58-61]表明,为了促进CAR-T细胞归巢至肿瘤部位,可以引入适当的趋化因子受体来修饰CAR-T细胞,如CXCR1、CXCR2、CCR2或CCR4等。通过改造CAR-T细胞过表达趋化因子来增加肿瘤部位中内源性免疫细胞的浸润同样是一种可行的策略,如CCL19、CCL21或CXCL9等^[62-64]。基于临床前研究结果,对晚期肝细胞癌、胰腺癌和卵巢癌患者进行的过表达IL-7和CCL19 CAR-T细胞治疗的I期临床试验(NCT03198546),1例晚期胰腺癌患者在静脉输注CAR-T细胞治疗240 d后肿瘤几乎完全消失^[65]。此外,通过改变免疫细胞回输的方式,如瘤内注射、局部给药或特种生物材料递送等方式可以直接规避肿瘤微环境浸润不足的问题。免疫细胞到达肿瘤组织附近后会遇到实体瘤致密的细胞外基质的阻碍。实体瘤的细胞外基质含有透明质酸、蛋白聚糖、纤维蛋白、肿瘤相关成纤维细胞、髓样细胞,以及可限制免疫细胞浸润的血管等,这些基质作为实体瘤的物理屏障既有利于肿瘤的生长,又阻碍肿瘤部位免疫细胞的浸润,从而抑制免疫细胞发挥抗肿瘤效应。HEGE等^[66]开展了靶向肿瘤相关糖蛋白-72 CAR-T细胞治疗结直肠癌肝转移患者的临床试验,通过检测患者体内标记的CAR-T细胞发现,CAR-T细胞运输到肝脏部位,但是很大程度上被排除在肿瘤之外,不能完全渗透到肿瘤的中心。因此,通过靶向肿瘤基质的策略,如成纤维细胞活化蛋白作为CAR-T细胞靶点、靶向抑制性分子前列腺素E2的CAR-T细胞、分泌细胞外基质修饰酶(乙酰肝素酶或透明质酸酶)的CAR-T细胞等,可以增强CAR-T细胞穿透物理屏障的能力,从而增加其在实体肿瘤中的聚集^[67-70]。

2.3 肿瘤免疫抑制微环境

除了存在T细胞难以浸润肿瘤内部这一问题外,免疫细胞还面临着肿瘤免疫抑制微环境这一难题。肿瘤免疫抑制微环境通过发挥多种不同的机制来使回输的TIL、TCR-T和CAR-T细胞的效应功能逐渐丧失,导致无法杀伤肿瘤细胞。肿瘤细胞、肿瘤相关巨噬细胞(tumour-associated macrophage,TAM)、髓源抑制性细胞(myeloid-derived suppressor

cell,MDSC)、Treg细胞等通过分泌多种细胞因子如PGE2、TGF- β 和IL-10等和表达免疫抑制分子PD-L1,使进入肿瘤内部的免疫细胞功能被抑制^[71],增强肿瘤免疫逃逸。因此,需要联合疗法或者设计能够克服免疫抑制的更有效的基因修饰免疫细胞,主要包括使用干扰免疫抑制细胞和免疫抑制分子的抑制剂,如联合CSF1R单抗、CD40单抗来清除髓系细胞或逆转TAM能够改善CAR-T细胞功能;或者使用不同手段对免疫细胞进行基因修饰以干扰免疫检查点或免疫抑制分子的功能,如显性负性受体和敲除免疫抑制性分子。

一项临床前研究表明,在CAR-T细胞中过表达TGFBR2的显性负性受体(TGFBRDN)或者利用CRISPR-Cas9技术敲除TGFBR2,能够抑制TGF- β 信号,从而增强CAR-T细胞的抗肿瘤能力^[72-73]。JUNE团队^[74]最新报道了靶向前列腺特异性膜抗原(prostate specific membrane antigen,PSMA)、负载TGF- β 显性负性受体以逆转局部免疫抑制的CAR-T细胞疗法(CART-PSMA-TGF β RDN)的首个I期临床试验结果(NCT03089203),13例接受治疗的转移性去势抵抗性前列腺癌患者中有5例出现了2级或以上的细胞因子释放综合征(CRS),其中1例患者出现大量CAR-T细胞扩增,前列腺特异性抗原降低率超过98%,但在接受输注30 d后死于败血症;另外3例患者的PSA下降水平超过30%。

2.4 肿瘤代谢微环境

在已经营养匮乏的肿瘤微环境中与肿瘤细胞竞争代谢资源也是免疫细胞治疗的挑战之一^[75]。肿瘤代谢异常导致肿瘤微环境表现为间质液压力升高、低pH、缺氧和免疫抑制代谢物富集。这些原因也是造成T细胞增殖、细胞因子释放及对肿瘤细胞杀伤能力被抑制的重要原因^[76-77]。肿瘤细胞具备调节自身代谢来适应代谢失调微环境的能力来支持自身生长^[78]。肿瘤细胞主要依靠有氧糖酵解来消耗大量葡萄糖以及摄入大量谷氨酰胺,从而产生乳酸,形成缺氧的酸性肿瘤微环境^[79]。肿瘤细胞能够在肿瘤微环境中与T细胞竞争摄取葡萄糖。由于T细胞活化涉及快速诱导有氧糖酵解,而糖酵解T细胞代谢特征与增强的效应T细胞功能相关^[80]。而在肿瘤微环境中葡萄糖摄取的限制,导致CAR-T细胞无法在肿瘤微环境中有效发挥作用。因此,通过改造CAR-T细胞增强其自身的葡萄糖摄取能力和代谢能力是提高CAR-T细胞治疗疗效的潜在策略之一。

除了T细胞自身代谢能力受到抑制外,胞外存在的代谢产物也是阻碍T细胞治疗疗效的关键因素。腺苷是存在于肿瘤微环境中的另一种免疫抑制代谢

物,它可以通过胞外酶CD39和CD73催化细胞外ATP产生,它们由肿瘤细胞、免疫抑制免疫细胞和各种基质细胞类型表达。T细胞和NK细胞表明表达腺苷受体,腺苷受体亚型A_{2A}的激活会导致T细胞中环磷酸腺苷(cAMP)升高,最终导致T细胞活化和效应功能降低。敲除HER2 CAR-T细胞中的腺苷受体A₁和A_{2A},或者全身给药A_{2A}受体拮抗剂,能够增强HER2 CAR-T细胞在纤维肉瘤和乳腺癌小鼠模型中的抗肿瘤反应^[81]。PGE2和腺苷通过激活蛋白激酶A(protein kinase A,PKA)大量产生能抑制T细胞增殖和功能的免疫抑制代谢产物^[82]。NEWICK团队^[68]研发了一种靶向mesothelin且同时共表达PKA抑制肽段(regulatory subunit I anchoring disruptor, RIAD)的新型CAR-T细胞,RIAD能够干扰PKA和ezrin蛋白之间的结合,扰乱PKA锚定在脂筏上,体内研究结果显示CAR-RIAD-T细胞展现出更好的浸润和持久的杀伤肿瘤能力。肿瘤细胞、MDSC和TAM分泌ROS抑制免疫反应。LIGTENBERG团队^[83]在CAR结构上过表达过氧化氢酶(catalase,CAT),使T细胞通过代谢H₂O₂增加自身的抗氧化能力,通过这种修饰能够减少肿瘤微环境中的氧化应激,同时增强CAR-T细胞的抗肿瘤效应。因此,通过对肿瘤免疫逃逸的代谢机制和免疫细胞的代谢需求作更深一步的探索,寻找靶向肿瘤微环境中代谢途径和营养物质的策略,对于提高CAR-T等免疫细胞功能十分重要。这些研究为靶向肿瘤微环境的代谢联合免疫细胞治疗实体瘤提供了证据,尽管这些临床前研究已经证明联合策略的有效性,但是仍需在临床试验中进一步验证其安全性。

2.5 T细胞耗竭

当肿瘤抗原持续刺激T细胞时,T细胞表面的抑制性受体如PD-1、CTLA-4的表达水平升高,导致T细胞耗竭,产生功能障碍,造成肿瘤细胞免疫逃逸和降低免疫细胞治疗的疗效^[84]。为了解决这一问题,研究者们开发出一系列针对克服T细胞耗竭的方案。大量基础研究结果^[85-88]表明,通过外源性给予PD-1/PD-L1单抗、CTLA-4抑制剂及内源性阻断免疫检查点信号均能有效增加TCR-T和CAR-T细胞的临床治疗效果。SU等^[89-91]证明使用CRISPR/Cas9技术敲除PD-1和LAG-3等基因能够提高CAR-T细胞的活性和杀伤能力。目前CAR-T细胞联合免疫检查点阻断剂的治疗方案正在进行大量临床研究,但有关实体瘤的报道仍很少。HECZY等^[92]使用GD2-CAR-T细胞联合pembrolizumab治疗胶质母细胞瘤,但是由于患者样本量太少未能得到一个明确的结论。在另一项使用mesothelin-CAR-T细胞联合PD-1单抗治疗恶性胸膜

间皮瘤的临床试验结果显示,18例患者中位总生存期为23.9个月,其中有8例患者病情稳定大于6个月,2名患者的PET-CT结果显示完全代谢缓解(complete metabolic response,CMR)^[93-94]。此外,正在研究使用分泌PD-1抗体的CAR-T细胞治疗的安全性和有效性,以治疗EGFR阳性的晚期实体恶性肿瘤,包括肺癌、胃癌和肝癌(NCT02862028)。同样,通过PD-1基因组编辑技术敲除过继回输T细胞中PD-1受体的临床试验(NCT03081715、NCT02867332、NCT02867345、NCT02793856和NCT03044743)正在进行中^[94]。除了PD-1、CTLA-4和其他抑制性受体,比如TIM-3、LAG-3及一些新报道的B7-H3、VISTA和B7S1也都成为潜在的肿瘤治疗靶点。此外,转录因子也是参与调控T细胞耗竭的关键因素。JUNE团队^[95]研究发现,ID3和SOX4是调控CAR-T细胞耗竭的关键转录因子,通过下调ID3和SOX4表达可避免或延迟CAR-T细胞的无能而提高其在实体瘤中的疗效,但安全性仍需在临床试验中进一步验证。联合免疫检查点抑制剂或下调转录因子的表达都为防止CAR-T细胞耗竭而提高其抗肿瘤效果提供了新的策略。

此外,随着高通量测序技术的发展,表观遗传在调控T细胞功能方面的作用也逐渐被揭示。表观遗传修饰是指不依赖于基因序列的改变,由DNA甲基化修饰、组蛋白修饰和非编码RNA等介导的基因表达改变。表观遗传修饰在调控抗肿瘤免疫细胞的功能中发挥着重要作用,通过表观遗传疗法,如使用EZH2、LSD1或HDAC的抑制剂,增加肿瘤细胞上MHC I类抗原表达,为肿瘤患者过继回输免疫细胞创造条件^[96]。目前,已有多项研究证实表观遗传疗法能够提高过继回输的免疫细胞功能。国外科学家团队^[97]研究发现,CAR-T细胞经过酪氨酸激酶抑制剂dasatinib的处理后,会短暂性“休息”,与此同时,CAR-T细胞表现出表观遗传修饰重塑,耗竭的CAR-T细胞功能得到恢复。此外,研究^[98-99]表明,敲除CAR-T细胞的DNA甲基转移酶3α(DNMT3A)基因或者使用低剂量的DNA甲基转移酶抑制剂decitabine能够抑制CAR-T细胞耗竭,同时其增强抗肿瘤功能。使用组蛋白酶抑制剂能够显著增强B7-H3 CAR-T细胞对包括三阴性乳腺癌、头颈部鳞癌和非小细胞肺癌等多种实体瘤的杀伤功能^[100]。随着对表观遗传的深入研究,有望获得更多更有效的表观遗传修饰靶点,表观遗传疗法联合免疫细胞治疗将为肿瘤治疗提供新的策略。

3 展望

经过几十年的发展,免疫细胞疗法已获批并成为治疗血液系统肿瘤的主要手段之一,但在实体瘤

中的应用方面仍面临着许多挑战,需要更多更深入的探索。当前,不但需要从理论知识中深入理解肿瘤和免疫系统之间的相互调控机制,同时也需要结合临床试验结果,借助基因组、蛋白组、代谢组及单细胞测序等先进技术,从基因、蛋白和表观遗传修饰层面探究实体瘤患者抵抗免疫细胞治疗的主要原因,寻找免疫细胞治疗实体瘤困境的突破点^[101]。同时,多学科的交叉融合也为打破免疫细胞治疗实体瘤的困境开辟了新思路。与纳米包裹、可植入支架、可注射生物材料等生物材料的联合使用可能使回输的免疫细胞更加有效地递送到肿瘤部位,靶向肿瘤并减少脱靶效应^[102-103]。此外,开发新型且有效的生物标志物为患者选择使用最佳免疫疗法也至关重要。最后,在免疫细胞治疗实体瘤时需要考虑控制安全性的策略,例如减少剂量、增加自杀基因和寻找更加适合的实体瘤抗原靶点等。

目前我国免疫细胞治疗行业发展迅速,但依然任重道远。相信在国家相关政策的指导下,科学家、临床医生、企业家和监管部门等共同努力肩负起使命和责任,共同努力解决免疫细胞治疗实体瘤面临的问题,研发我国自主知识产权的创新性免疫细胞治疗方案,同时建立并完善标准化治疗体系,推动我国免疫细胞治疗行业快速发展,从而造福更多的肿瘤患者。

[参考文献]

- [1] ROSENBERG S A, LOTZE M T, MUUL L M, et al. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer[J]. *N Engl J Med*, 1985, 313(23): 1485-1492. DOI:10.1056/nejm198512053132327.
- [2] ROSENBERG S A, PACKARD B S, AEBERSOLD P M, et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report[J]. *N Engl J Med*, 1988, 319(25): 1676-1680. DOI:10.1056/NEJM198812223192527.
- [3] GROSS G, WAKS T, ESHHAR Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86(24): 10024-10028. DOI:10.1073/pnas.86.24.10024.
- [4] SCHMIDT-WOLF I G, NEGRIN R S, KIEM H P, et al. Use of a SCID mouse/human lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cells with potent antitumor cell activity[J]. *J Exp Med*, 1991, 174(1): 139-149. DOI:10.1084/jem.174.1.139.
- [5] COLE D J, WEIL D P, SHILYANSKY J, et al. Characterization of the functional specificity of a cloned T-cell receptor heterodimer recognizing the MART-1 melanoma antigen[J]. *Cancer Res*, 1995, 55(4): 748-752.
- [6] SCHMIDT-WOLF I G, FINKE S, TROJANECK B, et al. Phase I clinical study applying autologous immunological effector cells transfected with the interleukin-2 gene in patients with metastatic renal cancer, colorectal cancer and lymphoma[J]. *Br J Cancer*, 1999, 81(6): 1009-1016. DOI:10.1038/sj.bjc.6690800.
- [7] MAHER J, BRENTJENS R J, GUNSET G, et al. Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRzeta/CD28 receptor[J]. *Nat Biotechnol*, 2002, 20(1): 70-75. DOI:10.1038/nbt0102-70.
- [8] MILLER J S, SOIGNIER Y, PANOSKALTSIS-MORTARI A, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer[J]. *Blood*, 2005, 105(8): 3051-3057. DOI:10.1182/blood-2004-07-2974.
- [9] MORGAN R A, DUDLEY M E, WUNDERLICH J R, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes[J]. *Science*, 2006, 314(5796): 126-129. DOI:10.1126/science.1129003.
- [10] KERSHAW M H, WESTWOOD J A, PARKER L L, et al. A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(20 Pt 1): 6106-6115. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-06-1183.
- [11] KOBAYASHI H, TANAKA Y, YAGI J, et al. Safety profile and anti-tumor effects of adoptive immunotherapy using gamma-delta T cells against advanced renal cell carcinoma: a pilot study[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(4): 469-476. DOI:10.1007/s00262-006-0199-6.
- [12] GRUPP S A, KALOS M, BARRETT D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(16): 1509-1518. DOI:10.1056/nejmoa1215134.
- [13] Science's Top 10 Breakthroughs of 2013[EB/OL]. (2013-12-19) [2022-07-02]. <https://www.science.org/content/article/sciences-top-10-breakthroughs-2013-0>.
- [14] MULLARD A. FDA approves first CAR T therapy[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(10): 669[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28959944/>. DOI:10.1038/nrd.2017.196.
- [15] Iovance biotherapeutics announces breakthrough therapy designation for LN-145 for treatment of advanced cervical cancer patients who have progressed on or after chemotherapy[EB/OL]. [2022-07-02]. <http://firstwordpharma.com/story/4794693>.
- [16] XU Y, XIANG Z, ALNAGGAR M, et al. Allogeneic Vγ9Vδ2 T-cell immunotherapy exhibits promising clinical safety and prolongs the survival of patients with late-stage lung or liver cancer[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(2): 427-439. DOI:10.1038/s41423-020-0515-7.
- [17] VOELKER R. CAR-T therapy is approved for mantle cell lymphoma [J/OL]. *JAMA*, 2020, 324(9): 832[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32870282/>. DOI:10.1001/jama.2020.15456.
- [18] 国家药监局批准阿基仑赛注射液上市[EB/OL]. (2021-06-23) [2022-07-02]. <https://www.nmpa.gov.cn/yaowen/ypjgyw/20210623094232187.html>.
- [19] MULLARD A. FDA approves first BCMA-targeted CAR-T cell therapy[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(5): 332[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33790473/>. DOI: 10.1038/d41573-021-00063-1.
- [20] MULLARD A. FDA approves second BCMA-targeted CAR-T cell therapy[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(4): 249[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35277677/>. DOI: 10.1038/d41573-022-00048-8.
- [21] ROSENBERG S A, SPIESS P, LAFRENIERE R. A new approach

- to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes[J]. *Science*, 1986, 233(4770): 1318-1321. DOI: 10.1126/science.3489291.
- [22] WANG S H, SUN J W, CHEN K, *et al.* Perspectives of tumor-infiltrating lymphocyte treatment in solid tumors[J/OL]. *BMC Med*, 2021, 19(1): 140[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34112147/>. DOI:10.1186/s12916-021-02006-4.
- [23] MORENO V, HERNANDEZ T, DE MIGUEL M, *et al.* Adoptive cell therapy for solid tumors: Chimeric antigen receptor T cells and beyond[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2021, 59: 70-84. DOI:10.1016/j.coph.2021.05.004.
- [24] SARNAIK A, KHUSHALANI N I, CHESNEY J A, *et al.* Long-term follow up of lifileucel (LN-144) cryopreserved autologous tumor infiltrating lymphocyte therapy in patients with advanced melanoma progressed on multiple prior therapies[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(15_suppl): 10006[2022-07-02]. https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15_suppl.10006. DOI:10.1200/jco.2020.38.15_suppl.10006.
- [25] TSIMBERIDOU A M, VAN MORRIS K, VO H H, *et al.* T-cell receptor-based therapy: an innovative therapeutic approach for solid tumors[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 102 [2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34193217/>. DOI:10.1186/s13045-021-01115-0.
- [26] 张超亨, 陆哲明. 个体化肿瘤特异 TCR 的筛选策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(9): 863-868. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2021.09.001.
- [27] TAEFEHSHOKR S, PARHIZKAR A, HAYATI S, *et al.* Cancer immunotherapy: challenges and limitations[J/OL]. *Pathol Res Pract*, 2022, 229: 153723 [2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34952426/>. DOI:10.1016/j.prp.2021.153723.
- [28] First drug approved for rare eye cancer[J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(4): 879-880. DOI:10.1158/2159-8290.CD-NB2022-0009.
- [29] DHILLON S. Tebentafusp: first approval[J]. *Drugs*, 2022, 82(6): 703-710. DOI:10.1007/s40265-022-01704-4.
- [30] SHIMABUKURO-VORNHAGEN A, BÖLL B, SCHELLONGOWSKI P, *et al.* Critical care management of chimeric antigen receptor T-cell therapy recipients[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 78-93. DOI: 10.3322/caac.21702.
- [31] SINGH A K, MCGUIRK J P. CAR T cells: continuation in a revolution of immunotherapy[J/OL]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(3): e168-e178[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32135120/>. DOI:10.1016/S1470-2045(19)30823-X.
- [32] WOLF P, ALZUBI J, GRATZKE C, *et al.* The potential of CAR T cell therapy for prostate cancer[J]. *Nat Rev Urol*, 2021, 18(9): 556-571. DOI:10.1038/s41585-021-00488-8.
- [33] 陈锦, 张彩. 嵌合抗原受体修饰的免疫细胞及其在肿瘤免疫治疗中的应用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(6): 549-557. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2021.06.001.
- [34] BRITTEN C M, SHALABI A, HOOS A. Industrializing engineered autologous T cells as medicines for solid tumours[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(6): 476-488. DOI:10.1038/s41573-021-00175-8.
- [35] ZHANG C, LIU J, ZHONG J F, *et al.* Engineering CAR-T cells[J/OL]. *Biomark Res*, 2017, 5: 22[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28652918/>. DOI:10.1186/s40364-017-0102-y.
- [36] LARSON R C, MAUS M V. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(3): 145-161. DOI:10.1038/s41568-020-00323-z.
- [37] CAPPELL K M, KOCHENDERFER J N. A comparison of chimeric antigen receptors containing CD28 versus 4-1BB costimulatory domains[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(11): 715-727. DOI: 10.1038/s41571-021-00530-z.
- [38] GUEDAN S, RUELLA M, JUNE C H. Emerging cellular therapies for cancer[J]. *Annu Rev Immunol*, 2019, 37: 145-171. DOI:10.1146/annurev-immunol-042718-041407.
- [39] MCNERNEY M P, DOIRON K E, NG T L, *et al.* Theranostic cells: emerging clinical applications of synthetic biology[J]. *Nat Rev Genet*, 2021, 22(11): 730-746. DOI:10.1038/s41576-021-00383-3.
- [40] KUMAR A R K, SHOU Y F, CHAN B, *et al.* Materials for improving immune cell transfection[J/OL]. *Adv Mater*, 2021, 33(21): e2007421 [2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33860598/>. DOI:10.1002/adma.202007421.
- [41] FENG K C, LIU Y, GUO Y L, *et al.* Phase I study of chimeric antigen receptor modified T cells in treating HER2-positive advanced biliary tract cancers and pancreatic cancers[J]. *Protein Cell*, 2018, 9(10): 838-847. DOI:10.1007/s13238-017-0440-4.
- [42] ZHANG C C, WANG Z, YANG Z, *et al.* Phase I escalating-dose trial of CAR-T therapy targeting CEA⁺ metastatic colorectal cancers[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(5): 1248-1258. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.03.010.
- [43] BROWN C E, ALIZADEH D, STARR R, *et al.* Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(26): 2561-2569. DOI:10.1056/NEJMoa1610497.
- [44] WANG Z G, LI N, FENG K C, *et al.* Phase I study of CAR-T cells with PD-1 and TCR disruption in mesothelin-positive solid tumors [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(9): 2188-2198. DOI: 10.1038/s41423-021-00749-x.
- [45] KIRTANE K, ELMARIAH H, CHUNG C H, *et al.* Adoptive cellular therapy in solid tumor malignancies: review of the literature and challenges ahead[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(7): e002723[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34301811/>. DOI:10.1136/jitc-2021-002723.
- [46] O'ROURKE D M, NASRALLAH M P, DESAI A, *et al.* A single dose of peripherally infused EGFRv III -directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(399): eaaa0984[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28724573/>. DOI:10.1126/scitranslmed.aaa0984.
- [47] HEGDE M, MUKHERJEE M, GRADA Z, *et al.* Tandem CAR T cells targeting HER2 and IL13Rα2 mitigate tumor antigen escape [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(8): 3036-3052. DOI:10.1172/jci83416.
- [48] BIELAMOWICZ K, FOUSEK K, BYRD T T, *et al.* Trivalent CAR T cells overcome interpatient antigenic variability in glioblastoma[J]. *Neuro-oncology*, 2018, 20(4): 506-518. DOI:10.1093/neuonc/nox182.
- [49] WANG D R, STARR R, CHANG W C, *et al.* Chlorotoxin-directed CAR T cells for specific and effective targeting of glioblastoma[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(533): eaaw2672[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32132216/>. DOI:10.1126/scitranslmed.aaw2672.
- [50] LEE Y G, MARKS I, SRINIVASARAO M, *et al.* Use of a single CAR T cell and several bispecific adapters facilitates eradication of multiple antigenically different solid tumors[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(2): 387-396. DOI:10.1158/0008-5472.can-18-1834.

- [51] KUDO K, IMAI C, LORENZINI P, *et al.* T lymphocytes expressing a CD16 signaling receptor exert antibody-dependent cancer cell killing[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(1): 93-103. DOI: 10.1158/0008-5472.can-13-1365.
- [52] CHOI B D, YU X L, CASTANO A P, *et al.* CAR-T cells secreting BiTEs circumvent antigen escape without detectable toxicity[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(9): 1049-1058. DOI:10.1038/s41587-019-0192-1.
- [53] HAZINI A, FISHER K, SEYMOUR L. Deregulation of HLA- I in cancer and its central importance for immunotherapy[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(8): e002899[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34353849/>. DOI: 10.1136/jitc-2021-002899.
- [54] TRAN E, ROBBINS P F, LU Y C, *et al.* T-cell transfer therapy targeting mutant KRAS in cancer[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(23): 2255-2262. DOI:10.1056/NEJMoa1609279.
- [55] RAFIQ S, HACKETT C S, BRENTJENS R J. Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR T cell therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(3): 147-167. DOI: 10.1038/s41571-019-0297-y.
- [56] OELKRUG C, RAMAGE J M. Enhancement of T cell recruitment and infiltration into tumours[J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 178(1): 1-8. DOI:10.1111/cei.12382.
- [57] SACKSTEIN R, SCHATTON T, BARTHEL S R. T-lymphocyte homing: an underappreciated yet critical hurdle for successful cancer immunotherapy[J]. *Lab Invest*, 2017, 97(6): 669-697. DOI: 10.1038/labinvest.2017.25.
- [58] JIN L C, TAO H P, KARACHI A, *et al.* CXCR1- or CXCR2-modified CAR T cells co-opt IL-8 for maximal antitumor efficacy in solid tumors[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4016[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31488817/>. DOI: 10.1038/s41467-019-11869-4.
- [59] MOON E K, CARPENITO C, SUN J, *et al.* Expression of a functional CCR2 receptor enhances tumor localization and tumor eradication by retargeted human T cells expressing a mesothelin-specific chimeric antibody receptor[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(14): 4719-4730. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-11-0351.
- [60] PERERA L P, ZHANG M L, NAKAGAWA M, *et al.* Chimeric antigen receptor modified T cells that target chemokine receptor CCR4 as a therapeutic modality for T-cell malignancies[J]. *Am J Hematol*, 2017, 92(9): 892-901. DOI:10.1002/ajh.24794.
- [61] TIAN Y G, LI Y L, SHAO Y P, *et al.* Gene modification strategies for next-generation CAR T cells against solid cancers[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 54 [2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32423475/>. DOI:10.1186/s13045-020-00890-6.
- [62] ADACHI K, KANO Y, NAGAI T, *et al.* IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(4): 346-351. DOI:10.1038/nbt.4086.
- [63] LUO H, SU J W, SUN R X, *et al.* Coexpression of IL7 and CCL21 increases efficacy of CAR-T cells in solid tumors without requiring preconditioned lymphodepletion[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(20): 5494-5505. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-20-0777.
- [64] TIAN Y, WEN C, ZHANG Z, *et al.* CXCL9-modified CAR T cells improve immune cell infiltration and antitumor efficacy[J/OL]. *Cancer Immunol Immunother*, 2022,[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35352167/>. DOI:10.1007/s00262-022-03193-6. Epub ahead of print.
- [65] PANG N Z, SHI J X, QIN L, *et al.* IL-7 and CCL19-secreting CAR-T cell therapy for tumors with positive glypican-3 or mesothelin[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 118[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34325726/>. DOI:10.1186/s13045-021-01128-9.
- [66] HEGE K M, BERGSLAND E K, FISHER G A, *et al.* Safety, tumor trafficking and immunogenicity of chimeric antigen receptor (CAR)-T cells specific for TAG-72 in colorectal cancer[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2017, 5: 22 [2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28344808/>. DOI:10.1186/s40425-017-0222-9.
- [67] WANG L C S, LO A, SCHOLLER J, *et al.* Targeting fibroblast activation protein in tumor stroma with chimeric antigen receptor T cells can inhibit tumor growth and augment host immunity without severe toxicity[J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(2): 154-166. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0027.
- [68] NEWICK K, O'BRIEN S, SUN J, *et al.* Augmentation of CAR T-cell trafficking and antitumor efficacy by blocking protein kinase A localization[J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(6): 541-551. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0263.
- [69] CARUANA I, SAVOLDO B, HOYOS V, *et al.* Heparanase promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR-redirectioned T lymphocytes[J]. *Nat Med*, 2015, 21(5): 524-529. DOI: 10.1038/nm.3833.
- [70] RAMANATHAN R K, MCDONOUGH S L, PHILIP P A, *et al.* Phase I B/II randomized study of FOLFIRINOX plus pegylated recombinant human hyaluronidase versus FOLFIRINOX alone in patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma: SWOG S1313[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(13): 1062-1069. DOI:10.1200/JCO.18.01295.
- [71] LIU G N, RUI W, ZHAO X Q, *et al.* Enhancing CAR-T cell efficacy in solid tumors by targeting the tumor microenvironment [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(5): 1085-1095. DOI: 10.1038/s41423-021-00655-2.
- [72] KLOSS C C, LEE J, ZHANG A, *et al.* Dominant-negative TGF- β receptor enhances PSMA-targeted human CAR T cell proliferation and augments prostate cancer eradication[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(7): 1855-1866. DOI:10.1016/j.ymthe.2018.05.003.
- [73] TANG N, CHENG C, ZHANG X Y, *et al.* TGF- β inhibition via CRISPR promotes the long-term efficacy of CAR T cells against solid tumors[J/OL]. *JCI Insight*, 2020, 5(4): e133977[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31999649/>. DOI: 10.1172/jci.insight.133977.
- [74] NARAYAN V, BARBER-ROTENBERG J S, JUNG I Y, *et al.* PSMA-targeting TGF β -insensitive armored CAR T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase I trial[J]. *Nat Med*, 2022, 28(4): 724-734. DOI:10.1038/s41591-022-01726-1.
- [75] HOU A J, CHEN L C, CHEN Y Y. Navigating CAR-T cells through the solid-tumour microenvironment[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(7): 531-550. DOI:10.1038/s41573-021-00189-2.
- [76] BECKERMANN K E, DUDZINSKI S O, RATHMELL J C. Dysfunctional T cell metabolism in the tumor microenvironment [J/OL]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2017, 35: 7-14[2022-07-02]. <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28456467/>. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2017.04.003.
- [77] COUNIHAN J L, GROSSMAN E A, NOMURA D K. Cancer

- metabolism: current understanding and therapies[J]. *Chem Rev*, 2018, 118(14): 6893-6923. DOI:10.1021/acs.chemrev.7b00775.
- [78] PAVLOVA N N, THOMPSON C B. The emerging hallmarks of cancer metabolism[J]. *Cell Metab*, 2016, 23(1): 27-47. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.12.006.
- [79] VANDER HEIDEN M G, CANTLEY L C, THOMPSON C B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation[J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1029-1033. DOI: 10.1126/science.1160809.
- [80] MENK A V, SCHARPING N E, MORECI R S, *et al.* Early TCR signaling induces rapid aerobic glycolysis enabling distinct acute T cell effector functions[J]. *Cell Rep*, 2018, 22(6): 1509-1521. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.01.040.
- [81] BEAVIS P A, HENDERSON M A, GIUFFRIDA L, *et al.* Targeting the adenosine 2A receptor enhances chimeric antigen receptor T cell efficacy[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(3): 929-941. DOI: 10.1172/JCI89455.
- [82] KYTE J A. Strategies for improving the efficacy of CAR T cells in solid cancers[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(3): 571[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35158839/>. DOI:10.3390/cancers14030571.
- [83] LIGTENBERG M A, MOUGIAKAKOS D, MUKHOPADHYAY M, *et al.* Coexpressed catalase protects chimeric antigen receptor-redirected T cells as well as bystander cells from oxidative stress-induced loss of antitumor activity[J]. *J Immunol*, 2016, 196(2): 759-766. DOI:10.4049/jimmunol.1401710.
- [84] 黄岚, 张毅. 肿瘤微环境中T细胞功能障碍及其逆转策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(11): 1247-1253. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2017.11.001.
- [85] TANOUE K, ROSEWELL SHAW A, WATANABE N, *et al.* Armed oncolytic adenovirus-expressing PD-L1 mini-body enhances antitumor effects of chimeric antigen receptor T cells in solid tumors [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(8): 2040-2051. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1577.
- [86] LI S, SIRIWON N, ZHANG X Y, *et al.* Enhanced cancer immunotherapy by chimeric antigen receptor-modified T cells engineered to secrete checkpoint inhibitors[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(22): 6982-6992. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-17-0867.
- [87] RAFIQ S, YEKU O O, JACKSON H J, *et al.* Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy *in vivo* [J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(9): 847-856. DOI:10.1038/nbt.4195.
- [88] LIU X J, RANGANATHAN R, JIANG S G, *et al.* A chimeric switch-receptor targeting PD1 augments the efficacy of second-generation CAR T cells in advanced solid tumors[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(6): 1578-1590. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-15-2524.
- [89] RUPP L J, SCHUMANN K, ROYBAL K T, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances anti-tumor efficacy of human chimeric antigen receptor T cells[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 737 [2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28389661/>. DOI: 10.1038/s41598-017-00462-8.
- [90] ZHANG Y P, ZHANG X Y, CHENG C, *et al.* CRISPR-Cas9 mediated LAG-3 disruption in CAR-T cells[J]. *Front Med*, 2017, 11(4): 554-562. DOI:10.1007/s11684-017-0543-6.
- [91] HU W H, ZI Z G, JIN Y L, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances human mesothelin-targeted CAR T cell effector functions[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68(3): 365-377. DOI:10.1007/s00262-018-2281-2.
- [92] HECZEY A, LOUIS C U, SAVOLDO B, *et al.* CAR T cells administered in combination with lymphodepletion and PD-1 inhibition to patients with neuroblastoma[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(9): 2214-2224. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.05.012.
- [93] ADUSUMILLI P S, ZAUDERER M G, RIVIÈRE I, *et al.* A phase I trial of regional mesothelin-targeted CAR T-cell therapy in patients with malignant pleural disease, in combination with the anti-PD-1 agent pembrolizumab[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(11): 2748-2763. DOI:10.1158/2159-8290.CD-21-0407.
- [94] GROSSER R, CHERKASSKY L, CHINTALA N, *et al.* Combination immunotherapy with CAR T cells and checkpoint blockade for the treatment of solid tumors[J]. *Cancer Cell*, 2019, 36(5): 471-482. DOI:10.1016/j.ccell.2019.09.006.
- [95] GOOD C R, AZNAR M A, KURAMITSU S, *et al.* An NK-like CAR T cell transition in CAR T cell dysfunction[J]. *Cell*, 2021, 184(25): 6081-6100. DOI:10.1016/j.cell.2021.11.016.
- [96] HOGG S J, BEAVIS P A, DAWSON M A, *et al.* Targeting the epigenetic regulation of antitumor immunity[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(11): 776-800. DOI:10.1038/s41573-020-0077-5.
- [97] WEBER E W, PARKER K R, SOTILLO E, *et al.* Transient rest restores functionality in exhausted CAR-T cells through epigenetic remodeling[J/OL]. *Science*, 2021, 372(6537): eaba1786[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33795428/>. DOI: 10.1126/science.aba1786.
- [98] PRINZING B, ZEBLEY C C, PETERSEN C T, *et al.* Deleting DNMT3A in CAR T cells prevents exhaustion and enhances antitumor activity[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(620): eabh0272 [2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34788079/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.abh0272.
- [99] WANG Y, TONG C, DAI H R, *et al.* Low-dose decitabine priming endows CAR T cells with enhanced and persistent antitumor potential *via* epigenetic reprogramming[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 409[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33462245/>. DOI:10.1038/s41467-020-20696-x.
- [100] LEI X, OU Z, YANG Z, *et al.* A pan-histone deacetylase inhibitor enhances the antitumor activity of B7-H3-specific CAR T cells in solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(13): 3757-3771. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-20-2487.
- [101] 顾炎, 曹雪涛. 肿瘤免疫与免疫治疗: 机遇与挑战[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(1): 1-10. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.01.001.
- [102] ZHAO Z W, ZHENG L Y, CHEN W Q, *et al.* Delivery strategies of cancer immunotherapy: recent advances and future perspectives[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 126[2022-07-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31779642/>. DOI:10.1186/s13045-019-0817-3.
- [103] SMITH T T, MOFFETT H F, STEPHAN S B, *et al.* Biopolymers codelivering engineered T cells and STING agonists can eliminate heterogeneous tumors[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(6): 2176-2191. DOI:10.1172/JCI87624.

[收稿日期] 2022-07-26

[修回日期] 2022-08-10

[本文编辑] 黄静怡, 沈志超