

· 专家论坛 ·

DOI:10.16689/j.cnki.cn11-9349/r.2024.06.005

嵌合抗原受体-T 细胞疗法对实体瘤治疗的挑战与应对策略研究

李星凝, 曲春枫(国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院免疫学研究室, 北京 100021)

摘要: 过继细胞疗法 (ACT) 通过给患者输注肿瘤反应性的免疫细胞来调节机体自身的免疫功能, 以达到杀伤肿瘤细胞的目的。嵌合抗原受体-T (CAR-T) 细胞疗法是一种利用基因工程修饰的过继 T 细胞疗法, 与传统的抗肿瘤过继细胞疗法相比, CAR-T 细胞具有特异性高、致肿瘤细胞死亡强、疗效持久等优点, 在血液系统恶性肿瘤的治疗中取得了显著成效。越来越多的临床前研究及相应的临床研究相继开展以将 CAR-T 细胞疗法延伸到实体肿瘤的治疗, 如转移性黑色素瘤、非小细胞肺癌、乳腺癌、结直肠癌等, 然而并未取得良好的疗效。这是由于实体瘤异于血液系统恶性肿瘤, 使得 CAR-T 细胞疗法在治疗实体瘤的实践中面临多种挑战, 如靶外毒性、肿瘤抗原异质性导致免疫逃逸、免疫抑制性微环境造成的 CAR-T 细胞耗竭等, 导致治疗疗效不明确及免疫毒性。根据实体瘤的特点, 目前正在进行多种对应策略与技术方法的研究, 例如, 过表达趋化因子受体和细胞因子、双靶点 CAR-T 细胞、改善 T 细胞代谢、调整 CAR 的亲和力等, 旨在提高 CAR-T 细胞进行实体瘤治疗的临床疗效及安全性。本文将对 CAR-T 细胞的发展历程、CAR-T 细胞对实体瘤治疗的挑战及相应的优化策略进行系统的综述, 以为 CAR-T 细胞治疗实体肿瘤提供参考。

关键词: 嵌合抗原受体 T 细胞; 实体瘤; 嵌合抗原受体 T 细胞耗竭; 免疫治疗; 靶外毒性; 抗原异质性; T 细胞代谢; 表位扩展

Challenges and strategies of chimeric antigen receptor T-cell therapy in solid tumors

Li Xingning, Qu Chunfeng

Department of Immunology, National Cancer Center / National Clinical Research Center for Cancer / Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College Beijing 100021 China

Abstract: Adoptive cell therapy is the process of regulating patients' own immune system through the administration of tumor-reactive immune cells to achieve the goal of eliminating tumor cells. CAR-T cell is genetically modified T cell, and the CAR-T cell therapy is a kind of adoptive T-cell therapy. Compared with generally adoptive cell therapy for tumors, CAR-T cell therapy offers the advantages of higher specificity and stronger cytotoxicity on tumor cells, and prolonged curative efficacy. In the treatment of hematological malignancies, CAR-T cell therapy proves effective. An increasing number of preclinical studies and corresponding clinical studies have been carried out to extend CAR-T cell therapy to the treatment of some solid tumors, such as metastatic melanoma, non-small cell lung cancer, breast cancer and colorectal cancer. However, it has not achieved good curative efficacy. Owing to the differences in properties between solid tumors and hematological malignancies, CAR-T cell therapy is challenged for the treatment of the solid tumors, such as on-target, off-tumor toxicity, immune escape caused by tumor antigen heterogeneity, CAR-T cell exhaustion due to the immunosuppressive tumor microenvironment, resulting in the limited therapeutic efficacy and immune toxicity. To improve the clinical efficacy and safety of CAR-T cell therapy in the treatment of the solid tumors, many different strategies are developing currently based on the unique characteristics of solid tumors, such as overexpressing chemokine receptors and cytokines, dual CAR-T cells, improving T cell metabolism, adjusting the affinity of CAR. To provide a reference for future CAR-T cell therapy for solid tumors, the development of CAR-T cells, current challenges and associated optimization strategies for CAR-T cells in solid tumor treatment are reviewed in this paper.

Key words: Chimeric antigen receptor T-cell; Solid tumors; Chimeric antigen receptor T-cell exhaustion; Immunotherapy; On-target, off-tumor toxicity; Antigen heterogeneity; T cell metabolism; Epitope spreading

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32100756)

通信作者: 曲春枫, 电子邮箱: quchf@cicams.ac.cn

嵌合抗原受体 T (chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T) 细胞疗法为过继细胞疗法的一种^[1]。过继细胞疗法分为特异性和非特异性两类,非特异性过继细胞疗法(adoptive cell therapy, ACT)的抗肿瘤效果不明确,特异性 ACT 主要包括肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocyte, TIL)、TCR-T 细胞和 CAR-T 细胞^[2]。TCR-T 细胞和 CAR-T 细胞均是通过基因工程技术对自体 T 细胞进行改造,使其具有识别特定抗原的能力。TCR-T 细胞所识别的肿瘤抗原为自身主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)所呈递的肿瘤抗原肽,因此存在 MHC 限制性。CAR-T 细胞是利用抗原抗体反应特性,使 T 细胞以不依赖于 MHC 的方式识别表达在肿瘤细胞表面的抗原,由此杀死肿瘤细胞,防止肿瘤细胞因 MHC 分子表达下调或抗原加工失调而逃逸^[3]。CAR-T 细胞疗法在血液肿瘤方向有显著疗效,但许多挑战限制了其在实体瘤中的治疗效果。

1 CAR-T 细胞疗法的发展历程及 CAR 的结构

以色列免疫学家 Eshhar Z^[4]于 1989 年首次提出 CAR-T 细胞治疗的概念,将单链抗体的可变区片段(single chain fragment variable, scFv)与 T 细胞的 Fc 受体 γ 链或 CD3 复合物的 ξ 链直接融合,使 T 细胞能利用抗体对抗原的识别特点来特异性识别膜表面抗原,T 细胞活化扩增,杀伤靶细胞。第一代 CAR-T 细胞由于缺乏共刺激信号,在体内的存活与持久性较差,临床试验未能成功。2011 年,June CH 等^[5]在 CAR 的结构中引入了共刺激分子 4-1BB 的结构域,提供 T 细胞活化的第二信号而制备了第二代 CAR-T 细胞,发现 CAR-T 细胞激增,并显示出明显且持续的抗肿瘤效应。为使 CAR-T 细胞具有更强的活化和增殖能力,有学者将两种共刺激分子的结构域整合在一起,制备了第三代 CAR-T 细胞^[6]。然而在大部分临床试验中,第三代 CAR-T 细胞的疗效并未增强,反而引起了更多的活化诱导的细胞死亡,CAR-T 细胞发生耗竭而无法有效扩增^[7]。由于 CAR-T 细胞疗法在临床应用时,除引起长期而持久的抗肿瘤效应外,也引发了一些治疗相关的不良反应,如细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)^[8]。在 CAR 的结构中添加自杀基因或可控制性的自杀基因而制备了第四代 CAR-T 细胞,由此可对体内 CAR-T 细胞的存活和增殖进行控制,减少治疗所导致的 CRS^[9]。还有学

者在 CAR 的结构中添加细胞因子或趋化因子受体结构,如白细胞介素 12,通过重塑肿瘤微环境,实现增强杀伤肿瘤细胞的效果^[10]。

总之,CAR 的结构分为胞外抗原结合区、铰链区、跨膜区和胞内信号转导区,见图 1。胞外抗原结合区由识别肿瘤细胞表面抗原的 scFv 构成,通过柔性接头将抗体重链和轻链的可变区进行连接。铰链区即为跨膜区向 scFv 延伸的胞外结构区,克服空间位阻,有助于 scFv 更好地识别靶抗原表位,通常来源于 CD8、CD28、IgG1 或 IgG4 的氨基酸序列。跨膜区主要是将 CAR 锚定在 T 细胞膜上,促进信号转导,通常为 CD3 ξ 、CD4、CD8 或 CD28 的跨膜区序列^[11]。胞内信号转导区则为共刺激结构域与 CD3 ξ 链的串联,促进 T 细胞的增殖和分化^[12]。

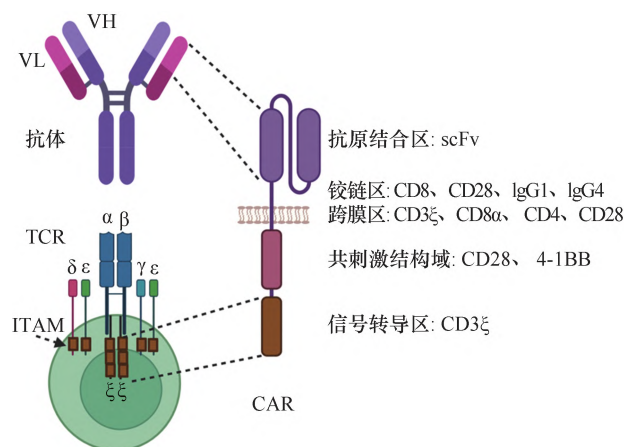


图 1 CAR 的结构

注:ITAM,immunoreceptor tyrosine-based activation motif,免疫受体酪氨酸活化基序;CAR,chimeric antigen receptor,嵌合抗原受体;scFv,single chain fragment variable,单链可变片段;VL,the variable regions of light chain,轻链可变区;VH,the variable regions of heavy chain,重链可变区;TCR,T cell receptor,T 细胞受体。此图片在 biorender 平台绘制。

2 CAR-T 细胞治疗实体瘤的挑战

图 2 展示了 CAR-T 细胞疗法的临床治疗流程。我国是开展 CAR-T 细胞疗法临床试验的主要国家^[13],目前美国食品药品监督管理局批准的 CAR-T 细胞疗法主要用于治疗血液系统恶性肿瘤。一些临床试验表明,CAR-T 细胞疗法在实体瘤中也具有一定的疗效,但仍面临多种挑战,包括如下几个方面:①CAR-T 细胞所识别的靶抗原在正常组织中表达而导致靶外毒性(on-target, off-tumor toxicity, OTOT)^[14];②实体瘤通常被物理屏障包围,CAR-T 细胞难以有效地抵达肿瘤部位;③实体瘤存

在免疫抑制性微环境,导致 CAR-T 细胞抵达肿瘤位点后,发生耗竭和功能障碍^[15];④肿瘤细胞存在抗原异质性,使 CAR-T 细胞在清除靶抗原阳性的肿瘤细胞后,靶抗原阴性的肿瘤细胞发生逃逸导致

肿瘤复发^[16]。当前,研究者在多方面对 CAR 的结构进行改造,或与其他协同 CAR-T 细胞治疗的策略联合应用,旨在提升 CAR-T 细胞疗效的同时限制其不良反应。

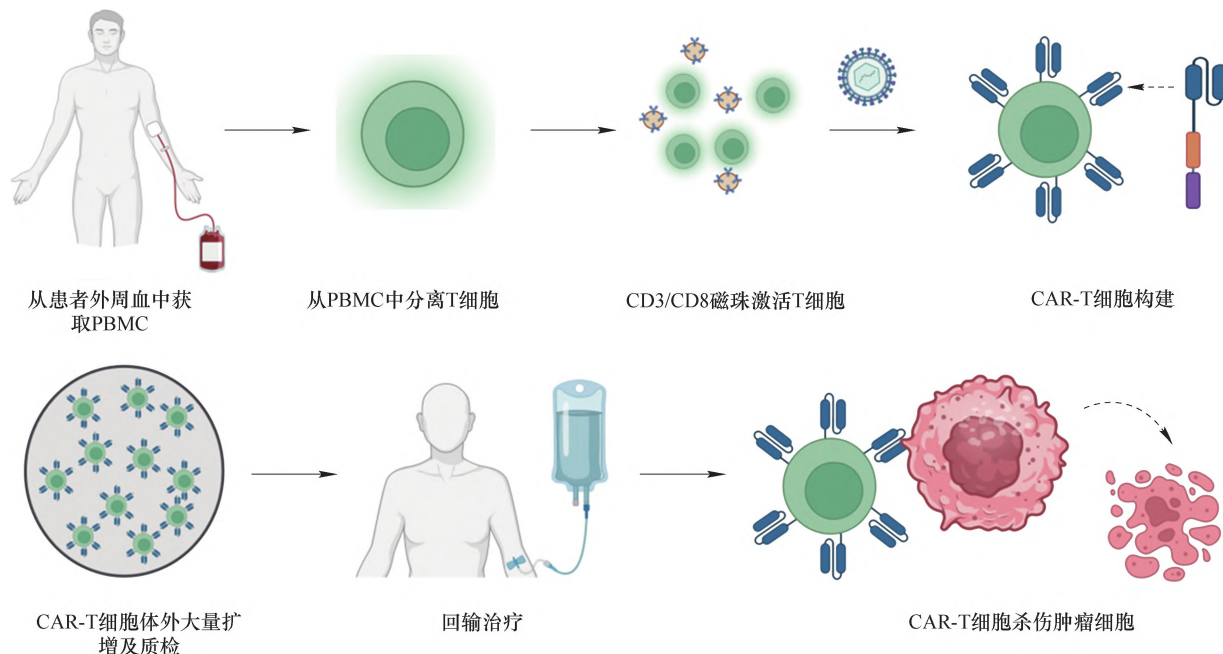


图 2 CAR-T 细胞的临床治疗流程

注:PBMC, peripheral blood mononuclear cells, 外周血单个核细胞; CAR-T, chimeric antigen receptor-T, 嵌合抗原受体-T。此图片在 biorender 平台绘制。

3 克服 CAR-T 细胞导致靶外效应的策略

CAR-T 细胞治疗实体瘤的靶抗原主要为肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA), 实际上 TAA 也表达在正常细胞和组织中, 因此, CAR-T 细胞在特异性靶向肿瘤细胞时也会损害正常的组织细胞。例如, 靶向酪氨酸激酶受体 2 (tyrosine-protein kinase receptor 2, ERBB2) 的 CAR-T 细胞治疗结直肠癌患者时, 也作用于低表达 ERBB2 的肺上皮细胞而引起严重的 CRS^[17]; 在一项临床试验中, 3 例透明细胞肾细胞癌患者接受靶向羧基酞酶 IX 的 CAR-T 细胞治疗后, 由于其同时作用于胆管上皮细胞而引发了肝毒性^[18]。

降低 scFv 的亲合力或利用逻辑门控通路调节 CAR-T 细胞对抗原的识别能力, 潜在性地降低了 OTOT 的风险。例如, 从亲合力不同的单克隆抗体中筛选制备低亲和力的 CAR-T 细胞, 使其选择性地靶向高表达表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 的肿瘤细胞, 而不被低表达 EGFR 的正常细胞激活^[19]。生物信号系统可以表

现超灵敏的反应, 研究者设计了一种两步正反馈激活回路, 用低 HER2 亲合力 SynNotch 受体来控制高 HER2 亲合力 CAR 的表达, 不论体外还是体内都可以超灵敏地以 S 型反应区分正常组织和癌细胞上的抗原密度, 进而扩大 CAR-T 细胞治疗实体瘤的治疗窗口^[20]。此外, 有研究利用 SynNotch 受体使 CAR-T 细胞识别多抗原组合, 在 SynNotch 受体识别具有肿瘤特异性但表达异质性的 EGFRvIII 抗原后, 激活 CAR 的表达, 使其识别在肿瘤细胞中均匀表达但非肿瘤特异性的 EphA2 或 IL13Ra2 抗原, 将 CAR-T 细胞对靶抗原的识别局限在肿瘤组织部位, 成功实现对胶质母细胞瘤的完全清除^[21]。

4 克服 CAR-T 细胞向肿瘤部位迁移及浸润不足的策略

因 CAR-T 细胞难以有效地迁移及浸润至实体肿瘤, 其杀伤肿瘤的能力受到限制。有研究发现, 接受 TIL 治疗的转移性黑色素瘤患者的临床反应与淋巴细胞定位到肿瘤的效率相关^[22-23]。此外, 未经修饰的靶向间皮素的 CAR-T 细胞不能有

效地在荷瘤小鼠肿瘤组织中浸润,抗肿瘤疗效受限^[24]。

趋化因子和趋化因子受体间的相互作用,极大地影响着实体瘤中 CAR-T 细胞的浸润。实际上,肿瘤细胞产生的趋化因子的同源受体通常不表达在 T 细胞上^[25]。为此,多项研究利用肿瘤微环境中某些趋化因子表达增强的特点,改造 CAR-T 细胞使其表达这些趋化因子的同源受体,例如 CCR2b^[24]、CXCR6^[26]、CXCR2^[27]、CXCR5^[28]等,可显著加速 CAR-T 细胞在体内向肿瘤部位的转运及其在肿瘤部位的特异性积累,进而提高 CAR-T 细胞的抗肿瘤疗效。

临床应用中,改善 CAR-T 细胞向肿瘤组织募集的策略还包括将 CAR-T 细胞直接注射至肿瘤部位。有研究发现,经皮肝动脉输注 CAR-T 细胞进行肝转移瘤治疗^[29]、局部胸膜内递送 CAR-T 细胞进行恶性胸膜间皮瘤治疗^[30]、局部瘤内或区域脑室内递送 CAR-T 细胞进行脑转移瘤治疗^[31],均获得了更好的疗效。但是,局部滴注比静脉注射具有更高的技术挑战性与危险性;特定部位累积的 CAR-T 细胞进入血液循环,然后迁移至其他肿瘤部位的能力目前尚未知。

5 克服 CAR-T 细胞耗竭的策略

CAR-T 细胞是一种“活的药物”,根据所处的环境来激活、增殖和扩增。在肿瘤抗原的持续刺激及免疫抑制性肿瘤微环境的共同作用下,CAR-T 细胞抵达肿瘤部位后,发生了表观遗传谱和代谢谱的转变,上调了抑制性分子的表达,如程序性死亡受体 1(programmed death-1, PD-1),细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, CTLA-4),T 淋巴细胞免疫球蛋白黏蛋白-3(T-cell immunoglobulin and mucin domain 3, Tim3),淋巴细胞激活基因 3(lymphocyte activation gene 3, LAG3)等,由此进入耗竭状态^[32-33]。在小鼠黑色素瘤模型中,肿瘤浸润性 CAR-T 细胞具有 PD-1^{high}Tim3^{high}表型,与 PD-1^{high}Tim3^{high}的 TILs 的转录谱相似^[34]。

将 CAR-T 细胞疗法与免疫检查点阻断联合应用是一种潜在的免疫治疗策略,可有效改善 CAR-T 细胞的耗竭,增强其抗肿瘤功能。动物实验发现,抗 PD-1 单克隆抗体纳武单抗(Nivolumab)与靶向 GD2 的 CAR-T 细胞联合应用,可以增强 CAR-T 细胞毒性的持久性,并增加其在胶质母细胞瘤中的浸润^[35]。此外,通过基因编辑技术,使 CAR-T 细胞

在靶向目的抗原的同时,自分泌抗 PD-1 或抗程序性死亡受体配体 1(programmed death-ligand 1, PD-L1)抗体,可有效改善 CAR-T 细胞耗竭状况,增强抗肿瘤免疫反应^[36-37]。这种治疗策略使 PD-1 抗体在肿瘤局部形成高浓度来解除环境抑制,此外,与静脉注射引起全身扩散的给药方式相比,减轻了治疗相关不良反应。国际首个自分泌 PD-1 抗体的 meso-CAR-T 细胞用来治疗晚期难治性卵巢上皮癌患者,该患者存活达 17 个月,且没有引起明显的不良反应^[38]。免疫检查点阻断与 CAR-T 细胞疗法联合应用有望显著提高实体瘤免疫疗法的安全性和有效性。

CAR-T 细胞在体外扩增时需要适当的代谢维持低分化状态,有助于记忆的形成并提高其在体内的持久性^[39]。在体外培养体系中添加 IL-21 可以使 CAR-T 细胞代谢从有氧糖酵解转向脂肪酸氧化^[40-41];添加 IL-15 使 CAR-T 细胞中 mTORC1 活性降低,糖酵解减少,增加干细胞记忆表型,降低耗竭标志物的表达,进而提高其在实体瘤中的疗效^[42]。肿瘤微环境中葡萄糖和氨基酸等营养物质缺乏、乳酸和活性氧的产生增加、缺氧均会使 CAR-T 细胞进入耗竭状态,在体内需要增强 CAR-T 细胞的代谢活性,才能更好地发挥杀伤作用。研究发现,过表达 FOXO1 可以提高 CAR-T 细胞的氧化磷酸化水平^[43];过表达 PGC-1 α 的突变体可以改善 CAR-T 细胞中线粒体的功能,调整能量选择酶的表达来更好地竞争外源营养物质,改善 CAR-T 细胞的存活及抗肿瘤疗效^[44]。

6 克服肿瘤异质性的策略

实体瘤中肿瘤抗原的表达在强度和分布方面表现出很高的异质性,导致 CAR-T 细胞治疗后肿瘤复发^[45]。例如,临床研究发现胶质母细胞瘤患者经靶向突变 EGFRv III 的 CAR-T 细胞治疗后,出现 EGFRv III 阴性的肿瘤^[46]。

肿瘤异质性理论上可通过给予双靶点的 CAR-T 细胞来克服。临床前研究发现靶向 Mucin 1 和前列腺干细胞抗原的两种 CAR-T 细胞联合应用的抗肿瘤效果优于使用任何一种 CAR-T 细胞^[47]。I 期临床试验发现,鞘内递送同时靶向 EGFR 和 IL-13R α 2 的 CAR-T 细胞,治疗复发性胶质母细胞瘤患者后,显示出一定的安全性和生物活性^[48]。然而,双靶点 CAR-T 细胞的治疗策略可能会增加 OTOT 风险,加重免疫毒性等不良反应。

表位扩展是初始靶抗原治疗之后,产生的不同于初始靶抗原的第二种抗原免疫应答。临床试验发现,肿瘤患者经 MUC-1 肽脉冲的树突状细胞疫苗治疗后,体内产生了针对 MAGE3 和 CEA 肽的特异性 CD8⁺T 细胞^[49]。另一项 I 期临床试验,在 25 例疫苗治疗后的患者中检测到了 33 种针对新表位的 T 细胞应答,同时发现表位扩展与延长无疾病进展生存期相关^[50]。通过增强抗原呈递和充分的表位扩展,可激活机体的内源性免疫应答,增强 CAR-T 细胞的疗效。研究发现使 CAR-T 细胞分泌激活 I 型经典的树突状细胞 (type 1 conventional dendritic cells, cDC1) 的 Flt-3L,可以交叉呈递更多的肿瘤抗原来增强内源性 T 细胞应答^[51]。在 CAR-T 细胞疗法中添加疫苗可显著增加内源性 T 细胞的浸润和抗肿瘤潜力,能够更好地控制抗原异质性肿瘤^[52-53]。此外,将 CAR-T 细胞与溶瘤病毒联合应用来治疗荷瘤小鼠,发现体内产生病毒 TCR 特异性的 CAR-T 细胞,杀伤靶抗原表达水平低的病毒感染的肿瘤细胞^[54]。

7 总结与展望

CAR-T 细胞疗法在治疗血液系统恶性肿瘤的临床试验中展示出令人振奋的前景,但在实体肿瘤中的疗效有限。单纯的 CAR-T 细胞疗法在大多数肿瘤中不足以诱导完全反应。随着合成生物学、T 细胞免疫学以及分子生物学的快速发展,将 CAR-T 细胞疗法与其他协同 T 细胞的治疗策略相结合,根据实体瘤的微环境特点来克服其在实体瘤中遇到的困难,可以更好地杀伤肿瘤细胞,为实体瘤患者提供新的肿瘤免疫治疗策略和思路。然而,挑战依然存在,包括治疗相关毒性,如细胞因子释放综合征、免疫效应细胞相关神经毒性综合征等,治疗前应合理评估疗效和毒性之间的风险-效益,治疗后需给予密切监测与相应的对症治疗。此外,各种改造策略使 CAR-T 细胞的制造步骤复杂不一,对其标准化是必要的,以确保患者使用 T 细胞产品的安全性和可靠性。CAR-T 细胞通常来源于患者自体 T 细胞,通用型 CAR-T 细胞可以批量生产,降低成本,造福更多患者,但移植物抗宿主病阻碍了其发展。尽管面临挑战,但 CAR-T 细胞疗法仍有望通过多种策略彻底改变实体瘤的治疗。

参考文献

[1] HAN S J, ZYGOURAKIS C, LIM M, et al. Immunotherapy for glioma: promises and challenges[J]. Neurosurg Clin N Am, 2012,

23(3): 357-370.
[2] MITTICA G, CAPELLERO S, GENTA S, et al. Adoptive immunotherapy against ovarian cancer[J]. J Ovarian Res, 2016, 9(1): 30.
[3] ROSENBERG S A, RESTIFO N P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer[J]. Science, 2015, 348(6230): 62-68.
[4] ESHHAR Z, WAKS T, GROSS G, et al. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90(2): 720-724.
[5] PORTER D L, LEVINE B L, KALOS M, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia[J]. N Engl J Med, 2011, 365(8): 725-733.
[6] TANG X Y, SUN Y, ZHANG A, et al. Third-generation CD28/4-1BB chimeric antigen receptor T cells for chemotherapy relapsed or refractory acute lymphoblastic leukaemia: a non-randomised, open-label phase I trial protocol[J]. BMJ Open, 2016, 6(12): e013904.
[7] ZUCCOLOTTO G, PENNA A, FRACASSO G, et al. PSMA-specific CAR-engineered T cells for prostate cancer: CD28 outperforms combined CD28-4-1BB "super-stimulation"[J]. Front Oncol, 2021, 11: 708073.
[8] FREY N V, PORTER D L. Cytokine release syndrome with novel therapeutics for acute lymphoblastic leukemia[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2016, 2016(1): 567-572.
[9] MARIN V, CRIBIOLI E, PHILIP B, et al. Comparison of different suicide-gene strategies for the safety improvement of genetically manipulated T cells[J]. Hum Gene Ther Methods, 2012, 23(6): 376-386.
[10] TANG L, PAN S, WEI X, et al. Arming CAR-T cells with cytokines and more: innovations in the fourth-generation CAR-T development[J]. Mol Ther, 2023, 31(11): 3146-3162.
[11] APARICIO C, BELVER M, ENRIQUEZ L, et al. Cell therapy for colorectal cancer: the promise of chimeric antigen receptor (CAR)-T cells[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21): 11781.
[12] 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.
[13] WEI J, GUO Y, WANG Y, et al. Clinical development of CAR-T cell therapy in China: 2020 update[J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(4): 792-804.
[14] 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.
[15] 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.
[16] KLOBUCH S, SEIJKENS T T P, HAANEN J. The emerging role for CAR-T cells in solid tumor oncology[J]. Chin Clin Oncol, 2023, 12(2): 19.
[17] MORGAN R A, YANG J C, KITANO M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2[J]. Mol Ther, 2010, 18(4): 843-851.
[18] LAMERS C H, SLEIJFER S, VULTO A G, et al. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with autologous T-lymphocytes genetically retargeted against carbonic anhydrase IX: first clinical experience[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(13): e20-e22.
[19] CARUSO H G, HURTON L V, NAJJAR A, et al. Tuning sensitivity of CAR to EGFR density limits recognition of normal tissue while maintaining potent antitumor activity[J]. Cancer Res, 2015, 75(17): 3505-3518.
[20] HERNANDEZ-LOPEZ R A, YU W, CABRAL K A, et al. T cell circuits that sense antigen density with an ultrasensitive threshold[J]. Science, 2021, 371(6534): 1166-1171.
[21] CHOE J H, WATCHMAKER P B, SIMIC M S, et al. SynNotch-CAR T cells overcome challenges of specificity, hetero-

- geneity, and persistence in treating glioblastoma[J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(591): eabe7378.
- [22] FISHER D T, CHEN Q, APPENHEIMER M M, et al. Hurdles to lymphocyte trafficking in the tumor microenvironment: implications for effective immunotherapy[J]. *Immunol Invest*, 2006, 35(3-4): 251-277.
- [23] BROWN C E, VISHWANATH R P, AGUILAR B, et al. Tumor-derived chemokine MCP-1/CCL2 is sufficient for mediating tumor tropism of adoptively transferred T cells[J]. *J Immunol*, 2007, 179(5): 3332-3341.
- [24] 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.
- [25] NAGARSHETH N, WICHA M S, ZOU W. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(9): 559-572.
- [26] LESCH S, BLUMENBERG V, STOIBER S, et al. T cells armed with C-X-C chemokine receptor type 6 enhance adoptive cell therapy for pancreatic tumours[J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(11): 1246-1260.
- [27] LIU G, RUI W, ZHENG H, et al. CXCR2-modified CAR-T cells have enhanced trafficking ability that improves treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Eur J Immunol*, 2020, 50(5): 712-724.
- [28] LI G, GUO J, ZHENG Y, et al. CXCR5 guides migration and tumor eradication of anti-EGFR chimeric antigen receptor T cells[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2021, 22: 507-517.
- [29] KATZ S C, BURGA R A, MCCORMACK E, et al. Phase I hepatic immunotherapy for metastases study of intra-Arterial chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy for CEA+ liver metastases[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(14): 3149-3159.
- [30] 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.
- [31] PRICEMAN S J, TILAKAWARDANE D, JEANG B, et al. Regional delivery of chimeric antigen receptor-engineered T cells effectively targets HER2(+) breast cancer metastasis to the brain[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(1): 95-105.
- [32] TANG L, ZHANG Y, HU Y, et al. T cell exhaustion and CAR-T immunotherapy in hematological malignancies[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 6616391.
- [33] HASHIMOTO M, KAMPHORST A O, IM S J, et al. CD8 T Cell exhaustion in chronic infection and cancer: opportunities for interventions[J]. *Annu Rev Med*, 2018, 69: 301-318.
- [34] CHEN J, LÓPEZ-MOYADO I F, SEO H, et al. NR4A transcription factors limit CAR T cell function in solid tumours[J]. *Nature*, 2019, 567(7749): 530-534.
- [35] ZHANG G, ZHAO Y, LIU Z, et al. GD2 CAR-T cells in combination with Nivolumab exhibit enhanced antitumor efficacy[J]. *Transl Oncol*, 2023, 32: 101663.
- [36] ZHOU J T, LIU J H, SONG T T, et al. EGLIF-CAR-T cells secreting PD-1 blocking antibodies significantly mediate the elimination of gastric cancer [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 8893-8902.
- [37] CHENG K, FENG X, CHAI Z, et al. 4-1BB-Based CAR T cells effectively reverse exhaustion and enhance the anti-tumor immune response through autocrine PD-L1 scFv antibody[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4): 4197.
- [38] FANG J, DING N, GUO X, et al. α PD-1-mesoCAR-T cells partially inhibit the growth of advanced/refractory ovarian cancer in a patient along with daily apatinib[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(2): e001162.
- [39] ZHU X, LI W, GAO J, et al. RUNX3 improves CAR-T cell phenotype and reduces cytokine release while maintaining CAR-T function[J]. *Med Oncol*, 2023, 40(3): 89.
- [40] ZHANG M, KONG J, YIN F, et al. Optimizing CAR-T cell culture: differential effects of IL-2, IL-12, and IL-21 on CAR-T cells[J]. *Cytokine*, 2024, 184: 156758.
- [41] LOSCHINSKI R, B?TTCHEM M, STOLL A, et al. IL-21 modulates memory and exhaustion phenotype of T-cells in a fatty acid oxidation-dependent manner [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(17): 13125-13138.
- [42] ALIZADEH D, WONG R A, YANG X, et al. IL15 Enhances CAR-T cell antitumor activity by reducing mTORC1 activity and preserving their stem cell memory phenotype[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(5): 759-772.
- [43] CHAN J D, SCHEFFLER C M, MUNOZ I, et al. FOXO1 enhances CAR T cell stemness, metabolic fitness and efficacy[J]. *Nature*, 2024, 629(8010): 201-210.
- [44] LONTOS K, WANG Y, JOSHI S K, et al. Metabolic reprogramming via an engineered PGC-1 α improves human chimeric antigen receptor T-cell therapy against solid tumors[J]. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(3): e006522.
- [45] GUEDAN S, ALEMANY R. CAR-T cells and oncolytic viruses: joining forces to overcome the solid tumor challenge[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2460.
- [46] 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.
- [47] ANURATHAPAN U, CHAN R C, HINDI H F, et al. Kinetics of tumor destruction by chimeric antigen receptor-modified T cells[J]. *Mol Ther*, 2014, 22(3): 623-633.
- [48] BAGLEY S J, LOGUN M, FRAIETTA J A, et al. Intrathecal bivalent CAR T cells targeting EGFR and IL13R α 2 in recurrent glioblastoma: phase I trial interim results[J]. *Nat Med*, 2024, 30(5): 1320-1329.
- [49] BROSSART P, WIRTHS S, STUHLER G, et al. Induction of cytotoxic T-lymphocyte responses in vivo after vaccinations with peptide-pulsed dendritic cells[J]. *Blood*, 2000, 96(9): 3102-3108.
- [50] OTT P A, HU-LIESKOVAN S, CHMIELOWSKI B, et al. A phase Ib trial of personalized neoantigen therapy plus anti-PD-1 in patients with advanced melanoma, non-small cell lung cancer, or Bladder Cancer[J]. *Cell*, 2020, 183(2): 347-362. e324.
- [51] LAI J, MARDIANA S, HOUSE I G, et al. Adoptive cellular therapy with T cells expressing the dendritic cell growth factor Flt3L drives epitope spreading and antitumor immunity[J]. *Nat Immunol*, 2020, 21(8): 914-926.
- [52] SUN S, DING Z, GAO L, et al. A dendritic/tumor fusion cell vaccine enhances efficacy of nanobody-based CAR-T cells against solid tumor[J]. *Theranostics*, 2023, 13(14): 5099-5113.
- [53] 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. e3120.
- [54] EVGIN L, KOTTKE T, TONNE J, et al. Oncolytic virus-mediated expansion of dual-specific CAR T cells improves efficacy against solid tumors in mice[J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(640): eabn2231.

收稿日期: 2024-06-28
 本文编辑: 张 艳