

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.05.001

· 专家论坛 ·

“遥控” CAR-T 细胞治疗肿瘤的机遇与挑战

阮文慧¹, 侯睿², 施明³ (1. 徐州医科大学 医学影像学院, 江苏 徐州 221002; 2. 徐州医科大学 药学院, 江苏 徐州 221002; 3. 徐州医科大学 江苏省肿瘤生物治疗研究所, 江苏 徐州 221002)



施明 教授、博士生导师, 现任长三角国家创新中心细胞治疗药物研究所执行所长、肿瘤生物治疗国家地方联合工程实验室执行主任、江苏省细胞治疗药物产业创新中心执行主任。入选江苏省“双创人才”, 江苏省特聘医学专家。兼任中国医药生物技术协会临床应用专业委员会委员、中国病理生理学会免疫学专业委员会委员等。主持国家自然科学基金等多项课题。目前主要从事工程化免疫细胞药物研发与临床转化相关研究, 与临床科室合作开展多项临床研究, 完成800余例患者的临床治疗。自主研发双特异性CAR-T细胞, 治疗多发性骨髓瘤、慢性格林-巴利综合征、重症肌无力等疾病, 取得良好疗效, 研究结果先后发表于 *J Clin Oncol*, *Lancet Haematol*, *Nat Commun*, *Am J Hematol* 等学术期刊。以第一或通信作者身份发表论文30余篇, 获国家发明专利授权5项。2024年获江苏省科学技术一等奖。

[摘要] 嵌合抗原受体基因修饰T淋巴细胞(CAR-T细胞)在血液系统恶性肿瘤的治疗中已取得了重大进展, 但其体内行为的不确定性和不可控性仍然限制了其临床应用。CAR-T细胞在不恰当的地点以不可控制的强度被活化, 可能导致抗肿瘤作用的下降或造成难以预测的不良反应。若能使CAR-T细胞的体内行为变得可知和可控, 并在适当的地点以适宜的强度被活化, 将有望显著提升抗肿瘤疗效并降低不良反应。本文系统总结了近年来“遥控”CAR-T细胞体内活性的策略。通过巧妙的设计对CAR-T细胞的活性和行为进行精细控制, 发挥安全、精准、高效的抗肿瘤疗效是CAR-T细胞治疗未来的发展方向之一。

[关键词] 嵌合抗原受体基因修饰T淋巴细胞; 肿瘤免疫治疗; 体内行为; 遥控

[中图分类号] R730.51; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 05-0453-07

Opportunities and challenges of "remote-controlling" CAR-T cells for tumor therapy

RUAN Wenhui¹, HOU Rui², SHI Ming³ (1. School of Medical Imaging, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, Jiangsu, China; 2. School of Pharmacy, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, Jiangsu, China; 3. Cancer Biotherapy Institute of Jiangsu Province, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, Jiangsu, China)

[Abstract] Chimeric antigen receptor gene-modified T lymphocytes (CAR-T cells) have made significant progress in the treatment of hematologic malignancies. However, the uncertainties and lack of controllability associated with their *in vivo* behavior remain major limitations to their clinical application. Uncontrolled or inappropriate activation of CAR-T cells at unintended locations can lead to reduced antitumor efficacy or unpredictable adverse reactions. Enabling CAR-T cells to exhibit predictable and controllable behavior *in vivo*, with activation occurring at the right location and at the appropriate intensity, holds the potential to significantly enhance their antitumor effectiveness and minimize adverse effects. This article systematically reviews recent strategies for "remotely controlling" CAR-T cell activity *in vivo* through innovative designs that allow precise regulation of CAR-T cell activity and behavior. Achieving safe, targeted, and efficient antitumor responses represents one of the key directions for the future development of CAR-T cell therapies.

[Key words] chimeric antigen receptor gene-modified T lymphocyte (CAR-T cell); tumor immunotherapy; *in vivo* behavior; remote control

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(5): 453-459. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.05.001]

作为一种新型的细胞治疗药物, 嵌合抗原受体基因修饰T淋巴细胞(CAR-T细胞)具有独特的药理学、药代动力学特征, 其输注体内后的行为存在“黑箱”, 若其在输注体内后, 在不恰当的时间、地点以不可控制的强度被活化, 就可能造成疗效不佳或不良

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (No. 82273207, No.82471378, No.82204541)

[作者简介] 阮文慧 (2004—), 女, 本科生, 主要从事肿瘤免疫学研究

[通信作者] 施明; 侯睿 (扫码获取作者联系方式)



反应。CAR-T 细胞可被改造的潜力远超经典小分子药物。通过巧妙的设计,研究者将 CAR-T 细胞装载分子开关或者控制线路,使用化学信号、物理信号等手段,实现对 CAR-T 细胞体内行为的“遥控”,达到增加疗效、减少不良反应和优化药代动力学特征的目的。同时,这些新的技术手段有可能成为解决 CAR-T 细胞体内行为“黑箱”的有效路径。本文重点论述目前“遥控”CAR-T 细胞用于肿瘤治疗的研究进展、面临的挑战和应用前景。

1 使用分子开关控制 CAR-T 细胞的体内活性

为防止 CAR-T 细胞输注后造成急性严重不良反应,通常的做法是给 CAR-T 细胞安装可由抗体或小分子药物触发的自杀装置。例如,在 CAR-T 细胞中共表达可诱导的 caspase-9,必要时使用小分子药物 AP1903 激活,从而介导 caspase-9 依赖的 CAR-T 细胞凋亡^[1-3];将截短型表皮生长因子受体(truncated EGFR, tEGFR)或 CD20 作为“清除”标签表达于 CAR-T 细胞表面,使用西妥昔单抗/利妥昔单抗,通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC)和/或补体依赖的细胞毒性(complement dependent cytotoxicity, CDC)效应,清除 CAR-T 细胞^[4-6]。这些方法虽然能在 CAR-T 细胞异常扩增或过度活化时及时刹车,但这种终止是不可逆的,一旦使用即意味着治疗的失败。因此,一些研究者使用小分子药物结合特殊的 CAR 设计,调控 CAR 表达水平或 CAR 信号转导强度,实现对 CAR-T 细胞体内生物学行为的可逆性“遥控”。

1.1 用小分子药物作为 CAR-T 细胞活性开关

一些特定的蛋白组合能够在小分子药物存在的情况下形成刚性连接,利用这种特性,可以实现小分子药物诱导的 CAR 模块组装。例如,雷帕霉素可诱导 FK506 结合蛋白 12(FK506 binding protein 12, FKBP12)和 FKBP-雷帕霉素相关蛋白(FKBP-rapamycin-associated protein, FRAP)的 FKBP12-雷帕霉素结合域(FKBP12-rapamycin binding domain, FRB)结合形成复合物^[7]。WU 等^[8]将 CAR 的共刺激分子和 CD3z 分别和 FKBP12 与 FRB 融合表达,在雷帕霉素的诱导下, CAR 的共刺激分子和 CD3z 才形成完整结构并转导激活信号。类似的设计也见于 LEUNG 等^[9]的研究,他们使用 FKBP12 和 FRB 操纵 scFv 和 CAR 胞内段的结合和解离。这些策略为操控 CAR-T 细胞在体内特定时间段内活化提供了可行性方案。为操控 CAR-T 细胞在体内特定位置的活化,WANG 等^[10]利用明胶酶响应纳米颗粒包裹雷帕霉素为 CAR-T 细胞递送活化信号。由于明胶酶在胃癌微环境中特异性高表达,该纳米颗粒仅在胃癌组织内被降解并释放雷帕霉素,

激活邻近的 CAR-T 细胞。

考虑到雷帕霉素是免疫抑制剂,可能会影响机体整体的抗肿瘤免疫反应,其他可作为 CAR 信号开关的小分子药物受到研究者的关注。RICHMAN 等^[11]构建了 FKBP12(F36V)突变体并在其 C 端连接了长度为 19 个氨基酸的蛋白降解决定子(degron)。将该融合蛋白和 CAR 串联表达,正常情况下 degron 序列隐藏在 FKBP12 F36V 蛋白自身形成的空间结构孔洞中,小分子药物 Shield-1 可以使 degron 序列暴露,从而诱导 CAR 降解。在体外培养中,Shield-1 可在 20 h 内可逆地下调 CAR 表达 60% 左右。具有类似功能的小分子药物还包括阿舒瑞韦(asunaprevir)、ARV771、ARV825 等^[12],这些小分子药物未展现出对 CAR-T 细胞治疗效果的不利影响。因此,它们可能更适合用于 CAR-T 细胞体内活性的控制。

1.2 使用桥接分子控制 CAR-T 细胞体内活性

经典的 CAR 结构的设计思路是向 T 细胞输入识别肿瘤的刺激信号,并输出 T 细胞的激活信号,但是由于 CAR 胞外和胞内结构域的直接连接,使得信号的输入-输出之间没有可供调节的逻辑环节,因而无法实现对 T 细胞识别肿瘤及后续激活的精准调控。2018 年,CHO 等^[13]设计了一种 T 细胞接头-scFv 嵌合蛋白作为游离的桥接分子替代固定的 CAR 胞外段,即分离、通用、可编程的 CAR 系统(split, universal, and programmable CAR, SUPRA CAR),通过调整桥接分子的剂量可以精细控制 CAR-T 细胞的活化强度;在该设计下,通过使用不同的桥接分子即可切换 CAR-T 细胞的靶标,在实现 T 细胞通用性的同时还可靶向多种抗原。在这一设计理念下,可同时结合肿瘤和 T 细胞的桥接分子可实现类似的调控功能,如 EDWARDS 等^[14]使用 D 结构域(D-domain)代替 scFv 作为肿瘤抗原结合元件构建的 SparX-ARC-T 体系;配合抗 FITC CAR-T 细胞使用的一系列桥接分子,包括利用抗肿瘤表面抗原抗体构建的 FITC-抗体偶联物^[15-16],利用肿瘤大量摄取叶酸特征构建的 FITC-叶酸偶联物^[17],使用有肿瘤膜结合功能的脂质聚(乙二醇)两亲物-FITC 偶联物(Amph-FITC)^[18]等。为进一步减少不可控的激活,向 T 细胞传递激活信号的胞内段同样可以进行拆分,HAIDY 等^[19]设计 COS-GD2 和 SIG-EGFR 的两种 Rev 桥接分子,并给 T 细胞同时装载了 anti-COS-CD28 和 anti-SIG-CD3z 两种结构不完整的 CAR。该 CAR-T 细胞必须在同时给予两种 Rev 开关分子时,才能向胞内传递完整的 CD28 和 CD3z 信号介导肿瘤杀伤。

上述使用桥接分子对 CAR 信号激活-转导路径进行拆分的设计均可通过改变给予桥接分子的部位、剂量和时间对 CAR-T 细胞的活性进行控制,同时也可

通过给予不同设计的桥接分子,在一定程度上实现对多种肿瘤抗原的靶向性及底盘T细胞的通用性。亦有实验结果^[15]表明,桥接分子控制的CAR-T细胞取得的抗肿瘤效果并不总强于传统设计,这可能与桥接分子的存在减弱了CAR-T细胞与肿瘤的结合有关。

1.3 使用CAR增强子(CAR enhancer, CAR-E)融合蛋白调控CAR-T细胞的体内活性

在CAR-T细胞治疗中联合使用细胞因子以增强疗效的应用已经十分广泛,然而由于这些联用的细胞因子通常为全身性给药,这种非靶向性的给药方式无法实现对体内CAR-T细胞的精准刺激,还可能造成不良反应。为克服这些问题,RAKSHANDEHROO等^[20]设计了一种名为CAR-E的融合蛋白,它由一个能够被CAR特异性识别的抗原及IL-2突变体组成。由于经突变改造的IL-2与IL-2受体的亲和力降低,仅当CAR-E在抗原的引导下与CAR-T细胞特异性结合时才能有效地激活CAR-T细胞,因而实现了对体内CAR-T细胞的靶向性激活。近期,研究者^[21-23]研发了一系列能够将细胞因子靶向性递送到T细胞的融合蛋白,为“遥控”CAR-T细胞提供了新工具。例如anti-PD-1抗体-细胞因子融合蛋白,可选用的细胞因子除IL-2外,还包括IL-12、IL-15等对T细胞有刺激功能的因子。研究^[24-26]发现,IL-4、IL-7、IL-10可增强包括CAR-T细胞在内的过继性T细胞治疗肿瘤的疗效,进一步扩大了构建CAR-E时的细胞因子选择范围。中国学者^[27]最新开发的生物正交偶联臂技术可将多种治疗性小分子或生物分子构建成为多特异性生物正交嵌合体,实现进行体内递送,这为同时将多种细胞因子导向至T细胞或者CAR-T细胞提供了可能。

1.4 使用CAR信号抑制剂实现CAR-T细胞的体内遥控

前述的CAR-T细胞体内遥控策略均不同程度地在CAR-T细胞的激活路径中添加了对应的“门控元件”,这不可避免地需要对T细胞进行除了装载CAR以外的改造。但对CAR-T细胞进行额外的改造有可能带来非预期的安全性问题。一些小分子抑制剂可以直接抑制CAR信号转导,实现在不对CAR-T细胞进行额外修饰的情况下控制其体内活性。达沙替尼是Src/Bcr-Abl双重抑制剂,能够通过抑制淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶,抑制CD3和TCR相关蛋白激酶70 000链的磷酸化,从而抑制CAR胞内段介导的激活信号^[28]。WEBER等^[29]报道,使用达沙替尼阻断CAR信号转导,让CAR-T细胞暂时性休息,能够逆转CAR-T细胞耗竭,恢复其增殖、细胞因子分泌及杀伤功能。经过恢复的CAR-T细胞经历了基因转录和表观遗传学的重塑,获得记忆表型,远期抗肿瘤能力提高。但是,考虑到达沙替尼对整体免疫功能的影响尚不确

定,其与CAR-T细胞联合治疗肿瘤的方案仍需进一步的临床研究加以验证和完善。

1.5 感知肿瘤“地址信息”的CAR-T细胞体内自我调控

基于合成生物学的模块化设计可实现CAR-T细胞对活化信息的精准感知。合成Notch(synthetic Notch)系统模拟天然状态下Notch受体-配体结合后启动下游基因转录的特性,通过改造Notch受体使之识别特定的配体,启动特定的下游基因,可实现细胞感知和行为的定制化^[30-33]。ALLEN等^[34]构建了肿瘤特异性Notch受体驱动的IL-2表达元件肿瘤特异性合成Notch(tumor-specific synthetic Notch, SynNotch)。体内实验表明,搭载SynNotch诱导IL-2表达元件的CAR-T细胞能够根据肿瘤“地址信息”启动IL-2的分泌,实现CAR-T细胞体内自分泌IL-2的精准自我调控,该策略下收获的体内抗肿瘤疗效远优于组成性表达IL-2的CAR-T细胞。更为深入地理解CAR-T细胞命运的时空调节机制将推动可编程信号感知系统的理性设计^[35-36],使T细胞能实现精准的体内“自我操控”。

2 基于生物材料的CAR-T细胞体内活性控制

具备生物相容性的材料可以同时负载CAR-T细胞和生物活性物质,一方面为CAR-T细胞提供适宜的扩增环境,另一方面实现CAR-T细胞在肿瘤部位的定点缓释;部分高分子材料还可以负载CAR-T细胞的制备元件或其他活性控制元件,实现CAR-T细胞的体内制造、激活及更为精细的活性控制。

2.1 使用高分子材料实现CAR-T细胞的定点缓释

GROSSKOPF等^[37]使用十二烷基改性羟丙基纤维素(dodecyl-modified hydroxypropyl methylcellulose, HPMC-C12)和偶联了细胞黏附基序(Arg-Gly-Asp, RGD)的聚乙二醇 β -聚乳酸纳米颗粒[RGD conjugated biodegradable nanoparticles comprising poly(ethylene glycol)- β -poly(lactic acid), RGD-PEG-PLA NP]制备可注射水凝胶,将CAR-T细胞和细胞因子IL-15共同封装在其中后进行瘤内注射。CAR-T细胞在8 d内从注射部位逐步释放,相较于传统的CAR-T细胞静脉注射显示出更好的抗实体瘤活性。研究者将该策略取得更好疗效的原因归结为聚纳米颗粒(polymeric nanoparticle, PNP)在注射时形成短暂的炎症环境促进CAR-T细胞的扩增并诱导了更具杀伤力的CAR-T细胞表型。笔者推测,这种PNP水凝胶因其缓释作用避免了CAR-T细胞一次性输注后的爆发性扩增,这既能够延长CAR-T细胞的存续时间,也能够降低不良反应的发生概率。TANG等^[38]开发了一种由明胶甲基丙烯酸酰胺和聚

乙二醇二丙烯酸酯自组装的高分子材料,经聚合物滴沉降形成毫米级环形螺旋颗粒(toroidal-spiral particles, TSP),该TSP具有螺旋状的内部空隙,可将CAR-T细胞和IL-2封装在其中。这种负载CAR-T细胞和IL-2的颗粒可以被植入肿瘤周围,此种设计能够有效减少细胞因子向周围正常组织的释放,又能有效刺激CAR-T细胞的增殖和活化,产生比静脉注射同等剂量的CAR-T细胞更好的抗肿瘤效果。

2.2 使用高分子材料进行CAR-T细胞的体内制造

高分子材料可以负载向T细胞转导CAR基因的载体或慢病毒,成为在体生成CAR-T细胞的“工厂”,实现CAR-T细胞的定点生成、释放和激活。PANDIT等^[39]开发了一种名为“Drydux”的钙交联海藻酸盐大孔生物支架材料,将经anti- α CD3/ α CD28激活的外周血单个核细胞(PBMC)与编码B7H3 CAR的 γ -逆转录病毒混合接种到Drydux支架上,可在3 d内实现快速的CAR-T细胞制备。将该“细胞工厂”直接注射到肿瘤部位,能不断在体内生成并释放CAR-T细胞,获得超越传统CAR-T细胞给药方法的疗效。ZHU等^[40]使用基于阳离子聚合物mPEG-PCL-PEI(PPP) α -环糊精(α -CD)的自组装水凝胶,在该水凝胶中负载靶向T细胞的CD3e F(ab')₂片段和T细胞特异性CD2启动子表达的CAR质粒。向瘤内注射该材料,成功实现了CAR-T细胞在人源化小鼠模型中肿瘤内的原位生成和聚集。这些新策略正在将“输注CAR-T细胞”改变为“输注CAR-T细胞的制备材料”,省略了CAR-T细胞个体化制备并回输的复杂过程,为CAR-T细胞疗法提供了另一种实现通用性的技术路径。

2.3 使用高分子材料开关控制CAR-T细胞的体内活性

除了负载CAR-T细胞或CAR-T细胞的制备材料外,高分子材料还可以作为其他具有生物功能分子的载体,如抗体、药物等,结合特殊的CAR-T细胞设计实现CAR-T细胞的体内活性控制。HUANG等^[41]使用生物相容性聚乳酸-乙醇酸[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]聚合物制造了微米级别的免疫细胞接合颗粒(immune cell conjugating particle, ICEP),在其上接驳特定序列的短DNA链,可利用DNA短链的反向互补,将偶联其反义链的生物分子与ICEP结合,形成可负载不同功能蛋白的短DNA链生物纳米颗粒材料。该纳米颗粒可以通过DNA双链的结合作用负载不同功能的活性蛋白,如anti-PD-L1抗体、anti-CD3/CD28的抗体等。研究者采用anti-GFP触发的SynNotch启动HER2 CAR表达的设计,同时将偶联GFP的ICEP进行瘤内注射,在瘤内ICEP的引导下,全身给予的CAR-T细胞能够在瘤

内定点启动CAR表达并杀伤肿瘤细胞。由于能够负载在ICEP上的DNA短链具有多样性,使得其可同时负载多种功能分子,为更精细地调控CAR-T细胞的体内行为提供了可能。

3 基于物理能量开关的CAR-T细胞活性控制策略

能够定向传递物理能量的声波、光/电磁波等可以向CAR-T细胞传递开关信息,实现CAR-T细胞的体内活性控制。

3.1 使用聚焦超声波能量投射控制CAR-T细胞体内活性

聚焦超声波可以安全无创地将能量精确输送到厘米级深度的组织中,实现对组织的加热。热激蛋白(heat shock protein, HSP)启动子具有在37 °C下转录效率很低,而在43 °C下可启动转录的特性。WU等^[42]利用该启动子控制Cre蛋白表达,作用于LoxP-STOP门控的CD19 CAR表达系统,即可实现超声波热效应诱导下的CAR表达。将装载该系统的anti-CD19 CAR-T细胞注射到皮下肿瘤中,其能够在聚焦超声脉冲下启动CAR的表达并发挥抗肿瘤作用。有趣的是,如果在上述系统中用HSP启动子直接启动CAR表达,由于HSP启动子的转录活性会在热刺激去除后下调,就形成了一个可诱导的表达系统,实现CAR的反复“开关”。通过调整超声刺激的强度有望实现对CAR-T细胞激活的精准调控。

除加热组织外,聚焦超声波介导的精准能量传递还可以发挥更广泛的作用,如暂时性增加血脑屏障的通透性等^[43],其对CAR-T细胞体内行为的干预能力可能在未来扩展到帮助CAR-T细胞浸润到原先不易到达的部位,治疗原先难以触及的肿瘤。

3.2 定点电磁波-热转换控制CAR-T细胞体内活性

某些纳米材料能将光或微波等电磁波转换为热能,进而实现对CAR-T细胞的操控。MILLER等^[44]鉴定了HSPB1核心启动子上游热激元件结构域的5'-nGAAnnTTCnnGAAn-3'重复序列的转录活性,筛选出效率最高的热敏启动子用于启动CAR表达,通过在肿瘤局部注射等离子体金纳米材料将近红外光转换为热能,可将肿瘤加热至40~45 °C,诱导肿瘤部位的工程化T细胞表达CAR并定点杀伤肿瘤细胞。TANG等^[45]使用光敏剂吡啶菁绿标记的两亲性羟乙基淀粉-聚己内酯(hydroxyethyl starch-polycaprolactone, HES-PCL)纳米颗粒负载TGF- β 抑制剂LY2157299注射小鼠,通过在肿瘤部位定点施加近红外光照射,能够控制LY2157299在肿瘤部位释放;将该策略与CAR-T细胞联用,显著增加了CAR-T细胞在肿瘤局部的浸润。

除光外,微波的定点能量投射同样可以取得类似的效果。肿瘤的微波热消融是通过微波的能量投射实现肿瘤治疗。WANG等^[46]开发了一种负载金前体和还原剂L-精氨酸的温度敏感水凝胶,注入肿瘤后通过微波加热触发还原反应,在肿瘤原位生成金纳米颗粒,其可以增强肿瘤微波热消融的热效率,将热量限制在肿瘤内。将该疗法与CAR-T细胞治疗联用,可以显著提高CAR-T细胞在肿瘤中的浸润。

3.3 使用光感开关调控CAR-T细胞体内活性

一些蛋白和其配体可以在蓝光的照射下结合,利用这一特性,研究者设计了可由光照直接控制的CAR-T细胞活性开关。NGUYEN等^[47]基于拟南芥隐花色素2(*arabidopsis cryptochrome 2*, CRY2)光解酶和光氧电压结构域2(light-oxygen-voltage sensing domain 2, LOV2)设计了光可控CAR(light-inducible CAR, LiCAR),将CD19 CAR胞内结构域的41BB和CD3z分别与CRY2光解酶和LOV2融合表达,在特定波长蓝光的照射下,CRY2光解酶和LOV2结合,实现41BB和CD3z的刚性连接,激活CAR-T细胞。进一步地,为了克服激发的蓝光对组织穿透性不足的弊端,研究人员向小鼠肿瘤内注射了一种可将红外激发光转换为蓝光的上转换纳米颗粒,利用红外光的穿透性对肿瘤定点照射,实现了CAR-T细胞在肿瘤部位的可控激活,有效抑制小鼠组织深部肿瘤的生长。类似地,HUANG等^[48]将LexA DNA结合结构域和带有核输出信号的钙和整合素结合蛋白1(calcium and integrin binding 1, CIB1)及二分光诱导的核定位信号biLINuS串联融合表达,同时将CRY2光解酶和强转录激活因子VPR融合表达;在无光刺激时,LexA-CIB1-biLINuS被限制在细胞核外,而在蓝光刺激下,LexA-CIB1-biLINuS会在biLINuS的引导下进入细胞核,同时CRY2光解酶和CIB1在蓝光的刺激下二聚化,进而被LexA序列定位到LexA-BS,使启动增强子VPR贴近启动子,启动CAR基因的转录。使用这套光控制基因表达系统可以实现对T细胞CAR表达的光学调控。

在上述策略中,CAR结构的组装或调控表达均由单个光子能量更强的蓝光诱导,但由于蓝光的组织穿透深度有限,限制了其实际应用。因此,目前仍需联合使用将红外光转换成蓝光的纳米材料才能实现组织深部肿瘤的穿透照射,而开发组织穿透性更强的光控开关系统是该策略的未来发展方向。

4 用其他细胞遥控CAR-T细胞的体内活化

在生理状态下,树突状细胞(DC)即可向T细胞提呈抗原并发挥对T细胞的激活刺激作用。利用这一

特性,MA等^[49]将CAR识别的抗原展示到DC表面,借助DC和CAR-T细胞的相互作用诱导CAR-T细胞的体内活化。目前开发的新型靶向DC的类病毒载体可以实现针对体内DC的高效基因递送^[50],利用这一技术能够实现对DC展示CAR识别抗原的高效原位基因编辑,省略了体外改造DC的过程,从而更好地遥控CAR-T细胞的活化。另外,也有研究者^[51]通过优化生物材料的黏弹性力学特征,开发出模拟固有抗原提呈细胞的合成抗原提呈细胞(synthetic viscoelastic T-cell-activating cell, SynVAC),发挥类似于DC的对CAR-T细胞的刺激作用,扩展了该策略的应用范围。

VINCENT等^[52]通过改造肿瘤定殖益生菌*E. coli* Nissle 1917,使其在肿瘤中释放能被CAR-T细胞识别的抗原靶标,实现CAR-T细胞向肿瘤募集和定点激活。有研究还揭示了其他类型细胞对T细胞或CAR-T细胞的功能增强作用,如骨髓基质细胞向CAR-T细胞转移线粒体,能够显著增强其线粒体呼吸功能^[53];成纤维网状细胞通过分泌CC基序趋化因子配体19(CCL19)和CCL21,促进T细胞在肿瘤微环境中的浸润^[54]等。这些新发现的细胞间交互功能均提示其在CAR-T细胞体内“遥控”领域的潜在应用价值。

5 结 语

“遥控”CAR-T细胞的研究,一方面使CAR-T细胞具备更清晰的药代动力学特征,使其体内行为可知、可控;另一方面使精细调控CAR-T细胞的活化、分化,提高其治疗肿瘤疗效和安全性成为可能。该研究方向鸿蒙初辟,仍面临着诸多挑战。例如,体内操纵效率不高,对CAR-T细胞的额外改造面临监管审批挑战,临床治疗的有效性和安全性尚未得到验证等。未来,CAR-T细胞体内“遥控”策略将向着更安全、更精准、更高效的方向发展。相信通过对该策略潜力的不断发掘,CAR-T细胞的治疗将更加有效和可控,让更多的患者获益,同时促进相关产业的发展。

[参 考 文 献]

- [1] GARGETT T, BROWN M P. The inducible caspase-9 suicide gene system as a “safety switch” to limit on-target, off-tumor toxicities of chimeric antigen receptor T cells[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: 235[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25389405/>. DOI:10.3389/fphar.2014.00235.
- [2] GUERCIO M, MANNI S, BOFFA I, et al. Inclusion of the inducible caspase 9 suicide gene in CAR construct increases safety of CAR. CD19 T cell therapy in B-cell malignancies[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 755639[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34737753/>. DOI:10.3389/fimmu.2021.755639.
- [3] DIACONU I, BALLARD B, ZHANG M, et al. Inducible caspase-9 selectively modulates the toxicities of CD19-specific chimeric

- antigen receptor-modified T cells[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(3): 580-592. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.01.011.
- [4] PASZKIEWICZ P J, FRÄBLE S P, SRIVASTAVA S, *et al*. Targeted antibody-mediated depletion of murine CD19 CAR T cells permanently reverses B cell aplasia[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(11): 4262-4272. DOI:10.1172/JCI84813.
- [5] WANG Q M, HE F, HE W F, *et al*. A transgene-encoded truncated human epidermal growth factor receptor for depletion of anti-B-cell maturation antigen CAR-T cells[J/OL]. *Cell Immunol*, 2021, 363: 104342[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33765541/>. DOI:10.1016/j.cellimm.2021.104342.
- [6] PHILIP B, KOKALAKI E, MEKKAOU L, *et al*. A highly compact epitope-based marker/suicide gene for easier and safer T-cell therapy[J]. *Blood*, 2014, 124(8): 1277-1287. DOI: 10.1182/blood-2014-01-545020.
- [7] CHOI J, CHEN J, SCHREIBER S L, *et al*. Structure of the FKBP12-rapamycin complex interacting with the binding domain of human FRAP[J]. *Science*, 1996, 273(5272): 239-242. DOI: 10.1126/science.273.5272.239.
- [8] WU C Y, ROYBAL K T, PUCHNER E M, *et al*. Remote control of therapeutic T cells through a small molecule-gated chimeric receptor [J/OL]. *Science*, 2015, 350(6258): aab4077[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26405231/>. DOI:10.1126/science.aab4077.
- [9] LEUNG W H, GAY J, MARTIN U, *et al*. Sensitive and adaptable pharmacological control of CAR T cells through extracellular receptor dimerization[J/OL]. *JCI Insight*, 2019, 5(11): e124430 [2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31039141/>. DOI: 10.1172/jci.insight.124430.
- [10] WANG X Y, MENG F Y, LI X, *et al*. Nanomodified switch induced precise and moderate activation of CAR-T cells for solid tumors[J/OL]. *Adv Sci*, 2023, 10(12): e2205044[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36755195/>. DOI:10.1002/advs.202205044.
- [11] RICHMAN S A, WANG L C, MOON E K, *et al*. Ligand-induced degradation of a CAR permits reversible remote control of CAR T cell activity *in vitro* and *in vivo*[J]. *Mol Ther*, 2020, 28(7): 1600-1613. DOI:10.1016/j.ymthe.2020.06.004.
- [12] ZHENG Y J, NANDAKUMAR K S, CHENG K. Optimization of CAR-T cell-based therapies using small-molecule-based safety switches[J]. *J Med Chem*, 2021, 64(14): 9577-9591. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c02054.
- [13] CHO J H, COLLINS J J, WONG W W. Universal chimeric antigen receptors for multiplexed and logical control of T cell responses[J]. *Cell*, 2018, 173(6): 1426-1438. DOI:10.1016/j.cell.2018.03.038.
- [14] EDWARDS J P, SWERS J S, BUONATO J M, *et al*. Controlling CAR-T cell activity and specificity with synthetic SparX adapters[J]. *Mol Ther*, 2024, 32(6): 1835-1848. DOI:10.1016/j.ymthe.2024.04.027.
- [15] MA J S Y, KIM J Y, KAZANE S A, *et al*. Versatile strategy for controlling the specificity and activity of engineered T cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(4): E450-E458. DOI: 10.1073/pnas.1524193113.
- [16] CAO Y, RODGERS D T, DU J J, *et al*. Design of switchable chimeric antigen receptor T cells targeting breast cancer[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55(26): 7520-7524. DOI:10.1002/anie.201601902.
- [17] KIM M S, MA J S Y, YUN H, *et al*. Redirection of genetically engineered CAR-T cells using bifunctional small molecules[J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(8): 2832-2835. DOI: 10.1021/jacs.5b00106.
- [18] ZHANG A Q, HOSTETLER A, CHEN L E, *et al*. Universal redirection of CAR T cells against solid tumours *via* membrane-inserted ligands for the CAR[J]. *Nat Biomed Eng*, 2023, 7(9): 1113-1128. DOI:10.1038/s41551-023-01048-8.
- [19] SALEH H A, MITWASI N, ULLRICH M, *et al*. Specific and safe targeting of glioblastoma using switchable and logic-gated RevCAR T cells[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1166169[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37122703/>. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1166169.
- [20] RAKHSHANDEHROO T, MANTRI S R, MORAVEJ H, *et al*. A CAR enhancer increases the activity and persistence of CAR T cells [J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2024, 30: online ahead of print[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39079964/>. DOI: 10.1038/s41587-024-02339-4.
- [21] DEAK L C, NICOLINI V, HASHIMOTO M, *et al*. PD-1-*cis* IL-2R agonism yields better effectors from stem-like CD8⁺ T cells[J]. *Nature*, 2022, 610(7930): 161-172. DOI: 10.1038/s41586-022-05192-0.
- [22] ZOU Z Z, SHEN J, XUE D Y, *et al*. Anti-PD-1 *cis*-delivery of low-affinity IL-12 activates intratumoral CD8⁺ T cells for systemic antitumor responses[J/OL]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 4701[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38830882/>. DOI: 10.1038/s41467-024-49034-1.
- [23] SHI W Q, LIU N, LIU Z X, *et al*. Next-generation anti-PD-L1/IL-15 immunocytokine elicits superior antitumor immunity in cold tumors with minimal toxicity[J/OL]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(5): 101531[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38697105/>. DOI:10.1016/j.xcrm.2024.101531.
- [24] FENG B, BAI Z L, ZHOU X L, *et al*. The type 2 cytokine Fc-IL-4 revitalizes exhausted CD8⁺ T cells against cancer[J]. *Nature*, 2024, 634(8034): 712-720. DOI:10.1038/s41586-024-07962-4.
- [25] 龚福生, 陈珊珊, 郑秋红, 等. IL-7的诱导表达增强靶向GPC3 CAR-T细胞的增殖及体外抗肿瘤活性[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2024, 31(10): 951-956. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.10.002.
- [26] ZHAO Y, CHEN J Q, ANDREATTA M, *et al*. IL-10-expressing CAR T cells resist dysfunction and mediate durable clearance of solid tumors and metastases[J]. *Nat Biotechnol*, 2024, 42(11): 1693-1704. DOI:10.1038/s41587-023-02060-8.
- [27] LIN F, YIN S Y, ZHANG Z J, *et al*. Multimodal targeting chimeras enable integrated immunotherapy leveraging tumor-immune microenvironment[J]. *Cell*, 2024, 187(26): 7470-7491. DOI:10.1016/j.cell.2024.10.016.
- [28] MESTERMANN K, GIAVRIDIS T, WEBER J, *et al*. The tyrosine kinase inhibitor dasatinib acts as a pharmacologic on/off switch for CAR T cells[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(499): eaau5907[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31270272/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau5907.
- [29] 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[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33795428/>. DOI: 10.1126/science.aba1786.

- [30] MORSUT L, ROYBAL K T, XIONG X, *et al.* Engineering customized cell sensing and response behaviors using synthetic Notch receptors[J]. *Cell*, 2016, 164(4): 780-791. DOI:10.1016/j.cell.2016.01.012.
- [31] ROYBAL K T, WILLIAMS J Z, MORSUT L, *et al.* Engineering T cells with customized therapeutic response programs using synthetic Notch receptors[J]. *Cell*, 2016, 167(2): 419-432. DOI: 10.1016/j.cell.2016.09.011.
- [32] ZHU I, LIU R, GARCIA J M, *et al.* Modular design of synthetic receptors for programmed gene regulation in cell therapies[J]. *Cell*, 2022, 185(8): 1431-1443. DOI:10.1016/j.cell.2022.03.023.
- [33] REDDY N R, MAACHI H, XIAO Y N, *et al.* Engineering synthetic suppressor T cells that execute locally targeted immunoprotective programs[J/OL]. *Science*, 2024, 386(6726): ead14793[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39636990/>. DOI: 10.1126/science.adl4793.
- [34] ALLEN G M, FRANKEL N W, REDDY N R, *et al.* Synthetic cytokine circuits that drive T cells into immune-excluded tumors[J/OL]. *Science*, 2022, 378(6625): eaba1624[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36520915/>. DOI:10.1126/science.aba1624.
- [35] DANIELS K G, WANG S Y, SIMIC M S, *et al.* Decoding CAR T cell phenotype using combinatorial signaling motif libraries and machine learning[J]. *Science*, 2022, 378(6625): 1194-1200. DOI: 10.1126/science.abq0225.
- [36] LIM W A. The emerging era of cell engineering: Harnessing the modularity of cells to program complex biological function[J]. *Science*, 2022, 378(6622): 848-852. DOI:10.1126/science.add9665.
- [37] GROSSKOPF A K, LABANIEH L, KLYSZ D D, *et al.* Delivery of CAR-T cells in a transient injectable stimulatory hydrogel niche improves treatment of solid tumors[J/OL]. *Sci Adv*, 2022, 8(14): eabn8264[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35394838/>. DOI:10.1126/sciadv.abn8264.
- [38] TANG H, ZAROUDI M, ZHU Y L, *et al.* Toroidal-spiral particles as a CAR-T cell delivery device for solid tumor immunotherapy[J]. *J Control Release*, 2023, 362: 620-630. DOI: 10.1016/j.jconrel.2023.09.005.
- [39] PANDIT S, AGARWALLA P, SONG F F, *et al.* Implantable CAR T cell factories enhance solid tumor treatment[J/OL]. *Biomaterials*, 2024, 308: 122580[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38640784/>. DOI:10.1016/j.biomaterials.2024.122580.
- [40] ZHU C Y, KE L J, AO X, *et al.* Injectable supramolecular hydrogels for *in situ* programming of CAR-T cells toward solid tumor immunotherapy[J]. *Adv Mater*, 2024, 36(5): e2310078[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37947048/>. DOI: 10.1002/adma.202310078.
- [41] HUANG X, WILLIAMS J Z, CHANG R, *et al.* DNA scaffolds enable efficient and tunable functionalization of biomaterials for immune cell modulation[J]. *Nat Nanotechnol*, 2021, 16(2): 214-223. DOI:10.1038/s41565-020-00813-z.
- [42] WU Y Q, LIU Y H, HUANG Z L, *et al.* Control of the activity of CAR-T cells within tumours *via* focused ultrasound[J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(11): 1336-1347. DOI:10.1038/s41551-021-00779-w.
- [43] REZAI A R, D' HAESE P F, FINOMORE V, *et al.* Ultrasound blood-brain barrier opening and aducanumab in Alzheimer's disease[J]. *N Engl J Med*, 2024, 390(1): 55-62. DOI: 10.1056/NEJMoa2308719.
- [44] MILLER I C, ZAMAT A, SUN L, *et al.* Enhanced intratumoural activity of CAR T cells engineered to produce immunomodulators under photothermal control[J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(11): 1348-1359. DOI:10.1038/s41551-021-00781-2.
- [45] TANG Y X, YAO W Q, HU H, *et al.* TGF- β blocking combined with photothermal therapy promote tumor targeted migration and long-term antitumor activity of CAR-T cells[J/OL]. *Mater Today Bio*, 2023, 20: 100615[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37063775/>. DOI:10.1016/j.mtbio.2023.100615.
- [46] WANG D, ZHANG M Q, QIU G H, *et al.* Extracellular matrix viscosity reprogramming by *in situ* Au bioreactor-boosted microwavegenetics disables tumor escape in CAR-T immunotherapy[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(6): 5503-5516. DOI:10.1021/acsnano.2c10845.
- [47] NGUYEN N T, HUANG K, ZENG H X, *et al.* Nano-optogenetic engineering of CAR T cells for precision immunotherapy with enhanced safety[J]. *Nat Nanotechnol*, 2021, 16(12): 1424-1434. DOI:10.1038/s41565-021-00982-5.
- [48] HUANG Z L, WU Y Q, ALLEN M E, *et al.* Engineering light-controllable CAR T cells for cancer immunotherapy[J/OL]. *Sci Adv*, 2020, 6(8): eaay9209[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32128416/>. DOI:10.1126/sciadv.aay9209.
- [49] MA L Y, DICHWALKAR T, CHANG J Y H, *et al.* Enhanced CAR-T cell activity against solid tumors by vaccine boosting through the chimeric receptor[J]. *Science*, 2019, 365(6449): 162-168. DOI: 10.1126/science.aav8692.
- [50] YIN D, ZHONG Y Y, LING S K, *et al.* Dendritic-cell-targeting virus-like particles as potent mRNA vaccine carriers[J]. *Nat Biomed Eng*, 2025, 9(2): 185-200. DOI:10.1038/s41551-024-01208-4.
- [51] LIU Z Y, LI Y R, YANG Y C, *et al.* Viscoelastic synthetic antigen-presenting cells for augmenting the potency of cancer therapies[J]. *Nat Biomed Eng*, 2024, 8(12): 1615-1633. DOI: 10.1038/s41551-024-01272-w.
- [52] VINCENT R L, GURBATRI C R, LI F D, *et al.* Probiotic-guided CAR-T cells for solid tumor targeting[J]. *Science*, 2023, 382(6667): 211-218. DOI:10.1126/science.add7034.
- [53] BALDWIN J G, HEUSER-LOY C, SAHA T, *et al.* Intercellular nanotube-mediated mitochondrial transfer enhances T cell metabolic fitness and antitumor efficacy[J]. *Cell*, 2024, 187(23): 6614-6630. DOI:10.1016/j.cell.2024.08.029.
- [54] ONDER L, PAPADOPOULOU C, LÜTGE A, *et al.* Fibroblastic reticular cells generate protective intratumoral T cell environments in lung cancer[J]. *Cell*, 2025, 188(2): 430-446. DOI: 10.1016/j.cell.2024.10.042.

[收稿日期] 2025-01-06

[修回日期] 2025-02-25

[本文编辑] 党瑞山