

嵌合抗原受体 T 细胞疗法治疗实体瘤的论述及其与中医药联合应用的展望

曾书莹¹, 徐鑫鑫¹, 周小芳¹, 余志红²

1.浙江中医药大学第二临床医学院,浙江杭州 310053; 2.浙江省立同德医院肿瘤科,浙江杭州 310012

[摘要] 嵌合抗原受体 T(chimeric antigen receptor T, CAR-T)细胞疗法在血液肿瘤的治疗中获得了巨大成功。目前, CAR-T 细胞缺乏特异性抗原、其运输和浸润肿瘤组织困难、免疫抑制性肿瘤微环境耗竭 CAR-T 细胞、细胞因子释放综合征引发全身炎症反应等因素限制了该疗法在实体瘤中的应用。本文讨论并总结在实体瘤治疗中 CAR-T 细胞靶点的选择及应用的局限性, 并从中医药改善肿瘤微环境的角度, 提出 CAR-T 细胞疗法联合中医药治疗实体瘤的新策略。

[关键词] 嵌合抗原受体 T 细胞; 实体瘤; 局限性; 中医药

[中图分类号] R273 [文献标识码] A [DOI] 10.3969/j.issn.1673-9701.2024.23.032

嵌合抗原受体 T(chimeric antigen receptor T, CAR-T) 细胞疗法为靶向恶性肿瘤的免疫过继疗法带来创新性变化。CAR-T 细胞是将 T 细胞在体外进行改造, 使其可直接识别肿瘤细胞上的特定抗原, 从而产生抗肿瘤免疫反应^[1]。靶向 CD19 的 CAR-T 细胞在血液肿瘤的治疗中获得了巨大成功, 患者的完全缓解率高达 90%^[2]。但 CAR-T 细胞在实体瘤的治疗中尚未获得理想疗效。CAR-T 细胞输注人体后, 运输到肿瘤组织较为困难; 即使被成功运输到肿瘤组织周围, 也会出现浸润不足, 且 CAR-T 细胞的持久力有限; 少量进入肿瘤组织的 CAR-T 细胞所面临

的免疫抑制性肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)可导致 CAR-T 细胞耗竭, 并产生促肿瘤效应; CAR-T 细胞被激活后会释放大量细胞因子, 进而引发细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS), 上述因素均会阻碍 CAR-T 细胞在实体瘤中的应用^[3]。本文讨论 CAR-T 细胞在实体瘤治疗中靶点的选择及临床应用的局限性, 并依据中医药可重塑 TME 以辅助肿瘤治疗的重大突破, 提出中医药联合应用 CAR-T 细胞疗法治疗实体瘤的展望。

1 靶点的选择及应用

表 1 CAR-T 细胞疗法在实体瘤治疗中靶点的选择及应用

| 研究内容 | 涉及肿瘤类型 | 作用靶点 | 研究结论 |
|---|----------------------|-------------------|--|
| 应用靶向癌胚抗原的 CAR-T 细胞疗法治疗癌胚抗原肝转移瘤 I b 期临床试验 ^[4] | 结直肠癌、肝癌、胃癌和胰腺癌 | 癌胚抗原 | 在该项研究中, 患者的中位生存期为 8 个月 |
| 应用靶向前列腺特异性膜抗原的 CAR-T 细胞疗法治疗转移性前列腺癌 I 期临床试验 ^[5] | 前列腺癌 | 前列腺特异性膜抗原 | 在该项研究中, 疾病稳定患者占 38.5%, 患者的中位总生存期为 477d, 无进展生存期为 132d |
| 应用靶向双唾液酸神经节苷脂的 CAR-T 细胞疗法治疗复发或难治性高危神经母细胞瘤 I ~ II 期临床试验 ^[6] | 神经母细胞瘤 | 双唾液酸神经节苷脂 | 在该项研究中, 患者的完全应答率为 33.3% |
| 应用靶向人表皮生长因子受体 2 的 CAR-T 细胞疗法治疗实体瘤 I 期临床试验 ^[7] | 肉瘤、胶质瘤和胰腺癌等 | 人表皮生长因子受体 2 | 在该项研究中, 部分缓解患者占 15.8%, 疾病稳定患者占 21.1% |
| 应用靶向磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 的 CAR-T 细胞疗法治疗难治性或复发性磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 ⁺ 肝细胞癌 I 期临床试验 ^[8] | 肝细胞癌 | 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 | 在该项研究中, 部分缓解患者占 9.0%, 患者的总生存期为 278d, 1 年总生存率为 42.0% |
| 应用靶向表皮生长因子受体 III 型突变体的 CAR-T 细胞疗法治疗胶质母细胞瘤 I 期临床试验 ^[9] | 胶质母细胞瘤 | 表皮生长因子受体 III 型突变体 | 在该项研究中, 部分缓解患者占 20.0%, 患者的中位总生存期为 251d |
| 应用靶向 B 细胞成熟抗原的 CAR-T 细胞疗法治疗难治性多发性骨髓瘤 I 期临床试验 ^[10] | 难治性多发性骨髓瘤 | B 细胞成熟抗原 | 在该项研究中, 完全缓解患者占 43.3%, 患者的中位无进展生存期为 5.2 个月 |
| 应用靶向密封蛋白 6 的 CAR-T 细胞疗法治疗复发性或难治性实体瘤 I 期临床试验 ^[11] | 非小细胞肺癌、卵巢癌、睾丸癌和子宫内膜癌 | 密封蛋白 6 | 在该项研究中, 患者的客观缓解率为 33.0%, 疾病控制率为 67.0% |

通信作者: 余志红, 电子信箱: yzhmed@163.com

2 CAR-T 细胞疗法应用于实体瘤治疗所面临的问题

2.1 抗原异质性

特异性抗原在肿瘤细胞中高度表达，而在正常组织细胞中不表达或微量表达，是 CAR-T 细胞疗法理想的作用靶点。然而大多数 CAR-T 细胞的靶点是相关性抗原，这些抗原在肿瘤细胞和正常组织细胞中均显著表达。当 CAR-T 细胞攻击肿瘤细胞时，正常细胞也会受到损伤，造成“靶上/靶外肿瘤”毒性^[12]。抗原具有异质性，在治疗中会丢失，如在应用靶向表皮生长因子受体Ⅲ型突变体的 CAR-T 细胞疗法治疗胶质母细胞瘤的研究中出现的新的表皮生长因子受体Ⅲ型突变体肿瘤细胞^[13]。

2.2 CAR-T 细胞运输到实体瘤组织中的效率较低

CAR-T 细胞能否精准运输到肿瘤组织中取决于细胞表面的趋化因子受体和趋化因子配体，如 T 细胞上的趋化因子受体 3 及肿瘤细胞上的趋化因子配体 9 和趋化因子配体 10。当受体和配体结合后，CAR-T 细胞可被准确运输到肿瘤组织部位，但这种理想状况下受体和配体的结合在临幊上很少发生，导致 CAR-T 细胞不能准确运输到肿瘤组织部位发挥作用。此外，肿瘤内弯曲的、分支不规则的、通透性异常的、血流整体不规律的血管也会影响 CAR-T 细胞的运输^[14]。

2.3 免疫抑制性 TME

CAR-T 细胞被运输到肿瘤组织处所面临的免疫抑制性 TME 会影响其疗效。TME 是一个高度复杂的动态系统，由肿瘤细胞、基质细胞（包括血管内皮细胞、成纤维细胞、胶质细胞和平滑肌细胞等）、免疫细胞和细胞因子等组成，这些细胞和因子在肿瘤的发生、转移和耐药等过程中发挥重要作用。如血管内皮细胞形成的畸形血管不仅会影响 CAR-T 细胞浸润到肿瘤组织中心，还会阻碍营养物质的运输；成纤维细胞等构成的物理屏障可阻碍 CAR-T 进入肿瘤组织。TME 中存在各种免疫抑制细胞，如调节性 T 细胞（regulatory T cell, Treg）、髓系抑制性细胞（myeloid-derived suppressor cell, MDSC）、肿瘤相关巨噬细胞（tumor-associated macrophage, TAM）和肿瘤相关成纤维细胞（cancer-associated fibroblast, CAF）等^[15]。Treg 可表达高亲和力的白细胞介素（interleukin, IL）-2 受体，IL-2 受体与 IL-2 结合，使其无法应答 T 细胞；Treg 还可表达细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4（cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4），抑制抗原呈递细胞表面 CD80/CD86 的表达，从而剥夺效应 T 细胞的共刺激信号，抑制 T 细胞活化^[16]。M2 型 TAM 水平与 CAR-T

细胞疗法的疗效呈负相关，其可显著抑制 CD4⁺、CD8⁺T 细胞的增殖^[17]。消耗 MDSC 可增强 CAR-T 细胞疗法的疗效，其主要通过抑制程序性死亡受体 1（programmed death-1, PD-1）与程序性死亡受体配体 1（programmed death-ligand 1, PD-L1）的结合及释放 CD47、IL-17 等抑制性因子发挥作用^[18]。此外，肿瘤细胞恶性增殖会消耗葡萄糖和必需氨基酸等 TME 中的营养物质，异常代谢释放大量乳酸，形成营养耗损、酸性 pH 值和缺氧的 TME，进一步使 CAR-T 细胞的增殖受损^[15]。

2.4 CAR-T 细胞疗法相关毒性

CRS 是 CAR-T 细胞输注体内后，由快速激活并释放出的大量细胞因子，如 γ 干扰素（interferon- γ , IFN- γ ）、IL-2、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子- α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）和粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子等引起。CRS 可引起全身炎症反应，如发热、低血压、毛细血管渗漏和终末器官功能障碍等。当细胞因子随血液流入中枢神经系统时，会导致内皮细胞活化，血-脑脊液屏障的渗透性增加，进而产生免疫效应细胞相关神经毒性综合征^[12,19]。此外，CAR-T 细胞输注相关感染、肿瘤溶解综合征、凝血障碍和噬血细胞性淋巴组织细胞增生症等都会阻碍 CAR-T 细胞疗法在实体瘤中的应用^[20]。

3 应对 CAR-T 细胞疗法治疗实体瘤局限性的策略

3.1 改造 CAR-T 细胞结构

CAR 由 4 部分组成：单链可变片段（single-chain variable fragment, scFv）组成细胞外结构域，用于识别肿瘤抗原；位于 scFv 与跨膜区域之间的是铰链区，这是抗原结构域进入目标表位所必须的，不同长度的铰链区可影响 CAR 的表达和信号传导等；跨膜区域与铰链区共同将 CAR 锚定在细胞膜上，以影响 T 细胞下游信号级联反应；CD3 ζ 链与某些共刺激分子组成胞内信号结构域，用于信号传递^[21]。设计改造 CAR 的相应区域可提高疗效。修饰 scFv 以调节亲和力，使其对低抗原表达的肿瘤细胞有更好的反应性，且不攻击正常细胞；修饰铰链区和跨膜结构域，调控基于酪氨酸免疫受体激活基因的数量，改变 CAR-T 的抗原密度阈值；利用布尔逻辑门设计双靶向抗原的 CAR-T 细胞，肿瘤细胞只有同时表达两种抗原才能激活 T 细胞，而正常组织细胞只表达一种抗原或表达低量抗原均不能激活 T 细胞，限制“靶外”毒性；将基于半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9 诱导的自杀构建物导入 CAR-T 细胞，选择性消耗 CAR-T 细胞，可降低因 CAR-T 细胞过度激活所致 CRS 的发生风险；注射疫苗（CAR 配体）到达引流淋巴结以

修饰巨噬细胞和树突状细胞的表面, CAR-T 细胞遇到配体修饰后的巨噬细胞和树突状细胞能触发内源性免疫系统的参与, 以应对抗原阴性表达的肿瘤逃逸和抗原丢失等^[22-25]。

3.2 中医药联合 CAR-T 细胞疗法提高疗效

中医整体观念认为, 阴阳失衡、正虚邪盛是肿瘤发生发展的病机。正虚阴阳失调, 津液代谢异常, 痰湿内结, 气血瘀滞, 瘀瘀交阻, 乃成“癌毒”。“癌毒”交阻体内, 会进一步耗伤正气, 以此反复, 构成适合“癌毒”生存的环境, 促进肿瘤的发生发展。现代医学认为, 肿瘤的发生机制是基因发生突变的细胞与微环境相互作用的结果, 这与中医整体观念不谋而合。中医论治肿瘤不仅基于“正虚”内涵以扶

正, 也要针对 TME 的标实特征, 重塑 TME 以达到阴平阳秘的稳态, 从而抑制肿瘤的发生发展^[26]。表 2 列举部分中药单体及复方对 TME 的调节机制。通过“扶正”增强自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞) 在肿瘤组织中的浸润、抑制 MDSC 向 M2 型转化、促进正向细胞因子的表达等; 通过“祛邪”抑制负向免疫细胞的极化、抑制负向细胞因子的表达等, 以改善免疫抑制性 TME 及 T 细胞耗竭状态。研究表明, 当 CAR-T 细胞浸润至 TME 中, 其活性会受到抑制。联合中医药治疗可重塑微环境, 改善 T 细胞耗竭状态, 有助于 CAR-T 细胞作用的发挥。中医药在重塑 TME 的同时, 可抑制细胞因子的生成, 降低 CRS 的发生。

表 2 部分中药单体及复方对 TME 的调节机制

| TME | 组成 | 中药单体及复方 | 调节机制 |
|------|-------------|----------------------------|--|
| 免疫细胞 | Treg | 消癌解毒方 ^[27] | 抑制转录因子 Foxp3 在肿瘤组织中的表达, 降低 CD4 ⁺ Foxp3 ⁺ Treg 在外周血中的分布 |
| | M2 型 TAM | 温阳散结汤 ^[28] | 调节核因子 κ B 信号通路, 抑制 IL-13 诱导的 TAM 向 M2 型极化 |
| | MDSC | 阳和汤 ^[29] | 降低肿瘤组织中 MDSC 的比例, 抑制 MDSC 中诱导型一氧化氮合酶和精氨酸酶-1 的表达 |
| | NK 细胞 | 四君子汤 ^[30] | 抑制 PD-1/PD-L1 的表达, 增强 NK 细胞的活性 |
| | CAF | 健脾消癌方 ^[31] | 影响 α-平滑肌动蛋白的表达, 抑制人胚肺成纤维细胞 1 活化为 CAF |
| 细胞因子 | Ang2 | 仙连解毒方 ^[32] | 抑制 Ang 2 的表达 |
| | PD-1、CTLA-4 | 人参、金银花等 ^[33-34] | 人参皂苷可下调 PI3k、mTOR 的水平, 抑制蛋白 Akt 的活化, 下调 PD-1 的表达 |
| | IL-2 | 复方苦参注射液 ^[35] | 抑制 IL-2 的表达 |
| | IFN-γ | 灵芝多糖 ^[36] | 促进 IFN-γ 的表达 |
| | IL-4/6/10 | 川穹嗪 ^[37] | 抑制 IL-4/6/10 的表达 |
| | TGF-β | 扶正解毒颗粒 ^[38] | 抑制 TGF-β 的表达 |

注: Ang2 为血管生成素 2; PI3K 为磷脂酰肌醇 3 激酶; mTOR 为哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; Akt 为蛋白激酶 B; TGF-β 为转化生长因子-β

4 小结

与放化疗相比, CAR-T 细胞疗法针对特定靶点发挥作用, 其不良反应小, 是目前肿瘤免疫治疗的热点。CAR-T 细胞疗法在实体瘤治疗中仍有许多工作要做, 如寻求理想靶点以最大限度减少“脱靶”效应; 改善 CAR-T 细胞结构增强对抗原的识别能力和亲和力; 改善免疫抑制性 TME, 促进 CAR-T 细胞发挥抗肿瘤作用并改善 T 细胞耗竭状态。中医药多途径、多靶点的特性使其在肿瘤治疗中受到重视和认可。中医药在增强人体免疫功能、重塑肿瘤微环境、改善 T 细胞耗竭状态等方面取得显著成效。期望在 CAR-T 细胞治疗过程中及早联合中医药治疗, 充分发挥中医药在肿瘤治疗中的“增效减毒”作用, 提高患者生存期和生活质量。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- NEWICK K, O'BRIEN S, MOON E, et al. CAR T cell therapy for solid tumors[J]. Annu Rev Med, 2017, 68: 139–152.
- ZHANG K, CHEN H, LI F, et al. Bright future or blind alley? CAR-T cell therapy for solid tumors[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1045024.
- MAALEJ K M, MERHI M, INCHAKALODY V P, et al. CAR-cell therapy in the era of solid tumor treatment: Current challenges and emerging therapeutic advances[J]. Mol Cancer, 2023, 22(1): 20.
- KATZ S C, HARDAWAY J, PRINCE E, et al. HITM-SIR: Phase I b trial of intraarterial chimeric antigen receptor T-cell therapy and selective internal radiation therapy for CEA⁺ liver metastases[J]. Cancer

- Gene Ther, 2020, 27(5): 341–355.
- [5] NARAYAN V, BARBER-RO滕BERG J S, JUNG I Y, et al. PSMA-targeting TGF β -insensitive armored CAR T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer: A phase 1 trial[J]. Nat Med, 2022, 28(4): 724–734.
- [6] DEL BUFALO F, DE ANGELIS B, CARUANA I, et al. GD2-CART01 for relapsed or refractory high-risk neuroblastoma[J]. N Engl J Med, 2023, 388(14): 1284–1295.
- [7] AHMED N, BRAWLEY V S, HEGDE M, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) -specific chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of HER2-positive sarcoma[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(15): 1688–1696.
- [8] SHI D, SHI Y, KASEB A O, et al. Chimeric antigen receptor-glycan-3 T-cell therapy for advanced hepatocellular carcinoma: Results of phase I trials[J]. Clin Cancer Res, 2020, 26(15): 3979–3989.
- [9] O'ROURKE D M, NASRALLAH M P, DESAI A, et al. A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma[J]. Sci Transl Med, 2017, 9(399): eaaa0984.
- [10] LI C, CAO W, QUE Y, et al. A phase I study of anti-BCMA CAR T cell therapy in relapsed/refractory multiple myeloma and plasma cell leukemia[J]. Clin Transl Med, 2021, 11(3): e346.
- [11] MACKENSEN A, HAANEN J B A G, KOENECKE C, et al. CLDN6-specific CAR-T cells plus amplifying RNA vaccine in relapsed or refractory solid tumors: The phase 1 BNT211-01 trial[J]. Nat Med, 2023, 29(11): 2844–2853.
- [12] NEELAPU S S, TUMMALA S, KEBRIAEI P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy-assessment and management of toxicities[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018, 15(1): 47–62.
- [13] VAN DEN BENT M J, GAO Y, KERKHOF M, et al. Changes in the EGFR amplification and EGFRvIII expression between paired primary and recurrent glioblastomas[J]. Neuro Oncol, 2015, 17(7): 935–941.
- [14] HEYMAN B, YANG Y. Chimeric antigen receptor T cell therapy for solid tumors: Current status, obstacles and future strategies[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(2): 191.
- [15] JIN M Z, JIN W L. The updated landscape of tumor microenvironment and drug repurposing[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 166.
- [16] TANAKA A, SAKAGUCHI S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy[J]. Cell Res, 2017, 27(1): 109–118.
- [17] YAN Z X, LI L, WANG W, et al. Clinical efficacy and tumor microenvironment influence in a dose-escalation study of anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(23): 6995–7003.
- [18] BURGA R A, THORN M, POINT G R, et al. Liver myeloid-derived suppressor cells expand in response to liver metastases in mice and inhibit the anti-tumor efficacy of anti-CEA CAR-T[J]. Cancer Immunol Immunother, 2015, 64(7): 817–829.
- [19] 吴晨, 蒋敬庭. CAR-T 细胞免疫治疗肿瘤的毒副反应及临床对策[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2016, 23(6): 745–750.
- [20] MIAO L, ZHANG Z, REN Z, et al. Reactions related to CAR-T cell therapy[J]. Front Immunol, 2021, 12: 663201.
- [21] ALBINGER N, HARTMANN J, ULLRICH E. Current status and perspective of CAR-T and CAR-NK cell therapy trials in Germany[J]. Gene Ther, 2021, 28(9): 513–527.
- [22] FLUGEL C L, MAJZNER R G, KRENCIUTE G, et al. Overcoming on-target, off-tumour toxicity of CAR T cell therapy for solid tumours[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2023, 20(1): 49–62.
- [23] HONG M, CLUBB J D, CHEN Y Y. Engineering CAR-T cells for next-generation cancer therapy[J]. Cancer cell, 2020, 38(4): 473–488.
- [24] HUANG R, LI X, HE Y, et al. Recent advances in CAR-T cell engineering[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 86.
- [25] MA L, HOSTETLER A, MORGAN D M, et al. Vaccine-boosted CAR T crosstalk with host immunity to reject tumors with antigen heterogeneity[J]. Cell, 2023, 186(15): 3148–3165.
- [26] 王熙, 张莹雯. 中医药干预肿瘤微环境的研究进展与思考[J]. 环球中医药, 2022, 15(2): 357–362.
- [27] 谭佳妮, 石文静, 沈卫星, 等. 消癌解毒方对结肠癌的抑制作用及对 Treg 细胞的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(5): 515–518.

(下转第 148 页)